

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

ESCUELA DE AGRICULTURA



**"AISLAMIENTO, CULTIVO Y ESPORULACION DE
Fusarium Moniliforme Sheldon, CAUSANTE DE LA PUDRICION
DEL TALLO EN SORGO (*Sorghum bicolor* L. Moench)."**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO
ORIENTACION FITOTECNIA
P R E S E N T A
HUMBERTO DELGADILLO JIMENEZ
GUADALAJARA, JALISCO. 1983



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

EXPEDIENTE

Escuela de Agricultura 26 de Mayo 1982

NUMERO

C. PROFESORES:

~~ING. ALBERTO ESTANCOURT VALLEJO, Director
CITA. THERESA CFE. CARRILLO RODRIGUEZ, Asesor
ING. SALVADOR MURTADO Y DE LA PEÑA, Asesor~~

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

"AISLAMIENTO, CULTIVO Y ESPORULACION DE Fusarium moniliforme Sheldon, CAUSANTE DE LA Pudrición DEL TALLO EN SOCO (Sesuvium bicolor L. Moench) ."

presentado por el Pasante HUBERTO DELCABILLO, han sido ustedes designados - Director y Asesores respectivamente para el desarrollo de la misma.

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

"PIENSA Y TRABAJA"
EL SECRETARIO

ING. JULIAN SANCHEZ GONZALEZ

eml.

Las Agujas, Mpio. de Zapopan, Jal. 26 de Mayo de 1982 .

C.ING. LEONEL GONZALEZ JAUREGUI
DIRECTOR DE LA ESCUELA DE AGRICULTURA
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P R E S E N T E

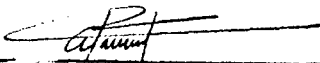
Habiendo sido revisada la Tesis del PASANTE _____

HUMBERTO DELGADILLO JIMENEZ Titulada:

" AISLAMIENTO, CULTIVO Y ESPORULACION DE Fusarium moniliforme
Sheldon, CAUSANTE DE LA PUDRICION DEL TALLO EN SORGO (Sor -
ghum bicolor L. Moench)".

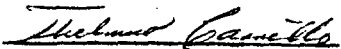
Damos nuestra aprobación para la impresión de la misma

DIRECTOR



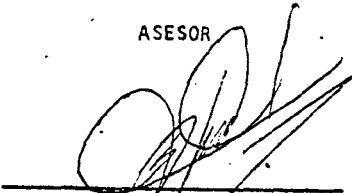
DR. ALBERTO BETANCOURT VALLEJO

ASESOR



QFB. THELMA GPE. CARRILLO RODRIGUEZ

ASESOR



ING. SALVADOR HURTADO Y DE LA PEÑA

srd.

DEDICATORIAS

A mis padres:

A los que debo tanto y que se han esforzado con amor y paciencia por hacerme un hombre de bien.

A mis hermanos:

Por su gran afecto perenne, que da a mi existencia un valioso sentimiento.

A mis grandes amigos:

Victor y Mario.



ESCUELA DE AGRICULTURA
BIBLIOTECA

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

El autor reconoce su gratitud hacia las siguientes personas e instituciones:

A LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Por permitirme ser parte de ella.

A LA ESCUELA DE AGRICULTURA

Por la formación profesional recibida.

Ph. D. J. Alberto Betancourt Vallejo

A su gran calidad humana.

Por la aportación de material bibliográfico, revisión y sugerencias durante la realización de este estudio.

M.C. Salvador Hurtado de la Peña

Por su asesoría y colaboración en la preparación técnica de esta investigación.

Q.F.B. Thelma Carrillo Rodriguez

Por su cooperación desinteresada y facilidades para realizar este trabajo.

Profa. Luz Ma. Villarreal de Puga.

Por las facilidades brindadas al permitirme usar el laboratorio del Instituto de Botánica.

Q.F.B. Noemí Jiménez Reyes

Por su invaluable asesoría en el desarrollo de todas las prácticas realizadas.

Profa. Ramona Jiménez Pérez

Por su valioso y constante interés en el desarrollo de este estudio.

Contenido

| | página |
|-----------------------------------|--------|
| Capítulo 1 | |
| INTRODUCCION | 1 |
| Capítulo 2 | |
| REVISION DE LITERATURA | 4 |
| La Enfermedad | 4 |
| El Organismo Causal | 6 |
| Síntomas | 12 |
| Epifitología | 15 |
| Patogenicidad | 16 |
| Propagación | 19 |
| Daños | 19 |
| Control | 20 |
| Esporulación | 22 |
| Preservación | 23 |
| Capítulo 3 | |
| MATERIALES Y METODOS | 24 |
| Inóculo | 24 |
| Medios de Cultivo | 24 |
| Esterilización | 28 |
| Métodos de Aislamiento | 29 |
| Identificación de la Enfermedad | 31 |
| Inoculación | 32 |
| Observación sobre Portaobjetos | 32 |
| Medición del Crecimiento | 34 |
| Cuantificación de la Esporulación | 35 |

| | Página |
|--------------------------------|--------|
| Capítulo 4 | |
| RESULTADOS | 39 |
| Capítulo 5 | |
| DISCUSION | 52 |
| Capítulo 6 | |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 54 |
| Capítulo 7 | |
| RESUMEN | 56 |
| Capítulo 8 | |
| BIBLIOGRAFIA | 58 |
| APENDICE | 63 |

Introducción

El cultivo del sorgo en México se ha incrementado en una forma bastante acelerada durante los últimos 20 años, lo demuestra el hecho de que en 1960 se sembraron 116 mil ha, y actualmente se siembran 1.5 millones de ha por lo tanto el cultivo del sorgo ocupa el tercer lugar en superficie sembrada después del maíz y frijol y el segundo en producción, solo superado por el maíz; el rendimiento por unidad de superficie se ha elevado en un 60% (6).

Este cultivo adquirió importancia en la región noreste del Estado de Tamaulipas y se extendió posteriormente a Guanajuato, Sinaloa, Jalisco y Michoacán (5). A nivel regional el sorgo en el Estado de Jalisco es de reciente introducción. Así por ejemplo, en 1965 se cultivaron 25 ha incrementándose la superficie a 185 mil ha en 1980; con un rendimiento promedio de 4 ton/ha (6).

La aceptación que este cultivo ha tenido se debe a que el grano se utiliza en la elaboración de alimentos balanceados para el ganado y la avicultura y permite que mayores volúmenes del grano de maíz se destinen al consumo humano. Otros usos incluyen la elaboración de cerveza, almidón y aceites. Sus tallos se utilizan como alimento forrajero y en la obtención de azúcar y jarabes.

Además, el sorgo es la fuente de alimento vital para millones de gentes en los trópicos semiáridos (Africa y Asia) siendo la forma más importante de supervivencia, cau-

sa de que en estos lugares se cultive más de la mitad del sorgo del mundo (21).

Otros aspectos que resaltan más su importancia están dados por su potencial de rendimiento, facilidad de mecanización, amplia adaptación y su tolerancia relativa a plagas y enfermedades (6).

El sorgo como muchos otros cultivos que se siembran intensivamente, experimentan fuertes pérdidas debido a un incremento notable en la presencia de plagas y enfermedades. En México y particularmente en la Ciénega de Chapala, Jalisco; estos problemas son más notorios debido a que existe alta humedad relativa en el ambiente*.

Aún cuando es difícil estimar las pérdidas en forma precisa se tienen evaluaciones empíricas de algunas enfermedades que atacan al sorgo. Por ejemplo, la roya, *Puccinia purpúrea* Coke, reduce los rendimientos entre 1 y 1.5 ton/ha (14). La pudrición del tallo causada por *Fusarium moniliforme* Sheldon, reduce los rendimientos hasta en un 60% (36).

Este último patógeno está adquiriendo importancia nacional y existen reportes en otras áreas del mundo como África y Estados Unidos de Norteamérica donde está causando fuertes daños económicos. En la actualidad el *Fusarium* en sus dos fases (pudrición del pedúnculo y reducción del grano) se considera una enfermedad clave en los programas de investigación en México.

Debido a que *Fusarium moniliforme* es una enfermedad relativamente reciente, la información disponible es hasta cierto punto incompleta. Además ésta información no está disponible en nuestro idioma y se desconocen muchos aspectos de la enfermedad y el agente causal. En tal caso la pre

*Betancourt V, A. 1983. Comunicación personal.

sente investigación pretende aportar algo más sobre este patógeno.

El presente estudio está orientado hacia la determinación del método de aislamiento y de un medio de cultivo favorable para la descripción morfológica de *Fusarium moniliforme*.

El presente trabajo tiene entonces los siguientes objetivos:

- 1.- Determinar el método de aislamiento más favorable para este patógeno.
- 2.- Encontrar el medio de cultivo más propicio para el aislamiento y desarrollo de *Fusarium moniliforme*.
- 3.- Obtener una descripción morfológica bajo condiciones de laboratorio.
- 4.- Recopilar la información más completa posible de este hongo como base para estudios posteriores.

De la misma forma se plantean las siguientes hipótesis:

- Ho.- El aislamiento, la morfología y el desarrollo de este patógeno no tienen ninguna relación con los diferentes niveles de nutrición de los medios de cultivo.
- Ha.- El aislamiento, la morfología y el desarrollo de *Fusarium moniliforme*, están íntimamente relacionados con los diferentes niveles nutricionales de los medios de cultivo.

Revisión de Literatura

Importancia de la enfermedad.

La enfermedad son todas aquellas malfunciones que resultan en un comportamiento insatisfactorio o que reducen la habilidad de la planta para sobrevivir y mantener su nicho ecológico, Betancourt 1981 (7).

Así, Miller (1975), citado por María 1983 (23), señala que las enfermedades afectan a los productores por la pérdida de tiempo, energía y dinero invertidos en preparar la siembra protección y cosecha del cultivo en cuestión; todos estos gastos resultan inútiles cuando una enfermedad causa fuertes pérdidas.

Jalisco cultiva aproximadamente 185 mil has para sorgo, superficie que le confiere el segundo lugar a nivel estatal, lo mismo que en producción, apenas después del maíz, Betancourt 1980 (6). Esta intensificación del cultivo ha ocasionado también el incremento de enfermedades. Tal es el caso para *Fusarium moniliforme* y que Zummo en 1978 (37), indica que puede ocasionar hasta un 60% en la reducción de los rendimientos.

Esta enfermedad esta registrada principalmente en los lugares de zonas húmedas y templadas, como en aquellas tropicales, Fernández 1978 (12).

Betancourt en 1980, citado por Martínez en 1982 (24), indica que las principales enfermedades que inciden en el cultivo del sorgo en el municipio de Ocotlán, Jalisco, en orden de importancia son; pudrición del tallo y tizón de la panoja por

Fusarium moniliiforme, roya causada por *Puccinia purpúrea*, tizón foliar por *Exserohilum turcicum* y mildíu del sorgo por *Peronosclerospora sorghi*.

El mismo autor señala que las enfermedades de poca importancia en la zona son: *Cercospora sorghi* (mancha gris de la hoja), *Pseudomonas andropogoni* (rayado bacteriano), *Sphacelotheca reiliana* - (carbón de la panoja), *Macrophomina phaseolina* (pudrición carbonosa), *Colletotrichum graminicola* (antracnosis) y mohos del grano (complejo de enfermedades causadas por varias especies de hongos como *Fusarium* y *Curvularia*).

El Organismo Causal

Taxonomía

Fusarium moniliforme es un parásito no obligado, perteneciente al orden de los Moniliales y a la familia *Moniliaceae*, Barnett 1972 (4).

Walter 1975 (33), procede a considerar a estos hongos como una forma de transición entre ascomicetos y hongos imperfectos, ya que algunas especies forman ascosporas y reciben por lo tanto diferentes nombres genéricos, mientras otros no lo hacen y se denominan *Fusarium*.

Así también, Booth 1971 (8), y otros autores tales como Finch 1974 (13) y Fernández 1978 (12), señalan a *Fusarium moniliforme* como la forma asexual de *Gibberella fujikuroi*.

Se encuentra clasificado taxonómicamente de la siguiente manera:

| | |
|-------------|------------------|
| Subreino | Thallophyta* |
| Filo | Eumycophyta* |
| División | Mycota* |
| Subdivisión | Eumycotina* |
| Clase | Deuteromycetes** |
| Orden | Moniliales** |
| Familia | Moniliaceae** |
| Género | Fusarium*** |
| Sección | Liseola*** |
| especie | moniliforme*** |

* Alexopoulos 1976 (2).

** Barnett 1972 (4).

*** Booth 1971 (8).

Sinónimos

En el pasado, era frecuente que diferentes investigadores que trabajaron en distintas épocas o lugares, dieran a un mismo patógeno varios nombres científicos. Stakman y Harrar 1977 (31), señalan que este problema también era común para las especies de *Fusarium*, ya que su número se redujo hace algunos años de varios cientos a alrededor de 50. Del mismo modo, Booth 1971 (8), agrupa varias especies en dos solamente, de acuerdo al CUADRO 1.

CUADRO 1. Sumario de sinónimos dentro de la sección *Liseola*

| Wollenweber 1931 | Wollenweber & Reink 1935 | Bilay 1955 | Booth 1971 |
|--|--|--|--|
| F. moniliforme | | | |
| F. moniliforme var. erumpens | F. moniliforme | | |
| F. moniliforme var. majus | | F. moniliforme | |
| F. samoense | | | |
| F. moniliforme var. minus | F. moniliforme var. minus | | F. moniliforme |
| | F. lactis | F. moniliforme var. lactis | |
| F. moniliforme var. subglutinans | F. moniliforme var. subglutinans | F. moniliforme var. subglutinans | |
| F. neoceras | F. neoceras | | |
| F. moniliforme var. anthophilum | F. moniliforme var. anthophilum | F. moniliforme var. anthophilum | F. moniliforme var. subglutinans |

FUENTE: Booth 1971. The Genus *Fusarium* (8).

Morfología

Comunmente son encontrados estromas hinchados (que no deben confundirse con clamidosporas) compuestos de esclerotia irregularmente globoso-esférica de 0.08 x 0.1 mm, y que pueden formar el peritecio inicial, Gilman 1963 (18). Los peritecios solo ocurren en material muerto, Booth 1971 (8), siendo más frecuente en las zonas cálidas y rara vez en climas fríos, Fernández 1978 (12). Son superficiales azul oscuro, globosos a cónicos, 250-350 μ de alto por 220-300 μ de diámetro y con una pared externa áspera, Booth 1971 (8).

Los ascos son elipsoidales con 4-8 ascosporas, hialinas y elípticas, con un solo tabique y ocasionalmente con tres, miden 14-18 x 4.5-6 μ .

Etapa Asexual

Los macroconidios son delicados con apariencia de lezna o punzón, ligeramente en forma de media luna o casi rectos, puntiagudos en ambos extremos, con la base pedicelada, dorsiventrals, tabiques y paredes finas, hasta siete septas o tabiques, Gilman 1963 (18).

| | |
|---------------|--------------------|
| Continuos | 4-18 x 1.5-4 μ |
| Uniseptados | 9-30 x 2-5 " |
| Triseptados | 20-60 x 2-5 " |
| Pentaseptados | 37-60 x 2.4-5 " |
| Septaseptados | 58-90 x 2.5-4.5 " |

La formación macroconidial es rara en muchas cepas, cuando se presenta se desarrolla de conidióforos formados como ramificaciones laterales sobre las hifas. Los conidióforos pueden consistir de una simple célula basal (Figs. 1 y 2)

Los microconidios son ovoideo-globoso, fusoidales, con-

tinuos, a veces mal tabicados sobre el micelio aéreo, rosado pálido, formando cadenas (FIGURA 1). Miden 5-12 x 1.5-2.5 μ tienen una base ligeramente oprimida, ocasionalmente pueden tener una septa. Con el tiempo se esparcen sobre el micelio aéreo como un polvillo transparente brillante, Booth 1971 (8) Gilman 1963 (18).

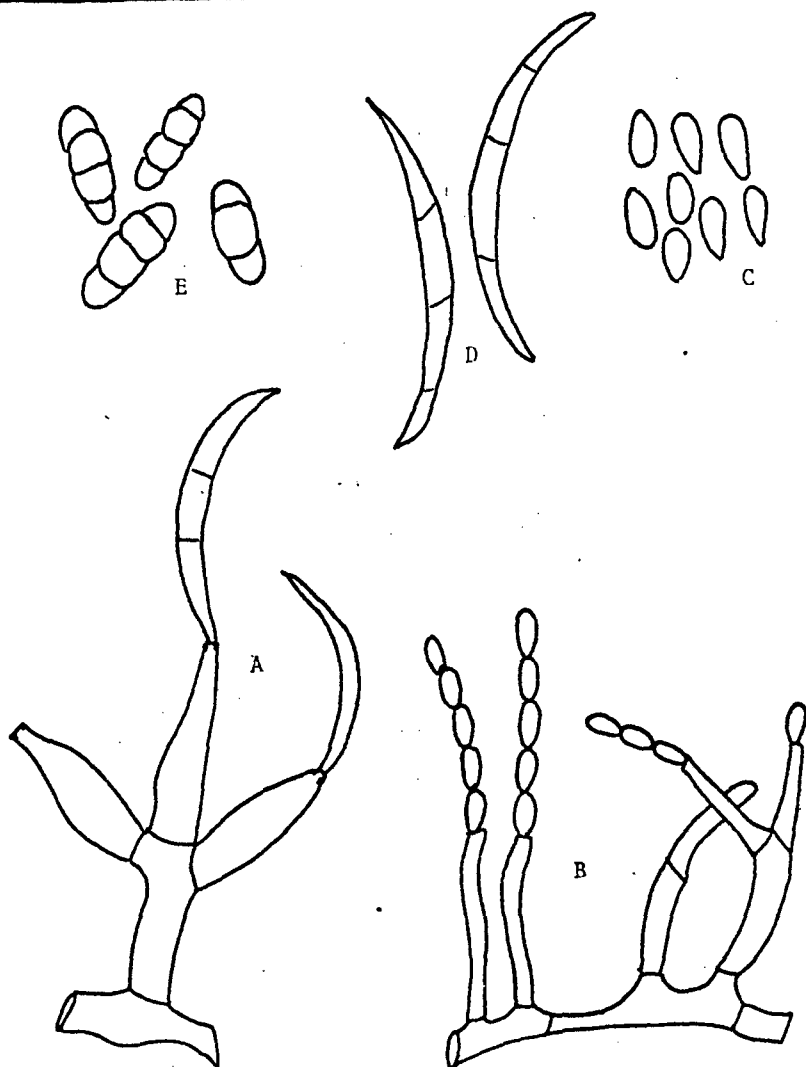
El crecimiento, inicialmente es bastante membranoso des colorido y rápido (de 2 a 5 cm de diámetro después de 4 días) Los cultivos son típicamente beige a violeta, ocasionalmente liláceo, durazno pálido o algo crema.

El micelio aéreo generalmente es denso y delicadamente velludo. Con frecuencia se presenta un blanco vináceo, con una apariencia polvorienta debido a la formación de microconidios, Booth 1971 (8).

Rango de Hospederos

Los daños por *Fusarium* más importantes son causados en muchas gramíneas como arroz, caña de azúcar, maíz y sorgo. Pero ocurre en un amplio rango de hospederos representados por las siguientes familias: *Amarantaceae*, *Amaryllidaceae*, *Asclepiadaceae*, *Betulaceae*, *Bromeliaceae*, *Buxaceae*, *Coniferae*, *Cruciferae*, *Convolvulaceae*, *Cucurbitaceae*, *Euphorbiaceae*, *Iridiaceae*, *Lauraceae*, *Leguminosae*, *Liliaceae*, *Linaceae*, *Malvaceae*, *Moraceae*, *Musaceae*, *Palmae*, *Polemoniaceae*, *Rosaceae*, *Rubiaceae*, *Rutaceae*, *Scrophulariaceae*, *Solanaceae*, *Sterculaceae*, *Tiliaceae*, Booth 1971 (8), Fernández 1978 (12).

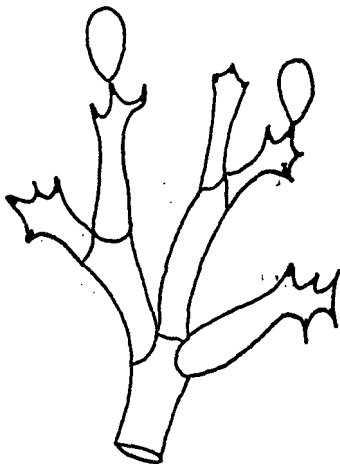
FIGURA 1. Estructuras básicas de *Fusarium moniliforme*



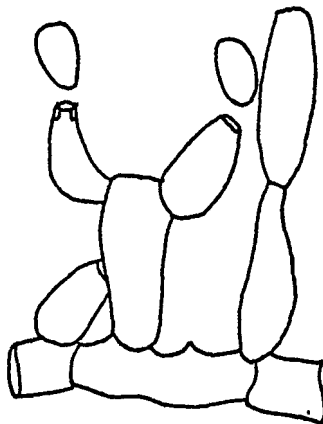
- A) Conidióforo produciendo macroconidios,
B) Conidióforo produciendo microconidios,
E) Ascosporas, D) Macroconidios, C) Microconidios.

FUENTE: Booth 1971 (6).

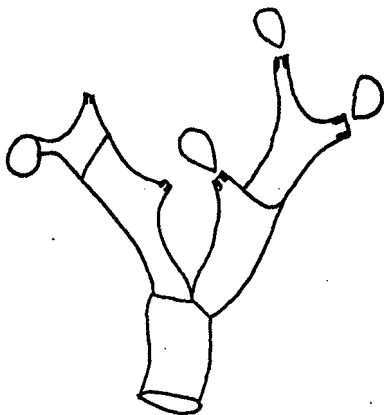
FIGURA 2. Diferentes tipos de conidióforos en *Fusarium*



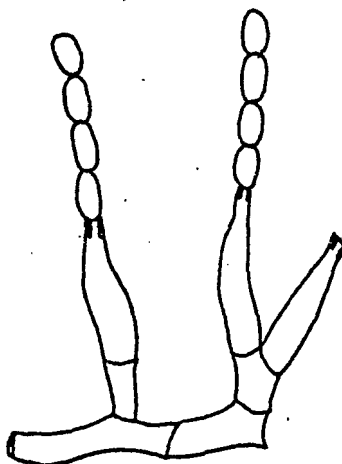
F. semitectum



F. oxysporum



F. moniliforme
var. subglutinans



F. moniliforme

FUENTE: Booth 1971 (6).

Síntomas

Las tres fases; pudrición de la corona, pudrición del tallo y tizón de la panoja, fueron observados en 1977, por Frederiksen, según Betancourt 1978 (5).

Pudrición de la Corona

La pudrición radical comienza ya en la plántula y aunque esto es común, generalmente sus efectos pasan desapercibidos. Durante el desarrollo de la planta la pudrición de raíces es escasa, aumentando hacia la fecundación y con la formación del grano. Probablemente por la pérdida de vigor que se opera en la planta, (llegando a pérdidas radicales hasta del 50, 75 y 100% según la susceptibilidad varietal) terminando con la casi destrucción del sistema radical hacia la madurez fisiológica de la planta, Fernández 1978 (12).

Bajo riego y fertilización nitrogenada alta, el daño en la raíz no puede causar un cambio notable en la apariencia del cultivo arriba de la superficie del suelo, hasta que los tallos estén podridos. El daño a la raíz típicamente involucra primero los tejidos corticales, luego los tejidos vasculares de todas las raíces. La pudrición es progresiva, así que las plantas más viejas con frecuencia son destruidas, dejando a la planta con un anclaje pequeño. Cuando la pudrición es extensiva la planta es fácilmente desarraigada, - - Zummo 1978 (36).

Pudrición del Tallo

En esta etapa la pudrición aparece al iniciarse la maduración, y es evidente cuando el sistema radical se encuentra casi totalmente destruido. Los primeros síntomas se manifiestan en tallos verdes aún, y se traducen por la decoloración o manchado castaño del entrenudo inferior, posteriormente, los entrenudos atacados se hacen blandos y resultan fácilmente

te destruidos al hacer presión en ellos con la mano, Fernández 1978 (12).

A diferencia de la pudrición carbonosa causada por *Macrophomina phaseolina*, la cual ocasiona importantes daños durante periodos desfavorables de humedad, la pudrición del tallo por *Fusarium moniliforme* es más severa cuando a un tiempo lluvioso continúa un seco y caliente.

La pudrición del tallo puede ser distinguida usualmente de la pudrición carbonosa por su pigmentación menos pronunciada, la desintegración de la médula de los tejidos y su más baja calificación de pudrición. En donde la pudrición carbonosa puede destruir un campo de sorgo en 2 ó 3 días, la pudrición del tallo puede tomar dos ó tres semanas Zummo 1978 (36). Este mismo autor señala que la pudrición del tallo puede reducir el llenado del grano, resultando pérdidas tan altas en el peso de la semilla hasta un 60%.

Otros hongos del suelo como *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Aspergillus niger* han sido relacionados con las podredumbres del tallo, Edmunds 1975 (10).

Tizón de la Panoja

La podredumbre de granos es otra manifestación de la acción de este patógeno, Fernández 1978 (12).

La enfermedad produce la muerte de varias a todas las espiguillas de la panoja; cuando es severa, la panoja puede cubrirse de un desarrollo fungoso de color gris rosáceo. Si esta se corta longitudinalmente se observa una coloración café rojisa y aún negra en la parte superior del pedúnculo, y continúa por los raquis de las espiguillas. En algunos casos todo el pedúnculo presenta dicha coloración y puede ser que esta penetre a los entrenudos superiores de la planta, y puede incluso, aparecer en la epidermis del tallo. Los pe

dúnculos pueden llegar a quebrarse en casos de extrema severidad, Zummo 1973 (35), Williams 1978 (34).

Para distinguir el tizón de la panoja de la pudrición roja causada por *Colletotrichum graminicola*, se puede observar que las coloraciones causadas por los diferentes hongos difieren en la uniformidad; en *Fusarium moniliforme* es continua y no se presentan áreas intercaladas de otro color, mientras que *Colletotrichum graminicola* muestra pequeñas áreas intercaladas de color blanco sin ninguna simetría. La pudrición roja puede causar pequeñas lesiones en forma de lenteja en los tallo de algunos sorgos, Zummo 1973 (35).

Epifitología

Ciclo de Vida

Los miembros de la clase ascomicetos se caracterizan por sus micelios tabicados, Walter 1976 (33). Además para la multiplicación vegetativa de las hifas, los ascomicetos tienen dos fases reproductoras; la sexual o etapa del asco y la asexual o etapa del conidio, Carpenter 1980 (9).

Cuando prevalecen las condiciones favorables para la reproducción sexual, el micelio forma cuerpos en los cuales se desarrollan ascos y ascosporas, Walter 1976 (33). Las ascosporas maduran y salen del asco y de los ascocarpos para ser diseminadas y en condiciones propicias germinan y cada una produce un tubo germinativo que crece para dar un micelio. El micelio desarrolla luego conidióforos que producen gran cantidad de conidios. Estos últimos perpetúan el hongo y producen más micelio. El ciclo asexual generalmente se repite muchas veces durante la estación de crecimiento, Alexopoulos 1976 (2).

Es un hongo heterotálico, porque los peritecios solamente se producen cuando ocurre un correcto apareamiento de cepas, Fernández 1978 (12) y Booth 1971 (8).

Pasa el invierno en estado miceliano o conidial según el ambiente y el sustrato, aunque en general los estados micelianos son los únicos que pasan el invierno.

Patogenicidad

El hongo puede penetrar directamente a través de los tejidos sanos y también lo puede hacer por las heridas producidas en la base del pedúnculo, raquis o espiguillas. Se sospecha que el micelio del hongo el cual vive en el suelo crece a lo largo del exterior del tallo sobre la inflorescencia ce rosa durante periodos largos de lluvia, Zummo 1978 (36). La infección causada por el micelio puede ser inter o intracelular (FIGURA 3), Fernández 1978 (12) y Tarr 1962 (32).

Alternativamente el hongo puede infectar a la panoja a través de conidias transportadas por el aire. Las variedades de sorgo con panojas compactas y densas son más propensas a ser atacadas por el tizón de la panoja que las variedades con panojas abiertas y sueltas, Zummo 1973 (35).

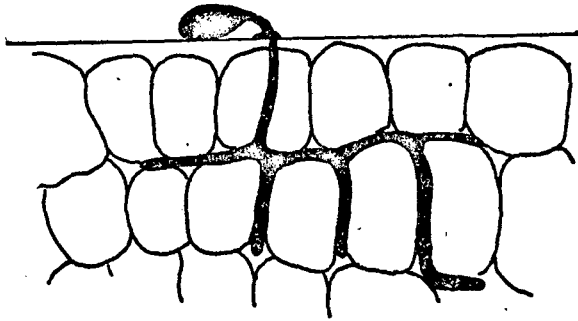
La incubación es rápida pues los primeros efectos de la penetración hasta la observación de las células radicales necrosadas pueden apreciarse antes de los 15 días. La evolución de la enfermedad, es por lo general de tipo crónico, acentuándose sus efectos con la maduración de la planta, Fernández 1978 (12).

Otros Efectos

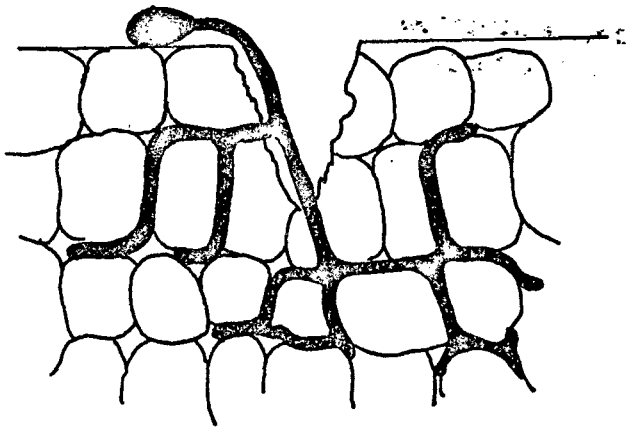
Fusarium moniliforme causa hipertrofia de los retoños de arroz enfermedad conocida como "bakanae". Es una de las enfermedades más comunes en arroz en Asia. Heaton 1965, citado por Booth 1971 (8), señala que esta enfermedad ha causado en el territorio norte de Australia arriba del 70% de pérdidas en variedades precoces.

La hipertrofia de los retoños es el resultado de la acción de una substancia estimulante del crecimiento conocida como "giberelina" producida por muchas cepas patógenas de es

FIGURA 3. Penetración de *Fusarium moniliforme* al hospedero



DIRECTA. Intra 6 intercelular



POR HERIDAS. Intra 6 intercelular

tos hongos. Esta sustancia ha sido aislada y purificada usando como un importante estimulante del crecimiento.

La estimación de la actividad estimulante del desarrollo puede ser confundida por la presencia del ácido fusárico, el cual tiene un efecto de retardo en el desarrollo de la planta. Esto puede explicarse porque bajo ciertas condiciones ambientales, como poca lluvia, infectó el resto de las plantas impidiendo el desarrollo en vez de mostrar síntomas de hipertrofia, Booth 1971 (8).

"Pokkah boeng"

Un complejo de enfermedades de *Fusarium* afectando sorgo, mijo y maíz fue observada en Nigeria y el oeste de Africa en 1974 y 1975, y sobre sorgo y caña de azúcar en Estados Unidos de Norteamérica de 1966 a la fecha. Una porción de este complejo de enfermedades ha sido conocida como "pokkah boeng" o torcedor de la espiga (twisted top), caracterizado por una deformación y/o decoloración en las hojas cerca de la parte alta de la planta, Zummo 1978 (36).

Johnson *et al* 1966, citados por Booth 1971 (8), reportaron la enfermedad del pokkah boeng sobre caña de azúcar, mostrando tallos y espigas podridas y síntomas similares sobre sorgo.

Zummo y Frederiksen 1973 (35), consignan a *Fusarium moniliforme* como el iniciador del pokkah boeng. Estudios posteriores hechos por Edmunds y Zummo 1975 (11), determinaron que el pokkah boeng o torcedor de la espiga, era causada por *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*, y podía ocurrir en todas áreas sorgeras donde hubiera alta humedad. Aún cuando la enfermedad puede ser conspicua sobre algunas variedades de sorgo las pérdidas son pocas.

Propagación

La incidencia que puede tener la semilla enferma, en la propagación de la enfermedad, es mínima. Se ha demostrado que la sobrevivencia de una estación a otra ocurre a través de las hifas engrosadas (no clamidosporas) que se forman dentro de las células esclerenquimáticas o parenquimáticas de los tejidos afectados.

Además el viento puede llevar las conidias a distancias considerables. A campo la infección por el terreno y por el inóculo aéreo aparentemente son las formas en que se inicia la infección primaria, Fernández 1978 (12).

Daños

Los tallos debilitados son fácilmente invadidos por *Fusarium moniliforme*, con pérdidas en el grano cosechable. También puede causar la muerte prematura de la planta antes de que el grano esté fisiológicamente maduro, reduciendo el rendimiento del grano, Rosenow 1978 (30), Rao 1977(27), Frederiksen y Rosenow 1979 (15).

De 1979 a la fecha *Fusarium* ha causado daños al sorgo -- hasta del 60% y se está extendiendo a todas las zonas sorgeras de México.*

* Betancourt 1982. Comunicación personal.

Control

Las características de un hongo patógeno determinan con frecuencia el método de control, por lo que el diagnóstico - adecuado de una enfermedad es el primer paso que conduce a tal control, Anónimo 1980 (3).

Con relación a las prácticas culturales, se ha sospechado que se practican algunas que contribuyen al incremento de la enfermedad. Estas prácticas incluyen; labranza máxima y - alta fertilización nitrogenada, Frowd 1978 (17), Zummo 1978 (36), así como también altas densidades de plantas y cultivos continuos, Edmunds 1975 (11). Se ha utilizado la rotación de cultivos no hospedantes y un manejo adecuado de los residuos de cosechas con resultados favorables, Horne 1980 - (20).

Dodd en 1979, citado por Rodríguez en 1983 (29), indica que se puede establecer un método de control indirecto para este hongo reduciendo la incidencia de *Puccinia purpúrea* (FIGURA 16 del apéndice). Esta relación está basada en que las enfermedades foliares reducen la actividad fotosintética de los tejidos foliares, reduciendo el total de carbohidratos disponibles para la mantención celular y almacenamiento en granos lo que trae como consecuencia un llenado de grano incompleto.

Mejoramiento para resistencia

La posibilidad de combatir las enfermedades a través de la resistencia de la planta hospedera, es un principio bien establecido, ya que los fitogenetistas han seleccionado conscientemente variedades con resistencia a enfermedades desde antes de 1900, Poehlman 1979 (26).

Existe la suficiente información sobre el factor causal

y la relación entre la pudrición del tallo y acame, *Fusarium* y acame son relacionados debido a que los tallos débiles son fácilmente invadidos por el patógeno.

Los términos "tallos resistentes", "calidad del tallo" y "resistencia al acame" son básicamente idénticos, Rosenow 1978 (30).

Schertz *et al* 1978, citados por Rosenow 1978 (30), evaluaron la fuerza de presión, la presión de penetración, la fuerza de corte y la presión al doblamiento de los tallos - en cuatro posiciones y relacionaron estos con el acame en el campo. Encontraron que el segundo entrenudo arriba del suelo y la base del pedúnculo, fueron las mejores posiciones para estimar la resistencia al acame.

Este mismo autor señala a Esehie *et al* 1977, los cuales encontraron que la resistencia al acame estaba asociada con el diámetro más amplio de los entrenudos basales, pedúnculos más cortos, menor altura de la planta, mayor peso de los entrenudos y secciones de la base del tallo y del pedúnculo y una cáscara más gruesa. Concluyendo que las líneas resistentes tienen más lignificación que las susceptibles, al encontrarse grandes diferencias en el número de células con paredes lignificadas en la epidermis, subepidermis y conglomerados vasculares.

Existen sorgos con diferentes niveles de resistencia a la pudrición del tallo. Sin embargo ninguna línea muestra un nivel suficientemente alto de resistencia para contribuir - sustancialmente a un nuevo mejoramiento de tipos de tallos - resistentes a la pudrición. Nuevo México 31, fue la primera línea de sorgo desarrollada para resistencia a la pudrición carbonosa, Rosenow 1978 (30).

Este mismo autor señala que la mayoría de las líneas - resistentes tienden a ser recesivas, mientras que pocas son

dominantes.

Betancourt (1983)*, señala sin embargo que la línea RIO y sus derivados muestran un nivel aceptable de resistencia a *Fusarium* y en la actualidad se están utilizando para incorporar esa resistencia a otras líneas valiosas, hasta ahora y de acuerdo a Rosenow (30) parece ser que la resistencia en RIO es de carácter intermedio a recesivo.

Esporulación

Producción de macroconidios y microconidios.

Generalmente la esporulación -conocida también como reproducción asexual- es más importante para la propagación de la especie ya que origina la producción de numerosos individuos, Alexopoulos 1976 (2).

Muchos aislamientos de especies de *Fusarium* tienen una tendencia a producir abundante micelio sin formar esporas y es necesario, con frecuencia, una estimulación para la producción de esporas debido a que la morfología de la espora es la principal característica en la descripción de un patógeno Booth 1971 (8).

Alexopoulos 1976 (2), señala que aunque la luz no es necesaria para el crecimiento de los hongos, resulta esencial para la esporulación de muchas especies. Igualmente Booth (8) en 1971 indica que la formación macroconidial es estimulada e incrementada en casi todos los cultivos de *Fusarium* por efectos de la luz.

* Comunicación personal.

Preservación

Como la identificación de las especies de *Fusarium* está basada en sus características culturales y su amplio rango morfológico de las esporas, es necesario mantener cultivos para identificaciones comparativas.

Booth 1971 (8), indica que muchas especies heterotálicas rara vez producen peritecios bajo condiciones de campo y la reproducción asexual aparece predominantemente. Por esto, cuando los diferentes tipos de reproducción se observan hace que los cultivos sean valiosos y deben ser conservados, además la conservación de cepas patógenas sirve para pruebas de patogenicidad y toxicidad sobre diferentes hospederos.

Brown 1926, citado por Booth 1971 (8), señala que los cultivos de *Fusarium* son extremadamente inestables, y que la capacidad de las especies para mutar está en función del medio de cultivo. El notó que en un medio sintético rico es difícil conservar la cepa original por más de dos generaciones. Estas mutaciones o adaptaciones culturales pueden aparecer como un cambio en la morfología y sus características culturales. Estos cambios se originan debido a la adaptación del hongo a un medio ambiente artificial.

Existen varios procedimientos para disminuir al mínimo el crecimiento del hongo. Entre los más sencillos se encuentran el de refrigeración o cubrir la superficie del cultivo con aceite mineral.

Otro método simple es almacenar el hongo en suelo seco estéril.

El método más sofisticado y de mejores resultados, es aquel que induce latencia mediante secado por congelamiento y almacenado en nitrógeno líquido (liofilización).

Materiales y Métodos

Inóculo del suelo*

Se colectaron muestras del suelo de un campo en la región de Ocotlán, en donde esta enfermedad se ha presentado. Cinco muestras al azar fueron tomadas de dicho terreno mediante la barrena a una profundidad de 20 cm depositándolas en bolsas de plástico para posteriormente hacer una muestra global.

Inóculo de la planta*

Del mismo terreno donde se tomaron las muestras de suelo, se tomaron restos de plantas enfermas atacadas por *Fusarium*.

El material de laboratorio de uso más frecuente fue: a--asa de nicromo, autoclave, balanza analítica, cajas petri, -horno o estufa de esterilización, incubadora, matraces Erlen Meyer de 500 ml, mecheros, microscopio, pipetas de 1 y 10 ml portaobjetos y cubreobjetos, refrigerador y tubos de ensayo.

Medios de Cultivo

Muchos hongos fitopatógenos pueden cultivarse en medios de cultivos artificiales, sólidos o líquidos, *Fusarium moniliforme* no es la excepción.

* Procedimiento y material proporcionado por el Dr. Alberto Betancourt V.

La mayoría de los hongos crecen en medios con alto contenido de carbohidratos y un pH que fluctúa entre 4 y 6, - French 1980 (16).

No existe un medio ideal para el cultivo de este hongo, ya que las exigencias de los diferentes géneros y especies varían considerablemente.

Los medios de cultivos utilizados para esta investigación fueron propuestos por el Dr. Betancourt, considerándose adecuados por tratarse de medios especiales para este patógeno. Además se utilizaron otros medios de uso común para hongos.

1) Medios Especiales

Armstrong Fusarium

| g/lit | reactivo |
|--------|--|
| 20 | glucosa |
| 0.4 | sulfato de magnesio ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) |
| 1.6 | cloruro de potasio (KCl) |
| 1.1 | fosfato diácido de potasio (KH_2PO_4) |
| 5.9 | nitrato de calcio $Ca(NO_3)_2$ |
| 0.2 | cloruro férrico ($FeCl_3$) |
| ppm | sulfato de manganeso ($MnSO_4$) |
| de c/u | sulfato de zinc ($ZnSO_4$) |

Aforar con agua destilada.

Para solidificar este medio se disolvieron 15 g de agar en 500 ml de agua destilada por separado y se mezclaron con los otros 500 ml que contenían los elementos descritos arriba, estos elementos fueron diluidos uno a uno.

Nitrato Amonio Cereal

| g/lit | reactivos |
|-------|---|
| 50 | harina de cereal (pulverizada) |
| 10 | nitrato de amonio (NH_4NO_3) |
| 5 | fosfato diácido de potasio (KH_2PO_4) |
| 2.5 | sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) |
| 0.02 | cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) |
| 15 | agar |
| | Aforar a un litro con agua destilada. |

Bilay, modificado por Joffe (1967)

| g/lit | reactivos |
|-------|---|
| 1 | fosfato diácido de potasio (KH_2PO_4) |
| 1 | nitrato de potasio (KNO_3) |
| 0.5 | sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) |
| 0.5 | cloruro de potasio (KCl) |
| 0.2 | almidón en polvo |
| 0.2 | sacarosa |
| 15 | agar |
| | Aforar a un litro con agua destilada. |

El agar se diluye en 500 ml de agua caliente, poco a poco se agrega para evitar que la espuma suba. Los demás elementos se mezclan en otros 500 ml con un poco de agitación, se agrega el agar para formar un litro.

2) Medios Selectivos de uso común para hongos

Papa Dextrosa Agar

| g/lt | reactivos |
|------|--------------------------------------|
| 200 | papas peladas y partidas |
| 15 | dextrosa |
| 20 | agar |
| | Aforar a un litro con agua destilada |

Se calientan las papas peladas y partidas en 500 ml de agua por una hora. Simultáneamente en otro recipiente se disuelve el agar en 500 ml de agua. Se cuele el extracto y el agar disuelto se mezclan agregando enseguida la dextrosa agitando para una mezcla homogénea.

Agar Harina de Avena

| g/lt | reactivos |
|------|---------------------------------------|
| 30 | harina de avena pulverizada |
| 20 | agar |
| 20 | dextrosa |
| | Aforar a un litro con agua destilada. |

Se calientan 500 ml de agua destilada a 70 °C, aproximadamente, se agrega la harina de avena manteniendo la temperatura anterior por una hora. Se filtra a través de tela de gasa. Aparte se disuelve el agar y se mezcla con el filtrado de harina de avena. Se agrega la dextrosa.

Agar Agua Común

g/lt reactivos

15 agar

Se diluyen en un litro de agua corriente

NOTA. Solamente se prepararon 500 ml de cada medio de cultivo por considerarse suficiente para esta investigación, utilizándose solamente la mitad de los ingredientes mencionados

Distribución y esterilización de los Medios.

Para un mejor manejo de los medios de cultivo, se distribuyeron en tubos de ensayo en cantidades de 10 ml. Esta distribución se hace con el fin de tener pequeñas porciones para usos continuos, evitando que la cantidad preparada en total se licúe varias veces, cada que su uso lo requiera, previniendo alteraciones por calentamientos sucesivos. Además la baja altura del tubo de ensayo permite un mejor almacenaje dentro del refrigerador.

Antes de esterilizar el medio, se repartió 10 ml por tubo con pipetas evitando que la boca de los tubos se mojara con los medios de cultivo, ya que esto favorece las contaminaciones. Y además los tapones de algodón se pegan a los tubos, los tapones de algodón deben quedar ajustados, de tal modo que los tubos puedan ser levantados tirando de ellos, sin que se destapen. Se etiquetaron con el nombre del medio.

La esterilización se efectuó en autoclave a 121 °C, durante 15 minutos. Las cajas petri, pipetas y en general toda la cristalería se esterilizó en la estufa ó horno a 160-180 °C durante 4 horas.

Métodos de Aislamiento

Aislamiento del Suelo

Fusarium moniliforme ocurre en el suelo en forma de micelio mezclado con las partículas del suelo ó deshechos de plantas. El aislamiento del suelo suele complicarse por la presencia de abundantes esporas de hongos, no obstante la mayoría de especies de *Fusarium* tiene fuerte habilidad competitiva unida a un rápido crecimiento, Booth 1971 (8). Las colonias individuales pueden ser aisladas antes de que estén contaminadas por especies adyacentes.

Para este propósito se determinó la humedad del suelo procediéndose luego a efectuar las diluciones de la siguiente manera: en un matraz estéril se colocaron 25 g de la muestra de suelo, se agregó agua destilada estéril hasta completar un volumen de 250 ml, se agitó en batidora mecánica durante 30 minutos. Con pipeta estéril se trasladaron 10 ml de la suspensión a un matraz conteniendo 90 ml de agua destilada estéril para tener una dilución 1:10. Agitando un poco se tomaron 10 ml de esta dilución y se pasaron a otro matraz estéril conteniendo 90 ml de agua estéril para lograr la dilución 1:100. Este procedimiento se repitió consecutivamente hasta obtener las diluciones 1:1000, 1:10000, 1:100000 y 1:1000000.

Simultáneamente se prepararon 6 cajas petri para cada uno de los seis diferentes medios. A las cajas que contenían Papa dextrosa agar, Harina de avena y Agar agua común se les agregó una gota de ácido láctico al 50%. A dos cajas del primer medio se les agregó la dilución 1:10,000 a las otras dos 1:100,000 y a las últimas dos la dilución 1:1'000,000. Esta operación se repitió idénticamente para los restantes medios de cultivos. Se incubaron a 29 °C durante 5 días y posteriormente se hicieron observaciones cada 24 horas.

Aislamiento del vegetal enfermo

Las áreas necróticas próximas al marchitamiento forman frecuentemente micelio ó conidióforos, y los aislamientos - pueden ser hechos directamente de estos. Las especies de *Fu sarium* penetran al tejido vascular de raíces y tallos y pueden ser aislados de la mejor forma próximos a la superficie Booth 1971 (8).

Para desarrollar el método del tejido plantado se prepararon cinco cajas petri para cada uno de los seis diferentes medios de cultivo, cada caja tenía 10 ml de medio.

Porciones del tallo fueron cortados en trocitos de 0.5 y 1 cm introduciendolos enseguida a una solución de clorox al 10% durante dos minutos. Con pinzas estériles se sacaron los pedacitos del tejido enfermo del clorox, se depositan - en papel secante para eliminar el exceso de líquido. Se ponen de 3 a 5 trocitos en cada una de las cajas. Se incubaron a 29 °C durante seis días, con observaciones periódicas cada 48 horas, Mejia 1981 (25).

Esporulación

Producción de macroconidios y microconidios.

Muchos aislamientos de especies de *Fusarium* tienen una - tendencia a producir abundante micelio sin formar esporas y frecuentemente es necesaria una estimulación para la producción de esporas.

Según Booth 1971 (8), la formación macroconidial es estimulada e incrementada en casi todos los cultivos por efectos de la luz. Para este propósito se construyó una cámara esporulativa con luz blanca fluorescente y luz ultravioleta tenue o luz negra, a una altura de 30 cm de las cajas petri.

Identificación de la Enfermedad

Postulados de Koch

Para hacer un diagnóstico adecuado de la enfermedad y establecer la patogenicidad de este hongo, se utilizó el procedimiento formulado por Robert Koch (1881), en los postulados que llevan su nombre. Estos se modificaron un poco solamente, ajustandolos a los conceptos fitopatológicos, Betancourt 1981(7). A continuación se enuncian dichos postulados:

- 1.- El microorganismo siempre debe estar asociado con la enfermedad, y la enfermedad no debe presentarse sin que el organismo o agente causal se encuentre presente.
- 2.- El patógeno debe aislarse en cultivo puro y observar se sus características específicas en el medio de cultivo (parásito no obligado) o sobre la planta hospedera (parásito obligado).
- 3.- El patógeno debe inocularse en plantas sanas de la especie o variedad susceptible y debe producir los síntomas de la enfermedad.
- 4.- El patógeno debe reaislarse de la planta inoculada y sus características deben ser exactamente como las observadas anteriormente.

Para realizar esta prueba se utilizaron plantas de sorgo que con este fin se estuvieron cultivando en el invernadero del INIA* en Tepatitlán.

* Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México.

Inoculación

El patógeno fue cultivado sobre mondadientes de madera estériles en medio Armstrong Fusarium. Con pinzas estériles a la flama del mechero, se tomaron los palillos y fueron sumergidos hasta la mitad de su longitud en el medio de cultivo, se colocaron sobre cajas petri a las que previamente se les había agregado 10 ml del mismo medio. Los palillos se acomodaron en forma radial sobre la caja apoyando la parte seca del palillo sobre el borde de la caja petri. Enseguida se transfirió el inóculo al centro de las cajas petri mediante el asa de nicromo estéril.

En toda la ejecución anterior se utilizaron mecheros para mantener el área completamente estéril, además se evitaron las corrientes de aire y se desinfectaron las mesas de trabajo con una solución diluida de cloro.

Las plantas fueron inoculadas de una a dos semanas después del 50% de la floración, mediante un palillo infectado por el hongo, insertándolo en cada uno de los tallos en el segundo entrenudo; el palillo fue introducido dentro de un agujero hecho con un picahielo desinfectado con cloro. Se tuvo el cuidado de que el palillo no saliera del otro lado del tallo, ya que esto origina un secado rápido del inóculo, Rao *et al* 1978 (28).

Observación del cultivo sobre Portaobjetos

La técnica especial de cultivo sobre portaobjetos es muy útil para determinar las características de crecimiento del hongo sin perturbar el orden relativo de las estructuras.

La siguiente técnica fue tomada del libro de French y

Teddy 1980 (16), adaptandola de acuerdo a las características de este hongo;

- a.- Se comenzó esterilizando una placa petri que contenía un disco de papel filtro, una vara de vidrio en forma de Z, un portaobjetos y un cubreobjetos.
- b.- Se prepararon placas delgadas de agar espeso (25 g/lt) de medio Bilay. Este medio produce poco micelio del hongo, por lo que lo hace ideal para la observación de sus estructuras.
- c.- Se cortó un cuadrado del medio del tamaño un poco menor al del cubreobjetos y se puso en el centro del portaobjetos.
- d.- Se inoculó el bloque de agar con las conidias o trozos de micelio, ubicandolo a distintas distancias de cada lado del cuadrado.
- e.- Se cubrió con el cubreobjetos y se incubó a 25 °C manteniendo un alto nivel de humedad relativa mojando el papel de filtro con una solución de glicerina en agua.
- f.- Se observó directamente al microscopio sin perturbar; se removieron las conidias que impedían ver las características de los conidióforos y otras estructuras ocultas, haciendo lavados gota a gota con agua.

Medición del Crecimiento

Todo microorganismo que crece uniformemente sobre medios sólidos, se presta a la medición lineal, la cual se puede repetir a intervalos para establecer el ritmo de crecimiento.

Los hongos crecen solo por la parte terminal de las hifas y el micelio posterior envejece, González 1977 (19). Las hifas terminales se ramifican según las condiciones ambientales, especialmente las nutritivas. Lo que se mide es el avance del micelio. Es especialmente importante en estudios de nutrición, no introducir con el inóculo nutrientes ajenos al medio en estudio, French y Teddy 1980 (16).

A continuación se explica el uso del recipiente que se utilizó para tomar mediciones lineales de colonias fungosas:

Cajas Petri.- Para determinar el ritmo de crecimiento de un hongo sobre cajas petri, primero se dibuja sobre el envés de la caja una cruz marcando el centro, con un lápiz de cera o marcador negro, identificando cada caja con un número, y marcando los cuatro radios con una letra. Se inocula al centro del medio en la caja con el hongo, incubando luego a 25 °C hasta que se observe un avance definitivo del hongo marcando el punto de avance sobre los cuatro radios hechos en la caja; en ese momento se da inicio al estudio del crecimiento. A intervalos apropiados de tiempo (24-48 horas) se mide y marca el incremento. Las cifras de incremento permiten preparar una curva de crecimiento. El ritmo promedio de crecimiento se calcula dividiendo el incremento total por el tiempo. Cada radio representa una observación, French y Teddy 1980 (16).

Para realizar esta medición se prepararon cinco cajas petri para cada uno de los seis medios de cultivos.

Esporulación

Para estimular la esporulación macroconial se construyó una cámara esporulativa con las siguientes características: un tubo de luz blanca fluorescente y otro de luz ultravioleta tenue o luz negra, colocados uno al lado del otro sobre una base de madera a una altura de 30 cm de las cajas petri que contenían los cultivos. Esta cámara se cubrió alrededor con plástico negro y los intervalos de exposición de luz fueron de 12 horas para la luz blanca y 12 horas para la luz negra hasta que la caja estuvo completamente cubierta por la colonia fungosa.

La cuantificación de la esporulación permite determinar el potencial infeccioso; es necesario entonces aplicar un método para conocer la capacidad esporulativa de *Fusarium moniliforme*. Para este fin se ajustó el procedimiento de las diluciones combinado con el uso de la cámara cuantaglobulos, cuyo desarrollo básico fue el siguiente:

- 1.- Se prepararon cinco cajas petri con PDA y otras cinco con medio Bilay. Posteriormente se transfirió el inóculo al centro de todas las cajas.
- 2.- Se colocaron las cajas en una incubadora a 25 °C durante tres días para iniciar el desarrollo.
- 3.- Estas fueron luego pasadas a la cámara esporulativa hasta que el desarrollo paró (8 días).
- 4.- Cuando el cultivo fungoso invadió totalmente la caja y el desarrollo hubo parado, se retiraron las tapas de las cajas y se agregó al cultivo con pipeta volumétrica 10 ml de un detergente fino con acción emulsificante (tween), agitando para desprender lo máximo posible las conidias y obtener una solución homogénea.

5.- De esta solución homogénea se tomó 1 ml y se depositó en un tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua destilada para obtener una dilución 1:10, se continuó este procedimiento hasta obtener una dilución que permitiera un fácil conteo (1:100 para PDA y 1:10 para Bilay).

Uso de la Cámara Cuenta-Glóbulos

Las cámaras de conteo utilizadas para contar propágulos de hongos son hematocímetros (FIGURA 4), diseñados para contar los glóbulos de la sangre. Estos consisten de una lámina de cristal de una dimensión aproximada a la de una lámina portaobjetos, pero de mayor grosor. Tiene ranuras en forma de H, con rieles a cada lado que sostienen un cubreobjetos grueso especial a una distancia de 0.1 mm por encima de las porciones interiores de la H, que forman dos cámaras entre estas y el cubreobjetos. El cubreobjetos es grueso para impedir que se hunda al centro en su parte no sostenida, la cual reduciría el volumen de las cámaras.

- a.- Se colocó el cubreobjetos especial sobre los rieles paralelos a ambos lados de la cámara, frotando ligeramente para conseguir un buen contacto.
- b.- Con una pipeta delgada (que no gotee) se tomó una muestra de las diluciones antes preparadas y se aplicó a la ranura, al centro del margen de una de las cámaras donde fue absorbida por fuerza capilar, quitándola a tiempo para que no entrara un exceso que se rebosara en los bordes, ya que esto induce un factor de error.
- c.- Se vació la pipeta y se repitió el proceso anterior (b) para la cámara opuesta; se montó al microscopio

y se ubicó el rayado de una de las cámaras con el objetivo de menor aumento, girando luego el revólver para mayores aumentos (no se puede usar el de inmersión). Se dejó transcurrir el tiempo necesario para que los propágulos se asentaran en el fondo de la cámara, (dos minutos).

- d.- El conteo se realizó en cinco Cuadrados Principales (C.P.), son nueve en total, se contó en los cuatro de las esquinas y el central.
- e.- Se repitió el conteo sobre el segundo rayado en la otra cámara.
- f.- Se hicieron los cálculos de la siguiente manera:

-Como el volumen sobre cada CP es de 0.1 mm^3 , para calcular la concentración por cc (10,000 veces mayor) se procede de la siguiente manera

-Suma de 5 CP x 2,000 = propágulos/cc

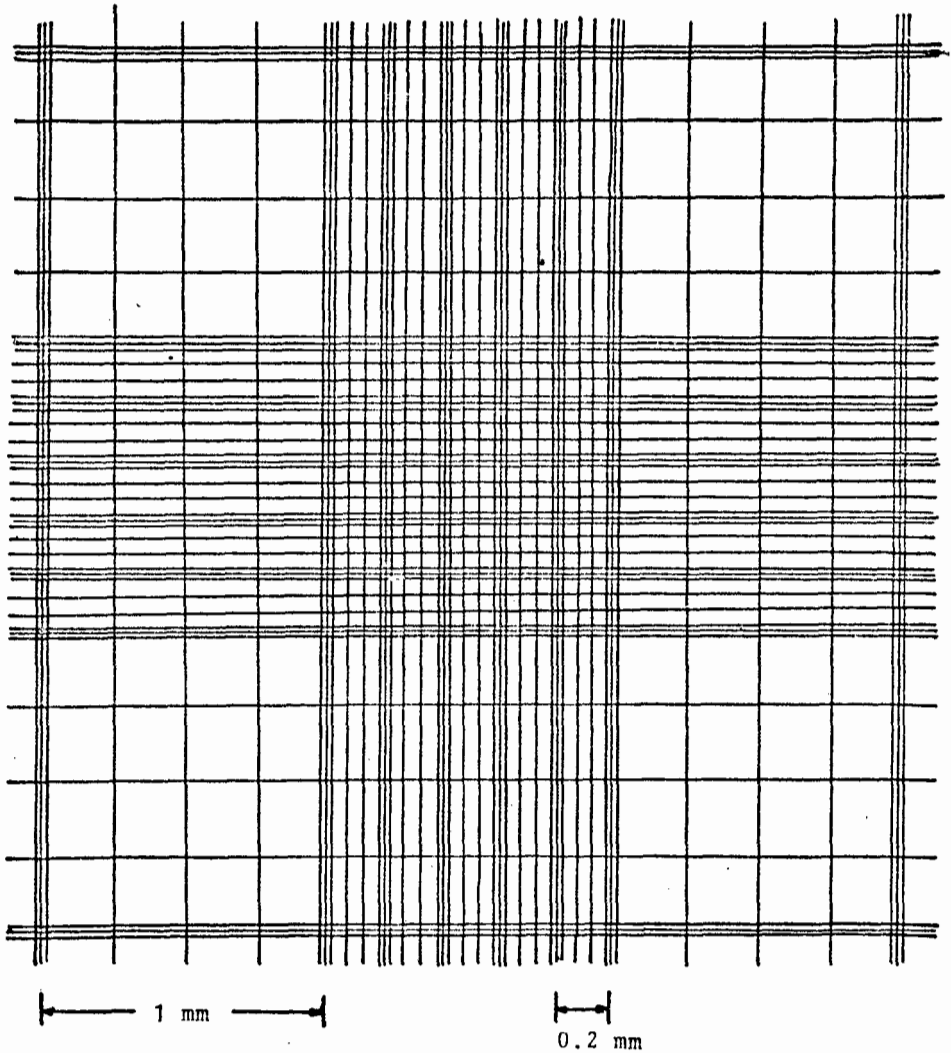
-Considerando el volumen original

-Propágulos/cc x 10 cc = propágulos/10 cc

-Atendiendo al factor de dilución utilizado (1:100 para PDA y 1:10 para Bilay)

-Propágulos/10 cc x 100 = número total de propágulos liberados por la colonia fungosa de 8 días de edad con un diámetro de 9 cm.

FIGURA 4. Cámara cuenta-globulos. Rayado "Neubauer" indicando las dimensiones de cada división: C.P. 6 cuadros principales de 1 mm por lado y C.S. 6 cuadros secundarios de 0.2 mm por lado.



FUENTE: French y Teddy 1980 (16).

Resultados

Aislamientos del suelo

En las siembras hechas con las diluciones de suelo 1:1'000,000 y 1:100,000 de todos los medios, no hubo presencia de ningún tipo de microorganismos. En la dilución 1:10,000 y solamente sobre los medios Papa Dextrosa Agar y Agar - Harina de Avena se presentaron tres tipos diferentes de colonias fungosas pero ninguna de ellas presentaba características de *Fusarium*. Una de las colonias presentes mostraba gran cantidad de esporangios y un crecimiento bastante rápido. Esta colonia se hizo presente en todos los medios de cultivo probados mostrando las mismas características culturales y morfológicas, su presencia variaba de una a tres colonias por caja.

Posteriormente se hizo una segunda prueba y se sembraron las diluciones 1:1,000 y 1:100 obteniéndose nuevamente resultados negativos para *Fusarium*, pero en cambio el hongo mencionado antes apareció con más frecuencia.

Aislamientos del vegetal

Papa Dextrosa Agar.- Solamente se desarrolló un tipo de colonia, a los cinco días se notaba sobre el tejido plantado micelio de color blanco muy transparente, extendiéndose luego en forma más rápida hasta llenar la caja petri en 13 días. En las observaciones hechas al microscopio se notaron estructuras idénticas a las atribuidas para *Fusarium*.

Agar Agua Común.- Sobre este medio el surgimiento de la colonia fungosa fue tardío, después de 10 días apenas si mostraba indicios de micelio aéreo. A los 15 días cuando la colonia tenía 3 centímetros de diámetro aproximadamente, detuvo su crecimiento. El micelio presente fue poco y completamente ralo, de un color blanco casi transparente. En las muestras tomadas para la observación microscópica se identificaron estructuras semejantes a *Fusarium*.

Agar Harina de Avena.- Este medio presentó problemas de contaminación y permitió el desarrollo de dos colonias del tejido plantado. Una de ellas de color negro que no llegó más allá de un centímetro de diámetro y otra de color rosa subido con un crecimiento rápido, un desarrollo tupido y densas ramificaciones. Se tomaron muestras de la punta de estas colonias para el examen microscópico y resultó tener características propias de *Fusarium*.

Nitrato Amonio Cereal.- El hongo resultante del aislamiento en este medio, mostró señales de crecimiento a los seis días, desarrollándose posteriormente con más rapidez y completar la caja petri en 15 días. El micelio desarrollado fue tupido de color salmón pálido. No hubo crecimiento de ningún otro tipo de hongo. El examen microscópico contribuyó a la identificación de *Fusarium*.

Bilay.- El desarrollo del hongo aislado fue lento y escaso. El micelio de color blanco transparente apenas era distinguible. La observación microscópica permitió ver grandes cadenas de microconidios y poco micelio. Un examen cuidadoso determinó la presencia de *Fusarium*.

Armstrong *Fusarium*.- En este medio como en la mayoría de los anteriores solamente se desarrolló un hongo, que mediante el estudio de sus estructuras mediante observaciones microscópicas correspondieron a *Fusarium*. El micelio presente fue de color blanco brillante. A pesar de que la colonia fue tupida su crecimiento mostro lentitud, duró 17 días para llenar la caja petri.

Crecimiento de las Colonias

De las colonias aisladas en cada medio, se transfirió - inóculo a medios idénticos para medir el crecimiento con los resultados siguientes:

Papa Dextrosa Agar.- Crecimiento rápido, siete días para completar la caja petri de 9 cm de diámetro con una velocidad de crecimiento de 6.3 mm/día (CUADRO 2). La curva de crecimiento se muestra en la FIGURA 5.

Agar Harina de Avena.- Crecimiento intermedio, 11 días para que la colonia alcanzara 9 cm de diámetro. La velocidad de crecimiento fue de 4.1 mm/día. (CUADRO 3). La respectiva curva de crecimiento se observa en la FIGURA 6.

Nitrato Amonio Cereal.- Crecimiento intermedio, 9 días para que la colonia fungosa completara la caja petri, teniendo una velocidad de crecimiento de 5 mm/día CUADRO 4. Y una curva de crecimiento que se muestra en la FIGURA 7.

Bilay.- Crecimiento lento, 14 días para llenar la caja petri Resultando con una velocidad de crecimiento de 3.2mm por día (CUADRO 5). La curva de crecimiento sobre este medio se anota en la FIGURA 8.

Armstrong Fusarium.- Crecimiento lento, 14 días para que la colonia creciera 9 cm de diámetro, con una velocidad de crecimiento de 3 mm/día (CUADRO 6). La curva de crecimiento se registra en la FIGURA 9.

CUADRO 2. Crecimiento de la Colonia de *Fusarium moniliforme* sobre el Medio de Cultivo "Papa Dextrosa Agar".

| Tiempo de medición (días) | Radio de la colonia (mm) | | | | | Incremento promedio (mm) | Velocidad crecimiento (mm/día) |
|---------------------------|--------------------------|----|----|----|----|--------------------------|--------------------------------|
| | número de la caja | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 2 | 6 | 6 | 7 | 5 | 5 | 5.8 | 44.6/7 |
| 3 | 12 | 13 | 14 | 13 | 12 | 12.8 | |
| 5 | 30 | 29 | 28 | 24 | 27 | 27.6 | 6.3 |
| 7 | 45 | 45 | 45 | 43 | 45 | 44.6 | |

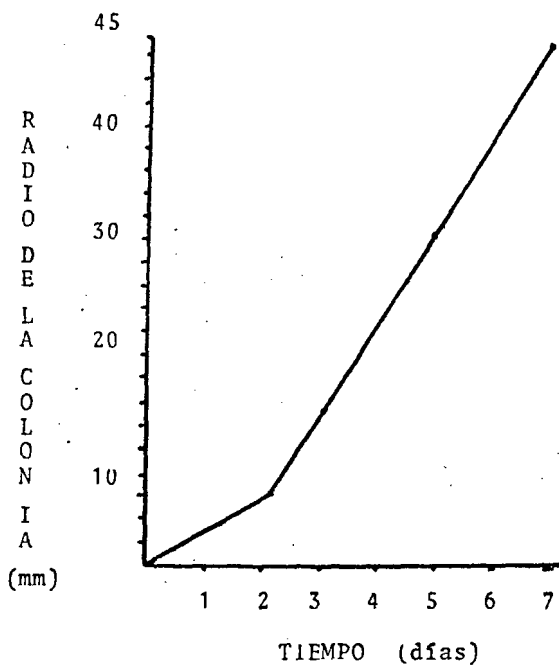


FIGURA 5. Curva de crecimiento para *Fusarium moniliforme* en "Papa Dextrosa Agar"

CUADRO 3. Crecimiento de la Colonia de Fusarium moniliforme sobre el Medio de Cultivo 'Agar Harina de Avena'.

| Tiempo de medición (días) | Radio de la Colonia (mm) | | | | | Incremento promedio (mm) | Velocidad crecimiento (mm/día) |
|---------------------------|--------------------------|----|----|----|----|--------------------------|--------------------------------|
| | número de caja | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 2 | 7 | 8 | 6 | 7 | 5 | 6.6 | 45/11 |
| 3 | 11 | 11 | 10 | 10 | 12 | 10.8 | |
| 5 | 18 | 18 | 20 | 17 | 21 | 18.8 | 4.1 |
| 7 | 25 | 26 | 31 | 28 | 28 | 27.6 | |
| 9 | 36 | 37 | 40 | 39 | 39 | 38.2 | |
| 11 | 45 | 45 | 45 | 45 | 45 | 45.0 | |

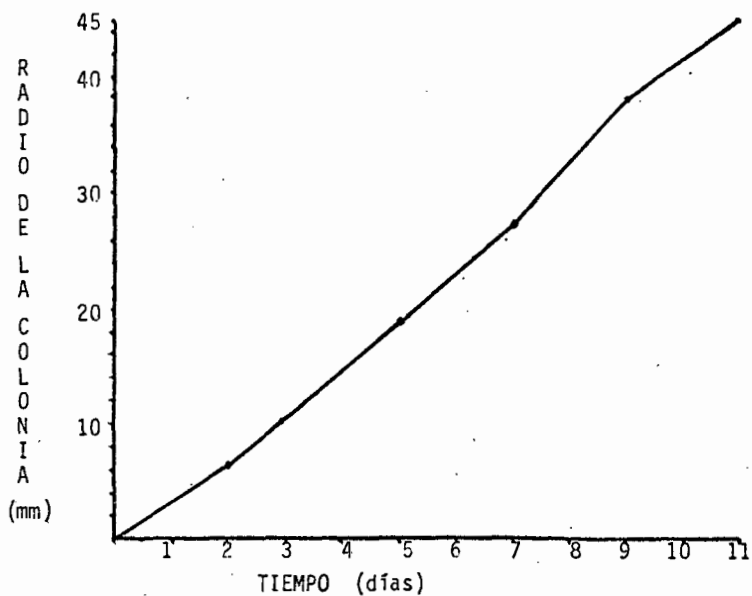


FIGURA 6. Curva de crecimiento para F. moniliforme en 'Agar Harina de Avena'.

CUADRO 4. Crecimiento de la Colonia de Fusarium moniliforme sobre el Medio de Cultivo 'Nitrato Amonio Cereal'.

| Tiempo de medición (días) | Radio de la Colonia (mm) | | | | | Incremento promedio (mm) | Velocidad crecimiento (mm/día) |
|---------------------------|--------------------------|----|----|----|----|--------------------------|--------------------------------|
| | número de caja | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 2 | 4 | 3 | 6 | 6 | 5 | 4.8 | 45/9 5 |
| 3 | 12 | 10 | 14 | 17 | 14 | 13.4 | |
| 5 | 28 | 24 | 27 | 30 | 26 | 27.0 | |
| 7 | 44 | 36 | 40 | 41 | 37 | 39.6 | |
| 9 | 45 | 45 | 45 | 45 | 45 | 45.0 | |

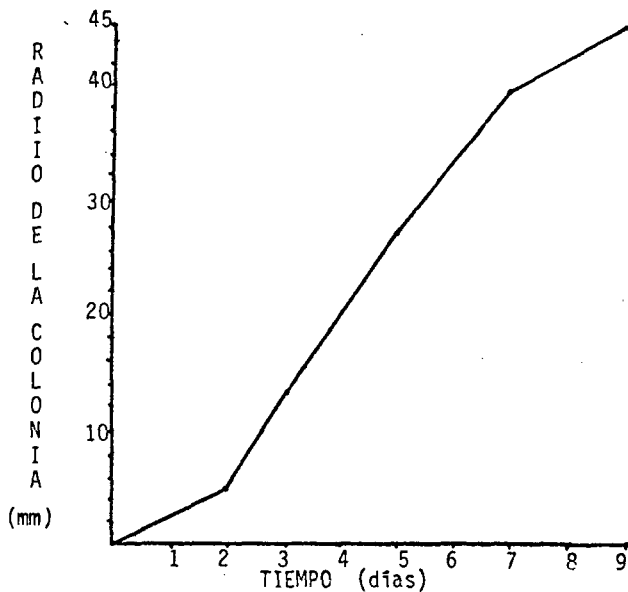


FIGURA 7. Curva de Crecimiento para F. moniliforme sobre 'Nitrato Amonio Cereal'.

CUADRO 5. Crecimiento de la colonia de *Fusarium moniliforme* sobre el medio de cultivo "Bilay"

| Tiempo de medición (días) | Radio de la colonia (mm) | | | | | Incremento promedio (mm) | Velocidad crecimiento |
|---------------------------|--------------------------|----|----|----|----|--------------------------|-----------------------|
| | número de la caja | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 3 | 5 | 7 | 8 | 6 | 6 | 6.4 | 45/14 3.2 |
| 5 | 8 | 12 | 14 | 13 | 11 | 11.6 | |
| 7 | 13 | 18 | 21 | 21 | 17 | 18.0 | |
| 9 | 18 | 28 | 28 | 29 | 26 | 25.8 | |
| 11 | 26 | 37 | 36 | 37 | 35 | 34.2 | |
| 13 | 38 | 43 | 43 | 44 | 43 | 42.2 | |
| 14 | 45 | 45 | 45 | 45 | 45 | 45.0 | |

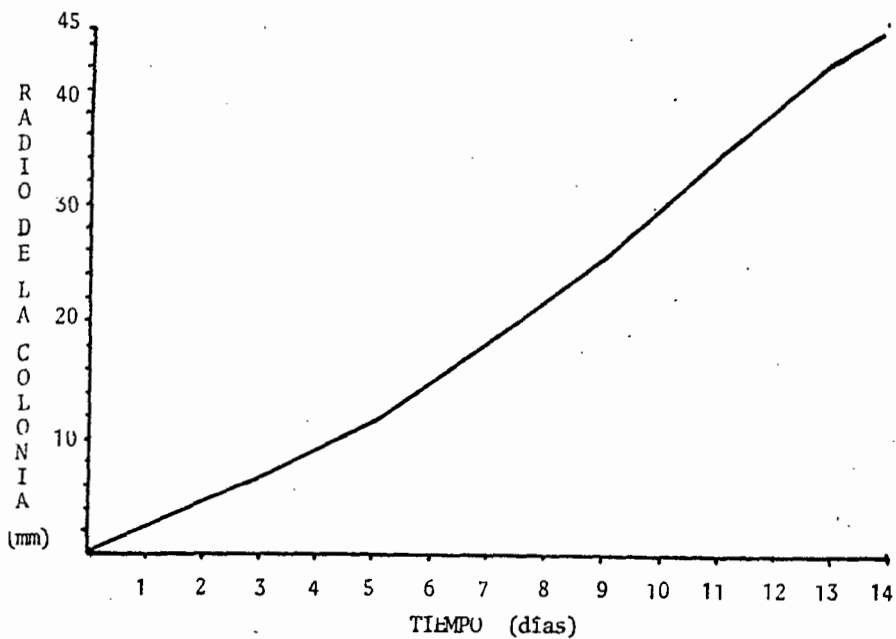


FIGURA 8. Curva de crecimiento para *Fusarium moniliforme* en Medio "Bilay"

CUADRO 6. Crecimiento de la Colonia de *Fusarium moniliforme* sobre el Medio de Cultivo "Armstrong Fusarium"

| Tiempo de medición (días) | Radio de la Colonia (mm) | | | | | Incremento promedio (mm) | Velocidad crecimiento (mm/día) |
|---------------------------|--------------------------|----|----|----|----|--------------------------|--------------------------------|
| | número de la caja | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 3 | 2 | 4 | 8 | 4 | 10 | 5.6 | 42.6/14 3 |
| 5 | 4 | 9 | 14 | 7 | 16 | 10.0 | |
| 7 | 7 | 15 | 22 | 12 | 23 | 15.0 | |
| 9 | 16 | 23 | 29 | 23 | 32 | 24.6 | |
| 11 | 29 | 32 | 37 | 33 | 41 | 34.4 | |
| 13 | 36 | 40 | 43 | 39 | 45 | 40.6 | |
| 14 | 37 | 44 | 45 | 42 | 45 | 42.6 | |

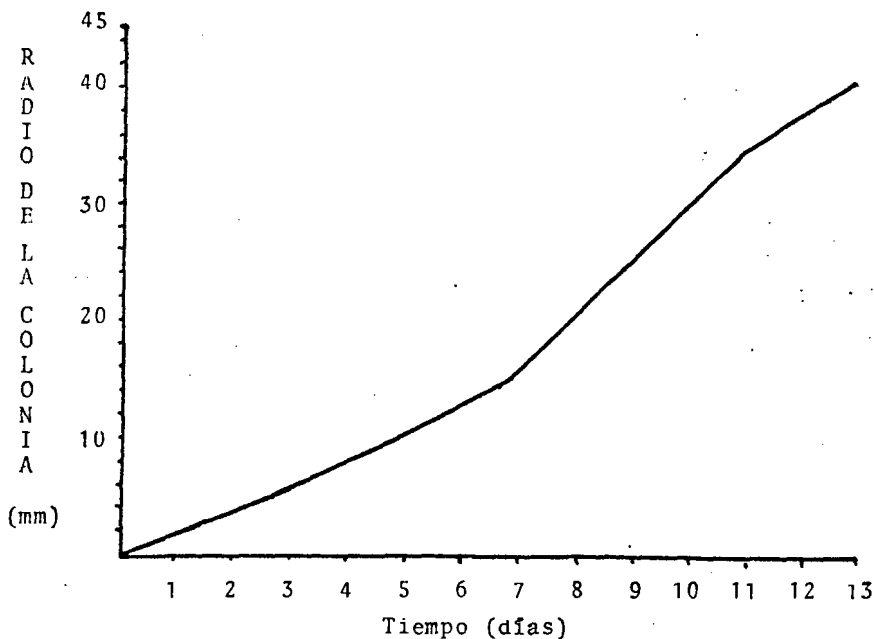


FIGURA 9. Curva de crecimiento para *Fusarium moniliforme* sobre el Medio "Armstrong Fusarium"

Observación microscópica

Micelio hialino, aéreo, muy ramificado cuando joven y completamente tupido a los 15 días, excepto en los Medios Bilay y Agar Agua Común (FIGURA 10). Las hifas son tabicadas - variando la longitud de los tabiques. El micelio parecía engrosarse al envejecer (FIGURAS 12 y 13).

Los conidiófors estaban compuestos de varias células basales en algunas ocasiones y en otras de una sola, (FIGURAS 14 y 15). El esterigma, productor de microconidios, soportaba grandes cadenas de estos, los cuales estaban delicadamente unidos ya que al menor movimiento se desprendían unos de otros (FIGURA 10).

Los microconidios son de forma ovoideo-fusoidales, con medidas de $2-3.5 \times 4.3-14 \mu$, presentando una base ligeramente oprimida (FIGURA 11).

Esporulación

Aún bajo el efecto de la luz (cámara esporulativa) el hongo no produjo macroconidios, pero si aumentó el número de microconidios. En condiciones normales, en el Medio PDA se produjeron 600 millones de microconidios y en el Medio Bilay se encontraron 59 millones de estos mismos, pero bajo el efecto de la luz se encontraron 750 millones en PDA y solamente 70 millones en el Medio Bilay.

Inoculación

Cuando la planta inoculada en el invernadero estuvo en su punto de maduración, se cosechó y se hicieron cortes longitudinales observándose los síntomas descritos en el respectivo apartado de este trabajo. La coloración roja de los haces vasculares, síntoma característico de esta enfermedad -

se limitó en algunas ocasiones solo alrededor del palillo introducido, mientras que en otras su extensión fue más allá del entrenudo inoculado.

En base a la morfología observada del hongo y a los síntomas presentados en las plantas inoculadas, este hongo concuerda con las características para *Fusarium moniliforme*.

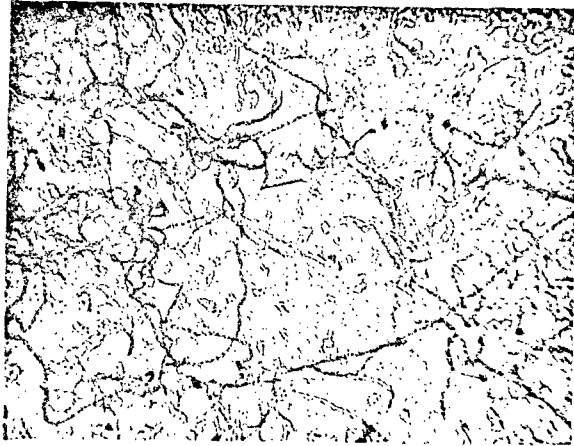


FIGURA 10. Micelio aéreo ramificado mostrando grandes cadenas de microconidios 10X.

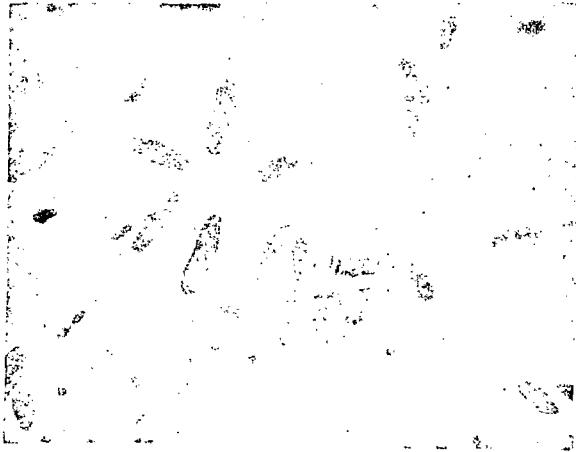


FIGURA 11. Microconidios. 100X.

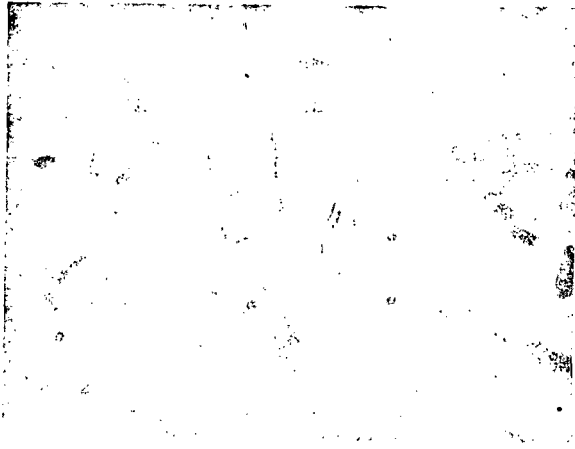


FIGURA 12. Segmento de hifa en el que se aprecia la unión de un tabique. 100X.



FIGURA 13. Hifa engrosada conteniendo un tabique completo. 100X.

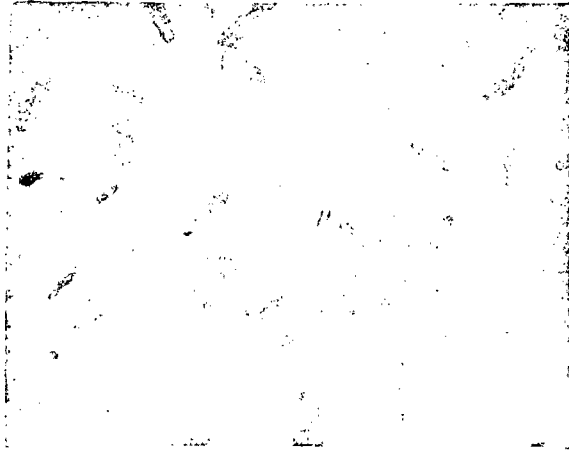


FIGURA 14. Punta de hifa y conidióforos laterales en los que se nota la iniciación de una cadena microconidial. 100X

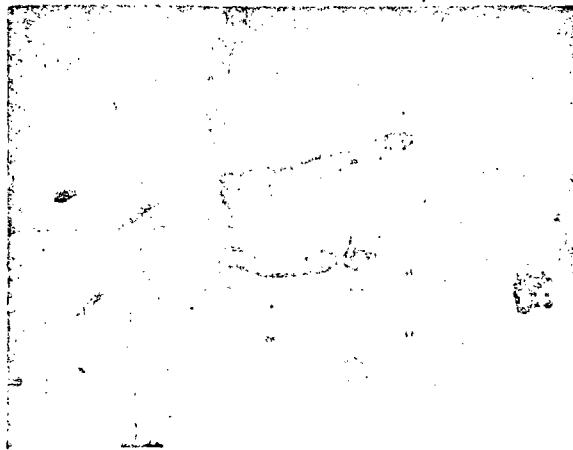


FIGURA 15. Hifa especializada (conidióforo) en la que se aprecia la emergencia del primer conidio. 100X

Discusión

Los aislamientos que resultaron negativos para *Fusarium* provenientes de las muestras de suelo, se debieron a que el hongo con frecuencia no se encuentra mezclado en el suelo, sino que se encuentra principalmente en los residuos de las cosechas. Esto se comprueba por el hecho de que los aislamientos mediante la técnica del tejido plantado fueron positivos para todos los medios de cultivo probados. Lo anterior confirma el hecho de que la invernación de *Fusarium* en residuos de cosecha es más común, Agrios 1980 (1).

Las variaciones en las curvas de crecimiento observadas se debieron con toda seguridad a los diferentes niveles nutricionales. Cuando se utilizó un medio con los suficientes elementos nutricionales, principalmente los carbohidratos, se produjo en el hongo una gran cantidad de micelio y cadenas de microconidios, en tanto que con el empleo de un medio con los elementos nutricionales esenciales pero pobre en carbohidratos se indujo una gran esporulación mostrando grandes cadenas de microconidios, pero la producción de micelio fue escasa.

La uniformidad en las características morfológicas se debió a que los cultivos fueron hechos del mismo inóculo aislado. No obstante, las características macroscópicas diferieron para cada uno de los medios de cultivo, identificadas tanto en la abundancia del hongo como en el color de la colonia. Estos cambios fueron originados por la acción enzimática del hongo para adaptar el medio a sus necesidades, tanto de nutrientes disponibles como de pH.

La seguridad de que el hongo estudiado y descrito como *Fusarium moniliforme* es el causante de la pudrición del tallo, está basada en la comprobación de los síntomas señalados por Zummo 1973 (35), Williams y Frederiksen 1978 (34) y Betancourt 1978 (5). Además de la comparación de las estructuras de este con los estudios llevados a cabo por Gilman 1963 (18), Booth (1971), Barnett (1971); Edmunds (1975) y Komada (1976).

Conclusiones y Recomendaciones

Encontrar un medio de cultivo adecuado para el aislamiento y cultivo de *Fusarium moniliforme*, y hacer una descripción morfológica estableciendo las bases para estudios posteriores de control, principalmente, ha sido el objetivo primordial de esta investigación. El desarrollo de la misma permite llegar a las siguientes conclusiones y recomendaciones.

En lo que respecta a los tipos de aislamiento, se asegura que el más adecuado es el que utiliza la técnica del tejido plantado, dado que los síntomas presentados en el tallo enfermo son característicos del ataque de este hongo.

De la misma forma se puede establecer que las grandes diferencias entre los medios de cultivo probados son: Los medios comunes son baratos y de fácil preparación pero presentan serios problemas por contaminación con otros hongos. En tanto los medios especiales contienen una gran cantidad de nutrientes por lo que su preparación requiere mayor tiempo pero los problemas de contaminación se reducen y el hongo desarrollado presenta características adecuadas.

Se puede concluir también, que un medio con alto contenido nutricional, principalmente los carbohidratos, produce en el hongo un desarrollo bastante denso repercutiendo en un aumento del inóculo, representado tanto en micelio como en conidios. Lo anterior fue observado en los medios "Nitrato -

Amonio Cereal", "Armstrong Fusarium" y "Papa Dextrosa Agar" en orden de importancia.

Se recomienda el medio "Bilay para la observación de las fases del desarrollo y el proceso esporulativo, debido a que su crecimiento es lento y pobre por la deficiencia en carbohidratos.

Los medios "Agar Harina de Avena" y "Agar Agua Común" no son aconsejables para pruebas semejantes a estas, por ocasionar problemas de contaminación y por carecer de un nivel apropiado de nutrición, respectivamente. En esta investigación ambos medios se omitieron después de las primeras pruebas.

Se acepta la Ha. porque los diferentes medios de cultivo muestran una gran diferencia en cuanto al aislamiento y cultivo de *Fusarium moniliforme*.

Resumen

La presente investigación se llevó a cabo en la Escuela de Agricultura, el Instituto de Botánica y el Instituto de Celulosa Madera y Papel de la Universidad de Guadalajara con la finalidad de determinar el método de aislamiento, cultivo y esporulación más favorables para *Fusarium moniliforme*, hongo causante de la pudrición del tallo y de la panoja en el cultivo del sorgo.

La importancia de hacer esta determinación estriba en el daño que este patógeno está causando al cultivo del sorgo en México, especialmente en la Ciénega de Chapala, Jalisco. Y dado que la información sobre este agente causal en nuestro país es escasa e incompleta se llevó a cabo el presente trabajo.

Para cumplir con los objetivos planteados, se procedió a elaborar seis diferentes medios de cultivo, los cuales variaban en nutrición y en selectividad microbiana. Con estos medios se realizaron pruebas tales como; aislamientos, curvas de crecimiento y cuantificación esporulativa que fijaron las características para cada medio.

Además se estableció la identidad de este hongo mediante los Postulados de Koch, con inoculaciones y posteriores observaciones microscópicas del vegetal infectado, haciendo-se una descripción morfológica reforzada con fotografías.

La realización de las pruebas mencionadas permitieron reconocer a la técnica del tejido como la más favorable para el aislamiento de este parásito, al igual que los medios --

"Armstrong Fusarium" y "Nitrato Amonio Cereal". El medio "Papa Dextrosa Agar" fue el mejor para el crecimiento del hongo, y el medio "Bilay" especial para la esporulación y la observación del desarrollo.

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluyó que los medios con alto contenido nutricional, sobre todo los carbohidratos, produce en el hongo un crecimiento bastante denso repercutiendo en el aumento del inóculo.

También se estableció la diferencia en el uso de dichos medios, perteneciendo a un grupo aquellos que su elaboración es simple pero su selectividad es baja (Papa Dextrosa Agar, Agar Agua Común y Agar Harina de Avena) y al otro grupo los medios cuya elaboración es mas complicada pero su selectividad es alta (Nitrato Amonio Cereal, Armstrong Fusarium y Bilay).

Bibliografía

- 1.- Agrios G, N. (1978). Plant Pathology. 2da. Edición. Academic Press, New York. 703 p.
- 2.- Alexopoulos C, J. (1976). Introducción a la Micología. Trad. de la segunda reimpresión por A. Pedro Digi-
lio. Edit, Universitaria de Buenos Aires. Argenti-
na. p.v.
- 3.- Anónimo. (1980). Desarrollo y Control de las Enfermedades de las Plantas. National Academy of Sciences. Vol. 1. Trad por Manuel Aragonés. Primera impre-
sión. Editorial Limusa. México. p. 3-4, 141-168.
- 4.- Barnett H, L. and Barry B.H. (1972). Illustrated Genera of Imperfecti Fungi. Third Edition. Burgess Pu-
blishing Company. Minneapolis, Minnesota. p. 126-127
- 5.- Betancourt V, A. (1978). Sorghum Diseases in México. In Proceeding of the International Workshop on Sorghum Diseases. ICRISAT. Patancheru, A.P. India. p. 23-25
- 6.- ----- (1980). Sorgo. En Logros y Aportaciones de la Investigación Agrícola en el Estado de Jalisco. INIA. Tepatitlán, Jalisco. p.25-30
- 7.- ----- (1981). Notas del Curso sobre Fitopatología. Escuela de Agricultura. Universidad de Guadala-
jara.

- 8.- Booth, C. (1971). The Genus *Fusarium*. Commonwealth Micrological Institute. Kew Surrey, England. p.14-29, 32-35, 122-129
- 9.- Carpenter P, L. (1980). Microbiología. Segunda Edición. trad. por Jose R. Bleingo. Editorial Nueva Interamericana. México. p. 310-312
- 10.- Edmunds L, K., Futrell M, C. y R. A. Frederiksen (1975) Enfermedades del Sorgo. En Producción y Usos del Sorgo. Editores Wal J, S. y Ross W, M. Buenos Aires, Argentina. p. 127-128
- 11.- ----- and Zummo, N. (1975). Sorghum Diseases in the Unites States and their Control. Agricultural Research Service. Unites States Department of Agricultural. Washington, D.C. USA.
- 12.- Fernández V, M.V. (1978). Introducción a la Fitopatología. Volumen Especial III. Hongos. Tercera Edición. Edit. INTA. Argentina. p. 433-438
- 13.- Finch H, C. y A, N. Finch (1974). Los Hongos Comunes que Atacan los Cultivos en América Latina. Edit. Trillas. México. p. 58
- 14.-Frederiksen,R. A. and L, L. Castor. (1978). Sorghum Grain Mold. En Proceeding of the International Workshop on Sorghum Diseases. ICRISAT. Patancheru A.P. India. p. 93-94
- 15.- ----- and D.T, Rosenow. (1979). Biology and Breeding for Resistance to Arthropods and Pathogens in Agricultural Plants. En Proceeding of a Short Course in Host Plants Resistance. Editado por M.K. Harris. Texas A&M University, College Station. Texas, USA. p. 160

- 16.- French R, E. y Teddy T. H. (1980). Métodos para la Investigación Fitopatológica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. San Jose, Costa Rica. P. 21 -56, 158-160.
- 17.- Frowd J, A. (1978). Sorghum Stalk Rots in West Africa. - En Proceeding of the International Workshop on Sorghum Diseases. ICRISAT. Patancheru, A. P. India. - p. 322.
- 18.- Gilman C, J. (1963). Manual de los Hongos del Suelo. Compañía Editorial Continental. México. P. 468-469.
- 19.- González L, C. (1977). Introducción a la Fitopatología. Primera Reimpresión. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. San Jose, Costa Rica. p.v.
- 20.- Horne C, W. and R. W. Berry. (1980). Sorghum Diseases Atlas. Texas Agricultural Extension Service. The Texas A&M University Sistem. College Station. Texas. USA. p. 15.
- 21.- House L, R. (1982). El Sorgo. Guía para su Mejoramiento Genético. Universidad Autónoma de Chapingo. Ed. GE GSA. México. p. 15.
- 22.- Komada, H. (1976). A New Selective Medium for Isolating *Fusarium* Species from Natural Soil. En Proceeding of the American Phytopathological Society 3:221 - (abstract).
- 23.- María R, A. (1983). El Mildiú Velloso del Sorgo. *Sorghum bicolor* (L) Moench, causado por *Peronosclerospora sorghi* (Weston y Uppal) Shaw. Tesis Profesional. Escuela de Agricultura. Universidad de Guadalajara. - p. 13-15.

- 24.- Martínez C, J. (1982). Evaluación de Sorgos por Calidad de Grano, Resistencia a enfermedades y Adaptabilidad en el Municipio de Ocotlán, Jalisco. Tesis Profesional. Escuela de Agricultura. Universidad de Guadalajara. p. 4-7.
- 25.- Mejía P, A. (1981) Aislamiento y Descripción del Patógeno Causante de la Marchitez del Chile en Cinco Municipios del Estado de Jalisco. Tesis Profesional Escuela de Agricultura. Universidad de Guadalajara p. 13-15.
- 26.- Poehlman M, J. (1979). Mejoramiento Genético de las Cosechas. Sexta Reimpresión. Editorial Limusa. México. p. 112-115.
- 27.- Rao K, N. and Y. K. Rao. (1977). Illustrations and Descriptions of the Major Fungal Diseases of Sorghum. International Sorghum Workshop. ICRISAT. Hyderabad A . P . India. p. 17.
- 28.- ----- *et al* (1978). The ICRISAT Charcoal Rot Resistance Programs. En Proceeding of the International Workshop on Sorghum Diseases. ICRISAT. Patancheru, India. p. 315-316.
- 29.- Rodríguez R, P. (1983). Prevención de la Roya *Puccinia purpurea* como Método Indirecto para Disminuir la incidencia de *Fusarium moniliforme* Sheld en Sorgo, *Sorghum bicolor* (L) Moench. Tesis Profesional. Escuela de Agricultura. Universidad de Guadalajara. p.4.
- 30.- Rosenow D, T. (1978). Stalk Rot Resistance Breeding in Texas. En Proceeding of the International Workshop on Sorghum Diseases. ICRISAT. Patancheru, A. P. Hyderabad, India. p. 309-312.

- 31.- Stakman E, C. y J. G. Harrar. (1977). Principios de Patología Vegetal. Traducido por Lindquist J. C. - tercera edición. Edit. Universitaria de Buenos Aires, Argentina. p. 88.
- 32.- Tarr S, A. (1962). Diseases of Sorghum, Suddan Grass - and Broomcorn. Kew Surrey, England, Commonwealth Micological Institute. p.v.
- 33.- Walter G, W. y R. H. McBee. (1976). Microbiología General. Tercera impresión. Trad. de la segunda edición en inglés por Fernando Colchero. Compañía - Editorial Continental, S.A. México. p. 60-80.
- 34.- Williams R, J., R. A. Frederiksen y J. C. Girard. (1978) Manual para la Identificación de las Enfermedades del Sorgo y Mijo. ICRISAT. Boletín Informativo - No. 2. Patancheru A. P. India. p. 29-59.
- 35.- Zummo, N. and R. A. Frederiksen. (1973). Head Blight of Sorghum in Mississippi. En Proceeding Seventh Biennial Grain Sorghum Research and Utilization Conference. Grain Sorghum Producers Asociation. Lubbock Texas. USA. p. 76.
- 36.- ----- (1978). *Fusarium* Diseases Complex of Sorghum in West Africa. En Proceeding of the International - Workshop on Sorghum Diseases. ICRISAT. Patancheru A. P. India. p. 297-299.

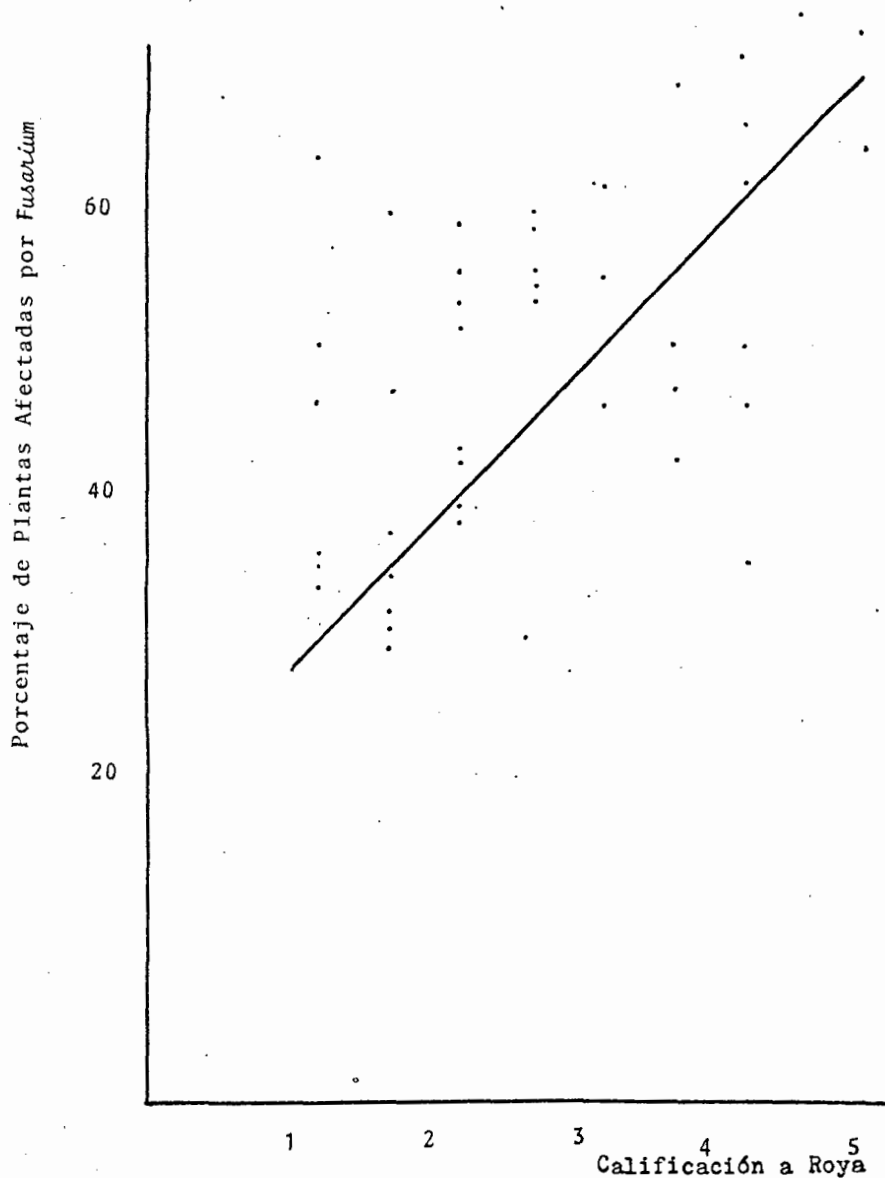
CUADRO 7. Principales Enfermedades del Sorgo en México.

| Nombre común | Nombre científico | Distribución |
|---|----------------------------------|--------------|
| 1.- Mildiú | <i>Peronosclerospora sorghi</i> | 1;2;3;5;7;12 |
| 2.- Tizón de la Panoja | <i>Fusarium moniliforme</i> | 1;2;3 |
| 3.- Tizón de la hoja | <i>Exerohilum turcicum</i> | 1;2;3;6 |
| 4.- Roya | <i>Puccinia purpúrea</i> | 1;2;3;6 |
| 5.- Pudrición del tallo | <i>Fusarium moniliforme</i> | 1;2;3 |
| 6.- Carbón de la panoja | <i>Sphacelotheca reiliana</i> | 1;2;3;6;12 |
| 7.- Mohos del grano | <i>Curvularia, etc.</i> | 4;6;8;10 |
| 8.- Antracnosis | <i>Colletotrichum gramincola</i> | 1;2;3;4 |
| 9.- Listado bacteriano de la hoja | <i>Pseudomonas andropogoni</i> | 1;6 |
| 10.-Mancha zonada de la hoja | <i>Gloecercospora sorghi</i> | 1;9 |
| 11.-Mildiú cabeza loca | <i>Sclerophthora macrospora</i> | 1;2;3 |
| 12.-Rayado bacteriano de la hoja | <i>Xanthomonas holcicola</i> | 2;4;9 |
| 13.-Virus del enanismo del maíz y la caña de azúcar | M D M V | 1;11 |

CLAVE; 1. Tamaulipas 2. Guanajuato 3. Jalisco
 4. Sinaloa 5. Michoacán 6. Nayarit
 7. Guerrero 8. Veracruz 9. Yucatán
 10. Morelos 11. Puebla 12. Edo. México

Fuente: Betancourt V, A. 1978 (5).

FIGURA 16. Diagrama de Dispersión que muestra la relación entre la Incidencia de Roya y el Porcentaje de Plantas Afectadas por *Fusarium*.



FUENTE: Rodriguez R, P. (1983) (29)