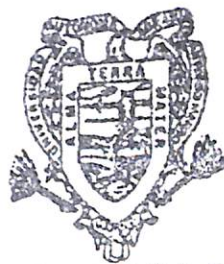


ASOCIACION DE LOS HONGOS *Fusarium oxysporum*  
Schlecht. Y *Verticillium dahliae* Kleb. EN LOS SINTOMAS  
DE LA PUNTA MORADA DE LA PAPA EN EL SUR  
DE COAHUILA Y NUEVO LEON.

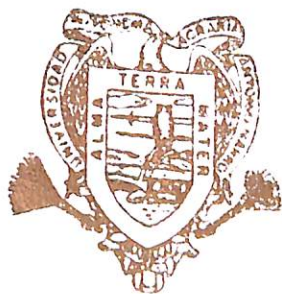
HECTOR HERNANDEZ HUERTA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS  
EN PARASITOLOGIA AGRICOLA



BIBLIOTECA  
EGIDIO G. REBONATO  
BANCO DE TESIS  
U.A.A.N.



Universidad Autónoma Agraria  
"Antonio Narro"  
PROGRAMA DE GRADUADOS  
Buenvista, Saltillo, Coah.  
JUNIO DEL 2000

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

ASOCIACION DE LOS HONGOS *Fusarium oxysporum* Schlecht. y  
*Verticillium dahliae* Kleb. EN LOS SÍNTOMAS DE LA PUNTA MORADA DE  
LA PAPA EN EL SUR DE COAHUILA Y NUEVO LEON.

TESIS

POR

HÉCTOR HERNÁNDEZ HUERTA

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y aprobada  
como requisito parcial, para optar al grado de:


MAESTRO EN CIENCIAS  
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal:

  
M.C. Abel Sánchez Arizpe

Asesor:

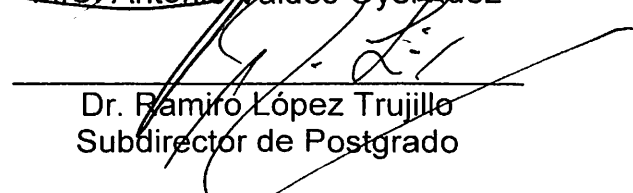
  
Dr. Melchor Cepeda Siller

Asesor:

  
M.C. Jesús García Camargo

Asesor:

  
M.C. Antonio Valdés Oyervides

  
Dr. Ramiro López Trujillo  
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, Junio de 2001.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**) por su apoyo económico, sin el cual no hubiera sido posible culminar un objetivo más de mi preparación académica.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, en especial al **Departamento de Parasitología Agrícola** por aceptarme nuevamente en sus instalaciones y adquirir sus conocimientos y experiencias, indispensables para mi formación profesional.

Al **M.C. Abiel Sánchez Arizpe**, el amigo, siempre disponible, por su importante asesoría y por la confianza depositada en mi para la realización de esta investigación.

Al **Dr. Melchor Cepeda Siller** por su amistad incondicional, por su tiempo dedicado y acertadas sugerencias para el buen desarrollo de este trabajo.

Al **M.C. Jesús García Camargo** por su valiosa amistad y sus atinadas recomendaciones para llevar a buen término dicho proyecto.

Al **M.C. Antonio Valdés Oyervidez** por su empeño, aportaciones y disponibilidad para la revisión de esta investigación.

## DEDICATORIA

A **Dios** por permitirme escalar un peldaño más, por darme fe y fuerza de voluntad para lograrlo.

A mi esposa **Laura Lety**, gracias por ser mi compañera, con quien he compartido parte de mi vida, por tu comprensión, paciencia y apoyo en todo momento. A ti que formas parte de mi existencia te dedico este sencillo trabajo.

A mi gran amiga, mi pequeña y querida hija **Katya Paola**, la experiencia más bonita que la vida me ha brindado y motivo para seguir superándome.

A mis padres **Profr. Francisco Hernández M. y Sra. Eva Huerta M.** con respeto y admiración, ejemplo de sacrificio y esfuerzo, siempre entregando lo mejor de si, sin esperar nada a cambio, quienes con su inquebrantable voluntad y trabajo han forjado en sus hijos hombres de bien. **Gracias mil.**

A mis **hermanos, cuñadas (os) y sobrinos (as)** por ser mis mejores amigos, de quienes siempre he recibido afecto y palabras de aliento para seguir adelante.

A todos mis **maestros**, pilares de mi formación profesional, un ejemplo a seguir.

A todos mis **compañeros y amigos** por compartir juntos momentos importantes e inolvidables, les estaré siempre agradecido.

A mi suegra **Sra. Francisca Tobias F. e hijas** por su confianza e incondicional apoyo durante mis estudios de Postgrado. **Gracias.**

## COMPENDIO

### **ASOCIACION DE LOS HONGOS *Fusarium oxysporum* Schlecht. y *Verticillium dahliae* Kleb. EN LOS SINTOMAS DE LA PUNTA MORADA DE LA PAPA EN EL SUR DE COAHUILA Y NUEVO LEON.**

POR

**HÉCTOR HERNÁNDEZ HUERTA**

**MAESTRÍA EN  
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
Buena Vista, Saltillo, Coahuila. Junio 2001.**

**M.C. Abiel Sánchez Arizpe –Asesor-**

**Palabras claves:** Papa, Punta Morada, *F. oxysporum*, *V. dahliae*, Inoculaciones.

El objetivo del presente trabajo de investigación fue conocer el efecto de los hongos *F. oxysporum* y *V. dahliae* en los síntomas de la Punta Morada de la Papa, para ello se realizaron colectas de plantas con síntomas de la enfermedad en diferentes lotes previamente seleccionados en la región antes mencionada, dichas muestras fueron depositadas en bolsas de plástico y

transportados para su procesamiento al laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN.

Después de haber realizado los aislamientos, identificación, purificación e incremento de los patógenos se procedió a realizar las pruebas de patogenicidad, utilizando para ello cuatro técnicas de inoculación: Cortes al Tubérculo, Explantes al Suelo, Inyección al Tallo y Explantes al Tallo, los hongos se inocularon por separado y combinados a la vez en cada técnica, los tubérculos utilizados fueron de la variedad alpha; para las dos primeras técnicas las inoculaciones se realizaron al momento de la siembra de los tubérculos y en las técnicas restantes se efectuaron cuando las plantas tenían 33 días después de la siembra y de 15-20 cms de altura. Los síntomas de la enfermedad para el caso de las inoculaciones realizadas al momento de la siembra comenzaron a manifestarse a los 55-65 días después y en las plantas inoculadas 33 días después de la siembra los síntomas aparecieron a los 30 días después; los síntomas observados fueron plantas cloróticas, foliíolos con coloraciones moradas, algunos brotes axilares, esporádicamente presencia de tubérculos aéreos, necrosis vascular en tallos y tubérculos.

Posteriormente se realizaron los reaislamientos de los hongos de las plantas inoculadas que presentaron síntomas de la enfermedad y las características morfológicas de dichos hongos coincidieron con las observadas en los aislamientos.

## ABSTRACT

**FUNGUS ASSOCIATION OF *Fusarium oxysporum* Schlecht. AND *Verticillium dahliae* Kleb. IN THE SYMPTOMS OF POTATO PURPLE TOP IN SOUTH COAHUILA AND SOUTH NUEVO LEON.**

BY

**HECTOR HERNANDEZ HUERTA**

**MASTER OF SCIENCE  
IN AGRICULTURAL PARASITOLOGY**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
Buena Vista, Saltillo, Coahuila. June, 2001.**

**M.C Abiel Sánchez Arizpe – Advisor-**

**Key words: Potato, Purple top, *F. oxysporum*, *V. dahliae*, Inoculations.**

The main objective of this work was to know the effect of the fungus *F. oxysporum* and *V. dahliae* in the symptoms of potato purple top, for this plants that had the symptoms of the disease were collected from different plots from the regions previously mentioned, those samples were deposit in plastic bags and



sent for their testing of the Phytopathology lab from the Plant Pathology Department at the UAAAN.

After the isolation, identification, purification and the pathogens increasement, pathogenicity test were fulfill, using four inoculation technics: Slices from Tuber, Explant to Soil, Injection to the Stem and Explant to the Stem, the fungus were inoculated separately and together at the some time in each technic, the tuber used were alpha variety; for the first two techninics the inoculations were done during the sowing of the tubers and the remaining technics were carried out when the plants had 33 days after the sowing and 15 to 20 cm of height. The symptoms of the disease for the inoculation carried out during the sowing, started to show after 55 or 65 days and in the plants inoculated 33 days after the sowing the symptoms showed 30 days after; the symptoms observed were: clorotic plants, foliole with purple pigments, some axillary shoots, sporadic presence of air tubers, vascular necrosis of stems and tubers.

Subsequently another isolation of the fungus of the inoculated plants was carried out, which showed symptoms of the disease and the morphological features of those fungus agree with the ones observed in the isolation.

## INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE CUADROS.....	xiii
INDICE DE FIGURAS.....	xiv
INTRODUCCION.....	1
REVISION DE LITERATURA.....	5
El Cultivo de la Papa.....	5
Origen y Distribución.....	5
Importancia.....	6
Importancia del Cultivo a Nivel Regional.....	6
Generalidades Botánicas de la Planta.....	6
Crecimiento y Desarrollo del Cultivo.....	7
La Punta Morada de la Papa.....	7
Antecedentes.....	7
Importancia y Distribución de la Punta Morada.....	8
Síntomas.....	10
Organismo Causal.....	11
Micoplasmas.....	12
Antecedentes.....	12
Morfología de los Organismos Tipo Micoplasmas.....	13
Síntomas Causados por Fitoplasmas.....	13
Control.....	14

Identificación de los Patógenos.....	35
Purificación e Incremento de los Patógenos.....	36
Obtención del Suelo.....	36
Desinfección del Suelo.....	37
Pruebas de Patogenicidad.....	37
Cortes al Tubérculo.....	38
Inyección al Tallo.....	40
Explantes al suelo.....	41
Explantes al Tallo.....	43
Reaislamiento de los Patógenos.....	44
RESULTADOS.....	46
Aislamiento de los Patógenos.....	46
Identificación y Descripción Morfológica de <i>F. oxysporum</i> y <i>V. ....</i>	
<i>dahliae</i> .....	47
Pruebas de Patogenicidad.....	50
Reaislamientos.....	59
DISCUSIÓN.....	62
CONCLUSIONES.....	66
RESUMEN.....	67
LITERATURA CITADA.....	69

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro No.</b>		<b>Página</b>
3.1.	Técnica de inoculación, densidades de inóculo, número de tubérculos y patógenos utilizados. 1997.....	39
3.2.	Técnica de inoculación, densidad de inóculo, número de plantas inoculadas y patógenos utilizados. 1997.....	41
3.3.	Técnica de inoculación, número de explantes por tubérculo y número de tubérculos utilizados. 1997.....	42
3.4.	Técnica de inoculación, densidad de inóculo y cantidad de plantas utilizadas en esta prueba. 1997.....	44

## INDICE DE FIGURAS

Figura No.	Página
3.1. Plantas colectadas en campo con síntomas de punta morada de la papa. A: color purpura de foliolos B: entrenudos cortos.....	34
4.1. Macroconidia de <i>F. oxysporum</i> obtenidas de los aislamientos en medio de cultivo PDA.....	48
4.2. Clamidosporas de <i>F. oxysporum</i> formadas en pares o solitarias en la parte media o al final de las hifas, obtenidas de los aislamientos en medio de cultivo PDA. A: en pares B: solitarias.....	49
4.3. Conidióforos, fiálides y conidias de <i>V. dahliae</i> obtenidos de los aislamientos en PDA. A: conidioforos B: fialides C: conidias.....	50
4.4. Síntomas de punta morada de la papa producidos con la técnica de inoculación "cortes al tubérculo". A: hojas con tonalidad morada.....	52
4.5. Presencia de tubérculos aéreos en macetas inoculadas con <i>F. oxysporum</i> con la técnica "inyección al tallo". A: tubérculo aéreo.....	53
4.6. Microesclerocios de <i>V. dahliae</i> en tallos de plantas inoculadas con la técnica "explantas al tallo".....	55
4.7. Planta utilizada como testigo sin que se aprecien síntomas de la enfermedad.....	56
4.8. Incidencia de la enfermedad punta morada de la papa utilizando la técnica de inoculación "cortes al tubérculo".....	57
4.9. Incidencia de la enfermedad punta morada de la papa utilizando la técnica de inoculación "inyección al tallo".....	57

4.10	Incidencia de la enfermedad punta morada de la papa utilizando la técnica de inoculación "explantes al suelo".....	58
4.11	Incidencia de la enfermedad punta morada de la papa utilizando la técnica de inoculación "explantes al tallo".....	58
4.12	Clamidosporas de <i>F. oxysporum</i> individuales y en pares, en la parte media y al final de las hifas obtenidas de los reaislamientos en medio de cultivo PDA. A: clamidosporas en la mitad de las hifas B: clamidosporas al final de las hifas.....	60
4.13	Conidióforos, fiálides y conidias de <i>V. dahliae</i> obtenidas de los reaislamientos en PDA.....	61
4.14	Reaislamiento de <i>F. oxysporum</i> y <i>V. dahliae</i> inoculados juntos, creciendo en medio de cultivo PDA. A: <i>F. oxysporum</i> B: <i>V. dahliae</i> ...	61

## INTRODUCCION

El aumento continuo de la población y la apertura de nuestro país a los Tratados de Libre Comercio con varios países del mundo, exige que la agricultura nacional sea cada vez más eficiente y busque nuevas y mejores alternativas de producción para obtener productos de calidad que puedan competir tanto en mercados nacionales como internacionales, sin que estos procesos productivos afecten aún más el equilibrio eco-biológico que existe en la naturaleza.

A nivel mundial el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) es de gran importancia por su uso como alimento a la población, ya que contiene una alta concentración de hidratos de carbono, proteínas, fibras, fósforo y otros minerales indispensables en la dieta de los seres humanos. A pesar de ello, el consumo a nivel nacional es considerado como bajo, comparado con otros países. En México el consumo per capita promedio es de 23.3 kilogramos mientras que en países desarrollados como Estados Unidos y Holanda el consumo per capita promedio es de aproximadamente 55 kilogramos (Alonso, 1996; Kondo, 1997).

En México la papa ha sido cultivada desde hace varios siglos; actualmente se siembra en casi toda la República Mexicana, en un área aproximada de 75,000 ha, produciéndose anualmente 1,500.000 ton con un promedio nacional de 17 ton/ha. Los principales estados productores son Coahuila, Nuevo León, Guanajuato, Sinaloa, Sonora, Jalisco, Chihuahua, Michoacán, Zacatecas, Estado de México, así mismo, Hidalgo, Puebla, Tlaxcala, Veracruz, entre otros (Kondo, 1997; Cepeda, 2000).

Del total de la producción, el 70 por ciento se destina al consumo en fresco, el 15 por ciento se utiliza como semilla, el 7 por ciento para uso industrial y el 8 por ciento restante, son mermas.

Las principales variedades que se cultivan en México son: Alpha con un promedio superior al 65 por ciento del total, seguida por Atlantic que representa alrededor del 28 por ciento, el resto está representado por otras variedades de menor importancia tales como: Gigant, Herta, Premier, Mondial, Norteña, Granola, Diamante y White Rose, entre otras. De todas estas variedades, la única que es indistintamente utilizada, tanto para industria como para consumo fresco es la Alpha (García, 1996; Cepeda, 2000).

Para la región agrícola del Sur de Coahuila y Nuevo León, la papa es la principal hortaliza que se siembra, es un cultivo de mucha importancia por la derrama económica que genera y la gran cantidad de mano de obra que utiliza, entre 70 y 100 jornales por hectárea. En la actualidad se siembran



aproximadamente 6,000 ha con rendimiento promedio de 30 a 35 ton/ha, siendo de los mas altos a nivel nacional; el costo por unidad de superficie es elevado ya que se requieren inversiones que oscilan entre \$ 80,000.00 y 90,000.00 por ha.

Sin embargo, estos rendimientos se ven afectados por factores tanto bióticos como abióticos que en ocasiones limitan la producción y demeritan su calidad, siendo los de mayor importancia las enfermedades infecciosas; en la actualidad una de las principales enfermedades que está afectando al cultivo y dañando la economía de productores y campesinos es la llamada "Punta Morada de la Papa" considerada de gran importancia por las pérdidas económicas que ocasiona, dicha enfermedad es de etiología incierta lo cual dificulta contar con medidas efectivas de control.

Se menciona y la literatura reporta que la enfermedad es ocasionada por microorganismos conocidos como micoplasmas y que son transmitidos por insectos chupadores del orden Homoptera conocidos comúnmente como chicharritas; sin embargo, se sospecha que en los síntomas de la punta morada de la papa se encuentran involucrados o interactuando otros patógenos entre los que se pudieran encontrar los hongos *Fusarium oxysporum* y *Verticillium dahliae* siendo éstos parásitos, que se encuentran en el suelo causando daños vasculares a sus hospederos.

Tomando en cuenta las consideraciones anteriores y la importancia que ha tomado la enfermedad denominada punta morada de la papa en la región en los últimos años, se planteo el presente trabajo de investigación bajo el siguiente:

### **Objetivo**

✓ Conocer el efecto de los hongos *F. oxysporum* y *V. dahliae* en los síntomas de la punta morada de la papa, en la región sur de Coahuila y Nuevo León.

### **Hipótesis**

Los hongos *F. oxysporum* y *V. dahliae*, se encuentran interactuando en los síntomas de la punta morada de la papa en el sur de Coahuila y Nuevo León.

## REVISION DE LITERATURA

### El Cultivo de la Papa

#### Origen y Distribución

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es una planta dicotiledónea que pertenece a la familia Solanaceae, originaria de la región Andina en Sudamérica, fue domesticada y cultivada por las civilizaciones preincaicas e incaicas miles de años antes de la llegada de los conquistadores españoles en 1537 a esa región (Vavilov, 1951; Montaldo, 1984; Horton, 1987).

Por su parte Huaman *et al.* (1988), coinciden con lo estudiado por Vavilov en 1951 al afirmar que el centro de origen de la papa habría estado localizado en la tierra alta de Perú, habiéndose extendido por el Sur hacia Bolivia, Argentina y Chile; y por el Norte hacia Ecuador, Colombia, Guatemala y México; de estas regiones fue introducida a Europa por los conquistadores españoles a finales del siglo XVI y de ahí se extendió al mundo en pocos siglos.

## Importancia

Rocha (1955), menciona que el cultivo de la papa constituye una fuente importante de ingresos para los agricultores, además de generar empleos para los trabajadores agrícolas que abarcan todas las labores de cultivo, incluyendo otras labores de postcosecha como: cargadores, transportistas y comerciantes.

## Importancia del Cultivo a Nivel Regional

En la región papera del Sur de Coahuila y Nuevo León, se obtienen los rendimientos más altos por unidad de superficie a nivel nacional, llegando a obtener algunos productores hasta 50 ton/ha; además de generar una buena derrama económica para los agricultores y proporcionar fuentes de empleo para los campesinos de la región. La variedad que más se siembra es la Alpha.

## Generalidades Botánicas de las Plantas

La papa es una planta herbácea, dicotiledónea y anual. Produce tallos aéreos y subterráneos; los primeros de 0.5 a 1.0 m de largo; presenta hojas pinaticompuestas en espiral e inflorescencia terminal en racimos con flores perfectas de colores diversos pudiendo ser blancas, amarillas y púrpuras o veteadas de acuerdo con la variedad; el fruto es una baya redonda y pequeña de 1-3 cm de diámetro que contiene gran cantidad de semillas, las cuales solo se utilizan en trabajos de mejoramiento (Edmond, 1989).

El mismo autor señala que los tallos subterráneos se desarrollan formando estolones que se transforman en tubérculos de forma ovoide o cilíndrica. En el tubérculo se encuentran yemas, las cuales son ramas no desarrolladas. La raíz es fibrosa y adventicia las cuales nacen de los nudos del tallo a nivel del suelo.

### Crecimiento y Desarrollo de Cultivo

El crecimiento, desarrollo y rendimiento del cultivo de la papa son fenómenos que se ven influenciados por factores tales como las condiciones del suelo, condiciones climáticas, prácticas culturales y la presencia de plagas y enfermedades; de tal manera que si todos estos factores influyen de manera positiva sobre el cultivo se obtendrá un buen crecimiento, un desarrollo adecuado y rendimientos aceptables (Benoit y Grand, 1980).

### **La Punta Morada de la Papa**

#### Antecedentes

La punta morada de la papa y los daños que causa, ha sido conocida desde el año de 1915 (Beall y Cannon, 1945), señalaron que la causa de la enfermedad es todavía incierta, aunque relacionaban a dicha enfermedad con algunos insectos plaga.

Cadena y Galindo (1985), indicaron que la punta morada de la papa fue mencionada por primera vez en México por Niederhauser y Cervantes en 1956, fue observada en el Valle de Toluca, en las cercanías del Nevado de Toluca, en Guanajuato, en Zamora, Michoacán y en los Estados de Puebla y Tlaxcala.

García (1996), señaló que a principios de la década de los noventas (90's) en las áreas paperas de Coahuila, Nuevo León, Jalisco y otras áreas paperas del país, comenzó a manifestarse una enfermedad de etiología desconocida ocasionando amarillamientos, enrollamientos de folíolos de color morado, formación de tubérculos aéreos, necrosis vascular en tallos y tubérculos; actualmente a dicha enfermedad se le conoce con el nombre como "Punta Morada de la Papa" causando grandes pérdidas en la producción, principalmente en aquellos tubérculos destinados a la industrialización.

#### Importancia y Distribución de la Punta Morada

McLeod (1954), ya reportaba a la punta morada como un factor importante que limitaba la producción de papa en algunas áreas paperas de Canadá, México y Estados Unidos.

García y Rodríguez (1998), señalaron que además de encontrarse en Canadá, México y Estados Unidos también se encuentra en la India. En la actualidad se haya distribuida en Centro y Sudamérica, causando pérdidas importantes y prácticamente se encuentra en todos los continentes, siendo muy

destruictiva y causando pérdidas económicas en varias zonas paperas (Calderoni, 1978; Alonso, 1996).

Cervantes y Rubio (1963), mencionaron que la punta morada de la papa se constituyó como un problema importante en las zonas paperas de Silao y León, Gto.; en Zamora, Michoacán y Toluca, Edo. de México. Actualmente se ha convertido en un problema importante en la producción de papa comercial y para semilla; se encuentra ampliamente distribuida y puede causar grandes pérdidas en el rendimiento y calidad de los tubérculos (Cadena, 1993; Zavala, 1998).

Cadena (1993), reportó que en 1991 la incidencia de la enfermedad fue del 33 - 50 por ciento en León, Guanajuato; en algunas zonas paperas del Estado de México del 17-95 por ciento; en el Valle de Toluca, Michoacán, Tlaxcala y Veracruz se detectaron porcentajes bajos en la incidencia entre 1 y 2.1 por ciento. Durante 1992, la incidencia en el Estado de México fue del 0.4-8.6 por ciento; en la región papera de Tlaxcala del 0.2 al 45 por ciento; en Hidalgo fue del 3.5-83.3 por ciento y en Puebla en una localidad no mencionada del 13 por ciento.

A nivel nacional la incidencia de la enfermedad se ha mantenido en porcentajes altos, para 1993 la enfermedad alcanzó el 30 por ciento de tubérculos dañados, el 60 por ciento en 1994 (García, 1996) y hasta el 90 por ciento en 1995 (García y Rodríguez, 1998).

Cadena (1993), reportó una incidencia del 37-90 por ciento en 1991 en la zona papera del Sur de Coahuila y Nuevo León.

### Síntomas

Los primeros síntomas aparecen en los brotes terminales y en las hojitas, se enrollan y toman un color morado de donde la enfermedad toma su nombre, es común observar en algunos casos la aparición primero de una tonalidad amarilla en la parte aérea de la planta, posteriormente adquiere el color morado. A medida que avanza la enfermedad, la planta detiene su desarrollo y se produce una brotación anormal de las yemas axilares, también se observa el engrosamiento de nudos y la formación de pequeños tubérculos aéreos. En la parte basal de los tallos hay necrosis vascular y en el interior de los tubérculos el anillo vascular se observa también necrosado, la planta enferma toma al final una apariencia de marchitez con un tono amarillento a morado apagado y muere prematuramente (Calderoni, 1978; Cadena y Galindo, 1985 y Alonso, 1996).

Maramorosch ( 1988), indicó que los síntomas de la punta morada de la papa pueden diferir dependiendo de la altitud, de las variaciones de temperatura y la variedad; la coloración morada de la parte superior de la planta, es más pronunciada en algunas variedades; algunos tubérculos aéreos producen folíolos en sus ápices.



Calderoni (1978), menciona que el color morado es más intenso en las variedades con tendencia a formar antocianinas.

Los síntomas de la enfermedad aparecen aproximadamente a los 45 a 60 días después de la siembra (Zavala, 1998).

Cadena y Galindo (1985), señalaron que los tubérculos procedentes de plantas enfermas normalmente no brotan, o si lo hacen producen una brotación anormal que pueden ser brotes finos y débiles.

Alonso (1996), señaló que dentro de los síntomas que causa el hongo *Rhizoctonia solani* al cultivo de la papa cuando el daño es severo también provoca la formación de tubérculos aéreos de color verde o rojizo como resultado de la interferencia en la traslación del almidón. Esto demuestra que no solo los micoplasmas pueden provocar este tipo de síntomas en la papa; sino también otros patógenos como hongos.

### Organismo Causal

Hasta antes de 1967 se consideraba que los síntomas de la punta morada de la papa eran causados por un virus, mismo que causa el amarillamiento del aster, transmitidos por insectos conocidos comunmente como chicharritas siendo las especies más importantes *Macrosteles fascitrous* Stal.

*M. divisus* Uhl. y *Psilla pyricula* (Leach, 1939; Younkin, 1943; Leach y Bishop, 1944; Macleod, 1954).

Cadena y Galindo, 1985, realizaron estudios y presentaron evidencias de que las enfermedades del grupo de los amarillamientos del aster incluyendo la punta morada, eran causados por organismos tipo micoplasma; estudios posteriores obtuvieron pruebas específicas de que el amarillamiento del aster era causado por un micoplasma y no por virus como anteriormente se había considerado; actualmente se considera que la punta morada de la papa es causada por micoplasmas transmitidos por los insectos antes mencionados (Banttari, *et al.*, 1990).

## **Micoplasmas**

### Antecedentes

Desde 1967, algunos investigadores en sus trabajos sobre diversas enfermedades de las plantas comenzaron a observar que algunos síntomas como: amarillamientos, enanismos, achaparramientos, escobas de brujas, filodias, entre otras y que hasta ese momento se consideraban como agentes causales a los virus por ser transmisibles mediante insectos, injertos, savia, algunas plantas parásitas como la cúscuta, no corresponden realmente a enfermedades virosas, sino que están asociadas con organismos procarióticos de cuerpos pleomórficos conocidos como micoplasmas, dichos organismos

generalmente se encuentran en los tubos cribosos de los haces vasculares de sus hospederos; su multiplicación la llevan a cabo dentro de las células (Sarasola, 1975; Dickinson y Lucas, 1987).

### Morfología de los Organismos Tipo Micoplasma

Los micoplasmas causantes de enfermedades en las plantas actualmente se les conoce como fitoplasmas, son organismos pleomórficos, carecen de pared celular y están rodeados por una membrana unitaria. Estudios recientes sugieren que en ciertos estados de desarrollo pueden estar presentes formas espiraladas. El tamaño de los micoplasmas es variado, pueden presentar dimensiones que van de entre 500 y 1000 nm de diámetro, las estructuras de mayor tamaño tienen forma esférica y contienen una red fibrilar central de hebras presumiblemente de ADN y un área periférica de gránulos parecidos a ribosomas. Se presume que su reproducción es asexual por fusión o fragmentación (Hooker, 1980).

### Síntomas Causados por Fitoplasmas

Los síntomas observables en las plantas afectadas por este tipo de microorganismos son: amarillamientos, formación de filodias, proliferación de brotes axilares, enanismos, entrenudos cortos, necrosis vascular, hojas cloróticas o rojizas y un decaimiento progresivo del hospedero hasta causarle la muerte (Sarasola, 1975; Latoire, 1999).

Se calcula que actualmente más de doscientas enfermedades de las plantas son causadas por micoplasmas, dichos organismos son transmitidos principalmente por insectos chupadores del orden Homoptera de las familias Cicadellidae y Psilidae. El micoplasma no es transmitido inmediatamente después de que el vector se haya alimentado de una planta enferma o infectada, sino que lo comienza a transmitir después de un período de incubación de 10 a 50 días, tiempo que requiere el micoplasma para propagarse y distribuirse dentro del vector (Agrios, 1988; Latorre, 1999).

### Control

Existen varias medidas de control que pueden utilizarse para disminuir la incidencia de las enfermedades causadas por estos organismos ( Agrios, 1988; Alonso, 1992; Latorre, 1999), recomiendan que las medidas culturales como la eliminación de malezas dentro y en los alrededores del cultivo, ya que estos sirven como hospederos del patógeno, la utilización de variedades tolerantes, el uso de insecticidas para el control del vector y la utilización de antibióticos como las tetraciclinas.

## Los Hongos *Fusarium oxysporum* y *Verticillium dahliae*

### Importancia de *Fusarium oxysporum* Schlecht

Sin duda alguna el hongo *F. oxysporum* es la especie del género *Fusarium* más perjudicial ocasionando pérdidas considerables a las plantas cultivadas, que sirven como hospederos del patógeno; el hongo se encuentra distribuido en todo el mundo (Agrios, 1988; Romero, 1993).

En el caso del cultivo de la papa Guigón (1994), señala que algunas especies de *Fusarium* son de importancia como patógenos en el cultivo. Su ataque es más severo en lugares donde se cultiva la papa a temperaturas relativamente altas o durante la estación seca y calurosa, causan una variedad de problemas al cultivo tales como marchitamientos vasculares, pudriciones de tubérculos, raíz y tallos. Para el caso de *F. oxysporum* causa marchitamientos vasculares a la papa.

Smith *et al.* (1992), señalan que las especies que comúnmente se asocian a la papa son: *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. roseum*, *F. sulphureum*, *F. coeruleum*, *F. javanicum* y *F. eumartii*.

## Descripción y Características del Patógeno

En medios de cultivo como papa dextrosa agar (PDA), el crecimiento miceliano presenta un aspecto variable; siendo este de color blanco al inicio de su desarrollo, posteriormente adquiere una coloración violeta púrpura a morado (Smith, 1992). Si hay abundancia de esporodocios la coloración del medio puede ser crema o naranja (Toussoun y Nelson, 1968) forma dos tipos de conidias: microconidias y macroconidias; las microconidias son abundantes y producidas en fialides simples y cortas, presentan forma oval a elipsoidales cilíndricas; mono o bicelulares, de recta a curvadas, el tamaño de estas esporas en promedio es de 6.8 X 2.2 micras (Guigón, 1994). Las macroconidias son relativamente escasas (Walker, 1973; Anaya *et al.*, 1999), con 3 a 5 septos, fusiformes de pared delgada terminando en puntas ambos lados, con medidas de 16.2 X 3 micras en promedio (Guigón, 1994).

Este patógeno forma estructuras de resistencia llamadas clamidiosporas normalmente abundantes, pueden ser globosas, circulares, lisas o arrugadas, unicelulares; se pueden encontrar en la parte terminal o media del micelio o hifa; formadas en pares o solitarias, (Gilman, 1963; Mendoza, 1996).

### Ubicación Taxonómica

De acuerdo con Alexopoulos y Mims (1979), clasifican taxonómicamente al hongo de la siguiente manera:

Super-reino ----- Eucaryonta  
 Reino ----- Micetae  
 División ----- Amastygomicota  
 Subdivisión ----- Deuteromycotina  
 Clase ----- Deuteromycetes  
 Subclase ----- Hyphomycetidae  
 Orden ----- Moniliales  
 Familia ----- Tuberculariaceae  
 Género ----- *Fusarium*  
 Especie ----- *oxysporum*

### Sintomatología

Calderoni (1978), mencionó que el hongo *F. oxysporum* se encuentra en casi todos los suelos, especialmente en aquellos con alto contenido de materia orgánica. El ataque que con frecuencia se inicia en el sistema radicular, especialmente en aquellas raíces más finas, de ahí el daño avanza hacia el tallo. Los síntomas de la marchitez fusárica, se observan principalmente en las hojas más viejas, muestran estas una clorosis, seguida de una marchitez;

dichos síntomas progresan posteriormente a las hojas jóvenes iniciándose al mismo tiempo una invasión del sistema vascular por el hongo (Smith *et al.*, 1992).

El mismo autor señala que las partes afectadas o dañadas por el patógeno adquieren una coloración parda, en la raíz y parte del tallo; la necrosis o empardecimiento pueden observarse con facilidad al realizar cortes tanto transversales como longitudinales en la parte dañada.

Roberts y Boothroyd (1978), indicaron que los síntomas de la marchitez causada por el hongo puede desarrollarse con mayor rapidez durante la floración o fructificación. En los cultivos generalmente dichos marchitamientos van a observarse en forma de manchones que se extienden en forma gradual y en ocasiones hasta cubrir todo el cultivo causando la muerte prematura de las plantas. Los síntomas de la marchitez se ven más acentuados en el día o durante las horas más intensas de calor y durante las noches hay una aparente recuperación de la planta.

#### Ciclo Biológico de *F. oxysporum*

El hongo es un habitante muy común del suelo siendo este la principal fuente de inóculo, además sobrevive en los restos de las plantas infectadas que quedan en el campo en forma de micelio, en cualquiera de sus formas de conidias o en clamidosporas, dichas clamidosporas pueden persistir en forma



inactiva o latente durante 5-10 años (Roberts y Boothroyd, 1978) y germinar al disponer de nutrientes, principalmente cuando hay contacto o proximidad de raíces jóvenes de sus hospederos.

El inóculo se propaga principalmente a través del agua, equipo agrícola contaminado, por semilla, etc. Cuando las plantas sanas se desarrollan en el suelo contaminado las esporas germinan y el micelio penetra directamente los tejidos de las puntas de las raíces a la altura de la zona de elongación; la penetración también la pueden realizar mediante heridas causadas por nemátodos principalmente de los géneros *Pratylenchus* spp y *Meloidogyne* spp y a través de las heridas hechas por las labores culturales (Agrios, 1988; Smith, 1992).

El micelio una vez que ha penetrado al tejido se propaga intercelularmente y llega a los vasos xilémicos e invade al sistema vascular, el micelio avanza en forma ascendente unos 15-20 cm por arriba de la zona de transición entre el tallo y el sistema radicular, el micelio se ramifica y empieza a producir esporas principalmente microconidios que son desprendidas y llevadas en la savia hacia la parte superior de la planta, las microconidias germinan y el micelio invade nuevamente los haces vasculares. La patogenésis está relacionada con el bloqueo de los vasos impidiendo el paso del agua y nutrientes y con la formación de toxinas que pueden afectar la síntesis de clorofila, hay pérdida de turgencia, marchitamiento y posteriormente la muerte; también hay formación de enzimas que catalizan reacciones hidrofílicas

destruyendo la lámina media del parénquima del xilema, tomando una coloración pardo-oscuro y que estas coloraciones pueden ser utilizadas como síntomas para el diagnóstico de la enfermedad.

Posteriormente el hongo invade en gran escala los tejidos parenquimáticos de la planta, llega a la superficie de los tejidos muertos y esporula abundantemente, las conidias son diseminadas por los agentes ya mencionados hacia otras plantas o quedan en el suelo e inician nuevamente su ciclo cuando llega su hospedero (Walker, 1968; Roberts y Bootroyd, 1978; Agrios, 1988; Smith, 1992; De la Garza, 1996).

En cuanto a los requerimientos de temperatura De la Garza (1996), señala que el hongo *F. oxysporum* tiene un crecimiento y reproducción adecuada cuando la temperatura del suelo fluctúa de 27 a 29°C; por su parte Walker (1968), indica que temperaturas por debajo de los 17°C la enfermedad no aparece aún encontrándose plantas susceptibles enfermas infestadas con el patógeno.

### Distribución y Gama de Hospederos

*F. oxysporum* es la especie económicamente más importante dentro del género *Fusarium*; dicho patógeno se encuentra mundialmente distribuido, causa daños a una diversidad amplia de plantas. Smith (1992), menciona que esta especie no afecta a cultivos pertenecientes a la familia Poaceae.

### Importancia de *Verticillium dahliae* Kleb.

Xiao y Subbarao (1998), reportaron que el patógeno es el agente causal de los marchitamientos de muchos cultivos de importancia económica, es un hongo habitante muy común de los suelos. El hongo sobrevive en forma de microesclerocios en el suelo por más de 13 años, dicha estructura es considerada la principal fuente de inóculo.

El hongo es muy común en regiones productoras de papa, atacan al cultivo a través del sistema radicular e invadiendo al sistema vascular provocando los comunes marchitamientos; por ser parásitos vasculares interfieren en el movimiento de agua y nutrientes, los cuales son más severos en suelos de textura gruesa y períodos de mucho calor. El daño vascular puede extenderse por toda la longitud de los tallos y/o los tubérculos, mientras que los marchitamientos causan la muerte prematura de la planta; las enfermedades causadas por *V. dahliae* son del tipo monocíclicas (Ayers, 1952; Hooker, 1980; Xiao y Subbarao, 1998).

Platt y Sanderson (1987), mencionaron que las especies de *Verticillium* que causan enfermedades al cultivo de la papa son *V. dahliae* y *V. albo-atrum*, encontrándose en muchas áreas del mundo donde se siembra dicho cultivo. Los síntomas que causan dichas especies en el campo son muy similares, hay investigadores que afirman se trata del mismo patógeno, aunque morfológicamente presentan diferencias. *V. albo-atrum* en medio de cultivo

forma micelio negro y hay formación de clamidosporas; *V. dahliae* presenta micelio blanco-grisáceo a cremoso y hay formación de microesclerocios (Castrejón, 1978; Sanderson y Platt, 1987; Romero, 1993).

#### Descripción y Características Morfológicas del Patógeno

*V. dahliae* se caracteriza por la presencia de conidióforos alargados, hialinos, ramificados verticiladamente, conidios ovales a elipsoidales hialinos unicelulares, producidos apicalmente, solitarios o en pequeñas cabezuelas (Mendoza y Pinto, 1983; Romero, 1993).

El hongo en medio de cultivo PDA tiene un crecimiento abundante, en un principio el micelio es blanco con hifas hialinas septadas, posteriormente el micelio adquiere una tonalidad crema-grisácea, forma estructuras de resistencia conocidas como microesclerocios generalmente de color negro; aunque en algunas veces adquieren un tono hialino o pardo-oscuro (Castrejón, 1979; Smith, 1992).

## Clasificación Taxonómica

Alexopoulos y Mims (1979), ubican taxonómicamente a *V. dahliae* de la siguiente manera:

Super reino -----Eucaryonta  
 Reino ----- Micetae  
 División ----- Amastygomicota  
 Subdivisión ----- Deuteromycotina  
 Clase ----- Deuteromycetes  
 Subclase ----- Hyphomycetidae  
 Orden ----- Moniliales  
 Familia ----- Moliniaceae  
 Género ----- *Verticillium*  
 Especie ----- *dahliae*

## Sintomatología

Los síntomas de marchitez por el hongo *Verticillium dahliae* son casi idénticos a los que produce *F. oxysporum* y en los hospederos afectados por ambos hongos es imposible diferenciarlos en campo, excepto mediante pruebas de laboratorio (Presley, 1950; Agrios, 1988 ).

De acuerdo con Alonso (1996), él menciona que las hojas de las plantas afectadas por el patógeno empiezan a marchitarse de abajo hacia arriba, al principio las hojas adquieren una clorosis y luego se van oscureciendo hasta adquirir una coloración marrón. En ocasiones la enfermedad se presenta en un solo o varios tallos de la planta, en la parte interna del tallo o tejido dañado se observan decoloraciones necrosadas en el área del xilema.

Generalmente los síntomas de la enfermedad aparecen antes o al momento de la floración, también puede observarse que la enfermedad se inicia en forma de manchones dentro del cultivo e ir avanzando gradualmente hasta cubrir todo el plantío, ocasionando que las plantas mueran antes de la maduración.

En el caso de tubérculos de papa afectados por el patógeno se pueden apreciar coloraciones castaño-necrótica en el anillo vascular; en los tallos al realizar cortes tanto transversales como longitudinales se podrá observar al tejido vascular necrosado (Presley, 1950; Platt y Sanderson, 1987).

Al igual que *Fusarium oxysporum*, las plantas que fueron infectadas por el patógeno los síntomas de marchitez se acentúan más durante las temperaturas más altas en el día y tomando una recuperación aparente durante la noche.

### Ciclo Patológico de *V. dahliae*

Mendoza y Pinto (1983), mencionaron que el hongo inverna en forma de microesclerocios ya sea en el suelo, en residuos de cosecha o sobre hospederos perennes. El micelio o microesclerocios germinan cuando las condiciones le son favorables.

Los microesclerocios pueden germinar cuando son estimulados por exudados de las raíces de los hospederos (Xiao y Subbarao, 1998) y penetran el tejido de la raíz ya sea por aberturas naturales, de forma mecánica o por heridas causadas por algunos nemátodos, maquinaria agrícola u otras labores realizadas al cultivo. El micelio llega al xilema en poco tiempo e invade los tejidos conductores y avanza hacia arriba a través de estos, provocando el taponamiento e impidiendo el paso del agua y nutrientes reflejándose en la planta una marchitez. Los conidios se producen dentro del tejido y si las condiciones son adversas hay formación de microesclerocios para invernar (Ayers, 1952; Mendoza y Pinto, 1983).

Los microesclerocios pueden permanecer latentes en el suelo por períodos largos que pueden ser de 12-14 años (Smith *et al.* 1992; De la Garza, 1996; Xiao y Subbarao, 1998), aunque Agrios (1988), señala que dichas estructuras de resistencia pueden sobrevivir hasta 50 años.

El hongo puede diseminarse por el agua de riego, por el viento, suelo, maquinaria agrícola contaminada, por semilla u otras partes vegetativas utilizadas para la propagación. En cuanto a las condiciones de temperatura que el hongo requiera, éste prospera óptimamente a temperaturas de 25-28°C, puede crecer en un rango de temperatura que van desde 5-32°C fuera de ese rango el hongo inhibe su crecimiento (Agrios, 1988; De la Garza, 1996).

Otro de los factores que el hongo requiere para su desarrollo y causar el daño a las plantas es un alto contenido de humedad en el suelo.

#### Distribución y Gama de Hospederos

El hongo *V. dahliae* se encuentra distribuido en todo el mundo encontrándose principalmente en zonas templadas y subtropicales (Romero, 1993). La gama de hospederos de dicho patógeno es muy amplia, se menciona que puede tener más de 200 especies de plantas hospederas entre las que se encuentran hortalizas, frutales, ornamentales, forestales, industriales y malezas (Devaux y Sackston, 1966; Latorre, 1999).

Smith *et al.* (1992), reportaron que se han encontrado plantas como trigo y cebada portadoras del hongo sin que éstas presenten síntomas de la enfermedad.



## Interrelaciones de *F. oxysporum* y *V. dahliae* con otros patógenos

Mai y Abawi (1987), señalaron que bajo condiciones naturales de campo, las raíces de las plantas se encuentran constantemente expuestas a muchos microorganismos del suelo. Se han realizado estimaciones y mencionan que en un metro cuadrado de suelo con niveles altos de fertilidad pueden encontrarse aproximadamente  $3 \times 10^{14}$  células bacterianas de diferente especie (300 g),  $5 \times 10^8$  protozoarios (39 g),  $1 \times 10^7$  nemátodos (12 g) y unos 400 g de hongos; así mismo, señalan que el primer reporte que habla sobre la asociación de patógenos fue en 1901 cuando se encontró a un nemátodo lesionador de la raíz, sin mencionar el nombre del nemátodo y la bacteria *Pseudomonas solanacearum* en plantas de tomate.

Agrios (1988), reportó que la asociación de hongos fitopatógenos con otros organismos principalmente nemátodos, forman un complejo etiológico que da origen a un potencial patogénico combinado mucho mayor que la suma del daño que pueden producir los patógenos por separado.

El mismo autor señala que la marchitez de varias plantas causada por hongos como *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia* entre otros, aumentan la severidad e incidencia cuando las plantas son infectadas por nemátodos de los géneros *Pratylenchus*, *Meloidogyne*, *Radopholus*, *Tylenchulus*, *Belonolaimus*, etc. Se ha observado que algunas variedades de plantas habitualmente resistentes al ataque por algunos de los hongos antes

mencionados son infectados por ellos después de que han sido invadidas por nemátodos.

Cepeda (1996), indicó que el nemátodo *Tylenchulus semipenetrans* causa severos daños a los cítricos cuando se encuentra asociado con el hongo *Fusarium* spp. ocasionando que la planta muera rápidamente.

Castillo *et al.* (1998), realizaron una investigación en la cual evaluaron la interacción del hongo *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* y el nemátodo *Pratylenchus thornei* en la marchitez del garbanzo, inocularon el suelo donde sembraron las plantas con 5 nemátodos por  $\text{cm}^3$  y 5000 clamidosporas del hongo por gramo de suelo; observaron que la incidencia de la enfermedad no fue significativa, pero al aumentar el número de nemátodos a 10 por  $\text{cm}^3$  y la misma cantidad de inóculo del hongo la severidad de la enfermedad se incrementó.

Zink y Secor (1982), señalaron a través de estudios realizados en campo que la interacción de hongos como *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. sulphureum* y *V. dahliae* causantes de marchitamiento y *Erwinia carotovor*a pv *carotovor*a causantes de pudriciones y marchitez también en el cultivo de la papa (pierna negra); dichos estudios demostraron que la incidencia y severidad de las enfermedades se incrementa notablemente cuando los patógenos se encuentran interactuando.

Datnoff y Sinclair (1988), trabajaron sobre la interacción de *F. oxysporum* y *Rhizoctonia solani* causantes de la pudrición de la raíz de soya y otros cultivos, encontraron que la incidencia y severidad es más alta cuando se encuentran interactuando los dos patógenos. También observaron que el daño por *R. solani* fue bajo en presencia de *F. oxysporum* y mayor el daño de *F. oxysporum* en presencia de *R. solani*.

Duarte y Clark (1993), mencionaron que la marchitez y pudrición radicular en camote dulce, fue mucho mayor cuando se encuentran actuando juntos el hongo *Fusarium solani* y la bacteria *Erwinia chrysanthemii*.

Rowe, Riedel y Martin (1985); Botseas y Rowe (1994); Saeed, MacGuidwin y Rouse (1997), coinciden en señalar que la incidencia y severidad de la marchitez en papa causada por *V. dahliae* se incrementa notablemente cuando en el suelo hay poblaciones del nemátodo *Pratylenchus penetrans*.

Rahimian y Mitchell (1984), en experimentos realizados, observaron que la asociación de *V. dahliae* y *Erwinia carotovora pv carotovora* causantes de marchitamientos y pudriciones en tubérculos y tallos en la papa aumentaron notablemente la incidencia y severidad.

Jacobsen *et al.* (1979), realizaron estudios en invernadero y campo con la finalidad de observar la interacción entre *V. albo-atrum* y *Meloidogyne hapla* en la marchitez de la papa encontraron que tanto en el invernadero como en el

campo la presencia de *M. hapla* incrementó notablemente la marchitez en el cultivo.

Johnson, Radcliffe y Teng (1986), observaron que los síntomas de machitez causados por *V. dahliae*, tizón temprano causado por *Alternaria solani* y el daño causado por la chicharrita *Empoasca fabae* en el cultivo de la papa, dichos daños fueron muy severos en las variedades Russet Burbank, Norland y Red Pontiac a tal grado que el rendimiento se vió muy reducido.

Cruz (1997), en un trabajo realizado para evaluar el efecto de los virus X, Y y S de la papa y su interacción con *V. dahliae* en el rendimiento de la papa variedad Gigant bajo condicione de invernadero, dicho experimento demostró que hay una disminución drástica en el rendimiento.

### **Métodos de Inoculación**

#### **Importancia**

French y Hebert (1982), indicaron que la capacidad de un patógeno para producir enfermedad puede depender del uso de una dosis mínima, así como también una sobredosis puede inhibir el proceso de patogénesis. La uniformización de las condiciones de inoculación, durante las investigaciones, incluye el uso de niveles iguales ó lo más similares posibles, inóculo de igual

calidad, cultivado bajo condiciones definidas; así como el tipo de medio de cultivo y la edad del cultivo que servirá de inóculo.

Davalos (1990), mencionó que las técnicas de inoculación de especies de *Fusarium* para inducir la enfermedad, han consistido básicamente en sembrar las plantas en suelos contaminados con el patógeno (inoculación natural), o provocar la enfermedad inoculando artificialmente. Esta última técnica es la más empleada ya que permite tener una mejor uniformidad en la cantidad de inóculo aplicado ; se reducen los riesgos de escape.

### Inoculación al Suelo

Es uno de los métodos más utilizados y en algunas especies de plantas ha sido el más efectivo para inducir las enfermedades por *Fusarium* spp. (Hart y Endo, 1978).

En referencia a lo anterior Hart y Endo (1981), encontraron en un experimento realizado con plantas de apio las cuales presentaron casi un 100 por ciento de incidencia de la enfermedad; inocularon el suelo con una suspensión de  $2 \times 10^6$  conidias/ml de *F. oxysporum* f. sp. *apii* en proporción de una caja de petri con el cultivo por 2 kg de suelo, posteriormente sembraron el apio. Dichos investigadores concluyeron que este método fue mejor al método de inmersión en suspensión de esporas.

## Inoculación con Suspensión de Esporas

El método de inoculación sumergiendo raíces u otros órganos de la planta hospedera en una solución de esporas, ha sido empleado con buenos resultados para producir enfermedades causadas por diversas formas especiales de *F. oxysporum*.

En dicho método, la inoculación se efectúa exponiendo las raíces temporalmente en una suspensión de conidias de *Fusarium* spp.; es muy importante para inducir la enfermedad, la concentración de esporas y la duración de la exposición (Davalos, 1990).

### **Pruebas de Patogenicidad**

#### Importancia

French y Hebert (1982), resaltan la importancia de realizar las pruebas de patogenicidad principalmente cuando se desconoce al microorganismo y también se debe tomar en cuenta para realizar dichas pruebas el tipo de patógeno en estudio, si es patógeno del suelo, si es vascular, foliar ó parásito obligado para poder determinar la forma de inoculación.

## **MATERIALES Y METODOS**

El presente trabajo de investigación, se llevó a cabo durante los años de 1996 y 1997, dividiéndose en dos etapas; la primera consistió en los muestreos de campo y la segunda se realizó en el laboratorio de Fitopatología y en uno de los invernaderos; instalaciones ubicadas en la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" (UAAAN), situada en los paralelos 25° 22' Latitud Norte y 101° 00' Longitud oeste con respecto al meridiano de Greenwich, y una altitud de 1742 msnm (Mendoza, 1983).

### **Colecta del Material Vegetal Enfermo**

La colecta del material vegetal con síntomas de la enfermedad punta morada, se llevó a cabo en el Municipio de Arteaga, Coahuila en los Ejidos de Emiliano Zapata y Huachichil; y en el Municipio de Galeana, Nuevo León en la región de Navidad y el Potosí, el material colectado se trasladó al Departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN.

## Muestreo

El muestreo se realizó en forma dirigida en las áreas cultivadas con papa previamente seleccionadas, se colectaron tubérculos, raíces, tallos y plantas completas que presentaban los síntomas típicos de la enfermedad (Figura 3.1), las partes del vegetal se depositaron en bolsas de polietileno debidamente etiquetadas, las cuales fueron colocadas en el interior de una hielera de plástico para su conservación, posteriormente fueron trasladados al laboratorio.

Figura 3.1. Plantas con síntomas de la enfermedad colectadas en campo.



### Aislamiento de los Patógenos

El aislamiento de los patógenos presentes en las muestras colectadas se llevó a cabo utilizando partes del tejido de la planta afectada como fueron raíces, tubérculos, tallos y hojas. Las partes del tejido infectado se seccionaron en porciones de un  $\text{cm}^2$ , se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 6 por ciento, durante 3 minutos con la finalidad de eliminar posibles organismos contaminantes adheridos en la superficie del tejido infectado, posteriormente se enjuagaron en agua destilada estéril por dos ocasiones para eliminar residuos del desinfectante.

En seguida las porciones del tejido se colocaron en papel secante estéril para eliminar excesos de agua y se sembraron en cajas de Petri con medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA), preparado con anticipación y se incubaron en una estufa de crecimiento a temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$  por 72 horas.

### Identificación de los Patógenos

Para la identificación de los hongos se utilizaron las claves de Toussoun y Nelson (1968); Boot (1971); Barnett y Hunter (1979). Las características observadas de los patógenos aislados fueron comparadas con las descritas por los autores antes mencionados y de esa manera identificar los patógenos de interés.

### Purificación e Incremento de los Patógenos

Transcurrido el tiempo antes mencionado se presentó crecimiento miceliano en la superficie de los medios de cultivo suficiente para llevar a cabo la purificación del hongo utilizando la técnica recomendada por French y Hebert (1982), llamada "punta de hifa", con la ayuda del microscopio estereoscópico se ubicó la punta de una hifa y se cortó por detrás de la célula terminal con una aguja de disección previamente desinfectada, la sección del medio de cultivo que contenía la punta de la hifa se transfirió a una caja de Petri con PDA y se incubó nuevamente.

Toda esta operación se realizó bajo condiciones de asepsia en una cámara de flujo laminar ubicada en el laboratorio de Fitopatología y se incubaron nuevamente a temperatura de 25 °C, para dar mayor seguridad a la pureza de los aislamientos, se realizó una nueva purificación utilizando la misma técnica, finalmente las muestras se incrementaron en cajas de Petri con PDA y se incubaron.

### **Obtención del Suelo**

El suelo que se utilizó para la siembra de los tubérculos fue traído de la región papera de Arteaga, Coahuila, procedente de un terreno aparentemente libre de patógenos, el cual se mezcló con suelo de bosque con la finalidad de

aumentar la fertilidad, el suelo de bosque fue obtenido de los invernaderos de la UAAAN.

### Desinfección del suelo

Con la finalidad de utilizar un suelo libre de agentes nocivos que pudieran afectar y alterar los resultados en la investigación se procedió a la esterilización, la cual consistió en la aplicación de Bromuro de Metilo, previamente el suelo se juntó y fue cubierto perfectamente con plástico amarillo, depositando tierra húmeda en los bordes del plástico para evitar el escape del fumigante.

Posteriormente se procedió a la aplicación del Bromuro de Metilo a una dosis de 450 gr por 10 m<sup>3</sup> de suelo con la ayuda de un inyector especial, después de 48 hr se destapó y removió exponiéndolo a la intemperie durante dos días; al suelo se le hicieron dos aplicaciones mas con la finalidad de obtener un suelo completamente libre de patógenos; finalmente el suelo fue depositado en las macetas utilizando bolsas negras de polietileno de 5 kg.

### **Pruebas de Patogenicidad**

Para llevar a cabo las pruebas de patogenicidad se utilizaron 64 tubérculos de la variedad "Alpha" proporcionados por el área de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, para el desarrollo de las pruebas se emplearon cuatro técnicas de inoculación que se describen a continuación:

cortes al tubérculo, inyección de tallo, explantes al suelo y explantes al tallo. En cada técnica los patógenos *F. oxysporum* y *V. dahliae* fueron inoculados por separado y mezclando los dos hongos a la vez. La metodología utilizada en cada técnica se describe a continuación.

### Cortes al Tubérculo

En esta técnica se utilizaron 16 tubérculos, los cuales de acuerdo con las recomendaciones de Rahimian y Mitchel (1984), fueron lavados en agua corriente durante 10 minutos, posteriormente la superficie se desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 3 minutos y enjuagados en agua destilada estéril por dos ocasiones, se depositaron 10 ml de agua destilada estéril en una caja de Petri con los patógenos, con la ayuda de una varilla de vidrio se distribuyó uniformemente el agua sobre toda la superficie del cultivo y se revolvió ligeramente con la finalidad de que las conidias se desprendieran y quedaran suspendidas en el agua, posteriormente la solución se depositó en un tubo y se agitó en un vortex durante dos minutos, a continuación se tomaron 0.1 ml de la suspensión y con la ayuda de un hemacitómetro la suspensión conidial se ajustó a una concentración de  $4 \times 10^6$  conidias por ml. Dicha concentración se utilizó para los dos patógenos inoculados por separado, en la inoculación mezclando los dos patógenos la suspensión se ajustó a  $2 \times 10^6$  conidias por ml por patógeno de tal manera que al final se tuviera la concentración requerida de  $4 \times 10^6$  conidias por ml (Cuadro 3.1).

**Cuadro 3.1.** Técnica de inoculación, densidad de inóculo, número de tubérculos y patógenos utilizados. 1997.

Patógeno	Técnica de Inoculación	Densidad de Inóculo	Número de Tubérculos
<i>F. oxysporum</i>	cortes al tubérculo	$4 \times 10^6$ conidias / ml	4
<i>V. dahliae</i>	cortes al tubérculo	$4 \times 10^6$ conidias / ml	4
<i>F. oxysporum</i> + <i>V. dahliae</i>	cortes al tubérculo	$2 \times 10^6 + 2 \times 10^6$ conidias / ml	4
Testigo	cortes al tubérculo	Sin inóculo	4

Una vez preparada la suspensión conidial requerida para esta técnica, se efectuó la inoculación de los tubérculos, previo a la inoculación a los tubérculos se les realizaron cortes o heridas a la altura de las yemas con un bisturí desinfectado con la finalidad de que las conidias penetraran a los tubérculos, después de acuerdo con Platt y Sanderson (1987), los tubérculos fueron sumergidos en la suspensión conidial durante 3 minutos.

La distribución de las inoculaciones se hizo de la siguiente manera: se inocularon cuatro tubérculos con *F. oxysporum*, cuatro con el hongo *V. dahliae*, para la mezcla inoculando los dos patógenos se utilizaron cuatro tubérculos, la misma cantidad de tubérculos utilizados como testigos a los que solamente se sumergieron en agua destilada estéril, inmediatamente después todos los

tubérculos fueron sembrados en las macetas depositando un tubérculo por bolsa y se les aplicó un riego.

### Inyección al Tallo

Para la inoculación de las plantas mediante esta técnica se utilizaron 16 macetas, las plantas tenían 33 días aproximadamente después de la siembra y una altura de 15-20 cm, la concentración de conidias que se utilizó fue aproximada a  $5 \times 10^6$  conidias por ml, el procedimiento utilizado para ajustar dicha concentración fue similar al realizado en la técnica anterior.

Para esta técnica la inoculación de los patógenos de acuerdo con Koike *et al.* (1994), se realizó en los tallos de las plantas aproximadamente un cm por arriba del nivel del suelo utilizando para este propósito una jeringa hipodérmica estéril, el inóculo se distribuyó inoculando cuatro macetas con *F. oxysporum*, cuatro macetas inoculadas con *V. dahliae*, para la mezcla de los hongos se utilizó una concentración de  $2.5 \times 10^6$  conidias por ml por patógeno para ajustarse a la concentración requerida de  $5 \times 10^6$  conidias por ml, utilizándose también cuatro macetas y las plantas restantes utilizados como testigos solo se inyectaron con agua destilada estéril (Cuadro 3.2).

**Cuadro 3.2.** Técnica de inoculación, densidad de inóculo, número de plantas inoculadas y patógenos utilizados en dicha técnica.1997.

Patógeno	Técnica de Inoculación	Densidad de Inóculo	Número de Macetas
<i>F. oxysporum</i>	inyección al tallo	$5 \times 10^6$ conidias / ml	4
<i>V.dahliae</i>	inyección al tallo	$5 \times 10^6$ conidias / ml	4
<i>F. oxysporum</i> + <i>V.dahliae</i>	inyección al tallo	$2.5 \times 10^6 + 2.5 \times 10^6$ conidias / ml	4
testigo	inyección al tallo	Sin inóculo	4

### Explantos al Suelo

Las inoculaciones realizadas mediante esta técnica fue con explantes de los hongos de un cm de diámetro contenidos en las cajas de petri. Se utilizaron 16 tubérculos que fueron previamente desinfectados con hipoclorito de sodio al 5 por ciento y lavados posteriormente con agua destilada estéril. Realizada la desinfección se colocaron cuatro explantes distribuidos uniformemente sobre la superficie del suelo contenido en las bolsas, se les cubrió ligeramente del suelo e inmediatamente encima se colocaron los tubérculos uno por maceta y se les depositó suelo hasta que los tubérculos quedaran sembrados aproximadamente a 15 cm de profundidad.

En las inoculaciones con *F. oxysporum* fueron utilizadas cuatro macetas colocando cuatro explantes por bolsa, realizando al mismo procedimiento para el hongo *V. dahliae*, las inoculaciones combinando los dos patógenos se depositaron a cuatro explantes por maceta los cuales dos explantes correspondían a *F. oxysporum* y los dos explantes restantes a *V. dahliae*, para el caso de los tubérculos utilizados como testigos se sembraron con explantes de medio de cultivo sin inóculo; en esta técnica no se les practicó ningún tipo de lesión a los tubérculos (Cuadro 3.3).

**Cuadro 3.3.** Técnica de inoculación, número de explantes por tubérculo y número de tubérculos utilizados. 1997.

Patógeno	Técnica de Inoculación	Densidad de Inóculo	Número de tubérculos
<i>F. oxysporum</i>	explantes al suelo	4 explantes por tubérculo	4
<i>V. dahliae</i>	explantes al suelo	4 explantes por tubérculo	4
<i>F. oxysporum</i> + <i>V. dahliae</i>	explantes al suelo	2 exp. de <i>F. oxysporum</i> + 2 exp. de <i>V. dahliae</i>	4
testigo	explantes al suelo	sin inóculo	4



### Explantes al Tallo

Las plantas inoculadas mediante esta técnica contaban con 33 días aproximadamente después de la siembra entre 15 y 20 cm de altura; para realizar dichas pruebas en la base de los tallos se les realizó un corte diagonal con un bisturí debidamente estéril. Hechos los cortes se procedió a obtener con la ayuda de un sacabocados explantes de un cm de diámetro de los hongos contenidos en las cajas de Petri, obtenidos los explantes se colocaron en cada uno de los cortes hechos a los tallos cubriéndose con suelo y aplicando posteriormente un riego.

En esta técnica también se utilizaron 16 macetas las cuales fueron inoculadas de la siguiente manera: cuatro macetas fueron inoculadas con *F. oxysporum* colocando un explante por tallo, de la misma manera se efectuó la inoculación con el hongo *V. dahliae*, en cuanto a la inoculación combinando los dos patógenos se tomaron explantes de 0.5 cm de diámetro colocando dos explantes por tallo, correspondiendo un explante a *F. oxysporum* y el otro a *V. dahliae*; a las macetas utilizadas como testigos solo se les aplicó explante sin inóculo (Cuadro 3.4).

**Cuadro 3.4.** Técnica de inoculación, densidad de Inóculo y cantidad de plantas utilizadas en esta técnica. 1997.

<b>Patógeno</b>	<b>Técnica de Inoculación</b>	<b>Densidad de Inóculo</b>	<b>Número de Macetas</b>
<i>F. oxysporum</i>	explantes al tallo	1 explante por tallo	4
<i>V. dahliae</i>	explantes al tallo	1 explante por tallo	4
<i>F. oxysporum</i> + <i>V. dahliae</i>	explantes al tallo	1 explante por patógeno por tallo	4
Testigo	explantes al tallo	Sin inóculo	4

### **Reaislamiento de los Patógenos**

Después de haber realizado las pruebas de patogenicidad se llevó a cabo el reaislamiento de los hongos que consistió nuevamente en hacer pequeños cortes del tejido dañado de las plantas inoculadas que resultaron con síntomas de la enfermedad, se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 5 por ciento durante 3 minutos, después se lavaron en agua destilada estéril en dos ocasiones, posteriormente se pasaron a papel secante estéril para eliminar exceso de humedad. Hecho lo anterior los trocitos de tejido fueron sembrados en medio de cultivo PDA y se incubaron a temperatura de 25 ° C.

Posteriormente se hicieron preparaciones microscópicas para observar las características morfológicas de los patógenos y se cotejaron con las observadas en los aislamientos de las plantas procedentes del campo y de esa manera comprobar que los hongos reaislados corresponden a los hongos que fueron aislados e inoculados. \*

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación de acuerdo al objetivo planteado y a la metodología utilizada son los que a continuación se describen.

### Aislamiento de los Patógenos

Después de haber analizado los aislamientos obtenidos del material vegetal enfermo se constató la presencia de *F. oxysporum*; dicho hongo pudo aislarse tanto de los tallos con presencia de necrosis vascular como de las raíces afectadas; de las siembras que se realizaron con tubérculos procedentes de plantas con síntomas de la enfermedad no se presentó crecimiento del hongo.

Para el caso de las siembras en el medio de cultivo de tubérculos aéreos, hojas y tallos con punta morada tampoco se obtuvo crecimiento de *F. oxysporum* ni de *V. dahliae*, sólo en algunos casos hubo crecimiento de otros hongos considerados contaminantes como *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp., pero fueron desechados ya que no se consideran como fitopatógenos para este cultivo, además de que no se contemplaron para esta investigación. Cabe

mencionar que también en algunos casos se detectó la presencia del hongo *Rhizoctonia solani* en raíces, pero de igual manera se desechó ya que no estaba contemplado dentro de los objetivos del trabajo.

*V. dahliae* fue obtenido de microesclerocios procedentes de tallos que fueron afectados por este patógeno; cabe mencionar que en todos los predios recorridos fueron escasas las plantas afectadas con este hongo.

[Esto confirma lo investigado por Guigón (1994), al señalar que en la región papera del Sur de Coahuila y Nuevo León la presencia del género *Verticillium* es baja. En cambio el mismo autor menciona que el hongo *F. oxysporum* estuvo presente en todos los lotes muestreados.]

#### Identificación y Descripción Morfológica de *F. oxysporum* y *V. dahliae*

El hongo *F. oxysporum* en medio de cultivo PDA presentó un crecimiento abundante, al principio cuando el cultivo es joven el color del micelio es blanco; conforme pasa el tiempo dicho micelio se torna de color púrpura. Las características que se observaron al microscopio compuesto fueron hifas hialinas septadas, monofialides simples y cortas, abundante presencia de microconidias hialinas generalmente unicelulares de forma elipsoide-oval a rectas de tamaño que va de 6.0 X 1.9 micras en promedio.

Presencia de macroconidias, en este caso en número muy reducido confirmando lo investigado por French y Nielsen ( 1966); (Guigón), 1994 al señalar que *F. oxysporum* produce escasas macroconidias en medios de cultivo; dichas estructuras presentan de 3-5 septos, forma de hoz con ápice agudo y la base en forma de pie (Figura 4.1), tamaño promedio de 16.5 X 2.8 micras aunque en algunos casos se detectaron algunas con tamaño mayor a 20 micras y menor a 15 micras de color hialino.



Figura 4.1. Macroconidia de *F. oxysporum* obtenida de los aislamientos en medio de cultivo PDA.

También se constató la presencia de clamidosporas de pared gruesa encontrándose solitarias o en pares al final o en la parte media de las hifas (Figura 4.2); estas estructuras conocidas como de resistencia se pueden apreciar cuando el medio de cultivo comenzaba a deshidratarse o researse, dichas características coinciden con las descritas por Booth (1971).

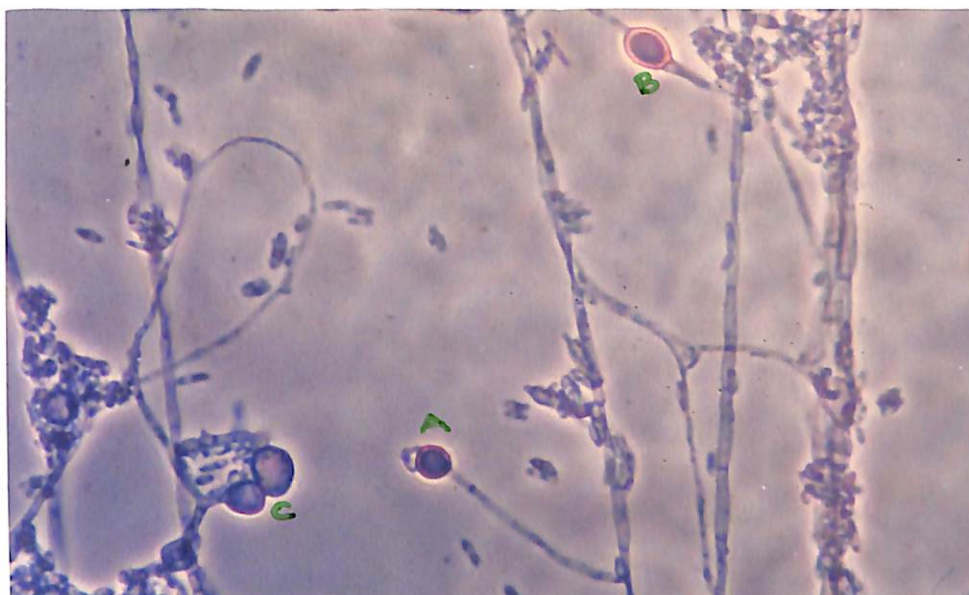


Figura 4.2. Clamidosporas de *F. oxysporum* en pares o solitarias, formadas en la mitad o al final de las hifas obtenidas de los aislamientos en medios de cultivo PDA. A: clamidosporas al final de las hifas. B: clamidosporas en la mitad de las hifas. C: clamidosporas en pares.

En el caso de *V. dahliae* presentó en el medio de cultivo PDA abundante crecimiento de micelio de color blanco al principio, tornándose posteriormente a ligeramente grisáceo, al realizar las preparaciones microscópicas y ser observadas se notó la presencia de conidióforos alargados, hialinos, septados, ramificados de forma verticilada (Figura 4.3), abundante producción de conidias unicelulares, hialinas de forma oval generalmente, aunque se pudieron apreciar algunas en forma elipsoidal, se pudo notar en algunos casos la presencia de pequeñas masas de esporas en la parte apical de las fialides; las hifas de dichos hongos son hialinas y septadas, dichas características coinciden con las descritas por Barnett y Hunter (1972); Romero (1993).

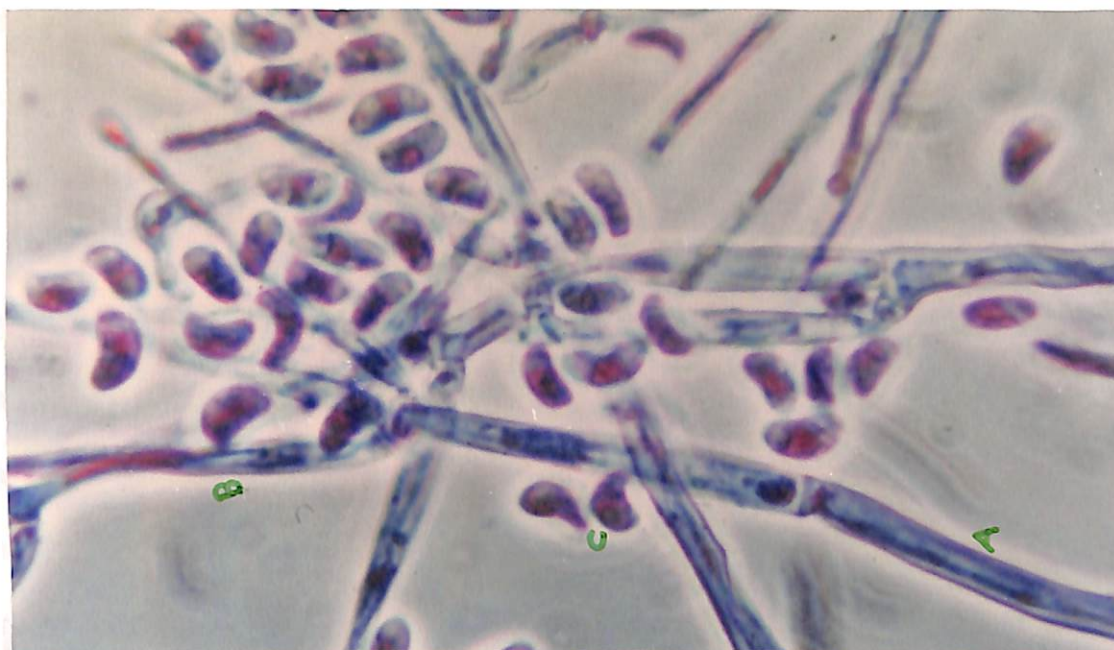


Figura 4.3. Conidióforos, fiálides y conidias de *V. dhaliae* obtenidos de los aislamientos en medio de cultivo PDA. A: conidióforos. B: fiálides. C: conidias.

Cabe mencionar que fue muy escasa la formación de microesclerocios y cuando éstos se presentaron adquirieron un tono hialino, debido probablemente a que los hongos en el medio de cultivo no fueron sometidos al fotoperíodo requerido ni a la intensidad de luz adecuada.

### Pruebas de Patogenicidad

Los resultados que se obtuvieron en las pruebas de patogenicidad utilizando las cuatro técnicas de inoculación fueron variados debido tal vez a la influencia de factores como la densidad de inóculo, técnica de inoculación, variaciones de temperatura en el lugar donde se desarrolló el experimento, etc,



pero aún así se pudo constatar la presencia de la enfermedad con los hongos inoculados.

En la técnica "cortes al tubérculo", de los dieciseis tubérculos utilizados se observó que en el tratamiento en el cual se inocularon cuatro tubérculos con el hongo *F. oxysporum* de los cuales un tubérculo no presentó los síntomas de la enfermedad y dos no germinaron, tal vez pudo haber influido la cantidad de esporas y las heridas realizadas a los tubérculos ya que al revisarlos presentaban síntomas de pudrición seca.

En cuanto al tubérculo que germinó comenzaron a aparecer algunos síntomas como amarillamientos y poco crecimiento de la planta, posteriormente en las hojitas de los brotes terminales aparecieron algunas coloraciones de tono morado y en algunas hojas de la parte media de la planta (Figura 4.4); dichos síntomas comenzaron a aparecer a los 55-60 días después de la siembra una vez iniciada la floración, para este patógeno en esta técnica no hubo presencia de tubérculos aéreos.

Para *V. dahliae* inoculado en cuatro tubérculos solo pudieron apreciarse síntomas en dos macetas, las dos restantes no presentaron ningún tipo de alteración, dichos síntomas pudieron notarse al igual que en las plantas anteriores a los 55-60 días después de la siembra, las hojas superiores comenzaron a adquirir el color morado y en las hojas de la parte media no se cubrieron totalmente de morado sólo los bordes, tampoco se apreciaron

Figura 4.4. Síntomas de punta morada de la papa producidos con la técnica de inoculación "cortes al tubérculo". A: hojas con tonalidad morada.

entrenudos cortos aunque las plantas con síntomas tuvieron poco crecimiento. Al ser revisadas las raíces y realizarles cortes tanto transversales como longitudinales se pudo apreciar el haz vascular necrosado al igual que en tallos.

En la inoculación combinando los dos patógenos se presentaron dos macetas con síntomas, una de ellas no germinó y otra no presentó la enfermedad. Las plantas que presentaron los síntomas fueron semejantes a los antes descritos y aparecieron al mismo tiempo, cabe señalar que una de las plantas con la enfermedad presentó tubérculos aéreos.

En relación a los resultados obtenidos con la técnica de inoculación "inyección al tallo" de las cuatro macetas inoculadas con *F. oxysporum* tres de ellas presentaron síntomas y sólo una no los presentó; en este caso, como las

inoculaciones se realizaron cuando las plantas tenían aproximadamente treinta días después de la siembra, los síntomas se presentaron a los 60-65 días después de la siembra, las plantas ya habían iniciado la floración cuando se presentaron los primeros síntomas como color morado en las hojas superiores, algunas brotaciones axilares, una maceta presentó tallos con tubérculos aéreos (Figura 4.5).

Figura 4.5. Presencia de tubérculo aéreo en macetas inoculadas con *F. oxysporum* con la técnica "inyección al tallo". A: tubérculo aéreo.

En las inoculaciones con *V. dahliae* de las cuatro macetas inoculadas con dicho patógeno dos presentaron síntomas y a las dos restantes no se les apreció ningún daño, las características de los síntomas fueron iguales a los descritos anteriormente, también estos aparecieron después de los 60 días de efectuada la siembra, en este tratamiento tampoco se apreciaron tubérculos aéreos ni brotes axilares.

En cuanto a los patógenos inoculados juntos solo se apreciaron síntomas leves, en dos macetas se apreciaron hojas superiores con color morado solo en los márgenes. En el tratamiento correspondiente al testigo no se les apreció ningún síntoma a las plantas desarrollándose de manera normal.

En las inoculaciones utilizando la técnica "explantes al suelo" el primer tratamiento que consistió en depositar al suelo explantes de *F. oxysporum*, de las cuatro macetas inoculadas tres de ellas presentaron síntomas característicos de la enfermedad, la maceta restante aparentemente no presentó daño alguno; en el caso de las plantas con síntomas estos aparecieron aproximadamente a los 55 y 60 días después de la siembra apreciándose primero poco crecimiento en las plantas y un color amarillo, posteriormente las hojas superiores adquirieron el tono morado y también parte de los tallos en el área superior.

En las macetas inoculadas con *V. dahliae* se apreciaron síntomas en dos de las cuatro macetas, al igual que en las plantas anteriores éstos aparecieron al mismo tiempo después de la siembra. En cuanto a los patógenos inoculados juntos se presentaron síntomas en una maceta con la formación de tubérculos aéreos, los síntomas que se manifestaron fueron similares a los ya descritos anteriormente.

Los resultados obtenidos con la técnica de inoculación "explantes al tallo" para el caso de *F. oxysporum* todas las macetas manifestaron los síntomas de

la enfermedad; dichos síntomas se apreciaron al igual que en los casos anteriores transcurridos 55 a 60 días después de la siembra. Los síntomas observados fueron plantas con una apariencia clorótica, posteriormente los brotes apicales adquirieron el color morado.

Para el caso de *V. dahliae* sólo una maceta presentó los síntomas, además en la parte interna de los tallos se pudo apreciar la formación de microesclerocios (Figura 4.6).

Figura 4.6. Microesclerocios de *V. dahliae* en el interior de tallos de plantas inoculadas con la técnica "explantes al tallo".

Para el tratamiento en donde se inocularon juntos a los patógenos en tres macetas se presentaron los síntomas de la enfermedad, además de la presencia de tubérculos aéreos, dichos síntomas se iniciaron al mismo tiempo que en el caso anterior. En los tratamientos utilizados como testigos en ninguna de las técnicas de inoculación se presentaron síntomas de la enfermedad, desarrollándose las plantas de manera normal (Figura 4.7).



Figura 4.7. Planta utilizada como testigo sin síntomas de la enfermedad.

Todas las plantas que presentaron los síntomas de la enfermedad denominada "punta morada" independientemente de la técnica utilizada, al realizárseles cortes transversales tanto a tubérculos como a tallos se les pudo apreciar el anillo vascular necrosado.

En las Figuras 4.8 a la 4.11 se muestra la incidencia de la enfermedad que presentaron los hongos tanto inoculados por separado como combinados en cada una de las técnicas de inoculación.

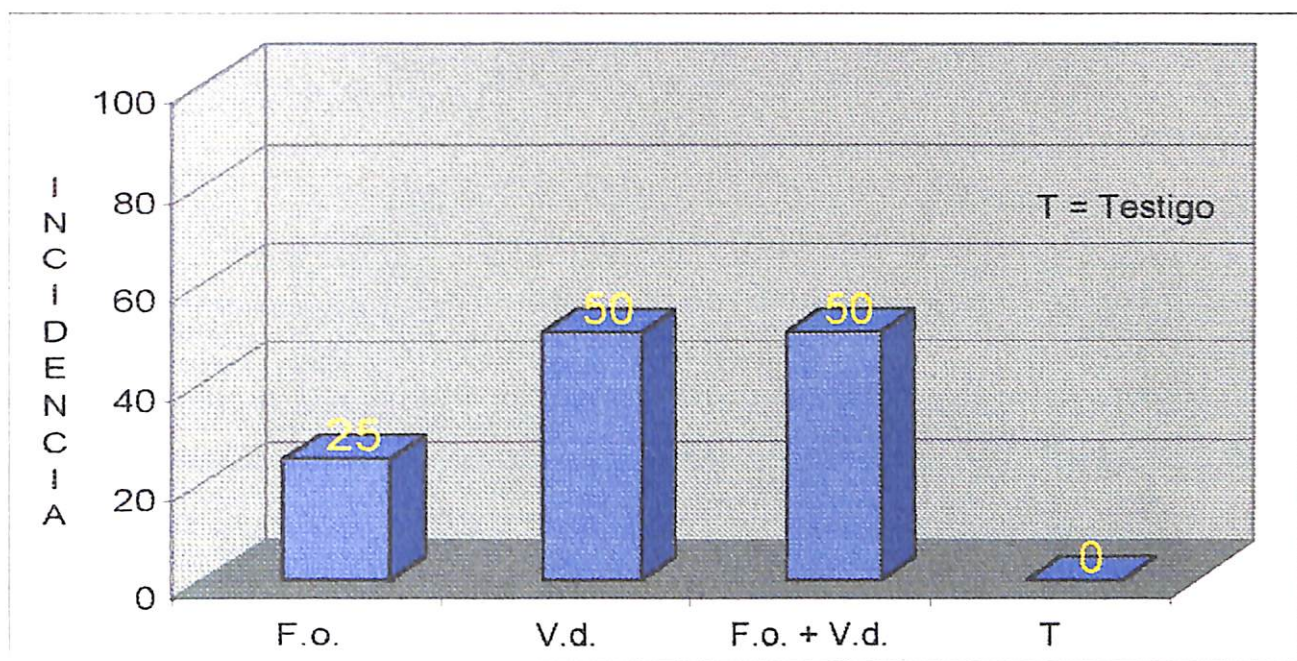


Figura 4.8. Incidencia de la enfermedad punta morada de la papa utilizando la técnica de inoculación "cortes al tubérculo", con los hongos *F. oxysporum* y *V. dahliae*.

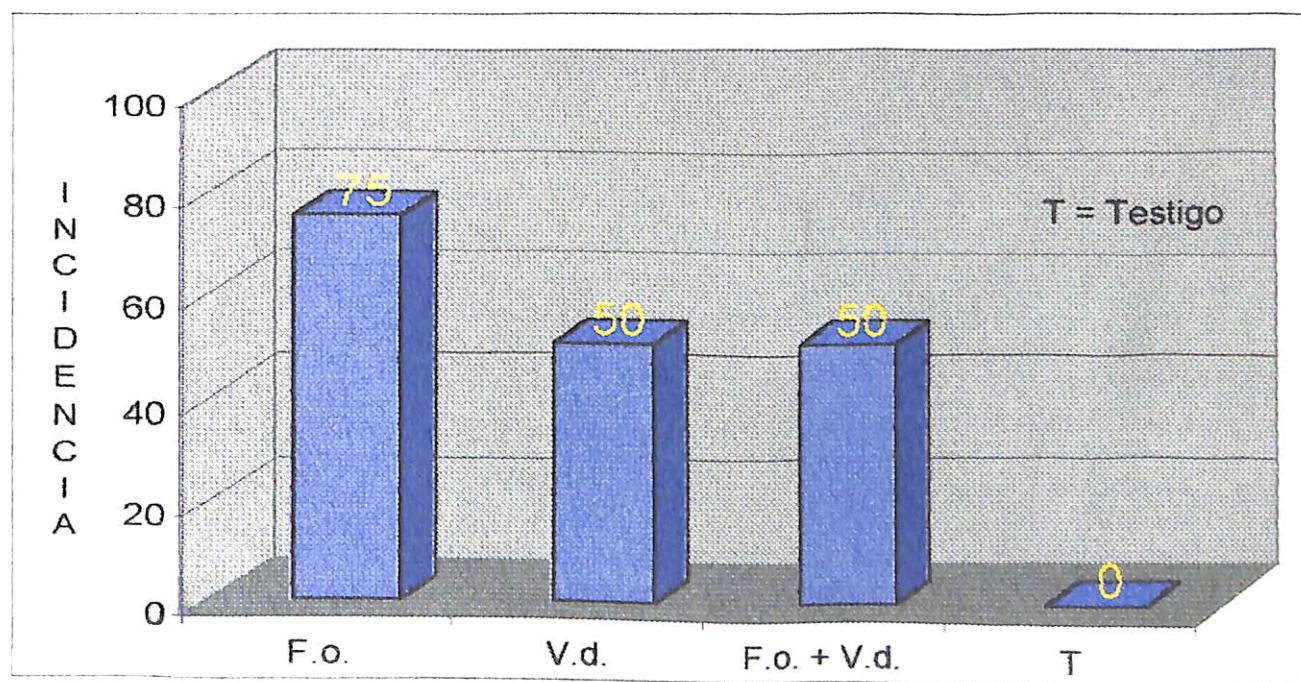


Figura 4.9. Incidencia de la enfermedad punta morada de la papa utilizando la técnica de inoculación "inyección al tallo", con los hongos *F. oxysporum* y *V. dahliae*.

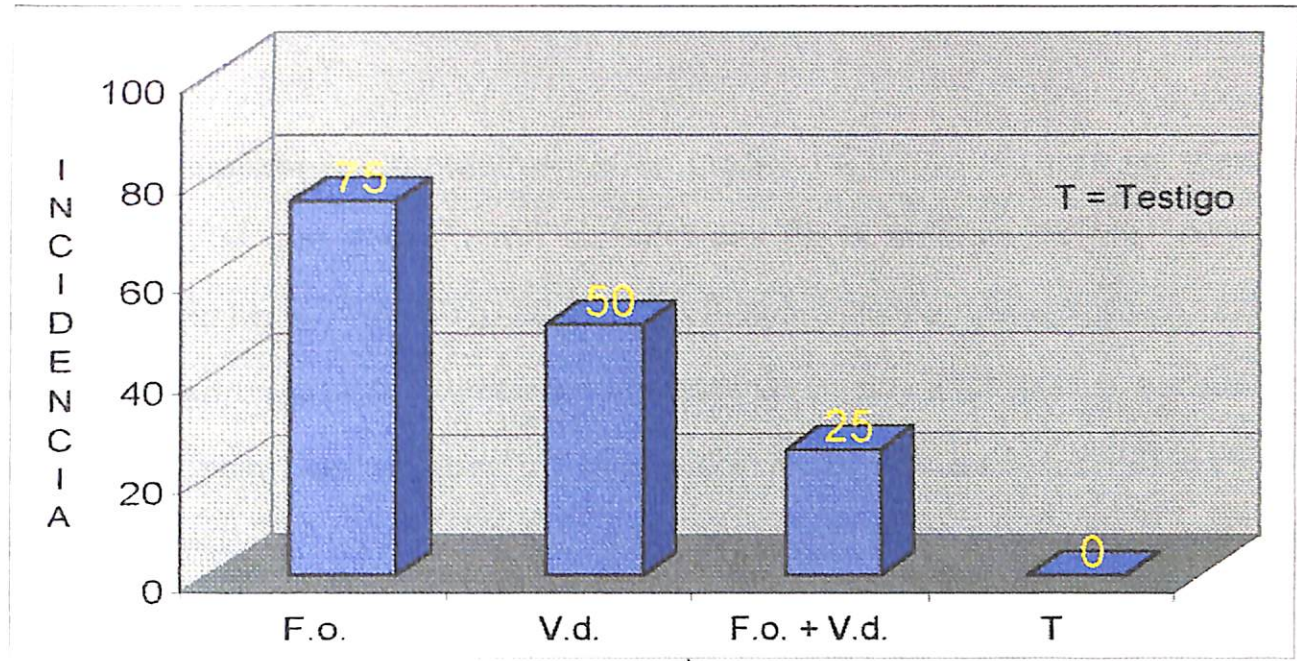


Figura 4.10. Incidencia de la enfermedad punta morada de la papa utilizando la técnica de inoculación "explantes al suelo", con los hongos *F. oxysporum* y *V. dahliae*.

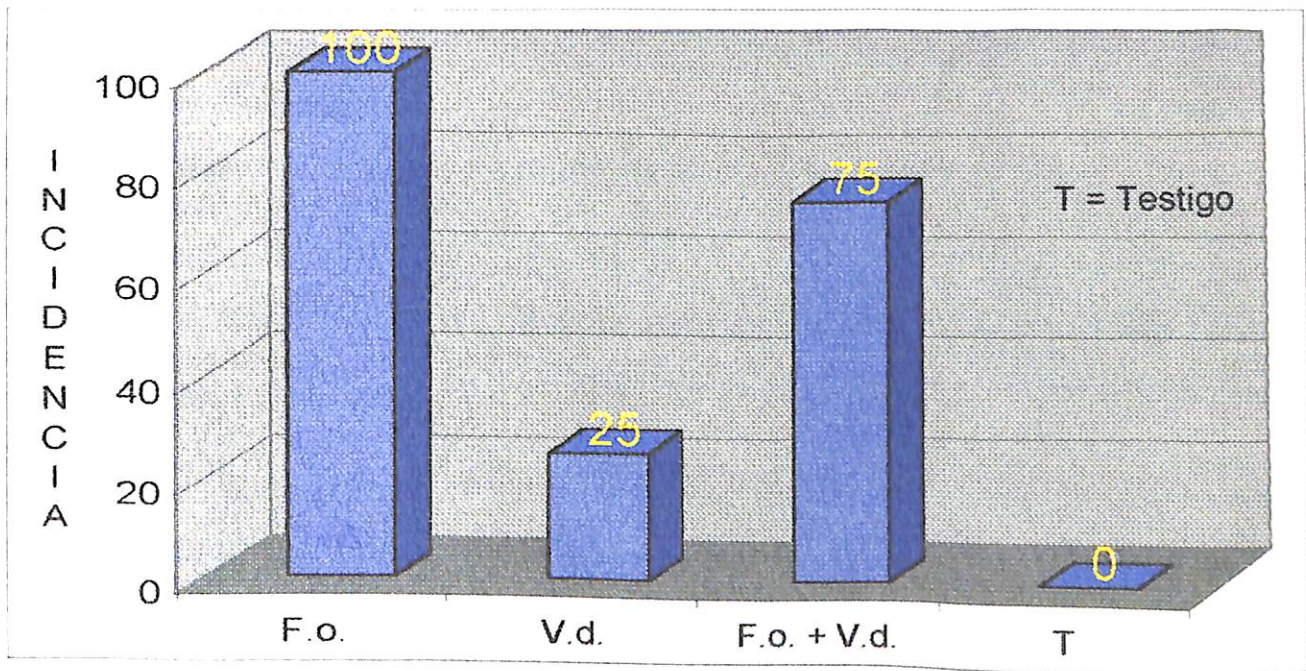


Figura 4.11. Incidencia de la enfermedad punta morada de la papa utilizando la técnica de inoculación "explantes al tallo", con los hongos *F. oxysporum* y *V. dahliae*.



## Reaislamientos

Al realizar los reaislamientos en medios de cultivo PDA de las plantas inoculadas y que presentaron los síntomas de la enfermedad, se pudieron obtener los hongos que en un principio fueron aislados de las plantas con la enfermedad traídas del campo e inoculados en plantas y tubérculos que fueron utilizados para las pruebas de patogenicidad. Al realizar las preparaciones microscópicas se detectaron las mismas características morfológicas que las observadas en los aislamientos.

*F. oxysporum* nuevamente presentó en el medio de cultivo color púrpura, microconidias hialinas, unicelulares de forma elipsoide-oval, tamaño promedio de 6.0 X 2.0 micras; pudo constatarse la presencia de macroconidios en número reducido de 3-5 septos con ápices agudos, tamaño promedio de 16.5 X 3.0 micras. Se observó la presencia de clamidosporas solitarias o en pares tanto en la parte terminal o intermedia de las hifas (Figura 4.12).

Las características morfológicas de *V. dahliae* coincidieron con las observadas en los aislamientos tales como crecimiento abundante de micelio de color blanco tornándose posteriormente a ligeramente grisáceo, hifas hialinas septadas, conidióforos alargados ramificados verticiladamente (Figura 4.13), poca formación de microesclerocios. En cuanto a los hongos inoculados juntos pudo notarse el crecimiento en el medio de cultivo de ambos hongos tal como

se muestra en la Figura 4.14, estos reisolamientos se obtuvieron de tallos inoculados con las técnicas de inoculación explantes al tallo e inyección al tallo.

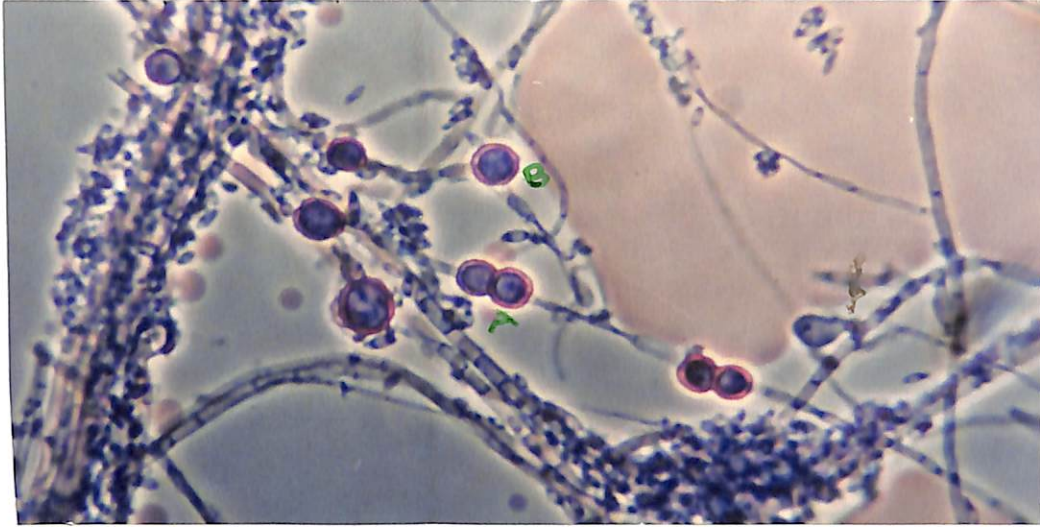


Figura 4.12. Clamidospora de *F. oxysporum* individuales y en pares, en la parte media y al final de las hifas obtenidas de los reisolamientos en medios de cultivos PDA. A: clamidosporas en pares. B: clamidosporas individuales.



Figura 4.13. Conidióforos, fiálides y conidias de *V. dahliae* obtenidos de los reislamientos en medio de cultivo PDA. A: conidióforos. B: fiálides. C: conidias.



Figura 4.14. Reislamiento de *F. oxysporum* y *V. dahliae* inoculados juntos, creciendo en medio de cultivo PDA. A: *F. oxysporum* B: *V. dahliae*.

## DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación, se demuestra que *F. oxysporum* y *V. dahliae* se encuentran involucrados en los síntomas de la punta morada de la papa en la región papera del sur de Coahuila y Nuevo León.

En la metodología utilizada para realizar las pruebas de patogenicidad se observó que la técnica "cortes al tubérculo" el hongo *F. oxysporum* inoculado por separado tuvo una incidencia baja ya que solo una planta presentó los síntomas, dos de los tubérculos no lograron germinar debido a que sufrieron pudriciones, esto probablemente a la técnica utilizada ya que Ayers y Robinson (1954), utilizaron una metodología similar para realizar estudios sobre la pudrición seca de tubérculos en almacén con especies de *Fusarium*; esto indica que al realizar las heridas a los tubérculos las conidias penetraron con facilidad e invadieron rápidamente el tejido causando la pudrición de dichos tubérculos.

En relación a *V. dahliae* no se presentaron tubérculos sin germinar o que hayan sido afectados por pudriciones probablemente a que dicho hongo no está reportado como causante de pudriciones en tubérculos. En cuanto a la

combinación de los hongos, las plantas que presentaron los síntomas de la enfermedad fueron más marcados que los observados en las plantas inoculadas con *V. dahliae*, debido tal vez a que están interactuando los dos patógenos.

Se observó que *F. oxysporum* en la técnica de inoculación "inyección al tallo" con respecto a *V. dahliae* presentó mayor número de plantas con síntomas de la enfermedad, en este caso al igual que en la técnica anterior los síntomas no fueron tan severos como se observan en ocasiones en el campo, pudo ser que el nivel de inóculo no haya sido el óptimo o las condiciones en donde se desarrollaron las plantas no fue el adecuado, en cuanto a la combinación de los patógenos se siguió detectando que causan síntomas; sin embargo, no en todas las plantas se manifestaron, pudo haberse presentado algún tipo de antagonismo entre los dos patógenos u ocurrió lo que mencionaron French y Hebert (1982), al señalar que una dosis mínima de inóculo o una sobredosis pueden inhibir el proceso de patogénesis.

En cuanto a la presencia de los síntomas de la enfermedad en las plantas inoculadas con la técnica "explantes al suelo", el hongo *F. oxysporum* produjo una incidencia del 75 por ciento; esto indica que de las cuatro macetas inoculadas, tres de ellas presentaron síntomas de la enfermedad, a pesar de que a dichos tubérculos no se les realizó ningún corte o herida el hongo pudo haber penetrado a través de aberturas naturales de la raíz después de haber ocurrido lo descrito por Schreiber y Green (1963), al mencionar que las esporas

de algunos hongos entre ellos *Verticillium* normalmente germinan cuando las raíces de sus hospederos secretan algún tipo de sustancias que estimulan la germinación y posteriormente penetrar el tejido hasta llegar al sistema vascular y causar el daño.

*V. dahliae* presentó el 50 por ciento de incidencia y la combinación de los dos patógenos presentaron el 25 por ciento de la enfermedad lo cual indica que de los patógenos tienen influencia en la enfermedad y que en condiciones naturales de campo pueden estar interactuando para causar la enfermedad.

En relación al comportamiento de los hongos inoculados mediante la técnica "explantes al tallo" el hongo *F. oxysporum* produjo síntomas en todas las plantas, es decir las cuatro macetas manifestaron la enfermedad pudo haber influido la cantidad de inóculo contenido en los discos de PDA y las heridas causadas al tallo que facilitaron la entrada del hongo.

En el caso de *V. dahliae* solo causó síntomas en una solo maceta tal vez influyeron factores como temperatura, humedad del suelo, cantidad de inóculo, etc., que incidieron sobre el patógeno e impidieron que éste se manifestara con mayor fuerza.

En las plantas inoculadas mezclando los dos patógenos se presentó una incidencia del 75 por ciento, tomando en cuenta que *F. oxysporum* inoculado por separado presentó una incidencia del 100 por ciento y *V. dahliae* una

incidencia del 25 por ciento, lo cual indica que de los dos hongos inoculados juntos en esta técnica el patógeno que tuvo mayor efecto sobre los síntomas fue *F. oxysporum*.

Tomando en cuenta las técnicas utilizadas para estudiar el efecto de los patógenos antes mencionados en los síntomas de la punta morada de la papa, dichos síntomas se manifestaron en las cuatro técnicas, tanto en los dos hongos inoculados por separado como inoculados mezclados a la vez.

Los síntomas observados en este experimento no se manifestaron con la severidad como en muchas de las veces ocurre en el campo, pero sí lo suficiente como para demostrar que dichos patógenos se encuentran involucrados en los síntomas de la punta morada de la papa, pudieron haber influido factores tales como los que menciona Maramorosch (1988), al indicar que los síntomas de la punta morada de la papa pueden ser diferentes dependiendo de la altitud, de las variaciones de la temperatura, condiciones de humedad y la variedad de que se trate.

Conociendo mejor las causas de la enfermedad se pueden diseñar mejores estrategias de control y manejo de la enfermedad, ya que hasta el momento el manejo de la enfermedad en la región papera del Sur de Coahuila y Nuevo León no ha dado los resultados esperados.

## CONCLUSIONES

Con base en las condiciones en las que se desarrolló el experimento, al objetivo planteado y los resultados obtenidos, se puede concluir lo siguiente:

- *F. oxysporum* y *V. dahliae* se encuentran asociados en los síntomas de la punta morada de la papa en el Sur de Coahuila y Nuevo León, siendo el primero de estos el que presentó mayor efecto sobre los síntomas de la enfermedad
- La técnica de inoculación en la que se mostraron los mejores resultados fue la de “inyección al tallo”.
- La técnica en donde se observaron los mejores resultados inoculando a *F. oxysporum* y *V. dahliae* juntos fue en “explantes al tallo”.



## RESUMEN

La papa es un cultivo que se adapta y puede explotarse con resultados satisfactorios desde el nivel del mar hasta los 3000 msnm; a nivel nacional es una de las hortalizas de mayor importancia por su superficie sembrada, como fuente de alimento, por la derrama económica que produce y la generación de empleos para los campesinos de las regiones donde se cultiva; actualmente en la región papera del Sur de Coahuila y Nuevo León se siembra un área de aproximadamente 6,000 has, ocupando a nivel nacional los primeros lugares en rendimiento por unidad de superficie.

En la región antes mencionada dichos rendimientos en ocasiones se ven seriamente afectados por diversos factores entre los que destacan por su importancia los de tipo parasitológico, siendo uno de ellos la punta morada de la papa enfermedad que no ha sido manejada adecuadamente por lo incierto de su etiología, por tal motivo la finalidad del presente trabajo de investigación fue conocer el efecto de los hongos *F. oxysporum* y *V. dahliae* sobre los síntomas de la punta morada de la papa, para ello se realizaron muestreos en diferentes lotes de la mencionada región y se colectaron plantas con síntomas de la enfermedad trasladándose estas al laboratorio de Fitopatología para su procesamiento.

Después de haber obtenido e identificado a los hongos de interés se procedió a realizar las pruebas de patogenicidad utilizando para este fin un total de sesenta y cuatro tubérculos de la variedad alpha, las técnicas de inoculación empleadas fueron: Cortes al Tubérculo con concentraciones de  $4 \times 10^6$  conidias por mililitro, Inyección al Tallo a una concentración de  $5 \times 10^6$  conidias por mililitro, Explantes al Suelo utilizando cuatro explantes por tubérculo y Explantes al Tallo colocando un explante por tallo. En cada una de las técnicas se inocularon cuatro tubérculos con *F. oxysporum*, cuatro tubérculos con *V. dahliae*, cuatro tubérculos mezclando los dos patógenos y cuatro tubérculos como testigos, utilizando en total para cada técnica dieciseis tubérculos. Para el caso de las técnicas Cortes al Tubérculo y Explantes al Suelo las inoculaciones se efectuaron al momento de la siembra de los tubérculos, en las técnicas restantes dichas inoculaciones se realizaron cuando las plantas tenían 33 días después de la siembra y una altura entre 15-20 cms.

Los resultados obtenidos mostraron que los patógenos en estudio también son causantes de los síntomas de la punta morada de la papa, los síntomas de la enfermedad comenzaron a aparecer a los 55-65 días después de la siembra de los tubérculos, en general los síntomas observados fueron plantas cloróticas, algunas con poco crecimiento, foliíolos de color morado, en algunos casos presencia de tubérculos aéreos, necrosis vascular tanto en tallos como en tubérculos, la técnica de inoculación Inyección al Tallo fue la que mejor resultados presentó y el hongo inoculado por separado en donde se apreciaron el mayor número de plantas con síntomas de la enfermedad en cada una de las técnicas fue *F. oxysporum*.

## LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 1988. Plant Pathology. Third Edition. Academic Press, I NC.Lodon. 803 p.
- Alexopoulos, C. J. and Mims, C.W. 1979. Introductory Mycology. Third Edition. J. Wiley and Sons. New York. 632 p.
- Alonso, A.F. 1996. El Cultivo de la Patata. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 272 p.
- Alonso, C.Z. 1992. Evaluación de Fungicidas para el Control de la Costra Negra *Rhizoctonia solani* Kuhn en Papa *Solanum tuberosum* L. en Galeana, Nuevo León. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Buenavista, Saltillo. Coahuila. México. 121 p.
- Anaya, R.S., Romero, N. J. *et al.* 1999. Hortalizas. Plagas y Enfermedades. Editorial Trillas. Primera Edición. México, D.F. 544 p.
- Ayers, G.W. 1952. Studies on *Verticillium* Wilt of Potatoes. American Potato Journal 29:201-206.
- Ayers, G.W. and Robinson, D.B. 1954. An Inoculation Technique for the Study of Dry Rot of Potatoes. American Potato Journal 31:278-281.
- Banttari, E.E. , Orr, P.H. and Preston, D.A. 1990. Purple Top as a Cause of Potato Chip Discoloration. Transactions in Agriculture 33:221-226
- Barnett, H.L. and Hunter, B.E. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th Ed. Macmillan Publishing Company, New York. 218 p.
- Beall, G. and Cannon, F.M. 1945. The Cause of Purple-top of Potatoes, as Indicated by a Study of its Distribution Within Fields. American Potato Journal 22:363-368.
- Benoit, G.R. and Grant, W.J. 1980. Plant Water Deficit Effects on Aroostook County Potato Yields Over 30 Years. American Potato Journal 57:585-594.

- Boot, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England. 235 p.
- Botseas, D.D. and Rowe, R.C. 1994. Development of Potato Early Dying in Response to Infection by Two Pathotypes of *Verticillium dahliae* and Co-infection by *Pratylenchus penetrans*. *Phytopathology* 84:275-282.
- Cadena H.,M.A. y Galindo, A.J. 1985. Reducción de la Incidencia de la Punta Morada de la Papa por Medio de Fechas de Siembra, Genotipo de la planta y Aplicación de Insecticidas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 3:100-105.
- Cadena H.,M.A. 1993. La Punta Morada de la Papa en México: Incidencia y Búsqueda de Resistencia. *Agrociencia serie Protección Vegetal*. 4(2):247-256.
- Calderoni, A.V. 1978. Enfermedades de la Papa y su Control. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. 143 p.
- Castillo,P., Mora R., M.P., Navas C.,J.A. and Jiménez D.,R.M. 1998. Interactions of *Pratylenchus thornei* and *Fusarium oxysporum* f sp *ciceris* on Chickpea. *Phytopathology* 88:828-836.
- Castrejón, S.A. 1978. Especies de *Verticillium* Causantes del Marchitamiento del Algodonero en la Comarca Lagunera. *Agricultura Técnica en México*. 4(2):127-135.
- Cepeda, S.M. 1996. *Nematología Agrícola*. Editorial Trillas. Primera Edición. México, D.F. 305 p.
- Cepeda, S.M. 2000. *La Papa el Fruto de la Tierra*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. División de Agronomía. Departamento de Parasitología. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 221 p.
- Cervantes, R.J. and Rubio,R. 1963. The Influence of planting Dates on the Control of Purple Top Wilt of Potatoes in México. *Phytopathology* 53:24 (abst.).
- Crúz, B.A. 1997. Efecto de los Virus "X", "Y" y "Z" de la Papa y su Interacción con *Verticillium dahliae* en el Cultivo de la Papa Variedad Gigant bajo Condiciones de Invernadero. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 82 p.
- Datnoff, L.E. and Sinclair,J.B. 1988. The Interacction of *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* in Causing Root of Soybeans. *Phytopathology* 78:771-777.

- Davalos G., P.A. 1990. Respuesta de la Fresa a Dos Métodos de Inoculación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* e Identificación de Fuentes de Resistencia. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah. 104 p.
- De La Garza G., J.L. 1996. Fitopatología General. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Marín, Nuevo León. México. 515 p.
- Devaux, A.L. and Sackston, W.E. 1966. Taxonomy of *Verticillium* Species Causing Wilt of Horticultural Crops in Quebec. Canadian Journal of Botany 44:803-811.
- Dickinson, C.H. y Lucas, J.A. 1987. Patología Vegetal y Patógenos de Plantas. Editorial Limusa. Primera Edición. 312 p.
- Duarte, V. and Clark, C.A. 1993. Interaction of *Erwinia chrysanthemi* and *Fusarium solani* on Sweetpotato. Plant Disease 77:733-735.
- Edmond, J.B. 1989. Principios de Horticultura. Quinta Edición. Editorial Continental. México-España. 575 p.
- French, E.R. y Hebert, T.H. 1982. Métodos de Investigación Fitopatológica. IICA. San José, Costa Rica. 289 p.
- French, E.R. and Nielsen, L.W. 1966. Production of Macroconidia of *Fusarium oxysporum* f. sp. *batatas* and Their Conversion to Chlamidospores. Phytopathology 56:1322-1323.
- García Q., J.R. 1996. Etiología y Transmisión del Oscurecimiento Interno del Tubérculo de Papa (*Solanum tuberosum* L) para Industria. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 65 p.
- García Q., J.R. y Rodríguez, R. 1998. Transmisión y Control de la Punta Morada de la Papa. Congreso Nacional de la Papa. Toluca, Estado de México. pp 1-2.
- Gilman, J.C. 1963. Manual de los Hongos del Suelo. Compañía Editorial Continental S.A. Primera Edición en Español. México, D.F. 572 p.
- Guigón, L.C. 1994. Epidemiología de las Enfermedades de la Papa Causadas por Hongos Fitopatógenos del Suelo en el Sur de Coahuila y Nuevo León. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 103 p.
- Hart, L.P. and Endo, R.M. 1978. The Reappearance of *Fusarium* Yellows of Celery in California. Plant Disease Reporter 62:138-142.

- \_\_\_\_\_ 1981. The Effect of Time of Exposure to Inoculum, Plant Age, Root Development, and Root Wounding on *Fusarium* Yellows of Celery. *Phytopathology* 71:77-79.
- Horton, D. 1987. Potatoes. Production, Marketing and Programs for Developing Countries. Westview Press. IT Publications, London. 243 p.
- Hooker, W.J. 1980. Compendio de Enfermedades de la papa. Publicaciones Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. 166 p.
- Huaman, Z., Schmieliche, P. y Wissar, R. 1988. Los Recursos Genéticos de la Papa y su Conservación en el Centro Internacional de la Papa. Toluca Estado de México. 15-26 de Agosto.
- Jacobsen, B.J., MacDonald, D.H. and Bissonette, H.L. 1979. Interaction Between *Meloidogyne hapla* and *Verticillium albo-atrum* in the *Verticillium* Wilt Disease of Potato. *Phytopathology* 69:288-292.
- Johnson, K.B., Radcliffe, E.B. and Teng, P.S. 1986. Effects of Interacting Populations of *Alternaria solani*, *Verticillium dahliae* and the Potato Leafhopper (*Empoasca fabae*) on Potato Yield. *Phytopathology* 76:1046-1052.
- Koike, S.T., Subbarao, K.V., Davis, R.M., Gordon, T.R. and Hubbard, J.C. 1994. *Verticillium* wilt of Cauliflower in California. *Plant Disease* 78:1116-1121.
- Kondo, J. 1997. Es necesario promover el consumo de papa. 7<sup>mo</sup> Congreso Nacional de Productores de Papa. Hortalizas, Frutas y Flores. 31 de Agosto.
- Latorre, G.B. 1999. Enfermedades de las Plantas Cultivadas. Quinta Edición. Editorial Alfa Omega. 646 p.
- ✓ Leach, J.G. 1939. Further Experiments on the Cause of Purple Top Wilt of Potatoes. *Phytopathology* 29:14 (abst.).
- ✓ Leach, J.G. and Bishop, C.F. 1944. Further Studies on the Nature and Cause of Purple-top Wilt of Potatoes. *Phytopathology* 34:1006-1007 (abst.).
- ✓ MacLeod, D.J. 1954. Aster Yellows (Purple- Top) of Potatoes. *American Potato Journal* 31:119-127.
- Mai, W.F. and Abawi, G.S. 1987. Interactions Among Root-Knot Nematodes and *Fusarium* Wilt Fungi on Host Plants. *Annual Review of Phytopathology* 25:317-338.

- Maramorosch, K. 1988. Potato Purple Top Wilt. Entomology Department, Cook College, Rutgers, The State University. New Brunswick. New Jersey, U.S.A. 456 p.
- Mendoza H., J.M. 1983. Agrometeorología. Diagnostico Climático para la Zona de Influencia Inmediata de la UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 615 p.
- Mendoza, Z.C. y Pinto, C.B. 1983. Principios de Fitopatología y Enfermedades Causadas por Hongos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. 310 p.
- Mendoza, Z.C. 1996. Enfermedades Fungosas de Hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. 85 p.
- Montaldo, A. 1984. Cultivo y Mejoramiento de la Papa. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica. 706 p.
- Platt, H.W. and Sanderson, J.B. 1987. Comparison of Inoculation Methods for Field Studies on Varietal Response to *Verticillium* Wilt of Potatoes. American Potato Journal 64:87-92.
- Presley, J.T. 1950. *Verticillium* Wilt of Cotton With Particular Emphasis on Variation of the Causal Organism. Phytopathology 40:497-511.
- Rahimian, M.K. and Mitchell, J.E. 1984. Relationship of *Verticillium dahliae* and *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* in the Early Dying Disease of Potato. Phytopathology 74:327-332.
- Roberts, D.A. y Boothroyd, C.W. 1978. Fundamentos de Fitopatología Vegetal. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 392 p.
- Rocha, R.R. 1985. Guía para Cultivar Papa en el Bajío. SARH, INIA, CIAB, CAEB. Celaya, Guanajuato, México. 14 p.
- Romero, C.S. 1993. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Dirección del Patronato Universitario, A.C. Chapingo, México. 354 p.
- Rowe, R.C., Riedel, R.M. and Martín, M.J. 1985. Synergistic Interactions Between *Verticillium dahliae* and *Pratylenchus penetrans* in Potato Early Dying Disease. Phytopathology 75:412-418.
- Saeed I., A.M., MacGuidwir, A.E. and Rouse, D.I. 1997. Disease Progress Based on Effects of *Verticillium dahliae* and *Pratylenchus penetrans* on Gas Exchange in Russet Burbank Potato. Phytopathology 87:440-445.

- Sarasola, A.A. y Rocca, M.A. 1975. Fitopatología, Curso Moderno. Tomo II. Micosis. Centro Regional de Ayuda Técnica. Agencia para el Desarrollo Internacional México/Buenos Aires. 374 p.
- Schreiber, L.R. and Green, R.J. 1963. Effect of Root Exudates on Germination of Conidia and Microesclerotia of *Verticillium albo-atrum* Inhibited by the Soil Fungistatic Principle. *Phytopathology* 53:260-264.
- Smith, I.M., Dunez, J., Lelliott, R.A., Phillips, D.H. y Archer, S.A. 1992. Manual de Enfermedades de las Plantas. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 671 p.
- Toussoun, T.A. and Nelson, P.E. 1968. A Pictorial Guide to the Identification of *Fusarium* Species According to the Taxonomic System of Snyder and Hansen. The Pennsylvania State University Press. University Park and London. 51 p.
- Vavilov, N.I. 1951. Estudios Sobre el Origen de las Plantas Cultivadas. Ediciones Acme Agency. Ciencias Biológicas y Agroquímicas. Buenos Aires, Argentina. 185 p.
- Walker, J.C. 1968. Plant Pathology. 3<sup>th</sup> Edition. McGraw-Hill, New York. 819 p.
- Xiao, C.L. and Subbarao, K.V. 1998. Relationships Between *Verticillium dahliae* Inoculum Density and Wilt Incidence, Severity, and Growth of Cauliflower. *Phytopathology* 88:1108-1115.
- Younkin, S.G. 1943. Purple-Top Wilt of Potatoes Caused by the Aster Yellows Virus. *Phytopathology* 33:16 (abst).
- Zavala, Q.T. 1998. Presión de Infección de la Punta Morada de la Papa. Congreso Nacional de la Papa. Toluca, Estado de México. pp 1-2.
- Zink, R.T. and Secor, G.A. 1982. Interaction of Fungal Wilt Pathogens and Potato Blackleg. *Plant Disease* 66:1053-1056.