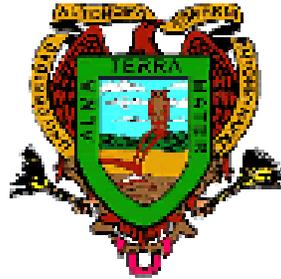


UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMIA



**ESTUDIO DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL
ROBLE (*Quercus laeta liemb*) Y EL EFECTO INVITRO DE UN
PRODUCTO ORGÁNICO SOBRE ESTOS.**

REALIZADA POR

RIGOBERTO JIMÉNEZ CORDERO

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA

OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Buenavista Saltillo, Coahuila. México

Abril del 2004

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMIA

ESTUDIO DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL ROBLE (*Quercus laeta liemb*) Y EL EFECTO INVITRO DE UN PRODUCTO ORGÁNICO SOBRE ESTOS.

POR

RIGOBERTO JIMÉNEZ CORDERO

TESIS

QUE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

APROBADA:

M.C. MA. ELIZABETH GALINDO CEPEDA
ASESOR PRICIPAL

M.C. ABIEL SANCHEZ ARIZPE
VALDEZ

SINODAL

M.C. MA. MAGDALENA RODRÍGUEZ

SINODAL

ING. LILIA CRUZ CHAVEZ
SINODAL

M.C. ARNOLDO OYERVIDES GARCIA

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMIA

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO

MAYO DE 2004

DEDICATORIA

A MI MADRE:

GODELVA CORDERO ESPINOZA

Por haber depositado su confianza, brindado su apoyo y creer en mi durante mis estudios y por todos los sacrificios que realizo para que yo continuara estudiando al igual que mis hermanos.

A MIS ABUELITOS

CONCEPCIÓN CORDERO JUAREZ

CONSUELO GOMEZ DE CORDERO

Por su apoyo incondicional y consejos para ser una persona de bien.

A MIS HERMANOS:

Por la confianza depositada en mi y apoyo moral.

A mi esposa

Esperanza Rivera Torres

Por haberme brindado su amor, confianza, apoyo incondicional y por creer en mi.

AGRADECIMIENTOS

A MI ALMA TERRA MATER.

Porque sin importar mi destino, a mi al igual que miles de compañero nos cobijo en su seno y por haber permitido mi profesión como profesional y realizar mi deseo de superación.

AL M.C. MA. ALIZABETH GALINDO CEPEDA

Por brindarme gran parte de su tiempo, conocimiento y sobre todo su confianza para hacer posible la realización del presente trabajo de investigación.

AL DR. ABIEL SÁNCHEZ ARISPE.

Por su participación y sugerencia y hacer de mejor calidad esta investigación

M.C. MA. MAGDALENA RODRÍGUEZ VALDEZ.

Por su valiosa colaboración y apoyo en la revisión de seta tesis.

ING. LILIA CRUZ CHAVEZ

Por su amistad y ayuda de sinteresada que me brindo durante mis estudios y en la revisión de la tesis.

A LA SRA. GUIRMINA

A la Sra. Guillermina por su amistad y ayuda que me brindo durante la realización de la tesis.

INDICE

Pag

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
INDICE DE CONTENIDO.....	iii
INDICE DE CUADROS.....	vii
INDICE DE ILUSTRACIONES.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS	3
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Antecedentes Históricos.....	4
Importancia.....	4
Usos.....	4
Ubicación Taxonómica.....	5
Descripción Botánica.....	5
Patógenos que Atacan al Encino.....	6
<i>Armillaria mellea</i>	6
Etiología.....	6
Sintomatología.....	7
Epidemiología.....	7
<i>Ceratocystis fagacearum</i>	8
Etiología.....	8
Sintomatología.....	9

6 Pag

Epidemiología..... 9

INDICE DE CUADROS

Pag

Cuadro No. 1.-	Dosis de extractos de cítricos utilizados en los diferentes tratamientos, expresadas en partes de producto por partes de PDA y en partes por millón (ppm).....	36
Cuadro No. 2.-	Formato de toma de datos en el desarrollo del micelio de <i>Fusarium solani</i> y <i>Rosellinia necatrix</i> en el laboratorio.....	37
Cuadro No. 3.-	Características diferenciales de bacterias fitopatógenas coriformes (Schaad, 1988).....	41
Cuadro No. 4.-	Pruebas bioquímicas para los aislamientos obtenidos del encino.....	41
Cuadro No. 5.-	Porcentaje de desarrollo e inhibición de cada uno de los tratamientos para <i>F. solani</i>	45
Cuadro No. 6.-	Porcentaje de desarrollo e inhibición de cada uno de los tratamientos para <i>R. necatrix</i>	45
Cuadro No. 7.-	Representación grafica de valores obtenidos en el desarrollo e inhibición de <i>Fusarium solani</i>	46
Cuadro No. 8.-	Representación grafica de valores obtenidos en el desarrollo e inhibición de <i>R. necatrix</i>	46
Cuadro No. 9.-	Promedio de porcentaje de desarrollo del micelio del hongo para cada tratamiento y repetición por efecto del daño causado por el fungicida orgánico sobre <i>R. necatrix</i>	55
Cuadro No. 10.-	Análisis de varianza para la variable de respuesta “porcentaje de inhibición del desarrollo de micelio” de <i>F. solani</i> por efecto del daño del fungicida orgánico en un diseño completamente al azar con igual número de repeticiones.....	55
Cuadro No. 11.-	Resultados de la comparación de medias para la variable de respuesta “porcentaje de inhibición del desarrollo de micelio” de <i>F. solani</i> por efecto del daño del fungicida orgánico por el método de Duncan y Tukey para un diseño completamente al azar con igual número de repeticiones.....	56

Cuadro No. 12.- Promedio de porcentaje de desarrollo del micelio del hongo para cada tratamiento y repetición por efecto del daño causado por el fungicida orgánico sobre *R. necatrix*..... 57

Cuadro No. 13.- Análisis de varianza para la variable de respuesta “porcentaje de inhibición del desarrollo de micelio” de *F. solani* por efecto del daño del fungicida orgánico en un diseño completamente al azar con igual número de repeticiones..... 57

Cuadro No. 14.- Resultados de la comparación de medias para la variable de respuesta “porcentaje de inhibición del desarrollo de micelio” de *R. necatrix* por efecto del daño del fungicida orgánico por el método de Duncan y Tukey para un diseño completamente al azar con igual número de repeticiones..... 58

INDICE DE ILUSTRACIONES

	Pag
Figura No. 1.- Característica de <i>R. necatrix</i> por la dilatación que se observa en muchas células cerca del septo.	59
Figura No. 2.- Síntomas causado por <i>Rosellinia necatrix</i> en el follaje.....	59
Figura No. 3.- Podredumbre de cuello y raíz.....	59
Figura No. 4.- Micelio de <i>Rosellinia necatrix</i>	59
Figura No. 5.- Estructura de <i>Pestalotia manguijera</i>	60
Figura No. 6.- Síntomas causado por <i>Pestalotia manguijera</i> en el follaje.....	60
Figura No. 7.- Micelio de <i>Pestalotia manguijera</i>	60
Figura No. 8.- Estructura de <i>Fusarium solani</i>	61
Figura No. 9.- Síntomas causado por <i>Fusarium solani</i>	61
Figura No. 10.- Micelio de <i>Fusarium solani</i>	61
Figura No. 11.- Estructura de <i>Microsphaera alni</i>	62
Figura No. 12.- Síntomas causado por <i>Microsphaera alni</i>	62

INTRODUCCIÓN

Los Encinares o bosques de encino son comunidades vegetales muy característicos de las montañas de México, se presentan en toda la Republica Mexicana, principalmente en clima de tipo templado y subtropical. Donde la vida de las agricultores es muy difícil debido a los cambios bruscos de temperaturas ya que sus cultivos se ven afectados. En consecuencia los encinos adquieren importancia, por que es el sustento económico de muchas familias de diferentes regiones de algunos estados de la Republica Mexicana como son, Chiapas, Oaxaca, Tabasco, Puebla, Guerrero, etc. Ya que estos se dedican a la explotación de madera donde le dan diferentes usos como son: para leña, carbón, postes para cerca, fabricación de muebles artículos torneados, cajas de empaques, mangos para herramientas, implementos agrícolas, etc. En otras partes del mundo como en E. U. A y Europa les dan otros usos como son fabricación de chapas y de muebles finos, decoración de interiores, carrocerías, embarcaciones, revestimientos , etc.

La tala inmoderada y las enfermedades han sido un factor limitante del encino en cuanto a su expansión en los bosques en muchas partes del mundo a si como en algunas partes del estado de Coahuila donde los últimos años se han visto afectados los bosques, por la tala y enfermedades de diferentes agentes dentro de las que podemos destacar: manchas foliares, escoba de bruja, cenicilla y marchitez siendo esta ultima la principal limitante en la expansión de los encinos en los bosques ya que atacan plántulas y árboles tanto en viveros como en bosques.

Esta enfermedad ha venido adquiriendo importancia desde finales del siglo pasado hasta la fecha debido al desconocimiento del agente causal y el poco conocimiento técnico que se tiene acerca de estos problemas fitopatológicos y eso hizo que nos planteáramos como objetivo general determinar las enfermedades relacionadas con el género *Quercus* teniendo como objetivos específicos; el

aislamiento de microorganismos presentes en encino, la identificación del agente asociado con la marchitez del encino y evaluar un fungicida orgánico para el control del agente asociado en la marchitez del encino .

OBJETIVOS

Aislamiento de patógenos presentes en el encino

Identificar el agente asociado en la marchitez del encino

Evaluar un fungicida orgánico para el control del agente asociado en la marchitez del encino

HIPÓTESIS

El patógeno que se aislara es *Alternaria*

La marchitez del encino es causado únicamente por *Ceratocystis fagacearum*

La dosis comercial de fungicida orgánico de 2000 pmm tendrá una eficiencia del 90% de inhibición del micelio en el agente asociado en la marchitez del encino.

REVISIÓN DE LITERATURA

Antecedentes Históricos

Los encinos fueron explotados en forma intensiva para la obtención de madera, leña y carbón desde la época de la conquista española hasta entrando este siglo.

Importancia

Se utiliza para determinar linderos en calles y avenidas. Su corteza y las agallas que se forman en las hojas tienen gran cantidad de taninos usado en curtido de piel; además tienen propiedades astringentes y es auxiliar para detener pequeñas hemorragias y reducir pequeñas inflamaciones de la piel producidas por ortigas o picaduras de insectos o bien para apretar los dientes o para tratar úlceras; se dice que la infusión de sus bellotas ayudan a atenuar la infusión de embriaguez. (Martínez y Chacala 1994)

Usos

La madera en forma de leña y carbón se usa como combustible, también se utiliza en la elaboración de pulpa para papel y para fabricar pilotes, durmientes y postes para cercas.

Medicinal: Los frutos tienen propiedades narcóticas y se consideran hipnóticos, se emplean en casos de insomnio. La infusión de los frutos maduros produce sueño, pero en exceso es tóxico. Los frutos son purgantes en exceso. La infusión de las hojas se usa en casos de diarrea, ya que poseen propiedades astringentes. (Martínez y Chacala 1994)

Ubicación Taxonómica: según Jones, 1988

Reino -----Plantae

División -----Magnoliophyta

Orden -----Fagales

Familia -----Fagaceae

Genero -----**Quercus**

Especie -----***laeta liemb.***

Descripción Botánica

Árbol perenne de la familia de las *Fagáceas* que alcanza de 5-10 m de altura, raramente arbusto.

Tallo.- de corteza café rojiza o negra

Hojas.- Deciduas, coriáceas cuando jóvenes verde amarillentas o rojizas, con pubescencia estrellada y pelos glandulares simples, en el envés de la hoja con abundante tomento amarillo y con muchos pelos glandulares a lo largo de la nervadura; limbos elípticos a oblongas, lanceolados, u obovados; ápice obtuso, redondeado o acuminado (Jones, 1988)

Flores.- Flores masculinas de 4-6 cm de largo, pilosas, o tomentosas y con pelos glandulares. Flores femeninas usualmente de 1-3 largo, pedúnculo tomentoso.

Frutos.- Anuales, solitarios, o en grupos hasta de 3, pedúnculo tomentoso de 1-2 cm de largo, cúpula hemisférica 12 – 15 mm de diámetro, escamas engrosadas y pubescente en la base, ápice estrecho, nuez ovoide 10-18 mm de largo incluido un medio o un tercio en la cúpula. (Jones, 1988)

Patógenos que atacan al Encino

Armillaria mellea (vahl) Quel.

Sinónimo; *Armillaria melleae*. Hongo *Basidiomiceto* de la familia *Agaricaceae* que causa pudrición de la raíz y base del tallo (Torres, 1993; Agrios, 1988)

Etiología

Hongos con cuerpos fructíferos en forma de seta, comestible, de color miel, tiene la parte superior cubiertas de escamas de color pardo oscuro y aparecen generalmente en otoño formando masas que surgen en la base de los troncos de los árboles enfermos. Se propagan mediante unos cordones miceliarios oscuros llamados rizomorfos por hifas diferenciadas que son de dos clases: subcorticales y subterráneas (Torres, 1993).

Forman un basidiocarpo suave y carnoso de color amarillo, que generalmente crece en racimos de los troncos de los árboles. El pileo de los basidiocarpo al principio tienen forma de cúpula pero después se deprime por el centro y el margen se vuelve hacia arriba, dejando a las laminillas completamente expuesta. En los estipetos jóvenes es muy notorios la presencia de un anillo membranoso blanco. (Romero 1988).

Sintomatología

Presenta una masa laminar de micelio blanco que se observa al descortezar la zona de cuello de la raíz de los árboles, que vienen acompañados de rizomorfos subcorticales (Torres, 1993)

Reduce el crecimiento de las plantas ya sea en forma repentina o gradual. Hojas más pequeñas y amarillentas, muerte descendente de ramitas y ramas. Hay un crecimiento reducido que se observa en forma más apreciable después de que alrededor del sistema central de la raíz muere. La madera primero se ve levemente empapada de agua, ligeramente gris. Con el tiempo esto se convierte en amarillo ligero casi blanco, suave, esponjoso, frecuentemente fibroso y marcado por líneas negras sobre la superficie (Sinclair *et al*; 1987).

Epidemiología:

Se desarrollan en todos los países del mundo. Son hongos parásitos facultativos de los más peligrosos, mata rápidamente a las plantas afectadas tanto a jóvenes como adultos, viven en tocones o en raíces de los árboles. La infección normalmente se produce en punto de contacto de sus raíces con otras raíces en forma o mediante rizomorfos, sin necesidad de que las plantas presenten heridas (Torres, 1993).

Ascomiceto de la familia *Ceratosmataceae* que causa la marchitez del roble

Etiología

Hongo que produce numerosos conidios y en pocas ocasiones ascosporas en peritecios. Ambos tipos de esporas se forman sobre masa miceliales que se sitúan de bajo de la corteza de árboles infectados muertos o moribundos. Las masas miceliales pueden tener un tamaño mayor a las dimensiones de 10x20cm en su parte central se forman estructuras en forma de cojín, denominadas cojinetes de presión, los cuales ejercen una presión suficiente que rompe la corteza del árbol y expone a la superficie fructífera de la masa micelial. Los peritecios se forman cuando las dos cepas compatibles del hongo infectan a un mismo árbol o se ponen en contacto debido a los insectos(Agrios, 1988, True *et al*; 1960).

La marchitez del roble. Se ha encontrado en 21 estados de los E. U. A., con el daño considerable ocurriendo en el cercano oeste. Primero fue reconocido como la enfermedad más importante en 1944 en Wisconsin. Los exámenes en ocho condados de Wisconsin demostraron que se marchitan cerca de 11 por ciento del aumento anual del crecimiento de los bosques del roble.(True, *et al*; 1960).

No se sabe de ninguna especie del roble que sea inmune a esta enfermedad vascular. Las infecciones se han encontrado en 16 especies nativas del roble, incluyendo la mayoría de los de la importancia comercial. Las especies del roble rojo se infectan con mas frecuencia y sucumben más fácilmente que el roble blanco. Los robles exóticos son susceptibles, así como las castañas americanas y europeas, especie del chinkapin, tanoak, y varias variedades de manzana (True, *et al*; 1960)

Sintomatología

En el roble rojo, los síntomas ocurren desde mayo, las hojas dan vuelta a verde o de bronce embotado, aparecen agua-empapadas, se marchitan, y después dan vuelta a amarillo o a marrón. El daño ocurre de la extremidad y de los bordes externos hacia el nervio central y la base. Las hojas que se marchitan se encrespan típicamente alrededor del nervio central y la línea entre los tejidos finos de bronce y verdes en hojas individuales(True *et al*; 1960).

Los síntomas en el roble blanco (*Quercus laeta*), son mucho más variables en, aunque los síntomas del follaje son a menudo iguales. En algunos, particularmente robles de oficina, los síntomas están esencialmente iguales que en los robles rojos, y el árbol puede morir dentro de una estación de crecimiento, sin embargo, los robles blancos mueren por lo general lentamente. Solo uno o dos ramas pueden demostrar síntomas y morir en un año. (True *et al*;1960).

***Taphrina kruchii* (Vuill.) Schroet.**

Etiología

Exoascal de la familia de los *Exoascaceae*. Se han extendido por Italia, Argelia y España. Ataca a *Quercus ilex* y *Quercus coccifera*, pero sus mayores daños en nuestro país lo producen en los encinos. Sus cuerpos de fructificación, en forma de ascas desnudas aparecen en la parte inferior de las hojas de las escobas. Las ascas contienen ocho esporas que se dividen por gemación y producen gran número de esporas encargadas de la propagación de la enfermedad(Torres, 1993).

Sintomatología:

Los síntomas característicos de esta enfermedad producido por *T kruchii* son el engrosamiento, enchinamiento, deformación y enchinamiento hacia abajo y hacia dentro de las partes de las hojas y las escobas de bruja, (Torres, 1993).

Epidemiología:

El hongo inverna en forma de ascosporas o conidios de pared gruesa sobre los árboles, quizá en las escamas de sus yemas. En primavera esas esporas salpicadas por la lluvia y por el viento son llevadas hasta los tejidos jóvenes de las plantas, germinan y penetran directamente a través de la cutícula o estomas de las hojas y otros órganos en proceso de desarrollo. El micelio binucleado se desarrolla entre células e invade notoriamente a los tejidos induciendo la división celular y elongación celular excesiva, que dan como resultado el alargamiento y deformación de los órganos de las plantas. Se ve favorecida por las bajas temperaturas y por la gran humedad que prevalece en los tejidos en que las yemas se hinchan, y los vástagos y hojas jóvenes se desarrollan, es decir en el periodo durante el cual los nuevos tejidos se hacen susceptibles a la enfermedad(Torres, 1993).

***Hypoxilon mediterraneum.*(De Notl Ces. & De Not.)**

Causa un chancro de la corteza del alcornoque (*Quercus suber*) y otras árboles de países mediterráneos, que se le denomina, *Ustulina deusta* (Hoffm.) Lind (sinónimo; *Hipoxilon deustum* (Hoff) Grev.) Esta muy extendido por Europa, América, Africa, Asia(Torres, 1993, Smith *et al*; 1988).

Etiología

Ascomiceto pireñal de la familia *Xilariaceae*. Sus esporas son elípticas y de color pardo oscuro, se forman en el interior de peritecas, hundidas en las placas

carbonosas, cuyo cuello forman protuberancia muy característica que facilita el diagnóstico de la enfermedad (Alexopoulos et al, 1996).

Sintomatología:

El síntoma más característico de estas micosis son los exudados oscuros que fluyen inicialmente de las zonas atacadas, las placas carbonosas alargadas y de forma irregular que quedan al descubierto al agrietarse longitudinalmente la corteza y la protuberancia de los cuellos de las peritecas de que ya hemos hecho referencia (Torres, 1993).

Epidemiología

Es un hongo semiparásito que necesita penetrar en los alcornoques a través de heridas de origen meteorológico producidos por los granizos y por heridas producidas durante la poda, limpiezas, descorches, ya que las hifas de germinación de sus esporas son incapaces de penetrar normalmente la capa corchoza de su corteza. (Torres, 1993)

Su virulencia depende mucho del vigor vegetativo de los árboles, ya que cuando el crecimiento de *Quercus suber* es vigoroso, la progresión de la zona enferma se paraliza; en caso contrario, la enfermedad se extiende paulatinamente por todo el árbol, que termina por morir. Al morir las zonas atacadas por *H. mediterraneum* recobra su carácter saprofítico y sigue desarrollándose sobre los restos leñosos de los alcornoques. (Torres, 1993)

***Rosellinia necatrix* Prill.**

(Anamorfa: *Dematophora necatrix*. R. Harting).

Descripción básica

Rosellinia necatrix se caracteriza por la dilatación que se observa en muchas células cerca del septo (Figura 1 del apéndice) (Smith et al; 1988).

Huéspedes

En Europa *R. necatrix* se encuentra sobre muchas plantas leñosas: vid, olivo, cítricos, higuera, frutales (manzano, peral, cerezo, albaricoquero), chopo, pequeños frutos (grosellero, frambueso y también en ornamentales no arbustivas (narciso, begonia, ciclamen, clavel, etc.)(Kenneth, 1979).

Especialización de huésped

No existe una especialización de huésped, los aislados procedentes de manzano, cerezo, jazmín, clavel y ciruelo son capaces de infectar a estos cinco huéspedes con la misma eficacia.(Smith *et al*; 1988).

Etiología

Ascomiceto de la familia *Sordariaceae* que producen tres tipos de esporas: ascosporas, conidios en coremio (el estadio *Dematophora*) y clamidiospora. Los tres tipos de esporas se ven raramente en campo y no se han señalado que estén implicadas en la infección, el ciclo de infección puede completarse por medio de micelio y órganos agregados. El micelio y las cuerdas miceliales aseguran la dispersión del parásito al crecer en el suelo (Smith *et al*; 1988).

Sintomatología

R. necatrix causa una podredumbre de cuello y raíz que se conoce como podredumbre blanca de raíz, lo que indica, como el nombre francés 'pourridie laineux', el micelio lanoso y blanco que aparece alrededor de las raíces afectadas. Es un parásito facultativo capaz de sobrevivir y crecer en suelos y en ausencia de huéspedes. En huéspedes herbáceos invaden todas las partes subterráneas; en huéspedes leñosos permanecen localizado en el liber (parenquima, floema, y cambium)(Smith *et al*; 1988).

Los árboles atacados por *R. necatrix* muestran en distintos grados cambio de coloración y muerte progresiva, junto con una disminución del crecimiento; estos síntomas pueden atribuirse en parte a la destrucción del floema y en parte a la síntesis por el hongo de vivotoxinas que sé traslocan por la savia. En los huertos la muerte puede tener lugar lentamente, tras varios años de decaimiento, con rapidez, a continuación de un shock súbito como el que tiene lugar tras un periodo de sequía o tras el primer cuajo de frutos.(figura 3 del apéndice) (Fuentes *et al*; 2001)

Kenneth, 1979; menciona que esta enfermedad se a encontrado esporádicamente, se caracteriza porque las raíces atacadas presentan una capa blanca, en su exterior, la forma anamorfa o asexual (*Dematophora*) es la más común que se caracteriza por un enchinamiento en el micelio la cual le da una apariencia raquetoide.(Figura 3 del apéndice)

Su ataque es semejante al ocasionado por el hongo *Armillaria mellea* , pero la diferencia consiste que en el caso de *Rosellinia*, no se forman los filamentos (rizomorfos), si no que las raíces de los árboles presentan en su superficie un fino algodoncillo blanquecino, que posteriormente se oscurece (García, 1971 ,Smith *et al*; 1988)

Epidemiología

El micelio de *R. necatrix* se desarrolla bien en suelos con alta humedad, y los modernos sistemas de riego han agravado la enfermedad en los huertos de manzano; por otro lado requiere un alto nivel de oxígeno, de forma que en la mayoría de los casos el hongo esta limitado al suelo superficial y necesita un suelo con un alto nivel de materia orgánica y un pH elevado no inhibe su crecimiento (in vitro el micelio se desarrolla igual o bien a pH de 7.0 que a un pH 5.0). (Smith *et al*;1988)

En Francia la podredumbre blanca se encuentra en dos tipos de suelo: suelos pesados calcáreos (independientemente del contenido de humedad) y en suelos orgánicos húmedos de valle (independientemente del pH)(Smith *et al*; 1988)

Pestalotia spp

Las especies de *Pestalotia* (*Deutoromycetes*, *Melanconiales*) son comunes en ecosistemas templados y tropicales y se asocian con frecuencia a las hojas de plantas arboladas. En zonas templadas la mayoría de las especies de *Pestalotia* son saprofitas, pero en las zonas tropicales han causado un problema serio en la

marchitez de los árboles. Las especies tropicales de *Pestalotia* se asocian con frecuencia a té, al mango, etc.,(Fuentes *et al*;2001)

Etiología

El agente causal de esta enfermedad es el hongo *Pestalotia manguiifera* Butlers; el micelio se multiplica en el hospedero intracelularmente, el acervulo es de forma discoide y de color café oscuro a negro con cojín soporte subepidérmico, los conidioforos son cortos y simples; los conidios oscuros formadas por cinco células y de forma oblongada o elíptica con tres apéndices hialinos; las dos células terminales son hialinas o de color verde olivo de forma cónica mientras que las tres células de la parte media son generalmente de color café claro a obscura.(figura 5 del apéndice)(Fuentes *et al*; 2001)

La distribución geográfica de esta enfermedad fue encontrada por primera vez en Siria Linca en 1932, en la actualidad se encuentra ampliamente diseminada en los E.U.A. y en altitudes que van desde el nivel del mar hasta 1300m; sin embargo pueden llegar a causar perdidas de consideración bajo condiciones de campo y almacenaje(Fuentes *et al*; 2001).

Sintomatología

Los síntomas de esta enfermedad se presentan en los frutos al inicio de maduración con pequeñas lesiones de color café claro, que gradualmente aumentan de tamaño y adquieren un color café oscuro, algunas de las lesiones se alargan considerablemente quedando la parte central de color café claro que aumentan de tamaño al unirse varias de ellas: la parte central de color blanco-gris y la lesión queda limitada por un halo de color paja. Cuando la lesión es severa la planta se defolia (figura 6 del apéndice) (Fuentes *et al*; 2001).

Epidemiología

Los factores climáticos que propician el desarrollo y multiplicación del hongo son temperatura entre 10 y 25 °C. El intervalo de temperatura para la germinación es entre 10 y 34°C con un óptimo de 30°C, con estas condiciones el hongo penetra directamente a las hojas y en tejidos dañados, la penetración y diseminación del patógeno es muy rápida, siendo esta favorecida por la humedad relativa arriba de 80%. (Fuentes *et al*; 2001).

Fusarium spp

Fusarium fue descrito por Link en 1915, quien considero, las siguientes características. Conidioforo alargado en forma de botella, con ramas intervalos regulares o verticilada, septados, individuales o agrupados en esporodoquio; conidios de tres tipos, 1) Microconidios elípticos o periformes, unicelulares o bicelulares, no curvados, cabezuelas o en cadenas; 2) macroconidios falcados, en forma de media luna o elípticos, con dos a nueve septos, ápice puntiagudo, roma o en forma de gotero, base puntiaguda, roma o en forma de pie; 3) clamidosporas si se producen, globosa, ovals o piriformes, individuales o en grupo, intercalares o terminales, unícelulares o bicelulares, lisas o rugosas (Romero, 1988).

Hospederos

Sus principales hospederos son el frijol, espárrago, iris, lirio, clavel crisantemo gladiolo, calabaza, etc. (Agrios, 1988)

Este ataca a las raíces y el tallo en línea de tierra o inmediatamente bajo de ella y las plantas infectadas se marchitan y mueren rápidamente debido a los daños sufridos.

Causa una putrefacción de la raíz de plantas jóvenes; ataca el árbol debilitado y en condiciones culturales pobres causan una coloración púrpura en la

madera y dando como resultado una marchitez y muerte de la planta. (Smith *et al*; 1988)

Etiología

Fusarium solani pertenece a la clase *Deuteromycetes*, orden *Moniliales* y familia *Tuberculariaceae* (Barnett y Hunter, 1987); su fase ascogena ó estado sexual es *Nectria nematococa* (Agrios, 1988, Smith *et al*; 1988)

La especie *solani* presenta tres tipos de esporas asexuales, que son: a) microconidio abundante en cadena y formados de fialide simple que nacen lateralmente, en la hifa o en conidioforos, de forma oval, piriformes o cilíndricos; b) macroconidios gruesos, no puntiagudos, pared gruesa , anchura máxima 4.5-5.5 μ ; c) clamidospòras globosas, con pared gruesa formados por una o dos células y pueden ser terminales o intercalares masa de esporas de color crema amarilla(figura 7 del apéndice)(Booth, 1977).

Sintomatología

En el caso de la pudrición de las raíces muestran al principio una mancha ligeramente rojiza, que mas tarde adquiere una tonalidad que va de rojo oscuro a pardo y que se extiende hasta cubrir mas o menos la raíz principal y la porción del tallo que se encuentra por debajo de la superficie del suelo, en la raíz principal aparecen fisuras longitudinales en tanto que las pequeñas raíces laterales son destruidas. Por lo general el crecimiento de la planta se retarda y cuando el clima es seco las hojas pueden tornarse amarillas e incluso desprender de la planta. Las plantas infectadas decaen y mueren aunque muestren o no síntomas de marchitez.(Figura 8 del apéndice) (Agrios, 1988)

Epidemiología

F. solani vive en el suelo donde se conservan gracias a las clamidosporas, y pueden mantenerse mucho tiempo (10 años) y a gran profundidad (100-150cm). (Peña *et al*; 1987)

Las temperaturas optimas del suelo para el desarrollo de la enfermedad causado por *solani* son de 26-28°C. El hongo permanece en el suelo como saprofito sobre restos vegetales descompuesto; las clamidosporas germinan en presencia de exudados radiculares de muchas plantas no hospederas. La aireación del suelo induce a la formación de clamidosporas mientras que en un suelo compacto favorece la invasión del huésped y el desarrollo de síntomas.(Smith et al; 1988).

Erysiphales

Son hongos causantes de un grupo de enfermedades llamadas “cenicillas”, por el aspecto polvoso que presentan las hojas, ramitas y, frecuentemente, hasta los frutos de las plantas afectadas. y como hasta la fecha no han podido ser cultivadas en un medio artificial, se les considera “parásitos obligados”. Su distribución prácticamente es universal, ya que prosperan en numerosos y diversos hospedantes, entre los que sobresalen las cucurbitáceas, las leguminosas, los cereales los árboles frutales y forestales, muchos ornamentales, pastos y plantas silvestres.(Romero, 1988)

Etiología

La cenicilla del roble, es causado por *Microsphaera alni* (Cke. & Pk.) Salm, también conocida como *M quercina* (Schw) Burr y *M alphitoides* Griff. & Maubl. (Shaw, 1948).

Pertenece a la clase *Ascomycetes* de la familia *Erisiphaceae*, forma conidias elípticas en forma de barril y cleistotecios de unos 180-200 µm de diámetro, que contiene hasta quince ascas incoloras con hasta ocho esporas elipsoides (Figura 9 del apéndice)(Smith et al.,1988).

Fase conidial

El aspecto polvoso que presenta las hojas, ramas o frutos con cenicillas, se deben a la esporulación asexual del hongo. Una vez iniciada su fase de crecimiento rápido, el micelio empieza también a reproducirse, originando conidioforos y conidios en abundancia que semejan diminutos granos de arena blanquecina. Los conidioforos son hialinos, largos, erectos, pluricelulares y simples, o ramificados, la célula apical o “generadora” produce los conidios, que permanecen unidos temporalmente formando cadenas, o se desprenden del conidioforo al madurar, según la especie. Esto último significa que no todas las especies producen el mismo tipo de fase conidial. En efecto, las diferencias anotadas a la forma y el tamaño de los conidios permiten distinguir los distintos generos(Romero1988)

Fase ascal

En lugares de clima benigno, los *Erisiphales* pueden vivir indefinidamente en forma de conidios, pero donde el clima es extremo, la producción de conidios disminuye al final del verano, y entonces el micelio comienza a producir cleistotecio que son propiamente la estructuras invernantes y, consecuentemente, la fuente mas importante de inoculo primario para la primavera siguiente.

Los cleistotecios maduros contiene una a varias ascas, desde globosas hasta ampliamente claviformes, unitunicadas, persistentes. En el caso de haber varias ascas por cleistotecio, estas se encuentra arregladas en fascículos basales. Las ascosporas pueden ser hialinas u oscuras, y ovaes, (Romero 1993 y Shaw, 1948)

Sintomatologia

Al principio, la cenicilla aparece sobre las hojas jóvenes de las plantas de manera de zona vejigosa ligeramente saliente que en poco tiempo se cubren con hifas polvoriantas y de un color blanco grisáceo, las cuales hacen que las hojas se enchinen y deformen conforme se expanden. Sobre las hojas mas viejas de las plantas aparecen grandes manchas blancas constituidas por hifas del hongo, pero generalmente esas hojas se deforman muy poco. Las lesiones de las hojas

pueden ser mas o menos decoloradas, pero en los últimos de los casos se hacen necróticas.(Figura 10 del apéndice)(Romero, 1993)

Romero, 1993, menciona que sobre los vástagos verdes y jóvenes aparecen manchas blancas constituidas por hifas del hongo, que son similares a las de las hojas y llegan a cubrir totalmente los ápices en crecimiento; debido a la infección, estos ápices se arquean.

Epidemiología

Las cenicillas son más severas en condiciones de sequía, por que las esporas de sus agentes causales pueden liberarse, germinar y causar infección con la humedad atmosférica, sin necesidad de una película de agua, una vez efectuada la infección pueden propagarse sin importar las condiciones climatologicas(Garza, 1996).

Alternaria spp

Distribución del mundo: Cosmopolita.

Se encuentra entre las enfermedades más comunes de muchos tipos de plantas en todo el mundo. Afecta principalmente a las hojas, tallos, flores y frutos de plantas anuales en particular de hortalizas y plantas de ornato, pero afectan también a ciertas partes de árboles como los cítricos y el manzano, etc. Por lo común las enfermedades causadas por *Alternaria* aparece en formas de manchas y tizones foliares, pero pueden ocasionar también el ahogamiento de plántulas, pudriciones del cuello, así como pudriciones de los frutos y tubérculos. Algunas de las enfermedades más comunes ocasionadas por *Alternaria* incluye al tizón temprano de la papa y del tomate, la mancha foliar del frijol, tabaco, y geranio, el tizón del tallo de la zanahoria, clavel, crisantemo y petunia, la mancha foliar y el tizón de las crucíferas, la mancha púrpura de la cebolla, las manchas foliares y

del fruto de la calabaza y del manzano, la pudrición, del corazón de la manzana y la pudrición de los limones y naranjas y muchas otras mas.(Agrios,1988)El patógeno *Alternaria* sp. tiene un micelio de color oscuro y en los tejidos viejos infectados producen conidioforos cortos simples y erectos que dan origen a cadenas simples o ramificadas de conidios. Los conidios son grandes, alargados y oscuros, o bien multicelulares y en forma de pera y presentan septos transversales como longitudinales. (Agrios,1988)

Los conidios se desprenden con facilidad y son diseminados por las corrientes de aire. *Alternaria* infecta varias especies vegetales en todo el mundo. Sus esporas están presentes en el aire, y polvo en todas partes y son una de las causas mas comunes de alergias de la fiebre del heno. Dichas esporas también llegan a laboratorio y crecen como contaminante en los cultivos de otros microorganismos y sobre los tejidos vegetales muertos destruidos por otros patógenos u otras causas. De hecho muchas de las especies de *Alternaria* son principalmente saprofitas, es decir, no pueden infectar a los tejidos vivos de plantas y solo se desarrolla sobre tejidos vegetales muertos o en proceso de descomposición y a lo más, sobre tejidos viejos o senescentes, como hojas y pétalos viejos y frutos maduros. Por lo tanto con frecuencia surge la dificultad para decidir si un hongo del genero *Alternaria* que se encuentra sobre un tejido enfermo es la causa de la enfermedad o un contaminante secundario (Agrios,1988 y Romero, 1993)

Etiología

Alternaria cheiranthi pertenece a la clase *Deutoromycetes* de la orden *Moniliales* y familia *Dematiaceae* (Barnett y Hunter, 1987);esta especie presenta conidios cónicos a ovals; el pico de tamaño casi igual al del cuerpo principal y frecuentemente con un hinchamiento terminal, saprofito oblicuo(Romero 1988).

Síntomatología

Es muy común en superficies de la hoja, como un patógeno o saprófito secundario. No forma generalmente colonias sensibles pero sus conidios

característicos se encuentran a menudo durante la observación de las lesiones de la hoja de otros patógeno primarios. Es una especie verdaderamente plurivorous, es decir encontrado en una gran cantidad de diversas plantas del anfitrión(Agrios 1988).

Bipolaris spp

En los últimos años la mayoría de las especies fitopatógenas de *Helminthosporium* se han vuelto a clasificar bajo diferentes géneros, dependiendo de la forma de los conidios y el mecanismo de germinación de los mismos y del tipo de la fase perfecta que producen. De esta manera la especie de *Helminthosporium* que produce una fase perfecta de *Cochliobolus*, a ahora se conoce como especie de *Bipolaris*(Agrios,1988).

Sin embargo, debido a que esta clasificación aun no ha sido aceptada universalmente, ya que toda la literatura antigua y gran parte de la literatura actual trata el tema bajo el encabezado de *Helminthosporium* y, sobre todo debido a la semejanza biológicas y fitopatológicas que existen entre todos esos géneros y especies, la enfermedad que aquí se incluye puede estudiarse acertadamente bajo el encabezado de enfermedades producidas por “*Helminthosporium*” (Agrios,1988).

Etiología

Sinónimo *Drechslera* (Breda de Haan)

Este hongo pertenece a la clase *Deuteromycetes* orden *Moniliales*, familia *Dematiaceae*(Barnett & Hunter, 1987); su fase ascogena (estado sexual) se le conoce con el nombre de *Cochliobolus*.(Smith et al 1988).

Esta especie presenta conidioforo obscuro, sobre todo simple, produce conidios a través de poros apical, resumiendo crecimiento simpodial y formando conidios bronceados, con varias células, elípticos, derechos o curvados germinando por un tubo de germinación en cada extremo(Barnett & Hunter, 1987).

Sintomatología

Los síntomas que producen estas especies son:

En el maíz el tizón foliar meridional y la mancha foliar producen pequeñas lesiones de color canela que pueden estar dispuestas paralelas o elípticamente y pueden ser tan abundante que casi cubren toda la superficie de la hoja (Agrios,1988).

En el arroz aparecen en un principio como pequeñas manchas pardo-purpúreas sobre las hojas y glumas. Después las manchas se extiende y su parte central y contorno adquieren una tonalidad gris y café, respectivamente (Agrios,1988).

En la pudrición de la raíz y de la corona del trigo, cebada y otros pastos, las manchas se desarrollan en plántulas, así como en coronas, tallos, hojas, órganos florales y granos de plantas. Las lesiones que van de un color café oscuros a negro, se desarrollan sobre las plántulas casi a nivel de la superficie del suelo y se extienden hacia las hojas. Las plántulas pueden ser atizonadas y morir antes o

después de haber emergido o incluso pueden sobrevivir aunque se retarde su crecimiento. Las coronas de las plantas son infectadas por el hongo a nivel de la superficie del suelo y muestran una pudrición café rojiza que destruyen las yemas de los vástagos(Agrios,1988).

Epidemiología

Las diferentes especies de este hongo invernan en forma de micelio o esporas sobre semillas contaminadas o infectadas (o en el interior de ellas), en restos vegetales y en las coronas o raíces infectadas de las plantas susceptibles. Algunas especies de hongos son parásitos débiles, pero varios son patógenos potentes. Sin embargo, cuando habitan en el suelo, algunas de ellas son saprofitos débiles debido quizá al antagonismo de los microorganismos del suelo, sobre todo cuando existe un alto contenido de nitrógeno(Agrios,1988).

La mayoría de estas especies se ven favorecidas por las temperaturas moderadas a calidas (de 18-32°C) y en particular cuando el clima es húmedo.(Agrios,1988).

Bacterias

Las bacterias son microorganismos simples que consisten en general en células procarióticas individuales la gran mayoría de ellas son organismos estrictamente saprofitos y como tales beneficia al hombre(Agrios, 1988).

Clavibacter michiganense

Hospederos

Sus principales hospederos son el alfalfa, tomate, chile pimiento, papa, tabaco, etc.(Agrios, 1988).

Etiología

Clavibacter michiganense; es una bacteria gram positiva, no forma endosporas, es aerobia. Los reportes de movilidad y encapsulación son variados, pero en general la bacteria es considerada negativa para estas características. Las células pueden ser pleomorfas, pequeñas, en forma de cocos o de bastón, dependiendo de las condiciones de crecimiento. Las colonias en agar nutritivo son característicamente amarillas y alcanzan un diámetro de 2-3 mm en cinco días, lisas de márgenes enteros y de consistencia butirosa. La apariencia de la colonia en medios selectivos varía, dependiendo del medio(Jones *et al*;1991)

Sintomatología

Los síntomas causados en las plantas por estos miembros del género *Clavibacter* incluyen marchitez, cáncer, pustulas, agallas, gomosis, pudriciones, etc.(Smith *et al.*, 1988)

Como el caso de la marchitez bacteriana de la alfalfa, los síntomas están acompañados de clorosis, reducción de tamaño y a menudo forma acucada de los folíolos, y en otras partes del mundo no son una marchitez si no un enanismo y proliferación de tallos, y la muerte de las plantas infectadas es lenta. (Smith *et al*; 1988)

En el tomate los primeros síntomas observables son el manchado o marchitamiento de los folíolos de la parte externa inferior de la planta. El manchado de las hojas se produce cuando el clima es húmedo y aparecen inicialmente en forma de manchas ampulosas blancas y se ponen cafés conforme maduran(Rodríguez, 1994).

En principio un solo brote puede aparecer marchito mientras que el resto de la planta permanece normal, aunque más tarde el mal se extiende al tallo y gran

parte del follaje es destruido. Las plantas enfermas pueden morir prematuramente, pero normalmente sobreviven hasta el final de la cosecha, a mismo tiempo, sobre los tallos, vástagos y pedicelos de las hojas aparecen varias bandas de color claro, a menudo al nivel de punto de unión de los pecíolos y tallos. Mas tarde pueden formarse grietas de dichas bandas, las cuales forman canceres, cuando el clima es húmedo. (Rodríguez,1994).

Los síntomas de la enfermedad en los frutos aparecen pequeñas manchas blancas, aguanosas y superficiales cuya parte central sobre sale mas tarde, la cual adquiere un color canela y se vuelve rugosa. El aspecto final de las manchas tiene la forma del ojo de un pájaro, con un diámetro de 3-6 mm; las cuales son características propias de la enfermedad, aunque no siempre ocurre este síntoma en el fruto. También puede ocurrir una coloración amarilla en la cicatriz del cáliz (Agrios, 1988)

En la papa el área intervenal de los folíolos de los tallos afectados se amarillenta y sus bordes se enrollan hacia dentro y se vuelven necróticos. El amarillamiento de las hojas va aumentando un marchitamiento progresivo, el cual continua hasta que todas las hojas del tallo se marchitan y este muere, por lo común los tallos marchitos no muestran una coloración interna considerable, pero si se corta el tallo a nivel de su base y se presiona, de sus haces vasculares exuda un liquido cremoso. (Agrios, 1988)

Los síntomas característicos de la enfermedad aparecen en los tubérculos antes o después de la cosecha y puede aparecer en solo algunos de los tubérculos de una planta. La infección y los síntomas comienzan a desarrollarse en el extremo del tallo del tubérculo y continúa avanzando a través de los tejidos vasculares. Cuando se hace un corte de los tubérculos infectados pueden observarse en primer termino un anillo de manchado vascular de color amarillo claro y cierta cantidad de exudado bacteriano que aumenta al ejercer presión sobre el tubérculo. Conforme avanza la enfermedad, en la región del anillo

vascular se desarrolla una pudrición caseosa o friable de color café claro o amarillo cremoso y cuando se presiona el tubérculo, de sus áreas enfermas sale un exudado pulposo y blando mientras que la pudrición de los tejidos del área vascular forma un anillo de cavidades más o menos continuo(Agrios, 1988).

Uso de Extractos Para el Control de Enfermedades

El uso de extractos vegetales para el control de plagas agrícolas era una practica ancestral, ampliamente utilizada en diversas culturas y región del planeta hasta la aparición de los plaguicidas sintéticos. (Molina 2001)

Molina, 2001, menciona algunos extractos de origen botánico para el control de plagas y enfermedades:

Control de bacterias con extracto de semillas de cítricos. Por mas de 10 años se ha utilizada en Costa Rica un bactericida, llamado Kilol LD f100. Este es un producto 100% natural, sin aditivos químicos que se emplea en la agricultura convencional, pero que además a sido aprobado por OMRI (Instituto para la Revisión de Materiales Orgánicos)para su uso en la agricultura orgánica.

Triac 70%. Es un aceite clarificado de Nim, hidrofobico que tiene acción acaricida funguicida. El Triac controla varias especies de ácaros fitopatogenos así como hongos que esporulan sobre las hojas, tales como: *Alternaria*, *Phytophthora* *Botrytis* además de mildius polvosos y royas entre otros.

Berna y Armario (2002), nos menciona que son diversos los plaguicidas de origen botánico y otros que investigan y desarrollan en la actualidad, con el objetivo de dar una cobertura en el problema del control de insectos, enfermedades y malezas. Nos dice que entre ellos están los siguientes: extractos vegetales de paraíso (*Melia azedarachlo*), extractos de semillas del Nim

(*Azadirachta indica*), extractos de crisantemo (*Chrysanthemum sp.*), extractos de tua-tua (*Jatropha gissipifolia*), extractos de verdolaga (*Portulaca oleracea*), extractos de plantas endémicas de islas canarias, extractos de vegetales de especies forestales, derivados de aceite de trementina, sustancias naturales antivirales, fármacos homeopáticos, brasinoesteroides, ácido piroleñoso, ácido giberilico, secreciones de milpiés (*Diploda*), otras especies de *Phytophthora*, *Bacillus subtilis*, *Photorhabdus luminescens*, así como otras muchas especies y compuestos, los cuales se pretenden desarrollar y aplicar en el medio donde habitan plantas, animales y personas.

Extracto de Cítricos

Los extractos de cítricos son fundamentalmente aceites esenciales obtenidos de las semillas de diferentes variedades de cítricos, como el caso de la toronja (*Citrus máxima*). Además son sustancias multicomponentes que dentro del fruto tiene función biológica específicas, que al extraerse y contraerse se modifican para encontrar usos diversos en la industria, siendo uno de los más recientes, el de agente bacteriano y fungicida (ORGANICITRUS, 2002).

Los mecanismos de acción de los extractos de cítricos son: el rompimiento de la pared celular en enlaces B 1-4, precipitación de proteínas, oxidación de protoplasma e inactivación enzimática, proporcionándoles un amplio espectro de acción (ORGANICITRUS. 2002).

Las principales ventajas de los extractos de cítricos son su inocuidad y biodegradabilidad, ya que la mayoría de los productos tratados con desinfectantes químicos se han convertido en compuestos tóxicos y de alto riesgo para la salud humana; del mismo modo ante productos sintéticamente creados y que no pueden ser incluidos como parte del ecosistema. La industria está aceptando productos naturales y biodegradables, gracias a que estos generan un mínimo de

corrosión a los equipos sin daño al personal que los emplea y su efecto residual es fácilmente controlable(ORGANICITRUS, 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro con plantas de encino (*Quercus laeta*) colectadas en el vivero de Forestal de dicha Universidad, ubicada a 7 km. de la ciudad de Saltillo, Coahuila, México, cuya altura es de 1743 m. s. n. m. y cuyas coordenadas geográficas oscilan entre 25° 22' y 25° 21' latitud norte 101° 01' y 101° 03' longitud Oeste del meridiano de Greenwich (Gamboa 1997).

Aislamiento de patógenos

Hongos

Para el aislamiento de patógenos de estos organismos se utiliza la técnica, de siembra de tejidos enfermos en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), para lo cual se cortaron pequeños trozos de tejido enfermo de aproximadamente 0.5 cm, los cuales se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante un tiempo de dos minutos, y después se lavaron dos veces con agua destilada estéril, se secaron sobre una sanita estéril y se procedió a colocar de cuatro a cinco trozos de tejido enfermo en cada caja con medio de cultivo PDA y se incubaron durante 48 horas a 28 °C y luego se colocaron bajo luz blanca durante 7 días(comunicación verbal).

Para la cenicilla polvorienta se utilizo la técnica de aislamiento directo ya que no han podido ser cultivadas en un medio artificial, por considerarse parásitos obligados. Esto consistió en hacer montajes directos utilizando un estereoscopio para observar los cleistotecios en las hojas de encino y después llevarlos al microscopio compuesto para su identificación (comunicación verbal).

Bacterias

Para el caso de las bacterias se utilizo el método de siembra de tejido enfermo por dilución, para el cual se selecciono el órgano de la planta que presentaba síntomas, en este caso la hoja, la cual presentaba lesiones en la nervadura (manchas cafés); haciendo uso de una navaja previamente flameada se cortaron pequeñas partes de la hoja aproximadamente de un diámetro de 0.5cm los cuales se maceraron y se colocaron con unas pinzas previamente flameadas en tubos de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril y se dejo reposar durante 10 minutos para así obtener el termino de este tiempo una solución inicial. (comunicación verbal).

Transcurrido este tiempo se llevo el material a la cámara de transferencia, la cual había sido previamente desinfectada con alcohol etílico al 96%, y ahí se realizaron las diluciones de la siguiente manera: haciendo uso de una pipeta esterilizada y apunta de mechero se coloco 1 ml de la solución inicial (10^{-1}) en un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril, obteniendo así la solución 10^{-2} la cual se homogenizó agitando el tubo para después tomar de esta solución 1ml para depositarlo en un segundo tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril, obteniendo así la solución de 10^{-3} y de esta manera se prosiguió hasta obtener la solución 10^{-5} (comunicación verbal).

Para el vaciado en los medios de cultivo, se utilizó las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} , que en teoría son las concentraciones en las cuales las colonias bacterianas crecerían de manera más separadas, lo cual facilitaría y permitiría hacer una mejor selección de las colonias de interés. El vaciado se hizo de la siguiente manera: con una pipeta estéril y junto a un mechero se vació 0.1 ml de dilución 10^{-3} en cada una de las cajas con medio de cultivo de B de King; las cuales estaban etiquetadas con la concentración utilizada. Posteriormente con una varilla de cristal y previamente flameada y junto a un mechero se esparció la muestra haciendo girar la caja petri y repitiendo una y otra vez el movimiento de la varilla de cristal con la finalidad de no concentrar el crecimiento en un solo punto de la superficie del medio de cultivo. De esta misma manera se procedió con la dilución 10^{-4} y 10^{-5} , una vez la siembra, se sellaron con Kleen pack y se colocaron en la incubadora a 28°C .

Las colonias desarrolladas en el medio B de King se seleccionaron en cuanto a su forma, característica de desarrollo en el medio. Y se llevaron a la cámara de transferencia la cual había sido previamente desinfectada con alcohol al 96% y haciendo uso de un asa bacteriológica previamente flameada, bajo un estereoscopio, se tomó una porción de cada colonia seleccionada, y de esta manera se transfirieron por estría cruzada a una nueva caja de medio de cultivo del mismo tipo de donde habían sido extraídas (B de King) con la finalidad de obtener cultivos puros. Una vez purificada las colonias bacteriana se transfirieron nuevamente a otras cajas con medio de cultivo diferencial YDC, D₁M, D₃K, D₅K y CNS. Las cajas se sellaron con Kleen pack y se colocaron de manera invertida en la incubadora a 28°C . (shaad, 1988).

Tinción de Gram

Una vez desarrollada la bacteria el primer paso fue hacer una tinción de Gram para saber si esta era Gram (+) o Gram (-) para esto sobre un portaobjeto previamente etiquetado con número de cepa se colocó una gota de agua destilada estéril y apunta de mechero se tomó una porción de la masa bacteriana y se hizo

un frotis, el cual se fijó a la flama y se dejó secar a temperatura ambiente; posteriormente bajo la llave de agua y sobre un puente de cristal se colocaron los porta objetos, a los cuales sobre el frotis se les adicionó solución de cristal violeta dejando actuar por un minuto, luego se decanto el colorante y se lavó con agua de llave a chorro lento para después aplicar la solución de lugol, la cual se dejo actuar también por un minuto; nuevamente se decanto el colorante y el frotis se lavó con una mezcla de alcohol-acetona hasta observar que no se desprendiera mas colorante, lavándose enseguida con agua de la llave, para impedir que el alcohol-acetona siguiera actuando; inmediatamente se le adición la solución safranina y se dejo actuar durante un minuto, transcurrido este tiempo se decanto el colorante, se lavó el frotis con agua de la llave y se dejo secar a temperatura ambiente, para después adicionarle un a gota de aceite de inmersión y finalmente observarlo al microscopio compuesto en un aumento de 100 X (Rodríguez, 1994).

Prueba de RYU

Para corroborar los resultados de la tinción de Gram se realizo esta prueba, la cuál consistió en hacer un frotis de una suspensión bacteriana sobre un portaobjeto con una de hidróxido de potasio (KOH); el cual se froto con un asa bacteriológica previamente flameada y levantarla para observar si había o no la formación de un hilo a partir de la masa bacteriana. (Rodríguez, 1994).

Tinción de flagelos

Esta prueba consistió en colocar en uno de los extremos del portaobjetos una gota de agua destilada estéril y con una asa bacteriológica previamente flameada, a punta de mechero se tomó crecimiento bacteriano desarrollado en le medio y se deposito en la gota de agua frotando suavemente para que se formara una suspensión; se inclino el porta objetos hacia uno de sus extremos de tal manera que las gotas se deslizara a lo largo de este, se dejo secar al aire libre enseguida es colocaron los porta objetos sobre un puente de cristal donde se adiciono la solución de mordente de flagelos dejándolo actuar durante cinco

minutos, transcurrido este tiempo se decanto la solución y se enjuago el frotis a chorro lento con agua de la llave, evitando que el agua cayera de golpe sobre la preparación; en seguida se le adiciono el cristal violeta y se dejo actuar por dos minutos, se decanto la solución y se enjuago con agua de la llave, teniendo siempre cuidado de que el agua no cayera de golpe sobre la preparación, se dejo secar a temperatura ambiente y adicionándole una gota de aceite de inmersión se observo al microscopio compuesto en un aumento de 100X (Rodríguez, 1994).

Producción de citocromo oxidasa

En una tira de papel filtro se colocó una gota de la solución acuosa al 1% de N,N, dimetil para fenil diamina, inmediatamente después y con ayuda de un asa de platino previamente flameada, se depositó sobre el reactivo un poco de crecimiento bacteriano, esperando alrededor de 20 segundos para ver si se observaba un cambio de coloración del reactivo(Rodríguez, 1994).

Prueba de catalasa

Sobre un portaobjeto se coloco una gota de agua oxigenada y una porción de masa bacteriana y se frotó para observar la presencia de burbujas en el caso de ser positiva o la ausencia de esta cuando la reacción era negativa (Rodríguez, 1994).

Metabolismo oxidativo y/o fermentación de la glucosa

Bajo la cámara de transferencia previamente esterilizada, con un asa bacteriológica se coloco una porción de masa bacteriana por picadura en dos tubos de medio Hunggh y Leifson, procurando que la bacteria llegará hasta el fondo o a la mitad del medio y al sacar el asa se hizo un movimiento ligero de rotación para ir depositando el excedente bacteriano a lo largo del medio. A uno de los tubos se le adiciono dos mililitros de aceite mineral esterilizado para provocar la condición anaerobia. A cada tubo se le colocó su respectivo testigo.

Los tubos se incubaron a 28°C por un espacio de 24-36 horas; se considero fermentación positiva cuando el medio con aceite mineral presenta un cambio de coloración de azul-verde amarillo y se considera oxidación cuando el tubo sin aceite mineral cambio de color en la misma forma (Rodríguez, 1994).

Producción de ácidos a partir de carbohidratos

Para esta prueba se prepara primero el medio YMG omitiendo la glucosa y el agar pero agregando 12 ml de azul de bromotimol al 0.2% (el cual se preparó disolviendo 0.2 gramos de azul de bromotimol en 5ml de hidróxido de sodio (NaHo) al 1 Normal y aforando a 100 ml con agua destilada). Ajustando el pH del medio a 7.0, se esterilizo por autoclave. Se preparo los carbohidratos disolviendo 10 gramos en 100ml y se esterilizaron por filtración. Se agregaron los carbohidratos cuando el medio estaba frio y se dispersaron asépticamente en tubos de 5 ml; luego se inóculo el medio con bacteria y se incubo a 28°C. La prueba se considera positiva cuando el medio de cultivo cambia de un color verde amarillo(Saettler *et al*; 1989).

Crecimiento en presencia de cloruro de tetrazolio

Cultivos bacteriano de 24-48 horas fueron sembrados en un medio con cloruro de tetrazolio, la siembra se realizó por punción con la ayuda de un asa bacteriológica, luego se incubó a 28°C (Schaad, 1988).

Identificación de un patógeno desconocido en la marchitez del encino

Para identificar el o los patógenos asociados en la marchitez del encino, se llevaron a cabo los postulados de Koch. (Agrios, 1988)

1. El patógeno debe encontrarse asociado con la enfermedad en todas las plantas enfermas que se examinen.
2. El patógeno debe aislarse y desarrollarse en un cultivo puro en medios nutritivos y se deben describir sus características (parásito no obligado), o bien debe permitirse que se desarrolle sobre una planta hospedante susceptible (patógeno obligado) y registrar su presencia y los efectos que produzca.
3. El patógeno que se desarrolla en un cultivo puro debe ser inoculado en plantas sanas de la misma variedad o especie en que apareció la enfermedad y debe producir la misma enfermedad en las plantas inoculadas.
4. El patógeno debe aislarse una vez más en un cultivo puro y sus características deben corresponder a las anotadas en el segundo punto.

Evaluación del Funguicida Orgánico (Antimicrobial CitroBio)

Es un producto de origen botánico hecho a base de extractos de cítricos denominado "Antimicrobial CitroBio"

La evaluación del producto orgánico consistió en dos experimentos con seis tratamientos y cuatro repeticiones cada uno los cuales fueron sometidos a diferentes concentraciones quedando de esta forma. (cuadro 1)

Cuadro No 1 Dosis de extractos de cítricos utilizados en los diferentes tratamientos, expresados en parte de producto por partes de PDA y en partes por millón(ppm)

Tratamientos	Dosis Producto: PDA		Dosis (p.p.m.)
T ₁	0.0	Testigo	0
T ₂	1:2000	Dosis baja	500
T ₃	1:1000	Dosis baja	1000
T ₄	1:500	Testigo comercial	2000
T ₅	1:250	Dosis alta	4000
T ₆	1:125	Dosis alta	8000

Preparados las diferentes dosis y vaciado en las cajas petri, se dejo 24 horas antes de sembrar los hongos, para que el medio de PDA(Papa Dextrosa Agar), se solidificara; una vez transcurrido este tiempo se realizo la siembra de los hongos en las diferentes concentraciones , cuando todo esto ya había concluido se sellaron las cajas petri con Klen pack y se colocaron en la cámara a una temperatura de 28°C se dejo transcurrir un tiempo de 48 horas, para comenzar a tomar los datos de crecimiento de los hongos, esto se dejaría de hacer hasta que el testigo cubriera por completo el diámetro de la caja petri.

Para la toma de datos se hizo la siguiente tabla tomando en cuenta el parámetro ya mencionado anteriormente, como es el crecimiento del hongo y de esta manera proceder a su análisis estadístico.

Cuadro 2 Formato de toma de datos en el desarrollo del micelio de *Fusarium solani* y *Rosellinia necatrix* en el laboratorio.

Tratamiento	Desarrollo del micelio del hongo /día en cm.									Media general T
	De patógeno									
T1R ₁										
T ₁ R ₂										
T ₁ R ₃										
T ₁ R ₄										
T ₆ R ₄										

Análisis Estadístico

Para el análisis de resultado primeramente se obtuvo el promedio general de desarrollo del micelio del hongo. Esto se hizo para cada uno de los tratamiento y repeticiones.

Diseño completamente al azar

Cabe señalar que se decidió usar esta variante del diseño completamente al azar, ya que estos permiten flexibilidad completa. Pueden usarse cualquier número de tratamientos y de repeticiones.(Martínez, 1988).

Además esta distribución se usa cuando se estudian bajo las siguientes condiciones.(Reyes, 1978)

- Lugar y unidades experimentales muy uniforme
- Cuando sea probable que una parte del experimento se pierda
- Cuando se tiene experimento pequeño y donde la mayor precisión de otros no compensa la pérdida de grados de libertad del error

Modelo estadístico de este diseño es el siguiente.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

$$j = 1, 2, \dots, r_i$$

$$i = 1, 2, \dots, t$$

Donde μ es un efecto común a todas las unidades experimentales, T_i es el efecto del tratamiento i , e_{ij} el término de error y Y_{ij} el valor de la característica en estudios, las dos últimas sobre la unidad experimental (ij) diseño experimental.(Martínez, 1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento de microorganismos

Hongos

De los aislamientos hechos en medio de PDA, se obtuvieron varios crecimientos fungosos, los cuales mediante una selección basada en el color y desarrollo de micelio se obtuvieron seis tipos de colonias, estas se transfirieron a cajas con el mismo medio de cultivo (PDA) y se incubaron durante 5 días a una temperatura de 28°C y luego se realizaron montaje y haciendo uso de las claves taxonómicas de Barnett & Hunter (1987), se identificaron los siguientes géneros; *Alternaria*, *Bipolaris*, *Chaetophoma*, *Fusarium* y *Pestalotia*. De acuerdo con la descripción de Smith (1988) se pudo identificar el genero *Rosellinia necatrix*, ya que este se caracteriza por la dilatación que se observa en muchas células cerca del septo siendo esta la especie mas común

Para la cenicilla polvorienta se realizo la técnica de montaje directo donde se identifico el genero *Microsphaera alni* que forma conidias elípticas en forma de barril y cleistotecios de unas 180-200µm de diámetro, que contiene hasta 15 ascas incoloras con 8 esporas elipsoide en cada asca. (Smith 1988)

Una vez identificado los generos se procedió a determinar la especie de *Fusarium*, se utilizaron las claves propuestas por Both(1977); determinando así que se trataba de la especie *F. solani* que presentó microconidios y macroconidios y una fialide larga y en forma de cilíndrica.

Pestalotia manguiifera se pudo determinar ya que esta presenta conidios oscuros formadas por cinco células y de forma oblongada o elíptica con tres apéndices hialinos; las dos células terminales son hialinas o de color verde olivo de forma cónica mientras que las tres células de la parte media son generalmente de color café claro a oscura. (Fuentes *et al*; 2001).

La especie de *Alternaria cheiranthi* se pudo determinar de acuerdo a la clasificación que presenta Romero (1988); ya que esta especie presenta conidios cónicos a ovals; el pico de tamaño casi igual al del cuerpo principal y frecuentemente con un hinchamiento terminal.

Bacterias

De los aislamientos hechos en los medios de cultivos, se obtuvieron crecimiento bacteriano únicamente en dos de ellos y de la misma concentración siendo esta 10^{-5} . los medios fueron CNS y YDC. Para el caso del medio CNS las colonias presentaban un crecimiento lento, consistencia mucoide, colonias convexas y de color amarillo a naranja, características del genero *Clavibacter*. Y para el caso, del medio YDC el crecimiento bacteriano fue casi el mismo al de las colonias desarrolladas en el medio CNS. Y en el resto de los medios no hubo crecimiento bacteriano.

Las colonias bacterianas aisladas en medio YDC y CNS el desarrollo fue lento, obteniendo el crecimiento bacteriano en un tiempo de 48 horas después de haber realizado el aislamiento presentan casi las mismas características en los medios de cultivo y viceversa. Presentando las mismas características cuando la bacteria que había sido aislada del medio de CNS al sembrarlo en YDC y de igual forma para la otra tratándose así de la misma bacteria.

Una vez purificadas las bacterias, se precedió a la caracterización de estas, mediante pruebas bioquímicas. (Schaad 1988) Cuadro 3 y 4

Cuadro 3.- Características diferenciales de bacterias fitopatogenas corineformes de acuerdo a (Schaad, 1988)

Patógeno	Gram	Movilidad	Pigmento YDC	Crecimiento		Producción de ácidos		
				CNS	TTC	Ribosa	sorbitol	Inulin
<i>Clavibacter michiganense</i>	+	-	amarillo	+	+	-	-	-

Cuadro 4.- Pruebas bioquímicas para los aislamientos obtenidos de encino

Aislamiento	Gram	Ryu	Movilidad	Oxidasa	Catalaza	O/f		Pigmento en YDC	Crecimiento		Producción de ácidos		
						+	-		CNS	TTC	Ribosa	Sorbitol	Inulin
1	+	-	-	-	+	+	-	Amarillo	+	+	-	-	-

Los resultados de esta prueba concuerdan con los de *Clavibacter michiganense* caracterizada por (Schaad 1988).

Al realizar la tinción de Gram, esta fue positiva para las dos bacterias ya que la coloración del frotis fue morada, además se observaron células de forma cocoides agregados en forma de coma, lo cual coincide con lo mencionado por Schaad, (1988). Para corroborar este resultado se realizó prueba de RYU, la cual fue negativa; siendo este el resultado esperado, ya que el resultado de esta prueba debe ser opuesto al de la tinción de Gram, la prueba oxidasa se considera negativa, debido a que el papel filtro no tomo ninguna coloración transcurrido los 10 segundos requeridos para el efecto. La prueba de catalaza fue negativa al no producir burbujas al entrar en contacto la masa bacteriana con el agua oxigenada. Después de esto se hizo la prueba de movilidad la cual nos dio negativo al no encontrar ningún flagelo en la bacteria. El crecimiento en medio de CNS fue positivo, al mostrar un desarrollo de la bacteria en dicho medio, al igual que en el medio TTC. El resultado en la prueba de oxidasa fue positiva, debido a que se manifestó un cambio de coloración del medio que no contenía aceite mineral, siendo así fermentación negativa. La producción de ácidos a partir de carbohidratos (ribosa, sorbitol inulina) se considero negativa al no experimentar ningún cambio de coloración en el medio de cultivo(verde amarillo).

Pruebas de patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad en plantas de encino se hizo debido a que no existe un registro en el cual uno se pueda apoyar para afirmar que los patógenos aislados son la causa de la marchitez de las plantas de encino ya que los microorganismos aislados fueron los siguientes: *Alternaria cheiranthi*, *Bipolaris sp.*, *Chaetofoma sp*, *Fusarium solani*, *Pestalotia manguifera*, *Rosellinia nacatrix* y *Clavibacter michiganense*. La inoculación de los patógenos (Hongos y Bacteria) se llevo acabo dependiendo el medio de donde fue aislado (órgano de la planta), como el caso de *Chaetophoma*, *Fusarium* y *Rosellinia* que fueron inoculados en la raíz, manifestando los primeros síntomas en la planta, causado por *Fusarium* y *Rosellinia*, durante los primeros cuatro días y matándolos a los 7 días. Además se tuvo la oportunidad de observar la agresividad de estos dos patógenos al inocularlo en una

misma planta manifestándose los daños en un menor tiempo. Esta prueba de patogenicidad se hizo para comprobar si había una asociación de *Fusarium* y *Rosellinia*, ya que estos habían sido encontrados en un mismo crecimiento fungoso en una de las cepas. Con lo que respecta al hongo *Chaetophoma* no presento ningún tipo de síntomas en la planta en la cual fue inoculada y confirmando de esa forma que se trataba de un hongo saprofito.

Para el caso de los géneros *Alternaria cheiranthi*, *Bipolaris*, *Pestalotia manguifera* y para la bacteria *Clavibacter michiganense*, se hicieron las diluciones para llevar a cabo la inoculación en hojas de encino que fueron colocadas en una caja pastelera teniendo dentro papel de estraza estéril levemente humedecida con agua estéril y una malla mosquitera encima del papel para evitar que quedara en contacto directo las hojas de encino con el papel, luego se procedió a colocar las hojas para que una vez más se inocularan los patógenos con unas jeringas de insulina de las diluciones hechas de los hongos, bacteria y la mezcla de todos ellos y una vez realizado todo esto se sellaron muy bien las cajas pasteleras y se dejaron pasar 4 días, una vez transcurrido este tiempo se procedió a hacer la observación, para ver si había algún daño en las hojas donde habían sido inoculados los patógenos y de esa forma se comprobó que el único patógeno que causa un daño en las hojas de encino es *Pestalotia*. Sin embargo no es de suma importancia debido a que los daños que causó en las hojas fueron mínimos a un así proporcionándole las condiciones favorables para su desarrollo. Y para corroborar los resultados obtenidos de las pruebas de patogenicidad se hizo la siembra de tejidos enfermos de las plantas donde fueron inoculados los patógenos del género *Fusarium*, *Rosellinia* y *Pestalotia*. Únicamente se hizo para estos géneros debido a que fueron estos los que causaron daño en las plantas.

Evaluación del Fungicida Orgánico (Antimicrobial CitroBio)

Una vez obtenido los resultados de las pruebas de patogenicidad se procedió a la evaluación del fungicida orgánico, donde se había decidido someter a cinco dosis diferentes de fungicida orgánico en presencia de un testigo, a los dos únicos

hongos fitopatogenos de mayor importancia, que eran *Fusarium solani* y *Rosellinia necatrix* debido a la agresividad que manifestaron en las plantas de encino.

Una vez finalizado la toma de datos y calculado el promedio general de inhibición del micelio del hongos para cada tratamiento y repetición por efecto del daño causado por el fungicida orgánico sobre *Fusarium solani* y *Rosellinia necatrix* (Cuadro 9 y 12 del apéndice) se procedió a ingresar las datos en el programa estadístico de la Universidad Autónoma de Nuevo León para correr el análisis de varianza y las pruebas de comparación múltiples de medias por los métodos de:

- Pruebas de Duncan.
- Pruebas de Tukey.

Esto se hizo para un diseño completamente al azar con igual número de repeticiones.

Al hacerle análisis de varianza (cuadro 10 y 13 del apéndice) para la variable de respuesta “Porcentaje de inhibición del micelio del hongo para *Fusarium solani* y *Rosellinia necatrix* se encontró que los tratamientos producen efectos distintos y la diferencia entre medias es altamente significativa al realizar las pruebas de comparación múltiples de media se encontró que existen diferentes grupos estadísticos y no existe una alta significancia a excepcion de las medias del T₅ y T₆ tanto entre ellas como en la comparación de las otras.(Cuadro 11 y 14).

A pesar de que la mayoría de los tratamientos tienen efectos diferentes cabe señalar que no es un producto que se pueda recomendar para controlar a estos dos hongos. Aun cuando se logro inhibir entre un 45% a 50% en el tratamiento seis en comparación del testigo absoluto T₁ y un 30% a 33% en comparación al testigo comercial T₄, ya que para lograr todo esto se tuvo que incrementar cuatro veces mas la dosis(8000 ppm) de la recomendada (2000ppm). Pero si se sabe que el fungicida orgánico se puede usar para controlar a otros géneros, donde se tienen resultados

positivos, principalmente en patógenos de postcosecha que atacan al tomate, alargando así la vida de anaquel (Valencia 2002).

En los siguientes cuadros (5 y 6) se muestra el porcentaje de desarrollo e inhibición *Fusarium solani* y *Rosellinia necatrix* para cada uno de los tratamientos, siendo el 1 que es el testigo absoluto que presentó un mayor desarrollo y una inhibición de 0%, en el T₆, que es la dosis más alta donde hubo un menor desarrollo.

Fusarium solani

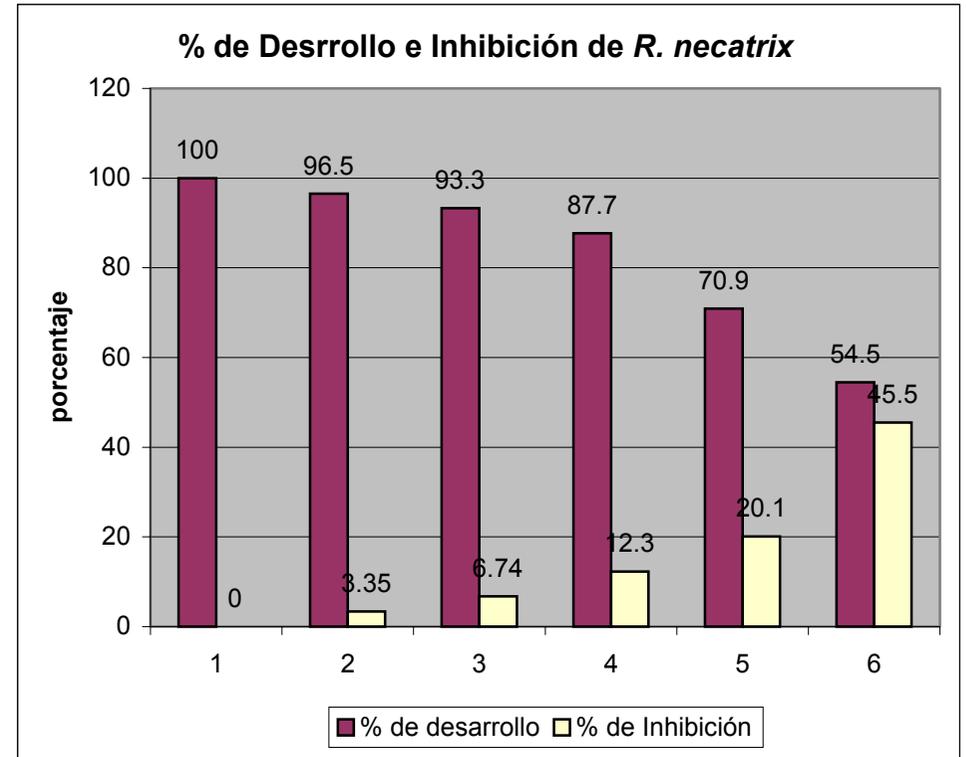
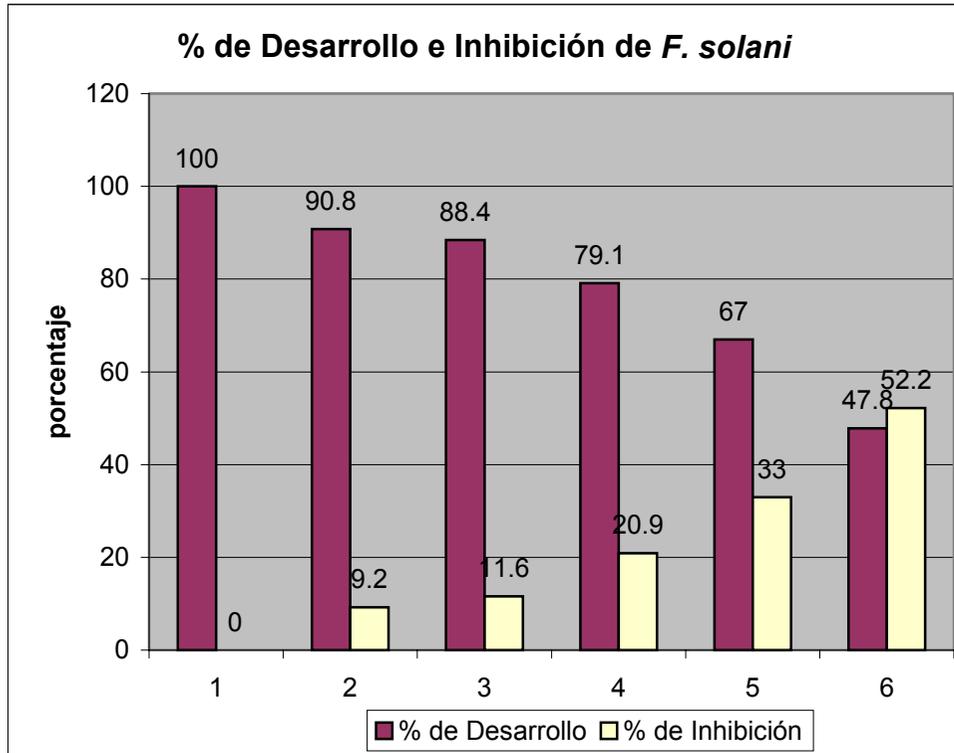
Trata	% de Desarrollo	% de Inhibición
1	100	0.0
2	90.8	9.2
3	88.4	11.6
4	79.1	20.9
5	67.0	33.0
6	47.8	52.2

Cuadro No. 5.- porcentaje de desarrollo e inhibición de *Fusarium solani*

Rosellinia necatrix

Trata.	% de desarrollo	% de Inhibición
1	100	0
2	96.5	3.35
3	93.3	6.74
4	87.7	12.3
5	70.9	20.1
6	54.5	45.5

Cuadro No. 6.- Porcentaje de desarrollo e inhibición de *Rosellinia necatrix*



Cuadro No. 7 y 8.- Representación grafica de valores de los cuadros 5 y 6 de *F. Solani* y *R. necatrix*

CONCLUSIONES

Los patógenos aislados son: *Alternaria cheiranti*, *Bipolaris*, *Clavibacter michiganense*, *Chaetophoma*, *Fusarium solani*, *Pestalotia manguiifera*, *Rosellinia necatrix* y *Microsphaera alni*.

Los microorganismos asociados en la marchitez del encino son: *Fusarium solani* y *Rosellinia necatrix* y en menor grado *Microsphaera alni*.

El producto orgánico (Antimicrobial CitroBio) no tiene un efecto fungicida en estos dos hongos *Fusarium solani* y *Rosellinia necatrix*

RESUMEN

La marchitez del encino es una de las enfermedades mas importantes tanto en vivero como en el bosque, es por tal razón que los objetivos de este trabajo es identificar el agente asociado en la marchitez del encino y evaluar un fungicida orgánico para el control del agente asociado en la marchitez del encino. Para poder realizar esta investigación se siguió la siguiente metodología que consistió en colectas de plantas de encino en el vivero de Forestal de la UAAAN, aislamientos de hongos en medio de cultivo PDA y aislamiento directo, y para la bacteria se hizo en medios selectivos; KB, CNS y YDC las cuales se caracterizaron mediante pruebas bioquímicas y como resultado se

□bjbjýíí□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□

□□□Ä

□□□□□↑

□□□□□↑

□□□Ä

□□□□□↑

□□□□□↑

□□*d*□□□□□□□□□□R

Con lo cual concluimos que los patógenos involucrados en la marchitez del encino en el vivero de Forestal son *Fusarium solani*, *Rosellinia necatrix*, *Chaetophoma*, *Alternaria cheiranti*, *Bipolaris*, *Pestalotia manguifera*, *Microsphaera alni* y la bacteria *Clavibacter michiganensie*. Siendo los dos primeros de mayor importancia. Y en la evaluación del producto orgánico se llegó al resultado de que no tiene un efecto sobre el crecimiento micelial en concentraciones bajas, ya que el mejor tratamiento que se obtuvo fue el seis seguido del tratamiento cinco a una concentración alta.

BIBLIOGRAFÍA

Agrios, N. G. 1988, Plant Pathology. Third Edition, Academic Press Inc. London 803p.

Alexopoulos, J. C Mims, Blackwell M, C. W. 1996. Introductory Mycology. Fourth Edition Edition. Edit. John Wiley & Sons. New York. 632 Pág.

Barnett, H. L. & Hunter, B. B. 1987. Ilustred genera of imperfect fungi. Fourt Edition. Edit; Macmillan Publishing. United State of America. 241 Pag.

Berna, C. A., Armario, A. D. 2002: Impacto Social del Uso de los Plaguicidas en el Mundo. Congreso Internacional Virtual Agropecuario UNAM 2002.

<http://www.congresiva.unam>. Mx /PDRA/10

Boot, C. 1977, Fusarium Laboratory Guide to Identification of the Major Species. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England .

Dixon, G. R. 1981. Vegetable Crop Disease. Head of Horticulture División School of Agriculture Aberdeen, Uk Hong kong.

Fuentes, D. G. e Ireta, M. J. 2001. Enfermedades y Normatividad de Frutales del Pacifico Centro - Sur de México. Ed; 1ª. Cd Obregón Sonora México

Gamboa, A, R. 1997. Evaluación de Extracto vegetal acuoso sobre el control de la pudrición de la raíz y corona (*Fusarium oxysporum f sp radicis-lycopersici*). Tesis Licenciatura UAAAN. Buenavista Coahuila. México

García, A. M. 1971, Patología Vegetal Practica. Ed;1ª. Edit; Limusa Wiley, S. A. México

Garza, G. J. L. 1996. Fitopatología General. Ed; 1^a. Universidad Autónoma de Nuevo León Facultad de Agronomía, Marín, N.L.

Jones, J. B. Stall, R. E. & Zitter, T. A. 1991. Compendium of tomato diseases. The American Phytopathological Society. E. U. A. p1

Jones, S. B. 1988. Sistemática Vegetal. Edit Mc Graw - Hill. The University of Chicago Press, Chicago 527 Pág.

Kenneth, H. R. 1979, Wescotts plant disease handbook, Fourth edition. Van Nostrand Reinold Company New York.

Martínez, G. A. 1988. Diseños Experimentales. Ed; 1^a. impreso en México. Edit; Trillas, S.A. de C.V. 756 Pág.

Martínez. G. T. y Chacala, H. A. 1994. Los Árboles de la Ciudad de México. Ed; 1^{ra}. Universidad Autónoma Metropolitana. Azcapotzalco, México, Edo. de México D.F. 350 Pág.

Molina N. 2001. Uso de Extractos Botánicos en el Control de Plagas y Enfermedades: manejo integrado de Plagas. 59,76, 77, CATIE. Costa Rica
http://www.catie.ac.cr/informacion-/RMIP/reusa/pag_76.pdf.

Organicitrus. 2002. Productos Orgánicos. Los Extractos Cítricos.

<http://www.organicitrus.ss.com/reusa/pag76.pdf>

Peña, I. A. 1987. Patología de los Cultivos Florales y Ornamentales, Edit; Mundi
Prensa. Madrid España. 233 Pág.

Reyes, C. P. 1978. Diseños Experimentales Agrícolas. Ed; 1^a. Impreso en
México. Edit; Trillas, S.A. 344 Pág.

Romero, C. S. 1988. Hongos Fitopatogenos. Universidad Autonoma de Chapingo.
Edo de México. México, D.F. 347 Pag.

Rodríguez, M. M. De L. 1994. Manual de Identificación de Bacterias. Fitopatógenas.
Universidad Autónoma Chapingo. Edo. México, México

Saettler. A W., Shaad. N. W. and Roth. D. A. 1989. Detection of bacteria in seed
and other plaiting material. The American Phytopathological Society. APS
press. Unites States of America. 101 p.

Shaad, N. W. 1988. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacterial.

Ed; 2^a. The American Phytopathological Society . APS Press. Unites

State of America 109 pág.

Shaw, B. J. 1948. Forest. Pathology. Ed; 2^a. Edit; Mc Graw-Hill Book Company, Inc.

New York Toronto London. 550 Pág.

Sinclair. W, A. Lyon H, H.; Johnson W. T. 1987. Disease of Tree and Shrubs.

Ed; 1^a: Edit; Comstock Publishing Associates, Cornell Univers Press, Ithaca

and London. 574pág.

Smith, M. I.; Dunez, J. ; Lelliott, R. A. ; Phillips, D. H. 1988. Manual de Enfermedades

de las Plantas. Edición Española, Madrid España. 671 Pág.

Schaad N. W.1988. Laboratory Guide for Identification of Plan Pathogenic Bacteria.

Ed;2^a . The American Phytopathological Society. APS Press. Unites

Estates of America.

Torres, J. J. 1993. Patología Forestal. Ed;2^a Edit Mundi-Prensa. 270p

True R. P., Barnett, H. L., Dorsey, C. K. and Leach, J. G. 1960. Oak wilt in West
virginia. West Virginia University Agriculture experiment state.

Valencia, B. R. 2002. Evaluación de Extractos de Cítricos Contra Patógenos de
Postcosecha en el cultivo de Tomate(*Lycopersicon esculentum Mill Var. Saladette*)
Tesis Licenciatura UAAAN. Buenavista Coahuila. México.

A P E N D I C E

CUADRO No. 9.- Promedio de porcentaje de inhibición del hongo para cada tratamiento y repetición por efecto del daño causado por el fungicida orgánico sobre *F solani*

TRATA.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	00.00	0.00	0.00	0.00
2	16.60	9.90	5.27	5.00
3	17.20	9.30	8.72	11.10
4	28.20	16.50	20.50	18.70
5	36.90	31.00	32.50	31.50
6	55.60	48.40	47.70	57.10

CUADRO No. 10.- Análisis de varianza para la variable de respuesta “porcentaje de inhibición del micelio” de *F. solani* por efecto del daño del fungicida orgánico en un diseño completamente al azar con igual número de repeticiones.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
----	----	----	----	---	-----

TRATAMIENTOS	5	5042.9	1008.58	59.7**	2.64	3.94
ERROR	18	0.366577	0.020365			
TOTAL	23	18.595367				

C.V. = 16%

CUADRO No. 11.- Resultados de la comparación de medias para la variable de respuesta “porcentaje de Inhibición del micelio” de *F. solani* por efecto del daño del fungicida orgánico por el método de Duncan y Tukey para un diseño completamente alzar con igual número de repeticiones.

TRATAMIENTO	MEDIA
6	45.5 A
5	29.1 B
4	12.3 C
3	6.64 CD
2	3.35 CD
1	0.00 D

CUADRO No. 12.- Promedio de porcentaje de desarrollo del micelio del hongo para cada tratamiento y repetición por efecto del daño causado por el fungicida orgánico sobre *Rosellinia necatrix*

TRATA.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	00.0	00.00	00.00	00.00
2	9.32	00.40	3.08	13.40
3	19.40	1.20	5.79	0.20
4	26.50	2.30	12.60	7.80
5	33.60	28.00	27.00	27.00
6	49.20	43.00	48.00	48.00

CUADRO No. 13.- Análisis de varianza para la variable de respuesta “porcentaje de inhibición del micelio” de *F. solani* por efecto del daño del fungicida orgánico en un diseño completamente al azar con igual número de repeticiones.

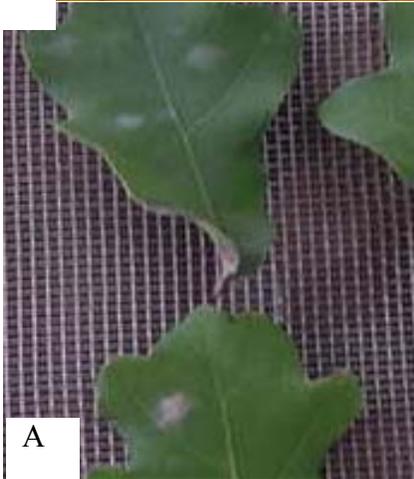
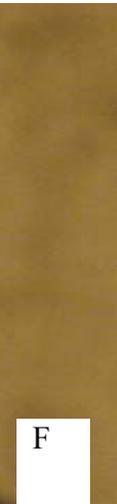
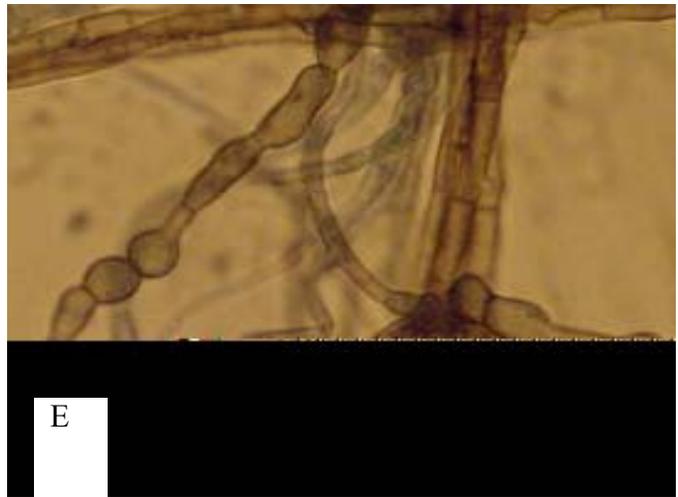
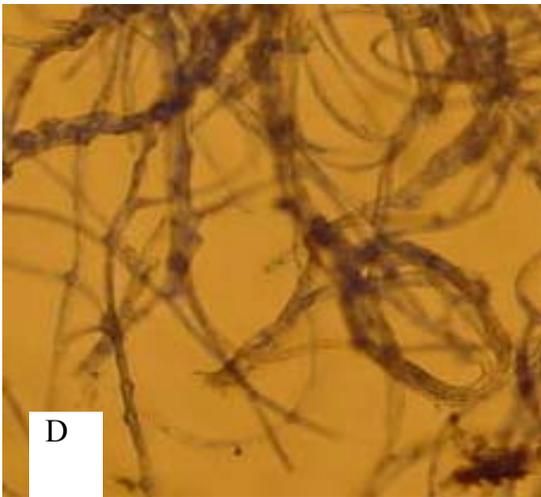
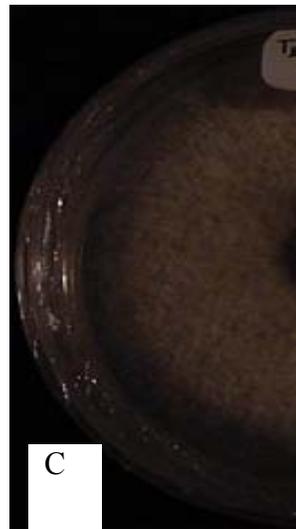
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	5	4988.97	497.8	17.35**	2.64 3.94
ERROR	18	675.27	37.52		
TOTAL	23	5664.24			

C.V. = 31.6%

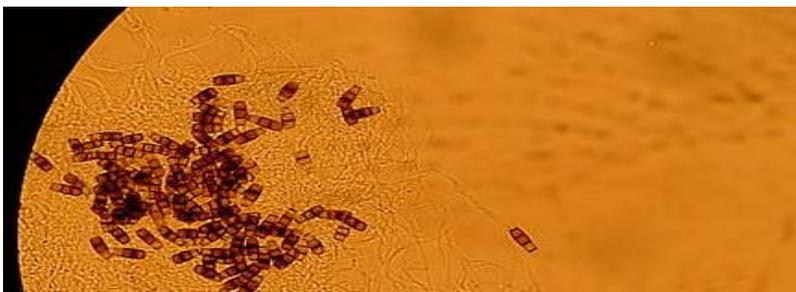
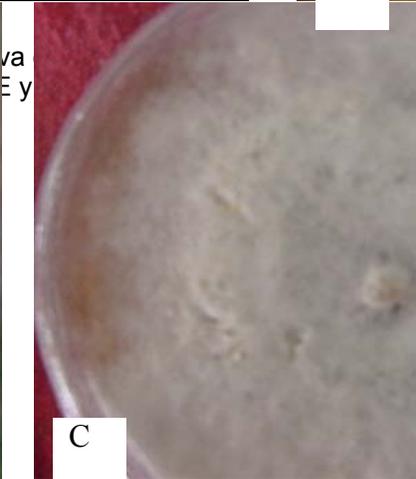
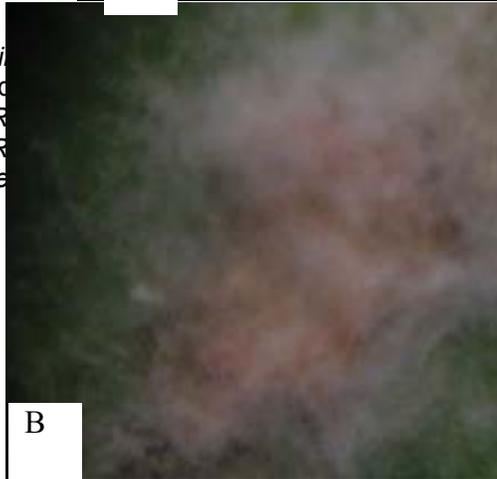
CUADRO No. 14.- Resultados de la comparación de medias para la variable de respuesta “porcentaje de inhibición de micelio” de *R necatrix* por efecto del daño del fungicida orgánico por el método de Duncan y Tukey para un diseño completamente alzar con igual número de repeticiones

TRATAMIENTO	MEDIA
6	52.2 A
5	33.0 B
4	20.9 C
3	11.6 D
2	9.2 D
1	0.0 E

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05



le Roselli
observac
ado por R
ado por R
ellinia ne



D

E

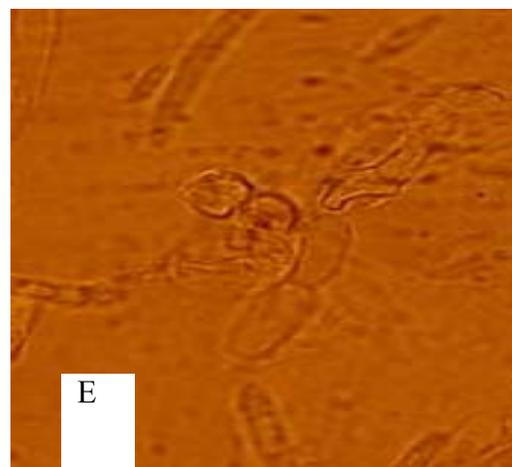
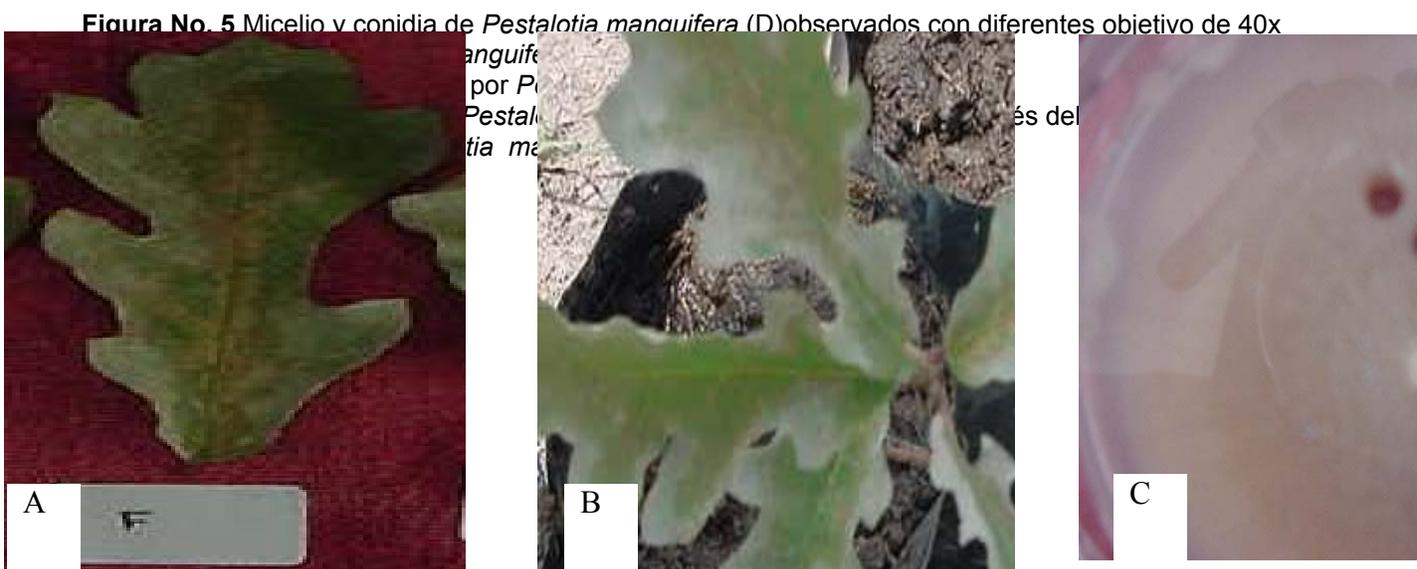


Figura No. 8 Macroconidio, Microconidio y Clamidiosporas de *Fusarium solani* (D,E)

Figura No. 9 Síntomas causado por *Fusarium solani* en follaje (A y B)

Figura No.10 Micelio de *Fusarium solani*(c)



A



B



C



D



E

Figura No. 11 Clesitotecio de *Microsphaera alni* (B)
Ascas con ascosporas de *Microsphaera alni* (C y D)
Ascosporas de *Microsphaera alni* (E)
Figura No. 12 Síntoma causado por *Microsphaera alni* en el follaje (A)