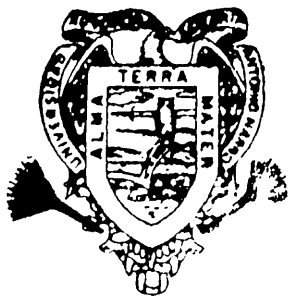


ETIOLOGIA Y EPIDEMIOLOGIA DE LA  
PUDRICION RADICAL DE FRIJOL (Phaseolus  
vulgaris L.) EN EL AREA DE INFLUENCIA DE LA  
UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO

JESUS GERARDO TREVIÑO RODRIGUEZ

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OPTAR AL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS  
ESPECIALIDAD DE PARASITOLOGIA AGRICOLA



**Universidad Autónoma Agraria  
Antonio Narro**

**PROGRAMA DE GRADUADOS**

**Buenavista, Saltillo, Coah.**

**NOVIEMBRE DE 1987.**

Tesis elaborada bajo la supervisión del Comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial, para optar al grado de

MAESTRO EN CIENCIAS ESPECIALIDAD  
PARASITOLOGIA AGRICOLA

COMITE PARTICULAR

Asesor principal: *Abiel Sánchez Arizpe*  
M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor: *G. López Nieto*  
M.C. Guadalupe López Nieto

Asesor: *Adolfo García Salinas*  
M.C. Adolfo García Salinas

Asesor: *Félix de Jesús Sánchez Pérez*  
M.C. Félix de Jesús Sánchez Pérez



BIBLIOTECA  
EDIFICIO PESQUENITO  
BANCO DE TESIS  
U.A.A.A.N.

*Eleuterio López Pérez*  
Dr. Eleuterio López Pérez  
Subdirector de Asuntos de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Noviembre 1987

## AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria por brindarme el apoyo económico para realizar mis estudios.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro cuyo clima de libertad me mantuvo permanentemente estimulado para mi superación académica.

A mi maestro el Dr. Jorge E. Rivera Camarena, por su intervención directa en el otorgamiento de mi Beca.

Al Ing. Abiel Sánchez Arizpe por su excelente asesoría y su invaluable amistad.

Al Ing. Adolfo García Salinas que siempre tuvo disposición para auxiliarme en la realización de mi trabajo de Tesis.

Al Ing. Félix de Jesús Sánchez Pérez, por su inagotable paciencia y su magnífica participación en este trabajo.

Al Biól. Guadalupe López Nieto por sus valiosas aportaciones y sus estimulantes consejos.

Al Biól. Jerónimo Landeros Flores, por las facilidades que me brindó para concluir mi Tesis.

A mi hija María Esther por su valiosa ayuda en la elaboración del manuscrito y mecanografiado de la Tesis.

A mis amigos Nicasio, Enrique y a su esposa Cristina que participaron directamente en los estudios de laboratorio.

Al Ing. Vicente Carapia Ruiz por su magnífica colaboración en el trabajo fotográfico.

A todos mis maestros y condiscípulos de Maestría, de los que obtuve la más significativa experiencia de aprendizaje en mi vida.

## DEDICATORIA

A la memoria de mi padre

Jesús Treviño Garza

A mi madre Victoria y a mi tía Lucinda por el amor infinito que siempre me han dado y la fortaleza de espíritu que tanto les admiro.

A mi esposa Cristina, quien me ha brindado paciencia y comprensión toda la vida.

A mis hijos, para quienes deseo lo mejor en la vida

Esther

Cristina

Gerardo

Dunia

Abel

Emmanuel y

Pável

A mis hermanos, por el cariño y solidaridad que siempre me han brindado

Socorro Magda

Juan Antonio y

Obdulia

Al Lic. Víctor Manuel Mendoza Ochoa, mi exmaestro y entrañable amigo.

Al Lic. Leopoldo Pérez Rosales, director de la prepa de Tequila, Jal., un gran amigo, quien me ha enseñado que la sencillez es una de las virtudes más grandes de todo hombre.

A todos mis compañeros de trabajo del CBTA 31 de Mascota, - Jal., del CBTA 106 y de la prepa de Tequila, Jal., con quienes he compartido las horas más agradables de mi vida profesional como profesor.

## COMPENDIO

Etiología y Epidemiología de la Pudrición Radical del Frijol (Phaseolus vulgaris L.) en el Area de Influencia de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

POR

JESUS GERARDO TREVIÑO RODRIGUEZ

MAESTRIA

PARASITOLOGIA AGRICOLA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. NOVIEMBRE 1987.

Ing. MC. Abiel Sánchez Arizpe -Asesor-

Palabras claves: Phaseolus sp., Fusarium sp., Rhizoctonia sp., pudrición radical, propiedades del suelo, especificidad.

Estudios etiológicos y epidemiológicos de la pudrición radical del frijol (Phaseolus vulgaris L.) en el área de influencia de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) fueron hechos durante la primavera y el verano de 1986. Los organismos aislados de las lesiones radicales fueron Fusarium sp. y Rhizoctonia sp. Con el fin de determinar diferencias culturales entre cepas, cuatro de cada género se cultivaron en diversos medios y condiciones, encontrándose las diferencias significativas, especialmente en la tasa

de crecimiento. Para determinar la existencia de correlaciones entre ciertas propiedades del suelo y la patogenicidad de las cepas, se corrieron estudios de invernadero, cultivando plantas de la variedad Bayo Zacatecas en los diferentes suelos de las 14 localidades seleccionadas, encontrándose una correlación negativa entre la severidad de las lesiones radicales y el pH, así como los contenidos del suelo de nitrógeno, fósforo y carbonatos; no se encontró correlación para el potasio. Utilizando las cuatro especies cultivadas de Phascolus (P. vulgaris, P. acutifolius, P. Coccineus y P. lunatus), para determinar diferencias en susceptibilidad a los patógenos, se encontró que las cepas probadas difieren en patogenicidad y que P. coccineus es la especie más resistente. Las observaciones histológicas de cortes de raíz lesionada mostraron necrosis de la epidermis y la corteza, así como ciertas estructuras de los patógenos.

ABSTRACT

Ethiology and Epidemiology of Root Rot of Bean (Phaseolus vulgaris L.) in Influence Area of Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

BY

JESUS GERARDO TREVIÑO RODRIGUEZ

MASTER OF SCIENCE

PLANT PROTECTION

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. NOVEMBER 1987.

Ing. MC. Abiel Sánchez Arizpe -Advisor\_

Key words: Phaseolus sp., Fusarium sp., Rhizoctonia sp., root rot, soil properties, specificity.

Ethiology and epidemiology studies of root rot bean (Phaseolus vulgaris L.) in influence area of Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) was conducted during spring and summer 1986. The isolated organisms of root injury were Fusarium sp., and Rhizoctonia sp. To determine cultural differences between stumps, four of each genus were cultivated in different means and conditions, finding significant differences, in growth rate specially. To determine correlations existence in certain soil properties and stumps pathogenic, studies in greenhouse were conducted,

cultivating plants of Bayo Zacatecas variety in different soils of 14 selected locations, finding a negative correlation between severity of root rot and pH, so as soil contents of nitrogen, phosphorus and carbonate; correlation to potassium was not found. Using four cultivated species of Phaseolus (P. vulgaris, P. acutifolius, P. coccineus and P. lunatus), to determine differences in susceptibility to pathogens, was found that probed stumps are different in pathogenic and that P. coccineus is more resistant specie. The histological observations of root damaged cutts, showed necrosis in epidermis and bark, so as certain pathogen structures.



## INDICE DE CONTENIDO

	Página
INDICE DE CUADROS . . . . .	xi
INDICE DE FIGURAS . . . . .	xiv
INTRODUCCION . . . . .	1
REVISION DE LITERATURA . . . . .	5
LAS PUDRICIONES RADICALES DEL FRIJOL . . . . .	5
PUDRICION RADICAL CAUSADA POR FU- SARIUM. . . . .	6
PUDRICION RADICAL CAUSADA POR - - RHIZOCTONIA . . . . .	16
MATERIALES Y METODOS . . . . .	28
DESCRIPCION DEL AREA GENERAL . . . . .	28
DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO. . . . .	31
AISLAMIENTO DE LOS PATOGENOS. . . . .	31
PRUEBAS DE PATOGENICIDAD. . . . .	33
ESTUDIOS DE LABORATORIO. . . . .	33
ESTUDIOS DE INVERNADERO. . . . .	38
PRUEBAS DE ESPECIFICIDAD . . . . .	43
OBSERVACIONES HISTOLOGICAS. . . . .	49
RESULTADOS. . . . .	51
DISCUSION. . . . .	88
CONCLUSIONES. . . . .	103
RESUMEN. . . . .	104
LITERATURA CITADA. . . . .	106

APENDICE A . . . . .	115
APENDICE B . . . . .	117
APENDICE C . . . . .	118

## INDICE DE CUADROS

		Página
CUADRO	3.1. LOCALIDADES CONSIDERADAS DEL AREA DE ESTUDIO .....	29
CUADRO	3.2. VARIABLES PROBADAS EN EL EXPERIMENTO PARA LOS ESTUDIOS DE LABORATORIO ...	35
CUADRO	3.3. REQUERIMIENTOS DE HCl y Na OH PARA AJUSTAR EL pH DE LOS MEDIOS .....	37
CUADRO	3.4. TRATAMIENTOS UTILIZADOS EN LAS PRUEBAS DE ESPECIFICIDAD .....	45
CUADRO	3.5. ESPECIES DE <u>Phaseolus</u> UTILIZADAS EN LAS PRUEBAS DE ESPECIFICIDAD .....	45
CUADRO	4.1. CRECIMIENTO DIAMETRAL MEDIO EN cm DE LAS CEPAS DE <u>Fusarium</u> sp. (EFECTO PRINCIPAL DE CEPA) .....	53
CUADRO	4.2. PROMEDIO DE CRECIMIENTO DIAMETRAL EN cm DE LAS CEPAS DE <u>Fusarium</u> sp. (INTERACCION CEPA X MEDIO) .....	56
CUADRO	4.3. PROMEDIO DE CRECIMIENTO DIAMETRAL EN cm DE LAS CEPAS DE <u>Fusarium</u> sp. (INTERACCION CEPA X pH) .....	59
CUADRO	4.4. PROMEDIO DE CRECIMIENTO DIAMETRAL EN cm DE LAS CEPAS DE <u>Fusarium</u> sp. (INTERACCION CEPA X LUMINOSIDAD) .....	61

	Página
CUADRO 4.5. CRECIMIENTO DIAMETRAL MEDIO EN cm - DE LAS CEPAS DE <u>Rhizoctonia</u> sp. - (EFECTO PRINCIPAL DE CEPA) .....	63
CUADRO 4.6. PROMEDIO DE CRECIMIENTO DIAMETRAL EN cm DE LAS CEPAS DE <u>Rhizoctonia</u> sp. - (INTERACCION CEPA X MEDIO) .....	66
CUADRO 4.7. PROMEDIO DE CRECIMIENTO DIAMETRAL EN cm DE LAS CEPAS DE <u>Rhizoctonia</u> sp. - (INTERACCION CEPA X pH) .....	68
CUADRO 4.8. PROMEDIO DE CRECIMIENTO DIAMETRAL EN cm DE LAS CEPAS DE <u>Rhizoctonia</u> sp. - (INTERACCION CEPA X LUMINOSIDAD) ...	71
CUADRO 4.9. DIMENSIONES Y CARACTERISTICAS DE ES- TRUCTURAS ASEXUALES DESARROLLADAS <u>in</u> <u>vitro</u> POR LAS CEPAS DE <u>Fusarium</u> sp.	73
CUADRO 4.10. ANALISIS FISICO-QUIMICO DE LOS SUE- LOS UTILIZADOS EN LOS ESTUDIOS DE IN- VERNADERO .....	75
CUADRO 4.11. MUESTREOS DEL EXPERIMENTO DE INVERNA- DERO QUE TUVIERON MENOS DEL 100 POR CIENTO DE PLANTAS CON LESION RADICAL	76
CUADRO 4.12. MEDIAS GNERALES DE LESION POR LOCALI- DAD EN LOS ESTUDIOS DE INVERNADERO - EN ORDEN CRECIENTE .....	76

CUADRO 4.13. RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE SPEARMAN PARA CADA VARIABLE EDAFICA CONSIDERADA EN RELACION CON LA INTENSIDAD DE LAS LESIONES RADICALES .	78
CUADRO 4.14. VALORES MEDIOS DE LOS RANGOS DE LESION RADICAL DE LAS ESPECIES DE <u>Phaseolus</u> BAJO DIFERENTES TRATAMIENTOS (INOCULOS) .....	84
CUADRO 4.15. PORCENTAJES MEDIOS DE PLANTAS CON LESION RADICAL DE LAS PRUEBAS DE ESPECIFICIDAD (EFECTO PRINCIPAL DE ESPECIE) .....	85

## INDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 4.1. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Fusarium</u> sp., EFECTO PRINCIPAL DE CE- PA .....	54
FIGURA 4.2. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Fusarium</u> sp., INTERACCION CEPA X ME- DIO (M <sub>1</sub> ) .....	57
FIGURA 4.3. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Fusarium</u> sp., INTERACCION CEPA X ME- DIO (M <sub>2</sub> ) .....	57
FIGURA 4.4. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Fusarium</u> sp., INTERACCION CEPA X ME- DIO (M <sub>3</sub> ) .....	57
FIGURA 4.5. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Fusarium</u> sp., INTERACCION CEPA X pH (P <sub>1</sub> ) .....	60
FIGURA 4.6. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Fusarium</u> sp., INTERACCION CEPA X pH (P <sub>2</sub> ) .....	60
FIGURA 4.7. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Fusarium</u> sp., INTERACCION CEPA X LU- MINOSIDAD (L) .....	62

	Página
FIGURA 4.8. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Fusarium</u> sp., INTERACCION CEPA X LU- MINOSIDAD (O) .....	62
FIGURA 4.9. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Rhizoctonia</u> sp., EFECTO PRINCIPAL DE CEPA .....	64
FIGURA 4.10. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Rhizoctonia</u> sp., INTERACCION CEPA X MEDIO (M <sub>1</sub> ) .....	67
FIGURA 4.11. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Rhizoctonia</u> sp., INTERACCION CEPA X MEDIO (M <sub>2</sub> ) .....	67
FIGURA 4.12. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Rhizoctonia</u> sp., INTERACCION CEPA X MEDIO (M <sub>3</sub> ) .....	67
FIGURA 4.13. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Rhizoctonia</u> sp., INTERACCION CEPA X pH (P <sub>1</sub> ) .....	69
FIGURA 4.14. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Rhizoctonia</u> sp., INTERACCION CEPA X pH (P <sub>2</sub> ) .....	69
FIGURA 4.15. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE - <u>Rhizoctonia</u> sp., INTERACCION CEPA X LUMINOSIDAD (L) .....	72

	Página
FIGURA 4.16. CRECIMIENTO DIAMETRAL <u>in vitro</u> DE Rhizoctonia sp., INTERACCION CEPA X LUMINOSIDAD (0) .....	72
FIGURA 4.17. CORRELACION ENTRE pH DEL SUELO Y LESION RADICAL .....	79
FIGURA 4.18. CORRELACION ENTRE EL POR CIENTO DE MATERIA ORGANICA EN EL SUELO Y LESION RADICAL .....	79
FIGURA 4.19. CORRELACION ENTRE NITROGENO APROVECHABLE EN EL SUELO Y LESION RADICAL .....	80
FIGURA 4.20. CORRELACION ENTRE FOSFORO APROVECHABLE EN EL SUELO Y LESION RADICAL ...	80
FIGURA 4.21. CORRELACION ENTRE POTASIO APROVECHABLE EN EL SUELO Y LESION RADICAL ...	81
FIGURA 4.22. CORRELACION ENTRE CARBONATOS TOTALES EN EL SUELO Y LESION RADICAL .....	81
FIGURA 4.23. RANGO MEDIO DE LESION RADICAL EN LOS DIFERENTES GRUPOS TEXTURALES DE SUELOS .....	82
FIGURA 4.24. RANGO MEDIO DE LESION RADICAL POR ESPECIE PARA CADA TRATAMIENTO .....	86
FIGURA 4.25. RANGO MEDIO DE LESION RADICAL POR ESPECIE POR EFECTO DE DIVERSOS INOCULOS .....	86



## INTRODUCCION

El cultivo del frijol (Phaseolus vulgaris L.) es de vital importancia en México, pues representa la principal fuente de proteínas en la alimentación de sus habitantes de más bajos recursos económicos.

Según datos del Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (1987) en 1984 se sembraron en México 1'694,136 ha de este cultivo, con una producción global de 959,731 ton y un rendimiento medio de 0.567 ton/ha. Estas cifras ubican al frijol como el segundo cultivo en importancia después del maíz.

La misma fuente menciona a otros países con un promedio de producción de esta leguminosa mucho mayor que el de México; por ejemplo, Polonia ha logrado rendimientos medios de hasta 2.063 ton/ha, es decir, casi un 400 por ciento más. Esta situación de baja productividad y la gran demanda interna de este alimento básico hace que nuestro país tenga que importarlo (119,119 ton en 1984).

El frijol se cultiva prácticamente en todos los estados del país, sin embargo, Zacatecas ocupa el primer lugar, pues produce alrededor del 30 por ciento del total nacional, seguido por Chihuahua, Durango, Guanajuato y Sinaloa, que en

conjunto cosechan lo mismo que el primero, mientras que el 40 por ciento restante le corresponde a las demás entidades federativas.

Sin duda, los factores que limitan la producción de frijol en México son muy diversos e interactúan de manera compleja. Sin considerar los de naturaleza socioeconómica, quizás a menudo subestimados, podemos señalar entre otros a los siguientes: condiciones climáticas inadecuadas, escasa fertilidad del suelo, plantas con limitaciones genéticas para producir altos rendimientos, y problemas parasitológicos como malezas, plagas de insectos y enfermedades bióticas.

Como cualquier otro cultivo, el frijol es afectado por muchas enfermedades, causadas principalmente por hongos, bacterias, virus y nemátodos, que pueden hacer disminuir su rendimiento desde una forma muy leve, casi imperceptible, hasta un 100 por ciento.

Dentro de este amplio grupo de patógenos, existe un consenso general entre los fitopatólogos de que los hongos son los que ocasionan comúnmente las enfermedades que afectan con más severidad los rendimientos de este cultivo en cualquier medio en el que se desarrolle. Y dentro de las fungosis, las pudriciones radicales representan uno de los problemas más frecuentes, por lo tanto, revisten gran importancia las investigaciones para su manejo.

Zaumeyer y Thomas (1957) han dicho que la pudrición radical del frijol es posiblemente la enfermedad más importante en este cultivo, por los daños que causa en cuanto a la disminución del rendimiento y el debilitamiento de las plantas que las hace susceptibles a otras enfermedades o plagas. Esta enfermedad suele ser causada por un complejo de hongos fitopatógenos que se encuentran normalmente en el suelo, llegando la patogenicidad de algunos de ellos a ser tan alta que impide la siembra de esta planta en campos que serían muy productivos si no existiese este problema.

Se tienen evidencias en el sentido de que la pudrición radical es probablemente la enfermedad más importante que afecta al frijol en el norte de México, y el manejo de los organismos asociados a ella, constituye un problema regional aún no resuelto, debido en gran parte a los pocos trabajos de investigación realizados a la fecha.

Este trabajo se realizó con el propósito de reunir datos suficientes para determinar algunos aspectos sobre la etiología y la epidemiología de la pudrición radical en las principales zonas productoras de frijol, dentro del área de influencia de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), como un elemento para auxiliar la implementación de alternativas de solución a este problema.

Los objetivos específicos fueron los siguientes:

- 1) Aislar los patógenos causantes de la pudrición radical.
- 2) Detectar las posibles diferencias culturales en tre los aislamientos de las zonas en estudio.
- 3) Determinar las correlaciones que pudieran existir entre las características físico-químicas del suelo de cada zona y la patogenicidad de las cepas que se encuentran naturalmente en ellos.
- 4) Probar la susceptibilidad diferencial de las cuatro especies cultivadas del género Phaseolus a las cepas aisladas.

## REVISION DE LITERATURA

### Las Pudriciones Radicales del Frijol

#### Importancia

Las pudriciones radicales que afectan al frijol común han sido muy poco estudiadas en comparación con las enfermedades foliares. Además, son escasos los estudios o investigaciones relacionadas con las pérdidas en el rendimiento y con el desarrollo de formas de manejo adaptadas a zonas específicas. Aunque los agentes causales de estas pudriciones suelen producir síntomas menos espectaculares que los ocasionados por los agentes de enfermedades foliares o de la vaina, las pudriciones radicales también pueden disminuir significativamente el desarrollo de las plantas y su producción (Bolkan, 1980).

No obstante que las pudriciones radicales del frijol pueden ser causadas por diversos patógenos, según los estudios hechos por Yang y Hagedorn (1965) los más comúnmente aislados de plantas de frijol dañadas por esta enfermedad son Fusarium solani (Mart) Appel & Wollenw (F. solani) y Rhizoctonia solani Kuehn (R. solani). En lo que respecta a nuestro país, según Crispín y Campos (1976) las pudriciones radicales del frijol son un problema de primer orden en las

zonas más productoras de este cultivo en México, especialmente en Zacatecas y Durango, donde se han estimado pérdidas hasta del 60 por ciento.

### Pudrición Radical Causada por Fusarium

#### Generalidades

Las diferentes especies de Fusarium están ampliamente distribuidas en el suelo y sobre substratos orgánicos, y se han aislado desde los hielos perpetuos del Artico hasta las arenas del Sahara. Son abundantes en suelos cultivados, tanto de regiones tropicales como templadas y son de los hongos más frecuentemente aislados por los fitopatólogos. A ciertas especies de este género también se les ha visto causando enfermedades en el hombre y los animales, así como pudriciones en alimentos almacenados, produciendo toxinas de diverso grado de peligrosidad para quien los consume. El interés predominante de este género se debe a su poder fitopatógeno sobre una extensa variedad de hospederas, en las que suele producir gran diversidad de enfermedades con frecuencia devastadoras. F. solani ha sido aislado de un rango extremadamente amplio de plantas y animales, causando en las primeras pudriciones radicales y cánceres de tallo principalmente, así como úlceras en diversos tejidos en los segundos. Concretamente, Fusarium solani (Mart) Appel & Wollenw. f. sp. phaseoli (Burk.) Snyder & Hansen, es considerado como uno de los principales agentes causales de las pudriciones

radicales en el género Phaseolus en diversas partes del mundo (Booth, 1971).

De acuerdo con Keenan et al. (1974) la severidad de la infección de la pudrición radical en el frijol ocasionada principalmente por F. solani f. sp. phaseoli, se correlaciona con un menor rendimiento, debido a la reducción en el número de vainas por planta, que puede reflejarse en pérdidas de hasta un 84 por ciento de la cosecha.

### Etiología

Ubicación Taxonómica. Según Snyder y Toussoun (1965) la taxonomía de Fusarium se inició en 1809, cuando Link describe el género por vez primera. En los 100 años siguientes, el número de especies y el reconocimiento de que muchas son fitopatógenas importantes, motivó a los micólogos a formar un sistema de clasificación adecuada para ellas, y a la fecha, 1,000 o más especies han sido descritas.

En muchas especies de Fusarium, sólo ha sido identificado el estado asexual. En las que la fase perfecta se ha descrito, siempre se ha tratado de una Ascomiceto en estado peritecial, destacando los géneros Nectria, Calonectria, Micronectriella y Giberella. En el caso de F. solani, se ha determinado que su estado imperfecto es Nectria haematococca Berk & Br. Sin embargo, el estado peritecial es visto raras veces, por lo que no es un auxiliar valioso en las identificaciones de rutina. Además, en la nomenclatura de Fusarium

se ha introducido el término formae speciales (f. sp. o forma especial), la que se define como una cepa o raza patológica, que es indistinguible de las cepas saprofiticas de la misma especie, pero sí difiere en propiedades fisiológicas en cuanto a su habilidad de parasitar hospederas específicas (Booth, 1971).

Takken y Snyder (1975) señalan la existencia de nueve formas especiales de F. solani, que han sido clasificadas en cuatro grupos según la morfología de los macroconidios, ubicando a la forma especial phaseoli en el grupo D, caracterizado por formar macroconidios de cuatro septos y por la baja frecuencia en la formación de microconidios.

Según Alexopoulos y Mims (1979) F. solani se ubica taxonómicamente de la siguiente manera:

SuperReino	Eukaryonta
Reino	Myceteae
División	Amastigomycota
Subdivisión	Deuteromycotina
Clase-forma	Deuteromycetes
Subclase-forma	Hyphomycetidae
Orden-forma	Moniliales
Familia-forma	Tuberculariaceae
Género-forma	<u>Fusarium</u>
Especie-forma	<u>solani</u>



## Características Culturales

Aislamiento de Material Vegetal Enfermo. Booth (1971) menciona que las lesiones necróticas de las plantas afectadas por F. solani, forman frecuentemente micelio, conidióforos o esporodoquios, por lo que pueden efectuarse aislamientos directos a partir de ellas. Así mismo, si las estructuras del hongo penetran a los tejidos de raíces o tallos, puede aislarse el patógeno con éxito a partir de pequeñas piezas del órgano dañado, previamente desinfestadas con soluciones de hipoclorito de sodio o de bicloruro de mercurio, para colocarse después en un medio de cultivo como papa-sucrosa-agar, papa-dextrosa-agar, harina de avena-agar, etc.

Aspecto y Morfología de los Aislamientos. Cuando F. solani crece en un medio artificial como papa-dextrosa-agar (PDA), produce un micelio aéreo poco denso y por lo general blanco grisáceo. Forma clamidosporas, macroconidios y en raras ocasiones microconidios. Los macroconidios se producen principalmente a partir de unos conidióforos cortos ramificados, los que al emerger forman esporodoquios diminutos, esparcidos, sin estroma. Los macroconidios son hialinos y fusiformes, con su célula apical levemente encorvada y puntiaguda. El tamaño y el número de septos del macroconidio varía de acuerdo con el medio de cultivo utilizado y las condiciones de incubación, teniendo generalmente una longitud de 44 a 50 micras y una anchura de 5.1 a 5.3 micras y de tres a cuatro septos, muy raramente hasta cinco. Los microconidios son

anchos, ovalados y pueden tener un septo. Las clamidosporas suelen medir de 6 a 16 micras de diámetro, formándose de manera terminal en ramificaciones laterales cortas o intercaladamente; se encuentran solas, en pares y ocasionalmente en cadenas cortas y su forma puede ser redonda, subglobular o de pera (Bolkan, 1980).

### Epidemiología e Infección de la Planta

Hábitat. F. solani se halla en suelos naturalmente infestados en forma de clamidosporas, ya sea asociado con fragmentos de tejido o partículas de humus o dentro de ellas. Los macroconidios pueden formarse en las lesiones de la planta que se extienden por encima de la superficie del suelo, pero una vez que se han diseminado en él, se convierten y sobreviven como clamidosporas. No obstante que en condiciones naturales F. solani puede existir formando clones vegetativos de tipo micelial o esporodoquial, las clamidosporas representan la fuente primaria de inóculo en el campo (Nash et al., 1961).

Condiciones que Favorecen la Infección. Garret (1944) dice que las condiciones edáficas que más influyen sobre las enfermedades causadas por hongos del suelo, son la temperatura, el contenido de humedad, la textura, el pH, la cantidad de materia orgánica y la concentración de nutrientes. Estos factores pueden ejercer una influencia directa sobre los patógenos, al afectar el desarrollo de su micelio externo, o

un efecto indirecto, a través de la fisiología del hospedero, en el caso de los hongos que crecen dentro de él. Y esta afirmación es naturalmente verdadera para el caso de F. solani, según lo mencionan Baker y Maurer (1967) quienes reportan haber encontrado mayor severidad en las lesiones del hipocótilo del frijol causadas por F. solani f. sp. phaseoli cuando las plantas crecían a una temperatura de 18 a 23°C y en un suelo con una relación C/N menor de 28. Así mismo, según Miller y Burke (1985) en suelos con niveles anormalmente bajos de oxígeno, las plantas de frijol sufren un daño mucho mayor por el efecto de este patógeno que en suelos bien aireados, independientemente de la etapa fenológica de las mismas.

Infección. Las clamidosporas pueden diseminarse a través del movimiento de residuos infectados y por el agua de escorrentía o de drenaje, y son las responsables de la infección inicial de la planta en el suelo. Las clamidosporas germinan ante el estímulo de exudados radicales de muchas plantas no susceptibles y susceptibles como Phaseolus spp., en el cual hay una fase de crecimiento saprofítico anterior a la penetración de la corteza radical. En la etapa preinfectiva, el hongo se nutre de los exudados radicales y los nutrientes de la solución del suelo que rodean la raíz del hospedero, pues ya que el parasitismo se establece firmemente, el hongo obtiene sus nutrientes de los tejidos de la planta (Schroth y Hendrix, 1962).

F. solani penetra las raíces y los hipocótilos sin formar apresorios, sólo produce un pequeño "tallo". Entra a la planta directamente o a través de heridas mecánicas o naturales, pero más frecuentemente por los estomas del hipocótilo. Las hifas invasoras crecen en gran cantidad en la cámara subestomatal y luego invaden rápidamente los espacios intercelulares longitudinales de la corteza. Otras hifas crecen hacia adentro intercelularmente, forman ramificaciones dicotómicas y rodean a las células corticales en una forma digitada característica. El patógeno invade la totalidad de la corteza y generalmente se detiene debido a la endodermis. En las primeras fases de la infección no suelen observarse perturbaciones aparentes de los tejidos invadidos; pero posteriormente las paredes celulares y los contenidos se tornan de color café. En los tejidos dañados pueden detectarse compuestos fenólicos mediante exámenes histoquímicos. En la penetración directa de la cutícula del hipocótilo las hifas crecen subcuticularmente antes de invadir el resto de los tejidos de manera intercelular. Es similar el desarrollo del hongo en la corteza después de penetrar por heridas. Lo mismo sucede cuando la invasión es por la raíz. En la superficie y dentro de la corteza exterior de las lesiones necróticas se forman numerosas clamidosporas de forma y tamaño diverso. Se producen conidios abundantes en esporodoquios que emergen de las hifas estromáticas subestomatales a nivel del suelo bajo condiciones de alta humedad y en la luz (Christou y Snyder, 1962).

## Sintomatología

La pudrición seca causada por F. solani aparece primero como lesiones o vetas rojizas en el hipocótilo y en la raíz primaria, una o dos semanas después de la emergencia de la planta. Al avanzar la infección, las lesiones se unen, se vuelven color café y pueden extenderse hasta la superficie del suelo, pero casi nunca siguen avanzando. Las lesiones carecen de margen bien definido y a veces se agrietan longitudinalmente. Las raíces primarias y laterales suelen morir por el efecto del patógeno, permaneciendo adheridas como residuos secos. Al morir la raíz primaria, la parte inferior del tallo se torna hueca. Se observa un retardo en el crecimiento y una clorosis con caída prematura de las hojas, sin que el hospedante presente un marchitamiento intenso. La planta puede seguir creciendo por el desarrollo de raíces laterales algo más arriba del sitio de infección inicial, lo que le permite producir algunas vainas, aunque la semilla tiende a ser de menor tamaño. Si las plantas están gravemente dañadas y se exponen a deficiencias de humedad, se tornan raquílicas y mueren (Bolkan, 1980).

## Manejo

Cultural. La paja de cebada incorporada al suelo infestado con F. solani, ha mostrado su capacidad para reducir notablemente la gravedad de la pudrición radical en frijol, según lo menciona Maier (1961) quien además agrega que el efecto

favorable parece relacionarse en parte con el hecho de que esta enmienda estimula las poblaciones de Chaetomium spp., que es un antagonico del patógeno.

Miller y Burke (1974) comentan los efectos benéficos del subsoleo practicado inmediatamente antes de la siembra en suelos compactos, con respecto a la disminucion de la pudricion radical del frijol en suelos infestados con F. solani. Mencionan que el subsoleo disminuye la incidencia de esta enfermedad al permitir que las raices penetren fácilmente a horizontes inferiores del suelo menos densamente infestados; en cambio, sin esta práctica, muchas raices permanecerán en la zona más infestada, con serios daños y reducciones en el rendimiento.

Huber y Watson (1970) señalan la conveniencia de mantener un programa de rotación de cultivos y de aplicaciones de enmiendas orgánicas al suelo para el manejo adecuado de F. solani, pues con estas prácticas, se incrementa la capacidad buffer biológica del suelo; se reduce el número de patógenos durante la descomposicion anaeróbica de la materia orgánica; se afecta la nitrificacion, la cual influye en la forma de nitrógeno predominante en el suelo y se niega al patógeno un hospedero durante el período en el que crecen especies no adecuadas a él.

Biológico. Olivas y Romero (1972) reportan haber probado con éxito la adición de paja de cereales, harina de alfalfa y melaza (uno por ciento) para el manejo de F. solani f. sp.

phaseoli en el cultivo de frijol bajo condiciones de invernadero, atribuyendo ésto a que esos materiales favorecen el crecimiento de microorganismos antagónicos al patógeno, tales como bacterias, hongos y actinomicetos, que pudieron aislarse. Ahora bien, puesto que el número de actinomicetos aislados de las plantas resistentes fue mayor que el de hongos y bacterias, y la acción antagónica de estos microorganismos fue notablemente más acentuada, concluyen los investigadores que los actinomicetos juegan un papel muy importante como agentes de control biológico en la resistencia del frijol a este patógeno bajo ciertas condiciones.

Genético. Boomstra et al. (1977) mencionan que al ensayar 800 introducciones de frijol detectaron resistencia a la pudrición seca por Fusarium en 18 de ellas (por ejemplo, la línea P.I. 203958), especialmente de origen mexicano y en algunas variedades, agregando además que no se tiene información sobre el uso de variedades resistentes o tolerantes a esta enfermedad en los países latinoamericanos.

Según Boomstra y Bliss (1977) el patrón de herencia para la reacción del frijol a esta enfermedad es de tipo cuantitativo, y recomiendan utilizar métodos de mejoramiento tales como la selección recurrente que son más adecuados para mejorar rasgos cuantitativos que el retrocruzamiento o la selección por pedigree, para desarrollar poblaciones y cultivos de frijol resistentes a la pudrición radical por Fusarium.

Químico. De los productos efectivos para reducir la pudrición radical por Fusarium en los hipocótilos y raíces jóvenes de frijol, los más efectivos han sido: nabam, formaldehído, tiram, pentacloronitrobenceno (PCNB), benomil, difolán y busam (Bolkan, 1980).

Sin embargo, Burke y Barker (1966) advierten que la mayoría de los tratamientos químicos utilizados en el manejo de esta enfermedad no son muy efectivos, ya que las raíces laterales se benefician muy poco o nada con la aplicación del fungicida.

Por otra parte, si existe F. solani en el cultivo de frijol, debe tenerse cuidado al manejar ciertos productos, pues por ejemplo, se ha reportado que los herbicidas trifluralina y bentazón y el insecticida oxidemetonmetil estimulan el crecimiento del patógeno y pueden agravar el problema (Mussa y Russel, 1977).

### Pudrición Radical Causada por Rhizoctonia

#### Generalidades

El término Rhizoctonia, que literalmente significa "matar raíces", fue acuñado a principios del siglo pasado por Candolle, para designar a un micelio estéril que causaba la pudrición radical en la alfalfa (Medicago sativa L.), en la que observó la formación de canchales hundidos, circulares u oblongos, de márgenes cafés (Dixon, 1981).



De las diversas especies del género Rhizoctonia, destaca por su importancia fitopatológica Rhizoctonia solani - Kuhn (Thanatephorus cucumeris (Frank) Donk), ya que probablemente ocasiona más tipos diferentes de enfermedades a una variedad más amplia de plantas, en gran parte del mundo y bajo condiciones ambientales más diversas que cualquier otra especie fitopatógena. Sin embargo, esta adaptabilidad es más aparente que real, ya que en gran parte es el producto de la variación de las numerosas cepas que integran a esta especie. Las enfermedades causadas por este patógeno, han sido objeto de numerosas investigaciones de laboratorio y de campo, dada su enorme importancia, pues se encuentra en todos los suelos del mundo, hayan o no sido cultivados (Gormley, 1980).

R. solani ocasiona pudriciones radicales al frijol - las que según reportes, en ocasiones originan pérdidas mayores al diez por ciento en los Estados Unidos de Norteamérica. También existen evidencias de que R. solani, en asociación con F. solani f. sp. phaseoli ha causado pérdidas en los rendimientos hasta de un 60 por ciento (Bolkan, 1980).

#### Etiología

Ubicación Taxonómica. Existe cierta confusión en la taxonomía del género Rhizoctonia debido a que produce una amplia variedad de tipos de micelio, formas de esclerocios y estados perfectos. Además, muchas especies producen estados basidiales intermedios en morfología entre Heterobasidiomycetes

y Holobasidiomycetes. También, los basidiomicetos ofrecen por lo general limitadas características de clasificación, especialmente a nivel de género, lo que origina frecuentes cambios. Como prueba de esta inestabilidad taxonómica, podemos mencionar el hecho de que el estado perfecto o basidial de R. solani ha sido incluido en los géneros siguientes: Hypochynus (Prillieux y Delacroix 1981), Corticium (Rolfs 1903), Botryobasidium (Donk 1931), Pellicularia (Rogers 1943), Ceratobasidium (Olive 1957) y Thanatephorus (Donk 1956) (Tu y Kimbrough, 1978).

Se ha determinado además que R. solani está integrado por un número indefinido de razas que se distinguen por sus características fisiológicas. Abundantes estudios recientes muestran que Thanatephorus cucumeris es el estado perfecto o sexual de este organismo y que tiene al menos cuatro grupos de anastomosis (AG), lo que permite concluir que la población de este hongo en el campo se compone de un número de diferentes aislamientos con diversa potencialidad saprofítica y parasítica; habiéndose observado que la mayoría de los obtenidos del suelo y de residuos vegetales pertenecen al tipo "Prati-cola" AG4 y sólo unos cuantos aislamientos al tipo AG3 "Aislamiento de la papa". Los aislamientos se comportan de manera extremadamente variable, por ejemplo, algunos AG4 han mostrado alta patogenicidad hacia el frijol, mientras que otros del mismo grupo son muy poco patógenos o inocuos a este cultivo (Papavizas et al., 1975).

Según Alexopoulos y Mims (1979), R. solani se clasifica de la siguiente manera:

SuperReino	Eukaryonta
Reino	Myceteae
División	Amastigomycota
Subdivisión	Deuteromycotina
Clase-forma	Deuteromycetes
Subclase-forma	Hyphomycetidae
Orden-forma	Mycelia Sterilia
Género-forma	<u>Rhizoctonia</u>
Especie-forma	<u>solani</u>

#### Características Culturales

Aislamiento de Material Vegetal Enfermo. Según Sarasola y Rocca (1975) es muy fácil aislar a R. solani a partir de trozos de tejido vegetal infectado, en medios como el PDA, siguiendo las normas microbiológicas habituales.

Aspecto y Morfología de los Aislamientos. Parmeter et al. (1969) afirman que R. solani puede tipificarse en los aislamientos por las siguientes características:

- 1) Posesión de células multinucleadas, sobre todo en las hifas vegetativas jóvenes.
- 2) Presencia de un aparato porífero prominente localizado en el septo.

- 3) Se observa una constricción sobre las ramificaciones hifales en el punto de unión con la hifa principal y un septo en donde se ramifica el punto de origen.
- 4) Se origina una ramificación cerca del septo distal de las células en las hifas jóvenes.
- 5) Las hifas aéreas maduras son de color café.

Así mismo, frecuentemente los aislamientos poseen células monilioides, esclerocios con la corteza y la médula no diferenciada, hifas mayores de 5 micras de diámetro y un ritmo de desarrollo muy rápido. Como no todos los aislamientos producen células monilioides y esclerocios, estas estructuras no pueden tomarse como criterios de mucha validez en la identificación.

#### Epidemiología e Infección de la Planta

Hábitat. R. solani es un habitante natural del suelo que puede crecer en él en ausencia de un hospedero susceptible. Obtiene nutrientes de los materiales comunes del suelo para su desarrollo y reproducción, por lo tanto, las medidas de exclusión y erradicación no son efectivas en su manejo bajo condiciones de campo (Strobel y Mathre, 1970).

El inóculo de R. solani consiste de esclerocios y micelio principalmente, y según Bolkan (1980) puede sobrevivir asociado a residuos de cosecha o como saprófito, y su

diseminación se realiza a través del agua de riego, por el viento, en el material de transplante o por semillas.

Condiciones que Favorecen la Infección. Existen evidencias experimentales en el sentido de que cuando R. solani se encuentra creciendo como saprófito en un suelo, puede ser estimulado a infectar hipocótilos y raíces jóvenes por exudados que secretan las semillas en germinación y las plántulas de la hospedera (Martinson, 1965).

Las bajas temperaturas del suelo tienden a favorecer la virulencia de R. solani hacia el frijol. Así, Schulz y Bateman (1969) reportan que en experimentos hechos con plántulas de frijol, la muerte preemergente causada por este patógeno fue mucho mayor en plantas que crecieron en suelos a 5°C (41 por ciento), mientras que cuando las plantas se desarrollaron a una temperatura edáfica de 25°C, la mortalidad fue sólo del tres por ciento. Bolkan (1980) afirma que la temperatura óptima del suelo para el desarrollo de canchales del hipocótilo es de 18°C, y atribuye ésto a que las plantas emergen más rápidamente a altas temperaturas, escapando así de la infección. El mismo autor menciona que otros factores que influyen en la severidad de la pudrición radical por R. solani son: la humedad del suelo, el estado nutricional del inóculo y los exudados radicales.

Infección. Con respecto a los procesos de infección, Dodman et al. (1968) reconocen las siguientes etapas en la penetración de R. solani a los tejidos del hospedero:

- 1) Crecimiento de hifas sobre la planta.
- 2) Adhesión de las hifas a la cutícula.
- 3) Crecimiento de numerosas hifas a lo largo de las líneas de unión de las paredes fundamentales de las células epidérmicas.
- 4) Formación de ramificaciones laterales cortas que se unen para formar una especie de "almohadilla".
- 5) Penetración de las puntas hifales de la almohadilla.

Etten et al. (1967) señalan que un examen histológico de las lesiones maduras en plantas de frijol revela que este patógeno se desarrolla tanto intercelular como intracelularmente en todos los estados de maduración de aquéllas. Todos los tejidos del hipocótilo se ven invadidos, pero las hifas se limitan a la lesión en la mayoría de los casos durante todo el período de patogénesis. Con respecto a la actividad enzimática, los mismos investigadores comentan que en el transcurso del desarrollo de todas las lesiones se ha detectado la actividad de la endopoligalacturonasa y la celulasasa, aunque la primera parece haber mostrado mayor influencia en el proceso patogénico.

Maxwell y Bateman (1967) al estudiar los cambios enzimáticos que suceden durante la patogénesis de esta

enfermedad en el frijol, afirman que esta afección se caracteriza por una rápida limitación del tamaño de las lesiones, que pueden alcanzar su máxima extensión 36 a 40 horas después que las plántulas son inoculadas. Según estos mismos investigadores, la conversión de pectinas a pectato de calcio (un material resistente a la poligalacturonasa) alrededor de la lesión puede contribuir a limitarla. Otro factor involucrado en este hecho debe ser la inactivación de las enzimas pectinolíticas del hongo al ser oxidadas por compuestos fenólicos. Finalmente, aceptan que otros procesos enzimáticos derivados de la interacción hongo-hospedero deben estar actuando simultáneamente.

### Sintomatología

R. solani puede producir podredumbre del pie o seca-dera ("damping-off"), cancro del tallo, pudrición radical y pudrición de la vaina. En las fases iniciales de infección del hipocótilo y las raíces, pueden formarse canchales circulares u oblongos, deprimidos y delimitados por márgenes color café. Al avanzar la infección, los canchales aumentan el tamaño, se vuelven rojizos, toscos, secos y medulosos, y el crecimiento de la planta se retarda. Cuando la infección se produce en estado de plántula, aparecen lesiones necróticas o un adelgazamiento del tallo donde se encuentra la lesión, que origina la caída de la plántula. En el hipocótilo de las plantas más viejas, suelen formarse canchales café rojizos con bordes bien definidos, que pueden extenderse por encima de

la superficie del suelo. Sobre la superficie de estos canchales y dentro de ellos se pueden formar pequeños esclerocios de color café. R. solani puede también infectar las vainas que se encuentran en contacto con el suelo, produciendo lesiones deprimidas, húmedas, color café de bordes bien definidos. Estas lesiones pueden constituir fuentes de inóculo cuando se está transportando frijol de un lugar a otro; las semillas afectadas se decoloran y se convierten en portadoras del patógeno, ya que pueden llevar el hongo en su interior o en la testa (Bolkan, 1980).

### Manejo

Cultural. Diversas prácticas culturales contribuyen a reducir la infección producida por R. solani. Por ejemplo, según Manning et al. (1967) existen pruebas experimentales de que si se siembra el frijol a 7.5 cm de profundidad se presenta mayor pudrición radical y daño en el hipocótilo que cuando se siembra a sólo 2.5 cm, pues en este último caso, disminuye la cantidad de tejido expuesto al inóculo. Este hecho sugiere la posibilidad de disminuir la profundidad de siembra como una medida de manejo, aunque se puede propiciar el acame de las plantas.

Otra alternativa de manejo cultural es la rotación de cultivos, utilizando especialmente al maíz (Zea mays L.), pues bajo condiciones de campo e invernadero, los residuos de esta gramínea en el suelo han probado su eficacia para



proteger al frijol contra la pudrición del hipocótilo causada por este patógeno hasta por un año (Manning y Crossan, 1969).

Biológico. Algunos intentos se han hecho en años recientes para encontrar agentes de control biológico de los patógenos que ocasionan las pudriciones radicales, entre ellos, R. solani. Ciertas bacterias y hongos antagonistas han mostrado capacidad para reducir la incidencia y severidad de esta afeción del frijol, especialmente hongos como Gliocladium catemulatum Gilman & Abbott, G. roseum (Link) Bainier, Penicillium patulum Bainier, P. vermiculatum Dang., Trichoderma harzianum Rifai, y Trichoderma sp. (Tu y Vaartaja, 1981).

Por ejemplo, Elad et al. (1980) señalan que en experimentos de campo utilizando suelos naturalmente infestados con R. solani, lograron disminuir la incidencia de las pudriciones radicales y aumentar significativamente el rendimiento en el frijol al hacer inoculaciones previas a la siembra de Trichoderma harzianum.

Una acción supresiva semejante contra R. solani en cultivos experimentales de frijol ha sido observada al inocular al suelo Trichoderma hamatum, lo que permite considerar a estos organismos antagónicos y otros más como agentes potenciales de control biológico de los patógenos del suelo (Chet y Baker, 1981).

Genético. Ha resultado difícil encontrar material con un alto grado de resistencia a R. solani entre el germoplasma del frijol común. Sin embargo, una línea de Phaseolus lunatus L. es resistente a la infección de este patógeno, y su herencia al parecer, está controlada por un solo factor dominante (Bolkan, 1980).

Prasad y Weigle (1976) reportan haber encontrado una correlación positiva entre cultivares de semilla negra de P. vulgaris y la resistencia a R. solani, mientras que los cultivares de semilla clara fueron susceptibles al mismo patógeno. Ellos atribuyen esta diferencia al hecho de que las cubiertas de semilla más clara se abrieron rápidamente antes de emerger, mientras que las testas oscuras permanecieron adheridas fuertemente a los cotiledones. También mencionan que los extractos de testas de semilla negra poseen compuestos fenólicos capaces de inhibir al hongo. Hay además evidencias de que existe una correlación entre los genes que controlan el color de la testa y la formación de fenoles, por lo que se requieren mayores investigaciones genéticas al respecto para lograr cultivares resistentes. Los cultivares de testa negra y con alto contenido de fenoles que resultaron resistentes fueron Venezuela 54 y P.I. 165426; mientras que los susceptibles fueron Tendergreen y Harvester, de testa blanca y sin fenoles.

Químico. El control químico de R. solani suele ser efectivo durante la germinación y el desarrollo inicial de las plántulas, pero en muy pocos casos logra dar protección a la zona

radical en crecimiento de las plantas adultas. Entre los fun  
gicidas más eficaces para el manejo de esta enfermedad se en-  
cuentran: el PCNB, benomil, ca boxín, tiram, zineb, cloroneb  
y captán, aplicados generalmente a la semilla antes o duran-  
te la siembra (Bolkan, 1980).

Con aspersiones de PCNB (5.8 kg/738 lt de agua) de-  
trás de la sembradora y en el surco en el momento de sembrar,  
se ha logrado un excelente control de R. solani (Bristol  
et al., 1973).

## MATERIALES Y METODOS

### Descripción del Area General

El presente trabajo se realizó de octubre de 1986 a junio de 1987. El área seleccionada para tal fin comprende parte de las regiones frijoleras de los estados de Durango, Zacatecas, Nuevo León y Coahuila, donde la pudrición radical del frijol se presenta todos los años con mayor o menor severidad.

Tomando como base la observación de diferencias visibles en el tipo de suelo, vegetación silvestre y relieve, se eligieron 14 sitios o localidades comprendidas dentro del área antes mencionada (una de Coahuila, una de Nuevo León, seis de Durango y seis de Zacatecas), correspondiendo a predios o parcelas en las que se siembra el frijol de manera permanente desde hace muchos años. Cada localidad se describe brevemente en el Cuadro 3.1., y se le asigna una letra mayúscula con la que será reconocida en lo sucesivo.

Cuadro 3.1. Localidades consideradas del área de estudio.

CLAVE	LOCALIZACION	COORDENADAS		ALTITUD msnm	PRECIPITACION ANVAL EN mm.
		Latitud Nte	Long. Oeste		
A	Terreno "El Bajío" UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah.	24°26'	101°00'	1743	420
B	Terreno de Campo Agrícola Experimental de la UAAAN en Navidad, Municipio de Galeana, N.L.	25°21'33"	100°21'26"	1895	492
C	1 Km al sureste de Yerbaniz, Dgo.	24°43'	103°50'	1970	375
D	1 Km al noreste de Luis Moya, Dgo.	24°33'	103°58'	1950	450
E	1 Km al noreste de Guadalupe Victoria, Dgo.	24°27'	104°07'	2000	400
F	7 Km al suroeste de Guadalupe Victoria, Dgo.	24°26'	104°11'	2000	400
G	1 Km al este de Francisco I. Madero, Dgo.	24°24'	104°18'	1970	450
H	5 Km al suroeste de Francisco I. Madero, Dgo.	24°23'	104°22'	1940	450
I	10 Km al sureste de Miguel Auza, Zac.	24°15'	103°23'	2050	350
J	28 Km al sureste de Miguel Auza, Zac.	24°07'	103°17'	2150	400
K	5 Km al sur de Río Grande, Zac.	23°47'	103°01'	1950	450
L	22 Km al noroeste de Fresnillo, Zac.	23°21'	102°57'	2050	450

Cuadro 3.1. ....continuación.

CLAVE	LOCALIZACION	COORDENADAS		ALTITUD msnm	PRECIPITACION ANVAL EN mm.
		Latitud Nte	Long. Oeste		
M	8 Km al este-noreste de Fresnillo, Zac.	23°11'	102°48'	2100	450
N	20 Km al norte-noreste de Calera, Zac.	23°08'	102°39'	2000	450

## Descripción del Area de Estudio

Los trabajos de laboratorio y de invernadero se llevaron a cabo en la UAAAN, en Buenavista, Saltillo, Coahuila; localizada a 7 Km al sur de la ciudad de Saltillo. Sus coordenadas geográficas son 25°21' de latitud norte y 101°00' de longitud oeste, con una altitud de 1,743 msnm.

## Aislamiento de los Patógenos

### Toma de Muestras

Las muestras se colectaron de las 14 localidades en el mes de octubre de 1986. El material colectado consistió en plantas que mostraban lesión radical en el campo y se llevaron al Departamento de Parasitología de la UAAAN para ser procesadas en el laboratorio.

### Obtención de Cultivos Puros

Se cortaron trozos de raíces que presentaban las lesiones características. Posteriormente, dichos cortes (de unos 3 mm de longitud) se lavaron con agua corriente y fueron depositados en una caja de petri con una solución de hipoclorito de sodio al uno por ciento, donde permanecieron inmersos por 2 min; concluido este tiempo, se enjuagaron en tres pasos de agua destilada estéril (30 seg en cada uno) y se colocaron sobre un papel filtro para su secado.

## Pruebas de Patogenicidad

Los organismos identificados de los aislamientos fueron Fusarium sp. y Rhizoctonia sp. Para las pruebas de patogenicidad se utilizó frijol de la variedad Bayo Zacatecas. Las inoculaciones consistieron en aplicar suspensiones acuosas preparadas con agua destilada estéril de cada género aislado a las macetas con suelo estéril, donde fueron sembradas las semillas.

## Estudios de Laboratorio

### Diseño del Experimento

Después de confirmar mediante las pruebas de patogenicidad que los organismos causales de las pudriciones radicales del frijol en el área de estudio fueron Fusarium sp. y Rhizoctonia sp., se realizaron los estudios de laboratorio, del 10 de julio al 10 de agosto de 1987, con el propósito de determinar si existía alguna diferencia entre las cepas aisladas en cuanto a su habilidad para crecer en diferentes medios y condiciones de cultivo. Para ello, se seleccionaron los aislamientos de cuatro localidades (A, B, G e I) y se diseñó un experimento completamente al azar con arreglo factorial, para evaluar la rapidez del crecimiento diametral del cultivo bajo los diferentes tratamientos y sus interacciones. Posteriormente se aplicó la prueba de Duncan al cinco por ciento de significancia para determinar las diferencias entre



Después de la desinfestación, se efectuó la siembra en una cámara previamente esterilizada y bajo un mechero, transfiriendo con pinzas estériles los cortes de los tejidos a cajas de petri con PDA (pH 7.6). El medio de cultivo se preparó de acuerdo a la metodología propuesta por López (1984).

### Incubación y Purificación del Cultivo

Las siembras fueron incubadas a una temperatura de 28°C. Tan pronto hubo un micelio suficientemente desarrollado, se transfirió parte de éste a una nueva caja de petri con PDA para evitar la proliferación de contaminantes; se volvió a incubar hasta lograr la formación de estructuras características.

### Identificación

La identificación se hizo a través de observaciones macroscópicas y microscópicas. En el primer caso, se consideró el aspecto general de la colonia y su pigmentación. En el segundo caso, se procedió a identificar los organismos mediante el estudio de las estructuras que desarrollaron los aislamientos, utilizando las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1972) y de Streets (1978).

las medias. En el Cuadro 3.2. aparecen las variables probadas.

### Preparación de los Medios de Cultivo

Las metodologías que a continuación se especifican, coinciden en la técnica de esterilización de los medios una vez preparados, que consisten en someterlos al calor húmedo a  $121^{\circ}\text{C}$  y  $1,056 \text{ g/cm}^2$  de presión, durante 20 min.

#### Papa-Dextrosa-Agar (PDA)

En 1,000 ml de agua destilada se agregaron 39 g del medio de cultivo deshidratado y se disolvió calentando ligeramente.

#### Vaina de Frijol-Agar (VFA)

En 500 ml de agua destilada se agregaron 225 g de vainas verdes de frijol partidas, se calentó a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 30 min y se filtró la infusión a través de papel filtro. En otros 500 ml de agua destilada, se agregaron 15 g de agar y se colocaron en la olla de presión a  $120^{\circ}\text{C}$  y  $1,056 \text{ g/cm}^2$  durante 15 min. Por último se agregó a la infusión filtrada la solución de agar, se mezcló bien y se aforó con agua destilada a 1,000 ml.

Cuadro 3.2. Variables probadas en el experimento para los estudios de laboratorio.

ORGANISMOS	LOCALIDADES	MEDIOS DE CULTIVO	VALORES DE pH	LUMINOSIDAD
<u>Fusarium</u> sp.	A	PDA (M <sub>1</sub> )	7 (P <sub>1</sub> )	Luz continua (L)
	B	VFA (M <sub>2</sub> )		
<u>Rhizoctonia</u> sp.	G	JV-A (M <sub>3</sub> )	8 (P <sub>2</sub> )	Oscuridad cont. (O)
	I			

## Jugo de Verduras-Agar (JV-A)

A 300 ml de jugo de verduras se le agregaron 4.5 g de carbonato de calcio, se agitó hasta su disolución completa y se dejó reposar por 10 min. Después, para clarificar la solución, se centrifugó durante 20 min a 3,000 revoluciones por minuto, se decantó y se colectó el líquido sobrenadante. En 500 ml de agua destilada, se agregaron 15 g de agar, se mantuvo en la olla de presión a 120°C y 1,056 g/cm<sup>2</sup> de presión por 15 min para su disolución; inmediatamente después, esta solución se agregó al jugo de verduras centrifugado y se aforó con agua destilada a 1,000 ml.

## Ajuste del pH de los Medios de Cultivo

Dado que en el experimento se incluyeron dos valores de pH (7 y 8), fue necesario realizar los ajustes para obtener los tres medios con ambas condiciones. El ajuste se hizo según la metodología recomendada por French y Teedy (1980) - utilizándose soluciones normales de ácido clorhídrico y de hidróxido de sodio como acidulante y alcalinizante respectivamente; la adición de estas sustancias se hizo antes de esterilizar los medios. En el Cuadro 3.3. aparecen las dosis requeridas para obtener el pH en cada medio.

Cuadro 3.3. Requerimientos de HCl y NaOH para ajustar el pH de los medios.

MEDIO	pH ORIGINAL	REQUERIMIENTOS m1/lt DE SOL. 0.1 N.	
		pH 7	pH 8
PDA	7.6	24 (HCl)	8 (NaOH)
VFA	6.6	4 (NaOH)	12 (NaOH)
JV-A	6.5	10 (NaOH)	50 (NaOH)

### Vaciado de las Cajas de Petri

Una vez preparados los medios, se procedió a verter los en cajas de petri previamente esterilizadas, cerca de un mechero y en una cámara aséptica para evitar contaminaciones.

### Siembra, Incubación y Toma de Datos

Tal y como se especifica en el cuadro 3.2, se corrieron dos experimentos (uno para Fusarium sp. y otro para Rhizoctonia sp.), resultando dos factoriales 4x3x2x2, con un total de 48 tratamientos con tres repeticiones para cada uno (cuatro localidades, tres medios de cultivo, dos niveles de pH y dos grados de luminosidad). De esta manera, se sembraron en total 288 cajas de petri, tomando una fracción de micelio del cultivo puro mediante un sacabocado estéril para asegurar uniformidad en la cantidad inicial del inóculo, colocándose en el centro de la caja. Las cajas que debían estar en la oscuridad permanente, permanecieron en cámaras cerradas y sólo se exponían a la luz cada 24 horas el

tiempo necesario para medir el crecimiento diametral del cultivo (1 min aproximadamente). Las que estuvieron bajo luz continua, se colocaron sobre una mesa de laboratorio bajo lámparas de luz fluorescente que se mantuvieron encendidas durante todo el experimento. La temperatura se mantuvo entre 23 y 28°C. Las medidas del crecimiento diametral se hicieron durante diez días, haciéndose un análisis de varianza para los datos de cada lectura.

### Medición de Estructuras

Con el propósito de tener datos complementarios sobre los aislamientos, se hicieron montas permanentes de los cultivos en lactofenol con 0.1 por ciento de azul de algodón como colorante y se sellaron con esmalte para uñas. Posteriormente, se midieron con un micrómetro los microconidios (cuando estaban presentes) y los macroconidios de Fusarium sp. de cada localidad para determinar la media y la desviación standard de sus dimensiones. También se registró la existencia de clamidosporas. Las hifas de Rhizoctonia sp. no se midieron ya que las dimensiones del estado micelial en este género carecen de valor taxonómico (Tu et al., 1977).

### Estudios de Invernadero

Con el objeto de determinar algunas diferencias en cuanto a la severidad de las pudriciones radicales en las

14 localidades y su posible relación con las características físico-químicas de los suelos de cada una, se hicieron los estudios de invernadero.

### Muestreo y Colecta de Suelo

En febrero de 1987 se hizo un muestreo de suelo en cada localidad para su análisis. Se realizó según la metodología recomendada por Shaw (1972) que consiste en recoger unos 200 g de suelo de los primeros 20 cm del perfil, en sitios del terreno seleccionados completamente al azar; la muestra total de cada predio se depositó en una bolsa de polietileno con una etiqueta para su identificación y se llevó al laboratorio. Al mismo tiempo, se tomaron de cada sitio de muestreo unos 70 Kg de suelo, se depositaron en costales etiquetados y se llevaron al invernadero para realizar el experimento.

### Análisis de Suelos

Las determinaciones que se hicieron al analizar los suelos fueron: por ciento de materia orgánica, nitrógeno y fósforo aprovechable, potasio intercambiable, pH, por ciento de carbonatos totales, conductividad eléctrica y textura.

## Establecimiento del Experimento

El experimento de invernadero se hizo del 7 de abril al 1 de julio de 1987. La siembra se realizó utilizando el suelo tal y como se colectó, sin ningún tratamiento, asumiendo que en él se encontrarían propágulos de Fusarium sp. y Rhizoctonia sp. en su estado natural y deberían iniciar su acción patogénica en cuanto tuvieran el estímulo de la hospedera. El suelo de cada predio se distribuyó en bolsas de 20 cm de diámetro por 25 cm de profundidad. Así, se tuvieron un total de 84 macetas, las cuales se acomodaron completamente al azar en un lugar del invernadero. Después de un riego preliminar para que el suelo alcanzara la capacidad de campo, se sembraron diez semillas de frijol regularmente distribuidas, de la variedad Bayo Zacatecas en cada maceta. Se suministraron riegos periódicos cuidando que cada maceta recibiera el mismo volumen de agua y con la misma frecuencia; asimismo, se tuvo la precaución de evitar contaminaciones entre macetas por salpicaduras de agua.

## Evaluación de Resultados

La respuesta a evaluar en este experimento fue la intensidad de la lesión del hipocótilo que se observaba en las plantas inmediatamente después de ser removidas de las macetas, de acuerdo con el rango que mencionan Siemer y Vaughan (1971) y que es como sigue:



- 1) Sin enfermedad.
- 2) Levemente enferma.
- 3) Moderadamente enferma.
- 4) Severamente enferma.
- 5) Muy severamente enferma, algunas veces la plan  
ta muere.

En cada muestreo se seleccionaba al azar y se removía una planta por maceta, de este modo cada vez se obtenía una muestra de seis por localidad. El calendario de muestreo fue el siguiente:

- 1) Fecha de siembra: 7 de abril.
- 2) Fechas de muestreo: 22 de abril; 2, 12 y 22 de mayo; 11 de junio y 1 de julio.

Las características consideradas para determinar la correlación tipo de suelo-severidad de la lesión fueron: pH, contenido de materia orgánica, nitrógeno, fósforo, potasio y carbonatos. En todos los casos se tomó el promedio general de los rangos de lesión determinados en los seis muestreos del grupo de macetas de cada localidad, a través del tiempo; de tal modo, que cada media representó los datos tomados de 36 plantas (seis grupos de seis plantas).

En virtud de que la evaluación consistió de una esca  
la de valores discretos, se utilizó la prueba no paramétrica

del coeficiente de correlación de rangos de Spearman (1904) designado por  $r_s$ , manejando el conjunto de rangos que se asignaron a los valores de las muestras de X (variable edáfica de cada caso) y Y (media de los rangos dados a la lesión del conjunto de plantas muestreadas de las macetas de cada localidad).

El juego de hipótesis planteado fue:

$H_0$ : X y Y son mutuamente independientes

$H_A$ : Existe una tendencia de que los valores grandes de X se apareen con los valores grandes o con los valores pequeños de Y (correlación directa o inversa entre las variables).

El procedimiento de prueba de hipótesis constó de los siguientes pasos:

- 1) Asociar una categoría a los valores de X desde 1 hasta n (el número de parejas de valores de X y Y en la muestra). Asociar asimismo una categoría a los valores de Y desde 1 hasta n.
- 2) Cálculo de  $d_i$  para cada pareja de observaciones, restando el rango de  $Y_i$  del rango  $X_i$ .
- 3) Obtener el cuadrado de cada  $d_i$  y calcular  $\sum d_i^2$ , la suma de cuadrados de los valores.

- 4) Calcular el coeficiente de correlación de los rangos según la fórmula

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n(n^2 - 1)}$$

- 5) Cuando n está entre 4 y 30, como en el presente caso, comparar el valor calculado de  $r_s$  con el valor crítico  $r_s$  de la tabla de valores críticos de la estadística de prueba de Spearman, en este caso se seleccionó con niveles de significancia del 5 y 1 por ciento. Para el juego de hipótesis propuesto, se rechaza  $H_0$  en el nivel de significancia, si  $r_s$  es mayor (correlación directa) o menor (correlación inversa) para  $\alpha$  y n.

#### Pruebas de Especificidad

Por considerar al mejoramiento genético como una de las alternativas para el control de las pudriciones radicales del frijol, se realizaron las pruebas de especificidad, que consistieron en evaluar la intensidad de las lesiones sufridas por plantas de Phaseolus de las cuatro especies diferentes cultivadas, inoculadas con algunos aislamientos de ambos patógenos obtenidos del área de estudio.

## Discoño y Establecimiento de los Experimentos

Estas pruebas se realizaron en invernadero, del 20 de mayo al 30 de junio de 1987. Las especies utilizadas fueron P. acutifolius A. Gray, P. coccineus L., P. lunatus L. y P. vulgaris L. Para evaluar intensidad de lesión, se consideró un experimento separado para cada especie, ante la improcedencia de establecer comparaciones para una respuesta de manera interespecífica. Los tratamientos consistieron en suspensiones acuosas en agua destilada estéril de los inóculos de ambos patógenos de las localidades A, B, G e I, aplicadas inmediatamente antes de la siembra de cada especie en macetas. Los tratamientos específicos aparecen en el Cuadro 3.4.

Las semillas fueron proporcionadas por la sección frijol de la UAAAN. En el cuadro 3.5. se muestra el origen de las mismas.

De esta manera, se tuvieron 13 tratamientos con tres repeticiones por cada experimento (por especie), así que fueron sembradas 39 macetas en cada uno.

Las macetas fueron llenadas hasta unos 4 cm por debajo de su borde superior con suelo migajón (6.1 por ciento de materia orgánica) y esterilizadas con vapor a 121°C y 1,056 g/cm<sup>2</sup> durante 20 min. Posteriormente, a cada maceta se le agregó 10 ml de la suspensión acuosa del inóculo preparada al licuar el contenido de una caja de petri con un aislamiento plenamente desarrollado en 100 ml de agua destilada -

Cuadro 3.4. Tratamientos utilizados en las pruebas de especificidad.

TRATAMIENTO	INOCULO	ORIGEN
I	Testigo	
II	<u>Fusarium</u> sp.	A
III	<u>Fusarium</u> sp.	G
IV	<u>Fusarium</u> sp.	B
V	<u>Fusarium</u> sp.	I
VI	<u>Rhizoctonia</u> sp.	A
VII	<u>Rhizoctonia</u> sp.	G
VIII	<u>Rhizoctonia</u> sp.	B
IX	<u>Rhizoctonia</u> sp.	I
X	<u>Rhizoctonia</u> sp. y <u>Fusarium</u> sp.	A
XI	<u>Rhizoctonia</u> sp. y <u>Fusarium</u> sp.	G
XII	<u>Rhizoctonia</u> sp. y <u>Fusarium</u> sp.	B
XIII	<u>Rhizoctonia</u> sp. y <u>Fusarium</u> sp.	I

Cuadro 3.5. Especies de Phaseolus utilizadas en las pruebas de especificidad.

ESPECIE	CULTIVAR O COLECTA
<u>P. acutifolius</u>	Colecta No. 27
<u>P. coccineus</u>	Colecta No. 21
<u>P. lunatus</u>	Colecta "Chiapas"
<u>P. vulgaris</u>	Bayo Zacatecas

estéril y se mezcló; se sembraron después cinco semillas por maceta y se mantuvieron con la humedad suficiente para el desarrollo de las plantas. Seis semanas después de la siembra, las plantas se arrancaron y se les evaluó la intensidad de la lesión del hipocótilo, estableciéndose los rangos correspondientes.

En estas pruebas se trató de estimar en primer término, la existencia de diferencias en la patogenicidad de los diferentes tratamientos (cepas) sobre las especies utilizadas. Para tal efecto, se utilizó la prueba no paramétrica del análisis de varianza de dos clasificaciones por rangos propuesta por Friedman (1940) en las que se trató de probar la hipótesis de nulidad de que las  $k$  muestras han sido sacadas de la misma población. Lo primero que se hizo fue colocar los datos en una tabla de dos clasificaciones con  $N$  hileras y  $k$  columnas. Las hileras representaron a los diversos conjuntos de plantas de la misma especie de Phaseolus, divididas en subconjuntos, cada uno de los cuales recibió diferentes tratamientos (inóculo), y las columnas representaron las diversas condiciones o tratamientos. De esta manera, se tuvieron cuatro hileras y 13 columnas. Al estudiar los puntajes (grado de lesión) de las plantas utilizadas en todos los tratamientos, cada hilera consta de las medias de lesión sufrida por cada subconjunto de plantas de la misma especie sometidas a un tratamiento determinado.

Los datos de la prueba son rangos. Los puntajes de cada hilera se ordenaron separadamente, ésto es, con  $k$  condiciones de estudio, los rangos de cualquier hilera fueron de uno a  $k$  y esta prueba nos determinó la probabilidad de que las diferentes columnas de rangos procedan de la misma población.

Los valores medios de lesión radical sufrida por los diferentes grupos de 15 plantas (cinco por maceta con tres repeticiones en cada tratamiento) se ordenaron para aplicar la prueba de Friedman procediendo, en primer lugar a ordenar los puntajes de cada hilera, dándole al más bajo el rango de uno, al siguiente el rango de dos, etc. Así, los rangos de cada hilera fueron desde uno hasta  $k=13$ .

Ahora bien, si la hipótesis nula ( $H_0$ ), de que todas las muestras (columnas) proceden de la misma población, es decir, que no hay diferencia en el efecto de cada tratamiento, es verdadera, la distribución de los rangos de cada columna sería aleatoria y los valores desde uno hasta 13 deberían aparecer en todas las columnas con frecuencia casi igual. De manera que los totales de los rangos para las diferentes columnas mostrarían mucha semejanza.

Con la prueba de Friedman se determinó la diferencia significativa de los totales de rango ( $R_j$ ). Para ello, se calculó el valor de un estadístico denotado como  $\chi_r^2$ .

Cuando el número de hileras o de columnas o de ambas no es demasiado pequeño (digamos tres o menos), como en este caso,  $Xr^2$  se distribuye aproximadamente como una chi cuadrada con  $gl=k-1$ , de modo que la fórmula utilizada fue:

$$Xr^2 = \frac{12}{Nk(k+1)} \sum_{j=1}^k (R_j)^2 - 3N(k+1)$$

donde  $N$  = número de hileras

$k$  = número de columnas

$R_j$  = suma de rangos en la columna  $j$

$k$

$\Sigma$  = suma de cuadrados de las sumas de los rangos

$j=1$  en todas las  $k$  condiciones

El juego de hipótesis planteado fue:

$H_0$ : Los valores de los rangos de cada columna proceden de una misma población, es decir, no hay diferencia entre tratamientos.

$H_A$ : Los valores de los rangos de cada columna proceden de poblaciones diferentes, lo que significa diferencia entre los tratamientos.

Con respecto a la especificidad, la respuesta evaluada fue el por ciento de plantas de cada especie que presentaban lesión radical bajo cada tratamiento (incidencia de la enfermedad), para lo cual los cuatro experimentos se agruparon para analizarlos en un diseño completamente al azar con arreglo factorial  $4 \times 3$  (cuatro especies y 13 inóculos)



con tres repeticiones, aplicándose además la prueba de Duncan con un nivel de significancia del 5 por ciento para determinar diferencias estadísticas entre las medias.

Con el fin de no violar el supuesto de normalidad, el análisis de varianza se hizo utilizando el valor del arco seno de la raíz cuadrada de los porcentajes registrados.

### Observaciones Histológicas

Con el objeto de complementar estos estudios, se realizaron cortes histológicos de los tejidos que mostraban lesiones para observar los cambios histopatológicos ocurridos y la probable presencia de micelio u otra estructura propia de los patógenos. Las muestras se tomaron de plantas de 25, 50 y 75 días de edad que se cultivaron durante el experimento del invernadero.

### Técnicas Histológicas

Las preparaciones permanentes de cortes histológicos se hicieron siguiendo la metodología propuesta por Hernández (1984) que consiste en una secuencia de operaciones: Se comenzó con la fijación en una mezcla de alcohol etílico, ácido acético glacial, formaldehído y agua para preservar los tejidos vegetales invadidos por micelio o estructuras fungosas; después se procedió a la deshidratación por pases sucesivos de soluciones acuosas de alcohol cada vez más concentradas hasta llegar al 100 por ciento; una vez deshidratados

los tejidos, se trataron con un solvente de la parafina, que en este caso fue el xilol; inmediatamente después, se procedió a la inclusión de los fragmentos de tejido en parafina. Al terminar esta etapa, se realizaron cortes transversales - con el microtomo de 10 micras de espesor, colocándolo sobre portaobjetos para teñirlos. Terminado este paso, se procedió a sellar cada preparación con bálsamo de Canadá y un cubreobjeto. Finalmente, estas preparaciones se observaron a través del microscopio compuesto.

## RESULTADOS

### Aislamientos

Los organismos aislados en cultivo puro a partir de las plantas enfermas colectadas de las 14 localidades de estudio, fueron Fusarium sp. y Rhizoctonia sp.

### Pruebas de Patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad practicadas resultaron positivas, reafirmando que Fusarium sp. y Rhizoctonia sp. eran los patógenos causales de la pudrición radical en todos los sitios muestreados, sin excepción.

### Estudios de Laboratorio

Con respecto a los estudios de laboratorio, se hará referencia solamente al efecto principal de cada cepa en ambos géneros, y las interacciones de primer orden cepa X medio, cepa X pH y cepa X luminosidad.

Fusarium sp.

Para expresar las diferencias estadísticas encontradas entre las cepas de ambos géneros, los efectos principales de cepa y las interacciones antes señaladas se simbolizan con letras latinas mayúsculas, cuyo significado aparece en los cuadros respectivos. Asimismo, como se mencionó en el capítulo anterior, las pruebas de Duncan se aplicaron con un nivel de significancia del 5 por ciento.

El crecimiento in vitro de cada efecto de cepa para este género mostró diferencias altamente significativas hasta el décimo día (Apéndice A); al realizarse la prueba de medias por el método de Duncan, se encontró que la cepa B fue la más rápida para crecer hasta el sexto día, mientras que al octavo y décimo días, las cepas G, I y B superaron a la A con medias estadísticamente iguales, a la vez, esta última cepa registró las más bajas tasas de crecimiento durante los diez días de observación (Cuadro 4.1. y Figura 4.1.).

La respuesta de crecimiento de la interacción cepa X medio mostró también diferencias altamente significativas hasta el décimo día (Apéndice A). Según la prueba de Duncan, el segundo día las interacciones I y H tuvieron a la vez las medias de crecimiento más altas; hacia el cuarto y sexto días, la interacción I fue significativamente mayor, seguida por la H, cuya media fue estadísticamente diferente a las demás; al octavo día, las interacciones E, L y K tuvieron las medias estadísticamente mayores sin diferencias

Cuadro 4.1. Crecimiento diametral medio en cm de las cepas de Fusarium sp.  
(efecto principal de cepa)

Edad de los cultivos en día

2	4	6	8	10
cepa	cepa	cepa	cepa	cepa
B 2.21a	B 4.47a	B 6.74a	G 8.20a	G 8.79a
G 1.94 b	G 3.99 b	G 6.49 b	I 8.19a	I 8.75a
I 1.76 c	I 3.98 b	I 6.38 b	B 8.04a	B 8.73a
A 1.73 c	A 3.74 c	A 5.86 c	A 7.68 b	A 8.43 b

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma letra, según el método de Duncan al 5 por ciento de significancia.

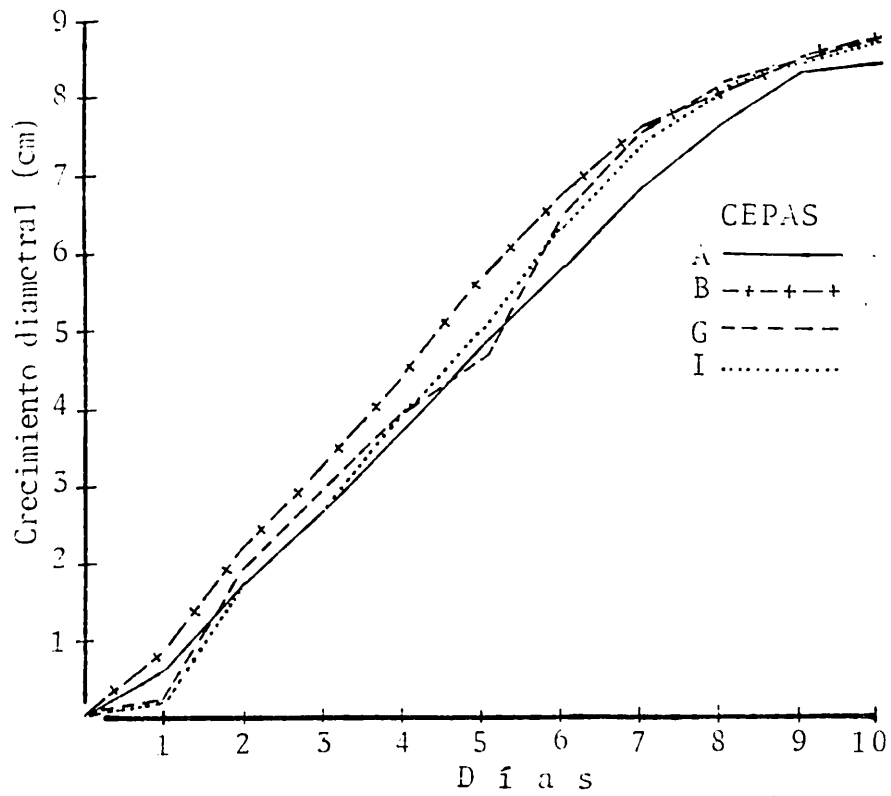


Figura 4.1. Crecimiento diametral in vitro de Fusarium sp., efecto principal de cepa.

significativas entre sí; a la vez, el décimo día las interacciones L, K, I, H, F, E y A compartieron el conjunto estadísticamente homogéneo con medias de crecimiento mayores. En cuanto a las medias menores, el segundo día las interacciones C y J, estadísticamente iguales, fueron las más bajas; el cuarto día, las interacciones D, C y J integraron el conjunto de las medias significativamente menores; al mismo tiempo, la interacción J fue la media significativamente menor el sexto día; el octavo día, el conjunto de interacciones estadísticamente iguales formado por la C, G, D y J, fueron significativamente más bajas; por último, el décimo día, las interacciones G, J, C, D y B, estadísticamente iguales entre sí, tuvieron una media menor a las demás (Cuadro 4.2. y Figuras 4.2., 4.3. y 4.4.).

La interacción cepa X pH no mostró respuestas de crecimiento significativamente diferentes (Apéndice A). Sin embargo, según la prueba de Duncan, el segundo día la interacción E resultó ser la más alta, mientras que el conjunto de las interacciones B, G, H y A, fueron las medias estadísticamente menores; el cuarto día, las interacciones E y F fueron las más altas, mientras que la B y la A, significativamente menores; el sexto día, E, F y C fueron las más altas, en tanto que la A fue la más baja; el octavo día; el conjunto de las interacciones H, C, E, D, G y F dio las mayores tasas de crecimiento, en cambio, la C fue la más baja; el décimo día, las interacciones F, D, H y G, en conjunto, mostraron las medias de crecimiento mayores y la A la media más baja

Cuadro 4.2. Promedio de crecimiento diametral en cm de las cepas de Fusarium sp.  
(interacción cepa x medio)

Interacciones		Edad de los cultivos en días				
		2	4	6	8	10
cepa	cepa		cepa	cepa	cepa	cepa
AxM1 (A)	I 2.40a	I 5.06a	I 7.59a	E 9.00a	L 9.00a	
AxM2 (B)	H 2.42a	H 4.63 b	H 7.22 b	L 8.79ab	K 9.00a	
AxM3 (C)	F 2.07 b	E 4.37 c	L 6.95 bc	K 8.69ab	I 9.00a	
GxM1 (D)	E 2.03 bc	L 4.36 c	F 6.89 bc	I 8.56 b	H 9.00a	
GxM2 (E)	k 1.96 bcd	K 4.32 c	K 6.84 c	H 8.52 bc	F 9.00a	
GxM3 (F)	A 1.88 bcde	F 4.18 cd	E 6.43 d	F 8.48 bc	E 9.00a	
BxM1 (G)	L 1.87 cde	A 4.02 de	A 6.27 d	A 8.15 cd	A 8.88a	
BxM2 (H)	B 1.78 de	B 3.86 ef	B 5.83 e	B 7.57 de	G 8.35 b	
BxM3 (I)	G 1.73 e	G 3.73 f	D 5.75 e	C 7.28 cf	J 8.27 b	
IxM1 (J)	D 1.73 e	D 3.45 g	C 5.49 f	G 7.23 cf	C 8.25 b	
IxM2 (K)	C 1.55 f	C 3.37 g	G 5.41 f	D 7.13 f	D 8.20 b	
IxM3 (L)	J 1.44 f	J 3.28 g	J 5.35 g	J 7.08 f	B 8.17 b	

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma letra, según el método de Duncan al 5 por ciento de significancia.



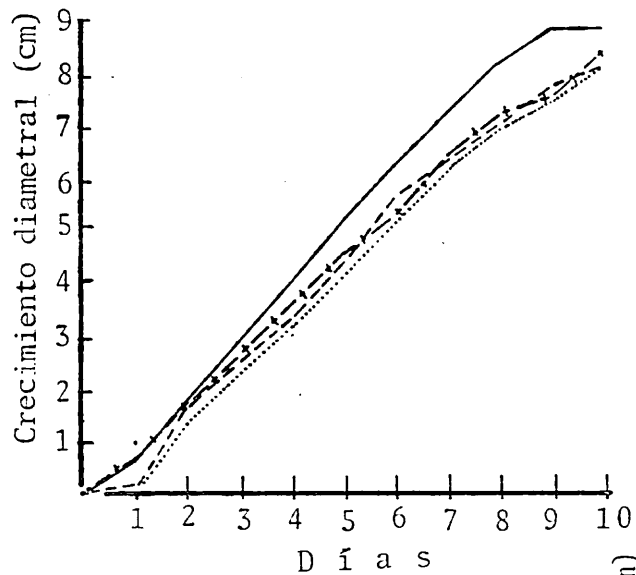


Figura 4.2. Crecimiento diametral in vitro de Fusarium sp., interacción cepa X medio ( $M_1$ ).

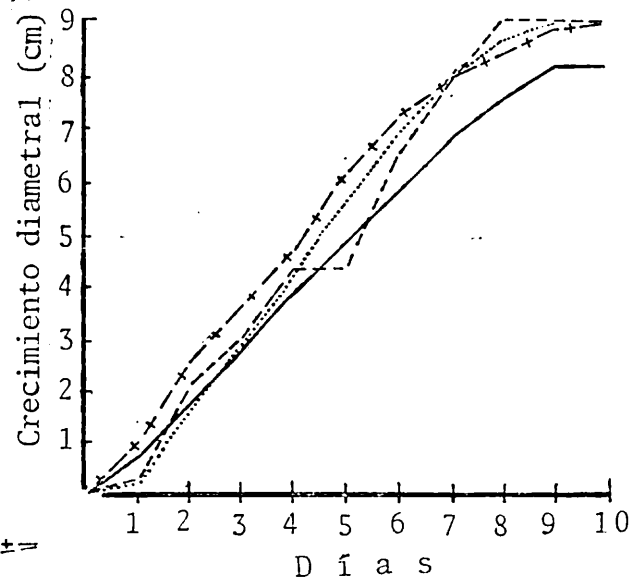


Figura 4.3. Crecimiento diametral in vitro de Fusarium sp., interacción cepa X medio ( $M_2$ ).

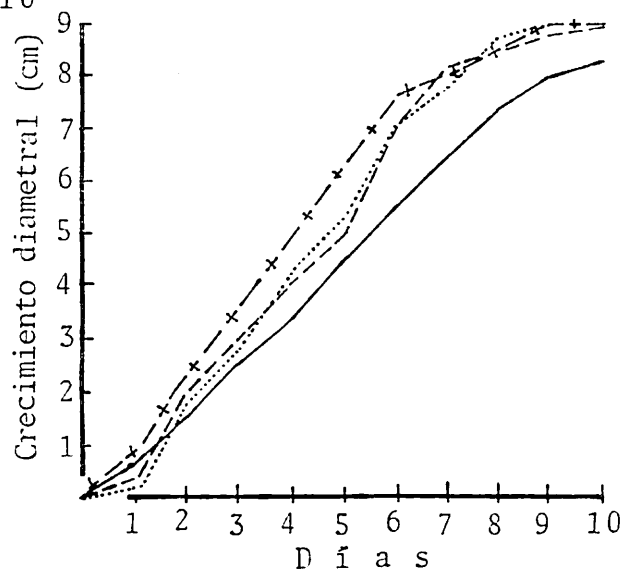


Figura 4.4. Crecimiento diametral in vitro de Fusarium sp., interacción cepa X medio ( $M_3$ ).

CEPAS  
 A —————  
 B -+--+--+  
 G - - - - -  
 I ········

(Cuadro 4.3. y Figuras 4.5. y 4.6.).

En cuanto a las interacciones cepa X luminosidad, las cepas de Fusarium sp. exhibieron diferencias en las respuestas de crecimiento altamente significativas los días segundo, cuarto, sexto y décimo, mientras que el octavo día sólo fueron significativas (Apéndice A). Según la prueba de Duncan, la interacción E tuvo una media de crecimiento significativamente mayor hasta el sexto día; el octavo día, las interacciones A, E y C compartieron las medias significativamente mayores y el décimo día, las interacciones A, E, H, C y D fueron las medias más altas. La interacción B fue la que durante los 10 días mostró la media significativamente menor (Cuadro 4.4. y Figuras 4.7. y 4.8.).

#### Rhizoctonia sp.

El crecimiento in vitro de cada efecto de cepa mostró diferencias altamente significativas durante el segundo y tercer día y sólo significativas el cuarto día (Apéndice B). La prueba de Duncan reveló que la cepa A tuvo una media de crecimiento significativamente mayor en el segundo día; las cepas A y B, sin diferencia estadística entre sí, fueron las que tuvieron las medias más altas el tercer día, mientras que el cuarto día, las cepas A, G e I tuvieron las medias significativamente más altas, con respecto a la B que quedó en último lugar. La cepa G durante el segundo y tercer día fue estadísticamente más lenta para crecer (Cuadro 4.5. y Figura 4.9.).

Cuadro 4.3. Promedio de crecimiento diametral en cm de las cepas de Fusarium sp.  
(interacción cepa x pH)

Interacciones	Edad de los cultivos en días				
	2	4	6	8	10
cepa	cepa	cepa	cepa	cepa	cepa
AxP1 (A)	E 2.28a	E 4.56a	E 6.81a	H 8.27a	F 9.00a
AxP2 (B)	F 2.14 b	F 4.39a	F 6.67ab	C 8.26a	D 8.77ab
GxP1 (C)	C 1.96 c	H 4.03 b	C 6.54ab	E 8.14a	H 8.76ab
GxP2 (D)	D 1.92 cd	D 4.02 b	D 6.45 b	D 8.14a	G 8.75ab
BxP1 (E)	B 1.81 cde	C 3.97 b	H 6.41 b	G 8.10a	C 8.69 b
BxP2 (F)	G 1.78 de	G 3.94 b	G 6.36 b	F 8.07a	E 8.58 b
IxP1 (G)	H 1.73 e	B 3.83 bc	B 6.03 c	B 7.73 b	B 8.58 b
IxP2 (H)	A 1.66 e	A 3.67 c	A 5.69 d	A 7.63 c	A 8.28 c

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma letra, según el método de Duncan al 5 por ciento de significancia.

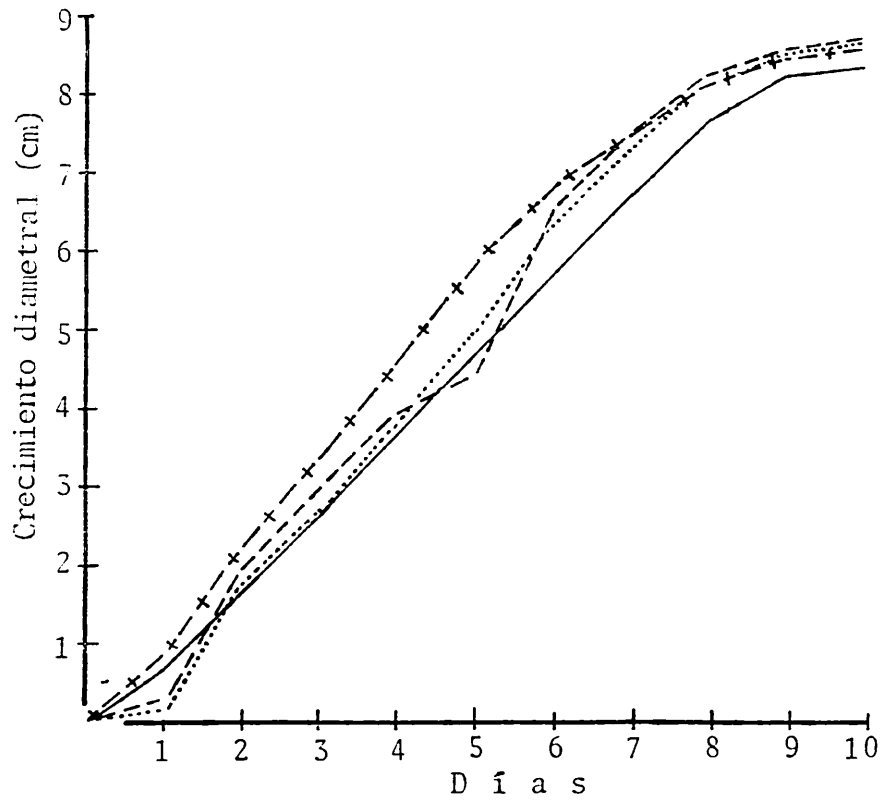


Figura 4.5. Crecimiento diametral in vitro de Fusarium sp., interacción cepa X pH (P<sub>1</sub>).

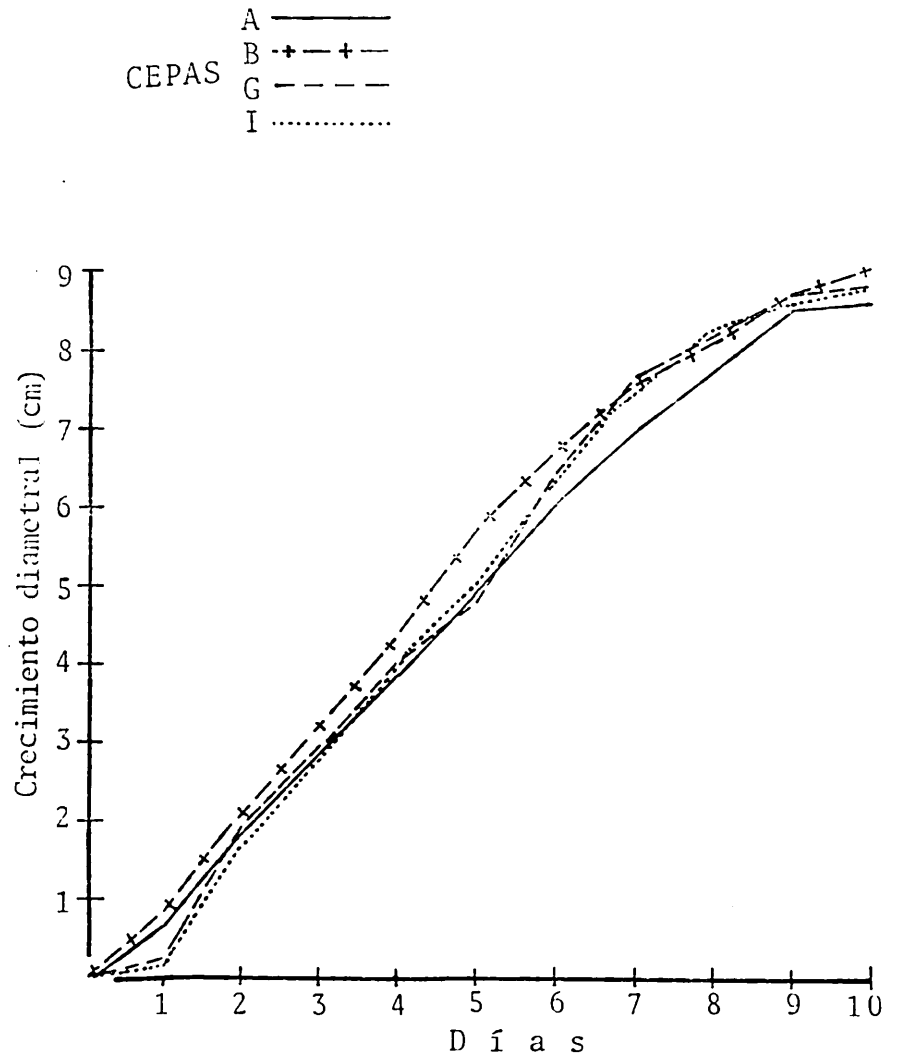


Figura 4.6. Crecimiento diametral in vitro de Fusarium sp., interacción cepa X pH (P<sub>2</sub>).

Cuadro 4.4. Promedio de crecimiento diametral en cm de las cepas de Fusarium sp.  
(interacción cepa x luminosidad)

Interacciones	Edad de los cultivos en días				
	2	4	6	8	10
cepa	cepa	cepa	cepa	cepa	cepa
AxL (A)	E 2.44a	E 5.22a	E 7.94a	A 8.80a	A 9.00a
AxO (B)	C 2.08 b	A 4.51 b	A 7.12 b	E 8.60a	E 8.94ab
GxL (C)	A 2.05 b	H 4.22 c	C 6.95 b	C 8.56ab	H 8.85abc
GxO (D)	F 1.98 b	C 4.12 c	H 6.48, c	G 8.27 bc	C 8.74abc
BxL (E)	H 1.94 b	D 3.88 d	G 6.28, cd	H 8.10 cd	D 8.72abc
BxO (F)	D 1.80 c	G 3.74 d	D 6.05, d	D 7.84 de	G 8.66 bc
IxL (C)	G 1.57 d	F 3.72 d	F 5.54, e	F 7.61 e	F 8.64 c
IxO (H)	B 1.43 e	B 2.98 e	B 4.60 f	B 6.55 f	B 6.78 d

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma letra, según el método de Duncan al 5 por ciento de significancia

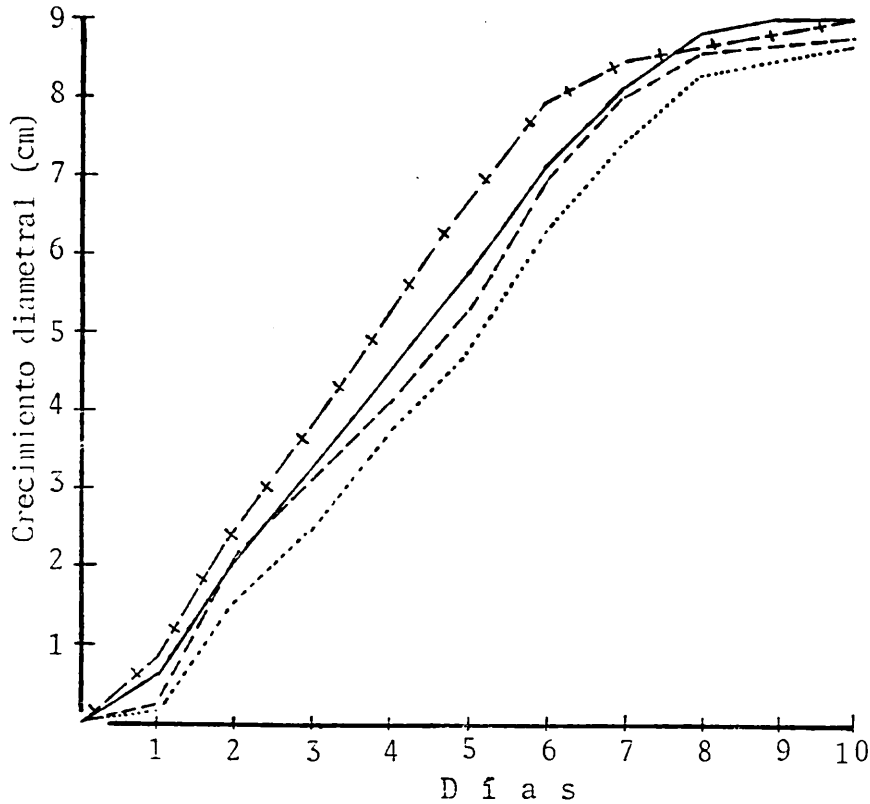


Figura 4.7. Crecimiento diametral in vitro de Fusarium sp., interacción cepa X luminosidad (L).

A —————  
 CEPAS B + - + - + -  
 G - - - - -  
 I .....

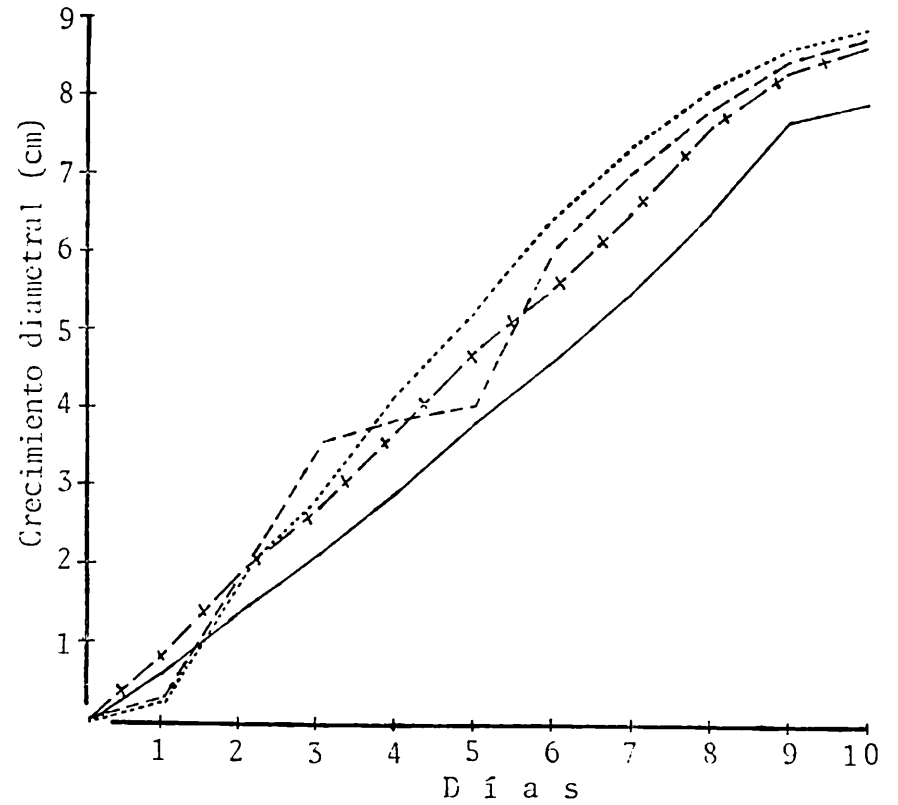


Figura 4.8. Crecimiento diametral in vitro de Fusarium sp., interacción cepa X luminosidad (O).

Cuadro 4.5. Crecimiento diametral medio en cm de las cepas de Rhizoctonia sp.  
(efecto principal de cepa)

Edad de los cultivos en días

2	3	4
cepa	cepa	cepa
A 7.88a	A 8.92a	A 9.00a
B 7.39 b	B 8.74ab	G 9.00a
I 2.71 c	I 8.55 b	I 9.00a
G 1.99 d	G 7.43 c	B 8.97 b

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma letra, según el método de Duncan al 5 por ciento de significancia.

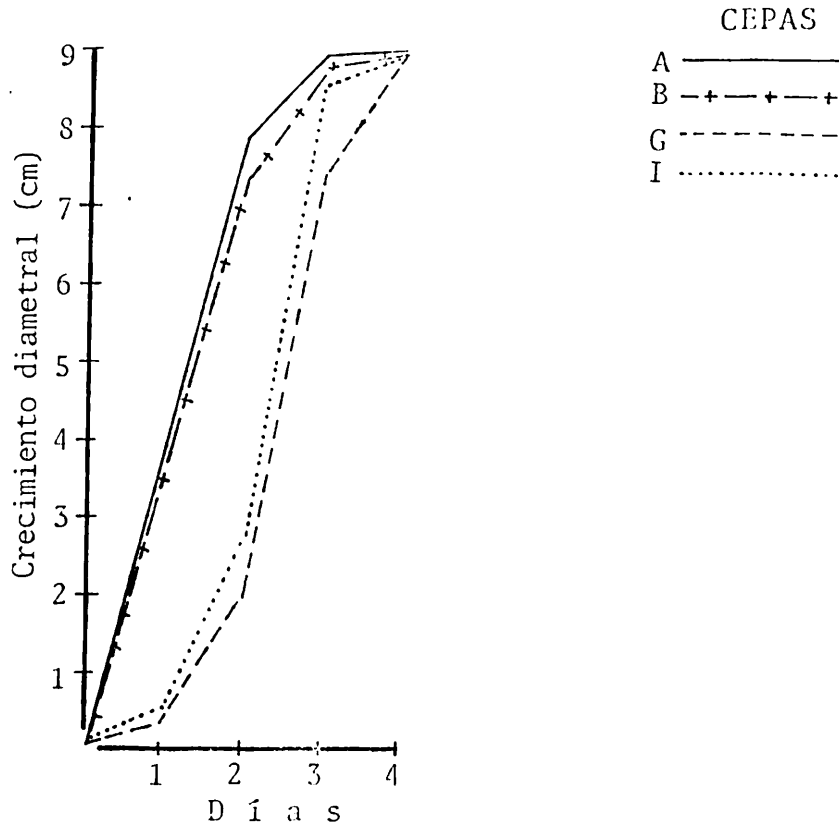


Figura 4.9. Crecimiento diametral in vitro de Rhizoctonia sp., efecto principal de cepa.



La interacción cepa X medio mostró diferencias de crecimiento altamente significativas durante las tres observaciones (Apéndice B). Según la prueba de Duncan, las interacciones B, C y H respondieron con medias significativamente más altas en el segundo día; mientras que en el tercer día, las medias de crecimiento de las interacciones K, I, H, C, B, J, A y F formaron el conjunto estadísticamente más alto. En el cuarto día, sólo la interacción G fue significativamente diferente con la media más baja, mientras que el resto de interacciones dieron medias de crecimiento estadísticamente iguales; el segundo y tercer día, la cepa D fue la media significativamente menor (Cuadro 4.6. y Figuras 4.10., 4.11. y 4.12.).

La interacción cepa por pH fue altamente significativa sólo el segundo día, en tanto que el tercero y cuarto día sólo fue significativa (Apéndice B). Según la prueba de Duncan, el segundo día las interacciones B y F dieron las medias significativamente mayores, mientras que las interacciones D y C fueron las menores; el tercer día, las interacciones F, B y A tuvieron las medias de crecimiento mayores, en tanto que la interacción C resultó ser la menor; el cuarto día, todas las interacciones resultaron estadísticamente iguales, excepto la E que respondió con una media de crecimiento significativamente menor (Cuadro 4.7. y Figuras 4.13. y 4.14.).

Cuadro 4.6 Promedio de crecimiento diametral en cm de las cepas de Rhizoctonia sp.  
(interacción cepa x medio)

Interacción	Edad de los cultivos en días			
	2	3	4	
cepa	cepa	cepa	cepa	
AxM1 (A)	B 8.46a	K 9.00a	L 9.00a	
AxM2 (B)	C 8.58a	I 9.00a	K 9.00a	
AxM3 (C)	H 8.26a	H 9.00a	J 9.00a	
GxM1 (D)	I 7.56 b	C 9.00a	I 9.00a	
GxM2 (E)	A 6.79 c	B 9.00a	H 9.00a	
GxM3 (F)	G 6.34 c	J 8.90a	F 9.00a	
BxM1 (G)	J 3.83 d	A 8.77a	E 9.00a	
BxM2 (H)	F 2.48 e	F 8.65ab	D 9.00a	
BxM3 (I)	K 2.45 e	E 8.29 bc	C 9.00a	
IxM1 (J)	E 2.23 ef	G 8.20 c	B 9.00a	
IxM2 (K)	L 1.86 f	L 7.76 d	A 9.00a	
IxM3 (L)	D 1.26 g	D 5.38 e	G 8.92 b	

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma letra, según el método de Duncan al 5 por ciento de significancia.

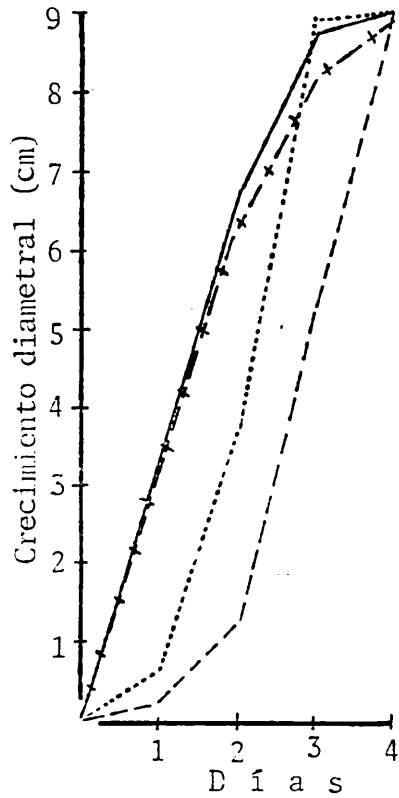


Figura 4.10. Crecimiento diametral in vitro de Rhizoctonia sp., - interacción cepa X medio (M<sub>1</sub>).

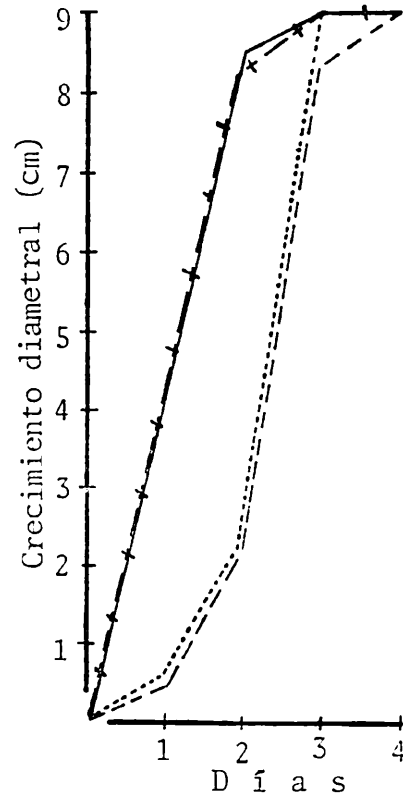


Figura 4.11. Crecimiento diametral in vitro de Rhizoctonia sp., - interacción cepa X medio (M<sub>2</sub>).

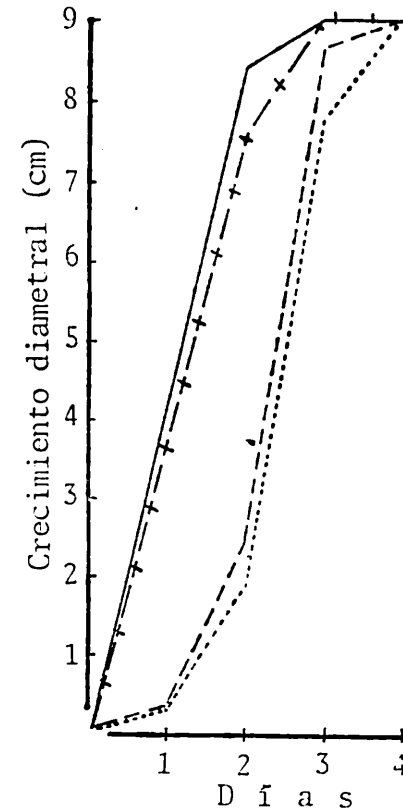


Figura 4.12. Crecimiento diametral in vitro de Rhizoctonia sp., - interacción cepa X medio (M<sub>3</sub>).

CEPAS A ——— G - - - - -  
 B +--+--+ I .....

Cuadro 4.7. Promedio de crecimiento diametral en cm de las cepas de Rhizoctonia sp (interacción cepa x pH)

Interacciones	Edad de los cultivos en días			
	2	3	4	
cepa	cepa	cepa	cepa	
AxP1 (A)	- B 8.29a	F 9.00a	H 9.00a	
AxP2 (B)	- F 8.06a	B 9.00a	G 9.00a	
GxP1 (C)	- A 7.46 b	A 8.84ab	F 9.00a	
GxP2 (D)	- E 6.39 c	H 8.63 bc	D 9.00a	
BxP1 (E)	- G 3.15 d	G 8.48 c	C 9.00a	
BxP2 (F)	- H 2.27 e	E 8.47 c	B 9.00a-	
IxP1 (G)	- D 2.11 ef	D 7.85 d	A 9.00a	
IxP2 (H)	- C 1.87 f	C 7.03 e	E 8.94 b	

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma letra, según el método de Duncan al 5 por ciento de significancia.

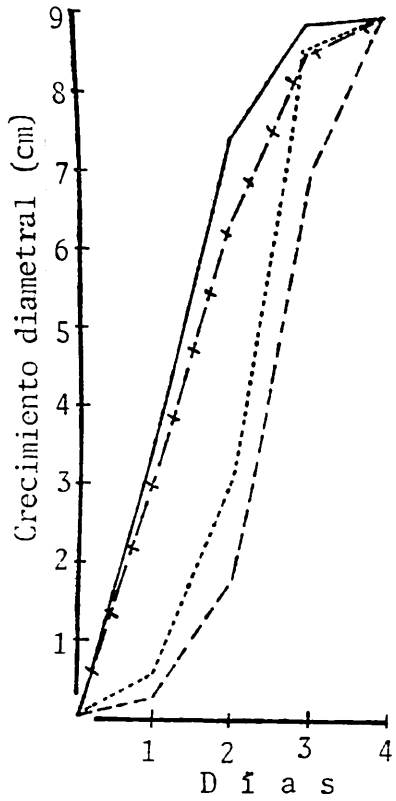


Figura 4.13. Crecimiento diametral in vitro de Rhizoctonia sp., interacción cepa X pH (P<sub>1</sub>).

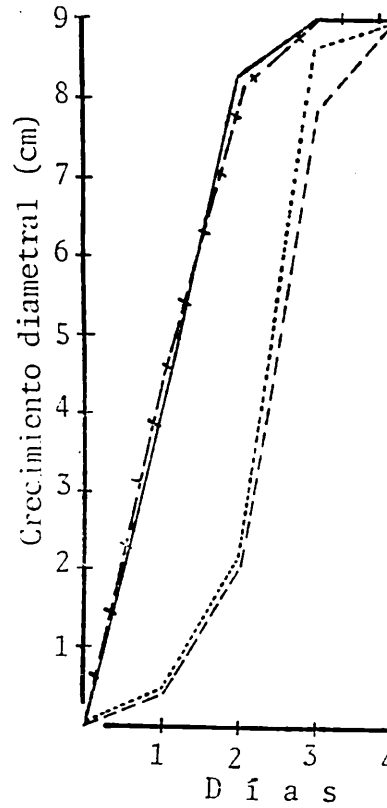


Figura 4.14. Crecimiento diametral in vitro de Rhizoctonia sp., interacción cepa X pH (P<sub>2</sub>).

CEPAS

- A —————
- B —+—+—+—+
- G - - - - -
- I .....

La respuesta de interacción cepa X luminosidad mostró diferencias altamente significativas el segundo día en tanto que el tercero y el cuarto, la respuesta fue sólo significativa (Apéndice B). Según la prueba de Duncan, el segundo día las interacciones A y E respondieron con las medias de crecimiento estadísticamente más altas, en tanto que la C y la D fueron las medias más bajas; el tercer día las interacciones A, E y B mostraron las medias de crecimiento significativamente mayores, mientras que la C y D nuevamente fueron las menores; el cuarto día, todas las interacciones resultaron estadísticamente iguales, con excepción de la F que fue significativamente menor (Cuadro 4.8. y Figuras 4.15. y 4.16.).

#### Medición de Estructuras

La medición de estructuras se hizo solamente en el género Fusarium. Para ello, de los cultivos del experimento, se seleccionaron al azar sólo montas hechas de colonias de cada cepa provenientes del tratamiento PDA X pH7 X luz. Los resultados aparecen en el Cuadro 4.9., donde puede verse que las dimensiones de los macroconidios, microconidios y clamidosporas son muy semejantes en las cuatro cepas. El número de septos también mostró uniformidad. Asimismo, destaca el hecho de que las cepas G e I no formaron microconidios bajo estas condiciones de crecimiento.

Cuadro 4.8. Promedio de crecimiento diametral en cm de las cepas de Rhizoctonia sp. (interacción cepa x luminosidad)

Interacciones	Edad de los cultivos en días		
	2	3	4
cepa	cepa	cepa	cepa
AxL (A)	A 8.36a'	A 9.00a	H 9.00a
AxO (B)	E 8.28a'	E 8.95a	G 9.00a
GxL (C)	B 7.40 b	B 8.84ab	E 9.00a
GxO (D)	F 6.50 c	H 8.58 b	D 9.00a
BxL (E)	H 2.81 d	G 8.53 b'	C 9.00a
BxO (F)	G 2.62 d	F 8.52 b'	B 9.00a
IxL (G)	D 2.02 e	D 7.56 c	A 9.00a
IxO (H)	C 1.95 e	C 7.31 c	F 8.94 b'

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma letra, según el método de Duncan al 5 por ciento de significancia.

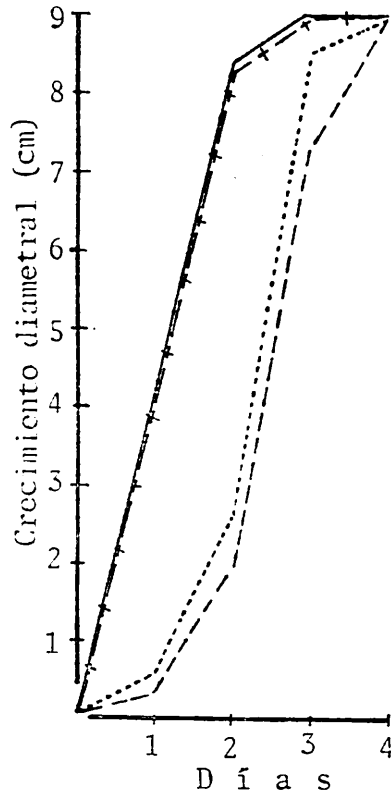


Figura 4.15. Crecimiento diametral in vitro de Rhizoctonia sp., inte racción cepa X luminosidad - (L).

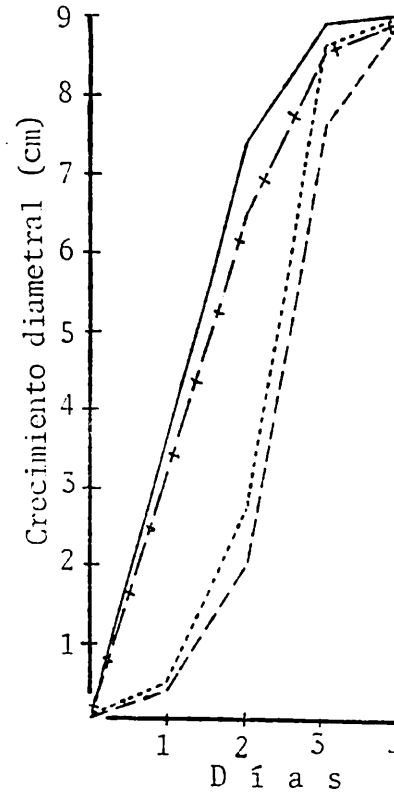


Figura 4.16. Crecimiento diametral in vitro de Rhizoctonia sp., inte racción cepa X luminosidad - (O).

CEPAS  
 A —————  
 B -+--+--+  
 G - - - - -  
 I .....



Cuadro 4.9. Dimensiones y características de estructuras asexuales desarrolladas in vitro por las cepas de Fusarium sp.

CEPA	MACROCONIDIOS					MICROCONIDIOS *					CLAMIDOSPORAS		
	Largo		Ancho		Septos	Largo		Ancho		Septos	Diámetro		Disposi- ción
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	mediana	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	mediana	$\bar{x}$	s	
A	45.82	3.35	5.16	0.19	4	11.16	2.48	2.95	0.32	1	11.03	3.9	intercalar
B	45.90	4.07	5.19	0.11	4	13.40	2.92	3.10	0.41	1	13.12	3.9	intercalar
G	46.60	3.80	5.27	0.21	4	-	-	-	-	-	15.24	4.1	intercalar
I	46.81	4.19	5.30	0.18	4	-	-	-	-	-	16.02	3.9	intercalar

\* Las cepas G e I no formaron microconidios

$\bar{x}$  = media

s = desviación standard

## Estudios de Invernadero

### Análisis de Suelos

Los suelos utilizados en los estudios de invernadero resultaron muy diversos en sus características y en su composición, con valores muy contrastantes entre ellos. El Cuadro 4.10. muestra los resultados.

### Pruebas de Correlación Suelo-Intensidad de Lesión

#### Incidencia

De la misma manera que las plantas colectadas en el campo en todas las localidades, durante los seis muestreos - hechos en las pruebas de invernadero, se encontró un 100 por ciento de individuos con lesión radical, excepto en los casos que se anotan en el Cuadro 4.11., donde destaca la localidad K por el récord de mínimo porcentaje (50) y las localidades D, F y B que registraron incidencias menores del 100 - por ciento en dos muestreos a la vez.

#### Severidad

El cuadro 4.12. muestra las medias generales de los rangos de lesión por localidad de los estudios de invernadero, en orden creciente. Asimismo, las localidades que tuvieron menos del 100 por ciento de plantas lesionadas en ciertos muestreos, se señalan con un asterisco. Estas medias -

Cuadro 4.10. Análisis físico-químico de los suelos utilizados en los estudios de invernadero.

Localidad	pH	% Materia orgánica	kg aprovechables por ha			% carbonatos	Textura
			N	P	K		
A	8.5	0.07	1.63	72.0	421.00	38.0	migajón
B	7.9	2.72	65.20	87.0	1584.00	57.5	migajón limoso
C	6.5	2.45	58.80	18.9	1253.25	1.5	arcilla
D	8.1	1.90	45.60	32.8	492.70	3.0	migajón arcilloso
E	6.6	1.09	26.16	34.3	662.27	1.5	migajón arcilloso
F	7.6	1.43	34.32	53.1	514.50	3.0	arcilla
G	6.4	0.88	21.20	26.1	306.12	1.0	migajón arcilloso
H	7.9	1.16	27.84	27.0	576.73	0.1	migajón arcillo-arenoso
I	8.1	0.41	9.84	11.2	561.18	56.0	arena migajón
J	7.3	0.75	18.00	9.00	864.44	2.0	migajón arenoso
K	8.1	1.56	37.44	62.6	245.47	21.0	migajón
L	7.9	0.88	21.12	80.1	413.43	1.0	migajón arenoso
M	6.8	1.08	24.48	15.7	766.47	0.1	migajón arcilloso
N	7.7	1.09	26.16	13.9	1580.00	0.5	migajón arcillo-arenoso

Cuadro 4.11. Muestreos del experimento de invernadero que tuvieron menos del 100 por ciento de plantas con lesión radical.

Muestreo	Localidad	% de plantas con lesión
1	D	66
1	C	83
1	F	83
1	N	83
2	K	50
2	B	83
3	B	83
3	F	83
3	K	83

Cuadro 4.12. Medias generales de lesión por localidad en los estudios de invernadero en orden creciente.

Localidad*	Promedio de lesión
B*	2.99
K*	3.16
A	3.24
F*	3.30
D*	3.44
I	3.49
L	3.63
C*	3.72
N*	3.80
J	3.99
M	4.27
H	4.47
E	4.56
G	4.86

\* Localidades con menos del 100% de plantas lesionadas en ciertos muestreos.

fueron utilizadas para la prueba del coeficiente de correlación de Spearman, cuyos resultados se mencionan a continuación.

Las correlaciones entre las propiedades del suelo - consideradas y la severidad de las lesiones, calculadas según la prueba antes citada aparecen en el Cuadro 4.13., donde puede observarse que la única correlación nula fue para el contenido de potasio, en tanto que en el resto de los casos, las correlaciones resultaron negativas, es decir, la intensidad de las lesiones radicales fue mayor en la medida en que decrecían los valores de cada variable, destacando las - correlaciones con el pH y los carbonatos totales, por ser altamente significativas, mientras que las demás fueron sólo - significativas. Las Figuras 4.17., 4.18., 4.19., 4.20., 4.21. y 4.22. muestran las tendencias de dichas correlaciones estudiadas en este caso.

Con respecto a la textura, sólo se hicieron comparaciones gráficas en relación a la severidad de las lesiones. Se tuvieron cinco tipos texturales de suelo: migajón arenoso (J, I y L), migajón (A, B, C y K), migajón arcillo-arenoso - (H, G, M y N), migajón arcilloso (E y D) y arcilloso (F). La Figura 4.23. muestra que la mayor intensidad de las lesiones radicales tuvo la tendencia a encontrarse en los suelos del tipo migajón arcillo-arenoso, con una media de 4.35; en cambio, en los suelos tipo franco o migajón, la lesión media - fue de 3.27; por último, en los suelos de textura migajón- -

Cuadro 4.13. Resultados obtenidos en las pruebas de Spearman para cada variable edáfica - considerada en relación con la intensidad de las lesiones radicales.

Variable edáfica correlacionada con la lesión	Valor de $r_s$	$r_s$ al 5%	$r_s$ al 1%	Decisión	Correlación
pH	-1.415**	-0.459	-0.622	se rechaza $H_0$	negativa
materia orgánica	-0.608*	-0.459	-0.622	se rechaza $H_0$	negativa
nitrógeno aprovechable	-0.577*	-0.459	-0.622	se rechaza $H_0$	negativa
fósforo aprovechable	-0.547*	-0.459	-0.622	se rechaza $H_0$	negativa
potasio aprovechable	0.116 NS	0.459	0.622	se rechaza $H_A$	nula
% de carbonatos totales	-1.585**	-0.459	-0.622	se rechaza $H_0$	negativa

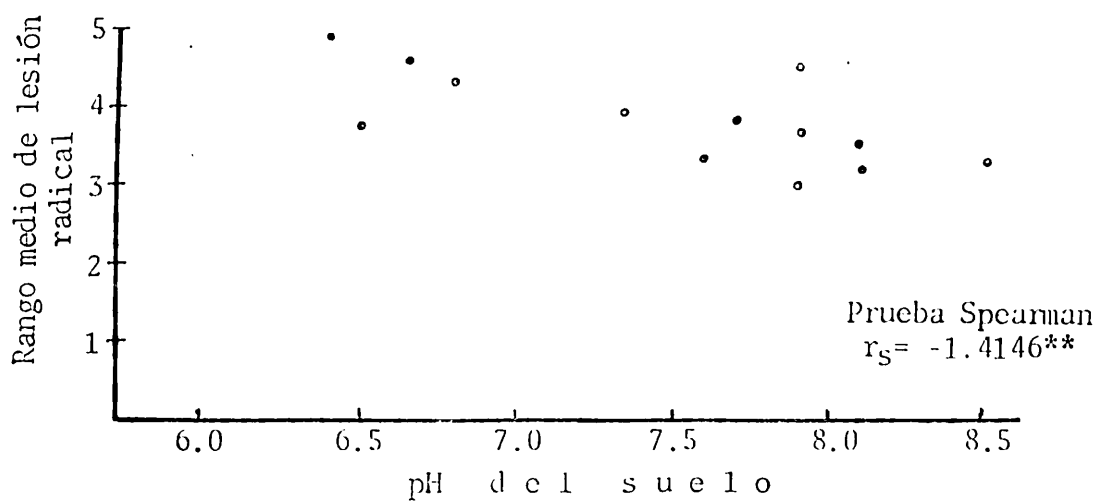


Figura 4.17. Correlación entre pH del suelo y lesión radical

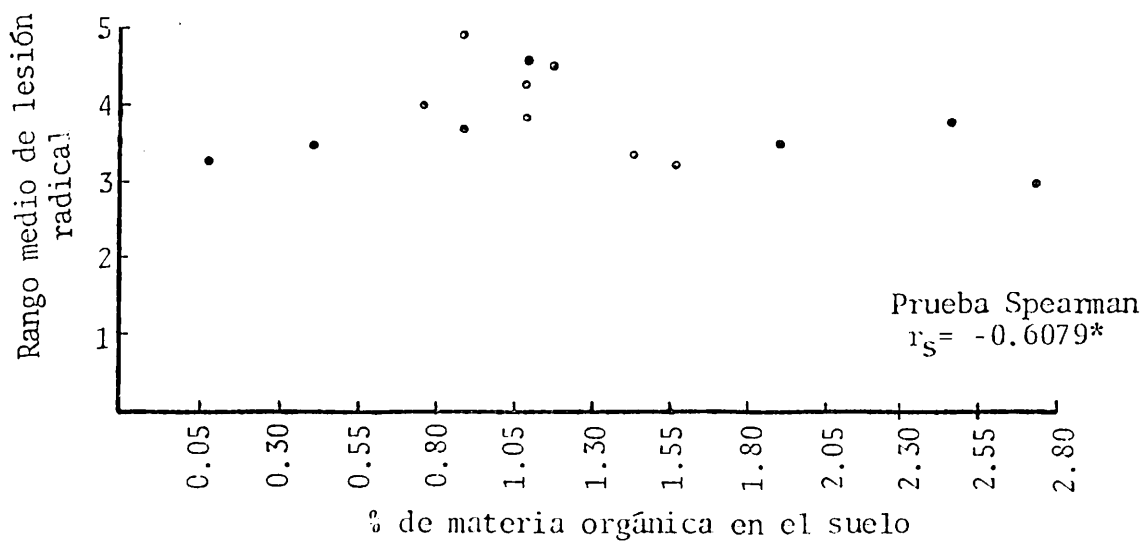


Figura 4.18. Correlación entre el % de materia orgánica en el suelo y lesión radical.

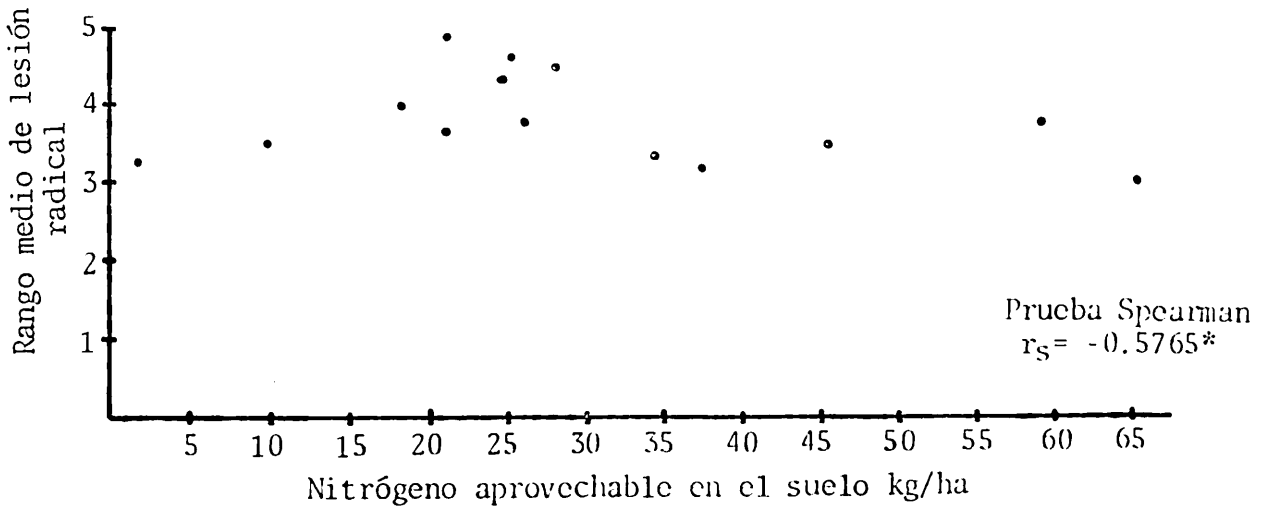


Figura 4.19. Correlación entre nitrógeno aprovechable en el suelo y lesión radical

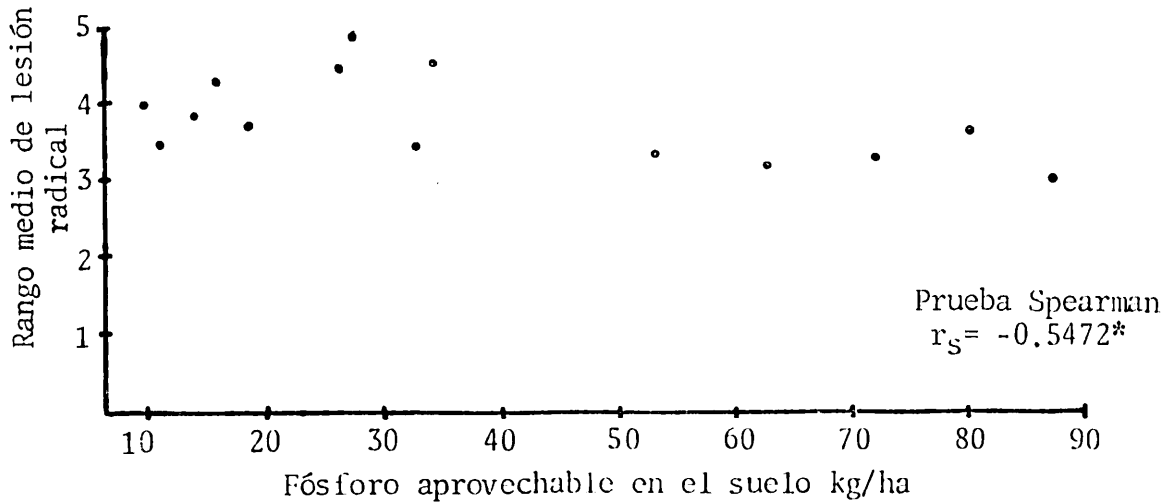


Figura 4.20. Correlación entre fósforo aprovechable en el suelo y lesión radical.



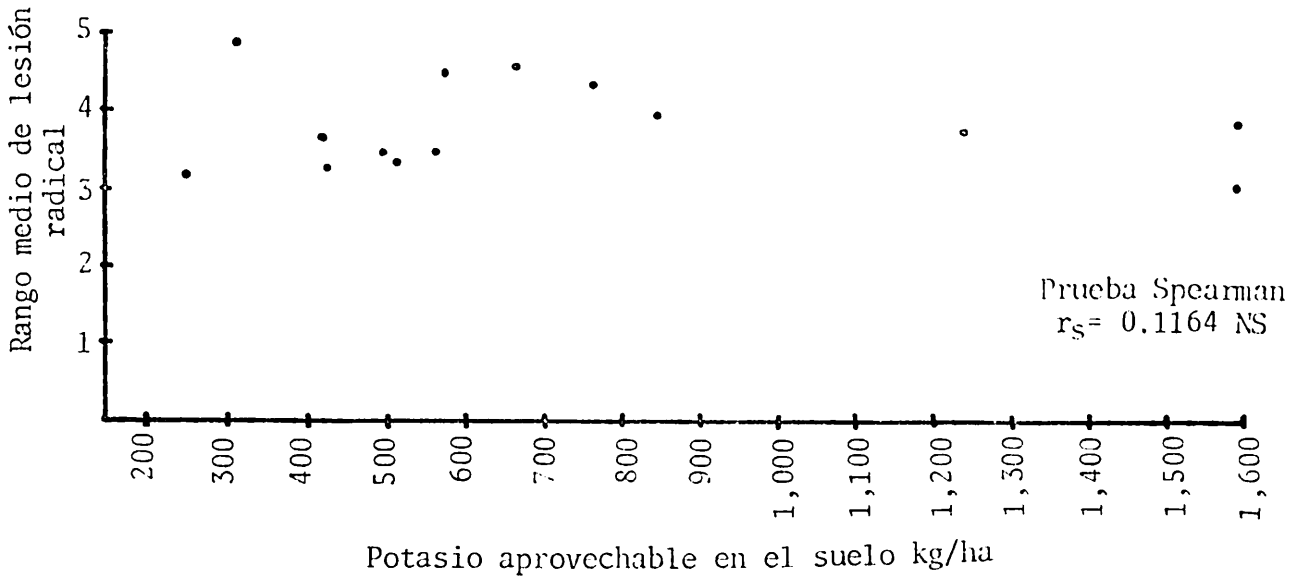


Figura 4.21. Correlación entre potasio aprovechable en el suelo y lesión radical.

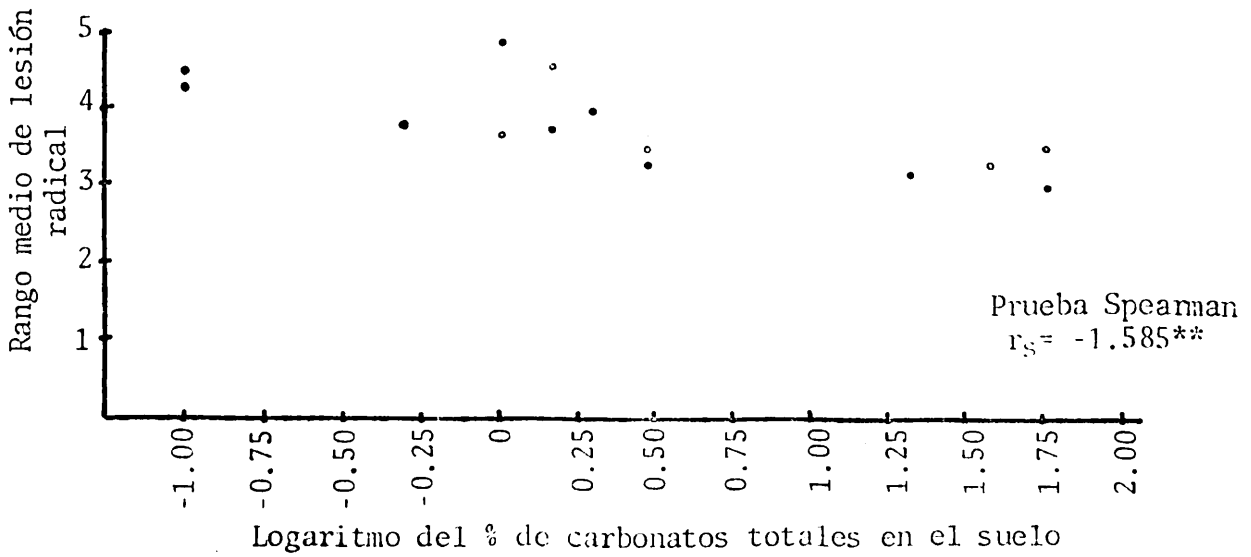


Figura 4.22. Correlación entre carbonatos totales en el suelo y lesión radical.

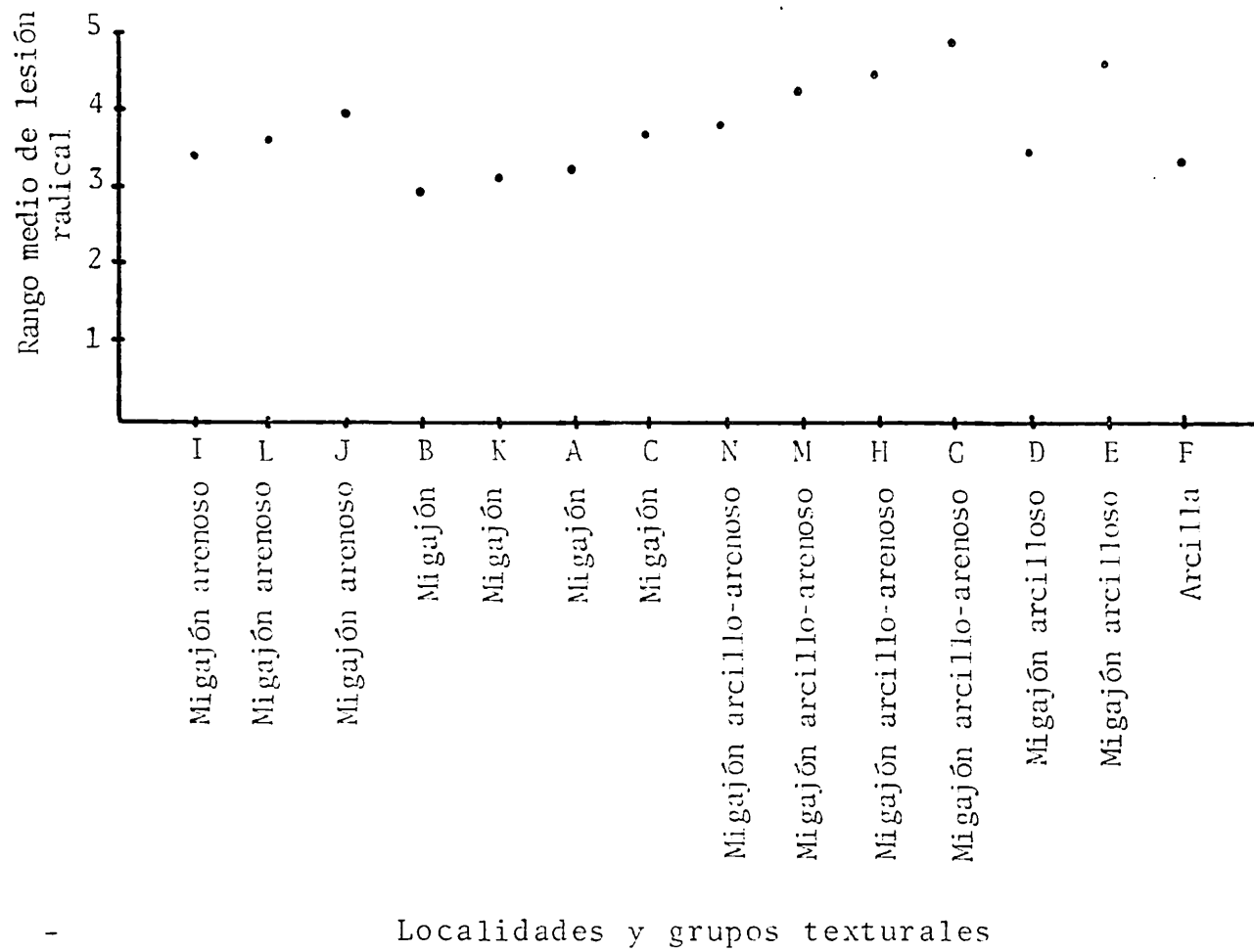


Figura 4.23. Rango medio de lesión radical en los diferentes grupos texturales de suelos.

arenosa, las plantas mostraron una severidad de daños intermedia.

## Pruebas de Especificidad

### Patogenicidad Diferencial entre Cepas

El Cuadro 4.14. muestra los valores medios de los rangos de lesión radical de las especies de Phaseolus bajo diferentes tratamientos. A partir de estos datos, se efectuó la prueba no paramétrica de Friedman, encontrándose que el valor de  $X_r^2$  calculado fue de 29.17, en cambio, el valor de tablas de  $X_r^2$ , gl k-1, al 5 por ciento de significancia es de 5.23, por lo tanto, se rechazó  $H_0$ , es decir, la diferencia de los rangos de cada columna (cepa) resultó significativa, lo que denota que la patogenicidad de las diferentes cepas inoculadas no es igual, del mismo modo que resultó estadísticamente diferente su comportamiento in vitro.

### Susceptibilidad Interespecífica

El análisis de varianza reveló que los efectos principales de especie (A) y de cepa (B) resultaron altamente significativos, mientras que la interacción especie X cepa no mostró diferencias significativas (Apéndice C). La prueba de Duncan con un nivel de significancia del 5 por ciento (Cuadro 4.15.) para las medias del efecto principal de especie, mostró que P. coccineus tuvo mayor resistencia a los

Cuadro 4.14. Valores medios de los rangos de lesión radical de las especies de Phaseolus - bajo diferentes tratamientos (inóculos).

Especie de <u>Phaseolus</u> (N=4)	Promedio de lesión radical de las plantas inóculadas Tratamientos (k=13)												
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
<u>P. acutifolius</u>	1	2.66	3.97	4.80	3.06	4.84	4.13	3.35	5.00	4.10	3.36	3.87	3.10
<u>P. coccineus</u>	1	2.09	2.75	1.80	2.86	3.00	3.44	2.69	3.58	3.45	2.50	2.10	2.57
<u>P. lunatus</u>	1	2.40	3.42	3.71	3.40	2.85	4.57	2.87	4.50	3.77	4.23	3.44	3.57
<u>P. vulgaris</u>	1	2.86	4.14	4.17	3.27	3.60	3.76	4.05	3.62	4.06	3.41	3.78	3.93

Cuadro 4.15. Porcentajes medios\* de plantas con lesión radical de las pruebas de especificidad (efecto principal de especie).

Especies	% de plantas con pudrición radical después de las inoculaciones
<u>P. acutifolius</u>	83.07a
<u>P. vulgaris</u>	83.07a
<u>P. lunatus</u>	82.46a
<u>P. coccineus</u>	71.67 b

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma letra, según el método de Duncan al 5 por ciento de significancia.

\* Arco seno de la raíz cuadrada de los porcentajes registrados.

patógenos inoculados, pues la media del porcentaje de incidencia de esta especie fue significativamente menor que las medias de las tres especies restantes, que resultaron estadísticamente iguales entre sí. En cambio, según la misma prueba, a excepción del tratamiento testigo, con una media de incidencia de cero, el efecto principal de cepa, no mostró diferencia significativa, es decir, los 12 inóculos aplicados no se diferenciaron en su patogenicidad.

La Figura 4.24. muestra gráficamente la lesión radical media por especie para cada tratamiento, donde destaca la menor susceptibilidad de P. coccineus. Por otro lado, en la Figura 4.25. puede apreciarse la respuesta general (sin considerar el efecto aislado de las diferentes cepas) de cada especie a Fusarium sp., Rhizoctonia sp. y la combinación de ambos organismos de la misma localidad .

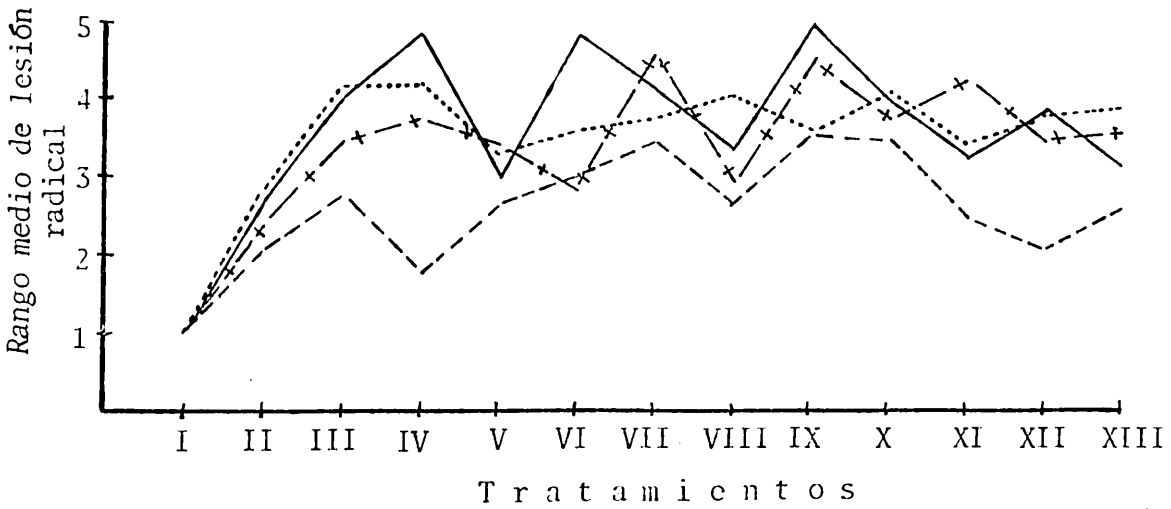


Figura 4.24. Rango medio de lesión radical por especie para cada tratamiento.

————— *P. acutifolius*      - - - - - *P. coccineus*  
 - + - + - + *P. lunatus*      ······ *P. vulgaris*

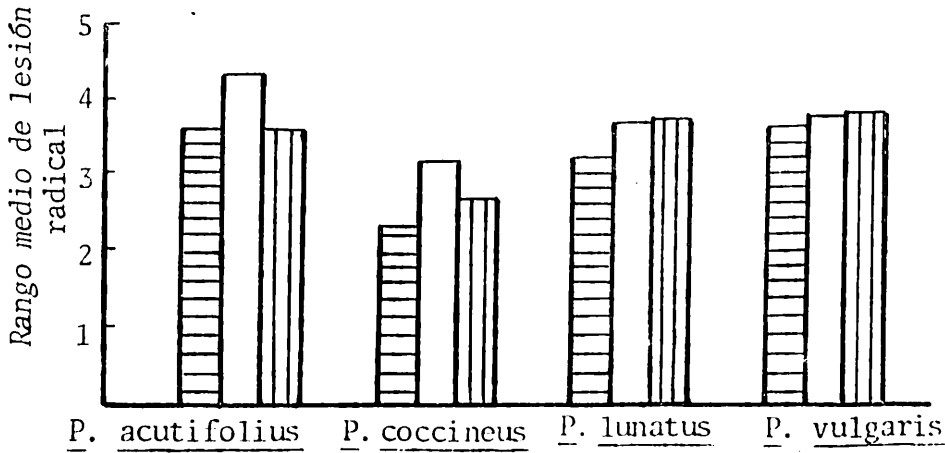





Figura 4.25. Rango medio de lesión radical por especie por el efecto de diversos inóculos.

Inóculos

 *Fusarium* sp.       *Rhizoctonia* sp.       *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

## Observaciones Histológicas

En todas las observaciones, los únicos tejidos que se vieron necrosados, con células colapsadas, fueron la epidermis y la corteza, con la clara evidencia de un avance progresivo a medida que las plantas envejecían. Aparentemente, los tejidos más profundos permanecieron ilesos. Los daños pudieron apreciarse tanto en la raíz primaria como en las secundarias.

En cuanto a estructuras de los patógenos, el único micelio que pudo observarse con nitidez fue el de Rhizoctonia, aunque siempre en el área necrosada o fuera de los tejidos, cerca de la epidermis. De Fusarium, sólo lograron observarse clamidosporas diversas en la región necrosada o un poco más adentro.

## DISCUSION

### Aislamiento de Patógenos

Resulta relevante el hecho de que en los sitios muestreados, prácticamente todas las plantas removidas presentaron lesión radical más o menos intensa, y sin excepción, se aislaron de las mismas Fusarium sp. y Rhizoctonia sp. Esto coincide con lo reportado por Sánchez (1982) quien señala que las pudriciones radicales junto con la antracnosis (Colletotrichum lindemuthianum (Sacc y Marg.) Br. y Cav.), el tizón común (Xanthomonas phaseoli F.F. Smith) y el tizón del halo (Pseudomonas phaseolicola (Burkh)Dows.) fueron enfermedades encontradas en el 100 por ciento de las siembras muestreadas en las principales áreas frijoleras de Durango. Además, según el mismo investigador, las pudriciones radicales fueron observadas como problema grave en el 72 por ciento de los sitios seleccionados. Estas aseveraciones permiten sostener la tesis de que este problema fitopatológico es en verdad grave y merece mayor atención de la que hasta ahora se le ha dado.

Las pruebas de patogenicidad resultaron satisfactorias, pero como puede verse, se menciona sólo el género de los agentes causales (Fusarium y Rhizoctonia); pues si bien,



en el caso del primero, según Snyder y Toussoun (1965) los criterios más importantes para diferenciar las especies son las dimensiones y forma de los macroconidios, la presencia o ausencia de microconidios, su forma y si se producen o no en cadenas, así como también la diferencia en las ascosporas del estado perfecto, no se habla de especie debido a que Booth (1971) afirma que Fusarium sufre con cierta facilidad mutaciones o alteraciones morfológicas al mantenerse por cierto tiempo en medios sintéticos, como sucedió en este trabajo. Además, para intentar la identificación de especies, recomienda hacerlo a partir de cultivos monospóricos y bajo condiciones especiales de crecimiento, requerimientos que no se dieron en este caso.

En Rhizoctonia, también se hace mención sólo a nivel de género, pues según lo advierten Fillipello et al. (1985) es extremadamente difícil identificar especies de este género sin el estado perfecto, pues se necesitan estudios de macro y micromorfología y citoquímicos que estuvieron fuera del alcance de esta investigación.

Sin embargo, existen razones para suponer con cierto grado de verosimilitud que los patógenos aislados son F. solani y R. solani, si se considera que existen reportes en el sentido de que estas especies son los principales agentes etiológicos de las pudriciones radicales del frijol a nivel mundial. Existen referencias concretas al respecto para el caso de México, así, Crispín y Campos (1976) señalan en primer término a tales especies como agentes causales de esta

enfermedad en nuestro país, aunque también citan secundaria-  
mente a otros hongos dentro de este complejo, tales como Py-  
thium spp., Sclerotium rolfsii (Curzi) West y Sclerotinia -  
sclerotiorum (Lib) d By.), que en este estudio no se aisla-  
ron.

### Estudios de Laboratorio

#### Fusarium sp.

Las tasas de crecimiento y la pigmentación de las ce-  
pas de Fusarium sp. mostraron diferencias significativas en-  
tre los tratamientos, lo que va de acuerdo con la opinión de  
Booth (1971) quien dice que las especies de este género pue-  
den reaccionar muy rápidamente, en especial en su pigmen-  
tación, según el substrato sobre el que crecen; estos cambios  
pueden ser en respuesta a variables como la concentración de  
dióxido de carbono en el medio, la relación C/N, el pH y -  
otras. Por estos motivos, quizás sea útil someter estas ce-  
pas a estudios posteriores para considerar más en detalle --  
otras características morfológicas y de crecimiento que ayu-  
den a determinar diferencias de interés fitopatológico.

#### Rhizoctonia sp.

En virtud del rápido desarrollo que caracteriza a es-  
te género, no fue posible seguir registrando la tasa de cre-  
cimiento más allá del cuarto día; con toda probabilidad si -

se corrieran otras pruebas utilizando cajas de petri de mayor diámetro, se obtendrían datos adicionales para una mejor diferenciación de las cepas. Sin embargo, si se vuelven a observar las gráficas de su crecimiento, puede verse que dos cepas (A y B) se comportaron muy similarmente, con tasas de crecimiento mayores que G e I, las que se caracterizaron por crecer más lentamente.

Sin duda, como en el caso de Fusarium sp., son necesarios más trabajos de investigación de este tipo para las cepas del área seleccionada, pues existen evidencias experimentales (Sherwood, 1969) sobre la existencia de relaciones entre la apariencia de los cultivos, la velocidad de su desarrollo y el genotipo y patogenicidad de las cepas de este hongo. De este modo, este trabajo preliminar sólo permite afirmar que las cepas en estudio son diferentes, lo que sugiere la implementación de nuevas investigaciones a partir de las premisas obtenidas en este caso.

En relación a la medida de las estructuras en Fusarium sp., debe señalarse que los datos registrados en cuanto a las dimensiones de macroconidios y microconidios, así como la frecuencia de formación de estos últimos, además del número de septos, coinciden bien con las características que Takken y Snyder (1973) describen para F. solani f. sp. phaseoli, lo que constituye otro elemento más para suponer que la especie aislada, e incluso la forma especial es ésta.

## Estudios de Invernadero

La sintomatología y evolución de las lesiones radicales en las plantas cultivadas en el invernadero fueron típicas y corresponden a lo descrito por Bolkan (1980) con respecto a las infecciones que F. solani y R. solani producen en el frijol. Además, se lograron aislamientos de ambos géneros de por lo menos una muestra de raíz lesionada de las plantas que crecían en los 14 diferentes suelos estudiados.

### Correlaciones entre Severidad de la Lesión y las Características de los Suelos

Las pruebas de Spearman (1904) hechas en cada caso, permitieron establecer importantes relaciones acerca de ciertos aspectos de la epidemiología de esta enfermedad, aunque debe advertirse que muchas otras variables epidemiológicas importantes no se tomaron en cuenta, tales como ciertas propiedades edáficas cardinales entre las que pueden citarse la porosidad, la densidad aparente, el contenido de micronutrientes, el contenido de humedad, la temperatura, el contenido de gases, etc. En realidad, es posible diseñar estudios más sofisticados, pero tal vez existan limitaciones metodológicas o cognoscitivas para interpretar fielmente las complejas interacciones entre el suelo, el hospedero y el parásito que se dan en el campo, fuera del invernadero; por eso, se comparte la opinión de Papavizas et al. (1975) quienes acertadamente dicen que aunque ciertos estudios experimentales

de este tipo pueden extrapolarse al campo, con frecuencia - no reflejan las condiciones naturales en las que se desarro- llan las relaciones hospedero-parásito, por lo que los re- sultados experimentales deben considerarse con algunas re- servas.

A continuación se hacen algunas reflexiones sobre - las correlaciones analizadas.

## pH

Se determinó una correlación negativa altamente sig- nificativa entre el pH y las lesiones radicales. Esto está - de acuerdo con lo encontrado por Diehl y Steadman (1981) - quienes al estudiar la severidad de las lesiones radicales del frijol causadas por *F. solani* f. sp. *phaseoli*, con res- pecto al pH del suelo, encontraron que disminuía en suelos - alcalinos, mientras que era mayor en los ácidos. No obstan- te, los mismos investigadores no pudieron encontrar rela- - ción alguna entre los efectos del pH en el crecimiento de es- te patógeno in vitro y los efectos de este mismo factor so- bre la severidad de la pudrición radical, lo que conduce a - pensar en la posibilidad de que el pH del suelo, debe in- - fluir más bien sobre las lesiones al regular la asimilabili- dad de nutrientes que, como el calcio, de acuerdo con Jacob y Uexküll (1973) son importantes en la formación de pectatos en las paredes celulares del hospedero, que confieren resis- tencia a las infecciones. Precisamente, existe una relación

muy estrecha entre el pH del suelo y la cantidad del calcio disponible en el mismo, como lo señalan Buckman y Brady (1970), así que es lógico suponer que por tal razón, al menos en parte, sea esa la causa de la mayor resistencia a las lesiones de las plantas que crecieron en suelos moderadamente alcalinos, además de la influencia que este mismo factor pudiera tener sobre otros nutrientes, pues es indiscutible el hecho de que la nutrición mineral puede afectar la interacción de las plantas con los microorganismos debido a la perturbación en el metabolismo del fenol que está íntimamente ligado a este tipo de lesiones (Guerra y Anderson, 1985).

Algo semejante sucede con respecto a las lesiones causadas por Rhizoctonia sp., pues existen pruebas de que las acumulaciones de compuestos cálcicos en las paredes celulares y ciertos compuestos fenólicos ayudan a limitar su avance (Maxwell y Bateman, 1967).

### Materia Orgánica

También en este caso, se encontró una correlación negativa con respecto al desarrollo de las lesiones, aunque solamente significativa. Parece existir un consenso general entre los investigadores de todo el mundo en el sentido de que en los suelos con más alto contenido de materia orgánica, la incidencia de las pudriciones radicales y en general, todas las enfermedades del suelo, es menor, pues altas cantidades de residuos orgánicos incrementan las poblaciones de la

microflora benéfica y de posibles antagonistas de los patógenos (Huber y Watson, 1970), lo cual, va en consonancia con los resultados de este estudio.

### Nitrógeno

La correlación encontrada entre el nitrógeno aprovechable y la severidad de las lesiones también fue significativa y negativa. A este respecto, resulta interesante citar lo que Marschner (1986) explica sobre las relaciones entre la concentración de nitrógeno en las plantas y las infecciones fungosas. Según él, diversos estudios han probado que las infecciones por parásitos obligados como Puccinia spp. y Erysiphe graminis, aumentan cuando la planta dispone de mucho nitrógeno, pues estos patógenos necesitan sustancias orgánicas, especialmente aminoácidos, elaborados por las células del hospedero, mientras que los parásitos facultativos, como Alternaria, Fusarium, Rhizoctonia y otros, se hacen más patógenos cuando el nitrógeno es deficiente, ya que estos organismos son semisaprófitos y prefieren tejidos senescentes o con una mayor relación C/N. Como puede apreciarse, los resultados aquí expuestos van de acuerdo con estas afirmaciones.

Otra posible explicación sobre este hecho, es que el nitrógeno es indispensable para que la planta sintetice fitoalexinas y fenoles, que son compuestos que juegan un papel importante en los mecanismos de defensa del hospedero contra

estos patógenos, según lo asevera Huber (1980) de manera - que en los suelos con mayor contenido de este elemento, las plantas podrían disponer de un mejor sistema de defensa para limitar la intensidad de las lesiones.

### Fósforo

De la misma manera que en el caso anterior, en los - suelos con más alto contenido de fósforo aprovechable, las - plantas exhibieron menor intensidad en las lesiones. Las - afirmaciones de Huber (1980) sobre este elemento coinciden - con lo anterior, quien comenta que las aplicaciones de fósfo - ro a suelos deficientes en este nutriente, son útiles para - reducir enfermedades de hongos de raíz, pues ésta al desarro - llarse vigorosamente permite que la planta escape de la en - fermedad. Así mismo, según Jacob y Uexküll (1973) las legumi - nosas, como el frijol, deficientes en fósforo sufren a veces simultáneamente la falta de nitrógeno por detrimento en la - actividad de las bacterias simbióticas nodulares, y precisa - mente, como ya se señaló, una deficiencia de nitrógeno tam - bién aumenta la agresividad de los patógenos de la pudrición radical, de modo que pueden estar ambos elementos interrela - cionados en este caso.

### Potasio

El caso del potasio fue diferente. No se encontró - ninguna correlación entre el contenido de este nutriente en



el suelo y la severidad de las lesiones. La razón de ésto - puede explicarse por el hecho de que todos los suelos estudiados contenían niveles desde moderadamente altos hasta extremadamente altos de este elemento, y si bien se sabe - (Marschner, 1986) que la deficiencia de potasio puede provocar aumentos dramáticos en la susceptibilidad del hospedero a éstos y otros patógenos, también es cierto que cuando los niveles de este elemento en el suelo son altos, como en el caso de los aquí estudiados, cualquier incremento resulta - en un efecto nulo sobre la protección del hospedero, de modo que el beneficio del potasio sólo podría observarse dentro de los rangos de deficiencia (en suelos pobres en este elemento).

### Carbonatos Totales

Se observó una correlación altamente significativa y negativa entre el contenido de carbonatos totales y la intensidad de las lesiones. Probablemente este efecto se deba a - que los niveles de carbonatos suelen guardar una relación directa con los valores del pH (Buckman y Brady, 1970), de manera que quizás sólo sea un indicador indirecto de cierta - tendencia a la alcalinidad, que como ya se vió, reduce la intensidad de las lesiones.

## Textura

Los suelos probados en este experimento pertenecían a diferentes grupos texturales y en general, no fue posible encontrar una relación muy clara entre esta propiedad física y el grado de las lesiones, pues el máximo daño aparentemente se concentró en los suelos del tipo migajón arcillo-arenoso. Pudiera pensarse que en los suelos de textura más fina, se hubieran registrado las más severas lesiones y en los arenosos las más leves, sin embargo, es inconsistente tratar de considerar a la textura de una manera aislada, pues más bien es sólo un elemento que determina parcialmente una condición más decisiva en este tipo de enfermedades, que es la aireación en la zona del suelo donde crecen las raíces. La adecuada disponibilidad de oxígeno en el suelo (buena aireación) depende también de la densidad aparente y la estructura (Buckman y Brady, 1970). Ante estas consideraciones, es correcto suponer que la textura más fina de los suelos utilizados en este trabajo, no necesariamente se correlacionaba con una deficiente aireación y, por lo tanto, con mayor severidad en las lesiones, como otros investigadores lo han probado (Miller y Burke, 1985 y Miller et al., 1980)

Por último, resulta conveniente hacer un comentario con respecto a la relación aparente que se pudo establecer entre la incidencia y la severidad de las pudriciones. Si se vuelven a observar los Cuadros 4.11. y 4.12., es posible descubrir que las únicas muestras que en alguna ocasión

llegaron a tener menos del 100 por ciento de individuos con daño radical, procedieron de macetas con suelos donde las plantas tuvieron los promedios de lesión más bajos, lo que sugiere que, al menos en este caso, y bajo estas condiciones, existe la tendencia hacia una correlación positiva entre severidad e incidencia. Resultaría interesante tratar de buscar esta misma relación en el campo, en las localidades respectivas, ya que serviría como un buen indicador para evaluar la magnitud de este problema a nivel regional.

#### Pruebas de Especificidad

Los resultados de la prueba de Friedman permiten concluir que las cepas de ambos géneros inoculados a las especies de frijol, difieren significativamente en patogenicidad, de la misma manera en que resultaron diferentes sus características culturales, correspondencia ya señalada por Sherwood (1969) para el caso de Rhizoctonia y por Booth (1971) para Fusarium.

Quizás resulte un tanto impreciso afirmarlo, pero en Rhizoctonia parece existir una clara relación inversa entre el poder patogénico de las cepas utilizadas en este experimento y su habilidad para crecer en medios de cultivo artificiales, pues si vuelve a verse el Cuadro 4.14. y se relaciona con cualesquiera de las gráficas de crecimiento de este hongo, puede notarse que las cepas A y B (tratamientos VI y VIII de estas pruebas) tienden a producir lesiones menos

intensas en las plantas inoculadas, y su crecimiento es el más vigoroso en las pruebas de laboratorio. En cambio, las cepas G e I (tratamientos VII y IX) mostraron aparentemente mayor patogenicidad, pero en cultivos artificiales su crecimiento fue más lento. Esto puede estar relacionado con el hecho de que Rhizoctonia, dado sus intensas cualidades facultativas (Dixon, 1981) puede desarrollar cepas que ante la presión de selección del medio de cada lugar, ganen habilidades parasíticas, en detrimento de sus cualidades saprofíticas y viceversa.

En Fusarium no parece existir una relación semejante, probablemente porque se trata de un hongo con tendencias más parasíticas que saprofíticas, pues cuando la hospedera está ausente, lo más común es que sobreviva como clamidospora y no tanto como saprófito (Nash et al., 1961).

Las pruebas de especificidad propiamente dichas, mostraron que P. coccineus es la especie más resistente a estos hongos, pues tanto el por ciento de incidencia como la intensidad de las lesiones fueron significativamente menores en ella. De este modo, resulta que a la luz de los resultados obtenidos, esta especie es la fuente de material genético con potencialidades reales de utilización para incrementar la resistencia de P. vulgaris a estos hongos y otros patógenos, como lo confirman varios reportes sobre la factibilidad de su utilización exitosa para este fin (Savova y Georgieva, 1982; Bravo et al., 1969 y Schreiber, 1981).

P. auctifolius fue la especie que mostró mayor vulnerabilidad a estos hongos, por lo que debe descartarse como fuente de germoplasma para mejorar la resistencia genética de P. vulgaris a las pudriciones radicales, a no ser que existan ciertos cultivares con algún grado de resistencia en otros lugares.

P. lunatus tampoco mostró en este experimento cualidades de resistencia contra estos patógenos, empero, tal vez existan otras líneas de esta especie con esta característica en cierto grado pues, por ejemplo, Bandoín (1982) afirma que algunas variedades de gufa de esta especie procedentes del África han mostrado resultados promisorios en las resistencias a ciertas enfermedades, especialmente a Meloidogyne y al virus del mosaico dorado.

#### Observaciones Histológicas

En todos los casos las lesiones necróticas se limitaron a la epidermis y la corteza, pues F. solani se caracteriza por invadir los tejidos corticales y detener su expansión en los límites de la endodermis, según lo señalan Christou y Snyder (1962). Algo semejante sucede con Rhizoctonia, cuyas hifas se limitan a la lesión en la mayoría de los casos durante todo el período de patogénesis (Litten et al., 1967).

00916

U.A.A.A.N.

Los fragmentos de micelio siempre se encontraron en las áreas necrosadas, como un signo de su efecto celulítico sobre el hospedero. Las clamidosporas de Fusarium se vieron en todos los casos dispersas y no formando agregados definidos como es característico cuando el hongo crece en medios artificiales; ésto se debe probablemente a que los cortes se realizaron con un espesor de 10 micras, de modo que el paso del microtomo por los tejidos tal vez dispersó tales estructuras alterando su disposición original.

## CONCLUSIONES

Los organismos aislados de las plantas con pudrición radical muestreadas en todas las localidades fueron Fusarium sp. y Rhizoctonia sp., por lo tanto, estos patógenos pueden considerarse como los agentes causales predominantes de esta enfermedad del frijol en el área estudiada.

Las cepas de Fusarium sp. y Rhizoctonia sp. de las distintas localidades en estudio son fisiológicamente diferentes.

Las correlaciones entre las lesiones radicales de las plantas infectadas con los patógenos y las características físico-químicas del suelo estudiadas fueron negativas, excepto para el contenido de potasio.

De las especies de frijol en estudio, sólo P. coccineus presentó características de resistencia a los patógenos utilizados.

Las observaciones histológicas de cortes de raíces lesionadas revelaron que la epidermis y la corteza son los tejidos que resultan dañados con la invasión de los patógenos, sufriendo una necrosis progresiva que se detiene ante la endodermis.

## RESUMEN

Los objetivos del presente trabajo fueron aislar los organismos causales de la pudrición radical del frijol en el área de influencia de la UAAAN, determinar diferencias culturales entre cepas de los mismos, detectar correlaciones entre características del suelo y su patogenicidad y probar la susceptibilidad diferencial a estos patógenos de las cuatro especies de Phaseolus cultivadas.

Los aislamientos se hicieron en PDA a partir de fragmentos de raíces lesionadas de las plantas muestreadas, identificándose Fusarium sp. y Rhizoctonia sp.

Mediante el cultivo de cuatro cepas de cada género en tres medios diferentes, dos niveles de pH y dos intensidades de luz, en un diseño completamente al azar con arreglo factorial, se encontró que diferían significativamente en sus características culturales.

Las correlaciones entre la patogenicidad de las cepas y las características del suelo se determinaron utilizando la variedad Bayo Zacatecas, para lo cual se sembraron semillas en macetas con suelo traído de cada localidad, sin tratamiento alguno, para después hacer muestreos periódicos durante el desarrollo de las plantas, arrancando algunas



cada vez para evaluar la severidad de las lesiones radicales mediante una escala de rangos.

Se aplicó la prueba no paramétrica del coeficiente de correlación de Spearman, encontrándose correlaciones negativas para el pH, y los contenidos del suelo de materia orgánica, nitrógeno, fósforo y carbonatos y ausencia de correlación para el potasio.

Se inocularon diferentes cepas de ambos patógenos a cuatro especies cultivadas de frijol (P. vulgaris, P. acutifolius, P. coccineus y P. lunatus) para evaluar las lesiones radicales, estimándose la diferencia de patogenicidad mediante la prueba no paramétrica de análisis de varianza por rangos de Friedman, la cual reveló diferencias significativas entre las mismas. Las diferencias en susceptibilidad entre especies se determinaron considerando el por ciento de plantas con lesión radical, mediante un diseño completamente al azar con arreglo factorial, encontrándose que P. coccineus exhibió una resistencia significativamente mayor que el resto de las especies a las cepas inoculadas, en tanto que P. acutifolius resultó la especie más susceptible.

Las observaciones histológicas de cortes de raíces lesionadas mostraron necrosis epidérmica y cortical, así como estructuras de ambos patógenos en el área afectada.

## LITERATURA CITADA

- Alexopoulos, J.C., and C.W. Mims. 1979. Introductory Mycology. John Wiley and Sons. Third Edition. United States of America. 632 p.
- Baker, R., and C.L. Maurer. 1967. Interaction of major factors influencing severity of bean root rot. *Phytopathology*. 57(8):802.
- Bandoín, J.P. 1982. Trials to evaluate lima bean (Phaseolus lunatus L.) with the aim of improving its cultivation in the low-altitude tropics. *Bulletin des Recherches Agronomiques de Gembloux*. 17(1):3-15.
- Barnett, H.L., and B.B. Hunter. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess Publishing Company. United States of America. 237 p.
- Bolkan, A.H. 1980. Las Pudriciones Radicales. En Schwartz, F.H. y G.E. Gálvez (Ed.). Problemas de Producción del Frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 310 p.
- Boomstra, A.G., and F.A. Bliss. 1977. Inheritance of resistance to Fusarium solani f. sp. phaseoli in beans (Phaseolus vulgaris L.) and breeding strategy to transfer resistance. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 102(2):186-188.

- Boomstra, A.G., F.A. Bliss and S.E. Beebe. 1977. New sources of Fusarium root rot resistance in Phaseolus vulgaris L. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102(2):182-185.
- Booth, C. 1971. The genus Fusarium. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 237 p.
- Bravo, A., D.H. Wallace and R.E. Wilkinson. 1969. Inheritance of resistance to Fusarium root rot of Beans. Phytopathology. 59(12):1930-1933.
- Bristol, P.R., J. Katan and J.L. Lockwood. 1973. Control of Rhizoctonia solani by pentachloronitrobenzene accumulated from soil by bean plants. Phytopathology. 63(7):808-813.
- Buckman, H.O. y N.C. Brady. 1970. Naturaleza y propiedades de los suelos. Montaner y Simon, S.A. Barcelona, España. 509 p.
- Burke, O.W., and A.W. Barker. 1966. Importance of lateral roots in Fusarium root rot of beans. Phytopathology. 56(3):292-294.
- Crispín, A., and J. Campos. 1976. Bean diseases of importance in México in 1975. Plant Dis. Repr. 60:634-635.
- Chet, I., and R. Baker. 1981. Isolation and biocontrol potential of Trichoderma hamatum from soil naturally suppressive of Rhizoctonia solani. Phytopathology. 71(2):286-290.

- Christou, T., and W.C. Snyder. 1962. Penetration and host-parasite relationships of Fusarium solani f. phaseoli in the bean plant. *Phytopathology*. 52(3):219-226.
- Diehl, J.A., and J.R. Steadman. 1981. Influencia do pH na podridão de raízes do feijoeiro causada por Fusarium solani (Mart) Appel & WR. f. sp. phaseoli (Burk) - Syd. & Hans. *Fitopatologia Brasileira*. 6(1)-93-99.
- Dixon, G.R. 1981. *Vegetable Crop Diseases*. Macmillan Publishers Ltd. Hong Kong. 404 p.
- Dodman, R.L., K.R. Barker and J.C. Walker. 1968. Modes of penetration by different isolates of Rhizoctonia solani. *Phytopathology*. 58(1):31-33.
- Elad, Y., I. Chet and J. Katan. 1980. Trichoderma harzianum: A biocontrol agent effective against Sclerotium rolfsii and Rhizoctonia solani. *Phytopathology*. 70(2):119-121.
- Etten, H.D., D.P. Maxwell and D.F. Bateman. 1967. Lesion Maturation, fungal Development, and Distribution of Endopolygalacturonase and Cellulase in Rhizoctonia-Infected Bean Hipocotyls in Relation to lesion Maturation. *Phytopathology*. 57(2):132-136.
- Fillipello, M.V., G. Berta, A. Fontana and F.M. Manniana. 1985. Endophytes of wild orchids native to Italy: Their morphology, kariology, ultrastructure and cytochemical characterization. *New Phytol.* 100(4):623-642.

- French, E.R. y H.T. Teedy. 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica. Ed. JJCA. México. 160 p.
- Friedman, M. 1940. A comparison of alternative tests of significance for the problem of  $m$  rankings. Ann. Math. Stat. 11:86-92.
- Garret, S.D. 1944. Root Disease Fungi. Ed. by Frans Verdoorn. United States of America. 177 p.
- Gormley, J.P. 1980. Determinación de la patogenicidad de dos cepas de Rhizoctonia solani Kühn en cuatro hospederos bajo condiciones de laboratorio durante la primavera, verano y otoño de 1979. Tesis Licenciatura. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey. México. 68 p.
- Guerra, D., and A.J. Anderson. 1985. The effect of iron and boron amendments an infection of bean by Fusarium solani. Phitopathology. 75(9):989-991.
- Hernández, S.M. 1984. Manual de Laboratorio. Citología y Citogenética. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 92 p.
- Huber, D.M. 1980. The role of Mineral Nutrition in Defense. In Horsfall, J.G., and E.B. Cowling (Ed.). Plant Disease, Vol. V. Academic Press. United States of America. 534 p.
- Huber, D.M., and R.D. Watson. 1970. Effect of Organic Amendment on Soil-Borne Plant Pathogens. Phytopathology. 60(1):22-26.

- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. - (IMEGI). 1987. El Sector Alimentario en México. México. 392.p.
- Jacob, A. y H. Uexküll. 1973. Fertilización. Ediciones Euro-americanas. México. 626 p.
- Keenan, J.G., H.D. Moore, N. Oshima and L.E. Jenkins. 1974. Effect of bean root rot on dryland and Pinto bean - production in Southwestern Colorado. Plant Dis. Rep. 58(10):890-892.
- López A., G.F. 1984. Manejo de Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 135 p.
- Maier, C.R. 1961. Selective effect of barley residue on fungi of the pinto bean root-rot complex. Plant Dis. - Rep. 45(10):808-811.
- Manning, W.J., and D.F. Crossan. 1969. Field and greenhouse studies on the effects of plant amendments on Rhi- - zoctonia hypocotyl rot of snapbean. Plant Dis. Rep. 53(3):227-231.
- Manning, E.J., D.F. Crossan and D.J. Morton. 1967. Effects - of planting depth and asphalt mulch on Rhizoctonia - root and hypocotyl rot of snapbean. Plant Dis. Rep. 51(2):158-163.
- Marschner, H. 1986. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. United States of America. 674 p.
- Martinson, C.A. 1965. Formation of infection cushions by - Rhizoctonia solani on synthetic films in soil. Phyto pathology. 55(2):129.

- Maxwell, D.P., and D.F. Bateman. 1967. Changes in the activities of some Oxidases in Extracts of Rhizoctonia-Infected Bean Hipocotyls in Relation to Lesion Maturation. *Phytopathology*. 57(2):132-136.
- Miller, D.E., and D.W. Burke. 1974. Influence of soil Bulk Density and Water Potential on Fusarium Root Rot of Beans. *Phytopathology*. 64(4):526-529.
- 
- \_\_\_\_\_ . 1985. Effects of low soil oxygen on Fusarium root rot of beans (Phaseolus vulgaris) with respect to seedling age and soil temperature. *Plant Dis.* 69(4):328-330.
- Miller, D.E., D.W. Burke and J.M. Kraft. 1980. Predisposition of bean root to attack by the pea pathogen, Fusarium solani f. sp. pisi, due to temporary oxygen stresses. *Phytopathology*. 70(12):1221-1224.
- Mussa, A.E., and P.E. Russel. 1977. The influence of pesticides and herbicides on the growth and virulence of Fusarium solani f. sp. phaseoli. *J. Agr. Sci. Cambridge*. 88(7):705-709.
- Nash, S.M., T. Christou and W.C. Snyder. 1961. Existence of Fusarium solani f. phaseoli as chamydospores in soil. *Phytopathology*. 51(3):308-312.
- Olivas, E.E. y C. Romero S. 1972. Estudio sobre el control biológico de Fusarium solani f. phaseoli. *Agrocien- cia*. 9:83-90.

- Papavizas, G.C., P.B. Adams, R.D. Lumsden, J.A. Lewis, R.L. Dow, W.A. Ayers, and J.G. Kantzes. 1975. Ecology and Epidemiology of Rhizoctonia solani in Field Soil. - *Phytopathology*. 65(8):871-877.
- Parmeter, J.R. Jr., R.T. Sherwood, and W.D. Platt. 1969. - Anastomosis Grouping Among Isolates of Thanatephorus cucumeris. *Phytopathology*. 59(10):1270-1278.
- Prasad, K., and J.L. Weigle. 1976. Association of Seed Coat Factors with Resistance to Rhizoctonia solani in - Phaseolus vulgaris. *Phytopathology*. 66(3):342-345.
- Sánchez, H. 1982. Incidencia y distribución de las enfermedades del frijol en el estado de Durango. En Resúmenes de Investigación frijol. No. 1. SARH. CIANOC. Zacatecas, México.
- Sarasola, A.A. y M.A. Rocca. 1975. Fitopatología. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. 374 p.
- Savova, N.P., and M. Georgieva. 1982. Phaseolus coccineus L. A. source of resistance to the major diseases of P. vulgaris L. *Comptes Rendus de l'Academic Bulgare - des Sciences*. 34(14):1581-1583.
- Schreiber, F. 1981. Search for resistance in the South American gene centre. Gundesversuchsanstalt für alpenländische Landwirtschaft. 207-210.
- Schroth, M.N., and F.F. Hendrix Jr. 1962. Influence of non-susceptible plants on the survival of Fusarium solani f. phascoli in soil. *Phytopathology*. 52(9):906-909.



- Schulz, F.A., and D.F. Bateman. 1969. Temperature Response - of Seeds During the Early Phases of Germination and its Relation to Injury by Rhizoctonia solani. *Phytopathology*. 59(3):352-355.
- Shaw. E.J. 1972. Western Fertilizer Handbook. Soil Improvement Committee California Fertilizer Association. United States of America. 214 p.
- Sherwood, R.T. 1969. Morphology and Physiology in Four Anastomosis Groups of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology*. 59(12):1924-1929.
- Siemer R.S., and E.K. Vaughan. 1971. A Device for Measuring Bean Plant Anchorage and its Relation to Root Rot Severity. *Phytopathology*. 61(5):590-591.
- Snyder, W.C., and T.A. Toussoun. 1965. Current Status of Taxonomy in *Fusarium* Species and Their Perfect Stages. *Phytopathology*. 55(8):833-837.
- Spearman, C. 1904. The Proof and Measurement of Association Between Two Things. *Am. J. of Psychology*. 15(1):72-101.
- Streets, R.B. 1978. The Diagnosis of Plant Diseases. The - University of Arizona Press. United States of America. 237 p.
- Strobel, A.G., and D.E. Mathre. 1970. Outlines of Plant Pathology. Van Nostrand Reinhold Company. 465 p. United States of America.

- Takken, M., and W.C. Snyder. 1973. Use of Morphology and Ma  
ting Populations in the Identification of Formae Spe  
ciales in Fusarium solani. Phytopathology. 63(5): -  
562-565.
- Tu, C.C., and J.W. Kimbrough. 1978. Sistematics and phyloge-  
ny of the Rhizoctonia complex. Bot. Gaz. 139(4): -  
454-466.
- Tu, C.C., and O. Vaartaja. 1981. The effect of the hyperpara-  
site (Gliocladium virens) on Rhizoctonia root rot of  
white beans. Can. J. Bot. 59(1):22-27
- Tu, C.C., J.W. Kimbrough and H.C. Aldrich. 1977. Cytology -  
and ultrastructure of Thanatephorus cucumeris and re-  
lated taxa of the Rhizoctonia complex. Can. J. Bot.  
55(10):2419-2436.
- Yang, S.M., and D.J. Hagedorn. 1965. Major Incitants of root  
rot of processing bean (Phaseolus vulgaris) in Wis-  
consin. Phytopathology. 55(10):1084-1085.
- Zaumeyer, W.J., and H.R. Thomas. 1957. A monographic study -  
of bean diseases and methods for their control. -  
U.S.D.A. Agr. Tech. Bull. No. 868. pp. 63-65. United  
States of America.

A P E N D I C E A

CUADRADOS MEDIOS, SIGNIFICANCIAS Y COEFICIENTES DE VARIACION OBTENIDOS DE LOS ANALISIS DE VARIANZA REALIZADOS PARA LOS MUESTREOS DE LABORATORIO  
(Fusarium sp.)

F.V.*	D I A S									
	2		4		6		8		10	
	CM	Fc	CM	Fc	CM	Fc	CM	Fc	CM	Fc
C	1.74	35.76**	3.31	37.65**	4.93	26.40**	2.19	11.10**	0.98	6.37**
CM	0.68	13.99**	2.53	28.74**	5.44	29.15**	5.60	28.30**	1.97	12.77**
CP	0.12	2.63NS	0.17	2.03NS	0.39	2.13NS	0.16	0.79NS	0.32	2.09NS
CL	1.68	34.63**	8.66	98.39**	15.22	81.55**	6.74	3.77*	3.03	19.63**
Error	0.05		0.09		0.19		0.20		0.15	
	C.V. = 11.55		C.V. = 7.32		C.V. = 6.78		C.V. = 5.53		C.V. = 4.52	

\*C = Efecto principal de cepa  
CM = Interacción cepa X medio  
CP = Interacción cepa X pH  
CL = Interacción cepa X luminosidad

A P E N D I C E B

CUADRADOS MEDIOS, SIGNIFICANCIAS Y COEFICIENTES DE VA-  
RIACION OBTENIDOS DE LOS ANALISIS DE VARIANZA REALIZA-  
DOS PARA LOS MUESTREOS DE LABORATORIO  
(Rhizoctonia sp.)

F.V.*	D I A S					
	2		3		4	
	CM	Fc	CM	Fc	CM	Fc
C	339.53	1,081.00**	16.18	65.76**	0.007	3.99*
CM	10.45	33.29**	10.57	42.97**	0.007	3.99**
CP	8.15	25.97**	0.80	3.26*	0.007	3.99*
CL	7.73	24.64**	0.86	3.53*	0.007	3.99*
Error	0.31		0.25		0.002	
	C.V. = 11.22		C.V. = 6.01		C.V. = 0.46	

\*C = Efecto principal de cepa  
 CM = Interacción cepa X medio  
 CP = Interacción cepa X pH  
 CL = Interacción cepa X luminosidad

A P E N D I C E C

ANALISIS DE VARIANZA DEL EXPERIMENTO FACTORIAL PARA PRO-  
BAR LA SUSCEPTIBILIDAD DE LAS ESPECIES DE Phaseolus A -  
LAS CEPAS INOCULADAS

FV	gl	SC	CM	Fc	Ft	
					.05	.01
A	3	3,682.1	1,227.4	4.52**	2.70	3.98
B	12	65,410.8	5,284.2	19.44**	1.85	2.36
AB	36	5,451.9	151.4	0.56NS	1.54	1.80
Error	104	28,262.5	271.7			
Total	155	100,807.2				

\*\* Altamente significativo

A = Efecto principal de especie

B = Efecto principal de cepa

AB = Interacción especie X cepa

C.V. = 20.58%