

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



**SOBREVIVENCIA DE LOS ESCLEROCIOS DE *PHYMATOTRICHOPSIS*
OMNÍVORA EN SOLUCIONES DE ÁCIDO ACÉTICO, SULFÚRICO Y
AMORTIGUADORAS**

P O R

GRACIANA FRANCISCO MARAÑÓN

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

INGENIERO AGRÓNOMO

TORREÓN, COAH. MÉXICO

OCTUBRE DEL 2010.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

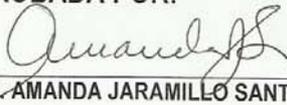
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TESIS DEL C. GRACIANA FRANCISCO MARAÑÓN, ELABORADO BAJO SUPERVISIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORÍA Y APROBADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

APROBADA POR:

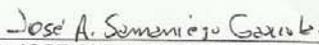
ASESOR PRINCIPAL:


MC. AMANDA JARAMILLO SANTOS

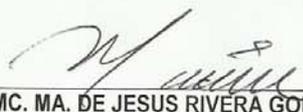
ASESOR:


MC. HECTOR MONTAÑO RODRIGUEZ

ASESOR:


DR. JOSE ALFREDO SAMANIEGO GAXIOLA

ASESOR:


MC. MA. DE JESUS RIVERA GONZALEZ

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE
CARRERAS AGRONÓMICAS**


MC. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO



**Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas**

Torreón, Coahuila, México

OCTUBRE DEL 2010

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

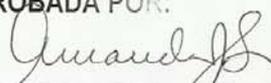
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TESIS DEL C. GRACIANA FRANCISCO MARAÑÓN, QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

APROBADA POR:

PRESIDENTE



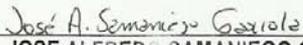
MC. AMANDA JARAMILLO SANTOS

VOCAL



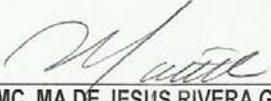
MC. HECTOR MONTAÑO RODRIGUEZ

VOCAL



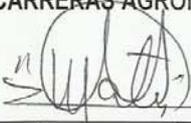
DR. JOSE ALFREDO SAMANIEGO GAXIOLA

VOCAL SUPLENTE



MC. MA DE JESUS RIVERA GONZALEZ

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE
CARRERAS AGRONÓMICAS**



MC. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO



**Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas**

Torreón, Coahuila, México

OCTUBRE DEL 2010

DEDICATORIA

A mi “Alma Terra Mater” que lleva por nombre “Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro” Unidad Laguna, por ser una institución de de prestigio que me abrigo durante cuatro años y medio. Me preparo con sus conocimientos para salir adelante y no dejarme vencer a mitad del camino. A mis asesores que estuvieron siempre brindándome su gran apoyo para realizar dicha investigación y que ahora se ha culminado.

Puesto que ahora esta experiencia me servirá de mucho en el transcurso de mi vida como profesional.

Por su valiosa colaboración y aprecio, siempre los recordare:

M.C AMANDA JARAMILLO SANTOS

M.C HECTOR MONTAÑO RODRIGUEZ

M.C MARIA DE JESUS RIVERA GONZALES

DR. JOSE ALFREDO SAMANIEGO GAXIOLA

Al Departamento de Fitomejoramiento ya que su personal se compromete con la formación de Ingenieros Agrónomos. Y en especial a la secretaria Rosalba Tejada Correa por su gran apoyo durante mi formación profesional.

A todos mis maestros que me auxiliaron de manera directa e indirecta con mi formación profesional. Agradezco de manera especial al Ing. Ricardo Covarrubias por haberme permitido realizar mi servicio social en su área de trabajo, al Dr. Armando Espinoza Banda, Dr. Arturo Palomo Gil y al Ing. Federico Vega Sotelo. A mis compañeros de generación de la carrera de ingeniero agrónomo Sección “A” y “B” con quienes conviví agradables experiencias.

A mis amigos y amigas: especialmente a Juan Terrón Azures, Lucero Aguilera Carrillo, Elba Pastrana Ortíz, Rigoberto Hernández cruz

Compañeros: Idahi, Elmí, Misael Moncada, Merari, Luis Felipe Muñoz, Hugo y Lizbeth
Velazco.

AGRADECIMIENTOS

Con cariño para a todas aquellas personas que tanto amo y admiro.

A DIOS porque nunca me abandona y siempre me guía por el camino correcto.

A mis padres:

MARÍA ELENA MARAÑÓN CANO, te agradezco mucho por haberme dado la vida y por guiarme por el camino correcto y por que alguna vez me dijiste que la mejor herencia que me podías dejar era el estudio y hacer una carrera, gracias por todo el apoyo brindado, TE AMO MADRECITA QUERIDA

JELACIO FRANCISCO ANICASIO. Gracias por el poco tiempo que compartimos juntos, que desde donde estés siempre me cuidas y me seguirás alentando para seguir adelante, que DIOS te tenga en su santa gloria.

A MIS HERMANOS, por compartir alegrías, tristezas y sueños así como su apoyo moral y económico en mi jornada en la universidad

Lorena

Yesica

Alvara

Bernabé

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
RESÚMEN.....	vi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO.....	2
HIPÓTESIS.....	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Importancia.....	4
Ecología de <i>P. omnivora</i>	4
Manejo de pudrición texana.....	6
Condiciones de suelo y manejo de cultivos con relación a <i>P.omnivora</i>	6
El pH y <i>P. omnivora</i>	8
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
Reproducción y manejo de los esclerocios.....	9
Preparación de soluciones (Ácido acético).....	10
Ácido sulfúrico.....	10
Soluciones amortiguadoras.....	11
Esclerocios inmersos en ácidos acético, sulfúrico y soluciones amortiguadoras.....	11
Soluciones adicionales.....	11
Sobrevivencia de los esclerocios.....	12
Mediciones de pH (Ácidos acético y sulfúrico).....	13
Soluciones amortiguadoras.....	13
Ácido sulfúrico y solución amortiguadora adicionales.....	13
Análisis de los datos.....	13
4. RESULTADOS.....	14
Cambio de pH.....	14
Sobrevivencia de los esclerocios.....	19
5. DISCUSIÓN.....	29
6. CONCLUSIÓN.....	33
7. LITERARUTA CITADA.....	39

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág
Cuadro 1. Taxonomía de <i>P. omnivora</i>	1
Cuadro 2. Análisis de varianza para la sobrevivencia de los esclerocios de <i>P. omnivora</i> después de permanecer en soluciones de ácido sulfúrico (0.51 - 2.04 mM L ⁻¹).....	23
Cuadro 3. Análisis de varianza para la sobrevivencia de los esclerocios de <i>P. omnivora</i> después de permanecer en soluciones amortiguadoras (pH 4, 5, 8 y 9), diluidas o sin diluir.....	27
Cuadro 4. Análisis de varianza para la sobrevivencia de los esclerocios de <i>P. omnivora</i> después de permanecer en solución adicional de ácido sulfúrico (0.51 mM L ⁻¹) y posteriormente someterse a tratamientos (suelo adicionado con glucosa, a NaOCl, a suelo inundado o no inundado).....	28
Cuadro 5. Análisis de varianza para la sobrevivencia de los esclerocios de <i>P. omnivora</i> después de permanecer en solución adicional amortiguadora pH 5 diluida 1:10 y posteriormente someterse a tratamientos (suelo adicionado con glucosa, a NaOCl, a suelo inundado o no inundado).....	28

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. A-D. Cambio de pH en las soluciones de ácido acético donde permanecieron inmersos los esclerocios de <i>P. omnivora</i>	14
Figura 2. A-D. Cambio de pH en las soluciones de ácido sulfúrico (0.25 a 1.05 mM L ⁻¹) donde permanecieron inmersos los esclerocios de <i>P. omnivora</i>	15

Figura 3. A-D. Cambio de pH en las soluciones de ácido sulfúrico (0.51 a 2.05 mM L ⁻¹) donde permanecieron inmersos los esclerocios de <i>P. omnivora</i>	16
Figura 4. Cambio del pH en las soluciones amortiguadoras donde permanecieron esclerocios de <i>P. omnivora</i> Con pH inicial de 4, 5, 8 y 9.....	17
Figura 5. Cambio de pH en las soluciones amortiguadoras a pH 5 diluida 1:10 donde permanecieron inmersos los esclerocios de <i>P. omnivora</i>	17
Figura 6. Cambio de pH en las soluciones de ácido sulfúrico a concentración inicial de 0.51mM L ⁻¹ donde permanecieron inmersos los esclerocios de <i>P. omnivora</i>	19
Figura 7. Sobrevivencia de esclerocios de <i>P. omnivora</i> después de permanecer inmersos en soluciones de ácido acético (mM L ⁻¹), durante 14 días a 28 °C días	20
Figura 8. Sobrevivencia de esclerocios de <i>P. omnivora</i> después de permanecer inmersos en soluciones de ácido sulfúrico hasta 1.04 mM L ⁻¹ , durante 14 días a 28 °C.....	21
Figura 9. Sobrevivencia de esclerocios de <i>P. omnivora</i> después de permanecer inmersos en soluciones de ácido sulfúrico hasta 2.04 mM L ⁻¹ , durante 14 días a 28 °C.....	22
Figura 10. Sobrevivencia de esclerocios de <i>P. omnivora</i> después de permanecer inmersos en soluciones de ácido amortiguadoras a pH 4, 5, 8 y 9, durante siete días a 28 °C.....	24
Figura 11. Supervivencia de esclerocios de <i>P. omnivora</i> después de permanecer (días) en soluciones de ácido sulfúrico a 0.51 mM L ⁻¹ , y después aplicar otros tratamientos.....	25

RESÚMEN

Phymatotrichopsis omnivora es un hongo que ataca raíces de plantas de importancia agrícola en el norte de México y Sur de Estados Unidos, incluyendo La Laguna. Los esclerocios del hongo se mantuvieron hasta dos semanas en soluciones de ácido acético y sulfúrico a razón de 0.42-0.67 y 0.25-1.02 mM L⁻¹, respectivamente. Otros esclerocios se mantuvieron en soluciones amortiguadoras a pH 4, 5, 8 y 9 sin diluir o diluidas 1:2, 1:4 y 1:10 o bien, en soluciones adicionales de ácido sulfúrico (0.51 mM L⁻¹) y amortiguadora pH 5 diluida 1:10, en donde los esclerocios permanecieron una semana o seis días, respectivamente. Después de permanecer en las soluciones adicionales, los esclerocios fueron sometidos a los tratamientos: suelo adicionado con glucosa, solución de hipoclorito de sodio (NaOCl), suelo sin inundar o inundado. Para todos los esclerocios se evaluó su sobrevivencia al colocarlos en arena húmeda 28 °C, excepto cuando los esclerocios se sometieron a NaOCl en cuyo caso se colocaron en placas de agar - agua. Los esclerocios no disminuyeron su sobrevivencia en las soluciones de ácido acético, pero sí en las soluciones de ácido sulfúrico y amortiguadoras, ello con relación al tiempo, concentración de ácido sulfúrico, pH y factor de dilución en las soluciones amortiguadoras (P= <0.001). La sobrevivencia de los esclerocios también mostró diferencias después de permanecer en las soluciones adicionales, y de acuerdo al tratamiento posterior que se aplicó, todos ellos estadísticamente significativo (P= <0.001).

Palabras Claves: Sobrevivencia, *Phymatotrichopsis*, pudrición texana, nogal pecanero.

1. Introducción

Se conoce como pudrición texana a la enfermedad causada por el hongo *Phymatotrichopsis omnívora* (Duggar) Hennebert, el nombre de éste hongo anteriormente se denominaba *Phymatotrichum omnivorum* Duggar y cuya ubicación taxonómica se ejemplifica en el Cuadro 1. Este hongo se caracteriza por causar pudrición a las raíces de plantas y tiene la capacidad de atacar más de 2000 especies, entre la que destaca en La Laguna el nogal pecanero *Carya illinoensis* (Wangenh.) K.Koch.

Cuadro 1. Ubicación taxonómica de *P. omnívora* †

Reino: Hongos

División Ascomycota

Clase: Pezizomicetes

Orden: Pezizales

Familia: Rhizinaceae

Género: *Phymatotrichopsis*

Especies: omnívora

† Marek *et al.*, 2009.

Desde 1973 Street y Bloos, sugirieron reenfocar el estudio de *Phymatotrichopsis*, particularmente el abordar la investigación de factores de suelo que afectaran la sobrevivencia del hongo. Uno de los factores poco estudiados es el pH con respecto a la sobrevivencia del hongo. Gunasekaran (1973) determino que los esclerocios pueden sobrevivir bien en medio de

cultivo con un pH entre 4-8. Sin embargo se desconoce la capacidad de los esclerocios de *P. omnivora* para sobrevivir *in vitro* o en suelo a diferentes pH. El agua contenida en suelo tiene un pH que es dinámico y depende de otros factores fisicoquímicos y biológico, por tal motivo, es técnicamente complicado generar y mantener un pH deseado en el suelo; particularmente en suelos calcáreos (Imas, 2000). Según lo expuesto sería difícil evaluar el efecto del pH sobre la sobrevivencia de los esclerocios de este hongo, por ello se justifica el evaluar *in vitro* la sobrevivencia del hongo en diferentes sistemas que generen distintos pH.

El ácido sulfúrico, acético y soluciones amortiguadoras son tres maneras de generar un pH deseado, pero estas soluciones a un pH específico podrían generar diferente sobrevivencia de los esclerocios, es decir, los esclerocios podrían tener diferente sobrevivencia según sea el sistema que induce el pH. En consecuencia, se plantea determinar si la sobrevivencia de los esclerocios se ve afectada además del pH por la forma de inducir ese pH (con soluciones de ácido sulfúrico, acético y amortiguadoras).

Objetivos Los objetivos del presente trabajo son: a) determinar la sobrevivencia de los esclerocios de *P. omnivora* expuestos a distintos pH inducidos con ácidos acético, sulfúrico y soluciones amortiguadoras; b) determinar el tiempo, pH y tipo de solución a partir de las cuales los esclerocios empiezan a disminuir su sobrevivencia.

Hipótesis Las hipótesis del presente trabajo son: a) la sobrevivencia de los esclerocios de *P. omnivora* será afectada de manera distinta según el pH de las soluciones utilizadas de ácido acético, ácido sulfúrico o soluciones amortiguadoras diluidas; b) al incrementar el tiempo de exposición de los esclerocios en la soluciones mencionadas, su sobrevivencia disminuirá; c) conforme se hagan más recambios de las soluciones (ácido acético y ácido sulfúrico) donde permanezcan los esclerocios su sobrevivencia disminuirá; d) a medida que diluya más las soluciones amortiguadoras los esclerocios expuestos a ellas sobrevivirán más.

2. Revisión de literatura

Numerosos trabajos se han realizado desde 1988 en el tema de pudrición texana, desde entonces, la información generada ha sido recopilada por Streets y Bloss (1973), Lyda (1978) y Samaniego (2007).

Importancia. La enfermedad más importante del nogal en México es la pudrición texana (Herrera y Samaniego, 2002), en donde causa la muerte de árboles, induce un menor rendimiento de nuez en los nogales afectados, el agricultor gasta en tratamientos para manejar la enfermedad y adicionalmente tiene egresos durante el período en que los árboles tratados restablecen su rendimiento; todo ello constituyen las pérdidas ocasionadas por la enfermedad en este cultivo, las cuales tan solo en disminución en rendimiento de nuez en la laguna se estimaron en 12 millones de pesos anualmente en 1998 (Samaniego y Herrera, 1998). El número de nogales afectados por pudrición texana en el norte de México se estimó en 450 mil (Herrera y Samaniego, 2002).

Ecología de *P. omnivora*. Hasta ahora se conoce que la única estructura de *P. omnivora* que es capaz de infectar a las plantas susceptibles es cordón micelial, sin embargo, los cordones parecen sobrevivir poco tiempo, estimado entre uno y dos años, dependiendo de la humedad y la temperatura del suelo (Wheeler e Hine, 1972), además los cordones son susceptibles al ataque de hongos en el suelo (Streets y Bloss, 1973). El hongo se puede encontrar como esclerocios en suelo, como cordón micelial sobre y dentro de las raíces y

ocasionalmente llega a producir masas de esporas que se generan del micelio que sobresale de la superficie del suelo.

A partir de los esclerocios se generan los cordones, que son los que invaden, atacan y destruyen las raíces de plantas susceptibles. Cuando los cordones se alimentan de las células de las raíces que parásita ellos formarán esclerocios (Streets y Bloss, 1973).

Los esclerocios son la estructura de resistencia del *P. omnivora*, se distribuyen en promedio en el suelo a razón de uno por cada 10 Kg (Baker y Cook, 1974), sin embargo, su gran capacidad para invadir las raíces de las plantas, hace que logren matar las plantas susceptibles, por ejemplo, plantas de algodónero *Gossypium hirsutum* L mueren en más del 80% cuando los esclerocios están presentes a razón de cinco por cada Kg de suelo (Lyda y Burnett, 1970 b).

Los esclerocios son también capaces de sobrevivir por más de 10 años en el suelo y luego atacar a las plantas (Lyda, 1978), su distribución alcanza más de los dos metros de profundidad en el suelo, si bien, se encuentran más abundantemente entre 60 - 90 cm (Alderman e Hine, 1982). Más de 20 fungicidas no fueron capaces de matar esclerocios a dosis tan altas como 100 ppm. Un 35% de esclerocios sobrevivió a dosis mayores de 200 ppm de amoníaco anhidro (Lyda y Burnett, 1970 b; Rush y Lyda, 1982); en contraste, el micelio del hongo es susceptible a dosis tan bajas como 0.1 ppm de algunos fungicidas (Whitson e Hine, 1986). En suma, los esclerocios son la estructura más resistente sobre la que debemos enfocar estudios que permitan disminuir su sobrevivencia.

Manejo de pudrición texana. Se han evaluado distintos métodos de manejo de la pudrición texana como la aplicación de fungicidas y fumigantes (Galván, 1985, 1986 a, 1990; Herrera, 1974 y 1985; Herrera y Samaniego, 2002; Valle, 1977), la incorporación al suelo de abonos frescos (Chavez *et al.*, 1976), la aplicación al suelo de estiércoles (Herrera, 1989), la rotación de cultivos (Rush y Gerik, 1989), el subsoleo (Rush, 1984), antes de 1973 la incorporación en el suelo de aceites, sales y solventes (Streets y Bloss, 1973), aplicación de fertilizantes (Olsen, *et al.*, 1988), en el caso de frutales la poda de los árboles (Herrera *et al.*, 1989), otros que combinan uno o más métodos o modificaciones de algunos métodos señalados (Herrera y Samaniego, 2002), entre otros.

No obstante, el gran número de métodos evaluados para el control de pudrición texana. Hasta ahora, no se cuenta con métodos prácticos cuando la enfermedad se manifiesta de manera severa en los cultivos agrícolas (Fundación Noble, 2005; Samaniego, 2007; Uppalapati *et al.*, 2010). Sin embargo, condiciones de suelo y prácticas de manejo que favorecen a los cultivos se han asociado con menor expresión de plantas enfermas (Medina 1984; Medina y Aguilar, 1985; Galván, 1986 b; Samaniego *et al.*, 2001; Smith y Hallmark, 1987).

Condiciones de suelo y manejo de cultivos con relación a *P. omnivora*. La apropiada humedad disponible en el suelo y la frecuencia de riegos parecen favorecer a los cultivos agrícolas y desfavorecer la expresión de síntomas de pudrición texana (Samaniego *et al.*, 2001; Smith y Hallmark, 1987). Los ciclos de humedecimiento y durante los ciclos de riegos aplicados a los cultivos, traen

profundos cambios temporales fisicoquímicos y biológicos, por ejemplo, al inundarse temporalmente el suelo el pH de la solución del suelo tiende a la neutralidad sin importar el pH de origen alcalino o ácido (Ponnamperuma, 1972) lo que trae como consecuencia un aumento en la solubilización de elementos menores. Los esclerocios de *P. omnivora* al parecer no son capaces de formar cordones en suelos saturados o inundados (Samaniego, 1994 y 1992; Samaniego y Rivera, 1992; White y Kenerley, 1986).

El maíz *Zea mays* L., no es susceptible al ataque por *P. omnivora*, esto se atribuye a la cantidad de carbohidratos solubles que tiene la rizosfera de la planta (Eton y Rigler, 1946). Particularmente los carbohidratos solubles en el suelo determinan el crecimiento de las bacterias (Alden *et al.*, 2001; Alexander, 1980). La adición de glucosa y sacarosa (carbohidratos solubles) en el suelo induce la pérdida de sobrevivencia de los esclerocios de *P. omnivora* (Samaniego, 1994 y 1992; Samaniego y Rivera, 1992), sin embargo, hasta ahora el aplicar estos carbohidratos en el suelo no es un método práctico para destruir los esclerocios, debido a la cantidad de carbohidratos que es necesaria.

Hongos que habitan el suelo y atacan a raíces de plantas incluyendo *P. omnivora* bajo condiciones de estrés como exposición a dosis subletales de fungicidas, NaOCl, daño mecánico o inundación, inducen la excreción de sus reservas incluyendo glucosa, lo que trae como consecuencia la pérdida de su sobrevivencia (Filonow y Lockwood, 1979; Henis y Papavizas, 1983; Hyakumachi y Lockwood, 1989; Mondal y Hyakumachi, 1998; Mondal *et al.*,

1995). Por tanto, es posible que el pH pudiese ser un factor de estrés para los esclerocios de *P. omnivora* de tal manera que induzca directamente su muerte, o bien, permita usar cantidades menores de carbohidratos adicionadas al suelo, disminuir el tiempo de exposición al NaOCl y a otros químicos o simplemente inundar para inducir su muerte.

El pH y *P. omnivora*. Con relación a la sobrevivencia de los esclerocios de *P. omnivora*, uno de los factores del suelo poco estudiados es el pH. Aunque se sabe hasta ahora, que las plantas establecidas en suelos con pH de 6 o más ácidos no manifiestan síntomas de la enfermedad del hongo y no se ha encontrado en estos suelos (Lyda, 1978). El micelio de este hongo puede crecer bien en medios de cultivo en el laboratorio con pH de 3 a 8 (Gunasekaran, 1973). Sin embargo, recientemente se determinó que el pH tiene una marcada influencia en la sobrevivencia de los esclerocios de *P. omnivora*, particularmente los esclerocios son afectados negativamente en su sobrevivencia a pH ácidos (Samaniego, 2008 a y b), sin embargo, no se precisó el tiempo mínimo y concentraciones de ácidos necesarios para disminuir la sobrevivencia de los esclerocios expuestos a soluciones de ácidos o soluciones amortiguadoras.

3. Materiales y métodos

Reproducción y manejo de los esclerocios. En frascos de vidrio de un litro se mezcló 600 g de arena cernida en tamiz de malla 16 con 1.8 g de carbón activado, luego se colocó encima 80 g de semilla de sorgo limpia que previamente fue humedecida dos días en agua; posteriormente, se vertió agua destilada hasta saturar el suelo. Enseguida, los frascos fueron esterilizados una hora durante dos días consecutivos, inmediatamente se les añadió micelio de *P. omnivora* de 15 días de crecido en medio de cultivo PDA a 28 °C (el contenido de 1/2 placa por frasco). Los frascos inoculados se incubaron nueve semanas antes de recobrase los esclerocios. Del contenido de los frascos se les quitó el sorgo y el micelio y, el resto se colocó en un tamiz de malla 16 lavándolos a chorro de agua corriente. Los esclerocios que permanecieron en el tamiz fueron nuevamente lavados exhaustivamente eliminando los residuos de sorgo y cordones visibles. Los esclerocios limpios se colocaron inmersos en agua destilada en un frasco de un litro a temperatura de 10°C. Posteriormente, durante los siguientes 15 días, los esclerocios fueron seleccionados, colocando 25 esclerocios inmersos en 10 ml de agua destilada en viales que se almacenaron a 10°C. Cada vial constituyó una repetición de los experimentos establecidos, los cuales iniciaron tres días después de haber obtenido los primeros viales con esclerocios. Después de cosechar los esclerocios se colocaron inmersos en agua destilada a temperatura de 10°C. Durante los siguientes 30 días, los esclerocios fueron seleccionados y 25 de ellos inmersos en 10 ml de agua destilada dentro de viales de 20 ml se almacenaron a 10°C hasta su uso. Cada vial constituyó una repetición de los experimentos

Establecidos, los cuales iniciaron 10 días después de haber obtenido los primeros viales con esclerocios, en todos los tratamientos de cada experimento se hicieron cuatro repeticiones. Desde el establecimiento del primero hasta el último experimento transcurrieron 12 semanas.

Preparación de soluciones. Ácido acético. El ácido acético grado reactivo se utilizó para preparar tres soluciones a concentración de 0.42, 0.83 y 1.67 mili moles por litro (mM L^{-1}) La forma y los cálculos para preparar cada solución fueron los siguientes: un ml de ácido acético cuyo peso molecular es de 60.05 se tomo y diluyó en un litro de agua, de aquí se tomaron 10, 5 y 2.5 ml y se diluyeron en 100 ml de agua destilada, de tal modo que el ml inicial de ácido se dividió entre el peso molecular ($1 / 60.05 = 0.0166527$) y este resultado se multiplico por los factores de dilución de las diluciones posteriores ($10, 5$ o $2.5 \text{ ml} / 100 \text{ ml} = 0.001665, 0.000832$ y 0.00041), finalmente estos valores se multiplicaron por 1000 para expresar las diluciones en mM L^{-1} .

Ácido sulfúrico. Dos series de soluciones de ácido sulfúrico grado comercial se prepararon, la primera a contracciones de 0.51, 1.02 y 2.04 mM L^{-1} ; y la segunda a 0.25, 0.51 y 1.02 mM L^{-1} . Para preparar las soluciones primero se calculó el volumen equivalente de cada gramo de ácido sulfúrico cuya densidad es de 1.8 g L^{-1} , entonces gramo de ácido equivale a 0.556 ml puesto que ($1 / 1.8 = 0.556$). Las soluciones se prepararon adicionando 0.56 ml en un litro, luego de esta dilución se tomaron 5, 10, 20 o 40 ml y se diluyeron en 100 ml, los cálculos para expresar en la concentración de las soluciones en mM L^{-1} se hizo de manera semejante a la del ácido acético.

Soluciones amortiguadoras. Para dar un pH 4 y 5 se prepararon soluciones 0.2 M de ácido acético y 0.2 M de acetato de sodio. Para un litro de solución a pH 4 se mezcló 830 y 170 ml del ácido y sal, respectivamente; mientras que para pH 5 la mezcla ácido – sal fue de 170 y 680, respectivamente. La solución por litro de pH 8 se preparó al combinar 470 ml de una solución 0.2 M de Hidróxido de Potasio con 500 ml de una solución 0.2 M de Fosfato de Sodio dibásico y 30 ml de agua destilada. Para preparar la solución (por litro) a pH 9 se mezcló 930 ml de una solución de 0.1 M de Bicarbonato de Sodio con 70 ml de una solución 0.1 M de Carbonato de Sodio (Plummer, 1981). Las soluciones amortiguadoras se utilizaron sin diluir o diluidas en agua destilada en proporción (volumen - volumen) 1: 2, 1:4, 1:10.

Esclerocios inmersos en ácidos acético, sulfúrico y soluciones amortiguadoras.

En soluciones de ácido acético (0.00 testigo 0.42, 0.83 y 1.67 mM L⁻¹) y ácido sulfúrico (0.00 testigo 0.25, 0.51 y 1.02 mM L⁻¹; y 0.51, 1.02 y 2.04 mM L⁻¹) fueron inmersos esclerocios de *P. omnivora* por una sola ocasión y se incubaron por un período de 14 días a 28 °C, o bien, otros lotes de esclerocios permanecieron inmersos pero se les hizo recambio de los ácidos una, dos o tres veces, los recambios se realizaron a los tres, seis y nueve días después de iniciar el período de incubación, respectivamente, y su período de incubación final también fue de 14 días.

Soluciones adicionales. Otros esclerocios permanecieron inmersos en las soluciones amortiguadoras (pH 4, 5, 8 y 9 sin diluir o diluidas 1:2, 1:4 y 1:10) durante siete días a 28 °C.

Sobrevivencia de los esclerocios. Después de permanecer en las soluciones los esclerocios, se les determinó su sobrevivencia en arena no estéril, para ello, se colocaron los esclerocios en cajas Petri de plástico que contenían arena no estéril previamente humedecida y luego se incubaron por una semana a 28 °C, enseguida se observó la formación de cordones a partir de cada esclerocio, en cuyo caso se considero como germinado (sobrevivió).

Otra parte de los esclerocios se expusieron a los tratamientos siguientes: a) suelo adicionado con glucosa, los esclerocios se pusieron en el fondo de frascos de vidrio de un litro, luego se adicionó 400 g de arena cernida en tamiz de malla # 16, enseguida se añadió 80 ml de una solución de glucosa equivalente a 1 mg g⁻¹ p/p con respecto al suelo, a continuación se adicionó otros 80 ml de agua destilada a cada frasco, después los frascos se incubaron 14 días a 28 °C y finalmente se extrajeron los esclerocios y se colocaron a germinar en arena no estéril; b) solución de NaOCl, en una solución de NaOCl grado comercial (6%) a concentración de 50 ml L⁻¹ se colocaron inmersos los esclerocios durante cuatro horas a 28 °C, luego se extrajeron y se pusieron en cajas Petri estéril que contenían agar - agua (6 g L⁻¹), por último las cajas se incubaron hasta por una semana a 28 °C y se comprobó la aparición de cordones de cada esclerocio; c) esclerocios fueron colocados en el fondo de frascos que se llenaron con 400 g de arena y se adicionó 160 ml de agua destilada (inundándoles), posteriormente se incubaron dos semanas a 28 °C y luego se extrajeron los esclerocios para hacerse germinar en arena no estéril; d) suelo no inundado, esta forma fue similar a la precedente, excepto porque a

los frascos con los esclerocios únicamente se les adicionó 80 ml de agua destilada.

Mediciones de pH. Ácidos acético y sulfúrico. El pH de las soluciones donde permanecieron los esclerocios inmersos se midió al inicio (soluciones preparadas) después de 1 y 12 días de iniciar el período de incubación.

Soluciones amortiguadoras. En estas soluciones se determinó el pH después de 1 y 7 días de iniciado el período de incubación.

Ácido sulfúrico y solución amortiguadora adicionales. Cuando se utilizó ácido sulfúrico a 0.51 mM L^{-1} y solución amortiguadora pH 5 diluida 1:10 las mediciones de pH se realizaron a los 3, 7, 10 y 13 días y 1, 3 y 6 días, respectivamente.

Análisis de los datos. La sobrevivencia de los esclerocios se expresó como porcentaje y a sus valores se aplicó una transformación arco-seno. Cada experimento fue analizado en un diseño completamente al azar y un arreglo factorial; las medias de tratamientos fueron separadas con DMS. El análisis estadístico se realizó con la ayuda del programa SAS (SAS, Institute 1988).

4. Resultados

Cambio de pH. El pH de las soluciones con ácido acético donde los esclerocios permanecieron inmersos se aprecia en la **Figura 1**, ahí se observa que el pH de las soluciones sin recambio se aproximan al valor del testigo pH aproximado a 5.5 (esclerocios inmersos en agua), por el contrario, al incrementar los recambios de ácido el pH se mantuvo alrededor de 4.

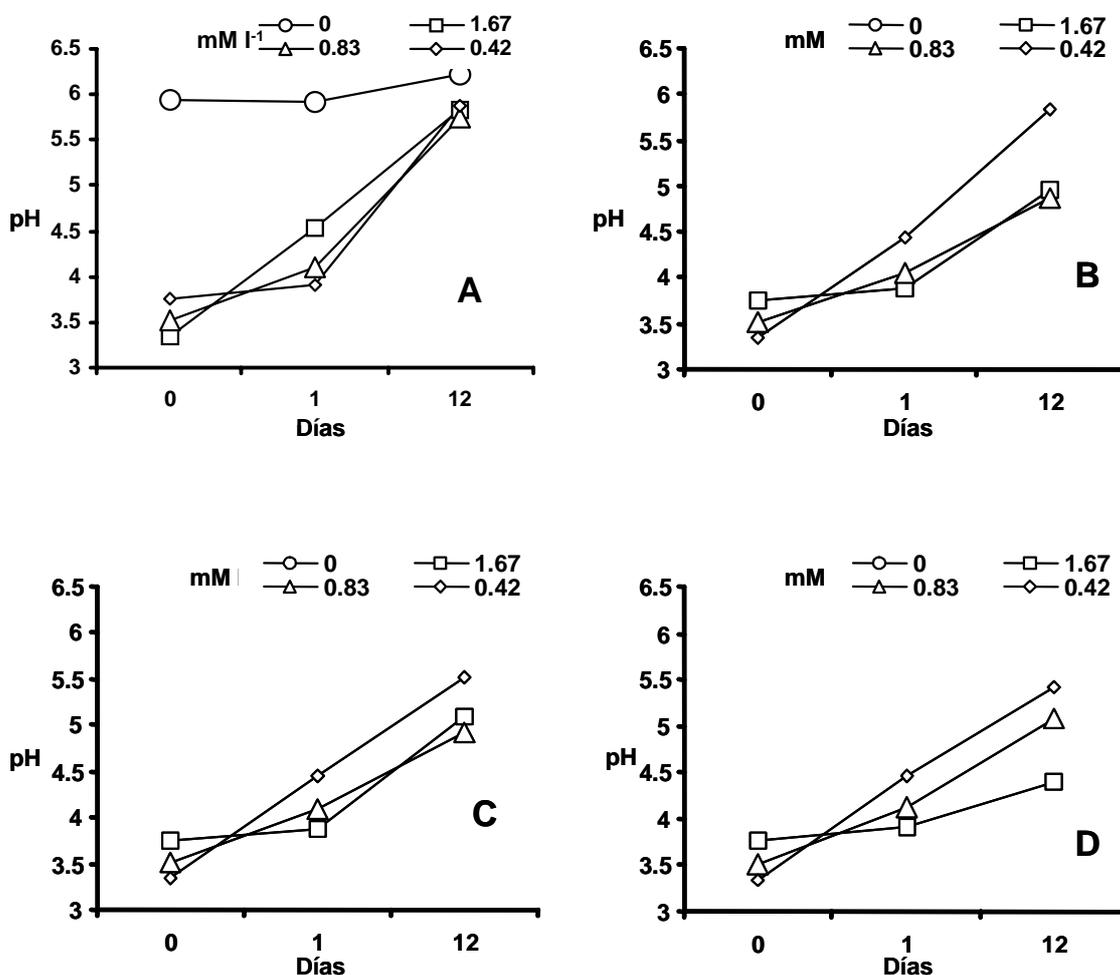


Figura 1. A-D. Cambio de pH en las soluciones de ácido acético (mM L^{-1}) donde permanecieron inmersos los esclerocios de *P. omnivora*. **A.** La solución no se recambió. **B, C, D** las soluciones se recambiarón una, dos o tres veces, respectivamente.

Las soluciones de ácido sulfúrico (0.25 - 1.02 mM L⁻¹) mantuvieron el pH entre 3-4.5 entre el primer y doceavo día, pero el pH decreció alrededor de 3 hacia los 12 días en aquellas soluciones en donde se realizaron recambios **Figura 2**.

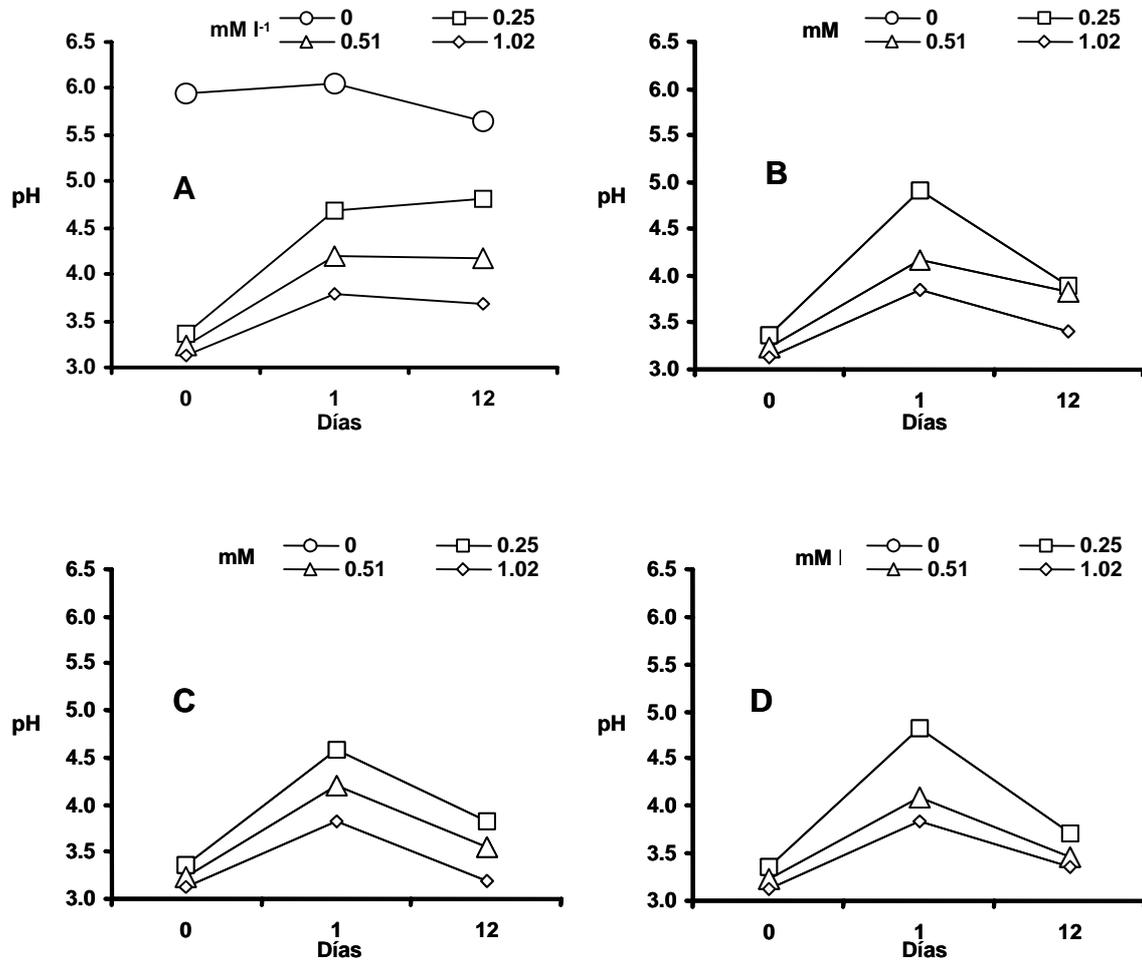


Figura 2. A-D. Cambio de pH en las soluciones de ácido sulfúrico (mM L⁻¹) donde permanecieron inmersos los esclerocios de *P. omnivora*. **A.** La solución no se recambió. **B, C, D** las soluciones se recambiaron una, dos o tres veces, respectivamente.

Al incrementar las concentración de ácido en las soluciones de ácido sulfúrico (0.51 - 2.04 mM L⁻¹), el pH no sobrepaso el valor de 4, ni aún en la soluciones sin recambio, y hacia el día 12 el valor aproximado de pH fue de 3.5 **Figura 3**.

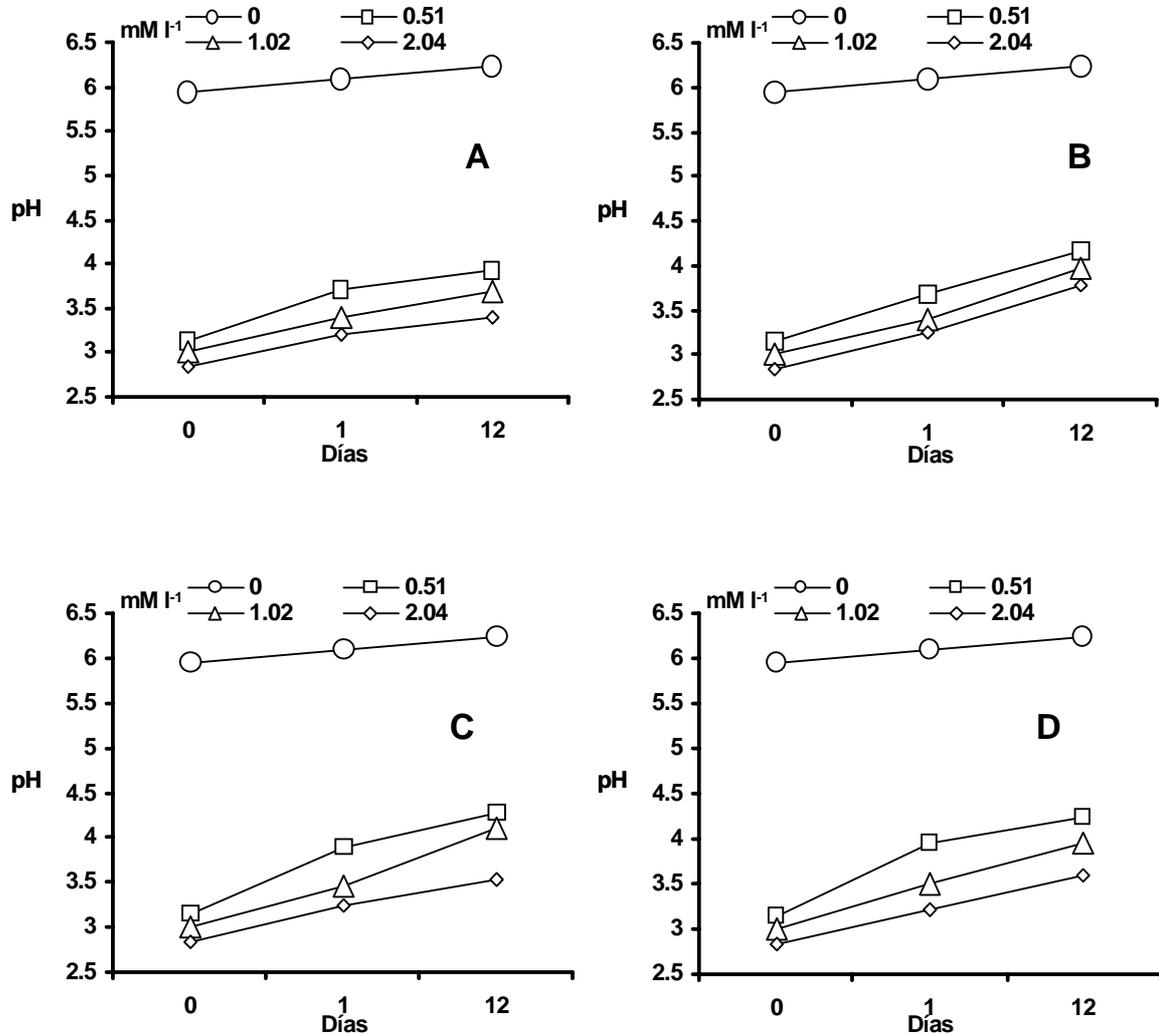


Figura 3. A-D. Cambio de pH en las soluciones de ácido sulfúrico (mM L⁻¹) donde permanecieron inmersos los esclerocios de *P omnivora*. **A.** La solución no se recambió. **B, C, D** las soluciones se recambiaron una, dos o tres veces, respectivamente.

Las soluciones amortiguadoras tendieron a alejarse de su valor original de pH a medida que se diluyeron, esto ocurrió desde el primer día y se acentuó hacia el

séptimo día, por ejemplo, las soluciones diluidas 1:10 de pH inicial de 4, 5, 8 y 9 hacia el séptimo día alcanzaron valores aproximados de 4.3, 5.2, 7.4 y 8.3, respectivamente **Figura 4**.

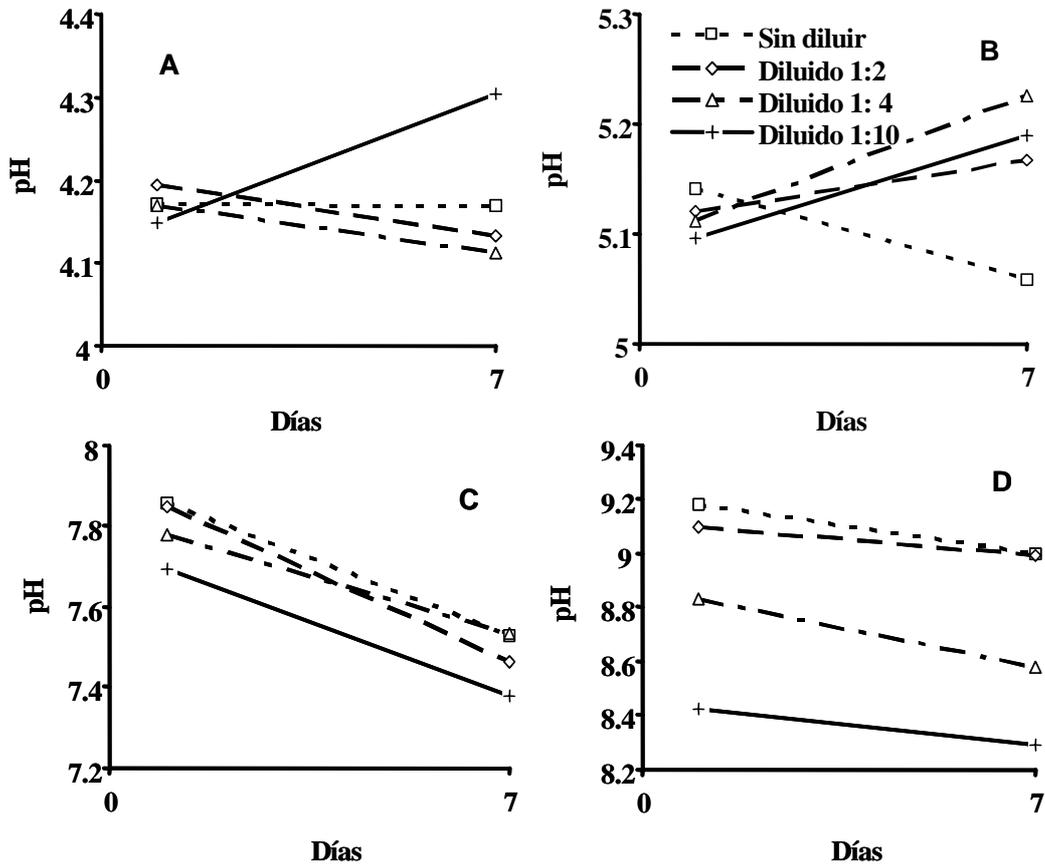


Figura 4 A-C. Cambio del pH en las soluciones amortiguadoras donde permanecieron esclerocios de *P. omnivora*. **A**, **B**, **C** y **D**. soluciones con pH inicial de 4, 5, 8 y 9, respectivamente.

El pH de la solución amortiguadora pH 5 diluida 1:10 (solución adicional evaluada a 6 días) indicado en la **Figura 5**, tuvo un comportamiento similar al observado en las soluciones amortiguadoras indicadas en la **Figura 4**.

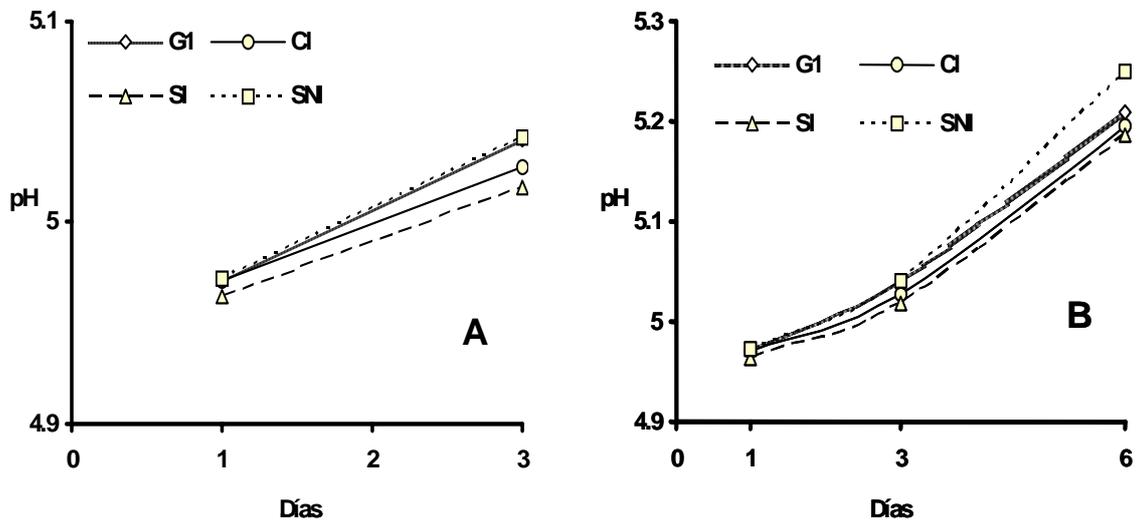


Figura 5. A, B y C. Cambio de pH en las soluciones amortiguadoras a pH 5 diluida 1:10 donde permanecieron inmersos los esclerocios de *P omnivora*. **A.** Las soluciones se recambiaron al primer y tercer día. **B.** Las soluciones se recambiaron al primer, tercer y sexto día. G1, CI, SI y SNI fueron los tratamientos aplicados a los esclerocios después de que permanecieron en las soluciones.

Las soluciones adicionales de ácido sulfúrico (**Figura 6**) a través del tiempo, mostraron un pH similar al registrado en la **Figura 2**.

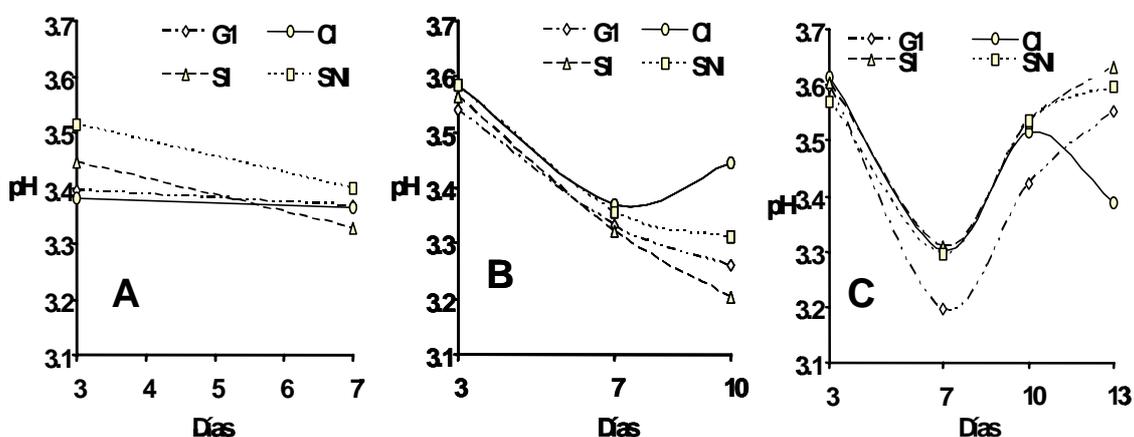


Figura 6. A-C. Cambio de pH en las soluciones de ácido sulfúrico a concentración inicial de 0.51 mM L^{-1} donde permanecieron inmersos los esclerocios de *P. omnivora*. **A.** Las soluciones se recambiaron al tercer día. **B.** Las soluciones se recambiaron al tercer y séptimo día. **C.** Las soluciones se recambiaron al tercer, séptimo y décimo días. G1, CI, SI y SNI fueron los tratamientos aplicados a los esclerocios después de que permanecieron en las soluciones.

Sobrevivencia de los esclerocios. Los esclerocios lograron sobrevivir casi por completo en las soluciones de ácido acético **Figura 7**. En contraste, la sobrevivencia de los esclerocios disminuyó en las soluciones de ácido sulfúrico (0.25 a 1.02 mM L^{-1}) en relación a la concentración y tiempo de permanencia (recambios) del ácido, **Figura 8**.

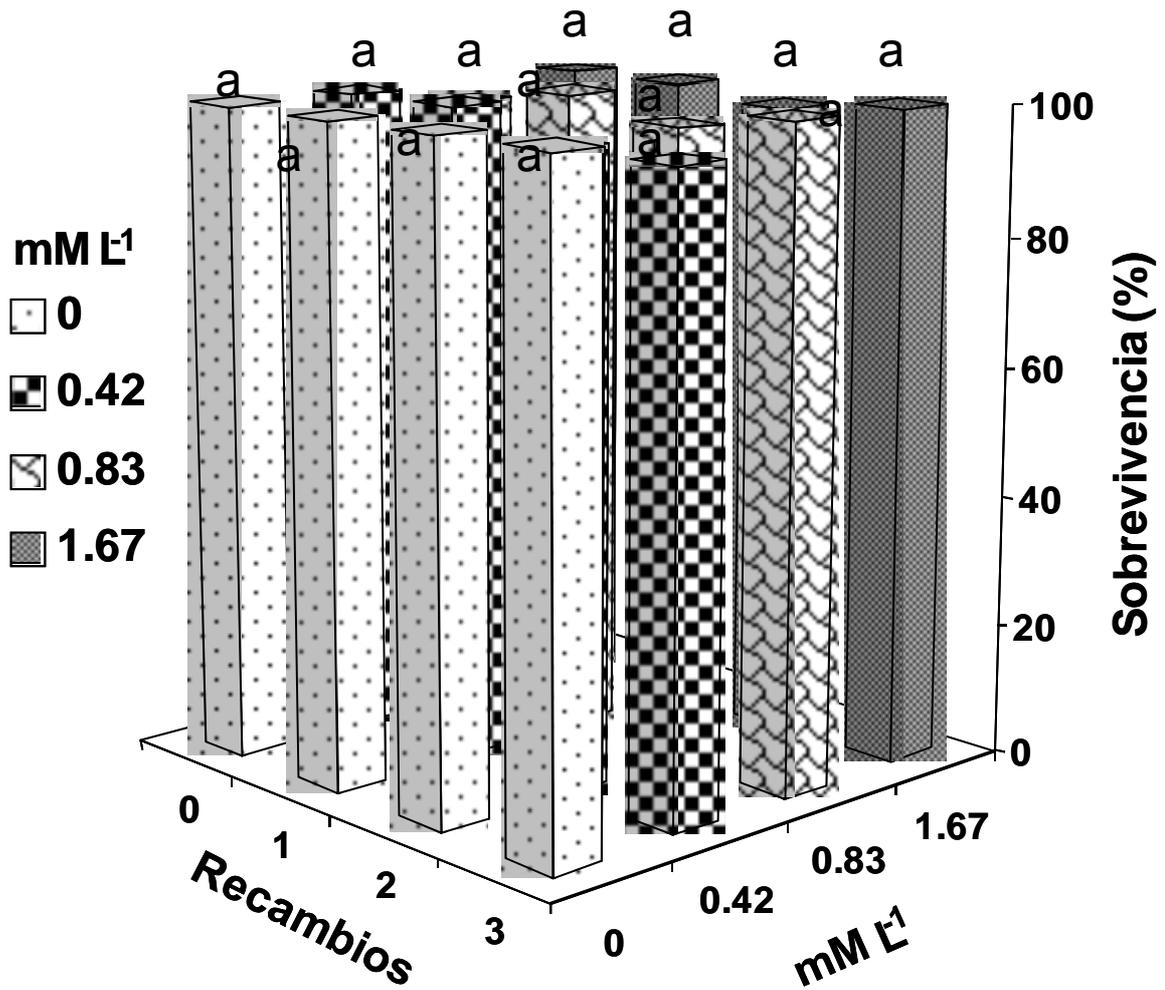


Figura 7. Sobrevivencia de esclerocios de *P. omnivora* después de permanecer inmersos en soluciones de ácido acético (mM L^{-1}), durante 14 días a 28 °C. Cada solución no se recambió o se hizo, una, dos o tres veces (recambios). Las barras con las mismas letras indican que no hubo diferencia estadística de acuerdo a la prueba de separación de medias DMS.

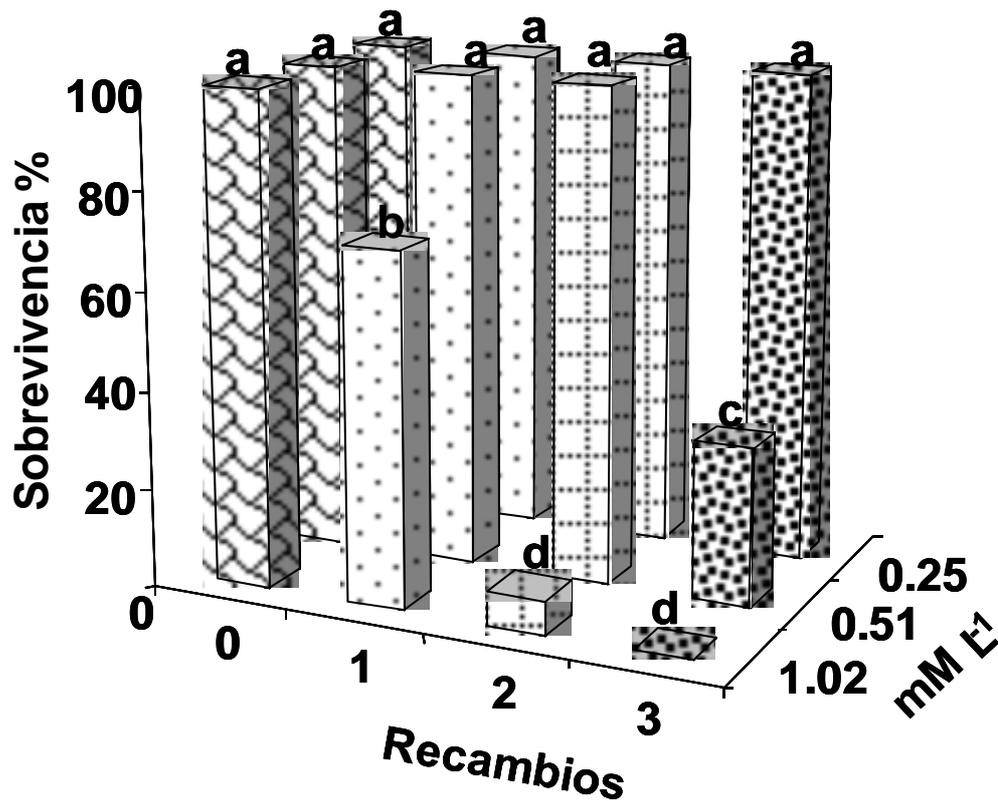


Figura 8. Supervivencia de esclerocios de *P. omnivora* después de permanecer inmersos en soluciones de ácido sulfúrico (mM L^{-1}), durante 14 días a $28\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cada solución no se recambió o se hizo una, dos o tres veces (recambios). Las barras con las mismas letras indican que no hubo diferencia estadística de acuerdo a la prueba de separación de medias DMS.

La supervivencia de los esclerocios mantenidos en soluciones de ácido sulfúrico a concentraciones de $0.51 - 2.04\text{ mM L}^{-1}$, disminuyó aún más que cuando permanecieron a concentraciones menores ($0.25\text{ a }1.02\text{ mM L}^{-1}$), aunque ello sólo fue en soluciones con 2.04 mM L^{-1} de éste ácido **Figura 9**.

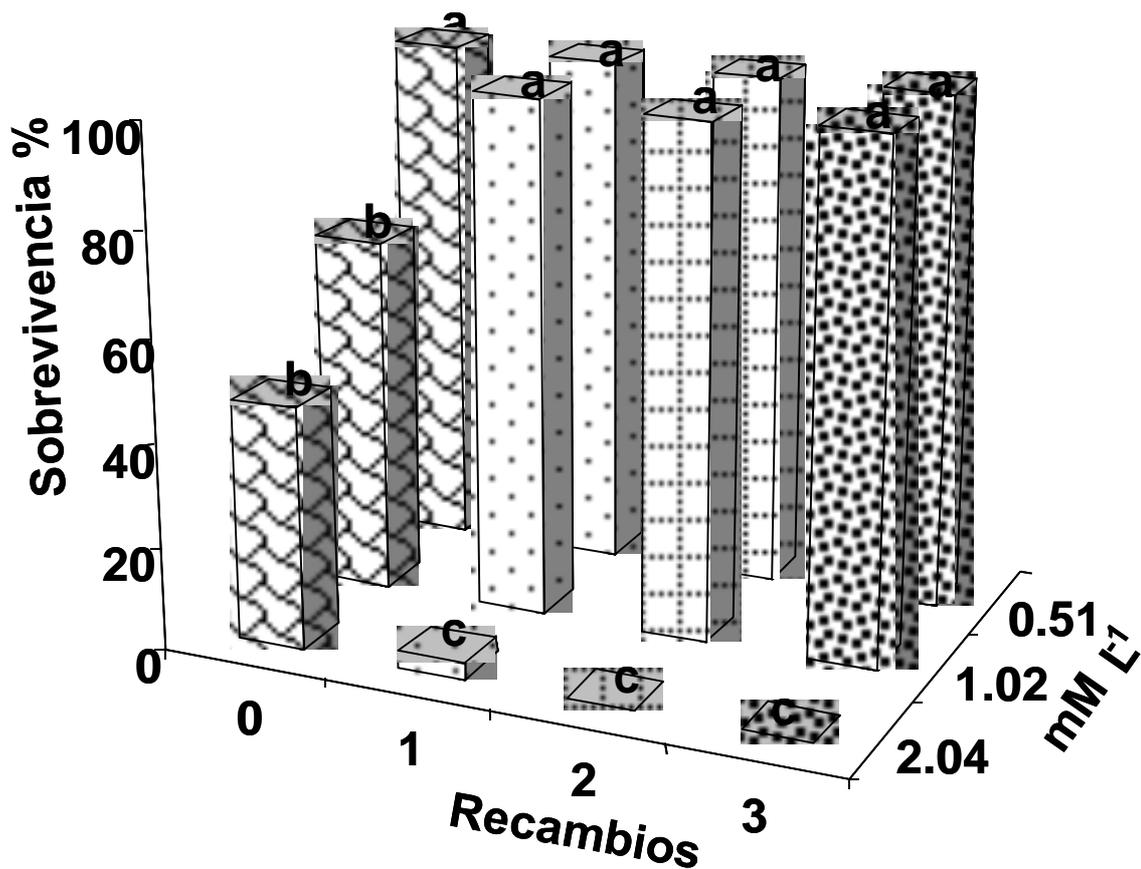


Figura 9. Supervivencia de esclerocios de *P. omnivora* después de permanecer inmersos en soluciones de ácido sulfúrico (mM L^{-1}), durante 14 días a 28°C . Cada solución no se recambió o se hizo, una, dos o tres veces (recambios). Las barras con las mismas letras indican que no hubo diferencia estadística de acuerdo a la prueba de separación de medias DMS.

El análisis estadístico de la supervivencia de los esclerocios con respecto a su permanencia en las soluciones de ácido sulfúrico, indica que hubo efecto por las concentraciones y recambios del ácido Cuadro 1, excepto para la interacción concentración - recambios al usar el ácido entre $0.51 - 2.04 \text{ mM L}^{-1}$

Cuadro 2. Análisis de varianza para la sobrevivencia de los esclerocios de *P. omnivora* después de permanecer en soluciones de ácido sulfúrico (0.51 - 2.04 mM L⁻¹)

Variables	GI	CM	F	P ≤
Concentración	2	24.22	137.24	0.0001
Recambios	3	28.38	0.13	0.9411
Interacción	6	1234.20	5.69	0.0003

Cv 24.22

En las soluciones amortiguadoras a pH 8 y 9 se indujo descenso en la sobrevivencia de los esclerocios cuando no se diluyeron, alcanzando una nula sobrevivencia o cerca del 20% para los esclerocios a pH 9 y 8, respectivamente **Figura 10**. Entretanto, los esclerocios no sobrevivieron a pH 4 y 5, excepto en la solución diluida 1:10 a pH 5. La sobrevivencia de los esclerocios en las soluciones amortiguadoras fue estadísticamente muy significativa con relación al pH, factor de dilución y la interacción de ambas Cuadro 3.

Después de siete días de permanecer los esclerocios en la solución adicional de ácido sulfúrico (0.51 mM L⁻¹) y luego de someterse los esclerocios a los tratamientos de suelo adicionado con glucosa, suelo inundado y suelo no inundado, su sobrevivencia se mantuvo casi en un 100%. Por el contrario, en donde se usó NaOCl los esclerocios no sobrevivieron. Los esclerocios en la solución de ácido sulfúrico después de 10 a 13 días y luego de ser incubados en suelo no inundado, suelo inundado o suelo adicionado con glucosa

disminuyeron su sobrevivencia, aunque esto ocurrió de manera más acentuada en los tratamientos de suelo adicionado con glucosa, suelo no inundado y suelo inundado con una sobrevivencia hacia el días 13 de 0, 10 y 40%, respectivamente.

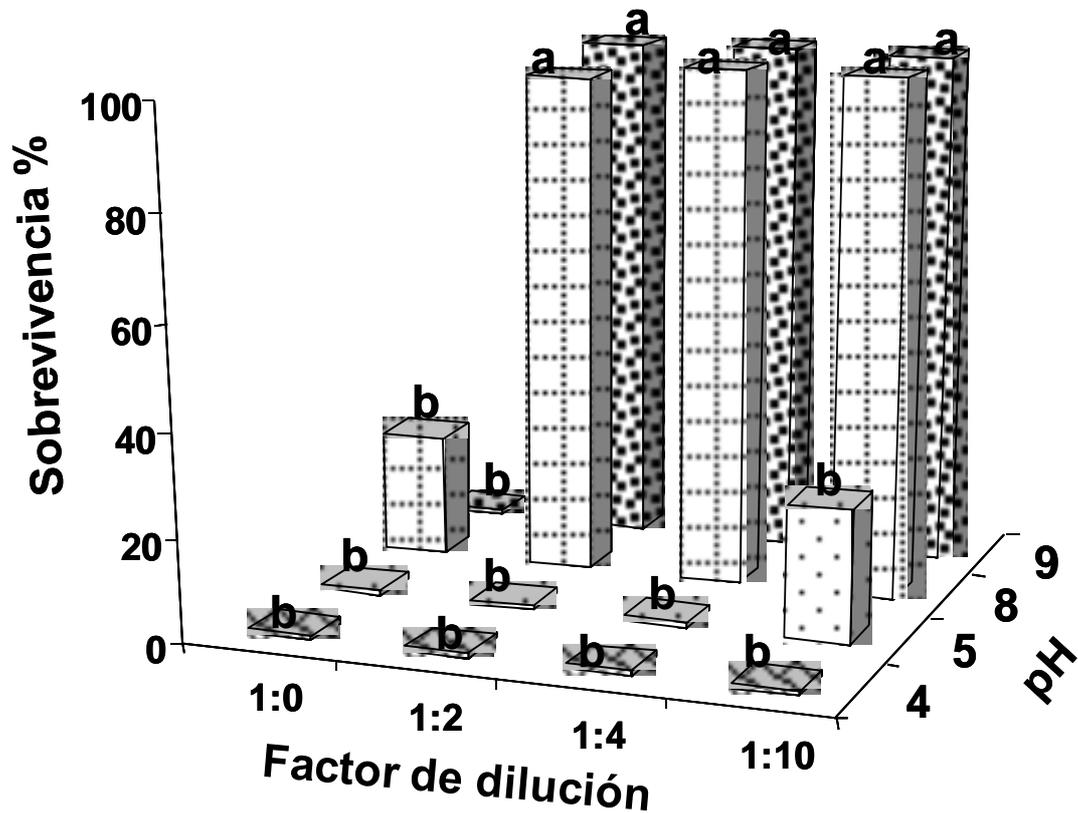


Figura 10. Sobrevivencia de esclerocios de *P. omnivora* después de permanecer inmersos en soluciones de ácido amortiguadoras a pH 4, 5, 8 y 9, durante siete días a 28 °C . Cada solución no se diluyó en agua destilada o se hizo a razón de 1:2, 1:4 y 1:10. Las barras con las mismas letras indican que no hubo diferencia estadística de acuerdo a la prueba de separación de medias DMS.

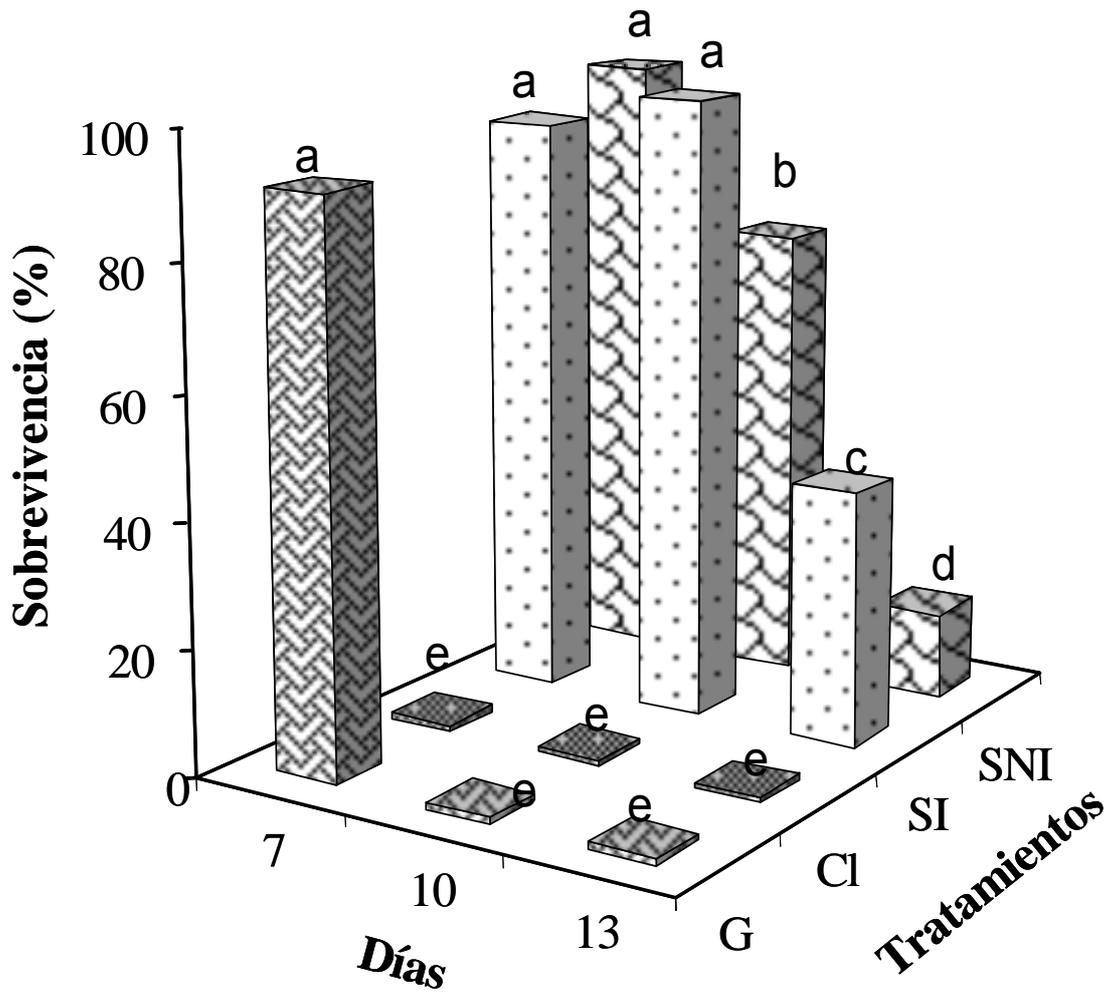


Figura 11. Sobrevivencia de esclerocios de *P. omnivora* después de permanecer (días) en soluciones de ácido sulfúrico a 0.51 mM L^{-1} , y después aplicar alguno de los tratamientos siguientes: Esclerocios mantenidos durante dos semanas en arena inundada que contenía 2 mg g^{-1} glucosa con respecto al suelo (G); esclerocios inmersos en solución al 3% de NaOCl durante cuatro horas (Cl); esclerocios colocados en suelo inundado (SI); esclerocios colocados en suelo a capacidad de campo (SNI) durante dos semanas. En todos los tratamientos, los esclerocios se incubaron a $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

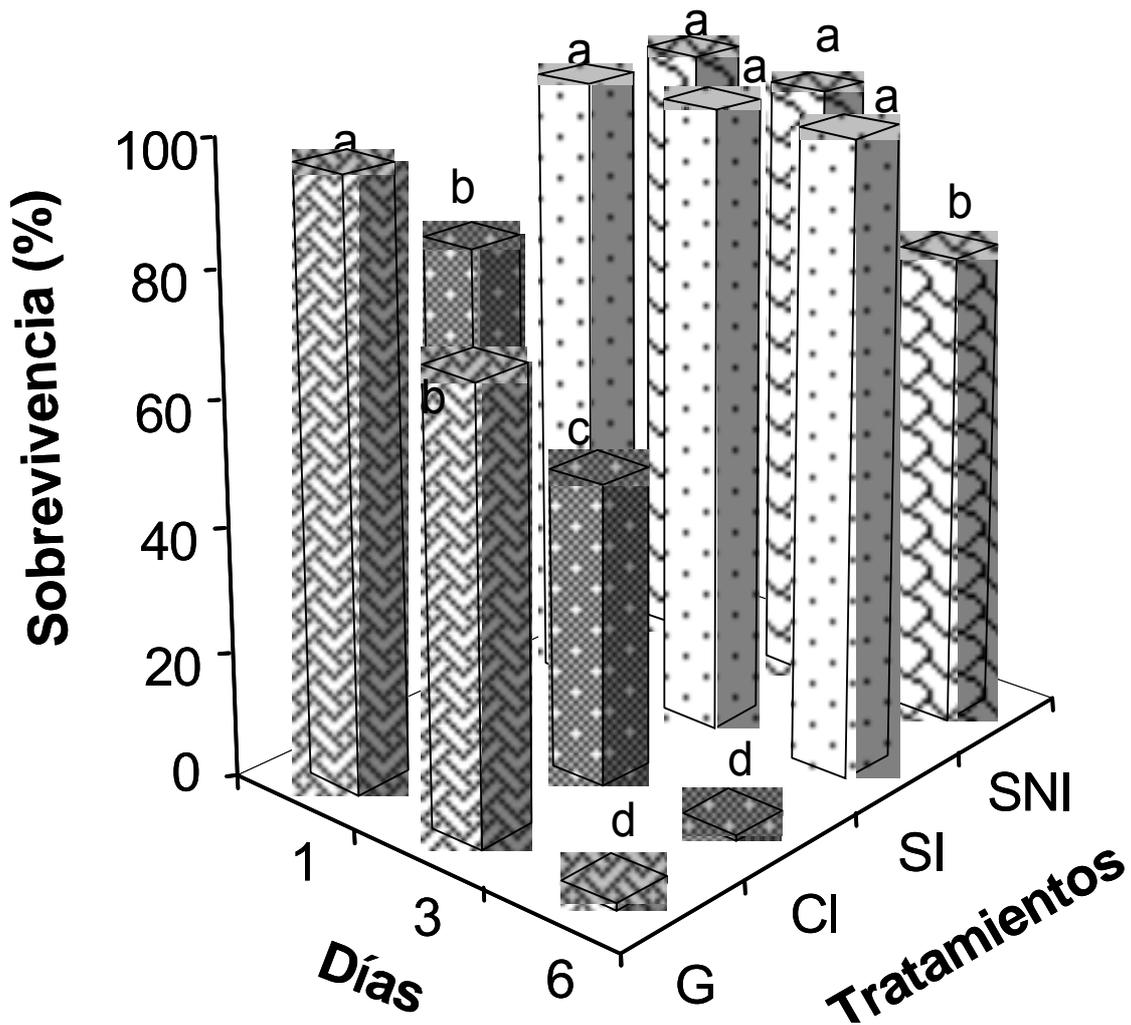


Figura 12. Sobrevivencia de esclerocios de *P. omnivora* después de permanecer (días) en soluciones amortiguadora a pH 5 diluida en agua destilada a razón de 1:10., y después aplicar alguno de los tratamientos siguientes: Esclerocios mantenidos durante dos semanas en arena inundada que contenía 2 mg g⁻¹ glucosa con respecto al suelo (G); Esclerocios inmersos en solución de NaOCl a las 0.3% durante cuatro horas (Cl); Esclerocios colocados en suelo inundado (SI) o suelo no inundado a capacidad de campo (SNI) durante dos semanas. En todos los tratamientos, los esclerocios se incubaron a 28 °C.

Cuadro 3. Análisis de varianza para la sobrevivencia de los esclerocios de *P. omnivora* después de permanecer en soluciones amortiguadoras (pH 4, 5, 8 y 9), diluidas o sin diluir

Variables	GI	CM	F	P ≤
pH	3	6556.07	750.53	0.0001
Factor de dilución	3	23813.34	2726.13	0.0001
Interacción	9	1978.73	226.52	0.0001

Cv 7.98

Una sobrevivencia de los esclerocios entre el 0 al 20% se registró después de someter a los esclerocios a la solución amortiguadora adicional (pH 5 diluida 1:10) y después a los tratamientos suelo inundado o sin inundar, respectivamente; pero en los tratamientos esclerocios expuestos a NaOCl o mantenidos en suelo adicionado con glucosa, la sobrevivencia disminuyó hasta ser nula conforme se incremento del tiempo que permanecieron en la solución amortiguadora **Figura 12**.

Cuando se evaluaron las soluciones adicionales (ácido sulfúrico 0.51 mM L⁻¹ y solución amortiguadora pH 5 diluida 1:10) en ambos casos los datos de la sobrevivencia de los esclerocios fueron altamente significativos en función de los tratamientos (esclerocios mantenidos posteriormente en suelo adicionado con glucosa, solución de NaOCl, suelo inundado o sin inundar) y el tiempo de permanencia de los esclerocios inicialmente en las soluciones **Cuadros 4 y 5**.

Cuadro 4. Análisis de varianza para la sobrevivencia de los esclerocios de *P. omnivora* después de permanecer en solución adicional de ácido sulfúrico (0.51 mM L⁻¹) y posteriormente someterse a tratamientos (suelo adicionado con glucosa, a NaOCl, a suelo inundado o no inundado)

Variables	Gl	CM	F	P ≤
Tiempo	2	9551.31	35.28	0.0001
Tratamientos	3	10857.74	40.10	0.0001
Interacción	6	2399.03	8.86	0.0001

Cv 7.98.

Cuadro 5. Análisis de varianza para la sobrevivencia de los esclerocios de *P. omnivora* después de permanecer en solución adicional amortiguadora pH 5 diluida 1:10 y posteriormente someterse a tratamientos (suelo adicionado con glucosa, a NaOCl, a suelo inundado o no inundado)

Variables	Gl	CM	F	P ≤
Tiempo	2	8150.33	150.82	0.0001
Tratamientos	3	7937.47	146.88	0.0001
Interacción	6	1412.22	26.13	0.0001

Cv 11.67

5. Discusión

El pH de las soluciones de ácidos y amortiguadoras donde permanecieron los esclerocios cambió su valor inicial con respecto al determinado a los 12 días, el cambio se acentuó a menor concentración de los ácidos o mayor dilución de las soluciones amortiguadoras. Este comportamiento coincide con lo consignado anteriormente para los esclerocios de *P. omnivora* (Samaniego, 2008 a y b). Asimismo, se sabe de la gran capacidad de muchos hongos para modificar el pH de su ambiente circundante (Peñalva y Arst, 2002) lo que es acorde con la capacidad que mostraron los esclerocios para cambiar el pH de las soluciones.

La sobrevivencia de los esclerocios de *P. omnivora* no fue afectada en soluciones de ácido acético tal vez la causa fue al valor de pH (mínimo) alcanzado que fue ~ 4 y la baja cantidad del ácido usada (1.67 mM L^{-1}), pero la sobrevivencia sí fue disminuida en soluciones de ácido sulfúrico y amortiguadoras; sin embargo, el hongo sobrevivió por completo después de tres recambios de 0.25 mM de ácido sulfúrico en cuyo caso el pH mínimo alcanzado fue de ~ 4 lo que coincide (pH y sobrevivencia) con lo observado en las soluciones de ácido acético.

La sobrevivencia de los esclerocios en las soluciones amortiguadoras de pH 4 y 5 fue drásticamente afectada, aún después de diluir ambas soluciones diez veces. Las concentraciones de ácido acético usadas inicialmente contenían 0.42 a 1.67 mM L^{-1} , pero en las soluciones amortiguadoras a pH 4 y 5 diluidas

1:10 se estimó que contenían ácido acético en 16.6 y 3.4 mM L⁻¹, respectivamente.

Este trabajo no permite tener una idea de cómo los ácidos acético, sulfúrico y soluciones amortiguadoras inducen la disminución de la sobrevivencia de los esclerocios. No obstante, se ha señalado que el ácido acético induce la muerte de *Saccharomyces cerevisiae* Meyen y *Candida albicans* Berkhout de dos maneras, una en apoptosis y la otra necrótica, la primera puede preceder a la segunda y se caracteriza por una atrofia de algunas células que mueren, pero su contenido celular puede ser reutilizado por las células que aún no lo hacen.

Durante la muerte por apoptosis inducida por ácido acético y otras condiciones, las células sufren una desnaturalización del ADN (Ribeiro, *et al.*, 2006) lo que impide una regulación posterior de las funciones celulares. En *C. albicans*, el ácido acético a concentración de 120 mM L⁻¹ (pH de 3) indujo la muerte (80% de las células) por apoptosis en cinco horas (Phillips *et al.*, 2006) y sólo se requirió menos de 50 mM L⁻¹ de éste ácido para dar un efecto similar en *S. cerevisiae* (Ludovico *et al.*, 2001).

En este trabajo, los esclerocios de *P. omnivora* disminuyeron su sobrevivencia alrededor del 70% después de permanecer siete días en la solución amortiguadora (pH 5 diluida 1:10) cuya concentración de ácido acético se estimó en 3.4 mM L⁻¹ lo que sugiere que el tiempo de permanencia de los esclerocios en la solución podría compensar la baja concentración del ácido que indujo su muerte.

El ácido acético es un ácido orgánico volátil que es el principal producto de la descomposición de la glucosa o residuos vegetales en condiciones de bajos niveles de oxígeno (Alexander, 1980), este ácido se ha encontrado también relacionado con la muerte de *Verticillium dahliae* Kleb (Conn *et al.*, 2005). A pH 8 y 9 en soluciones amortiguadoras sin diluir, los esclerocios murieron en más del 70 %, el potasio y sodio contenidos en la solución de pH 8 podrían tener un efecto que afecte la regulación de las células de los esclerocios y su muerte posterior.

Punja y Grogan (1982) colocaron esclerocios de *S. rolfsii* en sales que no eran de amonio incluyendo bicarbonato sodio, a pH alcalino (8-9), en medio sólido y donde la concentración máxima usada fue 50 mM L⁻¹ en cuyo caso hubo un efecto fungistático que fue eliminado al traspasar los esclerocios a un medio neutro. Los esclerocios que permanecieron inmersos una semana en la solución de pH 9 pudieron haber muerto por los 93 mM L⁻¹ de bicarbonato de sodio que contenía esta solución.

Los resultados de este trabajo indican que los esclerocios que permanecieron en soluciones adicionales de ácido sulfúrico o amortiguadora (ácido sulfúrico 0.51 mM L⁻¹ o solución amortiguadora pH 5 diluida 1:10) y que posteriormente se colocaron en suelo inundado adicionado con 1 mg g⁻¹ glucosa no sobrevivieron, esta cantidad de glucosa usada significó la mitad de la dosis reportada por Samaniego, (1994), esto sugiere que los esclerocios sufrieron algún tipo de daño o predisposición por efecto de su permanencia en las soluciones.

El NaOCl fue usado para determina el comportamiento de la germinación y sobrevivencia de los esclerocios de *P. omnivora* (Samaniego, 2008 (c) en ese trabajo se determinó que los esclerocios logran sobrevivir en un cerca 90 % después de permanecer cuatro horas en NaOCl a concentración de 50 ml L⁻¹, esto contrasta con la nula sobrevivencia observada en condiciones similares a partir de los esclerocios que previamente permanecieron en las soluciones adicionales de ácido sulfúrico y amortiguadora, esto también sugiere que los esclerocios sufrieron algún tipo de daño por su permanencia en las soluciones del ácido o amortiguadora.

Al inundarse el suelo el potencial redox adquiere valores negativos (Ponamperuman, 1972), y potenciales redox negativos se presentaron en suelos adicionados con glucosa (Alexander, 1980) o con fertilizantes y abonos verdes (hasta – 300 mv) donde la sobrevivencia de *F. oxysporum*, *Rhizoctonia solani* Kühn y *V. dahliae* disminuyeron en más de un 90% (Blok *et al*, 2000). En el tratamiento de suelo inundado (posterior a la permanencia de los esclerocios en solución amortiguadora pH 5 diluida 1:10), ocurrió una menor sobrevivencia de los esclerocios con respecto al tratamiento no inundado, ello debido probablemente a una disminución del potencial redox y a un estrés por falta de oxígeno que también puede inducir muerte apoptosis (Madeo *et al.*, 1999)..

6. Conclusiones

Se observó un cambio de pH en la solución de ácido acético (0.42 mM L^{-1}) inducido por los esclerocios de *P. omnivora*.

Los esclerocios logran sobrevivir en todas las soluciones de ácido acético evaluadas (hasta 1.67 mM L^{-1}).

No se presentó sobrevivencia de esclerocios después de permanecer en soluciones de: a) ácido sulfúrico a 1.02 mM L^{-1} que se recambiaron tres veces; b) soluciones de ácido sulfúrico que se recambiaron dos veces y cuya concentración fue 2.04 mM L^{-1} ; c) soluciones amortiguadoras sin recambio a pH 4, 5 y 9.

En soluciones amortiguadoras adicionales de pH 5 diluida 1:10, donde se evaluó la sobrevivencia de los esclerocios y posteriormente se expusieron a tratamientos, los esclerocios no lograron sobrevivir cuando permanecieron el máximo tiempo en las soluciones adicionales y luego ser expuestos a NaOCl o suelo adicionado con glucosa.

Al disminuir el tiempo de permanencia de los esclerocios en las soluciones adicionales y posteriormente exponerse a los tratamientos, su sobrevivencia disminuyó, excepto cuando los esclerocios permanecieron inicialmente en la solución amortiguadora (pH 5 diluida 1:10) y luego someterlos a suelo inundado.

7. Literatura citada

- Alden, I., Demoling, F., and Bååth, E 2001. Method of determining factors limiting bacterial growth in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 1830-1838.
- Alexander, M. 1980. *Introduction to Soil Microbiology*. 2ed. John Wiley and Sons. New York, N.Y., USA. 467 p.
- Alderman, S. C., and Hine, R. B. 1982. Vertical distribution in soil and induction of disease by strands of *Phymatotrichum omnivorum* *Phytopathology* 72:409-412.
- Baker, K. F., and Cook, R. J. 1974. *Biological Control of Plant Pathogens*. Freeman & Co., San Francisco, USA. 433 p.
- Fundación Fundaciòn Noble.2005, <http://www.noble.org/Events/Medicago2005/premeeting.html>
Consultado enero 24, 2007.
- Chavez, H. B., Bloss, H. E., Bolyle, M., Mand, A., and Gries, G. A. 1976. Effects of crop residues in soil on *Phymatotrichum omnivorum* root rot cotton. *Mycopathologia* 58:1-7.
- Eaton, F. M., and Rigler, N. E. 1946. Influence of carbohydrate levels and root surface microfloras on *Phymatotrichum* root rot in cotton and maize plants. *Journal Agriculture Research* 72:137-161.
- Filonow, A. B., and Lockwood, J. L. 1979. Conidial exudation by *Cochilobolus victoriae* on soils in relation to soil mycostasis. Pages 107-119. *In:*

- Schippers, B., and Gams, W. (eds.). Soil-Borne Plant Pathogens. Academic Press, London. 686 p.
- Galván, L. R. 1985. Efecto de los fungicidas Topsin M y Tilt, en dos diferentes métodos de aplicación, para el control de pudrición texana en nogal. Informe de Investigación Agrícola en Fruticultura. Campo Experimental Delicias. INIFAP-SARH. Delicias, Chihuahua, México. p. 87-97.
- Galván, L. R. 1986 a. Control químico de pudrición texana (*Phymatotrichum omnivorum*) en nogal [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K.] en la región de Delicias, Chihuahua. Informe de Investigación Agrícola en Fruticultura. Campo Experimental Delicias. INIFAP-SARH. Delicias, Chihuahua, México. p. 1-21.
- Galván, L. R. 1986 b. Factores físicos y químicos del suelo que limitan el desarrollo de pudrición texana y el crecimiento radical en el cultivo de nogal. Informe de Investigación Agrícola en Fruticultura. Campo Experimental Delicias. INIFAP-SARH. Delicias, Chihuahua, México. p. 485-512.
- Galván, L. R. 1990. Validación del control químico para recuperar árboles de nogal con síntomas medios de pudrición texana (*Phymatotrichum omnivorum*). Informe de Investigación Agrícola en Fruticultura. Campo Experimental Delicias. INIFAP-SARH. Delicias, Chihuahua, México. p. 1-30.

- Gunasekaran, M. 1973. Physiological studies on *Phymatotrichum omnivorum* IV. Effect of pH and the interaction of temperature, minerals and carbon source on growth *in vitro*. *Mycopathologia* 50:313-321.
- Henis, Y., and Papavizas, G.C. 1983. Factors affecting germinability and susceptibility to attack *Trichoderma harzianum* in field soil. *Phytopathology* 73:1469¹474.
- Herrera, P. T. 1974. Evaluación de fumigantes y mejoradores y químicos del suelo como tratamiento a sitios para prevenir reinfección por pudrición texana en nogal. Informe de Investigación Agrícola en Fruticultura. Campo Experimental La Laguna. INIFAP-SARH. Matamoros, Coahuila, México. p. 10-23.
- Herrera, P. T. 1985. Dosis de propiconazole para recuperación de árboles de nogal afectados por *P. omnivorum* y movilidad del fungicida en el suelo. Informe de Investigación Agrícola en Fruticultura. Campo Experimental La Laguna. INIFAP- SARH. Matamoros, Coahuila, México. p. 1-17.
- Herrera, P. T. 1989. Efecto de la intensidad de poda y dosis de estiércol sobre el vigor y producción de árboles de nogal con síntomas fuertes a severos de pudrición texana.. Memorias del XVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Montecillo, Edo. de México. p. 164.
- Herrera, P. T., Reza, M. G. y Rocha, C. S. 1989. Efecto del nivel de poda sobre el crecimiento vegetativo del nogal pecanero afectado por pudrición texana *Phymatotrichum omnivorum*. Memorias del XVI Congreso

Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Montecillo, Edo. de México.
p. 174.)

Herrera, P. T. y Samaniego, G. J. A. 2002. Enfermedades del nogal. pp. 177-206.
En: J. Arreola-Ávila e I. Reyes-Juárez (eds.). Tecnología de Producción
del Nogal Pecanero. Campo Experimental La Laguna. INIFAP.
Matamoros, Coahuila, México. 220 p.

Hyakumachi, M., and Lockwood, J. L. 1989. Relation of carbon loss from
esclerocios of *Sclerotium rolfsii* during incubation in soil to decreased
germinability and pathogenic aggressiveness. *Phytopathology* 79:1059-
1063.

Lyda, S. D. 1978. Ecology of *Phymatotrichum omnivorum*. *Annual Review of
Phytopathology* 16:193-209.

Lyda, S. D., and Burnett, E. 1970 a. Influence of benzimidazole fungicides on
Phymatotrichum omnivorum and *Phymatotrichum* root rot of cotton.
Phytopathology 60: 726-728.

Lyda, S. D., and Burnett, E. 1970 b. Sclerotial inoculum density of
Phymatotrichum omnivorum and development of *Phymatotrichum* root
rot. *Phytopathology* 60:729-731.

Marek, S. M., Hansen, K., Romanish, M. and Thorn, R. G. 2009. Molecular
systematics of the cotton root rot pathogen, *Phymatotrichopsis omnivora*.
Persoonia 22: 63 -74.

- Medina, M. E. y Aguilar, P. J. 1985. Características del suelo asociadas con pudrición texana (*P. omnivorum*) en huertas nogaleras del norte de Coahuila. Informe de Investigación Agrícola en Fruticultura. Campo Agrícola Experimental Zaragoza. INIFAP-SARH. Matamoros, Coahuila, México. p. 506-520.
- Medina, M. E. 1984. Estudio del suelo asociado con mortandad de árboles de manzano (*Malus* spp.) en la región de Nuevas Casas Grandes, Chihuahua. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 190 p.
- Mondal, S. N., and Hyakumachi, M. 1998. Carbon loss and germinability, viability, and virulence of chlamydospores of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* after exposure to soil at different pH levels, temperatures, and matric potentials. *Phytopathology* 88: 148-155.
- Mondal, S. N., Kageyama, K., and Hyakumachi, M. 1995. Germinability, viability, and virulence of chlamydospores of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* as affected by the loss of endogenous carbon. *Phytopathology* 85: 1238-1244.
- Olsen, M. W., Hine, R. B., and Dutt, G. R. 1988. Control of *Phymatotrichum* root rot of wine grapes in calcareous soils with ammonium-thiosulfate applied in drip irrigation systems. *Phytopathology* 78:1521 (Abstract).
- Ponnamperuma, F.N. 1972. The chemistry of submerged soils. *Advances in Agronomy* 24:29-96.

- Rush, C. M., 1984. Evaluation of deep-chiseled anhydrous ammonia as a control for *Phymatotrichum* root rot of cotton. *Plant Disease* 74: 291-293.
- Rush, C. M., and Gerik, T. J. 1989. Relationship between post harvest management of grain sorghum and *Phymatotrichum* root rot in subsequent cotton crop. *Phytopathology* 73:304-305.
- Rush, C. M., and Lyda, S. D. 1982. Effects of anhydrous ammonia on mycelium and esclerocios *Phymatotrichum omnivorum*. *Phytopathology* 72: 1085-1089.
- Streets, R. B., and Bloss, H. E. 1973. *Phymatotrichum* Root Rot. *Phytopathological Monograph* 8, American Phytopathological Society. St.Paul, MN, USA. 38 p.
- Samaniego, G. J. A. 1992. Relación entre el nivel de humedad y sacarosa en el suelo y la disminución de la viabilidad de los esclerocios de *Phymatotrichum omnivorum*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 10: 126-133.
- Samaniego, G. J. A. 1994. Viabilidad de los esclerocios de *Phymatotrichum omnivorum* (Shear) Dugg. en suelos inundados y complementados con glucosa. *Rev. Mex. de Fitopatol.* 12: 125-133.
- Samaniego, G. J. A. 2007. Research perspectives on *Phymatotrichopsis omnivora* and the disease it causes. *Agricultura Técnica en México* 33: 309-318.

- Samaniego, G. J. A. 2008 a. Efecto del pH en la Supervivencia de Esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* (Dugg.) Hennebert I Expuestos al Ácido Acético y NaOCl. Revista Mexicana de Fitopatología 26: 177-179.
- Samaniego, G. J. A. 2008 b. Efecto del pH en la Supervivencia de Esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* (Dugg.) Hennebert II Expuestos a Tilt y *Trichoderma* sp. Revista Mexicana de Fitopatología 26: 32-39.
- Samaniego, G. J. A. 2008 c. Germinación y supervivencia de los esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* en respuesta a NaOCl y suelo con glucosa. Agricultura Técnica en México 34: 375-385.
- Samaniego, G. J. A. Herrera, P. T. y J. Santamaría.1998. Influencia de las condiciones de suelo y manejo en las huertas de nogal pecanero con el incremento de la pudrición texana y perdidas en el cultivo. Nogal. Sexto Simposium Internacional Nogalero. ITESM Campus Laguna. Torreón Coah. P. 56-62.
- Samaniego, G. J. A., Herrera, P. T., Pedroza, S. A. y Santamaría, C. J. 2001. Relación entre las condiciones de suelo y manejo de las huertas de nogal pecanero con la dinámica de la pudrición texana. Revista Mexicana de Fitopatología 19: 10-18.
- Samaniego, G. J. A. y Rivera, G. M. 1992. Factores que afectan la viabilidad de los esclerocios de *Phymatotrichum omnivorum* y su susceptibilidad a *Trichoderma* sp. Revista Mexicana de Fitopatología 10: 116-125.
- SAS Institute, Inc. SAS User's Guide 1988: Statistics, Version 6.03. Cary, North Carolina, USA. 1028 P.

- Smith, R. B., and Hallmark, C. T. 1987. Selected chemical and physical properties of soil manifesting cotton root rot. *Agronomy Journal* 79:155-159.
- Uppalapati, S. R., Young, C. A., Marek, S. M. and Mysore, K. S. 2010. *Phymatotrichum* (cotton) root rot caused by *Phymatotrichopsis omnivora*: retrospects and prospects. *Molecular Plant Pathology*, 11: 325–334.
- Valle, G. P. 1977. Evaluación de tiofanato metílico y benomyl para control de *Phymatotrichum omnivorum* (Shear) Dugg. del nogal en la Región Lagunera. *In: VI Ciclo de Conferencias Internacionales de los productores de Nuez en la República Mexicana*. CONAFRUT-SARH. Torreón, Coahuila, México. p. 67-72.
- Wheeler, J. E., and Hine, R. B. 1972. Influence of soil temperature and moisture on survival and growth of strands of *Phymatotrichum omnivorum*. *Phytopathology* 62: 828-832.
- White, T. L., and Kenerley, C. M. 1986. Germination of *Phymatotrichum omnivorum* esclerocios in Houston black clay soil. *Phytopathology* 76: 1745 (Abstract).
- Whitson, R.S., and Hine, R.B. 1986. Activity of propiconazole and other sterol-inhibiting fungicides against *Phymatotrichum omnivorum*. *Plant Disease* 70:130-133.