

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Facultad de Agricultura



**"Prueba de Cuatro Tratamientos de Desinfección
del Suelo para Control de *Damping-Off*"**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO
P R E S E N T A :

Martha Isabel Torres Morán

GUADALAJARA, JAL., 1986



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Facultad de Agricultura

Expediente

Número

Abr 11 9, 1986.

C. PROFESORES

ING. JOSE ANTONIO SANDOVAL MADRIGAL. DIRECTOR.
O.F.B. MELBA DE GUADALUPE BARRILLO DOMINGUEZ. ASESOR.
ING. RICARDO NUÑO ROMERO. ASESOR.

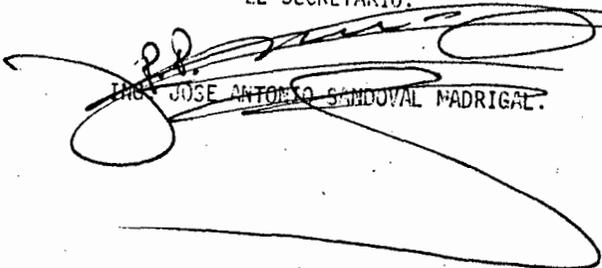
Con toda atención me permito hacer de su conocimiento, que habiendo sido aprobado el Tema de Tesis:

"PRUEBA DE CUATRO TRATAMIENTOS DE DESINFECCION DEL SUELO PARA CONTROL DE DAMPING-OFF."

presentado por el PASANTE ~~MARITZA ISABEL TORRES HERRAN~~ han sido ustedes designados Director y asesores respectivamente para el desarrollo de la misma.

Ruego a ustedes se sirvan hacer del conocimiento de esta Dirección su Dictamen en la revisión de la mencionada Tesis. Entre tanto me es grato reiterarles las seguridades de mi atenta y distinguida consideración.

"PIENSA Y TRABAJA"
EL SECRETARIO.


ING. JOSE ANTONIO SANDOVAL MADRIGAL.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
Facultad de Agricultura

Expediente

Número

Abril 9, 1986.

ING. ANDRES RODRIGUEZ GARCIA
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE AGRICULTURA
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.
PRESENTE.

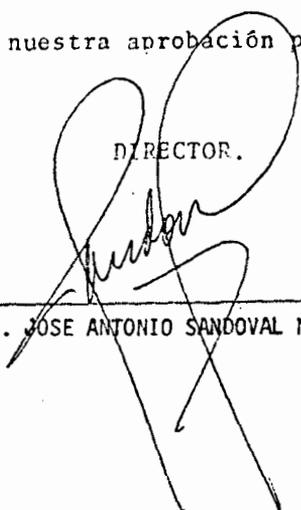
Habiendo sido revisada la Tesis del PASANTE _____

MARTHA ISABEL TORRES MORAN titulada,

"PRUEBA DE CUATRO TRATAMIENTOS DE DESINFECCION DEL SUELO PARA
CONTROL DE DAMPING-OFF."

Damos nuestra aprobación para la impresión de la
misma.

DIRECTOR.



ING. JOSE ANTONIO SANDOVAL MADRIGAL.

ASESOR.

ASESOR.



Q.F.B. THELMA DE GUADALUPE CARRILLO
RODRIGUEZ.



ING. RICARDO NURO ROMERO

hlg.

Al contestar este oficio sírvase citar fecha y número

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE AGRICULTURA

" PRUEBA DE CUATRO TRATAMIENTOS DE
DESINFECCION DEL SUELO PARA CONTROL
DE DAMPING-OFF "

DEDICATORIA

AL SEÑOR TODOPODEROSO, PORQUE ES ETERNO SU AMOR.

A MI MADRE, PORQUE SUPO DIRIGIRME CON MANO RECIA Y A
QUIEN DEBO LO QUE TENGO Y SOY.

MUY ESPECIALMENTE A TI, QUE ME SUPISTE AMAR Y
ACEPTAR. PORQUE NO SOLO ES PADRE EL QUE ENGENDRA,
MI RESPETO, ADMIRACION Y CARIÑO POR SIEMPRE.

CON CARIÑO A MIS HERMANOS JOSE PABLO, MARICELA
Y MARITINA.

A G R A D E C I M I E N T O S

HAGO PATENTE MI AGRADECIMIENTO AL ING. JOSE ANTONIO SANDOVAL MADRIGAL, POR EL APOYO BRINDADO EN LA REALIZACION DEL - PRESENTE TRABAJO.

A LA Q.F.B. THELMA DE GPE. CARRILLO RODRIGUEZ, POR - TODOS LOS CONSEJOS QUE ME SUPO DAR DURANTE EL DESARROLLO DE LA - PRESENTE INVESTIGACION.

AL ING. RICARDO NUÑO ROMERO, POR SU ORIENTACION Y DE - DICACION EN LA ELABORACION DE ESTE TRABAJO.

A LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

A LA FACULTAD DE AGRICULTURA

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE DE UNA FORMA U OTRA, - INFLUYERON EN MI FORMACION.

I N D I C E.

CAP.	PAG.	
I	INTRODUCCION	1
	1.1 Objetivos	3
	1.2 Hipótesis	3
II	REVISION DE LITERATURA	
	2.1 Antecedentes	
	2.1.1 Los hongos fitopatógenos	4
	2.1.2 Hábitat	4
	2.1.3 Reproducción	5
	2.2 Importancia económica	10
	2.3 Damping-off	12
	2.3.1 Historia y distribución	12
	2.3.2 Huéspedes	13
	2.3.3 Etiología	13
	2.3.3.1 Características morfológicas y sistemáticas de los géneros más comunes	13
	2.3.4 Patogénesis	19
	2.3.5 Sintomatología	21
	2.3.6 Aislamiento del patógeno	22
	2.3.6.1 Requerimientos	22
	2.3.6.2 Procedimiento	25
	2.3.7 Condiciones favorables para su desarrollo	27
	2.3.8 Identificación	28
	2.4 Métodos de control	
	2.4.1 Generalidades	32
	2.4.2 Desinfección del suelo	32
	2.4.2.1 Desinfección por vapor	33
	2.4.2.2 Fumigación química	36
	2.4.2.3 Métodos culturales	41
III	MATERIALES Y METODOS	43
	3.1 Diseño y ejecución del experimento	45
IV	RESULTADOS	48
V	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	50
	RESUMEN	51

I N D I C E

CAP.	PAG.
BIBLIOGRAFIA	52
INDICE DE FIGURAS	53
INDICE DE CUADROS	54



ESCUELA DE AGRICULTURA
BIBLIOTECA

I INTRODUCCION

En los últimos años, una de las preocupaciones de los investigadores, han sido los problemas de las enfermedades causadas por poblaciones microbianas del suelo en cultivos y plantas económicamente importantes. Lo anterior ha llevado a la necesidad de experimentar innumerables formas de control por medio de productos químicos, labores culturales, etc.

Estas investigaciones se han impulsado por la importancia que tiene el control de plagas y enfermedades en la producción agrícola.

Los estudios realizados al respecto, se han enfocado desde varios puntos de vista, como son:

- a).- El ecológico. Que trata la importancia de los pesticidas en la producción de alimentos y los daños potenciales o reales, asociados con el uso difundido de compuestos tóxicos. Así como el efecto de muchos de estos compuestos en las poblaciones autóctonas y la forma en que la microflora altera a una gran cantidad de estas sustancias a las que a su vez está expuesta.
- b).- El de producción agrícola. Que toma en cuenta los factores que disminuyen y en casos extremos, aniquilan los productos vegetales diversos que satisfacen las necesidades del hombre (alimentación, vestido, etc.) y que han provocado la necesidad de probar la efectividad de muchos productos químicos que presentan la posibilidad de control de dichos factores adversos a la producción.

Entre estos factores, en plano de primera importancia, se encuentran las plagas y enfermedades de las plantas.

La producción de alimento suficiente para la población, exigiría no solo una aplicación más eficaz de las técnicas actuales en la producción de las cosechas, sino la adquisición y uso efectivo de los nuevos conocimientos en muchos aspectos de la agricultura.

Un elemento importante en el logro de una mayor eficiencia, es la reducción de pérdidas debidas a aspectos como plagas y enfermedades.

Dentro de la producción de plantas económicamente significativas, como son hortalizas y todo tipo de plantas propagadas en almácigos y semilleros, incluyendo especies forestales, un factor adverso importante a considerar, es la enfermedad conocida como Damping-off y que ocasiona muchas pérdidas en esos tipos de cultivos. El presente trabajo evaluará el control de dicha enfermedad.

1.1 OBJETIVOS

La ejecución del presente trabajo, lleva la finalidad de demostrar la conveniencia de aplicar un tratamiento de desinfección al suelo empleado en almáçigos y semilleros, como prevención al ataque de hongos fitopatógenos, concretamente, a los causantes de la enfermedad - conocida como Damping-off.

Por otra parte, pretende efectuar una prueba a nivel laboratorio, de la efectividad de los tratamientos recomendados para desinfección del suelo, cuando se utilizan como una forma de control de dicha enfermedad y a su vez, en base a esta prueba poder dar una recomendación en cuanto al producto más eficaz.

1.2 HIPOTESIS

Las hipótesis planteadas al inicio de la presente investigación son:

- 1.- Todo tratamiento de desinfección del suelo puede llegar a reducir considerablemente la presencia de hongos fitopatógenos causantes del Damping-off en plantas propagadas en almáçigos.
- 2.- Dentro de los tratamientos más recomendados para desinfección del suelo, existen diferencias significativas en cuanto a su efectividad en el control del Damping-off.



II REVISION DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 Los hongos fitopat6genos

Características principales.

"Los hongos se definen como miembros del reino vegetal, consistentes en un talo carente de clorofila (5).

Es característico de todos los hongos, el hecho de que su talo está constituido por un micelio; un amasijo de filamentos muy delgados, llamados hifas, que, o bien penetran sobre el sustrato en el que viven y a expensas del cual se alimentan, o bien en el suelo, tanto de bosques como de prados donde los hongos además de saprofiticos o sea vivientes sobre material orgánico muerto, pueden ser simbiotes, es decir, que viven en una especie de colaboración con plantas superiores.

2.1.2 Habitat

El hábitat de los hongos es amplísimo, se encuentran en el suelo, en el agua y dentro o sobre plantas y animales. Pueden desarrollarse en condiciones climáticas muy variadas; algunos a temperaturas de cerca de los 0°C, otros a temperaturas altas, como 40 - 50°C y aún mayores. Algunos se desarrollan en condiciones de muy baja humedad, por ejemplo los conidios de las cenicillas, que germinan sobre superficies a humedades relativas cercanas a 0%.

La capacidad patogénica de los hongos que atacan a las plantas es extremadamente variable, de ahí la diversidad de síndromes que su ataque origina. Además su nivel de parasitismo fluctúa de saprofitismo facultativo a parasitismo obligado; sin embargo, es posible que algún día, los organismos que integran este último grupo lleguen a ser considerados dentro de los saprófitos facultativos; un ejemplo es *Puccinia graminis tritici*, cultivado artificialmente, primero en Australia y luego en Minessota, E.U.A. Por otra parte, algunos investigadores consideran que la ocurrencia natural es el punto más importante; así si los pat6genos se desarrollan exclusivamente en hospederos vivientes en la naturaleza, deben considerarse como parásitos obligados sin tomar en cuenta su manejo en el laboratorio (5).

2.1.3 Reproducción

El gran grupo de los hongos es de los más heterogéneos e interesantes de todos los vegetales; ni su tamaño puede ser determinante puesto que existen micro y macroscópicos, y tampoco sirve para caracterizarlos ni su forma ni su color; éste último, sin embargo, está condicionado siempre en los hongos a pigmentos especiales y nunca a clorofila, ni siquiera cuando están coloreados de verde, como sucede en muchos penicilios (15).

La reproducción de los hongos, pues, no es la excepción. Existen diversidad de órganos especializados para la reproducción de esta especie y a continuación describiré dos procesos (asexual y sexual), según los conceptos desarrollados por Tosco (1973).

Del cuerpo fructífero del hongo se liberan las esporas, microscópicas. Cada espora (que es haploide) incolora y de aspecto mucoso (Fig.1 No.1), cuando encuentra un sustrato húmedo germina (2) dando origen a una zoospora y ésta a un planocito o mixomona provisto de dos flagelos (3) mediante los cuales puede moverse en el seno de l líquido. Los planocitos pueden comportarse como gametos y fundirse (4), o bien, pierden el flagelo, aumentan de tamaño, asumen forma irregular y emiten pseudópodos transformándose en mixamebas (5) [mixomicetos] también haploides. En muchas especies, las mixamebas se unen formando un mixamebo-zigoto (6) diploide, que por divisiones repetidas, constituye una masa amiboidea reticulada y de contorno irregular: el plasmodio (7).

El plasmodio en condiciones de madurez, si el ambiente se torna desfavorable, se transforma en esclerocios, cuerpos resistentes y consistentes; en los casos normales, da origen a un esporangio, cuerpo fructífero formador de esporas y que pueden tener formas y colores muy diversos y llevar las esporas o bien en el exterior (exospóreos) o en el interior (endospóreos). Los esporangios presentan una parte externa o basal, el peridio, en el que se distingue una formación particular, reticulada constituida por filamentos de queratina: el capicilio, que a guisa del contenedor reticulado, encierra las esporas y los eláteres (filamentos) adaptados a favorecer la dispersión de las propias esporas.(15).

El hongo microscópico presenta a gran aumento, unos céspedes blancos, los zoosporangióforos, parecidos a minúsculas plantas con ramificaciones (fig.2a) que salen por los estomas del envés de las -

hojas que por esta razón, aparecen como se ha mencionado, blanquecinos; sobre las ramas de los esporangióforos, estan insertados los esporangios de forma oval (fig.2b). Del esporangio maduro, se liberan las zoósporas provistas de dos flagelos cada una (fig.2c, 2d) que pierden los flagelos (fig.2e) y germinan (fig.2f) produciendo un corto micelio que penetra a través de los estomas (fig.2g); el micelio continuará desarrollandose en las células (fig.2h) dando lugar a otros esporangióforos. Hasta aquí el ciclo sexual que se desarrolla en primavera, cuando se trata de mildiu, pero a veces presenta también un ciclo sexuado que se inicia en el micelio intracelular, que produce anteridios (masculinos) y oogonios (femeninos), los cuales copulan (fig.2i); la fecundación (el anteridio envía un tubo copulador al oogonio) da lugar a una oospora perdurante (fig.2k)- que germinando producirá un zoosporangio (fig.2l) del que saldrán otras zoosporas (fig.2d) capaces de comenzar de nuevo el ciclo asexual ya descrito. (15).

Los hongos del género *Phytophthora*, por ejemplo, tienen - también reproducción sexual y asexual. Su reproducción asexual se realiza en forma indirecta por zoósporos o directamente por esporangios, aunque esta última forma no es muy común, debido a que precisa temperaturas que no son las propias del cultivo. En cuanto a la reproducción sexual, quedará mejor ilustrada con la figura no. 3.(14).

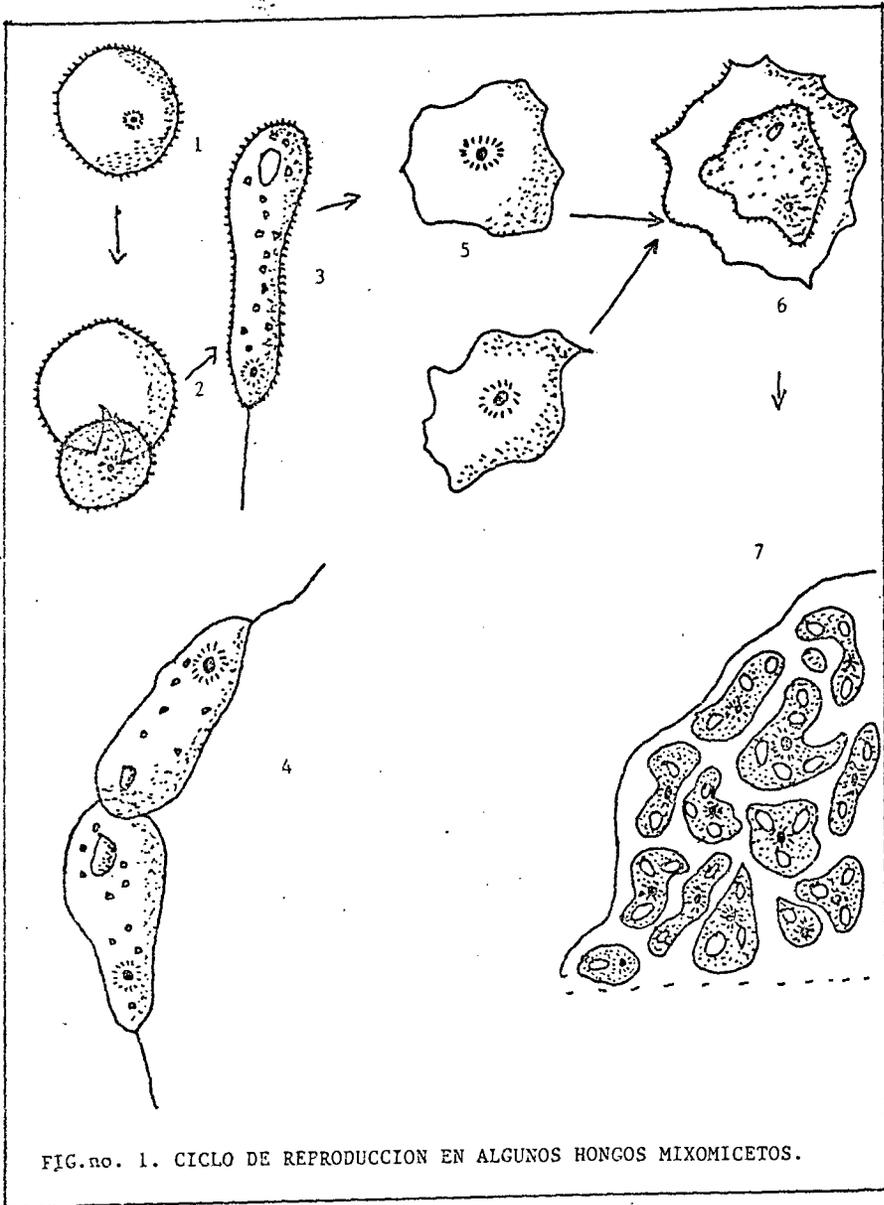


FIG.no. 1. CICLO DE REPRODUCCION EN ALGUNOS HONGOS MIXOMICETOS.

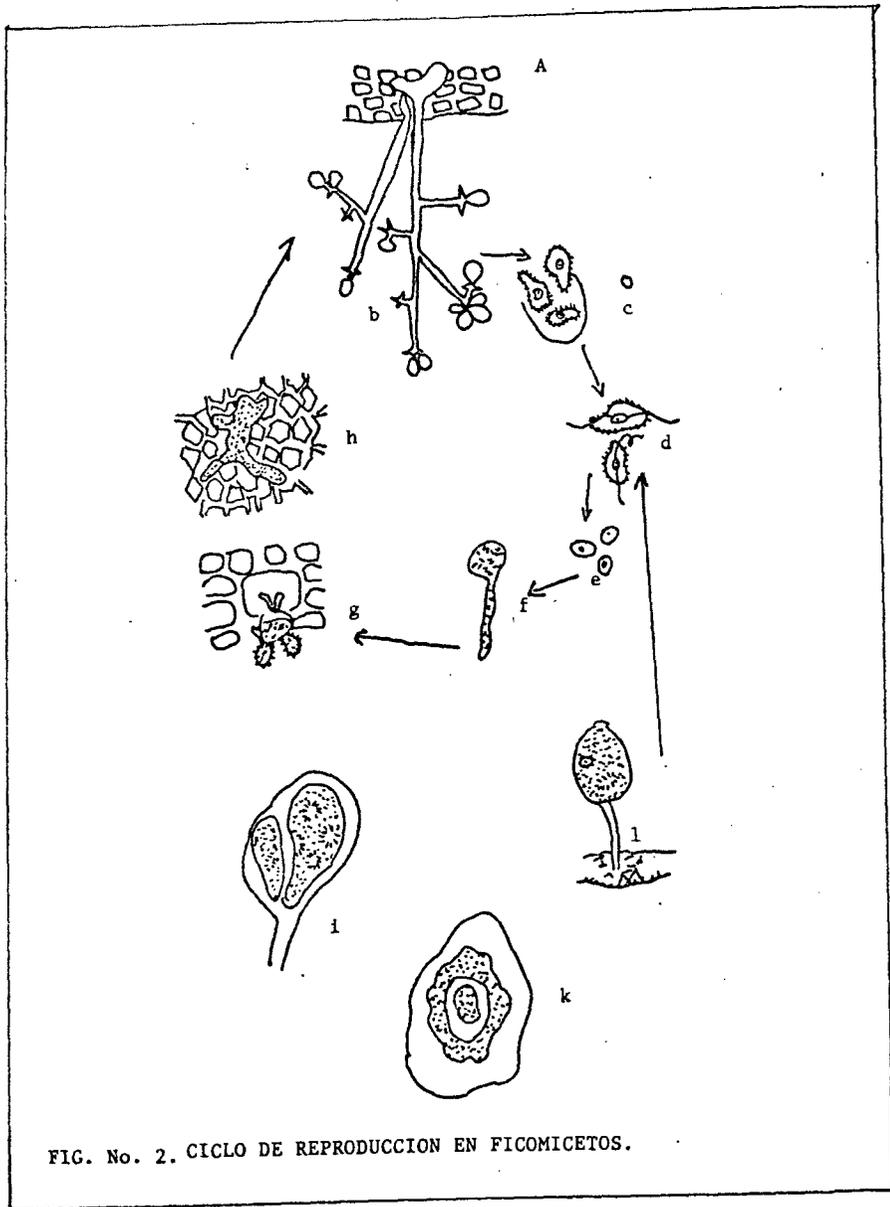


FIG. No. 2. CICLO DE REPRODUCCION EN FICOMICETOS.

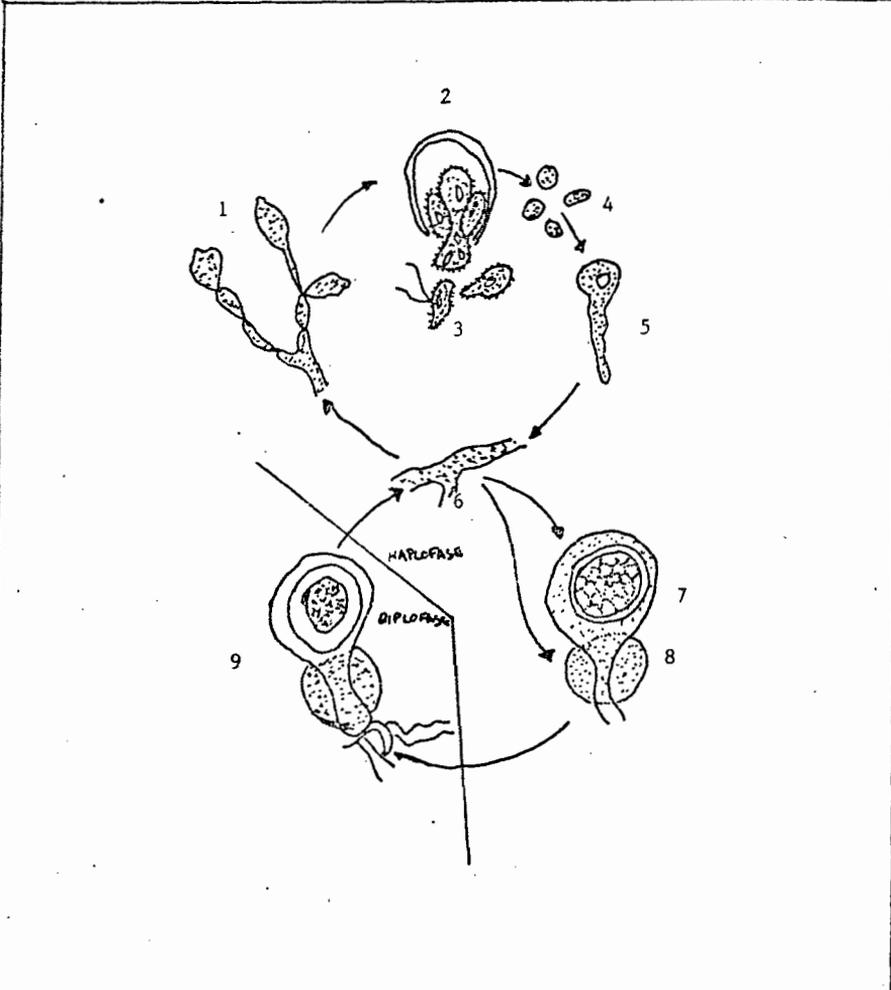


FIG. No. 3. CICLO BIOLÓGICO DE PHYTOPHTORA. REPRODUCCION ASEJUAL: = 1, zoosporangios; 2, germinación zoosporangios; 3, zoósporos enquis_ tados; 5, germinación zoósporos; 6, hifas somáticas. REPRODUCCION SEXUAL: 7, oogonio; 8, anteridio; 9, oóspora.

2.2 IMPORTANCIA ECONOMICA

La importancia de las enfermedades de plantas en la agricultura moderna es un hecho ampliamente documentado y reconocido. Las enfermedades no solo tienen el potencial de destruir enteramente las cosechas; aún en los casos en que no causan pérdidas totales, por lo general reducen en forma crónica el rendimiento en la mayoría de los cultivos donde se presentan, obligan a tomar medidas de combate que aumentan los costos de producción y afectan la calidad y la durabilidad de los productos cosechados. De manera que constituyen una de las principales causas de inestabilidad de la empresa agrícola y del déficit alimentario mundial.

" Los hongos fitopatógenos, es el grupo de microorganismos causantes de las mayores pérdidas económicas agrícolas por el gran número de enfermedades que ocasionan. Se considera que todas las plantas son susceptibles al ataque de por lo menos un hongo y muchas son afectadas por gran número de estos organismos, que las invaden desde la semilla hasta la planta adulta. (5)

En México, según se aprecia en publicaciones de diversos autores, los hongos constituyen el grupo de fitopatógenos que ha recibido mayor atención desde que se realizaron los primeros trabajos con orientación fitopatológica; tal hecho demuestra tanto su frecuencia como su importancia, como factores decisivos en la producción agrícola del país.

Entre las innumerables enfermedades de plantas de origen fungoso que afectan a la economía del agricultor mexicano, caben señalar las más importantes, según el siguiente cuadro:

ENFERMEDADES MAS COMUNES CAUSADAS POR HONGOS, QUE SE PRESENTAN CON FRECUENCIA EN MEXICO.

CUADRO No.1

CULTIVO	ENFERMEDAD	AGENTE CAUSAL	PREVALENCIA	PERDIDAS
Maíz	Tizón foliar	Helminthosporium turcicum	todo el país	no calculado
	Carbón de la espiga	Sphaceloteca - reilianana	bajo y Vera Cruz	hasta 40%
	Carbón del maíz	Ustilago maydis	todo el país	no calc.
	Pudrición de la mazorca	Diplodia maydis D. macrospora	todo el país	no calc.
Frijol	Antracnosis	Colletrotichum lindemuthianum	todo el país	no calc.
	Roya	Uromyces phaseoli	Mesa central del Golfo y Costa del Golfo	no calc.
Chile	<u>Damping-off</u>	Phytophthora capsici	todo el país	hasta 100%

Es importante en este caso, observar como la enfermedad conocida como Damping-off, reduce considerablemente el rendimiento de los cultivos, en ocasiones hasta llegar al 100% de pérdidas.

El daño causado por esta enfermedad, algunas veces es casi imposible de estimar, aunque frecuentemente se observan mermas desde la nacencia de las plantas. A estas pérdidas del 50 al 100%, deben agregarse los gastos por replante, diferencias en maduración y reducciones en rendimiento en cualquier tipo de cultivo donde se presentan.

2.3 DAMPING-OFF

" Aún cuando no exista en México un término adecuado para designar esta enfermedad, en muchas regiones se le llama ahogamiento, - secadera o muerte rápida de las plantitas (7).

El Damping-off es también conocido como enfermedad de - las almácigas y define la destrucción rápida, a veces total, de pequeñas plantas en sus primeros días de vida por acción de diversos hongos patógenos que habitan en el suelo y cuyos daños son mundialmente conocidos" (14).

En nuestro país, sus perjuicios son bien conocidos por - los viveristas en almácigos de casi todas las especies cultivadas, espe- cialmente coníferas.

Gómez-Nava (1976) refiere que; "en la ejecución de los - programas forestales de repoblación artificial, uno de los problemas - más serios que se presentan en los semilleros en su etapa inicial de - producción de plantas, lo constituye la enfermedad conocida como Dam - ping-off " (8).

Menciona también que: "Este término se emplea para desig- nar síntomas de diversas enfermedades y causas, más que para referirse a una sola enfermedad o entidad etiológica bien definida. Adquiere equiva- lentes denominativos diferentes según el lugar donde se presenta, pero - todos se refieren a complejos sintomatológicos etiológicos que ocurren, - por lo común durante las estaciones de lluvia, prevaleciendo en localida- des calientes y con alto grado de humedad.

Este mal es causado por hongos habitantes del suelo que - son parásitos facultativos débiles no selectivos de especies hospederas, pero que bajo condiciones favorables pueden llegar a hacerse patógenos. El problema es en muchos aspectos semejante, aún en lugares geográficos distantes, y se presenta sobre una amplia variedad de plantas.

Los daños que origina son de los más destructores en semi- lleros y produce grandes pérdidas económicas (8).

2.3.1 Historia y distribución

Esta enfermedad data seguramente de los comienzos del - cultivo en plantas que se propagan en almácigos y es difícil precisar su lugar de origen, siendo un problema que ha preocupado a investigadores -

de todos los países (14).

El Damping-off fué observado en Europa en plántulas de árboles, desde el siglo XIII. Llegó a hacerse importante en Estados Unidos en los primeros años de este siglo, cuando se intentó la producción de pinos en gran escala, para reforestación.

Es idea generalizada que el Damping-off es un problema que puede existir en cualquier parte donde se establece un semillero o invernadero; tiene en consecuencia, una distribución mundial (8).

2.3.2 Huéspedes

Esta enfermedad comprende un numero considerable de plantas hospederas: forestales, agrícolas, de sombra y ornato y plantas de jardín. Afecta a muchas especies de coníferas y también a algunas latifoliadas. Representantes de todos los géneros más comunes de coníferas han reportado susceptibilidad, con excepción de algunas especies de cedros que han mostrado cierta resistencia.

Aún entre especies afectadas, hay grandes variaciones de susceptibilidad de acuerdo con las diferentes localidades, dependiendo del suelo, de las condiciones climáticas y de los hongos implicados. (7)(8)(12).

2.3.3 Etiología

Todos los autores coinciden en que se trata de una enfermedad causada por varios géneros de hongos entre los que se presentan más comunmente los siguientes: Cylindrocladium, Botrytis, Fusarium, Helminthosporium, Phoma, Phytophthora, Phytium, Rizoctonia, Sclerotinia, Sclerotium, Verticillium, Volutella, Colletotrichum, Thielavia, Pestalozzia, etc.

Se reconocen como de gran importancia y de distribución geográfica universal a : Fusarium spp., Phytium spp., Rhizoctonia spp., y Phytophthora spp. (8)(14).

2.3.3.1 Características morfológicas y sistemáticas de los géneros más comunes.

Fusarium spp.- Según Engler y Prantl [citado por Saraso la (15)], la posición sistemática del género Fusarium sería: Sección Mucedineae phragmosporae, familia de las tuberculariaceas, orden moniliales, clase Deuteromicetas (Fungi imperfecti). Algunos de sus géneros

son referidos a formas sexuales de *Nectria*, *Calonectria*, *Gibberella*, *Hy_pomices*, etc.

Se caracteriza por formar conidios acrógenos y de dos tipos: macroconidios, de forma muy variada, fusiformes, falcados, nunca cilindricos, comunmente pedicelados y tabicados, de 1 a 7 tabiques. Microconidios, hialinos, contínuos y con 1 o 2 tabiques, de forma oval, oblonga, elíptica, etc. Ambos tipos de fructificación se encuentran reunidos en un mismo esporodoquio. Clamidosporas, constituyen formas de resistencia y pueden ser terminales o intercalares, tanto en el micelio como en los macroconidios, de superficie lisa o verrugosa. El estudio sistemático de este grupo es muy complejo. (fig.4) (14)(6).

Pythium spp.- El género *Pythium* pertenece a la clase de las ficomicetas, orden oomicales, familia pitiáceas. Son de micelio hialino, bien desarrollado, contínuo cuando joven, al envejecer vierte el contenido citoplasmático y se tabica (falsos tabiques combados). Se caracteriza principalmente porque las zoosporas no se originan en el interior del zoosporangio, sino en una vesícula terminal lateral proyectada por él mismo. Los zoosporangios pueden ser terminales o intercalares, de dos tipos bien diferenciados:

- a) esféricos, subesféricos o elípticos.
- b) filamentosos, lobulados, más o menos hinchados. (corresponden a la antigua clasificación de *Nematosporangios*.)

Reproducción sexual heterogámica, con el oogonio terminal o intercalar, de superficie lisa o equinulada; el anteridio de disposición generalmente lateral y en número de 1 o varios para cada oogonio. Oóspora generalmente esférica, recubierta por una membrana gruesa y lisa de color amarillento o castaño con distintos tonos; puede hallarse separada o llenar bien la cavidad oogonial.

Las dos especies referidas como de mayor importancia en los almácigos son : *P. debaryanum* y *P. ultimum*, y poseen las siguientes características morfológicas:

P. debaryanum.- Micelio medianamente ramificado, apresorios y falsos tabiques presentes. Colonia aracnoide, vigorosa, abundante micelio aereo algodonoso en agar papa glucosado al 1%. Zoosporangios abundantes en todos los medios sólidos,

FIGURA 4

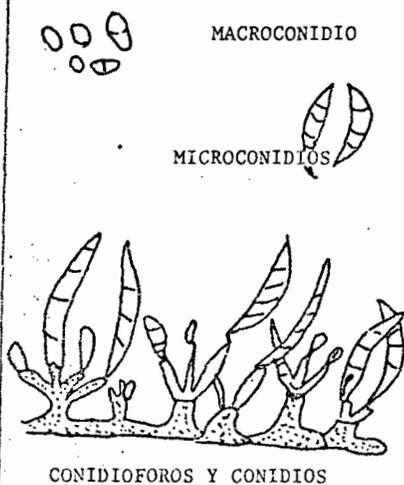


FIGURA 5

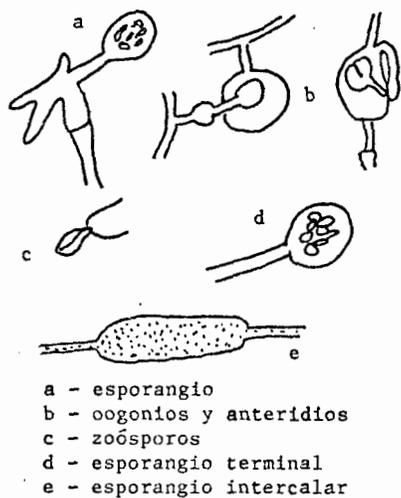


FIGURA 6

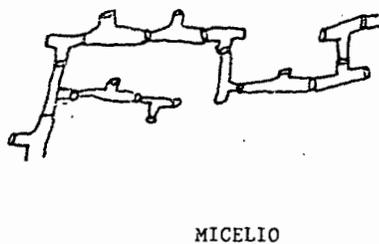
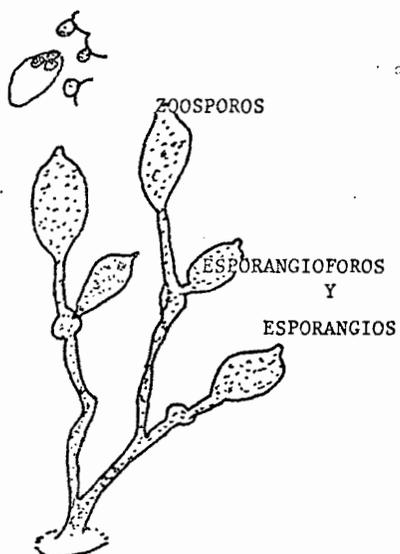


FIGURA 7



terminales o intercalares de 14.5 a 26.5 micras de diámetro, término medio 20.5 micras los esféricos y hasta 26x36.5 micras los elípticos en agar papa glucosado 1%. Aptitud para producir órganos sexuales abundantes en todos los medios sólidos. Oogonio normalmente esférico, hialino, terminal o intercalar, de 15 a 27.5 micras de diámetro en agar harina de maíz. Anteridio: 1 a 6 para cada oogonio, normalmente 2 a 3, monoclino o diclino, en algunos casos hipógino; célula anteridial globosa, claviforme alargada o curva. Oospora esférica con membrana medianamente gruesa, de 11.5 a 25.5 micras de diámetro en agar harina de maíz. Separada de la pared oogonial.

P. ultimum.- Micelio medianamente ramificado, abundantes apresorios y falsos tabiques al envejecer. Colonia aracnoidea, vigorosa, abundante micelio aereo algodonoso en agar papa glucosado 1%.

Zoosporangios abundantes en todos los medios sólidos, terminales o intercalares, esféricos o elípticos de 12 a 28 micras de diámetro, germinan directamente igual que los conidios. Raramente originan zoósporas. Aptitud para producir abundantes órganos sexuales en todos los medios sólidos. Oogonio esférico terminal de 19.5 a 23 micras de diámetro en agar papa glucosado 1%. Anteridio: 1 para cada oogonio, ocasionalmente 2, típicamente monoclino sésil o levemente pedicelado y ubicado en la base del oogonio. Oospora esférica, membrana gruesa de 13.5 a 18.5 micras de diámetro, separada de la pared oogonial (fig.5)(4)(6).

Rhizoctonia spp.-

Este hongo pertenece a la subclase de los micelios estériles, género *Rhizoctonia*, considerandosele forma estéril de un basidio miceto del género *Corticium* (*Corticium solani*; *Corticium vagum* y *Pellicularia filamentosa*).

Las hifas cuando jóvenes son hialinas de 6 a 12 micras de diámetro, vacuoladas, con tabiques gruesos, al envejecer adquieren color castaño rojizo; presentan las características de ramificarse en ángulo -

recto. Produce esclerocios en forma de masas miceliales, color blanco que luego se oscurecen hasta llegar a distintos tonos de castaño, irregulares, grandes, de 1 a 8 mm, visibles a simple vista, variando según las condiciones en que se producen; de consistencia dura y en cortes microscópicos muestran una constitución de hifas entrelazadas, de diámetro variable, cortas, elípticas, semejantes a diminutos barriles dispuestos en cadena.

En la forma sexual, las basidias se originan sobre ramificaciones miceliales, llevan 4 esterigmas que sostienen otras tantas basidiosporas, elípticas, hialinas de 7 a 16 x 5 a 15 micras. (fig.6) (14).

Phytophthora spp.- Es uno de los microorganismos más estudiados, puesto que es el agente causal de enfermedades muy importantes en cultivos como papa y jitomate; causante del tizón tardío y el Damping off.

Según Sarasola (14), el hongo fué descrito por Montagne en 1845 como *Botrytis infestans*; luego durante algún tiempo fué tratado dentro del género *Peronospora*, hasta que en 1875 De Bary propuso el nuevo género *Phytophthora* (del griego *Phyton*-planta y *phtheiros*-destructor), sobre la base del modo peculiar de producir los conidios. Se caracteriza por su micelio cenocítico inter e intracelular muy ramificado y hialino.

Su desarrollo en medios de cultivo es vigoroso, blanco, algodonoso o aplanado. Los esporangióforos salen a través de los estomas de las hojas y por las lenticelas en los tubérculos.

Los esporangios son de forma ovoide (semejantes a un limón) con papilas y un leve resto de pedicelo. Miden de 22 a 36 x 14 a 23 micrones. Al principio se encuentran en la parte terminal del zoosporangióforo, pero debido al crecimiento indefinido de éste, pasan a ser laterales. Los ensanchamientos que se producen en los esporóforos indican los lugares donde se ha efectuado la esporulación.

Esta forma de los esporangióforos es típica de *Ph. infestans* y sirve para diferenciarlo de hongos muy relacionados con él. La maduración de los esporangios es desigual debido al desarrollo de los esporangióforos y la producción de los mismos.

El desarrollo del hongo en diferentes medios de cultivo-

artificiales, según Crosier (1934) es óptimo en temperaturas de 21°C, - pero admite que entre 18 y 24°C también es favorable. Las temperaturas críticas son la mínima de 3°C y la máxima de 30°C.

La producción de esporangios o zoosporangios es óptima - en un 100% de humedad relativa y con menos de 91% no se forman. La temperatura óptima para ello se encuentra entre 18 y 22 °C y su formación es rápida y abundante apareciendo dentro de las 8 horas y son muy numerosos a las 14 horas. Las temperaturas críticas para la esporulación en atmósfera saturada son de 3 y 23°C. La luz y la oscuridad no alteran su formación. Los esporangios son multinucleados, entre 7 y 30 núcleos. - Germinan ya sea liberando zoosporos o actuando directamente como conidio pero necesita hallarse en un medio apropiado, como pequeñas gotas de - agua. Con temperatura superior a 20°C. En ambiente seco pierden su viabilidad rápidamente (3 a 4 horas) y en ambiente húmedo bastante más - rápido (5 a 15 horas). La temperatura es un factor fundamental en la forma de germinación de los esporangios. Los esporangios formados entre los 10 y 15 grados se hallan en condiciones de germinar con un ambiente de humedad relativa superior al 60% en dos o tres horas. En cambio, esta - propiedad se limita cuando los esporangios se forman con temperaturas superiores.

La temperatura óptima de germinación indirecta, es de - 12°C y la de germinación directa de 24°C.

La germinación indirecta se realiza liberando los zoosporangios zoosporos biflagelados, en cambio la directa produce un tubo - germinal. Los zoosporos después de su liberación están en constante movimiento, el cual van perdiendo gradualmente hasta quedar en reposo. Son móviles desde 15 min. a 24°C, hasta 24 horas a 12°C. Treinta minutos después de alcanzar el reposo, a 12°C, los zoosporos pierden su flagelo y emiten un tubo germinativo que si se halla sobre una hoja o algún - tubérculo, produce infección.

La germinación de los zoosporos puede ocurrir entre 3 y 28°C; al menos debe esperarse un 70% de germinación entre 6 y 24°C. El hongo se desarrolla rápidamente sobre los tejidos, a temperaturas de - entre 20 y 23°C, en los tallos, puede tolerar temperaturas intermitentes hasta de 40°C (fig.7) (6).

2.3.4 Patogénesis

El primero que dió información sobre la penetración de los zoósporos fué De Bary, quien indicó que la penetración era directa y que ocurría aproximadamente a las dos horas después de la inoculación con los zoósporos.

Los zoósporos se enquistan, germinan y producen apresorios. Los apresorios son ligeramente más pequeños que los zoósporos enquistados. El protoplasma pasa a través del tubo germinativo hacia el apresorio. Este último puede ser confundido con el zoósporo enquistado y sacar como conclusión que la penetración tubo lugar directamente sin la ayuda del apresorio. El protoplasma pasas desde el apresorio, por el cono de penetración para formar el micelio primario. Este origina un micelio secundario, en forma de dedos que invaden los tejidos. La penetración se cumple dos horas después con los zoósporos móviles, tanto en variedades resistentes como susceptibles. La desintegración del micelio primario y la muerte de las células alrededor del punto de penetración ocurre entre 48 y 72 horas después de la inoculación. En muchos casos, la penetración ocurre directamente en la epidermis, pero puede hacerlo por los estomas. Los autores señalan que si bien la presión es responsable de la penetración, hay evidencia de que ciertas sustancias actuaban con anterioridad, provocando un cambio en la constitución de la pared celular que facilita la invasión del hongo.

En algunas plantas, la infección se realiza a través del pedúnculo o directamente por las heridas.

El micelio al desarrollarse entre las células emite haustorios que las invaden. La incubación de Phytophthora es variable dependiendo de las condiciones ambientales. En condiciones óptimas, o sea con temperaturas de alrededor de 21°C y 100% de humedad relativa, los tejidos inoculados con zoósporos muestran los primeros síntomas al tercer día y la producción de esporangios y zoósporos en los días subsiguientes. En condiciones naturales, con irregularidad en temperatura y porcentaje de humedad relativa, la manifestación de síntomas se demora mucho más. El tiempo en que tarda el hongo en producir esporas después de la inoculación es diferente según la variedad. Una vez establecido el patógeno y producidas reinfecciones por condiciones muy óptimas para su

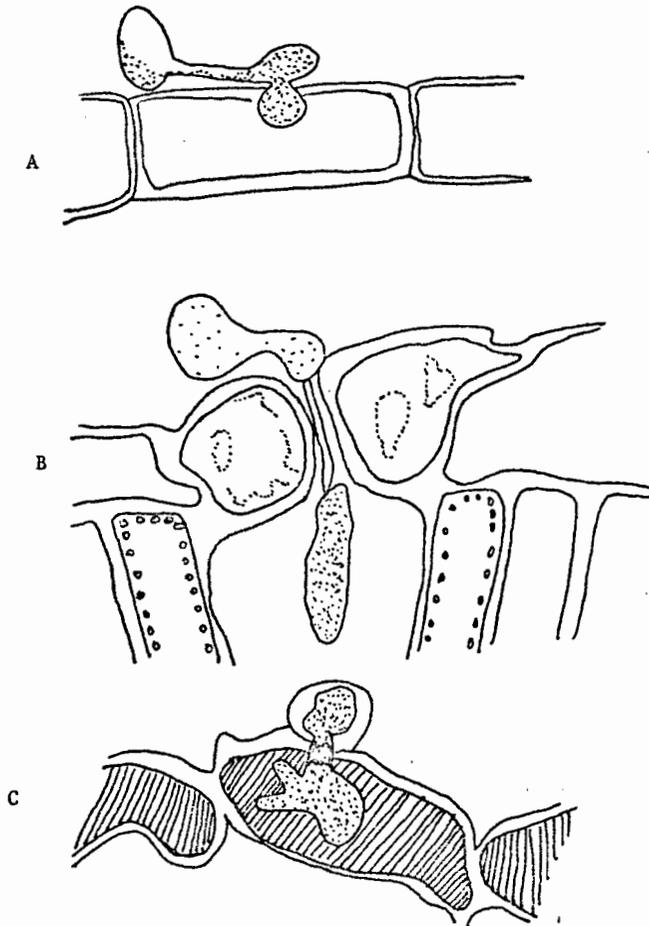


FIG.No.8. MECANISMO DE INFECCION DE LOS HONGOS.

A.-Penetración a través de las células epidérmicas, mostrando el apertorio y formación del micelio primario.

B.- Penetración a través del estoma.

C.- Micelio secundario formado del primario con prolongaciones que se asemejan a dedos. El zoósporo original y el tubo germinativo han desaparecido.

desarrollo, puede matar las plantas en tres días aproximadamente. (fig. 8 y 9)(14).

2.3.5 Sintomatología.

La mayoría de los autores coinciden al describir este punto, en que la característica principal del Damping-off es ocasionar en la planta dañada un estrangulamiento en la base del tallo, a la altura del suelo, lo que le provoca un marchitamiento, caída y muerte.

Según García (7), "se observan al principio, fallas en la población de plantas de brote reciente. Al extraer del suelo semillas germinadas o plantitas marchitas, se observa la pudrición de semillas, de los embriones y del cuello de la plantita, es decir, de las partes del tallo más cercanas a la superficie del suelo, presentando en esta zona un estrangulamiento y la pudrición de los tejidos".

Menciona la bibliografía, también dos tipos de Damping-off, el preemergente y el postemergente. (7)(8)(14).

" Hay diversos conceptos respecto a la explicación del complejo Damping-off como enfermedad, pero en general, concuerdan en la existencia de dos modalidades: una proveniente del efecto que causan los microorganismos en la semilla durante el periodo de germinación, designado como Damping-off preemergente y otra, que tiene su iniciación hasta después que la plántula ha emitido sus hojuelas cotiledonares por encima del nivel del suelo, llamada en este caso Damping-off postemergente.

Respecto a los mecanismos de infección, se afirma que en el primer caso los microorganismos del Damping-off pudren o dañan la semilla o matan a las plántulas antes de que estas nazcan; es decir, que el peligro de infección existe desde el momento en que la semilla germina, manifestandose por necrosis del hipocotilo y de los cotiledones.

En el caso del Damping-off postemergente las plántulas brotadas no estarán fuera de peligro mientras sus tallos sean todavía tiernos y suculentos, sino hasta que éstos hayan desarrollado una cantidad considerable de tejido leñoso, lo que ocurre al término de dos o tres meses (lapsos variables dependiendo de la especie cultivada) (8).

Se admite que la invasión de los hongos opera por los estomas, por la raíz y cuello y que es factible hasta los 15 a 25 días de

nacida la plantita.

En divesas especies forestales y frutales, las plantitas atacadas no caen inmediatamente, permanecen erguidas por algún tiempo, - hasta total marchitamiento. En la naturaleza no se ha observado detalle alguno que permita identificar cual es el organismo causante de la enfermedad. Unicamente en el caso específico de *Sclerotinia rolfsii* se observa con frecuencia en la parte necrosada, una masa de micelio, blanca y compacta.

En la región lesionada se observa siempre necrosis de los tejidos, en parte disociados e invadidos por la hifas continuas o tabicadas. (14).

2.3.6 Aislamiento del patógeno.

Cuando se trata de identificar el agente causal de alguna enfermedad, puede hacerse en algunos casos, el diagnóstico cuando se observa a simple vista o bajo el microscópio, como cita Agrios (1) y -añade..." sin embargo, hay muchas enfermedades bacterianas y fungosas - en las que es imposible identificar al patógeno que se encuentra mezclado con uno o más contaminantes, pues aún no ha producido sus cuerpos fructíferos característicos y esporas, debido a que una misma enfermedad puede deberse ya sea a varios patógenos morfológicamente semejantes o - tal vez a algún factor del medio ambiente, o bien a que la enfermedad es producida por un nuevo patógeno hasta ese momento desconocido, el cual - debe aislarse y estudiarse. Como es habitual, los patógenos de enfermedades desconocidas deben aislarse de los tejidos enfermos de una planta a fin de que se pueda llevar a cabo un estudio de sus características, hábitos, etc.

2.3.6.1 Requerimientos para el aislamiento del patógeno

Siempre que se desee aislar una bacteria o un hongo patógeno de los tejidos de una planta enferma, deben llevarse a cabo los siguientes procedimientos preliminares:

- 1.- Esterilización del material de cristalería, que incluye cajas de Petri, tubos de ensayo, pipetas, etc. - mediante calor seco (de 150 a 160°C durante una hora

o más) o autoclave o sumergiéndolo durante un minuto o más en una solución de ácido sulfúrico -dicromato de potasio, cloruro mercuríco 1:1000, en formalina al 5% o en alcohol etílico al 95%. Todo el material de cristalería que se trate químicamente, debe enjuagarse por lo menos tres veces en agua estéril (esterilizada en autoclave o mediante ebullición).

2.- Preparación de soluciones para tratar la superficie del tejido infectado, con el fin de reducir notablemente los contaminantes de superficie que pudieran interferir en el aislamiento del patógeno. Estas soluciones se utilizan como un limpiador de superficie o como un baño. Los compuestos esterilizantes de superficie que más frecuentemente se utilizan incluyen: una solución de hipoclorito de sodio al 5.75% (una parte de clorox y 9 partes de agua) la cual se utiliza para limpiar tejidos infectados o para sumergir cortes de ellas y para limpiar las mesas de trabajo antes de efectuar el aislamiento del patógeno; alcohol etílico al 95% el cual es modificado y se utiliza para sumergir hojas durante 3 segundos o más; cloruro mercuríco 1:1000 durante un periodo de 15 a 45 segundos; finalmente cloruro mercuríco en la proporción 1:1000 en alcohol etílico al 50% (solución Rada). Los tejidos deben secarse con un trozo de papel estéril cuando sean tratados con las dos primeras soluciones, pero deben pasarse por tres cambios de agua estéril cuando sean tratados con las tres últimas soluciones.

3.- Preparación de los medios de cultivo en los que se desarrollan bacterias y hongos fitopatógenos. Pueden utilizarse un número casi infinito de medios de cultivo para cultivar bacterias y hongos fitopatógenos. Algunos de ellos son totalmente sintéticos -hechos a base de cantidades conocidas de ciertos compuestos químicos- y por lo común son bastante específicos para ciertos tipos de pató

genos. Algunos de ellos son líquidos o semilíquidos y se utilizan principalmente para el cultivo de bacterias y hongos en ciertos casos. La mayoría de los medios de cultivo contienen un extracto de una fuente natural de carbono en forma de carbohidratos y otros tipos de nutrientes, tales como papa, harina de maíz, habas o extracto de malta, a los que se añaden cantidades variables de agar para solidificar el medio y formar un gel en el que el patógeno debe desarrollarse y poder ser observado. Los medios de cultivo que con mayor frecuencia se utilizan son : papa-dextrosa-agar (PDA) el cual es bueno para la mayoría de los hongos (pero no para todos, el agar-agua o el agar-glucosa (de 1 a 3 % de glucosa en agar-agua), que se utiliza para separar algunos hongos (como es el caso de *Phytium* y *Fusarium*) de bacterias; - por último, el agar nutritivo el cual contiene peptona y extracto de carne y es útil para aislar bacterias fitopatógenas. Los hongos pueden también separarse del cultivo de bacterias (es decir, impedir el desarrollo de bacterias) al añadir al medio una o dos gotas de ácido láctico al 25% (el cual inhibe el desarrollo de las bacterias) a 10 ml. del medio de cultivo antes de vertérlo en las cajas de Petri.

Las soluciones del medio de cultivo se preparan en matraces que posteriormente se tapan y colocan en un autoclave a 121°C y a 15 lbs' de presión durante 15 min. Los medios de cultivo se dejan enfriar durante algún tiempo y posteriormente se vierten en cajas de Petri, tubos de ensayo u otros recipientes apropiados, previamente estériles. En caso de que al medio se le añada agar, deberá dejarse que éste se solidifique para que el medio de cultivo pueda entonces ser utilizado para cultivar hongos o bacterias. El vaciado del medio de cultivo en cajas de Petri, tubos de ensayo, etc. debe llevarse a cabo lo más asépticamente posible, ya que puede contaminarse, y debe aislarse en

una sala de cultivos apartada, o una pieza limpia y libre de corrientes de aire y polvo. En cualquiera de los casos, la mesa debe limpiarse con una solución de clorox al 10%, las manos de la persona deben estar limpias y el material de laboratorio tal como escalpelos, pinzas o agujas, debe sumergirse en alcohol y flamearse para impedir la introducción de microorganismos contaminantes.

Debe tenerse en cuenta, que de los distintos fitopatógenos, las bacterias son los únicos microorganismos en los que todos sus miembros pueden crecer en medios de cultivo.

Aún cuando la mayoría de los hongos se cultivan con facilidad en medios nutritivos, algunos de ellos tienen requerimientos exigentes y específicos, por lo cual no se desarrollarán en la mayoría de los medios de cultivo comunmente usados. Los grupos de hongos llamados zygomycetales, que producen las cenocíticas y los Peronosporales que producen los mildiús, se consideran parásitos obligados estrictos, debido a que no se han podido cultivar en medios de cultivo artificial. Hasta hace poco se pensaba también que el grupo de los Uredinales (royas) estaba constituido por parásitos obligados estrictos. Sin embargo, solo hasta hace algunos años fué posible desarrollar en cultivo algunas de las etapas del ciclo de vida de algunas royas mediante la adición de ciertos componentes a los medios, lo cual permitió que esos hongos ya no fueran considerados entre los patógenos parásitos obligados. Del resto de los patógenos, solo algunos espiroquetales se han podido desarrollar en medios de cultivo artificial. Hasta ahora no se han podido mantener en medios nutritivos ninguno de los 50 o más organismos semejantes a las micoplasmas, ni a las bacterias del tipo de las rickettsias, virus, nemátodos o protozoarios, pero se espera que en breve se descubran otros medios para cultivarlos. (1).

2.3.6.2 Procedimiento para el aislamiento.

A partir de hojas.

En caso de que la infección de las hojas de una planta avance en forma de tizón o una mancha foliar fungosa y en caso de que las esporas del hongo aparezcan sobre su superficie, algunas de esas esporas

deben depositarse sobre una caja de Petri que contenga medio de cultivo o bien deben recolectarse con la punta de una aguja estéril o un escalpelo y colocarse sobre la superficie del medio de cultivo. Si el hongo crece en cultivo, al cabo de unos cuantos días aparecerán colonias de micelio aisladas debido a la germinación de las esporas. Estas se resembran en cajas separadas y de esta forma se aseguran de contener el patógeno libre de contaminantes microorganismos.

En ocasiones, el aislamiento del patógeno a partir de tizones y manchas foliares se logra mediante la esterilización superficial de la zona infectada, con soluciones de clorox o Rada, separando una pequeña porción del tejido infectado con un escalpelo estéril u otro objeto y colocándola en una caja de Petri con algún medio nutritivo.

Sin embargo, el método más común para aislar a los patógenos de las hojas infectadas y de otros órganos de la planta es aquél en el que se seleccionan varios cortes pequeños de 5 a 10 mm² a partir del borde de la lesión infectada, a fin de que contengan tejidos infectados y tejidos al parecer sanos. Esos cortes se colocan en una de las soluciones esterilizantes de superficie, lo cual asegura que esas superficies se humedezcan y al cabo de 15 o 30 seg. los cortes se toman asépticamente uno por uno a intervalos regulares de tiempo (por ejemplo cada 10 o 15 seg.), a fin de que cada uno de ellos se esterilice (a nivel superficial) a diferentes tiempos. Posteriormente, los cortes se secan en trozos limpios de papel estéril o pasan por tres cambios con agua estéril y por último se colocan sobre el medio de cultivo, por lo común, de 3 a 5 trozos por caja de Petri. Los cortes esterilizados en su superficie durante menos tiempo, generalmente contienen al patógeno y a varios contaminantes, mientras que los que se han esterilizado por más tiempo no permiten el desarrollo de otros tipos de organismos, debido a que han sido destruidos por el esterilizante de superficie. Sin embargo, algunos de los cortes depositados en el esterilizante de superficie durante periodos intermedios que sólo permiten que el patógeno se desarrolle y forme colonias puras en el medio de cultivo, ya que se ha dejado que el esterilizante actúe el tiempo suficiente para destruir a todos los contaminantes de superficie, pero no el tiempo necesario para destruir al patógeno, el cual se ha propagado desde el tejido enfermo, hasta el te

jido sano. Posteriormente, las colonias del patógeno se resiembran asépticamente para su posterior estudio.

El hecho de que los cuerpos fructíferos del hongo (como en el caso de los picnidios y los peritecios) aparezcan sobre las hojas del hospedero, en ocasiones facilita su recolección y permite depositar los durante varios segundos en el esterilizante de superficie, para más tarde sembrarlos en el medio de cultivo. Sin embargo, este procedimiento requiere que la mayor parte de la técnica se efectúe bajo microscopio estereoscópico (binocular), debido a que los cuerpos fructíferos del hongo generalmente son demasiado pequeños para observarse a simple vista. Las estructuras reproductoras (después de haberlas tratado con un esterilizante de superficie) pueden también presionarse en una gota de agua estéril y diluir después sus esporas en una forma serial en agua estéril contenida en cajas de Petri y en pequeños tubos de ensayo. Por último, algunas gotas de cada uno de los tubos de la dilución serial se colocan en un medio de cultivo a fin de que se desarrollen en ellas colonias individuales libres de contaminantes, a partir de esporas que han germinado y que se han obtenido a partir de algunos tubos de dilución serial. (1).

2.3.7 Condiciones favorables para su desarrollo.

Los diversos medios y mezclas que se utilizan para la propagación de plantas de invernadero y para la germinación de semillas, así como para almácigos, cuentan, invariablemente con un contenido especial de materia orgánica, característica que aunada al tipo de condiciones ambientales, favorece el desarrollo de hongos fitopatógenos, entre los cuales se presentan con mucha frecuencia el agente o agentes causales de la enfermedad del Damping-off.

Por todo lo anterior, en cualquier método de control del Damping-off que quiere seguirse en las etapas iniciales del cultivo silvícola, y de cualquier tipo de especie, deben tenerse en cuenta las condiciones que propician el ataque de los agentes patógenos y la dispersión del mal, como son:

- 1). Elevada humedad del aire
- 2). Períodos prolongados de humedad
- 3). Altas temperaturas del suelo
- 4). Suelo altamente orgánico
- 5). Contenido de humedad del suelo
- 6). Acidéz
- 7). Semilleros mal drenados
- 8). Siembra densa
- 9). Demasiada sombra
- 10). Tiempo inapropiado de siembra

2.3.8 Identificación del hongo

Los métodos establecidos en fitopatología para la identificación de un microorganismo, fueron adaptaciones a los postulados de Roberto Koch (1881) a saber:

1.- El patógeno debe estar siempre asociado con la enfermedad y a su vez, la enfermedad no debe aparecer sin que el organismo esté o haya estado presente.

2.- El patógeno debe aislarse en cultivo puro y observarse sus características específicas en el medio de cultivo (parásito no obligado) o sobre la planta huésped (parásito obligado).

3.- El patógeno debe inocularse sobre plantas sanas de la variedad o especie susceptible y debe producir los síntomas de la enfermedad.

4.- El patógeno debe aislarse nuevamente de la planta huésped inoculada y sus características deben ser exactamente como las observadas con anterioridad. (11)

En cuanto a la clasificación sistemática de los hongos fitopatógenos, tenemos que se ha establecido el uso del compuesto trinomial en latín, para género, especie y variedad, como cita Sarasola (14) y añade: "...la especie abarca grupos de individuos reconocibles por caracteres morfológicos perfectamente señalados, de acuerdo con las exigencias micológicas lo mismo que prácticas. La variedad se distingue por características morfológicas de menor importancia que para las empleadas en las 'segregaciones específicas'".

Una categoría adicional aplicada a subdivisión de especies y variedades es la facilitada por la denominación de "Formae" a utilizarse para distinguir características fisiológicas en vez de caracteres morfológicos. Las formas, se estableció designarlas con números árabes.

Siendo *Fusarium* spp el género de hongo más común encontrado en lo suelos y que a su vez, también es causante de la enfermedad conocida como Damping-off, a continuación se hace conocer una clave para la identificación de los *Fusarium* spp. Confeccionada por los autores - Messiaen-Cassini, realizada en base a la sistemática de Snyder y Hansen [citados por Sarasola (14)].

CLAVE PARA LA IDENTIFICACION DE FUSARIUM SPP.

A. MICROCONIDIOS PRESENTES

- 1) Microconidios piriformes, conidióforos forma botella, color: castaño, rojo, rosado, blanco, amarillo, beige.

F. tricinctum.

- 2) Microconidios elípticos

- a) Macroconidios muy grandes (con más de 9 tabiques), macroconidios en cadena, conidióforos ramificados, color: castaño, rojo, rosado, blanco, amarillo y beige.

F. rigidiusculum

- b) Macroconidios medianos (raramente con 5 tabiques).

- 1).- Coloración castaño, rojo, rosado, blanco, amarillo beige.

Microconidios agrupados sobre conidióforos ramificados, entremezclados con macroconidios de curvatura y talla irregular. Colonia del tipo pulverulento con formación de colonias secundarias en el formo del tubo.

F. roseum v. *arthrosporoides.*

- 2).- Coloración anaranjada, violácea, rosada, blanca verdosa.

Clamidosporos ausentes.

Microconidios en cadena.

F. moniliforme

Microconidios en falsas cabezas.

F. moniliforme v. *subglutinans*

- 2.- Crecimiento lento a 25°C (micelio blanco poco fructífero), crecimiento rápido a 18°C con producción de abundantes conidios en camadas pionónicas, rosadas; macroconidios obtusos en ambas extremidades.

F. nivale.

- b) Crecimiento rápido (más de 4 cm por día) a 25°C y a 18°C, macroconidios pedicelados, coloración castaño rojo, rosado, anaranjado, blanco, amarillo, beige.

F. roseum

- 1.- Clamidosporos numerosos en cultivo; macroconidios arqueados.

F.roseum v. gibbosum

- 2.- Clamidosporos poco abundantes en cultivo.

Macroconidios con el ápice más arqueado que la base (falciformes), ancho menor de 5 en su parte media, producidos en esporodocios (microesporodocios muy abundantes, generalmente fusionados en una masa esponjosa, rosa-anaranjada.

F. roseum v. sambucinum

Macroconidios con un ancho mayor de 5 , cualquiera que sea la cantidad de tabiques; extremidades poco puntiagudas. Coloración rojo carmín, del estroma constante.

F. roseum v. culmorum

- 3.- Clamidosporos ausentes.

Macroconidios cuyo ancho está comprendido entre 3 y 6 .
Estroma rojo carmín.

F. roseum v. graminearum

Macroconidios más largos (más de 50) y delgados (ancho menor de 3). Estroma generalmente rojo carmín.

F. roseum v. avenaceum. (14)

Clamidosporos presentes

Microconidios en falsas cabezas, sobre conidióforos cortos.

Macroconidios anchos inf. a 4 .

F. oxysporum.

3.- Coloración índigo, gris violáceo, gris violáceo, gris - azulado, gris verdoso, verde azul, blanco amarillo, beige.

Microconidios producidos en jóvenes cultivos, sobre conidióforos alargados, por lo general mezclados con los macroconidios. En cultivos viejos los macroconidios dominan y su ancho es mayor de 4 . Clamidosporos presentes.

F. solani

B. MICROCONIDIOS AUSENTES

1) Coloración de la colonia así como los restantes caracteres, idéntico a lo expresado para F. solani. La única diferencia está en que algunas especies no producen microconidios.

2) Coloración castaño, rojo, blanco, amarillo, beige, anaranjado, verdoso.

a) Crecimiento lento a 25°C (menos de 4 cm por día)

1.- Crecimiento más lento a 18°C, esporodoquios abundantes o pinnos contínuos.

Macroconios muy largos (más de 50) provistos de 8 tabiques o más.

F. episphaeria v. dgigas

Macroconidios medianos (3 a 5 tabiques) forma medialuna con ambas extremidades puntiagudas.

F. episphaeria

Macroconidios bicelulares, forma medialuna.

F. episphaeria v dimerum

Macroconidios medianos, pedicelados en su base y atenuados en forma de pico en el ápice.

F. lateritium

2.4 METODOS DE CONTROL

2.4.1. Generalidades

Es difícil indicar procedimientos altamente eficientes para el control del Damping-off, aplicables bajo cualquier condición de semillero, debido a que el mal es causado por gran número de hongos diferentes; que no hay una relación constante entre los factores ambientales y la enfermedad, ni entre el grado sensitivo de los hongos patógenos al efecto de los fungicidas. Sin embargo, hay numerosos trabajos en los que se reporta su prevención y combate por diferentes procedimientos, tanto químicos como biológicos y físicos y por medio de la propagación de especies de plantas resistentes.

Según Messianen (12) "las enfermedades parasitarias pueden combatirse de tres formas", a saber:

- 1.- Utilizando productos que son al mismo tiempo venenosos para el parásito e inofensivos para la planta y el consumidor. Estos son, en el caso de las fungosis, los fungicidas.
- 2.- Modificando las prácticas culturales, de tal forma que el sistema sea desfavorable al parásito.
- 3.- Introduciendo, por hibridación y selección, factores de resistencia hereditarios (genes de resistencia) en las variedades cultivadas.

2.4.2.- Desinfección del suelo

"Un terreno al que se le han eliminado todos sus microorganismos vivos (esterilizado en un autoclave a 120°C por ejemplo), se convierte en un medio inerte, poco favorable para el desarrollo de las plantas.

Se puede sin embargo, considerar la posibilidad de eliminar del suelo todos los organismos del tipo animal (insectos, nemátodos, protozoarios, etc) y también de todos los hongos, conservando las bacterias, con el fin de asegurar la continuidad de algunas funciones que son fundamentales (descomposición de los restos vegetales y animales, nitrificación, fijación de nitrógeno, etc.), todo esto puede conseguirse de un

modo más o menos perfecto, gracias a que las bacterias son resistentes a los tratamientos de tipo violento que matan a los animales y a los hongos, como es el ejemplo del empleo de vapor a 100°C o el uso de ciertos productos tóxicos llamados fumigantes.

Estos suelos, en los cuales la microflora queda representada tan sólo por bacterias, son medios donde las plantas se desarrollan perfectamente y muy adecuados para dedicarlos a cultivos de semilleros.

Esta esterilización parcial es, sin embargo, de una duración más bien corta. Los hongos, particularmente reinfecan el terreno rápidamente, ya sea gracias a nuevos gérmenes aportados por la atmósfera y el viento, las aguas de riego o el propio manejo del agricultor y los instrumentos de labor, o bien, capas más profundas del terreno que no lo gran su desinfección. Si desgraciadamente es un germen parásito el que se instala primero en el terreno limpio, podrá desarrollarse perfectamente, ya que no tiene competencia de ninguna clase, creando entonces un problema de enfermedad grave. Es por ejemplo lo que podría ocurrir cuando después de desinfectar el terreno, se emplean semillas o bulbos de plantas contaminadas.

Aparte de esa esterilización casi total del suelo, se puede pensar también en aplicar a un suelo infectado, un producto más específico y persistente, selectivo para el cultivo y tóxico para el hongo. (12).

2.4.2.1 Desinfección del suelo por vapor.

El vapor de agua, al atravesar el terreno a 100 grados centígrados durante 10 a 20 min. esteriliza el terreno parcialmente en la forma descrita anteriormente. El vapor es un gas ligero (densidad 0.6 respecto al aire), con una cierta tendencia a elevarse. No se puede esperar, pues, que penetre y profundice en el terreno por sí solo. Se desinfectará una capa del suelo mayor o menor, según que el vapor permanezca en la zona superficial o descienda a mayor profundidad.

La tierra es más fácil de calentar que el agua, pues el "calor específico" de ésta es más elevado (del agua). Es por lo tanto, más fácil calentar a 100°C un terreno seco que otro húmedo. Por lo cual no será nada aconsejable efectuar un riego antes de proceder a la desin-

fección por medio de vapor. El agua se forma por condensación del vapor, moja suficientemente el suelo. son varios los métodos que se utilizan para la desinfección por medio de vapor. (12).

Aunque el término "esterilización del suelo" se ha establecido en el uso común, una palabra más exacta es Pasteurización, ya que durante el proceso de calentamiento recomendado no se mata a todos los organismos.

Para tratamientos de suelos el vapor es la mejor fuente de calor y la de empleo más común. El calor húmedo es ventajoso; puede inyectarse directamente al suelo, a depósitos cubiertos, o a los bancos, desde tubos perforados colocados de 15 a 20 cms debajo de la superficie. Al calentar el suelo, que debe estar húmedo pero no mojado, la recomendación estándar ha sido de una temperatura de 82°C durante 30 minutos, ya que ese tratamiento mata a la mayoría de las especies de hongos del suelo y bacterias nocivas, así como a nemátodos e insectos y a la materia de semillas de malezas. Sin embargo puede resultar conveniente una temperatura más baja, como 60°C por 30 minutos, ya que a esa temperatura es menos probable que mate a los organismos antagónicos -benéficos-, los cuales, de estar presentes, impedirán el crecimiento explosivo de los organismos dañinos al recontaminar el suelo. Usando la temperatura menor también se tiende a evitar los problemas de toxicidad del suelo, tales como la liberación de exceso de nitritos y de amoníaco así como los daños por manganeso, que se presentan en muchos casos al emplear temperaturas mayores de aplicación del vapor.

El aire mezclado con vapor (vapor aireado) en la proporción de 4.1 a 1 por volúmen dará una temperatura de 60° centígrados. Esta temperatura no matará a muchas semillas de malezas pero si se mantiene durante 30 min y el suelo está húmedo, matará a la mayoría de las bacterias y hongos patógenos. El diseño del equipo para mezclar aire y vapor en la proporción deseada presenta algunas dificultades, pero se han diseñado equipos que funcionan con éxito. (9).

Campanas. Van unidas por un tubo a un generador de vapor; no permiten desinfectar más de 5 a 10 cm de espesor, según la textura de el suelo. La desinfección de un metro cuadrado, por este método (el más

económico pero el que menos profundiza en el terreno), cuesta muy poco, según el aparato utilizado y por un tiempo que oscila entre 5 y 10 minutos a partir del momento en que aparece en la superficie. La operación dura alrededor de 20 min. para los rastrillos de 30 cm. El costo de la operación con los rastrillos es mucho más elevado que con las campanas.

Instalaciones fijas. Constan de tubos con orificios, enterrados. Se utilizan en cultivos de invernadero. Los principios en que se basa la instalación, son los mismos que en los rastrillos. En lugar de esterilizar la tierra de asiento, se puede esterilizar también la tierra destinada al llenado de macetas, etc.

En tal caso pueden seguirse dos métodos:

- Método de Bergerac.- consiste en calentar la tierra sobre una plancha de hierro, debajo de la cual se quema leña. Se pone una caja de tierra de 20 cm y se riega abundantemente para que se forme mucho vapor. El tratamiento debe durar de 10 a 15 min. Este artefacto es recomendable por la facilidad que podría tener el agricultor y con el mínimo desembolso. El generador de vapor móvil, utilizado para alimentar las campanas puede ir también empalmado a una serie de tubos metálicos acabados en punta, con un orificio final; estos tubos se introducen en un barreno de 500 a 1 000 litros, lleno de la tierra que ha de esterilizarse.

Los mantillos destinados a la desinfección por vapor, pueden ser menos ricos en nitrógeno orgánico que los mantillos corrientes. Efectivamente, la esterilización reduce al mínimo la competencia que otros organismos originan a las bacterias que producen el amoniaco, las cuales han conseguido, alrededor de 15 días después, un notable aumento de nitrógeno soluble.

De esta sencilla manera, se consiguen riquezas en nitrógeno en los mantillos esterilizados, que llegan a ser 4 veces más ricos que los no tratados. Por ello, se corre el riesgo de llegar a concentraciones fitotóxicas. (9) (12)

2.4.2.2 Fumigación química del suelo.

La fumigación con materias químicas mata los organismos de el suelo sin alterar su naturaleza física y química al grado que sucede - cuando se trata con vapor. Después de la fumigación química puede haber un aumento en la producción de amoníaco, debido a la supresión de organismos antagonísticos a las bacterias amonificadoras. La tierra debe estar húmeda (entre 40 y 80% de la capacidad de campo) y a temperaturas de 18 a 24°C para lograr resultados satisfactorios.

El control químico ha sido objeto de numerosas investigaciones, lo que indica la importancia del control del Damping-off; sin embargo, no han sido encontradas aún las medidas de control efectivas aplicables universalmente. Las más comunes emplean productos químicos industriales, de los que se exige únicamente ser inofensivos a la planta pero suficientemente inhibidores del desarrollo del patógeno, directa o indirectamente; no peligrosos en su manejo y baratos. (8)

2.4.3. Tratamientos al suelo.

Los compuestos que aumentan la acidez del suelo, han sido usados desde hace mucho tiempo, para reducir el Damping-off en cultivos - como el de las coníferas, causado por los géneros de hongo Rhizoctonia y Pythium. Los más ampliamente usados han sido el sulfato de aluminio, el ácido sulfurico, ácido acético, ácido fosfórico y el sulfato ferroso.

Los ácidos, bajo ciertas condiciones, pueden coadyuvar con la resistencia natural de las plantas hospedadoras, así como favorecer - el antagonismo de otros organismos no patógenos del suelo. En otras condiciones pueden producir alteraciones sobre la disponibilidad de los nutrientes y la estructura del suelo, debilitando a las plantas y dando lugar al establecimiento del Damping-off y a la reducción de la capacidad de germinación de las semillas.

El control químico por fumigantes como el formaldehído o - el bromuro de metilo puede ser muy efectivo, pero tiene serias desventajas, ya que el tratamiento debe incluir todo el suelo de tiestos, de semilleros o de grandes áreas en el campo, por lo que resulta costoso. Su aplicación elimina también a los microorganismos antagonísticos, por cuyo motivo las reinfestaciones pueden frustrar el esfuerzo hecho, ya que a menudo resultan más agresivas que si no hubiera sido aplicado ningún trata-

miento anterior. Finalmente, limitan su uso las dificultades para su manejo y aplicación, puesto que son peligrosos y tóxicos para el hombre. A pesar de estas desventajas, la fumigación al suelo es comunmente practicada especialmente en invernaderos.

Algunas sustancias químicas, sólidas o en soluciones, han sido usadas como fumigantes, porque al descomponerse en el suelo, liberan compuestos volátiles activos.

Hay nuevos métodos para la aplicación de fumigantes volátiles o líquidos, mediante materiales porosos que absorben el fumigante y lo liberan en el suelo, un ejemplo es el dibromuro de etileno en vermiculita, para control de ciertas enfermedades por nemátodos en el tabaco y el tomate. Se ha observado que este tratamiento químico no evita las micorrizas pero tiene efectos fitotóxicos que hacen inconveniente su uso después que la semilla ha germinado.

Hay procedimientos como los que se llevan a cabo en semilleros de Inglaterra, que combinan la desinfección del suelo y el control biológico; el suelo se esteriliza uno o dos meses antes de la siembra, generalmente con formaldehído, durante ese período, el suelo se coloniza con organismos saprófitos de crecimiento rápido que son efectivos antagonistas de los patógenos del Damping-off. Sin embargo, otros autores opinan que el control biológico natural es con frecuencia más efectivo que el inducido por la desinfección del suelo.

El tratamiento del suelo por medio de fungicidas mercuriales es restringido por toxicidad de éstos. Los daños producidos se aprecian aún en aplicaciones post-emergentes en pinos.

Por lo que respecta al tratamiento con fungicidas metálicos, se han obtenido prometedores resultados con compuestos de cobre y zinc en coníferas y otras plantas para tratamientos de semilla o suelo y en tratamientos combinados. Algunas dosis de compuestos de zinc y cobre son efectivas contra el Damping-off por Rhizoctonia, pero resultan algunas veces fitotóxicos. En otras pruebas, el permanganato de potasio aumentó el Damping-off en pinos. (8).

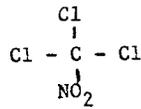
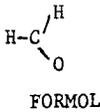
Fumigantes.

Se describe aquí un cierto número de productos que actúan en forma de gases y poseen en mayor o menor grado, según el caso, proprie

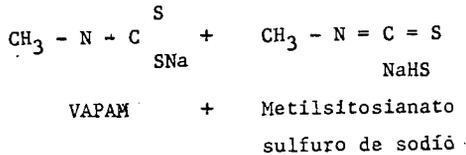
dades fungicidas. Hay fumigantes líquidos, de punto de ebullición muy bajo; al inyectarlos en la tierra se gasifican. Otros productos más manejables, necesitan una vez en la tierra, una transformación previa para liberar el gas fumigante.

Algunos fumigantes son ante todo, nematocidas y su actividad contra los hongos es débil, pero existen otros que poseen una acción fungicida perfectamente satisfactoria.

Estos son los tres fumigantes clásicos: Metilditiocarbamato de sodio (Vapam), Bromuro de metilo y Formaldehido.



CLOROPICRINA



FORMALDEHIDO.

Este es un buen fungicida, con buen poder de penetración. Mata algunas semillas de maleza pero no es confiable para matar insectos o nemátodos.

Para usarlo se mezcla un litro de formol comercial (40% de concentración) con 50 lt de agua y se aplica a la tierra a razón de 1.1 lt por m² (o de 100 a 110 lts por m³ de suelo). O sea que el formaldehido es un gas ligero (densidad 0.7) que se emplea disuelto en agua. El area tratada debe cubrirse inmediatamente con algún material impermeable y dejarse así durante 24 horas o más. Después del tratamiento se deben dejar pasar dos semanas para que seque y ventile, pero debe usarse solo hasta que haya desaparecido el olor de formol.

BROMURO DE METILO.

Este material inodoro es muy volátil para las personas y muy tóxico. Sólo debe usarse mezclado y su aplicación debe hacerla una persona entrenada en su manejo. El bromuro de metilo mata a la mayoría de los insectos, nemátodos, semillas de malezas y a algunos hongos. En ocasiones se usa inyectando el material contenido en envases a presión, a un recipiente abierto, colocado debajo de una cubierta de plástico que cubre el suelo que se va a tratar, aplicándolo a razón de 50 a 200 gramos por m². La cubierta se sella en los bordes y se debe dejar en el sitio unas 48 horas. La penetración es muy buena y se extiende hasta unos 30 cms de profundidad. Para tratar suelo a granel, se aplican 355 ml/m³.

V A P A M (DIHIDRATO N-METILDITIO
CARBAMATO DE SODIO)

Este es un fumigante para suelos, soluble en agua, que mata malezas en germinación, la mayor parte de los hongos del suelo y en condiciones apropiadas, nemátodos. Sufre una descomposición rápida para producir un gas muy penetrante. El Vapam se aplica asperjándolo en la superficie del suelo por medio de los sistemas de riego o por medio de los equipos estándar para inyectar el suelo. Para fumigación de almacigos se usa 1.41 lt de Vapam en su forma líquida en 10.75 a 16 lts de agua y se asperja uniformemente sobre 10 m² de tierra. Después de la aplicación, el Vapam se sella con más agua o pasando un rodillo. Se puede plantar en el terreno, dos semanas después. Aunque el Vapam es relativamente poco tóxico para el hombre, se debe tener cuidado de no inhalar los vapores o salpicar la piel con solución.

El Metilsotiocianato (componente del Vapam) es un gas menos pesado, (densidad 2.6) tiene más tendencia a subir que a descender una vez incorporado al terreno. Se emplean, ya sea el metilditiocarbamato de sodio o el metilsotiocianato tal cual, disuelto en tolueno (tipo Trapex), o el metilditiocarbamato de sodio (tipo Vapam), el cual se descompone en el terreno en metilsotiocianato e hidrógeno sulfurado. El metilditiocarbamato de sodio se formula al 40% en disoluciones con agua, ésta se emplea a dosis de 100 a 250 cc/m².

O T R O S.

La 3-5 dimetil-tetrahidro-tiadiacinationa o Dazomet, es un polvo blanco que se descompone en el suelo en formol, metilisotiocianato, metilamina e hidrógeno sulfurado. Se emplea a dosis de 20 a 50 -- gr/m².

Puede emplearse también la mezcla de formol al 40% -dos partes-, con una de metilditiocarbamato de sodio, combinación que además de resultar económica, tiene una eficacia satisfactoria. (100 cc - de formol y 50cc de metilditiocarbamato de sodio/m²). (12).

De los numerosos ensayos hechos con fungicidas orgánicos como Ferbam, Captán, Maneb, Namab, Thiram, Vancide 51, Zineb, nitrobenzenos y recientemente Cyprex y Dyrene, se ha reportado que controlan el Damping-off en jardines y campos agrícolas, en aplicaciones de suelo - y plantas y fueron efectivos bajo diferentes condiciones y especies. Sin embargo, el control de enfermedades en semilleros forestales puede ser más difícil, debido a que la etapa de susceptibilidad de las especies, generalmente es más prolongada que la de las plantas herbáceas (8).

Los productos citados anteriormente, son bastante menos violentos en su acción; se aplican para luchar con un hongo parásito específico, salvar la nacencia de una determinada siembra y evitar que se pierdan las plántulas recién nacidas. Los resultados son siempre mejores cuando el hongo parásito se halla situado en la superficie del suelo que cuando se encuentra en zonas profundas.

Pueden citarse Maneb y Tiuram como productos fungicidas-capaces de limitar mermas en nacencias originadas por un ataque de Pythium (pulverización de 10 a 30 grs/m² del producto comercial); sulfato de ortoxiquinoleína, activo contra los ataques de Botrytis cinerea en sus formas adaptadas al suelo y que hace estragos principalmente en los invernaderos con humedad ambiental alta o muy alta; PCNB (pentacloronitrobenéno), efectivo contra Botrytis, Rizoctonia y Sclerotinia (en riegos o pulverización a razón de 10 a 30 grs del producto al 30% por m²). El dicloran (dicloronitroanilina), de reciente comercialización, es más activo que el PCNB respecto a las Sclerotinias y a Botrytis y menos eficaz contra Rhizoctonia solani.

Podría también aconsejarse el uso de ciertos productos mercuriales solubles, como el cloruro de metoxietilmercurio, el cual, - experimentalmente ha dado excelentes resultados en desinfecciones superficiales de terreno. Pero su toxicidad muy elevada para el hombre, hace prohibitivo el empleo de estos productos en muchos cultivos (12).

MODO DE EMPLEO.

Los fumigantes en estado puro o en soluciones no acuosas (cloropicrina y metilsitocianato) se inyectan al terreno mediante inyectores manuales para las superficies pequeñas o con inyectores arrastrados con tractor y que funcionan, según los modelos, por medio de una - bomba dosificadora o por simple gravedad.

Los fumigantes como el metilditiocarbamato de sodio y el formol, que se comercializan en soluciones líquidas, pueden aplicarse - de dos maneras:

- a).- Al producto comercial se diluye en gran cantidad de agua y se riega la tierra con ésta solución, se calculan de 10 a 20 litros de agua por m².
- b).- El producto se pulveriza tal cual y se incorpora a continuación con un doble pase de rastra.

Los polvos insolubles se reparten en la superficie del - terreno, de igual forma que un abono y luego se incorporan inmediatamente por uno u otro procedimiento. (12):

2.4.2.3 Métodos culturales.

Aparte de las condiciones de temperatura, humedad y textura del suelo, que son susceptibles de favorecer el desarrollo de uno u - otro parásito, la evolución de los hongos nocivos a las plantas cultivadas se rige por dos leyes generales:

- 1.- El cultivo ininterrumpido de una misma planta sensible a una determinada enfermedad, hace que aumenten constantemente el número de gérmenes nocivos existentes en la tierra.
- 2.- Recíprocamente, el cultivo de plantas resistentes y más aún, la incorporación de materia orgánica vegetal, origina la proliferación de organismos sapró-

fitos capaces de entablar una competencia con los hongos nocivos.

Se deduce de ello, la necesidad de hacer una rotación de cultivos y la conveniencia de aportar al suelo, cuando sea posible, no tables cantidades de abonos orgánicos y estiercoles. La acción de estos últimos será más efectiva si se emplea además una variedad de plantas - resistentes a las enfermedades. En los cultivos hortícolas, el problema es más complejo, dado que ciertos parásitos tienen la particularidad de atacar a un número bien extenso de hortalizas.

La verticilosis y la Rizoctonia, en horticultura, sólo - perdonan a las monocotiledóneas. Pero las consideraciones económicas, - muy de tener en cuenta, impiden que los hortelanos con superficies de - cultivo pequeñas, incluyan en sus rotaciones de cultivo al maíz o trigo puesto que su rentabilidad es muy baja.

Aún así, es muy recomendable realizar algún tipo de desin fección de los terrenos de cultivo, más cuando se trata de cultivos de - semillero o almácigo y en mezclas usadas en viveros o invernaderos.(3).

III MATERIALES Y METODOS.

Para la realización del presente trabajo, fueron necesarios diversos materiales que quedan especificados a continuación, tomando en cuenta el desarrollo del mismo.

1.- Material recolectado en el campo.- Procedente del vivero de la Secretaría de Agricultura y Recursos hidráulicos, ubicado en el campo de "Los Colomos" en la ciudad de Guadalajara.

Dicho material consistió en:

Muestras de suelo de dos almácigos, uno de ellos contenía plantitas de cítricos de 20 días de nacidas, de una altura de 5 a 7 cms y que presentaban el síntoma característico del Damping-off (estrangulamiento en la base del tallo). El segundo contenía plantitas de la misma altura pero de la especie *Psidium guajava*, que presentaban los mismos síntomas.

Las dimensiones de los almácigos eran 1.5 x 5m por lo que se tomaron 5 muestras de suelo de cada uno de los almácigos para obtener una muestra homogénea consistente en 0.5 Kg del suelo.

Asimismo, se tomaron plantitas con la lesión en la base del tallo, que posteriormente constituyeron la fuente de el tejido infectado, útil en la identificación del patógeno.

El medio de propagación (suelo) utilizado en los almácigos, contenía:

- 40% de "tierra de hoja" (alto contenido en materia orgánica no humificada).
- 40% de arena (perlita)
- 20% suelo franco.

Uno de los factores importantes en cuanto a la presencia del hongo causante del Damping-off es la cantidad de materia orgánica contenida en los medios de propagación utilizados comúnmente en los almácigos (14).

Como puede observarse, en los almácigos que proporciona--

ron el material; el contenido de materia orgánica es bastante alto cuya fuente son hojas que no están en completo estado de descomposición. Cabe mencionar también que fue el mismo tipo de suelo utilizado para probar la efectividad de los tratamientos.

2.- Material de laboratorio. El aislamiento e identificación del patógeno y la prueba de la efectividad de los tratamientos de desinfección, se llevaron a cabo en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Agricultura de la Universidad de Guadalajara.

Siguiendo el procedimiento descrito en el punto 2.3.6 del presente trabajo, se hicieron siembras del hongo a partir de tejidos infectados y diluciones de suelo provenientes de las muestras tomadas en el vivero de "los colomos". Para tal efecto, se utilizó PDA (papa-dextrosa-agar) como medio de cultivo en cajas de petri.

Las diluciones de suelo usadas en la siembra e identificación fueron; 1:10; 1:100; 1:1000; 1:10000 y 1:100000. A partir de esos cultivos, se hicieron frotis correspondientes a cada una de las diluciones y siembras de tejido y se procedió a hacer la identificación. Se utilizó como guía el manual "Illustrated genera of imperfect fungi" y otros citados en la bibliografía.

Una vez identificado el hongo, se estableció el tipo de experimento para probar la efectividad de los tratamientos.

3.-En el experimento, los materiales utilizados fueron:

- a) El medio de cultivo proveniente de los almácigos (suelo), con la composición estructural descrita anteriormente.
- b) Se utilizaron también los productos químicos Vapam, formaldehído y bromuro de metilo, recomendados para desinfección de suelo, así como vapor de agua.
- c) En cuanto al procedimiento de laboratorio, se volvió a utilizar el medio de cultivo PDA para aislar de nuevo al

hongo, así como material de cristalería propio (cajas de petri, tubos de ensayo, pipetas, etc.) y microscópio para el conteo y evaluación de las colonias resultantes.

3.1 Diseño y ejecución del experimento.

Para realizar la prueba de la efectividad de los tratamientos de desinfección del suelo para control del Damping-off, se eligió un diseño experimental con distribución completamente al azar, por considerar las unidades experimentales con una homogeneidad aceptable y por su eficacia en pruebas de laboratorio.

Como se mencionó anteriormente, en dicho experimento se utilizó una distribución completamente al azar. Se hizo la evaluación de cuatro tratamientos + un testigo, con 4 repeticiones, lo que nos da un total de 20 unidades experimentales.

La aleatorización de los tratamientos arrojó el siguiente resultado:

Cuadro No. 2 Aleatorización de los tratamientos

IV	A ₂₀	D ₁₉	D ₁₈	C ₁₇	C ₁₆
III	B ₁₁	T ₁₂	D ₁₃	C ₁₄	T ₁₅
II	A ₁₀	B ₉	A ₈	T ₇	B ₆
I	T ₁	B ₂	C ₃	D ₄	A ₅

En donde:

Tratamiento A = Bromuro de metilo

" B = Formaldehido

" C = Vapor

" D = Vapam

" T = Testigo

Los numeros romanos representan las repeticiones y los arábigos, el numero de parcela o unidad experimental.

Las hipótesis manejadas en este experimento son:

Ho = La diferencia entre la efectividad de los tratamientos es nula.

Ha = No nulidad de los tratamientos.

Las unidades experimentales estuvieron formadas por 100-gramos de suelo proveniente de los almácigos en que se recolectaron las primeras muestras y que, por lo tanto, contenían el mismo germen del hongo que ocasionó la enfermedad.

A cada unidad experimental se le adicionó el equivalente de las dosis recomendadas para cada tratamiento, exceptuando al testigo.

Al término del periodo de desinfección del suelo (2 semanas como promedio del recomendado en la literatura) se obtuvieron siembras de cada unidad experimental, utilizando la dilución 1:1000, por ser la que dió mejores colonias en la identificación del agente causal.

Se cuantificó el resultado de las siembras en base a la siguiente tabla:

Cuadro No. 3 . Cuantificación de la infección.

SINTOMAS	GRADO DE INFECCION (%)
Sin desarrollo miceliar	0
Poco desarrollo miceliar	20
Poco desarrollo miceliar y formación de esporangio y/u oogonio	40
Mucho desarrollo miceliar sin formación de esporangio u oogonio	60
Fuerte desarrollo miceliar y formación de grandes esporangios y/u oogonios y anteridios	80

Tomado de Mõngling R.
et al (13).

Como puede notarse, la anterior tabla tiene como base el desarrollo de la colonia fungosa, asignando un valor con un rango alto entre una etapa y otra.

Por lo anterior, al cuantificar el desarrollo de las colonias obtenidas en las siembras del suelo tratado, se observó el si

guiente criterio:

Una vez constatada la presencia de colonias fungosas en las siembras hechas (diluciones del suelo tratado) se procedió a hacer cinco frotis de cada una, que sirvieron como base para promediar, a partir del valor asignado en la tabla para cada etapa del desarrollo fungoso, el resultado final en el grado de infección de cada siembra.

El capítulo de resultados presenta los valores obtenidos para cada siembra de las diluciones.



ESCUELA DE AGRICULTURA
BIBLIOTECA

IV RESULTADOS.

A partir de los cultivos de tejido infectado y las diluciones de suelo recolectados en los almácigos, se logró aislar hongos de los géneros *Phytophthora* spp. y *Fusarium* spp., que presentaron micelios y cuerpos fructíferos iguales a los esquematizados en las figuras 4 y 7 del presente trabajo.

En cuanto a la prueba de la efectividad de los tratamientos, los resultados fueron los siguientes:

TRATAMIENTO	No. DE PARCELA
A	5, 8, 10, 20
B	2, 9, 11, 18
C	3, 14, 16, 17
D	4, 13, 18, 19
T	1, 7, 12, 15

TRATAMIENTO	REPETICIONES				TOTAL TRAT.
	I	II	III	IV	
A	20	17	18	20	75
B	10	10	11	12	43
C	28	21	26	24	99
D	21	25	22	26	94
T	80	75	78	80	313
				X..	624

CUADRO NO. 4 ANALISIS DE VARIANZA

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	F.T.	
					0.05	0.01
TRATAMIENTOS	4	11551.2	2887.8	618.0	3.6*	4.89**
ERROR	15	70.0	4.66			
TOTAL	19	11621.2				

*significativo **altamente significativo

S= 2.16

C.V. = 6.92

CUADRO No. 5 COMPARACION MULTIPLE DE MEDIAS.

TRATAMIENTO	PROMEDIOS	ORDEN DECRECIENTE
Bromuro de metilo (A)	18.75	$\bar{X}_1 = 78.25$
Formaldehido (B)	10.75	$\bar{X}_2 = 24.75$
Vapor (C)	24.75	$\bar{X}_3 = 23.50$
Vapam (D)	23.50	$\bar{X}_4 = 18.75$
Testigo (T)	78.25	$\bar{X}_5 = 10.75$

W=6.0044

	78.25	24.75	23.50	18.75	10.75
10.75	67.5	14	12.75	8	0
18.75	59.5	6	4.75	0	
23.50	54.75	1.25	0		
24.75	53.5	0			
78.25	0				

Las diferencias arriba de la raya del escalón, se consideraran significativas por ser mayores al valor común W = 6.0044

Queda asentado en este análisis que el grupo formado por los tratamientos vapor, vapam y bromuro de metilo (\bar{X}_2 , \bar{X}_3 , y \bar{X}_4 respectivamente), son iguales entre sí y el formaldehido difiere significativamente de los demás, quedando como el tratamiento más sobresaliente con un nivel de confianza del 95%.

V COLCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En base al análisis de varianza efectuado en el diseño, tenemos que:

Como la $FC = 618.0$ es mayor a la FT al nivel de significancia de 0.05 y 0.01 (3.6 y 4.8 respectivamente), se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula. Lo cual quiere decir que sí hay diferencias significativas cuando se aplica un tratamiento de desinfección al suelo para reducir la presencia de hongos y cuando no se hace.

Se efectuó también la comparación múltiple de medias para detectar la diferencia entre un tratamiento y otro, resultando ser el formaldehído el más eficaz en relación con los otros tres productos usados que mostraron ser iguales entre sí.

En cuanto al aspecto económico, el vapor y el formaldehído resultaron ser los más accesibles y de más fácil aplicación que el bromuro de metilo por ejemplo, que es altamente tóxico.

La comparación mostró también cómo el testigo presentó una media superior a todos los demás, por lo que se concluye que es muy recomendable el uso de tratamientos de desinfección del suelo cuando se trata de controlar el Damping-off.

En lo que respecta a la disponibilidad de los productos en el mercado, el vapam resulta ser un poco más difícil de conseguir que los otros y el de uso más difundido entre los viveristas, es el bromuro de metilo. Cuando se tiene poco volumen de suelo para desinfectar, lo más recomendable es el vapor, puesto que no requiere de instalaciones costosas que serían necesarias cuando se cuenta con mucho volumen para desinfectar.

En el presenta trabajo se pudo comprobar también, que la aplicación de tratamientos de desinfección del suelo, reduce considerablemente la presencia de hongos fitopatógenos en el suelo y se obtiene un buen control sobre los hongos de la especie *fusarium spp.* y *Phytophthora spp.* que se encuentran entre los más frecuentes agentes causales del Damping-off.

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Agricultura de la Universidad de Guadalajara y se efectuó con muestras de suelo y plantas de almácigos del vivero de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos ubicado en el campo "los colomos" de la ciudad de Guadalajara.

A partir de esas muestras, se aislaron hongos que posteriormente se identificaron como pertenecientes a las especies Fusarium y Phytophthora spp. causantes de la enfermedad conocida como Damping-off que afecta a plantitas que se propagan en almácigo y que en este caso, se detectó en cítricos y en guayaba.

En medios de propagación (suelo) provenientes de los mismos almácigos en que se recolectaron las primeras muestras, se efectuó una prueba a nivel laboratorio, de la efectividad de cuatro tratamientos de desinfección del suelo a saber: Bromuro de metilo, Formaldehido, Vapam y vapor.

En dicha prueba se utilizó un diseño experimental con una distribución completamente al azar, con cuatro repeticiones que incluyeron los cuatro tratamientos + un testigo.

El formaldehido resultó ser el tratamiento que presentó el mejor control sobre los hongos fitopatógenos presentes.

Por haber presentado el testigo una media muy alta en relación a los promedios de los otros tratamientos se concluye que, en presencia de éstos la incidencia de hongos fitopatógenos causantes del Damping-off se reduce considerablemente.

Se recomienda, por lo anterior, aplicar un tratamiento de desinfección del suelo, para controlar dicha enfermedad en almácigos, habiendo previamente seleccionado el tratamiento de acuerdo a su disponibilidad en el mercado y tomando en cuenta las opciones que cada tratamiento ofrece.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Agrios, G. 1985. "Fitopatología". ed. Limusa, México.
- 2.- Anónimo. 1985, "Cultivo de flores en invernadero". Revista Agro-síntesis Vol. 16 No. 10, Pág. 22.
- 3.- Anónimo. 1986. "Desinfección de almácigos de Chile". Revista Agro-síntesis Vol.17, No.4, Pág.16.
- 4.- Alexander, Martin. 1970 "Introducción a la microbiología del suelo". Agt. editor, s.a.
- 5.- De la I de Bauer, Ma de L. 1984 "Fitopatología". Ed. Futura, Mé- xico.
- 6.- Finch, H.C. 1981. "Los hongos comunes que atacan cultivos en Amé - rica Latina". Ed. Trillas.México.
- 7.- García Alvarez, M. 1984. "Patología vegetal práctica". 2da. ed. Editorial Limusa, México.
- 8.- Gómez Nava. 1976. "Control de Damping-off en semilleros foresta- les". Boletín técnico. S A G. Subsecretaría Forestal y de la Fauna. INIA. México.
- 9.- Hartman, Hudson. 1984." Propagación de plantas, principios y prácti- cas". C.E.C.S.A. México.
- 10.- León Gallegos Héctor. 1978. "enfermedades de cultivos en el esta- do de Sinaloa". CIAPAN/SARH , Sinaloa, México.
- 11.- Mejía Pérez Aduco. 1981. "Aislamiento y descripción del patóge- no causante de la marchitez del Chile en cinco munici- pios del estado de Jalisco". Tesis. Escuela de Agricul- tura de la Universidad de Guadalajara.
- 12.- Messianen C.M. y R. Lafón. 1967. "Enfermedades de las hortalizas" Ed. Oikos-Tau, Barcelona, España.
- 13.- Mögling Renate, et al. 1984. "Contribución al aislamiento de hongos fitopatógenos del suelo". Revista Centro Agrícola. Minis- terio de educación superior de la República de Cuba. Año- XI No.3 , Sept.-Dic.
- 14.- Sarasola, Abel. 1975. "Fitopatología, curso moderno". Ed. Hemis- ferio sur. Buenos Aires, Argentina.
- 15.- Tosco, Uberto. 1973. "Atlas de botánica". Ed. Teide. Barcelona,- España.

INDICE DE FIGURAS

No.	TITULO	PAGINA
1	CICLO DE REPRODUCCION DE LOS HONGOS MIXOMICETOS	7
2	CICLO DE REPRODUCCION EN HONGOS <u>FICO</u> MICETOS	8
3	CICLO BIOLOGICO DEL GENERO <u>PHYTOPHTO</u> RA.	9
4 - 7	CARACTERISTICAS DE CUATRO GENEROS CAU SANTES DE <u>DAMPING-OFF</u>	15
8	MECANISMO DE INFECCION DE LOS HONGOS	20



INDICE DE CUADROS.

No.	TITULO	PAGINA
1	ENFERMEDADES MAS COMUNES CAUSADAS POR HONGOS.	10
2	ALEATORIZACION DE LOS TRATAMIENTOS	45
3	CUANTIFICACION DE LA INFECCION	46
4	ANALISIS DE VARIANZA	48
5	COMPARACION MULTIPLE DE MEDIAS	49