

**INTERACCION Fusarium - Rhizobium - Rhizoctonia
EN EL CULTIVO DEL FRIJOL (Phaseolus vulgaris L.)**

RICARDO ARROYO MATA

T E S I S

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



**Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro**

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coah.

ENERO DE 1991

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

MAESTRO EN CIENCIAS
PARASITOLOGIA AGRICOLA

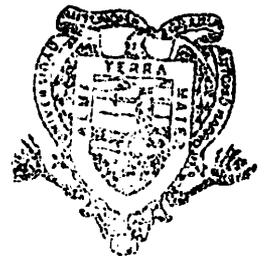
COMITE PARTICULAR

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

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

Asesor: Mercedes de la Garza Curcho.
M.C. Mercedes de la Garza Curcho.

JMB
Dr. José Manuel Fernández Brondo.
Subdirector de Asuntos de Postgrado.



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

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Enero 1991.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por las facilidades brindadas para el desarrollo de este trabajo y mi superación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por su apoyo al brindarme la Beca.

Al Ing. Abiel Sánchez Arizpe por su atinada asesoría, consejos y paciencia.

Al Ing. Adolfo García Salinas quien me brindo tiempo invaluable para la revisión de este trabajo.

A la M.C. Mercedes de la García Curcho por sus meticulosas aportaciones.

A todos mis maestros y condiscípulos de Maestría, de quienes obtuve experiencia y formación académica.

DEDICATORIA

A mi esposa Rosalinda quien me ha sabido impulsar, apoyar y sobre todo tenerme paciencia durante el tiempo dedicado a la terminación de mis estudios.

A mis hijas: Lisbeth Soledad y Evelyn Luz quienes se han privado de momentos gratos en su infancia.

A mis padres, Rubén y María de la Luz, a quienes los respeto y les debo mi existencia.

A mis suegros, Fernando y Soledad, por su fé y cariño que me han brindado, colaborandc con un escalon más en mi larga vida.

COMPENDIO

Interacción Fusarium - Rhizobium - Rhizoctonia
en el Cultivo del Frijol (Phaseolus vulgaris L.)

por:

RICARDO ARROYO MATA

MAESTRIA

PARASITOLOGIA AGRICOLA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, ENERO 1991.

Ing. M.C. Abiel Sánchez Arizpe. - Asesor -

Palabras claves: Phaseolus sp., Fusarium sp., Rhizobium sp.,
Rhizoctonia sp., interacción, pudrición radical, captan, tiazolobendazol.

Se colectaron muestras de material vegetativo y suelo en varios sitios en el Estado de Zacatecas, durante el otoño de 1987 para estudiar la interacción de Fusarium-Rhizobium

Rhizoctonia en el cultivo del frijol (Phaseolus vulgaris L.) Los organismos aislados fueron Fusarium sp., Rhizobium sp., y Rhizoctonia sp. Con la finalidad de establecer el efecto de los fungicidas captan y tiabendazol sobre el crecimiento de los microorganismos aislados, se efectuaron pruebas - - - in vitro. Encontrándose, que captan a una dosis de 1250 ppm y 1000 ppm inhiben respectivamente el crecimiento de Fusa- rium sp. y Rhizoctonia sp. Mientras, que el tiabendazol a una dosis de 5 ppm inhibió a los dos hongos de habito radical, para el caso de Rhizobium sp., el tiabendazol a 50 ppm estimuló el desarrollo bacteriano y lo contrario se observó en presencia de captan a 500 ppm.

Para determinar las posibles interacciones entre los microorganismos aislados, se corrieron estudios en invernadero cultivando plantas de la variedad Bayo Zacatecas, en jarras leonard y en macetas con suelo. En las primeras, la cepa de Rhizoctonia sp., redujo significativamente el peso fresco -- aéreo, peso fresco de la raíz, la distancia entre el nudo cotiledonario y la primera raíz lateral y el peso seco de la raíz. En pruebas en macetas con suelo, al estar en forma -- conjunta los tres microorganismos redujeron significativamente la distancia entre el nudo cotiledonario y la primera raíz lateral, el peso de los nódulos. A nivel de invernadero, el Tiabendazol a 1000 ppm resultó en una protección considerable contra el daño por Rhizoctonia sp. y Fusarium sp. En cuanto a la cepa de Rhizobium sp. se detectó compatibilidad al aplicar inóculo de esta bacteria más tiabendazol a 50 ppm

o captan a 100 ppm en semillas de la variedad Bayo Zacatecas

La incidencia de la enfermedad en jarras leonard reveló la existencia de una relación sinergista entre los patógenos involucrados y lo contrario se mostró en pruebas usando macetas con suelo. La severidad de la lesión del hipocótilo en jarras leonard y en macetas con suelo, fué mayor al estar en forma conjunta los dos hongos.

ABSTRACT

Interaction between Fusarium - Rhizobium - Rhizoctonia
in beans (Phaseolus vulgaris L.)

By

RICARDO ARROYO MATA

MASTER OF SCIENCE
IN PLANT PROTECTION

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA., ENERO 1991

Advisor - Ing. M.C. Abiel Sánchez Arizpe.

Key words: Phaseolus sp., Fusarium sp., Rhizobium sp., - -
Rhizoctonia sp., Interaction, radical rooted, captan and -
tiabendazol.

The samples were collected from vegetative material and soil, from different places of Zacatecas state, during the autumn 1987, to study the interaction between Fusarium - Rhizobium - Rhizoctonia in the beans (Phaseolus vulgaris L.)

The isolated organisms were, Fusarium sp., Rhizobium sp and Rhizoctonia sp.

Essays in vitro were carried out, to establish the fungicide effect, captan and tiabendazol on the isolated microorganisms growth. It was found that captan at the dosage of 1250 ppm and 1000 ppm, inhibited the growth of Fusarium sp. and Rhizoctonia sp., whereas the tiabendazol at a dosage of 5 ppm, inhibited both. At 50 ppm it stimulated the bacterial growth. It also was observed that captan at 500 ppm inhibited the bacterial growth.

Essays were also done in greenhouses to establish the interactions between the isolated microorganisms. The bean of the variety Bayo Zacatecas was cultivated in Leonard jars and in containers with soil.

In Leonard jars, Rhizoctonia sp., reduced greatly the aerial fresh weight, the radical fresh weight, the distance between the cotyledonary nodule and the first lateral root. Also the radical dry weight was reduced. In the containers with soil, together the three microorganisms reduce greatly the distance between the cotyledonary nodule and the first lateral root, also the nodules weight.

In the greenhouse, tiobendazol a 1000 ppm resulted in a considerable protection against the damage of Rhizoctonia sp. and Fusarium sp.

Rhizobium sp. has compatibility with tiobendazol a 50 ppm or captan a 100 ppm in seed of the variety bayo Zaca tecas.

The incidence infestation in Leonard jars showed, the existence of a synergist relation between the patogens - - involved wheras, the essays in containers with soil reveled the contrary the severity of the hipocotile damage in - - - Leonard jars and containers with soil, was major where both fungus, Fusarium and Rhizoctonia were together.

INDICE DE CONTENIDO

	Página
INDICE DE CUADROS.	X
INDICE DE FIGURAS.	XII
INTRODUCCION	1
REVISION DE LITERATURA	5
LAS PUDRICIONES RADICALES DEL FRIJOL	5
PUDRICION CAUSADA POR FUSARIUM.	6
PUDRICION CAUSADA POR RHIZOCTONIA.	15
FIJACION BIOLOGICA DE NITROGENO.	22
COMPATIBILIDAD DE RHIZOBIUM CON	
FUNGICIDAS.	31
INTERACCIONES.	39
MATERIALES Y METODOS.	43
DESCRIPCION DEL AREA GENERAL.	43
AISLAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS.	43
IDENTIFICACION DE LOS MICROORGANISMOS.	46
PRUEBAS DE PATOGENICIDAD.	46
MEDICION DE ESTRUCTURAS.	47
PRUEBAS IN VITRO.	47
PRUEBAS A NIVEL DE INVERNADERO	49
DETERMINACION DEL NUMERO DE	
PROPAGULOS.	50

INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD.	54
SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD	55
RESULTADOS.	57
DISCUSION	94
CONCLUSIONES	110
RESUMEN.	112
LITERATURA CITADA	115
APENDICE A - 1	126
APENDICE A - 2	126
APENDICE A - 3	127
APENDICE A - 4	127
APENDICE A - 5	127
APENDICE A - 6	128
APENDICE A - 7	128
APENDICE A - 8	128
APENDICE A - 9	129
APENDICE B - 1	129
APENDICE B - 2	129
APENDICE B - 3	130
APENDICE B - 4	130
APENDICE B - 5	130
APENDICE B - 6	131
APENDICE B - 7	131
APENDICE B - 8	131
APENDICE B - 9	132

INDICE DE CUADROS

		Página
CUADRO	3.1 LOCALIDADES CONSIDERADAS EN EL MUESTREO.	44
CUADRO	3.2 PREPARACION DE 20 LITROS DE SOLUCION NUTRITIVA DE NORRIS. . .	51
CUADRO	3.3 TRATAMIENTOS UTILIZADOS EN JARRAS LEONARD Y EN MACETAS CON SUELO. .	53
CUADRO	4.1 CARACTERISTICAS CUALITATIVAS DE LA CEPA DE <u>Rhizobium</u> sp.	58
CUADRO	4.2 DIMENSIONES Y CARACTERISTICAS DE LAS ESTRUCTURAS ASEXUALES PRESENTADAS POR LA CEPA DE <u>Fusarium</u> sp.	58
CUADRO	4.3 CRECIMIENTO DE <u>Rhizobium</u> sp. EN PRESENCIA DE CAPTAN.	66
CUADRO	4.4 CRECIMIENTO DE <u>Rhizobium</u> sp. EN PRESENCIA DE TIABENDAZOL A DIFERENTES DOSIS.	66
CUADRO	4.5 ANALISIS FISICO-QUIMICO DEL SUELO DE CALERA, ZACATECAS UTILIZADO EN INVERNADERO.	70

CUADRO 4.6	EXPERIMENTO EN JARRAS LEONARD, PRESENTANDOSE LAS MEDIAS CORRES- PONDIENTES DE CADA MEDICION. . . .	72
CUADRO 4.7	EXPERIMENTO EN MACETAS CON SUELO DE CALERA, ZACATECAS. PRESNTAN- DOSE LAS MEDIAS CORRESPONDIENTES DE CADA MEDICION.	80
CUADRO 4.8	RESULTADOS DE LA INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD AL MUESTREAR HIPO- COTILOS Y RAICES DE PLANTAS CRE- CIENDO EN LAS PRUEBAS DE INVER- NADERO.	91
CUADRO 4.9	SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD CAUSA- DA POR <u>Rhizoctonia</u> sp. EN PLAN- TAS CRECIENDO EN INVERNADERO. . .	92

INDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 3.1 AREAS MUESTREADAS EN EL ESTADO DE ZACATECAS, PARA EL AISLAMIENTO DE <u>Fusarium</u> sp., <u>Rhizobium</u> sp Y <u>Rhizoctonia</u> sp.	45
FIGURA 4.1 a MACROCONIDIAS, MICROCONIDIAS Y CLAMIDOSPORAS DE <u>Fusarium</u> sp. OBTENIDOS A PARTIR DE MICRO-CULTIVO.	59
FIGURA 4.1 b HIPAS DE <u>Rhizoctonia</u> sp. OBTENIDAS DIRECTAMENTE DEL HIPOCOTILO DE LA VARIEDAD BAYO ZACATECAS. . .	59
FIGURA 4.1 c TINCION SIMPLE OBSERVANDOSE BACTEROIDES DE <u>Rhizobium</u> sp. A PARTIR DE UN NODULO TRITURADO.	60
FIGURA 4.1 d CORTE HISTOLOGICO A NIVEL DEL HIPOCOTILO DE LA PLANTA DE FRIJOL, CRECIENDO EN PRESENCIA DE <u>Rhizoctonia</u> sp.	60
FIGURA 4.2 CRECIMIENTO DE <u>Fusarium</u> sp. MAS CAPTAN EN CAJAS PETRI.	63

FIGURA 4.3	CRECIMIENTO DE <u>Rhizoctonia</u> sp. MAS CAPTAN EN CAJAS PETRI.	64
FIGURA 4.4	CINETICA DE CRECIMIENTO DE <u>Rhizobium</u> sp., EN PRESENCIA DE CAPTAN A 500 ppm. EN EL MEDIO DE E.L.M. A PH=7.0	67
FIGURA 4.5	CINETICA DE CRECIMIENTO DE <u>Rhizobium</u> sp., EN PRESENCIA DE TIABENDAZOL A VARIAS CONCENTRA- CIONES, EN EL MEDIO DE E.L.M. A PH=7.0	68
FIGURA 4.6	MEDIA DE LA LONGITUD AEREA PRE- SENTADA POR CADA UNO DE LOS TRA- TAMIENTOS A LOS 25 DIAS EN JARRAS LEONARD.	74
FIGURA 4.7	MEDIA DE LA LONGITUD DE LA RAIZ (cm) EN CADA TRATAMIENTO A LOS 25 DIAS EN JARRAS LEONARD.	74
FIGURA 4.8	MEDIA DEL PESO FRESCO AEREO (g) EN CADA TRATAMIENTO A LOS 25 DIAS EN JARRAS LEONARD.	75
FIGURA 4.9	MEDIA DEL PESO FRESCO DE LA RAIZ, EN CADA TRATAMIENTO A LOS 25 DIAS EN JARRAS LEONARD.	75

FIGURA 4.10	MEDIA DE LA DISTANCIA ENTRE EL NUDO COTILEDONARIO Y LA PRIMERA RAIZ LATERAL (cm), A LOS 25 DIAS EN JARRAS LEONARD.	77
FIGURA 4.11	MEDIA DEL PESO SECO AEREO (g), EN CADA TRATAMIENTO A LOS 25 DIAS EN JARRAS LEONARD.	78
FIGURA 4.12	MEDIA DEL PESO SECO DE LA RAIZ (g), EN CADA TRATAMIENTO A LOS 25 DIAS EN JARRAS LEONARD.	78
FIGURA 4.13	MEDIA DE LA LONGITUD AEREA (cm), CON RESPECTO AL TRATAMIENTO A LOS 25 DIAS EN MACETAS CON - SUELO.	82
FIGURA 4.14	MEDIA DE LA LONGITUD DE LA RAIZ (cm), EN CADA TRATAMIENTO A LOS 25 DIAS EN MACETAS CON SUELO.	83
FIGURA 4.15	MEDIA DEL PESO FRESCO DE LA RAIZ (g), EN CADA TRATAMIENTO A LOS 25 DIAS EN MACETAS CON SUELO.	83
FIGURA 4.16	MEDIA DE LA DISTANCIA ENTRE EL NUDO COTILEDONARIO Y LA PRIMERA RAIZ LATERAL (cm), A LOS 25 DIAS EN MACETAS CON SUELO.	85

FIGURA 4.17	MEDIA DEL PESO SECO AEREO (g), EN CADA TRATAMIENTO A LOS 25 DIAS EN MACETAS CON SUELO.	87
FIGURA 4.18	MEDIA DEL PESO SECO DE LA RAIZ (g), EN CADA TRATAMIENTO A LOS 25 DIAS EN MACETAS CON SUELO.	87
FIGURA 4.19	MEDIA DEL NUMERO DE NODULOS, PRESENTADO POR CADA TRATAMIENTO A LOS 25 DIAS EN MACETAS CON SUELO.	88
FIGURA 4.20	MEDIA DEL PESO A LOS NODULOS (g), EN CADA TRATAMIENTO A LOS 25 DIAS EN MACETAS CON SUELO.	88
FIGURA 4.21	PROMEDIO DE LESION MEDIA CAUSADA POR <u>Rhizoctonia</u> sp., A NIVEL DE JARRA LEONARD.	93
FIGURA 4.22	PROMEDIO DE LESION MEDIA CAUSADA POR <u>Rhizoctonia</u> sp., A NIVEL DE MACETAS CON SUELO DE ZACATECAS.	93

INTRODUCCION

En México el cultivo del frijol (Phaseolus vulgaris L.) es consumido en todo el país y constituye la base principal de proteínas para la mayoría de los habitantes de escasos recursos y de zonas rurales.

Según datos del Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (1988) se sembraron en México 1'799,675 ha. de este cultivo con una producción global de 1'023,008 ton. y un rendimiento medio de 0.568 ton/ha. Estas cifras ubican al frijol como el segundo cultivo en importancia después del maíz. Para el caso del estado de Zacatecas que ocupa el primer lugar ya que produce alrededor del 30% del total nacional en 1988 se sembró 708,615 ha. con una producción de 297,294 ton. y un rendimiento medio de 0.419 ton/ha, el cual es inferior a los últimos dos años.

Más de un tercio de la producción mundial de frijol común proviene de América Latina. En donde los rendimientos promedio de frijol en esta zona son inferiores a los 600 kg/ha., en comparación con los rendimientos obtenidos como monocultivo en los Estados Unidos de Norteamérica, de aproximadamente 1,400 Kg/ha, y de 3 a 5 ton. bajo condiciones experimentales en América Latina. Durante la última década la tasa de

crecimiento de la producción de frijol común en América Latina alcanzó cifras muy inferiores (0.27 por ciento) a la tasa de crecimiento de la población (2.90 por ciento), y por lo tanto se produjo una disminución en el consumo por persona, mientras que las importaciones y los precios del frijol y las leguminosas en general aumentaron (Bolkan, 1980).

Se menciona que en México, el complejo de enfermedades que con más frecuencia reducen el rendimiento de frijol son: las pudriciones radicales, la antracnosis, la roya, la mancha angular, el mosaico común, el mosaico amarillo, el -- mosaico dorado, el tizón del halo, el tizón común, la marchitez bacterial y nemátodos noduladores. También es de consideración el daño ocasionado por plagas insectiles, malezas y factores abióticos como el clima y fertilidad.

En la agricultura, la deficiencia de nitrógeno se ha solucionado básicamente con la aplicación de fertilizantes -- nitrogenados de origen químico. El continuo incremento en -- el caso de estos productos, debido al uso de algunos hidro-- carburos para su elaboración y conocida la gran reserva de -- nitrógeno que hay en la atmósfera, se estudia la forma de -- captarlo biológicamente. Un sistema eficiente encontrado en -- la naturaleza es la asociación Rhizobium-Leguminosa, donde -- las bacterias reciben de la planta hospedera los nutrientes necesarios para su desarrollo y la leguminosa obtiene de la -- bacteria aminoácidos con los que sintetiza las proteínas. Con --

este proceso que consume solo energía derivada de la fotosíntesis, se aprovecha agrícolamente el 40 por ciento de los - - aproximadamente 150 mil ton., que se fijan anualmente en el mundo por vías biológicas (Brill, 1977).

Muchos habitantes en la rizósfera de la planta pueden ser afectados por un espectro amplio de compuestos antimicrobianos. Entre los cuales las micotoxinas producidas por hongos que habitan el suelo, son reponsables primariamente de el efecto antagonista, aunque la competencia, predación y parasitismo pueden ser importantes. Por consiguiente, la inhibición de organismos los cuales compiten por espacio y alimento incrementan la nodulación y fijación de nitrógeno. La disminución de competidores biológicos de Rhizobium por el uso de fungicidas, ha demostrado que aumenta el crecimiento del frijol y permite que un gran número de rizobios resistentes al fungicida formen nódulos.

Se tiene información de que en los estados de Zacatecas y Durango que son los principales productores de frijol, se encuentran presentes cepas nativas de Rhizobium sp. y según Crispín y Campos (1976), y Treviño (1987), en México y -- más concretamente en los estados inicialmente mencionados, -- las pudriciones radicales son causadas principalmente por dos géneros a saber: Fusarium sp. y Rhizoctonia sp. los cuales -- llegan a causar pérdidas considerables en el rendimiento.

Viendo la necesidad de contar con información respecto a la interacción de las pudriciones radicales y Rhizobium sp se realizó este trabajo en la principal zona productora de frijol, dentro del área de influencia de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), como un escalón más para poder establecer un manejo adecuado del problema.

Los objetivos específicos fueron los siguientes:

- 1) Aislar los patógenos causantes de la pudrición radical, y de Rhizobium sp..
- 2) Determinar el efecto, complejo pudrición radical sobre la asociación Rhizobium - Leguminosa.
- 3) Determinar el efecto de los fungicidas Tiabendazol y Captan-50 sobre el complejo pudrición radical y la asociación simbiótica Bacteria - Leguminosa.

REVISION DE LITERATURA

Las Pudriciones Radicales del Frijol

Importancia

En México la incidencia de las pudriciones radicales ha llegado a causar pérdidas de hasta un 60 por ciento en la producción total, en los estados de Zacatecas y Durango -- (Crispin y Campos 1976). Mientras que Campos (1987), explica que en México, la incidencia de las pudriciones no ha sido fuerte, en cambio en otros países se ha estimado daños -- que varían entre un 6 y 53 por ciento. En el estado de Colorado, Estados Unidos, se registrarán pérdidas del orden -- del 86 por ciento.

En Zacatecas al igual que en el estado de Durango, -- uno de los principales problemas en la producción es la incidencia de las enfermedades radicales. Asimismo, existe en el agricultor la mentalidad del monocultivo que año con año se realiza con frijol, sin contar con una fertilización -- adecuada.

Pudrición causada por Fusarium.

Etiología

Ubicación Taxonómica. Según Alexopoulos y Mims (1979) F. - solani (Mart) Appel & Wollenw, se ubica taxonómicamente de la siguiente manera:

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

Características Culturales

Cuando el hongo ha crecido en un medio artificial como agar con papa y dextrosa o Czapeks, la producción de micelio aéreo es poco denso y generalmente blanco grisáceo. El hongo produce clamidósporas, macroconidios y microconidios, aunque estos últimos se observan en muy raras oportunidades. Los macroconidios se desarrollan principalmente a partir de unos conidióforos cortos ramificados, los cuales al emerger

forman esporodoquios diminutos, esparcidos, sin estroma. - Los macroconidios son hialinos y fusiformes, y su célula apical es levemente encorvada y puntiaguda. El tamaño y el número de septos del macroconidio varían de acuerdo con el medio de cultivo utilizado y las condiciones de incubación. - Los macroconidios generalmente tienen una longitud de 44 - 50 micras y una anchura de 5.1 - 5.3 micras, y tres a cuatro septos. Los macroconidios se desarrollan a partir de conidióforos ramificados en forma esparcida. Los microconidios son anchos, ovalados y pueden tener un septo. Las clamidósporas tienen un diámetro de 6 - 16 micras y se forman de manera terminal en ramificaciones laterales cortas ó intercaladamente; se encuentran solas, en pares y ocasionalmente en cadenas cortas y su forma puede ser redonda, subglobular o de pera (Bolkan, 1980).

Epidemiología e Infección de la Planta

Hábitat. F. solani se encuentra en suelos naturalmente infestados en forma de clamidósporas o esporas de resistencia. -- El patógeno espórula en las lesiones que causa en las raíces principalmente en las que quedan por encima del suelo, produciendo macroconidios, los cuales sobreviven como clamidósporas (Schroth y Hendrix, 1962).

Condiciones que Favorecen la Infección. Schroth y Snyder -- (1961), establecen que las clamidósporas de F. solani f sp.

phaseoli germinan en el suelo cuando las condiciones como la humedad, temperatura, oxígeno y nutrientes son los adecuados. Estos mismos investigadores observaron la germinación de clamidósporas en suelos contiguos a semillas de frijol y puntas de raíz a 16 horas después de que el contacto se realizó entre la parte del hospedero y el suelo infestado. Sin embargo, la germinación no se detectó en el área cercana a raíces maduras. Concluyendo que varios aminoácidos y azúcares - - (asparragina, glycina, glucosa y sacarosa) se detectaron en los exudados de las raíces jóvenes y en los hipocótilos de frijol.

Aparentemente las clamidósporas requieren de una fuente de nitrógeno y carbono para germinar en suelos de cultivo. Por lo que Cook y Schroth (1965), reportan que cuando la glucosa o sacarosa es suplementada con sulfato de amonio en cantidades suficientes para suplir la misma cantidad de nitrógeno, proporcionado por la asparragina ó glycina, el porcentaje de germinación entre las 16 - 20 horas es igual al que se presenta en suelos tratados con los dos aminoácidos. En trabajos similares, Ryther (1965), establece que el nitrógeno - en forma de amonio fué más efectivo que en forma de nitrato, en cuanto a la germinación de clamidósporas.

Toussoun y Bega (1970), demostraron que el desarrollo del hongo en el hipocótilo se incremento en presencia de nitrógeno, principalmente en la forma de amonio y que las le--

siones aparecieron primero y fueron más grandes que en las plantas control. Por otra parte, Gerra y Anderson (1985), observaron que F. solani f. sp. phaseoli produce lesiones en el hipocótilo en los cuales se acumulan compuestos fenólicos detectando que el tamaño de la lesión se incrementó de un 59 a un 91 por ciento en plantas de frijol creciendo en soluciones hidropónicas conteniendo rangos bajos de cloruro férrico además la ausencia de boro en la solución causó un incremento del 47 al 75 por ciento en el tamaño de la lesión comparado con plantas creciendo en presencia de boro. Concluyendo, que aunque las deficiencias de boro y fierro contribuyen a incrementar la lesión, la baja disponibilidad de estos nutrientes afectan la acumulación de lignina.

Las lesiones de raíz por F. solani f. sp. phaseoli, no se dispersan de plantas infectadas a sanas cuando crecen a una distancia de 1.3 a 5 cm. en un suelo franco arenoso -- con nitrógeno y otro sin tratar. Además, la dispersión de la necrosis de las partes infectadas de raíces ó hipocotilos a partes no infectadas fué escasa, excepto en las cuales el crecimiento ha sido interrumpido. Mientras que a temperaturas del suelo de 16, 21 y 27°C pero no a 32°C, la adición de nitrógeno a el suelo (25, 50 y 100 ppm.) de NH_4NO_3 causa ocasionalmente la dispersión de hifas desde las raíces a el hipocotilo. Finalmente, la diseminación del hongo en el agua se limitó principalmente por el lavado sobre la superficie del suelo, sin haber una apreciable dispersión por movi--

miento capilar del agua a travez del suelo (Burke, 1965).

En investigaciones posteriores, Burke y Barker (1966), detectaron que en campos infestados por F. solani el peso de las plantas y el rendimiento de la semilla de frijol fueron muy bajos. Estableciendo que el complejo radical es más - - importante en su influencia sobre las raíces laterales que - sobre el hipocótilo y la raíz principal.

Las raíces de frijol (Phaseolus vulgaris L.) son suprimidas ó restringidas en su crecimiento por la presencia de - F. solani (Mart.) Appel & W. f. sp. phaseoli (Burk.) Syd. & Hans., y están predispuestas al daño ó destrucción por el hongo (Burke, 1968). Sin embargo, este hongo parece tener - poco efecto en el crecimiento vigoroso de las raíces. En es tudios efectuados por Burke et al (1972 a), los efectos de - disminución en el rendimiento fueron virtualmente eliminados en campos con suelo franco arenoso infestados con Fusarium, por un subsoleo inmediatamente antes de la siembra; el subso leo permitió una extensión de las raíces del frijol a travez de las capas del suelo.

Continuando con esta línea de investigación, Burke et - al (1972 b), reportan que los propágulos de F. solani f. sp. phaseoli se detectaron en toda la capa del surco (20 a 30cm. de profundidad) en campos donde se cultiva frijol con suelo franco arenoso. Los datos en cada área de muestreo varían -

con la estación y localidad desde 100 a 5,500 por gramo de suelo seco. En contraste el patógeno fué rara vez detectado en capas del subsuelo de (33 a 41 cm. de profundidad), además este se aisló de raíces con lesión en plantas creciendo de 2 a 4 semanas en macetas con suelo del área. Los resultados de campo demuestran, que las raíces penetraron ó evadieron áreas de suelo compactado alcanzando profundidades de -- 100 cm. ó más. Pocas raíces entran al subsuelo en campos infestados con F. solani que en campos no infestados. Sin embargo, en una área infestada con el hongo y conteniendo residuos de cebada en descomposición, el suelo es menos denso y la penetración de la raíz fué más amplia que en áreas adyacentes conteniendo solo residuos de frijol.

El efecto de la compactación del suelo sobre la fotosíntesis, crecimiento de la planta y severidad de la infección por F. solani en frijol (P. vulgaris L.) fué investigado por Tu y Tan (1988). En un medio ambiente controlado usando suelo sano y suelo infestado. Detectando, una reducción significativamente alta en la biomasa radical, crecimiento aéreo y área total de la hoja de plantas creciendo en suelo compactado. De la misma forma, el suelo compactado reduce significativamente el rango de fotosíntesis e incrementa la severidad de la infección.

Infección. Pierre y Wilkinson (1970), reportan que el modo de penetración y patron de desarrollo temprano de F. solani

f. sp. phaseoli fué similar en todas las líneas de frijol, - ensayadas en invernadero. Las macroconidias germinadas, cada una produce uno ó dos tubos germinativos que forman una red de hifas en la superficie del hipocótilo. Se forman densas aglomeraciones de hifas, algunas de las cuales se localizan cerca de los estomas. De estas aglomeraciones, las hifas crecen dentro de la cavidad estomática en masas ó produciendo - ramificaciones en la superficie, alguna de las cuales alcanzan a ingresar individualmente ó en pequeños grupos. Aunque el ingreso es principalmente a través de estomas, la entrada también es efectuada por penetración directa y a travez de - heridas. Siguiendo la penetración, el patógeno produce un - manto micelial vigoroso y abundante en la cavidad subestomática de la cual se desarrollan grupos de hifas, y progresan rápidamente intercelularmente en todas direcciones. La hifa - demuestra una tendencia gregaria bien definida, especialmente cuando se desarrolla radialmente. La invasión a lo largo del eje longitudinal de la planta es más rápida que en otras direcciones. La invasión intercelular es predominante, y el desarrollo intracelular ocurre principalmente en células que - están decoloradas y aparentemente en fase de degeneración, - mientras que el desarrollo intercelular es tan abundante que las células corticales a menudo se separan una de otra. Finalmente, mencionan que el hongo penetra por la raíz e hipocótilo y que las clamidósporas se detectaron dentro y entre las células en tejidos necróticos. Además de que ninguna macroconidia se observó en plantas creciendo en invernadero.

Sintomatología

Los primeros síntomas se observan en el hipocótilo y en la raíz, primero en forma de manchas rojizas, cuando la plántula tiene de 8 a 15 días de nacida; a medida que la enfermedad avanza las lesiones se unen y se tornan de color café; se extienden hasta el cuello de la raíz; y no tienen forma definida. Las raicillas mueren por el ataque del hongo y permanecen adheridas a las plantas; éstas oponen poca resistencia al ser extraídas del suelo. No se observa un marchitamiento muy pronunciado del hospedante, aunque el crecimiento de la planta se retarda y se presenta amarillamiento y caída prematura de las hojas. En las plantas atacadas se desarrollan raíces adventicias que le permiten continuar vivas e incluso producir grano, pero si las condiciones son favorables, el hongo puede llegar a matarlas: primero aparece en la parte aérea cierta flacidez del follaje y finalmente la planta muere. Al abrir la raíz principal ésta presenta ahuecamiento y manchas longitudinales de color rojizo a lo largo de la zona infectada, la pudrición en este caso es seca (Rolkan, 1980).

Manejo

Barrera (1977), señala que en general se recomienda una buena preparación del terreno, y que conviene, asimismo nivelar el suelo para que no se generen encharcamientos de

agua, ya que éstos favorecen el desarrollo del hongo. Además sugiere la rotación de cultivos y disminuir la densidad de población. Por otra parte Bolkan (1980), menciona que el daño por F. solani puede disminuirse mediante la aplicación de los fungicidas Nabam, Ferbam, Formaldehído, PCNB, Benomil Difolatán y Busan. Al aplicar Benomil al surco después de la siembra, en dosis de 0.560 Kg/ha, se obtuvo buen control; Busan 30 en dosis de 2.5 L/ha, y Difolatán en dosis de 4.6 L/ha. contribuyeron a obtener un buen control de la enfermedad. Mientras que Papavizas y Lewis (1975), concluyen que al tratar la semilla de frijol con Captafol ó Carboxin ó Triforine a una dosis de 2.4 g/100 g. de semilla, dan un buen control sobre el daño causado por F. solani f. sp. phaseoli. En cuanto al control biológico, Lewis y Papavizas (1977), indican que con la aplicación al suelo de residuos maduros e inmaduros de soya, sorgo, cebada, avena, centeno y raíz, se redujo en forma significativa la enfermedad. F. solani f. sp. phaseoli, se logró controlar adecuadamente a nivel de invernadero, al aplicar al suelo paja de cereales, harina de alfalfa y melaza; esta última fué algo fitotóxica, cualidad que aumentó la población de actinomicetos debido a la alta proporción de C:N (Olivas, 1972).

Pudrición causada por Rhizoctonia

Etiología

Ubicación Taxonomica. Según Alexopolus y Mims (1979), R. solani Kuhn (Thanatephorus cucumeris (Franck) Donk), se clasifica de la siguiente manera:

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

Características Culturales

Ogoshi (1987) menciona que R. solani presenta las siguientes características: a) Presenta células multinucleadas en las hifas vegetativas jóvenes. b) Forma un aparato esporífero localizado en el septo. c) Contiene una constricción sobre las ramificaciones hifales en el punto de unión con la hifa principal y formación de un septo en la ramificación del punto de origen. d) Ramificación cerca del septo distal de las células en hifas jóvenes, e) Coloración café de las - -

hifas aéreas maduras. Además, indica que el hongo puede producir células monilioides y esclerocios, aunque no en todos los aislamientos. Cuando se aísla en PDA, el hongo difiere en coloración de micelio y cantidad de esclerocios producidos. Finalmente, afirma que Thanatephorus cucumeris es el estado perfecto o sexual de R. solani, y que contiene ocho grupos de anastomosis (AG) en dos subgrupos. Mientras que Parmeter et al (1969) reporta cuatro grupos de anastomosis.

Epidemiología e Infección de la Planta

Hábitat. El hongo ataca un gran número de plantas y cada cepa es específica, como en el caso del frijol, mientras que otras tienen un mayor número de hospedantes y causan daños de diferentes grados de severidad, la gravedad del daño depende de la humedad y temperatura del suelo, del estado nutricional del inóculo y de los exudados producidos por las raíces de las plantas, mismas que estimulan el desarrollo del micelio. El hongo sobrevive en forma de esclerocios, micelio y basidiosporas; Sin embargo, se desconoce la importancia que pueda tener estas últimas como inóculo. Las estructuras se encuentran en el suelo en residuos de la cosecha anterior. El patógeno puede diseminarse por medio del agua de riego, por el viento que arrastra esclerocios y esporas a grandes distancias, así como por medio de semilla (Bolkan, 1980).

Infección. En cuanto a este proceso, Christou (1962) detalla el mecanismo de infección de R. solani en hipocótilos de frijol de la siguiente manera: El hongo produce un cojinete de infección en la epidermis del hipocótilo y penetra la cutícula directamente por medio de clavijas de infección y simultáneamente originándose de los cojinetes de infección. Después de la penetración de la cutícula y la pared celular, las clavijas de infección en la célula epidérmica se alargan a un tamaño normal como el de las hifas, las cuales se transforman en características hifas primarias que desarrollan un septo a distancia corta de su punto de origen. Poco después vigorosas hifas invaden la corteza intracelularmente, pero -- más abundantemente intercelularmente, avanzando longitudinalmente en los espacios intercelulares; e internamente a través de la lamela media y en los espacios intercelulares, envolviendo las células corticales. Estas son finalmente detenidas por la endodermis. A menudo, durante la penetración -- de la cutícula, la pared subcuticular de celulosa de las células epidérmicas se vuelve laminada y se separa de la cutícula. Las células epidérmicas envueltas se comprimen, mientras que las hifas primarias provenientes de las clavijas de infección que han penetrado la cutícula, crecen subcuticularmente en el espacio así creado. Algunas veces la hifa se ramifica de una manera ahorquillada antes de invadir el tejido inferior y el tejido invadido desarrolla una pronunciada coloración café el cual algunas veces se extiende con el avance del hongo. Al completarse la infección, se desarrollan --

esclerocios de varios tamaños en el tejido infectado, observándose hifas entretejidas principalmente con células en forma de barril y el resto de las células del hospedero colapsadas sin observarse una organización de los esclerocios en la corteza y la médula. Finalmente, la penetración de la epidermis e invasión de la corteza toma lugar solo durante los estados tempranos de vida del hospedero.

Kenning y Hanckey (1980) reportan que las lesiones iniciales, intermedias y maduras causadas por R. solani, en frijol se examinaron conjuntamente con el tejido adyacente a la lesión en el microscopio electrónico. Observando, que las hifas dentro de los cojinetes de infección se rodearon por un material denso, tentativamente descrito como mucilaginoso y la penetración no incluye una hinchazón ó cambios en las propiedades de tinción de la cutícula. Mientras que la pared celular de la corteza y la epidermis cercana al patógeno se hinchó y su citoplasma se colapsó. A una distancia de 2 a 4 células de el patógeno, el citoplasma se acumula hacia la infección y las paredes de estas células sufren una hinchazón moderada y la lamela media se tiñe densamente y se granula. Finalmente, los resultados sugieren que los cambios en la estructura del hospedero y la fisiología asociada con esta enfermedad no son causadas solamente por la degradación de la pared y el consecuente estallido osmótico del protoplasto.

Anteriormente, Etten et al (1967) mencionan que R. solani produce numerosas enzimas que degradan polisacaridos, - las cuales causan una degradación de la pared celular dentro de las lesiones y la endopoligalacturonasa es la enzima predominante encontrada en las lesiones jóvenes. Mientras que Lai et al (1968) establecían que las preparaciones parcialmente purificadas de estas enzimas inducen cambios en la permeabilidad en las células del hospedero así como la degradación de la pared. Finalmente, los cambios en la permeabilidad y la salida de electrolitos son los primeros efectos fisiológicos de esta enfermedad e incluyen un incremento en la respiración y la acumulación de fitoalexinas según Kenning y Hanchey (1980).

Sintomatología

R. solani puede producir podredumbre del pie ó secadera ("damping-off"), cancro del tallo, pudrición radical y pudrición de la vaina. Las plántulas pueden morir antes de emerger del suelo (ahogamiento preemergente) debido a la destrucción del meristemo apical y si las plántulas logran emerger, entonces el ataque es a la base del tallo, donde tiene lugar una pudrición húmeda que provoca que las plantas caigan y -- mueran; la lesión siempre es hundida y muestra varios tonos de color café o más comúnmente café rojizo "ahogamiento postemergente" (Romero, 1988).

Mientras que Bolkan (1980), reporta que esta enfermedad es más frecuente en plántulas y se caracteriza por una pudrición del cuello de la raíz, donde se observan lesiones hundidas, o chancros, que invaden la porción del hipocótilo y las raíces. La forma de las lesiones varía de circular a oblongas; están deprimidas y delimitadas por márgenes de color -- café; cuando las lesiones se unen pudren totalmente el hipocótilo e impiden la absorción de nutrientes, en consecuencia la parte aérea de la plántula manifiesta cierta flacidez del follaje, y finalmente un secamiento total. Las plántulas -- afectadas pueden ser arrancadas fácilmente. En plantas de -- mayor edad, el ataque del hongo sobrepasa la superficie del suelo, entonces se observan chancros cafés en el hipocótilo con bordes bien definidos, sobre las lesiones se forman pequeños esclerocios cafés. El hongo podría afectar las vainas e incluso la semilla, la cual es un buen agente diseminador.

Manejo

En cuanto al control biológico, se reporta como antagonistas contra R. solani a los siguientes: bacterias como -- Azotobacter, Bacillus, Myxobacteria, Pseudomonas, Streptomyces; A los hongos Acremonium, Aspergillus, Fusarium, Gliocladium, Laetisaria, Penicillium, Pseudocercospora, Pythium, Rhizoctonia, Trichoderma, Verticillium, (Ogoshi, 1987).

La siembra poco profunda reduce los ataques en las plántulas pero puede aumentar el acame. La siembra debe realizarse cuando la temperatura del suelo esté lo suficientemente alta para disminuir la infección. La rotación con cereales contribuye a reducir los niveles del inóculo en el suelo. En cuanto al control químico, el PCNB es el fungicida más -- utilizado y entre otros destacan el benomil, vitavax, busán, thiram, zineb, demosan y captan en dosis de 1 a 3 g/kg. de semilla (Bolkan, 1980). Mientras que el thiabendazol - - - (tecto-60) a una dosis de 100 ppm. da muy buenos resultados según Kannaiyan, (1988). Por otra parte, Papavizas y Lewis (1975), reportan que el PCNB más ETMT a una dosis de 2.4 gramos de la mezcla añadidos a 100 gramos de semilla reducen el daño por R. solani. Los fungicidas se aplican a la semilla antes o durante la siembra y son efectivos durante la germinación y desarrollo inicial de la plántula, pero generalmente no protegen las raíces en desarrollo de plantas adultas. En general las plantas adultas poseen más resistencia a la enfermedad (Bolkan, 1980).

Fijación Biológica de Nitrógeno

Importancia

La fijación biológica de nitrógeno es un proceso microbiológico en donde el nitrógeno atmosférico es combinado y puesto en forma tal que puede ser utilizado para el crecimiento de las plantas.

Este sistema alcanza su máxima importancia económica -- para la agricultura mundial en los países donde la producción de alimentos es inferior a su consumo. Debido a que la fijación biológica de N_2 , es una de las fuentes importantes de suministro de este elemento. Esta simbiosis ha proporcionado nitrógeno a las leguminosas mucho antes de que los fertilizantes nitrogenados fueran utilizados en la agricultura (Pérez y Chan, 1988).

El mayor logro de los microorganismos que interactúan con las plantas no solo es el explotarlas como una fuente de nutrición, sino que han evolucionado con el tiempo, causando menos y menos daño a sus hospederos. Ultimamente, el mayor logro y avance evolutivo de los microorganismos puede proporcionar un beneficio a su hospedero. Los simbioses de las plantas proporcionan un buen ejemplo de los estados: primitivo, intermedio y avanzado de la evolución selectiva, la cual se refleja en las interacciones Rhizobium planta. El número

de genes de la planta y del microorganismo envueltos en la interacción se incrementan con el tiempo y también cambia -- con las estrategias usadas para ocupar el nicho. Los sim- biontes avanzados parecen exhibir un alto grado de selectivi- dad al hospedero y reconocimiento mutuo (Djordjevic et al -- 1987).

Etiología

Ubicación Taxonomica. Según Krieg y Holt (1984) R. phaseoli Frank (1889), se ubica de la siguiente manera:

Reino	Prokariotae
División	Escotobacterias
Clase	Schizomycetes
Orden	Eubacteriales
Familia	Rhizobiaceae
Género	<u>Rhizobium</u>
Especie	<u>leguminosarum</u>
Biovar	phaseoli

Características Cualitativas

- a) Células sin endospora
- b) De forma bacilar, pequeño, grueso (1.2 a 3 X 0.5 a - 0.9 micras)
- c) Motilidad positiva, con un flagelo polar o subpolar ó de 2 a 6 flagelos perítricos.

- d) Principalmente aeróbicos.
 - e) Gram negativos.
 - f) Utilizan como fuente de carbono principal al manitol
 - g) Temperatura óptima de crecimiento de 20 a 30°C.
 - h) En el medio de cultivo extracto de levadura manitol agar-rojo congo, se observan colonias mucosas, rojas y la presencia de un exopolisacarido.
 - i) La bacteria posee granulos de poly-B-hidroxybutirato (PHB).
- (Vincent, 1977; Starr, 1981).

Rhizobium es una bacteria capaz de inducir la formación de nódulos que fijan nitrógeno en leguminosas específicas y han sido clasificadas en dos grupos: las de crecimiento rápido como R. mililoti en alfalfa, R. trifolii en trébol; R. leguminosarum en chícharo; R. phaseoli en frijol, y las de crecimiento lento como R. lupini en lupinos; y Bradyrhizobium japonicum en frijol soya (Postgate, 1979).

Aspectos Importantes en la Fijación Simbiótica de Nitrógeno

Infectividad

Se refiere al proceso de formación de nódulos, independientemente de que fijen o no nitrógeno. Los mecanismos bioquímicos no están aclarados completamente, pero se considera que el primer paso es la colonización de la rizósfera, la -- que estimula generalmente a muchos microorganismos; sin embargo, hay evidencias de secreciones radicales que estimulan selectivamente a Rhizobium sp., como por ejemplo la homoserina secretada por las raíces de chícharo que estimulan preferencialmente a R. leguminosarum. También se ha encontrado que la estimulación de la rizósfera es más marcada en suelos pobres especialmente para los rizobios infectivos (Egeraat, 1975).

Efectividad

Es la característica de la bacteria que produce nódulos de larga vida que fijan altas cantidades de nitrógeno a diferencia de otros rizobios que pueden comportarse como parásitos en las mismas plantas, La efectividad se inicia con una diferenciación de bacteria a bacteroide, el cual es la forma simbiótica de la bacteria, encontrándose en las células huésped del tejido nodular y formando parte hasta del 25 al 30 por ciento de la materia seca de los nódulos, esto se confirma con el

cultivo de soya. El número de bacteroides estructuralmente organizados en la célula hésped está relacionado con la actividad de la fijación de nitrógeno por los nódulos del trébol rojo y que hay muy pocos casos en que el tejido con bacteroides esté presente en módulos infectivos (Bergersen, -- 1971).

Virulencia o Competitividad

Es la capacidad que presentan las cepas de Rhizobium para competir contra otras bacterias del mismo género, por los sitios de infección en el sistema radical. En lugares con -- población de bacterias de rizobios nativos efectivos, frecuentamente, la cepa del inoculante forma pocos nódulos, a pesar de su colonización ventajosa. Vicent. (1981) lo comprobó al -- inocular soya con cinco cepas en forma independiente, habiendo encontrado que sólo de 0 al 17 por ciento de los nódulos -- eran formados por las cepas inducidas, donde había cepas nativas efectivas para dicho cultivo.

Sobrevivencia

Una característica complementaria muy importante a las -- tres descritas anteriormente es la capacidad de multiplica-- ción en el suelo en presencia o ausencia del hésped.

Vicent (1975) encontró que después de uno o dos años, --

algunas cepas dejaban de inducir nodulación, mientras que - otras eran responsables del 97 al 100 por ciento de los nódulos, además de invadir parcelas contiguas y formar ahí de un 30 a 68 por ciento de los nódulos.

Factores que Afectan la Asociación

Estos pueden ser climáticos, edáficos y de manejo. Dentro de los factores edáficos tenemos: la temperatura, -- acidez, contenido nutrimental y ausencia de predadores de - Rhizobium sp. en el suelo.

Temperatura del Suelo

Aunque las leguminosas tienen una temperatura óptima - más alta para la nodulación y fijación de nitrógeno, las -- bacterias que se asocian con ellas no son necesariamente -- más tolerantes a la temperatura, por ello Burton (1975) insiste en el uso de turba y su aplicación con altos contenidos de bacterias para el caso del trópico, ya que la temperatura del suelo de 2.5 a 5.0 cm. de profundidad en muchas áreas es de 40 a 45°C durante seis horas diarias.

Acidez

Se ha encontrado que Rhizobium sufre alteraciones morfológicas en perjuicio de su efectividad y virulencia, bajo

condiciones de extrema acidez. Por lo que se ha determinado un rango de pH entre 4.3 y 4.9 como límite para la sobrevivencia de bacterias del género Rhizobium de crecimiento rápido, dentro de las cuales se encuentran aquellas que se asocian con Leucaena sp.. La acidez del suelo afecta directamente la sobrevivencia de rizobios e indirectamente impidiendo la absorción de nutrientes como el fósforo, magnesio y molibdeno, solubilizando elementos tóxicos como el aluminio y manganeso o bien, disminuyendo la capacidad de intercambio catiónico (Kornelius y Stammel, 1973).

Nutrientes

Para estudiar la relación entre los nutrientes y las leguminosas, Andrew (1977) los agrupa en: a) aquellos nutrientes que tienen efectos directos en la iniciación y desarrollo de los nódulos como el N, Ca, P, S, y B; b) los que influyen en la eficiencia de la simbiosis como el Mo, P, y el S; y c) los que intervienen directamente en el metabolismo y crecimiento de la planta, independientemente de la simbiosis, en este grupo se ubican todos los nutrientes esenciales, con especial énfasis en fósforo. Se considera que un elemento puede tener múltiples efectos, así el Mo, es esencial en el segundo y tercer grupo y el P en los tres.

Mecanismo de Fijación Simbiótica de Nitrógeno

De acuerdo a Brill (1977) el rizobio entra a las leguminosas a través de las raíces adventicias, especializadas en absorción. La pared de esta célula se invagina para formar una especie de tubo infectado que tiene células de Rhizobium. Aunque muchos de estas infecciones fallan, otras entran a las células corticales de la raíz donde las bacterias se desarrollan en un nódulo. Este nódulo consiste en células alargadas, la mayoría repletas de bacteroides. El amoníaco que producen las bacterias se combina con los compuestos de carbono que forma la planta por fotosíntesis, dando aminoácidos que se incorporan a las proteínas vegetales.

Muchos rizobios simplemente parecen colonizar la superficie de las raíces y unirse a las células epidérmicas (incluyendo las células de los pelos radicales) y permanecen en una asociación comensal, induciendo poco o ningún efecto visible, según las observaciones realizadas por Djordjevic et al (1987), y continúa detallando que algunos rizobios interactúan específicamente con células jóvenes de los pelos radicales o con células preemergentes, esto es, aquellas destinadas genéticamente a ser células radicales. En muchas leguminosas la infección está restringida a desarrollarse en estas células de los pelos radicales que son infectadas transitoriamente en períodos tan cortos como de 6 horas, mientras -

que los pelos radicales maduros son infectados raramente. Por otra parte, los compuestos flavonoides los cuales son necesarios para estimular la expresión de los genes para nodulación en Rhizobium sp., son secretados en altas concentraciones las cuales coinciden con la localización de la emergencia del pelo radical. Al mismo tiempo, la bacteria responde liberando factores desconocidos de bajo peso molecular que pueden causar una marcada distorsión y encurvamiento del pelo radical o que induzca en las células corticales a una división celular repetitiva. Esta influencia causa que las células se aparten de su estado normal de metabolismo y de su curso en el desarrollo. Hay evidencias de que la unión a células del pelo radical, es mediado por lectinas secretadas por las plantas. Esta interacción específica puede ocurrir solamente para mediar la unión específica o algún otro evento importante de reconocimiento durante la infección. Continuando con el proceso, la bacteria se hace atrapar en los pliegues de los pelos radicales, y degrada rápidamente la pared del pelo radical en un período de 20 horas, y coloniza esta área. El nuevo microambiente en el pelo radical y la degradación de la pared celular es probablemente la evidencia más definitiva de la transición de los rizobios de una asociación comensal a un modo parásito. Los núcleos de las células de los pelos radicales migran a este sitio de infección y la síntesis del nuevo material de la pared celular comienza, esta migración puede ser una respuesta de reparación a la degradación localizada de la pared celular en la

planta. Esta nueva pared continua desarrollándose alrededor del sitio de penetración y resulta en la producción de un -- hilo de infección (que es material del hospedero), en el -- cual el rizobio se divide y prolifera. La producción del -- nuevo material celular en el hilo de infección puede ser con siderada como una respuesta de defensa que permite al rizo-- bio a alcanzar el medio de la planta, pero que previene su acceso a el citoplasma. Mientras que las células en la raíz son estimuladas a la división y eventualmente forman el tejido del nódulo. Durante su liberación dentro del tejido del nódulo, la bacteria es rodeada por una membrana peribacteroide derivada del hospedero y la bacteria encapsulada finalmente se diferencia en bacteroides, el cual es capaz de fijar -- nitrógeno en una forma que la planta pueda asimilar. Mien-- tras, en el hilo de infección el rizobio esta parasitando; y éstos pueden cambiar a una simbiosis mutua sí el resultado -- de la respuesta es la fijación de nitrógeno. Por otra parte el fracaso de fijar nitrógeno resulta en una respuesta pato-- génica, debido a que la planta es debilitada generalmente -- por la presencia del rizobio.

Compatibilidad de Rhizobium con Fungicidas

Los microorganismos están envueltos en ciclos biogeoquímicos en la naturaleza, los cuales son grandemente responsa-- bles de mantener la fertilidad del suelo. En la agricultura moderna varios fungicidas se aplican directamente o sobre --

partes de las plantas para controlar a los patógenos de plantas y se ha reportado que afectan también a microorganismos - no patógenos (Bollen, 1961; Sylvestre y Fournier, 1979).

En las prácticas comunmente usadas para la producción de leguminosas según Lennox y Alexander (1981), incluyen la inoculación de las semillas con rizobios y el tratamiento de la semilla con fungicidas para reducir el daño por patógenos de hábito radical, sin embargo, muchos fungicidas son tóxicos -- para los rizobios y algunos reducen la cantidad de nitrógeno fijado. Por lo cual, la protección de la semilla y la inoculación de esta son frecuentemente incompatibles.

El captan es el fungicida aplciado a semillas más comunmente en frijol soya. Curley y Burton (1975), determinaron el efecto de cuatro productos químicos de protección, sobre la sobrevivencia de R. japonicum en semilla de frijol soya (Glycine max L. en cámaras de crecimiento a nivel de laboratorio. Los productos ensayados y los niveles usados fueron: 0.6 g. de thiram-75 por ciento; 0.8 g de captan-75 por ciento; 1.1 g de carboxin-75 por ciento (vitavas) y 0.9 g de PCNB-20 por ciento por cada kilogramo de semilla. R. japonicum fué compatible con thiram y carboxin pero no con el PCNB y captan. El PCNB reduce la sobrevivencia de rhizobios en la semilla y disminuye la nodulación de la raíz. Captan fué menos tóxico para los rhizobios que el PCNB, pero la nodulación en raíz de las plantas fué gradualmente reducido por captan. Por otra parte, thiram no pre-

sentó un efecto adverso sobre la viabilidad de rhizobios o sobre la nodulación en raíces aún cuando las semillas se almacenaron por 24 horas antes de la siembra. Estos resultados indican que la compatibilidad puede ser medida cuantitativamente en relación al tiempo y que la habilidad para nodular por las bacterias que sobreviven es el factor primario en la determinación de compatibilidad.

Graham et al (1980), reportan la sobrevivencia de R. phaseoli en frijol común, al ser tratadas las semillas con captan, thiram o PCNB en una proporción de 2 g/Kg. de semilla. A nivel de laboratorio la semilla tratada con PCNB, thiram o captan reducen la sobrevivencia de rhizobios, notándose que captan fué más tóxico, mientras que la semilla tratada con PCNB mantienen conteos de 10^3 rhizobios por gramo de semilla, hasta un período de 48 horas después de la inoculación. En pruebas de campo, el número de nódulos por planta no fué afectado cuando la semilla se trato con thiram o PCNB y se inoculó con la bacteria e inmediatamente se sembró pero una tardanza entre la inoculación y la siembra reduce la nodulación.

En un experimento en invernadero, Chamber y Montes (1982) encontraron que el captan y el thiram a una dosis de 2.0 g/Kg de semilla reducen el número de nódulos y la actividad de reducción de acetileno, en plantas de frijol soya, cuando el inoculante se aplicó en un soporte o en forma lí-

quida a la semilla. Aunque el captan no afecta el rendimiento de la semilla, el contenido de proteínas fué bajo. Sin embargo, el PCNB y benomyl fueron relativamente inofensivos.

Una forma de tener una infección exitosa de las raíces de leguminosas con rizobios, después del tratamiento de la semilla con fungicida, es el uso de cepas resistentes al fungicida. Lennox y Alexander (1981), establecieron que el número y peso de las vainas y el contenido de nitrógeno de la parte aérea de p. vulgaris L., derivado de semillas inoculadas con cepas de R. phaseoli resistentes al tirám, se incrementaron si las semillas se tratan con tirám a unas dosis de 2.0 g/Kg de semilla antes de la siembra. Un gran porcentaje de los nódulos en plantulas de 21 días de edad se derivaron de la cepa resistente, más nódulos se formaron y estos fueron más efectivos en presencia del fungicida que en su ausencia. En plantas de 56 días de edad se notó un porcentaje pequeño de nódulos formados por la cepa resistente.

En un experimento en campo, se probó el efecto de dos cepas de R. japonicum, la 110 y 1809 en frijol soya (Glycine max L.), dos fechas de siembra, dos métodos de inoculación y el tratamiento de la semilla con captan-50 por ciento; TMTD-80 por ciento; PCNB-70 por ciento a una dosis de 2 g/Kg de semilla, mientras que el benlate-50 por ciento se aplicó a 3 g/Kg de semilla. Determinándose que en los tratamientos con captan, el número de nódulos y peso seco de estos por planta fueron altos en raíces latera--

les con respecto al testigo y a los otros tratamientos, cuando se aplica el inoculante de rizobios al surco, y se sembró en fechas tempranas (mayo). Sin embargo, el rendimiento de grano se incremento generalmente para el método de inoculación en semilla para todos los tratamientos con fungicida -- excepto para el captan que es bajo. En cuanto al rendimiento de proteínas el método de inoculación a la semilla fué superior con respecto a la aplicación en surco en el testigo y los tratamientos, menos para captan que se observó lo contrario. El PCNB y TMTD mejoran la nodulación comparado con el control para la cepa 110, notándose una disminución por captan y benlate (Chamber y Montes, 1982).

De acuerdo a una investigación efectuada en campo, -- Rennie y Dubetz (1984), reportan que el captan y tirám aplicados a una dosis de 1.0 g/kg. de semilla, en frijol soya, -- reducen el contenido de nitrógeno en la parte aérea, pero a un rango bajo de tirám (0.54 g/kg de semilla), se incrementa el contenido de nitrógeno. Ninguno de los fungicidas afecta la actividad de reducción de acetileno. Concluyendo que estos compuestos no tienen efecto sobre la nodulación, fijación de nitrógeno y rendimiento de semilla, bajo estas condiciones experimentales cuando se aplica inoculante de R. japonicum, en turba al surco.

Jones y Giddens, (1984) establecieron un diseño para determinar si el tratamiento de la semilla con tirán a una do-

sis de 10 g/kg de semilla, reducen las poblaciones de microorganismos competidores en la rizósfera y para observar si aumenta la formación de nódulos por una cepa efectiva inoculada. El frijol soya (Glycine max L.), inoculado en un experimento en invernadero y campo con una cepa mutante de R. japonicum resistente al fungicida a una concentración de 100 ppm, demostró que produce una proporción grande de nódulos que fueron resistentes al fungicida con respecto al testigo. Las poblaciones de Rhizobium resistentes al fungicida en la rizósfera, se encontró que con altas en los tratamientos con fungicida que con la semilla no tratada. Los conteos totales de bacterias en la rizósfera y las poblaciones de protozoarios fueron bajos en la semilla tratada, pero el tratamiento de la semilla no afectó significativamente el crecimiento de la planta. Proponiendo, que el uso de fungicidas para tratar la semilla e inoculación de R. japonicum efectivos resistentes al tirám y aplicado al surco, mejoran el método de inoculación en frijol soya.

El uso de fungicidas como el PCNB que permite una nodulación buena y que es específico contra Rhizoctonia solani, es objeto de pruebas como las efectuadas por Mallik y Tesfai (1985) en donde conc luyeron, que el PCNB (terraclor) a una dosis de 0.25 g carboxin (vitavax) a 0.30 g y carboxin más captan-50 por ciento a una dosis de 0.30 g/100 g de semilla. Fueron inofensivos en el crecimiento, nodulación, fijación de nitrógeno y contenido total de nitrógeno aéreo a los 25 días en

frijol soya inoculado con R. japonicum. Mientras que el carboxin y captan más captan, pero no el PCNB a un nivel de 10 veces del recomendado reducen la nodulación y fijación de nitrógeno. Sin embargo, el crecimiento y contenido total de nitrógeno de la parte aérea permanecen inafectadas. Por otra parte, el efecto adverso del carboxin pero no del carboxin más captan se neutraliza a los 35 días. Esto indica que el carboxin y el captan a las dosis recomendadas no interfieren con los niveles de nitrógeno los cuales son requeridos para el crecimiento de la planta en invernadero y campo.

El crecimiento de R. phaseoli, R. leguminosarum y R. japonicum en el medio de extracto levadura manitol, fué adversamente afectado por captan en grado técnico particularmente a 200 microgramos por mililitro. La nodulación de plantas de P. mungo L. con un mes de edad en macetas, creciendo a partir de semilla esterilizada superficialmente e inoculada con rizobios, en suelos tratados con captan a 50 microgramos por mililitro, fué disminuida significativamente, observándose que el número total de nódulos disminuyó al incrementar la dosis de 50 a 200 microgramos por mililitro con respecto al testigo, pero el efecto inhibitorio fué más pronunciado en el número de nódulos efectivos registrándose una media de 16.8 del testigo contra 1.2 del tratamiento con 200 microgramos por mililitro (Banerjee y Banerjee 1987).

Ya que el modo de acción de los fungicidas sistématicos difiere de los no sistémicos, al ser absorbidos por las plantas y translocados dentro del tejido, es importante examinar el proceso de fijación simbiótica de nitrógeno. Por lo cual Diatloff (1986) examinó el efecto de dos fungicidas sistémicos el metalaxyl 25 por ciento y benalaxyl 25 por ciento y dos no sistémicos improdione 50 por ciento y captafol 80 por ciento a una dosis de 3 g/kg de semilla. Sobre R. japonicum en frijol soya usando jarras leonard. Demostrando que en la semilla inoculada más el fungicida a los 14 días de almacenada no se observó una inhibición ni estimulación del crecimiento bacteriano con los cuatro fungicidas. Sin embargo, el tratamiento de la semilla con captafol reduce el número de rizobios viables, y la diferencia comienza a ser significativa al nivel del 8 por ciento. Por lo que respecta al número de nódulos, peso de nódulos y reducción de acetileno no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo cuando las plantas se evaluaron a los 21 días de edad.

El efecto biostático o biosida puede ser dependiente del rango de aplicación de la sensibilidad de las cepas de rizobios y del lapso de tiempo entre la inoculación y la siembra de la semilla tratada. Curley y Burton (1975) con frijol soya y Graham et al (1980) con Phaseolus vulgaris en campo, observaron que la inoculación y siembra inmediata de la semilla tratada con fungicida disminuye el efecto inhibitorio. Finalmente, la nodulación y fijación de nitrógeno --

puede ser afectado de cuatro maneras: a) sobre la sobrevivencia de rizobios; b) en el proceso de infección; c) en la formación y desarrollo del nódulo; d) sobre la fijación de nitrógeno en el nódulo (Diatloff, 1986).

Interacciones

Las pudriciones radicales pueden involucrar más de un patógeno y las enfermedades causadas por dos o más patógenos a menudo son más severas que las causadas por un solo patógeno. Estas interacciones influyen en la severidad e incidencia de la enfermedad y crecimiento de la planta (Datnoff, y Sinclair, 1988).

Hutton et al (1973), reportan que la incidencia de pudrición radical en frijol común causado por F. solani f. sp. phaseoli, se incrementó al combinarse con P. penetrans o Meloidogyne spp.. En estudios similares, Burkholder (1919) reporta que T. basicola y F. solani f. sp. phaseoli juntos reducen el rendimiento de frijol más que los dos hongos individualmente. Maloy (1959), estudió todas las posibles combinaciones de los cuatro patógenos en frijol común y reporta que ninguna combinación resultó en una pudrición radical más severa que la iniciada por F. solani f. sp. phaseoli.

El efecto de F. solani f. sp. phaseoli, Pythium ultimum y R. solani solos y en combinación sobre plantas de frijol -

(Phaseolus vulgaris L.) fueron analizados por Pieczarka y Abawi (1978) utilizando suelo de campo, esterilizado e infestado artificialmente en un medio ambiente controlado. Determinando que la pudrición radical fué más severa en los infestados con P. ultimum y F. solani f. sp. phaseoli, ya que los datos sugieren que existe una relación sinérgica entre estos dos hongos. Mientras los rangos del daño en plantas creciendo en suelos infestados con P. ultimum y F. solani f. sp. phaseoli y una combinación de estos dos organismos resulto en un daño de 3.2, 0.8 y 5.1 respectivamente. Similarmente, se presentó una reducción en el peso seco total por planta de 52, 12 y 74 por ciento respectivamente. Además ninguna interacción se observó entre R. solani y F. solani f. sp. phaseoli. Sin embargo, R. solani reduce significativamente la severidad de la pudrición iniciada por P. ultimum cuando los dos se combinaron, sugiriendo una relación antagonista.

Orellana et al (1976) establecieron que R. solani reduce significativamente los pesos de los nódulos y parte aérea de frijol soya inoculado con Rhizobium japonicum y creciendo en un substrato de arena y nutrientes libres de nitrógeno, comparándose con plantas creciendo con rizobios. Además, se estableció que a causa del hongo se presentó una disminución del 63 por ciento de nitrógeno fijado por planta. Concluyendo que en plantas de frijol inoculados con R. japonicum y r. solani, a 15, 20 o 25°C se presentó una disminución en el peso de los nódulos, parte aérea y contenido de nitrógeno por planta.

Por lo anterior, este hongo es considerado como un factor - limitante en el rendimiento bajo un amplio rango de condiciones ecológicas.

M. phaseolina, R. solani y F. solani a una densidad de inóculo conocido en suelo estéril, fueron estudiados por - - Zambolin et al (1983), para determinar sus efectos sobre - - plantas de frijol soya en invernadero a una temperatura entre 28-35°C. Estableciendo primeramente que el 50 por ciento de los plantas se infectaron por M. phaseolina al usar una dosis de 0.8 y 3.8 X 10⁴ esclerocios por kilogramo de suelo no estéril y estéril respectivamente. Para R. solani la ED₅₀ fué - de 0.1 y 0.2 X 10⁴ esclerocios por kilogramo de suelo no estéril y estéril. A los 25 días después de la germinación M. phaseolina reduce significativamente el peso de la raíz, - - mientras que R. solani y F. solani reducen significativamente el peso de la raíz, peso aéreo y altura de la planta comparado con plantas no inoculadas. Además, la combinación de M. phaseolina a 40 X 10⁴ esclerocios por kilogramo de suelo con R. solani a 0.1 X 10⁴ esclerocios ó F. solani a 300 X -- 10⁴ clamidosporas, reducen significativamente los tres parámetros anteriores, cuando se comparan con el control o con - el tratamiento de M. phaseolina solo. Finalmente el porcentaje de raíces infectados con M. phaseolina disminuye significativamente cuando se combina con R. solani.

French y Kennedy (1963) aislaron a F. oxysporum y R. -

solani de plantas de frijol soya en el mismo campo y sugieren que F. oxysporum es un invasor secundario o coinvasor con R. solani. Datnoff y Sinclair (1988) estudiaron en cámaras de crecimiento a plantas de frijol soya observando que la incidencia y severidad de la enfermedad fueron altas en plantas inoculadas con F. oxysporum y R. solani, que al estar individualmente. Al determinar la infección radical esta fué alta para Fusarium en presencia de R. solani que al estar solo Fusarium, y fué muy baja la infección radical por Fusarium a grandes densidades de 1×10^6 conidias por gramo de suelo. Sin embargo, la infección por R. solani fué baja en presencia de F. oxysporum que cuando está solo Rhizoctonia. En cuanto a los rangos de severidad de la enfermedad para las plantas en parcelas infestadas con la mezcla de patógenos, fueron más altos que el estar ambos patógenos individualmente a los 36 días después de la siembra. Las plantas inoculadas con ambos hongos o con R. solani solo, fueron de menor altura en comparación a las plantas no inoculadas o inoculadas con F. oxysporum. Concluyendo, que la interacción de los dos hongos en la pudrición radical en frijol soya parece tener un efecto aditivo.

MATERIALES Y METODOS

Descripción del Area General

Durante el mes de octubre de 1987 se efectuaron muestras en ocho áreas de cultivo en la zona frijolera de Zacatecas para el aislamiento de Fusarium sp., Rhizoctonia sp., y Rhizobium sp. En estas localidades seleccionadas se siembra el frijol de manera repetida año con año, por lo que se presenta el daño por pudrición radical, además de que existe en estos lugares poblaciones nativas de Rhizobium sp. En el cuadro 3.1, y figura 3.1 se describe la ubicación de las áreas.

Aislamiento de los microorganismos

De las plantas de frijol con lesiones típicas de los dos hongos, se efectuaron cortes de 1 a 2 centímetros de largo, los cuales se lavaron primero con agua corriente y en seguida se colocaron en alcohol al 70 por ciento por un tiempo de 2.5 minutos y después se lavaron en agua destilada estéril por 5 minutos en dos ocasiones. Para finalmente ser sembrados en el medio de cultivo de agar papa-dextrosa, incubado a 28°C durante el tiempo requerido para el desarrollo de los dos hongos según la técnica de Zambolin et al (1983).

Cuadro 3.1. Localidades Consideradas en el Muestreo.

Muestreo	Localización		
1	Km 109	Carretera Saltillo - Zacatecas	
2	Km 88	"	"
3	Km 67	"	"
4	Km 30	"	"
5	Km 86	"	Fresnillo - Durango
6	Km 110	"	"
7	Km 150	"	"
8	Km 10	al norte de Calera Zacatecas	

Para el aislamiento de Rhizobium sp, a partir de nódulos, se sacaron cuidadosamente las raíces noduladas de plantas y se colocaron en bolsas de polietileno conteniendo suelo guardándose en una hielera hasta su transporte al laboratorio de acuerdo a la metodología descrita por Vincent (1975) El primer paso consistió en la esterilización de la superficie, lavando perfectamente las raíces para eliminar el suelo y la contaminación superficial gruesa. A las muestras de nódulos se les dejó 0.5 cm. de raíz de cada lado del sitio de union. Se supergieron por un instante (1-5 seg.) en etanol al 95 por ciento se lavaron con agua destilada estéril por 1 minuto, -- en seguida se pasaron a una solución de cloruro mercurio acidificado por 1 minuto, se lavó por 2 minutos en agua estéril en cinco ocasiones. Posteriormente se rompió el nódulo con

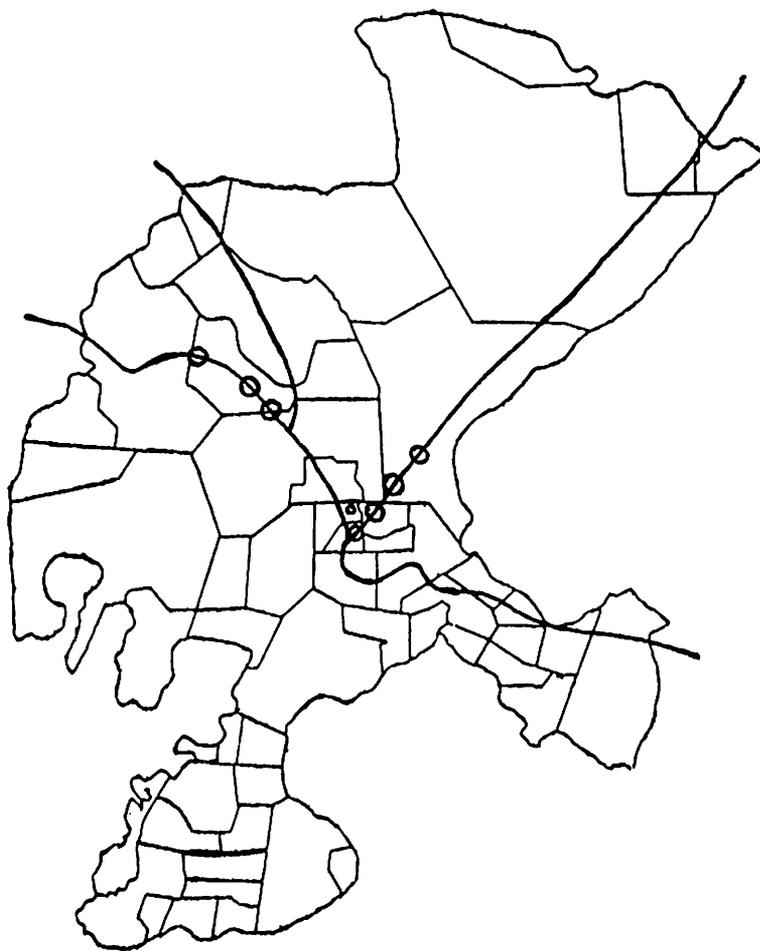


Figura 3.1 Areas muestreadas en el Estado de Zacatecas, para el aislamiento de Fusarium sp, Rhizoctonia sp. y - Rhizobium sp.

una pinza de punta fina en un volumen muy pequeño de agua -- destilada estéril para producir una suspensión lechosa. Se colocó un poco de ésta en cajas con agar levadura manitol y se aisló la bacteria por estría cruzada, incubándose a 26°C por 3 días.

Identificación de los microorganismos

Para Rhizoctonia sp y Fusarium sp., se confirmaron sus características microscópicas, estas últimas se corroboraron con claves adecuadas para ambos hongos, como son las de -- Booth (1977); Toussoun y Nelson (1968); Heinz y Gams (1968); Barnett y Hunter (1972) y Streets (1978).

Para Rhizobium sp., se efectuaron pruebas bioquímicas - (según el manual de Bergey's 1984), pruebas de infectividad y efectividad, en invernadero sembrando 5 semillas por cada jarra leonard más la solución de nutrientes de Norris. Después de 25 días se descubrió el sistema radical de la planta y se comprobó la presencia de nódulos de un color rosado, de los cuales se aisló nuevamente a Rhizobium sp..

Pruebas de Patogenicidad

Con el objeto de seguir los postulados de Koch, los hongos que se aislaron se inocularon en plántulas de 4 variedades de frijol las cuales son: pinto americano, flor de mayo, bayo zacatecas y ojo de cabra. Las semillas de estas varie-

dades se esterilizaron y se sembraron en macetas conteniendo suelo esterilizado a 121°C por 20 minutos y después de 24 -- horas se sometió a calor seco a 100°C por 6 horas, para ob-- servir después de un período de tiempo las lesiones típicas de ambos hongos. De estas plantas se aislaron nuevamente -- los hongos y se comprobó que sus características correspon-- dieran a los microorganismos inicialmente inoculados.

Medición de Estructuras

Para la cepa de Fusarium sp, utilizada en las pruebas - de laboratorio e invernadero, se prepararon microcultivos -- los que se montaron en lactofenol y se sellaron con esmalte para uñas. Posteriormente, se midió en un micrometro el lar-- go y ancho de las macroconidias, microconidias y el diámetro de la clamidóspora, para cada uno de los casos se registro - un total de 150 mediciones de las cuales se obtuvo una media

Pruebas in vitro a Nivel de Laboratorio

Esta comprendió 3 etapas las cuales son:

- 1) El efecto de captan-50, a concentraciones de 500, 1000, - 1250 y 1500 ppm. sobre el crecimiento de Fusarium y Rhizoctonia, midiéndose el crecimeinto radial de los dos en - milímetros con respecto al testigo.
- 2) El efecto de Tiabendazol, a concentraciones de 5 hasta -- 1000 ppm., sobre el crecimeinto de Fusarium y Rhizoctonia

mediéndose el crecimiento radial en milímetros.

- 3) El efecto de captan-50 a 500 ppm., y de Tiabendazol a concentraciones de 5 hasta 50 ppm., sobre el crecimiento de Rhizobium sp., para este caso se realizaron cuentas viables por triplicado, para registrar el número de bacterias viables.

Siembra, Incubación y Toma de Datos

Se diseñó un experimento completamente al azar, para evaluar la rapidez del crecimiento diametral en centímetros para los dos hongos en presencia del fungicida captan-50 y tecto-60. Teniéndose un total de 24 cajas petri sembradas con captan-50 y 90 cajas sembradas con Tiabendazol. Para lo anterior se inoculó con un sacabocados un disco micelial de 1 centímetro de diámetro en el centro de la caja petri conteniendo papa dextrosa agar y se incubó a 28°C por un período de 11 días, durante el cual se midió el crecimiento diametral, efectuándose un análisis de varianza para los datos tomados. Para Rhizobium se inoculó una asada de bacterias en un matraz de 250 mililitros conteniendo 100 ml. de extracto levadura manitol a un pH de 7.0 e incubando a una temperatura de 25 a 27°C, completándose un total de 9 matraces. De acuerdo a la técnica de Vincent (1975) se determinaron cuentas viables por triplicado a intervalos a las 24, 48 y 72 horas de crecimiento.

Pruebas a Nivel de Invernadero

En abril de 1989 se efectuó la colecta de suelo en la -
 region de Calera, Zacatecas. Para esto se usó la metodolo--
 gía de Shaw (1972) la cual consiste en reocger unos 200 g. -
 de suelo de los primeros 20 cm. del perfil, en sitios del te
 rreno seleccionados al azar. Al suelo se le determinó: por
 ciento de materia orgánica, nitrógeno aprovechable, fósforo
 aprovechable, potasio intercambiable, pH, conductividad eléc
 trica, textura y volumen densidad.

a) Siembra en jarras leonard; las semillas de frijol --
 Bayo Zacatecas, fueron sembradas en jarras leonard que con--
 tienen arena de río lavada y esterilizada más la solución nu
 tritiva de norris. En el cuadro 3.2 se detalla la misma.

b) Siembra en macetas; conteniendo 2 kilos de suelo ta-
 mizado de Calera Zacatecas, este suelo se esterilizo a 121°C
 por 20 minutos y 24 horas después se esterilizó con calor se
 co a 100°C por 6 horas. Para las dos pruebas, en jarras leo
 nard y en macetas con suelo se estableció un total de 16 tra
 tamientos para cada una, con 4 repeticiones completándose un
 total de 64 jarras o macetas según el caso. En el cuadro --
 3.3 se resumen los tratamientos utilizados.

La prueba que comprende el crecimiento de plantas de --
 frijol en macetas con suelo de Calera Zacatecas, se incremen
 tó la cantidad de fungicida en el tratamiento 14 a una con--
 centración de 1250 ppm. de captan-50 y en el tratamiento 15

Cuadro 3.2. Preparación de 20 litros de solución nutritiva de Norris.

-
1. Preparar soluciones-base (3 litros) de cada una de las sales siguientes:

$K_2 HPO_4$ 104.4 g y aforar a 3 l con agua destilada

KCL 44.7 g y aforar a 3 l con agua destilada

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$.. 147.9 g y aforar a 3 l con agua destilada

2. Agregar 200 ml de cada una de las 3 soluciones-base, en un garrafón de 20 litros de capacidad con aproximadamente 7 litros de agua destilada.

3. Depositar 13.76 g de $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ en un matraz de 2 litros de capacidad y agregar de 750 a 1200 ml de agua destilada agitar fuertemente y vertir el sobrenadante al garrafón de los 20 litros. Nuevamente agregar de 750 a 1200 ml de agua y repetir la operación hasta haber disuelto y mezclado el $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ con el resto de las sales minerales y -- que la solución quede sin precipitados y cercana a los 20 litros.

4. Adicionar 20 ml de una solución de micronutrientes, la -- cual se prepara de la siguiente manera:

$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.157 g

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.440 g

$MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 4.060 g

Continuación Cuadro 3.2.

$(\text{NH}_4)_4 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.020 g

H_3BO_3 2.860 g

Aforar con agua destilada. 1,000 ml

5. Agregar 20 ml de la solución Fe-EDTA

6. Complementar con agua destilada a 20 litros

7. Checar que el pH esté cercano a la neutralidad

Cuadro 3.3. Tratamientos Utilizados en Jarras Leonard y en Macetas con Suelo

Tratamiento

No.

- 1 Rhizobium
 - 2 Rhizobium + Captan-50 (100 ppm)
 - 3 Rhizobium + Tiabendazol (50 ppm)
 - 4 Rhizobium + Rhizoctonia
 - 5 Rhizobium + Fusarium
 - 6 Rhizobium + Rhizoctonia + Fusarium
 - 7 Rhizobium + Rhizoctonia + Captan-50 (100 ppm)
 - 8 Rhizobium + Rhizoctonia + Tiabendazol (50 ppm)
 - 9 Rhizobium + Fusarium + Captan-50 (100 ppm)
 - 10 Rhizobium + Fusarium + Tiabendazol (50 ppm)
 - 11 Rhizoctonia
 - 12 Fusarium
 - 13 Rhizoctonia + Fusarium
 - 14 Rhizoctonia + Fusarium + Captan-50 (100 ppm)*
 - 15 Rhizoctonia + Fusarium + Tiabendazol (50 ppm)**
 - 16 Testigo
-

* En Macetas con Suelo de Calera, Zacatecas se uso 1250 ppm

** En Macetas con Suelo de Calera, Zacatecas se uso 1000 ppm

a 1000 ppm. de Tiabendazol.

Metodología Utilizada en el Invernadero

La semilla de Bayo Zacatecas se desinfecto con alcohol al 70 por ciento por 2.5 minutos y se lavó en seguida en 3 ocasiones con agua destilada estéril por 3 minutos y se sembró 5 semillas por jarra o maceta según el caso, estas semillas se trataron antes con las dosis correspondientes de fungicida según el tratamiento que le corresponda, de acuerdo a la técnica de Papavizas y Lewis (1975).

Determinación del Número de Propágulos

Para estandarizar la densidad de inóculo a utilizar se determinó en un hematocitómetro el número de propágulos por mililitros de inóculo según la técnica de Pieczarka y Abawi (1977). Por lo que se mezcló el contenido de 10 cajas de Fusarium sp., con edad de 12 días, en un litro de agua estéril. Para Rhizoctonia sp., se mezcló el contenido de 12 cajas con una edad de 11 días, en un litro de agua estéril. Aplicandose 60 mililitros de cada una de las mezclas por 1000 g. de suelo.

Para Rhizobium sp., se aplicó un mililitro de caldo bacteriano con una edad de 72 horas de incubación, en cada jarra Leonard, de acuerdo a Vincent (1975). Mientras que en --

la prueba con macetas conteniendo suelo de Zacatecas, se aplicó 5 mililitros del inóculo bacteriano por maceta.

Toma de Datos

Después de crecer las plantas de frijol por 25 días en jarras y macetas se les determinó: la longitud en centímetros de la parte aérea y de la raíz; el peso fresco en gramos; la distancia en cm. entre el nudo cotiledonario y la primera raíz lateral; el peso seco en gramos de la parte aérea y de la raíz (sometiendo el material vegetativo a una temperatura de 70°C, hasta peso constante); el número de nódulos y peso en gramos de acuerdo a la metodología de Orellana et al (1976). Los datos se analizaron aplicando un diseño completamente al azar.

Determinación de la Insidencia de Enfermedad

Para esta etapa se seleccionaron al azar 2 plantas de cada tratamiento para establecer el por ciento de hipocótilos y el por ciento de raíces infectadas de acuerdo a la técnica de Zambolin et al (1983). De las plantas muestreadas se efectuaron 10 cortes de cada tratamiento, de un centímetro de largo los cuales se desinfectaron en alcohol al 70 por ciento 3 minutos, luego se lavaron en 3 ocasiones por 2 minutos con agua destilada estéril, estas piezas se colocaron en cajas estériles conteniendo un papel filtro estéril y seco, para

en seguida ser cortados longitudinalmente. A continuación - se distribuyeron en cajas petri conteniendo agar agua e incu bando a 27°C por 8 días en oscuridad.

Severidad de la Enfermedad

La respuesta a determinar fué la intensidad de la le - sión del hipocótilo que se registraba al ser removidas las - plantas de las jarras y de las macetas, de acuerdo a un ran - go, que es una modificación del método de Clarkson, Lewis y Papavizas según Datnoff y Sinclair (1988) y que es como - -- sigue:

- 1) Sin síntoma
- 2) Ligera descoloración de la corona o varias lesiones peque ñas en la raíz principal o raíces secundarias.
- 3) Descoloración moderada con numerosas lesiones pequeñas en la corona o raíz principal o destrucción parcial de raí -- ces secundarias.
- 4) Coalescencia de las lesiones para formar lesiones grandes o algunas raíces secundarias destruidas.
- 5) Coalescencia de las lesiones grandes y que se extienden ha cia la corteza del hipocótilo o hacia la raíz principal, algunas raíces secundarias destruidas.
- 6) Hipocótilo, corona o raíz principal, rodeado por la le --- sión y raíces secundarias destruidas.
- 7) Muerte de la planta.

En la fecha de muestreo a los 25 días de edad de las - plantas se seleccionaron 3 plantas de cada repetición para registrar la severidad de la enfermedad, de tal manera que se anotaron 12 lecturas por cada tratamiento. Obteniéndose un promedio general por tratamiento, de la intensidad de la lesión.

RESULTADOS

Aislamientos

Los hongos aislados a partir de plantas con lesiones típicas, de los sitios de muestreo corresponden a las características de Fusarium sp., y Rhizoctonia sp.. Mientras que la bacteria aislada a partir de nódulos efectivos fué Rhizobium sp., corroborándose lo anterior con las características cualitativas (Cuadro 4.1 y Figura 4.1).

Pruebas de Patogenicidad

En estas pruebas se estableció que la variedad de frijol bayo zacatecas fué más sensible al daño por los hongos, confirmándose que Fusarium sp., y Rhizoctonia sp., eran los patógenos causales de la pudrición radical en los sitios muestreados.

Medición de Estructuras

La medición se realizó únicamente para la cepa de Fusarium sp., apreciándose con el microscopio óptico macroconidios de 3 septos, mientras que al usarse el contraste de fa-

Cuadro 4.1. Características cualitativas de la cepa de Rhizobium sp.

Gram	(-)
Bacilos cortos	(+)
Células sin endospora	(+)
Crecimiento en agar glucosa peptona	(+)
Crecimiento en agar extracto levadura manitol	(+)

Cuadro 4.2. Dimensiones y características de las estructuras asexuales presentadas por la cepa de Fusarium sp.

MACROCONIDIO			MICROCONIDIO			CLAMIDOSPO- RAS	
Largo	Ancho	Septos	Largo	Ancho	Septos	Diam.	Dispo sición
\bar{X}	\bar{X}	Nº	\bar{X}	\bar{X}		\bar{X}	
32.90	4.78	3-5	10.11	2.22		14.32	Inter calar

\bar{X} = Media de 150 mediciones

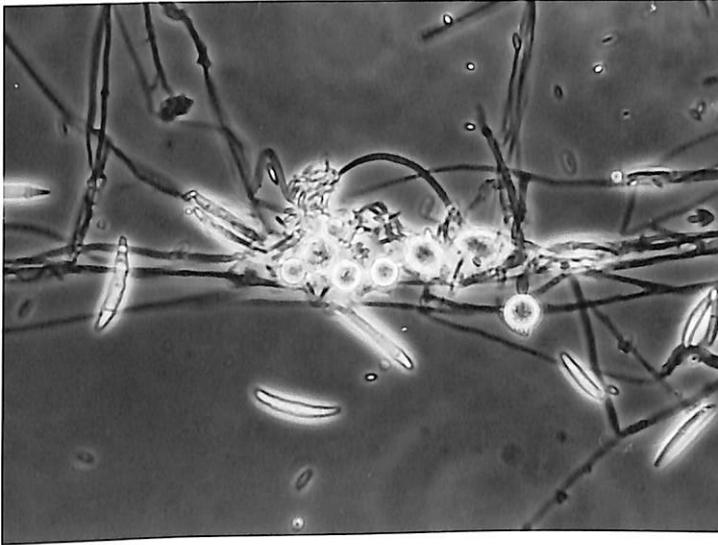


Figura 4.1 a Macroconidias, Microconidias y Clamidosporas de Fusarium sp. Obtenidos a partir de microcultivo.

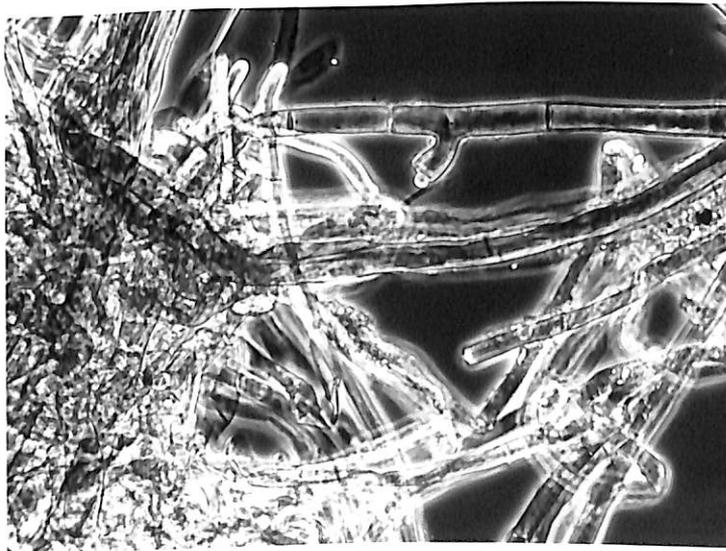


Figura 4.1 b Hifas de Rhizoctonia sp. Obtenidas directamente del hipocótilo de la variedad bayo Zacatecas.

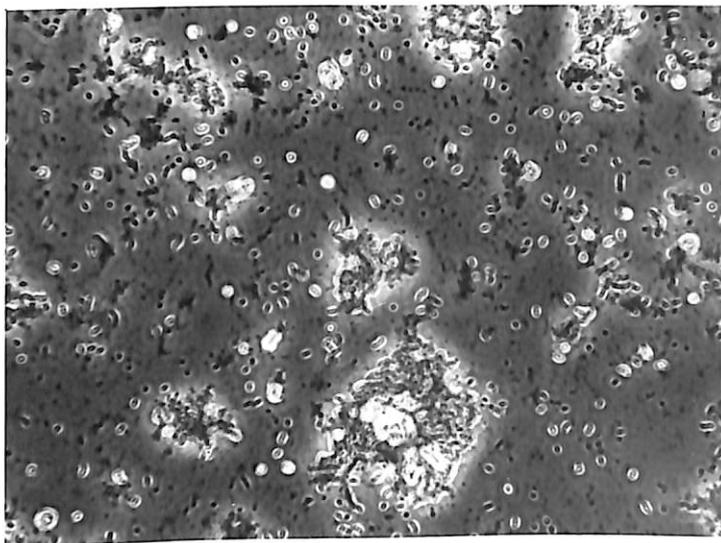


Figura 4.1 c Tinción simple observándose bacteroides de Rhizobium sp. a partir de un nódulo triturado.

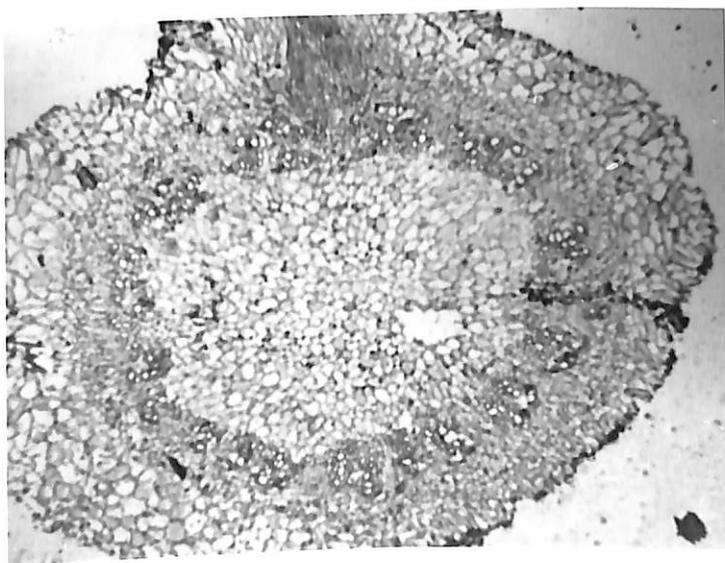


Figura 4.1 d Corte histológico a nivel del hipocótilo de la planta de frijol creciendo en presencia de Rhizoctonia sp.

ses se detecto hasta 5 septos como se indica en el cuadro -
4.2

Pruebas in vitro a Nivel de Laboratorio

Al determinar el efecto de captan, a concentraciones de 500, 1000, 1250 y 1500 ppm, sobre el crecimiento de Fusarium sp. y Rhizoctonia sp. El análisis de varianza para el crecimiento de Fusarium sp., mas captan, indica que hay diferencias altamente significativas entre las medias de las concentraciones, lo mismo ocurre para las medias de los días de incubación. Mientras que la interacción concentración por días de incubación es altamente significativa lo que indica -- que los factores involucrados no son independientes (Apéndice A-1). Al aplicar la prueba de tendencias o polinomios ortogonales para interpretar la significancia de días de incubación, se detectó un -- efecto cuadrático con un nivel de significancia del 1 por -- ciento interpretandose esto como una disminución en el crecimiento diametral a medida que aumentan los días de incubación. Al interpretar la significancia de concentración, se detectó un efecto cuártico con un nivel de significancia del 1 por ciento, interpretandose como una disminución en el crecimiento diametral a medida que aumentan las dosis. Finalmente, al interpretar la significancia de la interacción, se encontró un efecto lineal con un nivel de significancia del 1 por ciento, interpretándose esto como una disminución en el crecimiento diametral a medida que aumentan los días de incubación y la concentración (Figura 4.2).

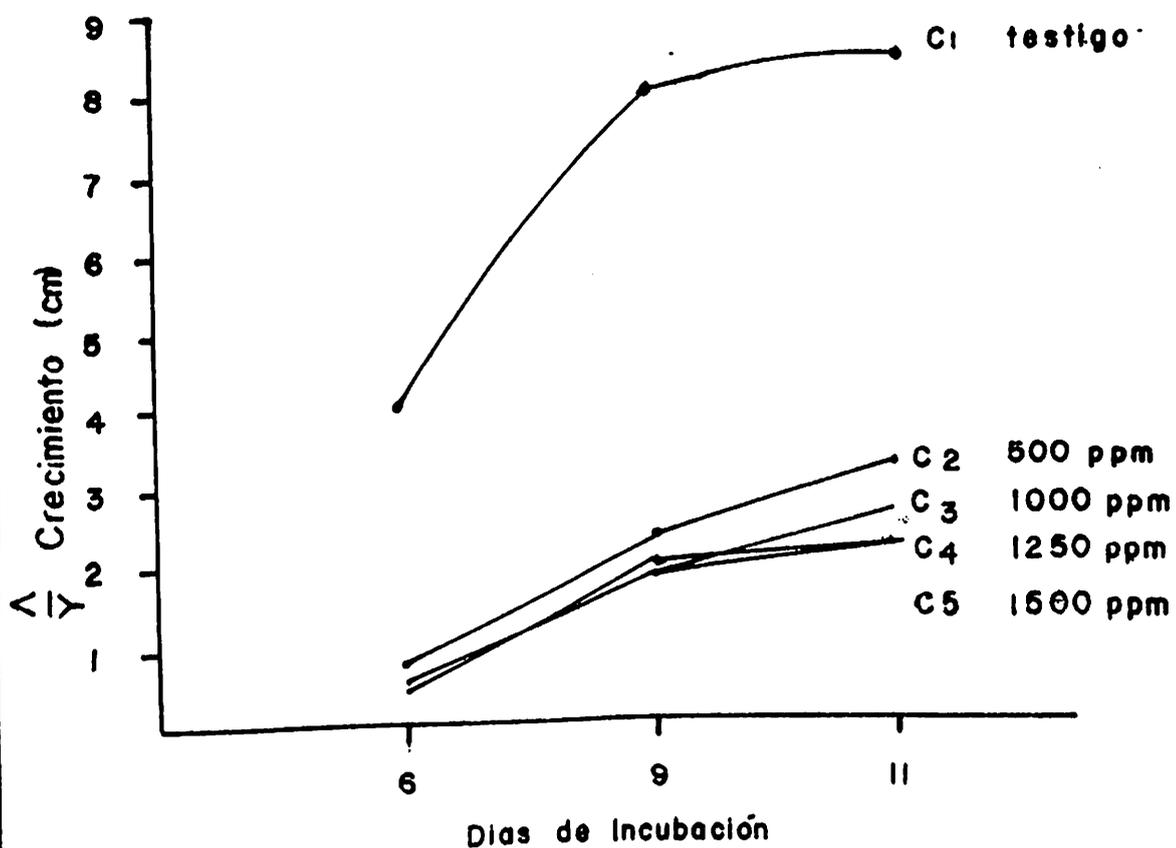


Figura 4.2 Crecimiento de *Fusarium* sp. más Captan en cajas petri.

El análisis de varianza para el crecimiento de Rhizoctonia sp., en presencia de captan, nos muestra que hay diferencias altamente significativas entre las medias de las concentraciones, presentándose lo mismo para las medias de los días de incubación. Sin embargo, la interacción concentración por días de incubación resultó no significativa (Apéndice A-2). Por lo que al aplicar la prueba de polinomios para interpretar la significancia de días de incubación, se detectó un efecto cuadrático con un nivel de significancia del 1 por ciento, interpretándose como una disminución en el crecimiento diametral a medida que aumentan los días de incubación. A la vez, al interpretar la significancia de concentración, se detectó un efecto cúbico con un nivel de significancia del 1 por ciento, interpretándose como una disminución en el crecimiento diametral a medida que aumentan las concentraciones (Figura 4.3).

Al establecer el efecto de tiabendazol a concentraciones de 5 hasta 1000 ppm, sobre el crecimiento de Fusarium sp. y Rhizoctonia sp., se detectó una inhibición total del desarrollo de los dos hongos. Mientras que los testigos correspondientes alcanzaron su crecimiento total en un lapso de 11 y 9 días respectivamente.

Las cuentas viables para registrar el número de bacte--

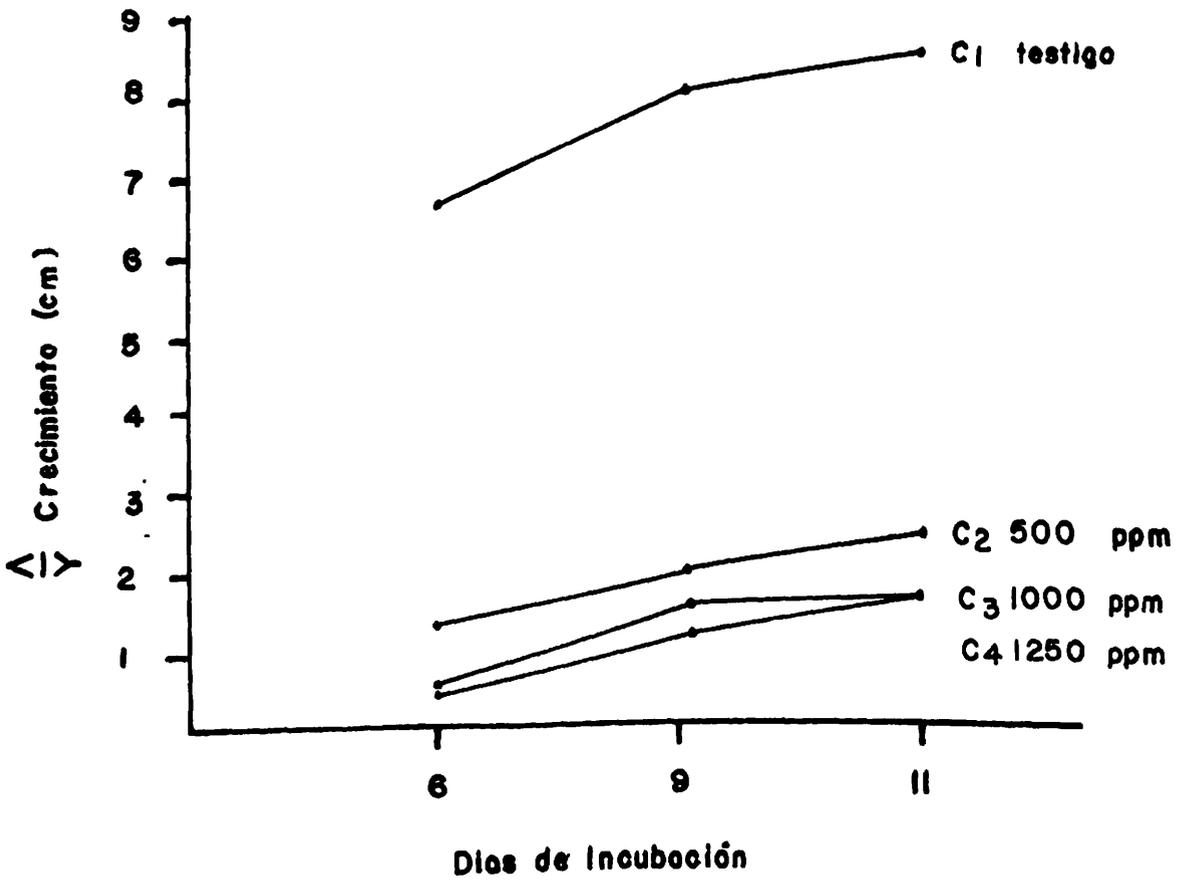


Figura 4.3 Crecimiento de Rhizoctonia más Captan en cajas petri.

rias de Rhizobium sp., indican que al crecer en presencia de captan a una concentración de 500 ppm, se alcanza un densidad de 5.0×10^5 bacterias por mililitro a las 72 horas de incubación. Mientras que el testigo demuestra 2.1×10^7 bacterias por mililitro en el mismo lapso de tiempo (Cuadro 4.3 y Figura 4.4). Para el caso del crecimiento de Rhizobium sp en presencia de tiabendazol a 5 ppm se alcanzó una densidad de 1.3×10^7 bacterias por mililitro a las 72 horas de incubación, comparado contra 2.3×10^7 bacterias por mililitro del testigo (Cuadro 4.4 y Figura 4.5).

Estudios de Invernadero

Análisis de Suelo

El suelo utilizado en las pruebas con macetas en invernadero, al ser analizado sus características se muestran en (Cuadro 4.5). Mientras que la arena de río utilizada en las jarras leonard, presenta un volumen/densidad de 137.19 g.

Número de Propagulos

Al determinar el número de propagulos en un hematocitometro, se encontró que el inocular de Fusarium sp., contenía 84,000 propagulos por mililitro, aplicándose un total de 5,040 propagulos por gramo de suelo. Para Rhizoctonia sp.,

Cuadro 4.3. Crecimiento de Rhizobium sp., en presencia de captan

ppm	T I E M P O (Hrs.)		
	24	48	72
500	1.2×10^5 *	4.6×10^5	5.0×10^5
Testigo	5.3×10^5	9.0×10^6	2.1×10^7

* Número de bacterias por mililitro.

Cuadro 4.4. Crecimiento de Rhizobium sp., en presencia de tiabendazol a diferentes dosis.

ppm	T I E M P O (Hrs.)		
	24	48	72
5	4.1×10^5 *	6.0×10^6	1.3×10^7
10	4.4×10^5	6.3×10^6	1.4×10^7
20	6.0×10^5	7.0×10^6	1.6×10^7
30	5.5×10^5	7.5×10^6	1.7×10^7
40	6.0×10^5	8.0×10^6	1.8×10^7
50	9.0×10^5	8.6×10^6	2.0×10^7
Testigo	7.0×10^5	9.4×10^6	2.3×10^7

* Número de bacterias por mililitro.

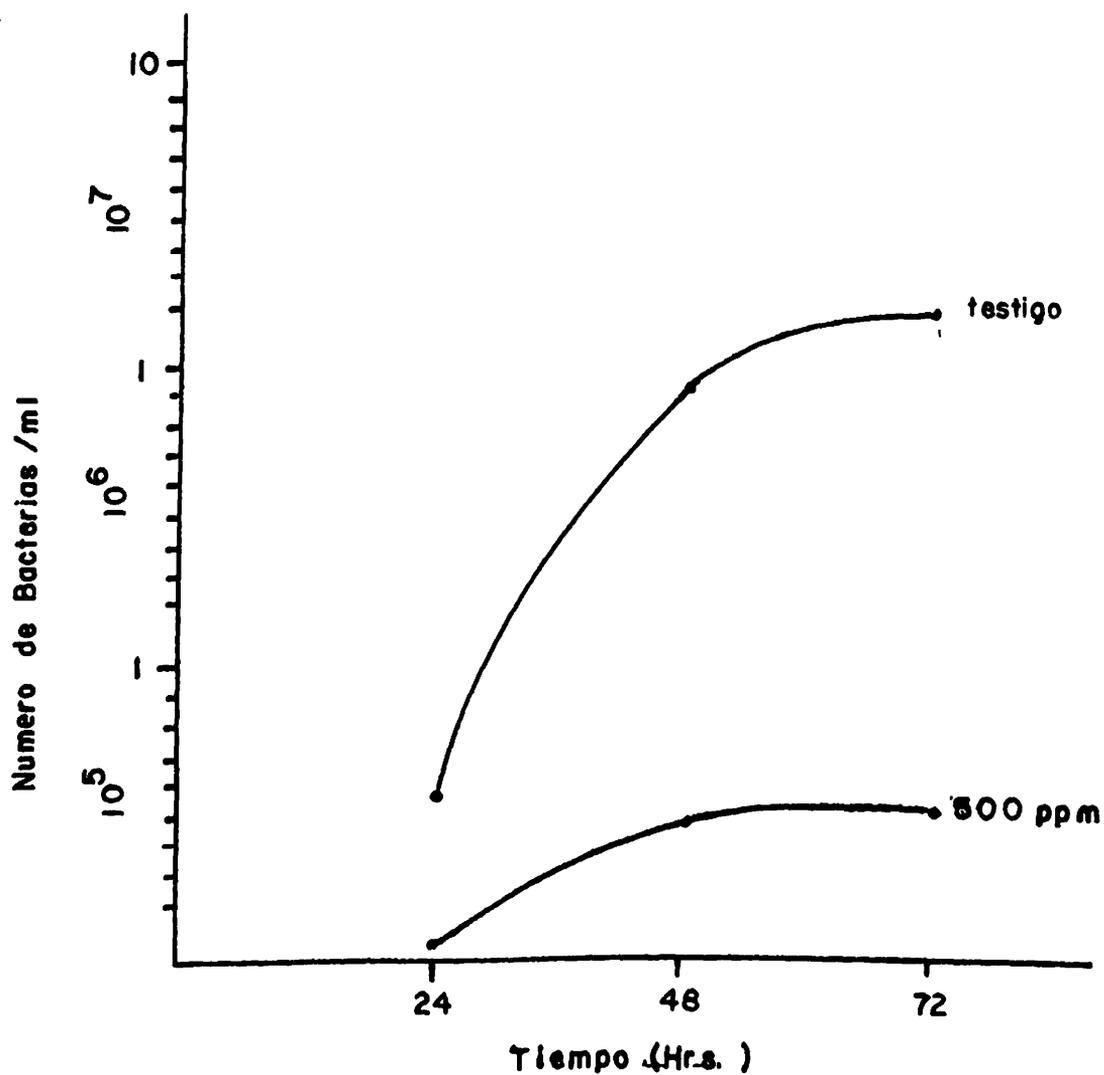


Figura 4.4 Cinética de Crecimiento de Rhizobium sp., en presencia de Captan a 500 ppm, en el medio de E. L. M. a pH=7.0

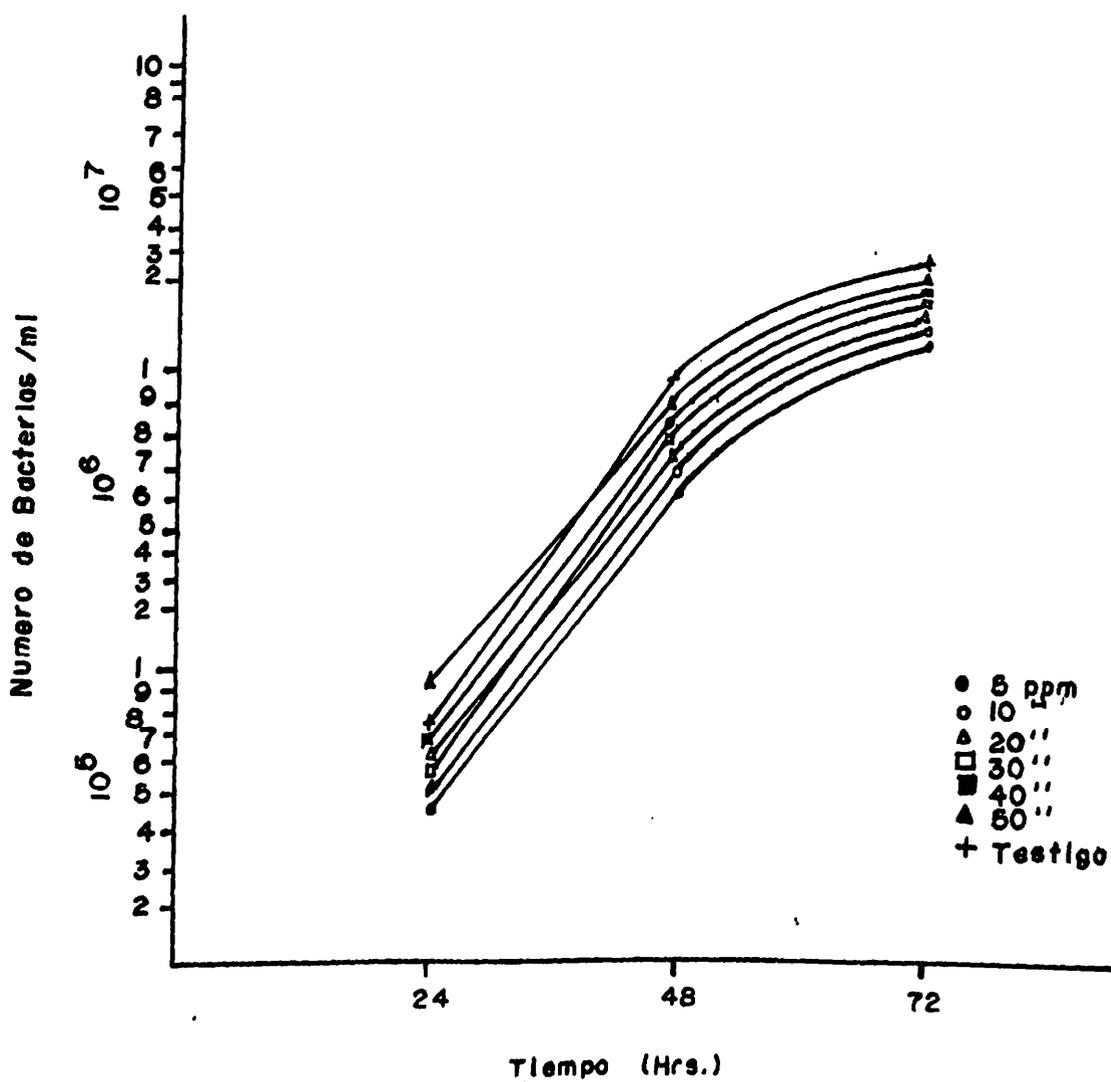


Figura 4.5 Cinética de Crecimiento de Rhizobium sp., en presencia de Tiabendazol a varias concentraciones, en el medio de E. L. M. a pH=7.0

se contabilizó 2000 propágulos por mililitro, lo que equivale al aplicar 120 propágulos por gramo de suelo.

Experimento en Jarra Leonard

La longitud aérea en centímetros mostró diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos (Apéndice A-3); al realizarse la prueba de medias de Tukey, se encontró que el tratamiento número 3 (Rhizobium más tiabendazol a 50 ppm) presentó una media de altura superior a las demás, pero con medias estadísticamente iguales a las demás, excepto para los tratamientos 7 y 14 los cuales demostraron las medias de longitud aérea más bajas (Cuadro 4.6 y Figura 4.6).

En cuanto a la longitud de la raíz en centímetros, ésta mostró diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos (Apéndice A-4); y al efectuar la prueba de medias de Tukey, se estableció que el tratamiento número 1 (Rhizobium) presentó una media de longitud superior a las demás, pero con medias estadísticamente iguales a las otras, excepto para el tratamiento 14 (Rhizoctonia más Fusarium más Captan a 100 ppm) que demostró la media más baja (Cuadro 4.6 y Figura 4.7).

Al determinar el peso fresco aéreo en gramos de las plantas, se observaron diferencias altamente significativas en--

Cuadro 4.5. Análisis físico - químico del suelo de Calera, Zacatecas utilizado en invernadero.

Materia orgánica por ciento --	1.48
Nitrógeno aprovechable * ----	35.5
Fósforo aprovechable * -----	76.5
Potasio intercambiable * ----	476.9
Reacción (pH) 1:2 -----	7.6
Conductividad electrica -----	2.0
Textura -----	Migajon arcilloso
Volumen / densidad -----	99.51

tre las medias de los tratamientos (Apéndice A-5); y al efectuar la prueba de medias de Tukey, se estableció que el tratamiento 9 (Rhizobium más Fusarium más Captan a 100 ppm) presentó una media en peso superior a las demás, pero con medias estadísticamente iguales a las otras, excepto para el tratamiento 15 (Rhizoctonia más Fusarium más Tiabendazol a 50 ppm) y el tratamiento 8 (Rhizobium más Rhizoctonia más Tiabendazol a 50 ppm), este último demostró la media más baja (Cuadro 4.6 y Figura 4.8).

El peso fresco de la raíz en gramos mostró diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos (Apéndice A-6); y al efectuar la prueba de medias de Tukey, se detectó que el tratamiento 3 (Rhizobium más Tiabendazol a 50 ppm) presentó una media en peso superior a las demás, pero con medias estadísticamente iguales a las demás, excepto para el tratamiento 10 (Rhizobium más Fusarium más Tiabendazol a 50 ppm) y el tratamiento 8 (Rhizobium más Rhizoctonia más Tiabendazol a 50 ppm), este último demostró la media más baja (Cuadro 4.6 y Figura 4.9).

Por lo que respecta a la distancia en centímetros entre el nudo cotiledonario y la primera raíz lateral, está demostró diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos (Apéndice A-7); y al efectuar la prueba de medias de Tukey, se estableció que el tratamiento 1 (Rhizobium) presentó la media en centímetros más alta que las --

Cuadro 4.6. Experimento en jarras Leonard, presentándose las medias correspondientes de cada medición.

Long. Aérea		Long. Raíz		Peso Fresco Aéreo		Peso Fresco de la Raíz	
Trata.	Media	Trata.	Media	Trat.	Media	Trat.	Media
3	21.25 a	1	19.88 a	9	7.05 a	3	4.75 a
4	19.40 ab	11	19.22 a b	12	6.35 ab	12	4.73 ab
10	18.20 ab	2	18.50 a b	5	5.95 abc	9	4.37 ab
12	17.73 ab	10	18.45 a b	1	5.65 abc	5	4.33 ab
9	17.73 ab	9	18.38 a b	6	5.57 abc	7	4.25 ab
5	17.65 ab	3	18.0 a b	10	5.48 abc	1	3.82 ab
2	17.50 ab	13	17.95 a b	3	5.45 abc	11	3.48 abc
1	17.28 ab	6	17.80 a b	13	5.38 abc	13	3.15 abc
8	17.18 ab	4	17.75 a b	4	5.35 abc	6	3.13 abc
16	16.28 ab	5	17.28 a b	16	5.20 abc	14	3.08 abc
13	15.48 ab	12	16.85 a b	2	5.0 abc	4	2.85 abc
11	15.43 ab	16	15.25 a b	11	4.88 abc	2	2.53 abc
15	14.55 ab	15	15.05 a b	14	4.73 abc	15	2.10 abc
6	14.53 ab	8	14.95 a b	7	4.65 abc	16	2.05 abc
7	14.33 b	7	14.68 a b	15	4.05 bc	10	1.82 bc
14	13.08 b	14	14.40 b	8	3.65 c	8	0.63 c

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma

letra, según el método de Tukey.

Continúa. Cuadro 4.6.

Distancia ÷ Nudo Cotil y 1ª Raíz		Peso Seco Aéreo		Peso Seco Raíz	
Trat.	Media	Trat.	Media	Trat.	Media
1	8.35 a	9	1.10 a	9	0.70 a
2	8.27 a	3	1.05 ab	2	0.58 ab
10	7.50 ab	1	0.98 ab	14	0.53 ab
16	7.15 abc	10	0.90 ab	13	0.53 ab
3	6.83 abcd	4	0.90 ab	3	0.53 ab
12	6.55 abcde	16	0.85 ab	5	0.45 abc
5	6.25 abcde	5	0.85 ab	1	0.43 abc
9	6.20 abcde	2	0.85 ab	12	0.38 abc
4	5.83 abcde	12	0.82 ab	7	0.38 abc
14	5.75 abcde	13	0.80 ab	4	0.38 abc
8	5.75 abcde	11	0.77 ab	6	0.30 bc
13	4.87 bcde	7	0.73 ab	16	0.28 bc
15	4.63 cde	6	0.70 ab	15	0.28 bc
7	4.50 cde	14	0.63 ab	11	0.28 bc
6	4.25 de	8	0.58 b	10	0.28 bc
11	4.05 e	15	0.55 b	8	0.15 c

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma letra, según el método de Tukey.

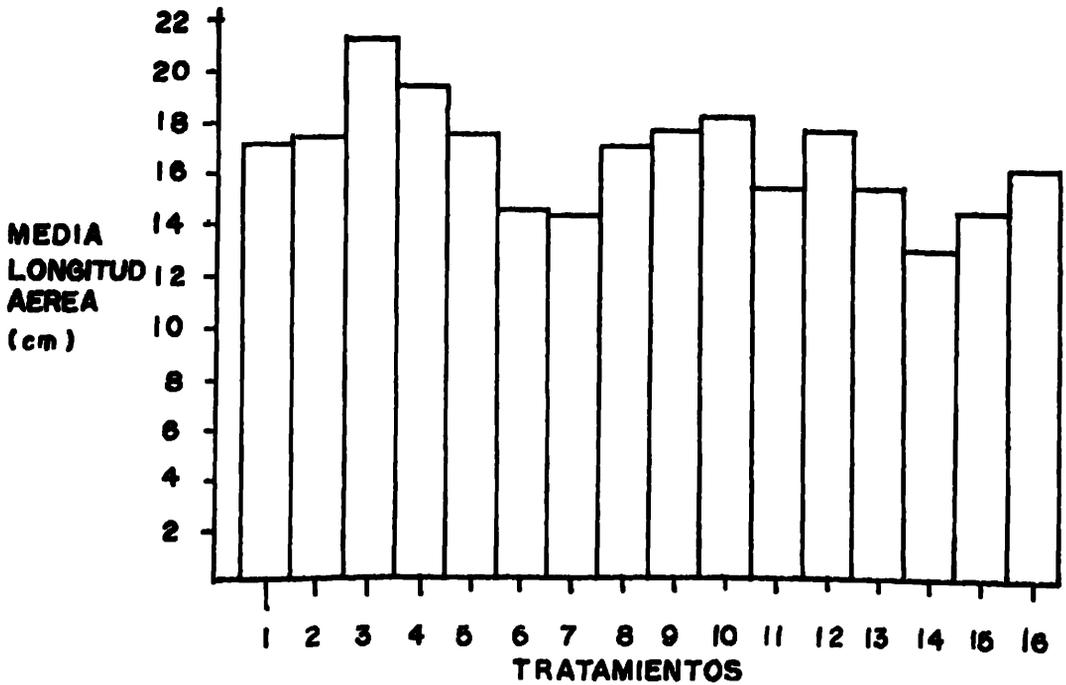


Figura 4.6 Media de la longitud aérea presentada por cada uno de los tratamientos a los 25 días en Jarras Leonard.

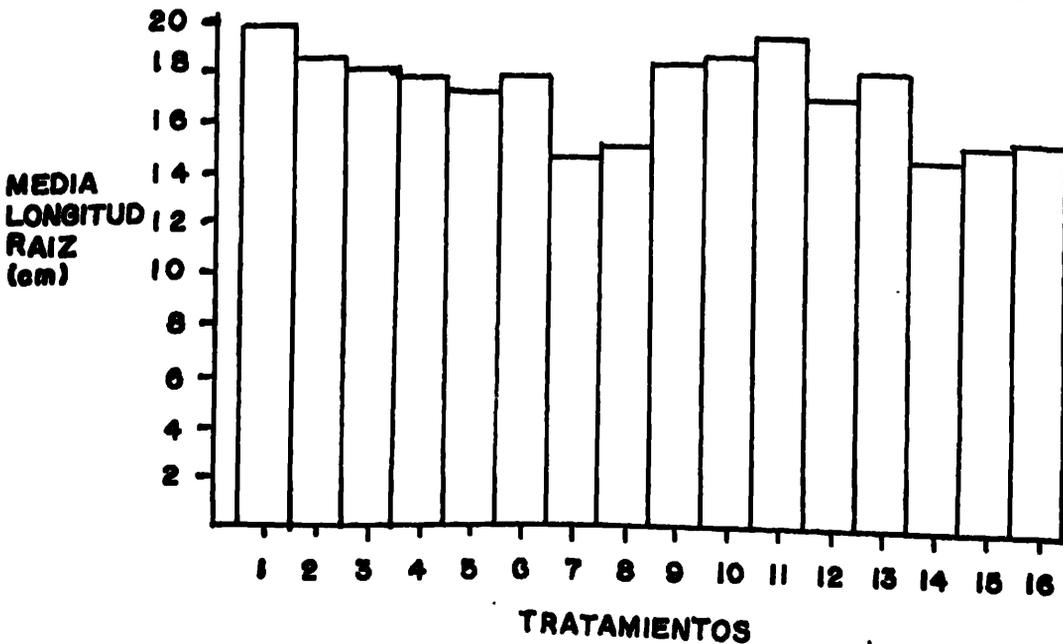


Figura 4.7 Media de la longitud de la raíz (cm) en cada tratamiento a los 25 días en Jarras Leonard.

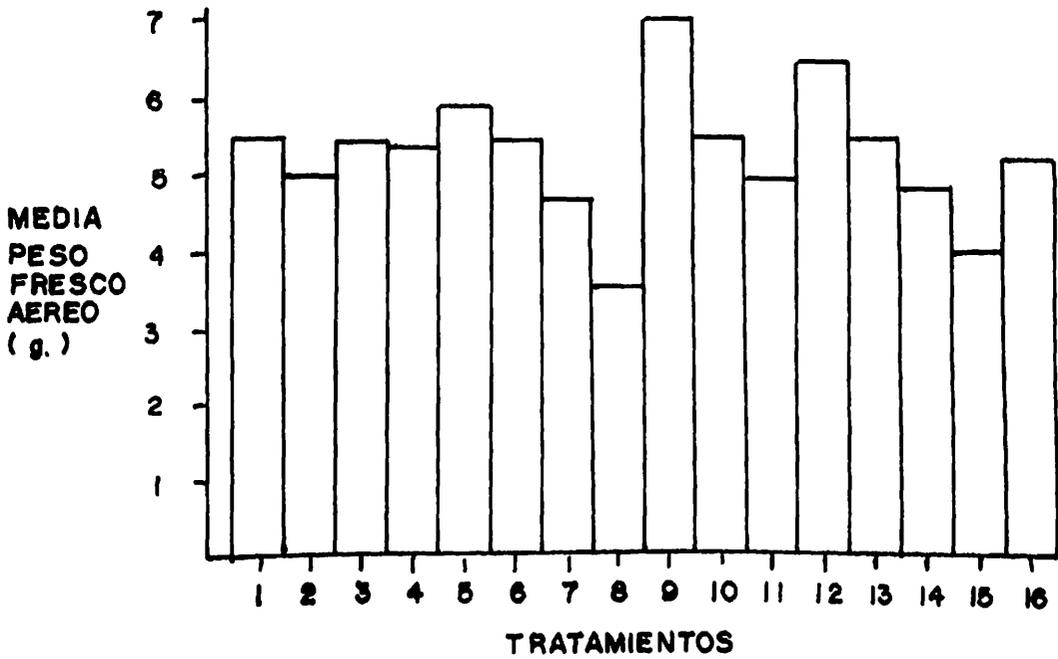


Figura 4.8 Media del peso fresco aéreo (g) en cada tratamiento a los 25 días en Jarras leonard.

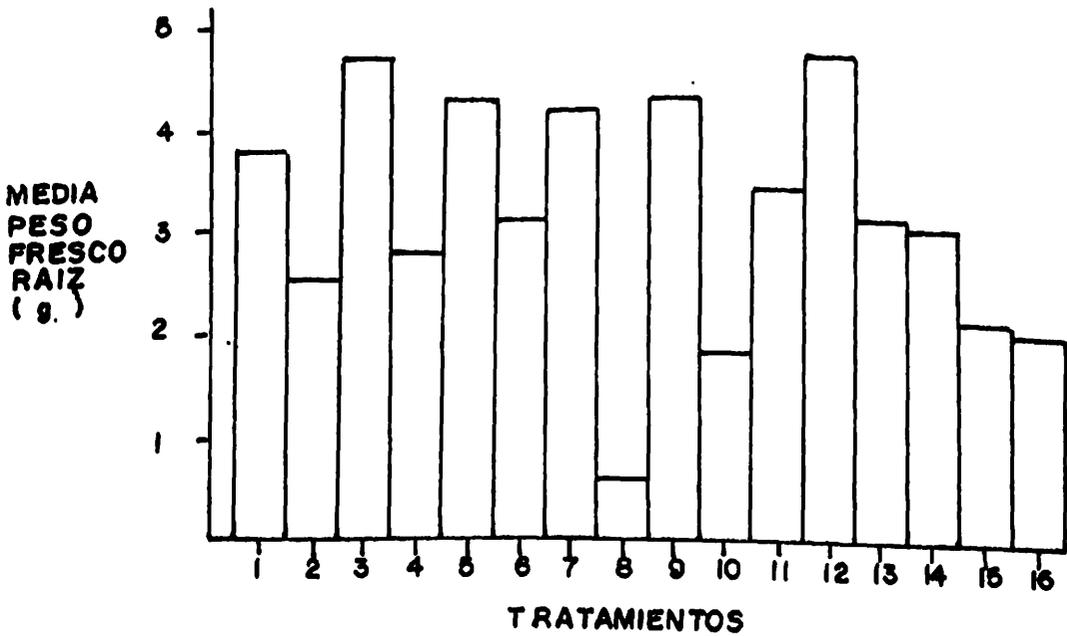


Figura 4.9 Media del peso fresco de la raíz, en cada tratamiento a los 25 días en Jarras leonard.

demás, pero con medias estadísticamente iguales a las demás, excepto para los tratamientos 13, 15, 7, 6 (Rhizobium más -- Rhizoctonia más Fusarium) y 11 (Rhizoctonia), este último exhibió la media más baja (Cuadro 4.6 y Figura 4.10).

En cuanto al peso seco aéreo en gramos, éste mostro diferencias significativas entre las medias de los tratamien-- tos (Apéndice A-8); y al efectuar la prueba de medias de -- Tukey, se estableció que el tratamiento 9 (Rhizobium más Fu- sarium más Captan a 100 ppm) presentó una media de peso seco superior a las otras, pero con medias estadísticamente igua- les a las demás, excepto para el tratamiento 8 (Rhizobium -- más Rhizoctonia más Tiabendazol a 50 ppm) y el tratamiento - 15 (Rhizoctonia más Fusarium más Tiabendazol a 50 ppm) el -- cual presentó la media más baja (Cuadro 4.6 y Figura 4.11).

Mientras que el peso seco de la raíz en gramos, presen- to diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos (Apéndice A-9); y al realizar la prueba de medias de Tukey, se encontró que el tratamiento 9 (Rhizobium más Fusarium más Captan a 100 ppm) presentó una media de pe- so superior a las demás, pero con medias estadísticamente -- iguales a las demás, excepto para los tratamientos 6, 16, 15 11, 10 y 8 (Rhizobium más Rhizoctonia más Tiabendazol a 50 - ppm) este último presentó la media más baja (Cuadro 4.6 y -- Figura 4.12).

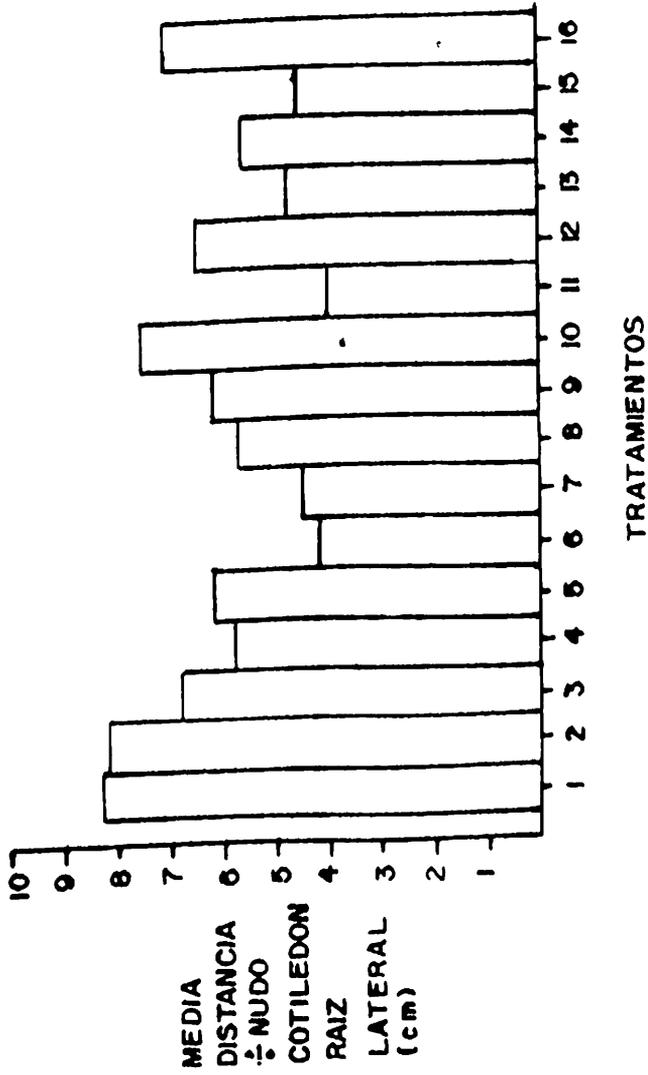


Figura 4.10 Media de la distancia entre el nudo cotiledonario y la primera raíz lateral (cm), a los 25 días en Jarras Leonard.

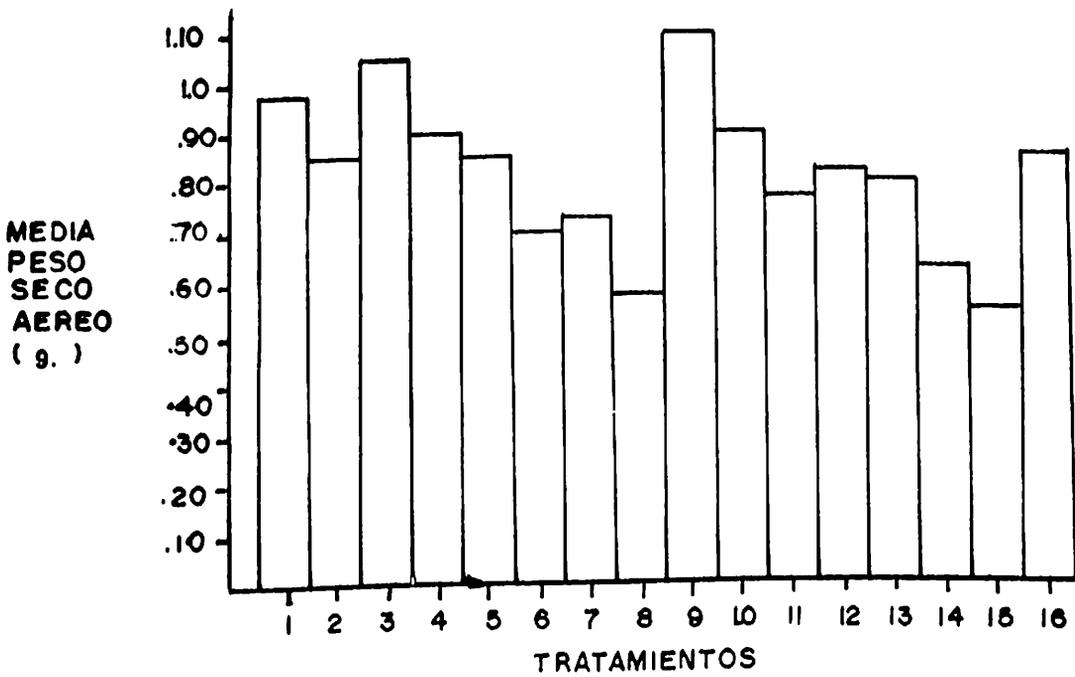


Figura 4.11 Media del peso seco aéreo (g),
en cada tratamiento a los 25
días en Jarras Leonard.

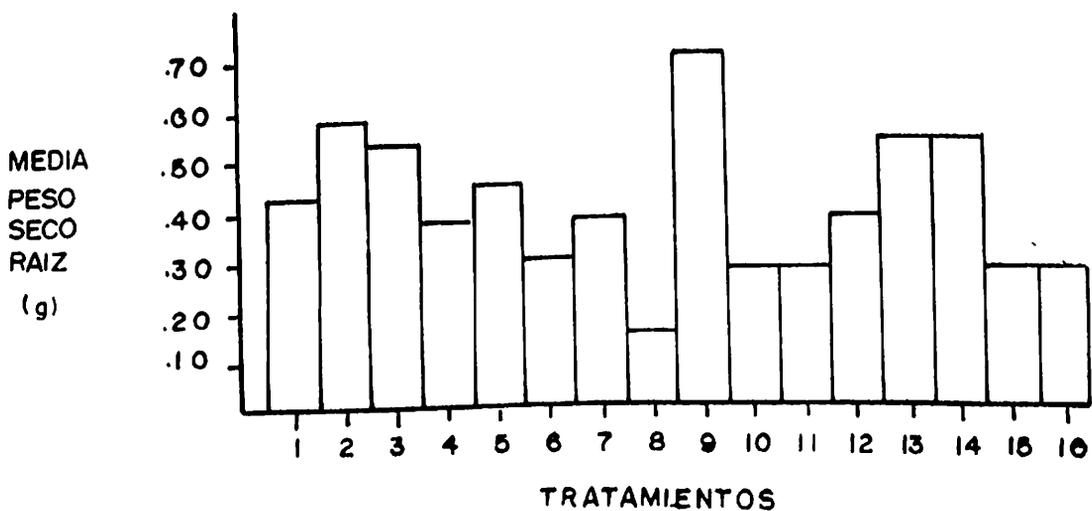


Figura 4.12 Media del peso seco de la raíz (g),
en cada tratamiento a los 25 días
en Jarras Leonard.

Experimento en Macetas con Suelo

Al determinar la longitud aérea en centímetros, ésta -- mostró diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos (Apéndice B-1); y al efectuar la prueba de medias de Tukey, se estableció que el tratamiento 3 (Rhizobium más Tiabendazol a 50 ppm) presentó una media de longitud superior a las demás, pero con medias estadísticamente iguales a las otras, excepto para el tratamiento 13 (Rhizoc-tonia más Fusarium) que presentó la media más baja (Cuadro 4.7 y Figura 4.13).

La longitud de la raíz en centímetros al ser determinada, presentó diferencias significativas entre las medias de los tratamientos (Apéndice B-2); y al aplicar la prueba de medias de Tukey, se estableció que el tratamiento 1 (Rhizo--bium) presentó una media de longitud superior a las demás, -- sin embargo, presentó una media estadísticamente igual a todos los tratamientos (Cuadro 4.7 y Figura 4.14).

Al establecer el peso fresco aéreo en gramos, ésta presentó diferencias no significativas entre las medias de los tratamientos (Apéndice B-3).

Cuadro 4.7. Experimento en macetas con suelo de Calera, Zacatecas.
Presentándose las medias correspondientes de cada medición.

Long. Aérea		Long. Raíz		Peso Fresco		Dist. ÷ Nudo Cotil. y la 1ª Raíz	
Trata.	Media	Trata.	Media	Trata.	Media	Trata.	Media
3	33.75 a	1	25.88 a	16	2.09 a	2	8.63 a
2	32.75 a	3	25.82 a	2	1.95 ab	3	8.60 a
1	32.10 a	16	24.8 a	1	1.91 abc	1	8.23 ab
5	31.72 ab	2	24.75 a	3	1.60 abcd	16	8.05 ab
10	30.50 ab	10	22.80 a	5	1.19 abcd	9	7.42 abc
15	30.0 ab	5	22.50 a	10	0.88 abcd	15	7.20 abc
4	27.75 ab	12	18.25 a	14	0.87 abcd	10	6.75 abcd
9	27.25 ab	4	18.13 a	11	0.75 abcd	5	6.65 abcd
6	26.50 ab	14	18.0 a	13	0.72 abcd	14	6.23 bcde
14	26.43 ab	6	17.5 a	4	0.72 abcd	12	5.33 cdef
8	26.25 ab	9	17.4 a	6	0.63 bcd	11	4.75 def
16	26.20 ab	11	16.5 a	9	0.61 bcd	7	4.67 def
11	25.75 ab	15	16.25 a	15	0.59 bcd	4	4.30 ef
7	25.75 ab	8	14.25 a	12	0.51 cd	13	4.25 ef
12	25.45 ab	7	13.5 a	8	0.51 d	8	4.02 ef
13	23.25 b	13	13.0 a	7	0.40 d	6	3.38 f

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma

letra, según el método de Tukey.

Peso Seco Aéreo		Peso Seco Raíz		Número de Nódulos		Peso de Nódulos	
Trata.	Media	Trata.	Media	Trata.	Media	Trata.	Media
10	1.49 a	12	0.50 a	1	7.23 a	1	0.25 a
1	1.36 a	16	0.48 a	2	6.0 ab	5	0.23 ab
14	1.30 a	15	0.41 a	5	5.03 ab	2	0.22 ab
2	1.28 a	14	0.24 a	10	4.97 ab	3	0.16 ab
5	1.19 a	10	0.23 a	3	4.64 ab	7	0.14 ab
3	1.19 a	1	0.21 a	4	4.25 b	10	0.14 ab
16	1.18 a	2	0.21 a	7	3.91 b	4	0.13 ab
7	1.06 a	3	0.20 a	9	3.72 b	9	0.12 ab
8	1.04 a	5	0.15 a	6	3.62 b	8	0.10 ab
15	0.99 a	9	0.15 a	8	3.30 b	6	0.08 b
11	0.98 a	11	0.14 a				
9	0.97 a	13	0.13 a				
13	0.91 a	4	0.12 a				
6	0.84 a	6	0.12 a				
4	0.82 a	7	0.10 a				
12	0.78 a	8	0.08 a				

Las medias estadísticamente iguales se identifican con la misma

letra, según el método de Tukey.

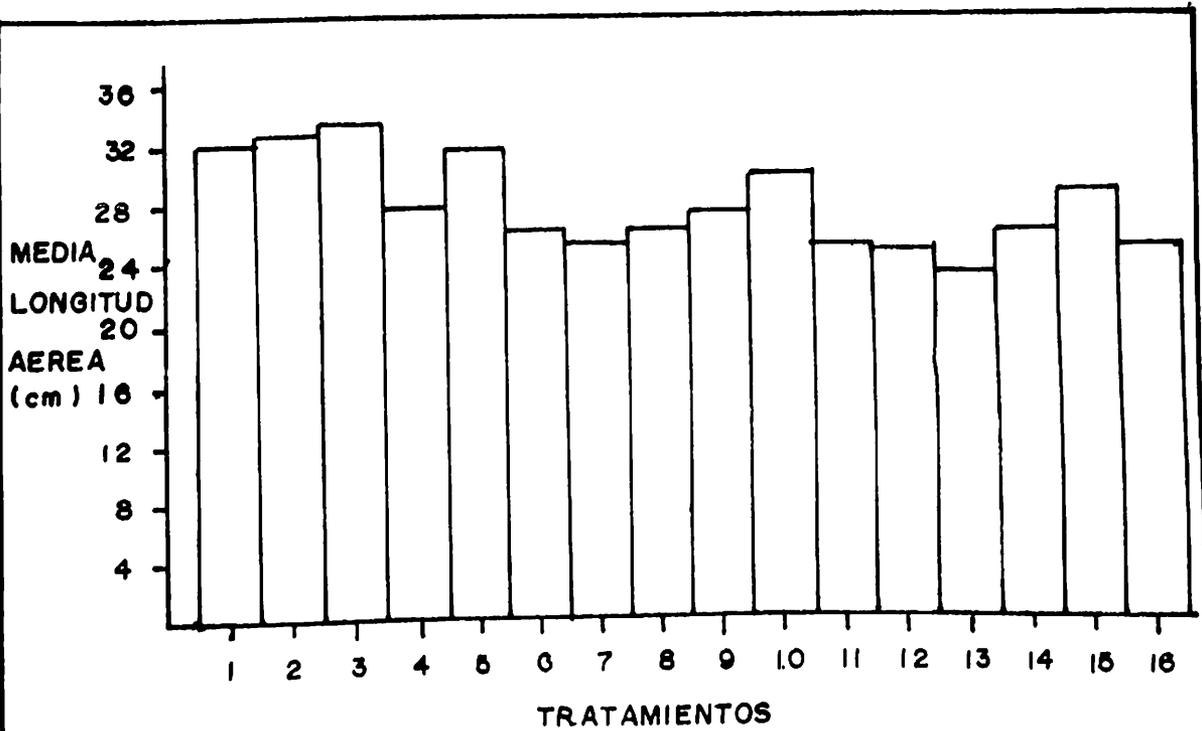


Figura 4.13 Media de la longitud aérea (cm), con respecto al tratamiento a los 25 días en macetas con suelo.

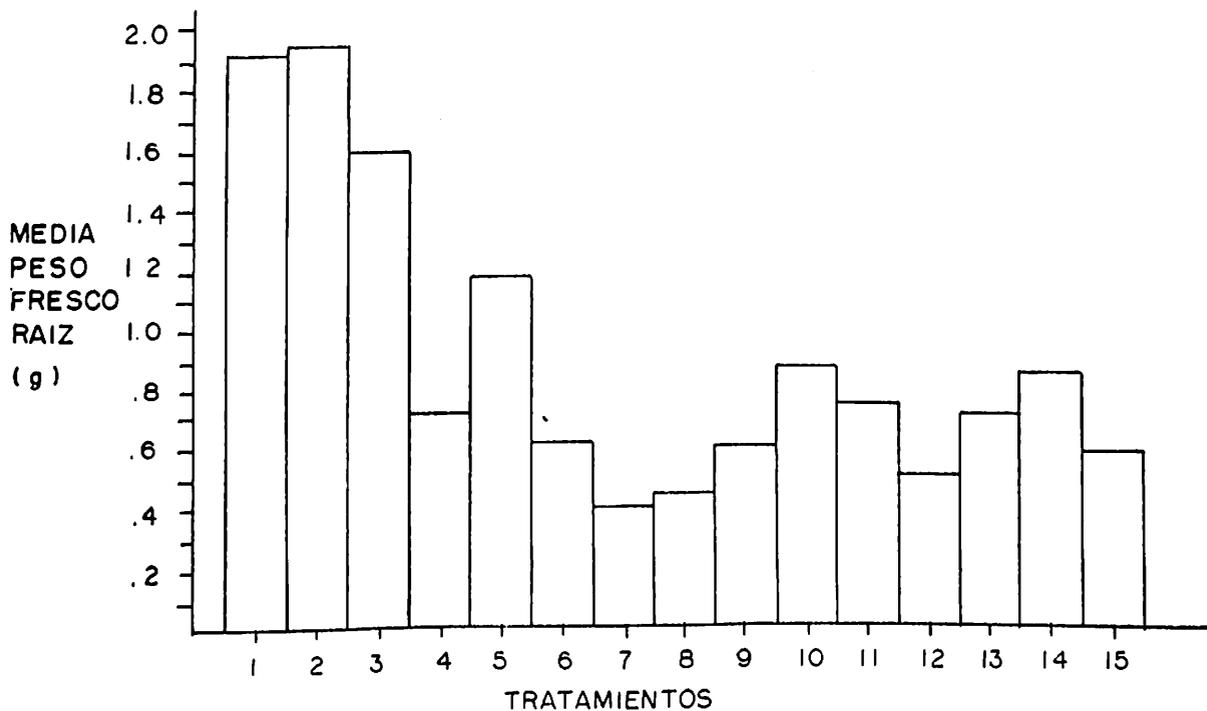


Figura 4.15 Media del peso fresco de la raíz (g), en cada tratamiento a los 25 días en macetas con suelo.

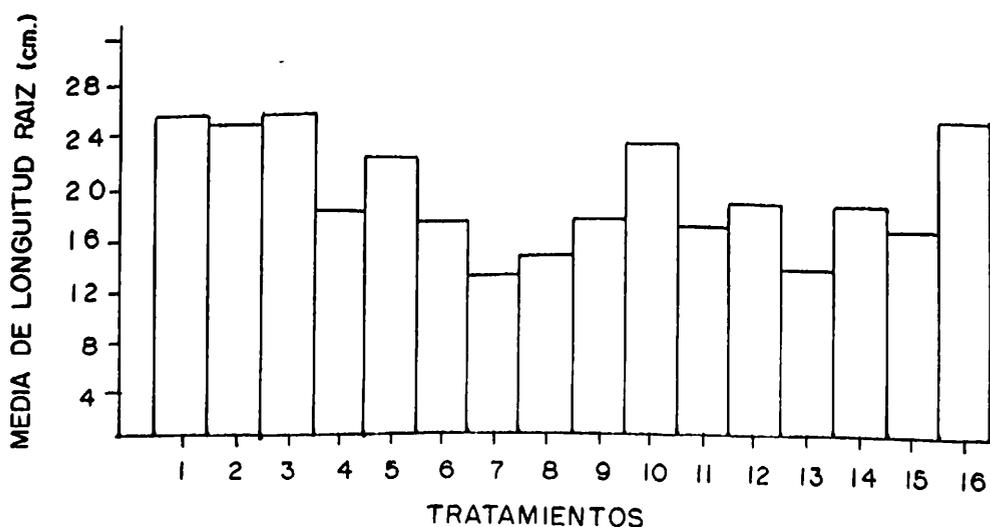


Figura 4.14 Media de la longitud de la raíz (cm), en cada tratamiento a los 25 días en macetas con suelo.

A la vez el peso fresco de la raíz en gramos, presentó diferencias altamente significativas entre las medias de -- los tratamientos (Apéndice B-4); y al usar la prueba de medias de Tukey, se encontró que el tratamiento 16 (Testigo) presentó una media superior a las otras, pero con medias estadísticamente iguales a las demás, excepto para los tratamientos 6, 9, 15, 12, 8 y 7 (Rhizobium más Rhizoctonia más Captan a 100 ppm) en este último se notó la media más baja (Cuadro 4.7 y Figura 4.15).

Mientras que al determinar la distancia entre el nudo cotiledonario y la primera raíz lateral en centímetros, este resultó altamente significativo entre las medias de los tratamientos (Apéndice B-5); y al aplicar la prueba de medias de Tukey, se encontró que el tratamiento 2 (Rhizobium más Captan a 100 ppm) presentó una media superior a las -- demás, pero con medias estadísticamente iguales a varios -- tratamientos a excepción de los tratamientos 14, 12, 11, 7, 4, 13, 8 y 6 (Rhizobium más Rhizoctonia más Fusarium) este último mostró la media más inferior (Cuadro 4.7 y Figura -- 4.16).

El peso seco aéreo al ser analizado se observó que presentó diferencias no significativas (Apendice B-6); y al -- aplicar la prueba de medias de Tukey, se notó que el tratamiento 10 mostró la media más alta seguida por el tratamiento 1 (Rhizobium), sin embargo, estas presentaron medias es-

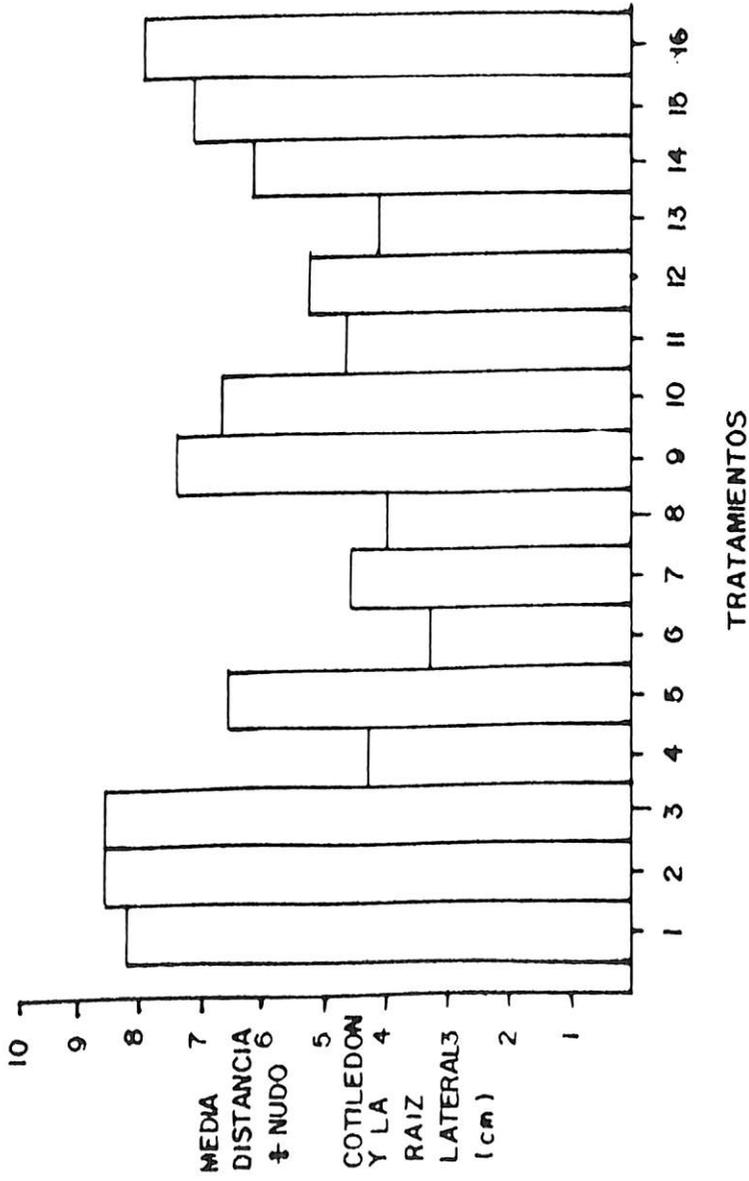


Figura 4.16 Media de la distancia entre el nudo cotiledonario y la primera raíz lateral (cm), a los 25 días en macetas con suelo.

estadísticamente iguales a las demás (Cuadro 4.7 y Figura 4.17).

En cuanto al peso seco de la raíz, al ser determinado se observó diferencias no significativas entre las medias de los tratamientos (Apendice B-7); y al usar la prueba de medias de Tukey, se pudo notar que los tratamientos 12 (Fusarium) y 16 (Testigo) presentaron las medias más altas, pero con medias estadísticamente iguales a las otras (Cuadro 4.7 y Figura 4.18).

Al establecer el conteo del número de nódulos, y ser analizado este presentó diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos (Apendice B-8); y al utilizar la prueba de medias de Tukey, se observó que el tratamiento 1 (Rhizobium), presentó una media superior a las demás, pero con medias estadísticamente iguales a las otras, a excepción de los tratamientos 4, 7, 9, 6 y 8 (Rhizobium más Rhizoctonia más Tiabendazol a 50 ppm) este último presentó la media más inferior (Cuadro 4.7 y Figura 4.19).

Finalmente, al determinar el peso de los nódulos, éste presentó diferencias significativas entre las medias de los tratamientos (Apendice B-9); y al aplicar la prueba de Tukey se notó que el tratamiento 1 (Rhizobium), presentó una media superior a las demás, pero con medias estadísticamente iguales a las restantes excepto para el tratamiento 6 (Rhizobium

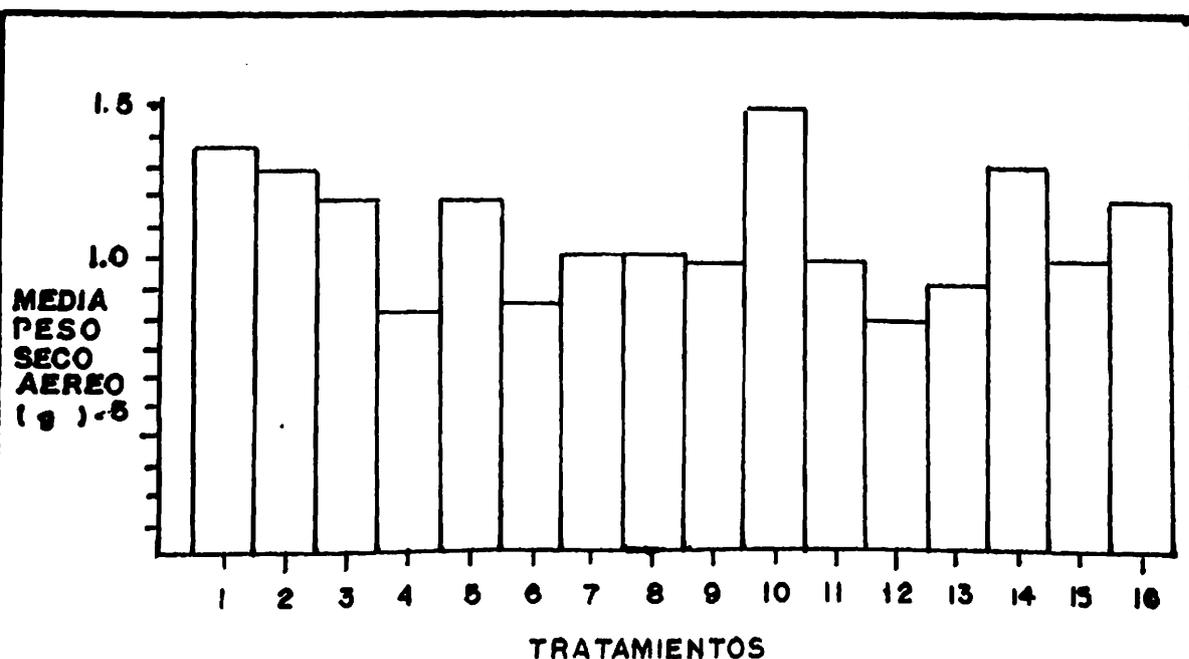


Figura 4.17 Media del peso seco aéreo (g), en cada tratamiento a los 25 días en macetas con suelo.

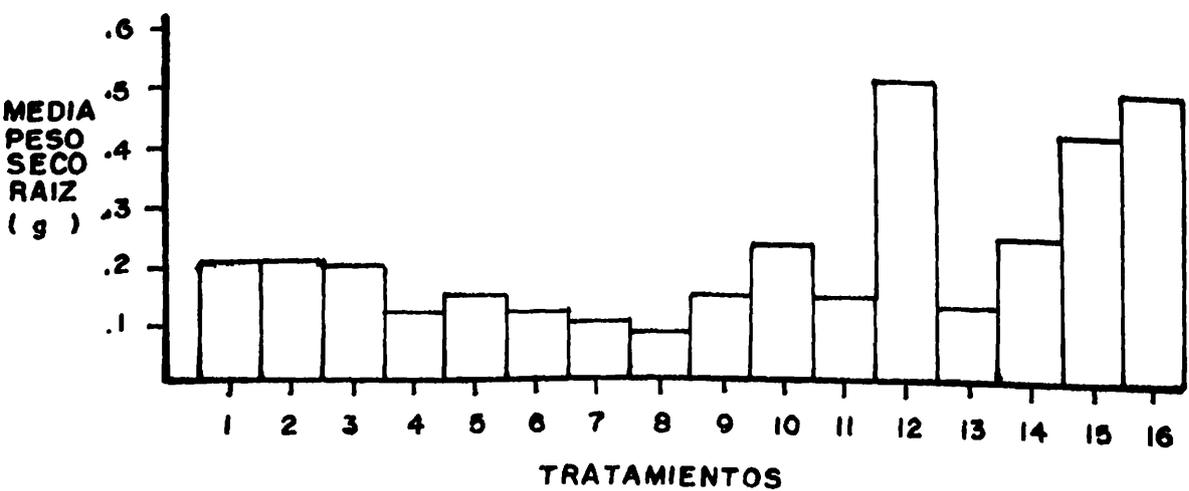


Figura 4.18 Media del peso seco de la raíz (g), en cada tratamiento a los 25 días en macetas con suelo.

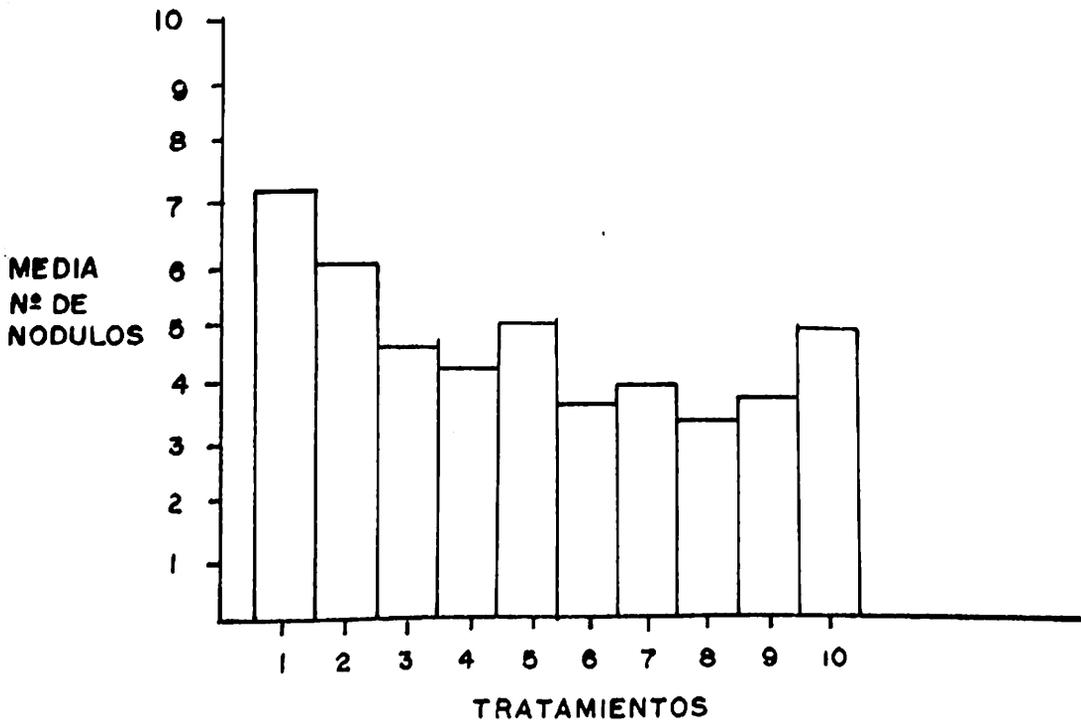


Figura 4.19 Media del número de nódulos, presentado por cada tratamiento a los 25 días en macetas con suelo.

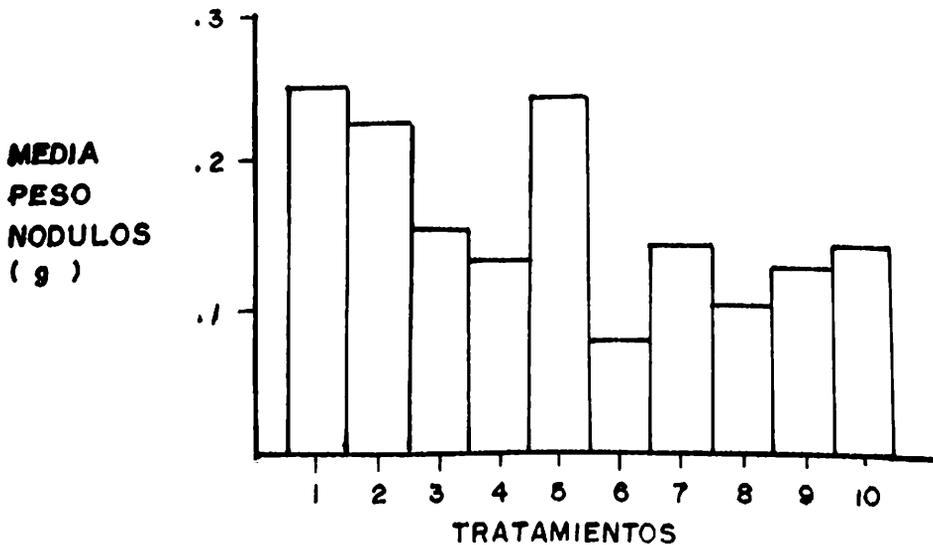


Figura 4.20 Media del peso de los nódulos (g), en cada tratamiento a los 25 días en macetas con suelo.

más Rhizoctonia más Fusarium) éste presentó la media más baja (Cuadro 4.7 y Figura 4.20).

Insidencia de la Enfermedad

En las pruebas en invernadero, utilizando jarras leonard para el crecimiento de las plantas, se pudo detectar que para el caso de Rhizoctonia sp., los tratamientos 4 (Rhizobium más Rhizoctonia) y 7 (Rhizobium más Rhizoctonia más Captan) presentaron un por ciento de hipocótilos infectados más bajo. Mientras que el tratamiento 6 (Rhizobium más Rhizoctonia más Fusarium) y 14 (Rhizoctonia más Fusarium más Captan) denotaron la insidencia más alta. Al determinar el por ciento de raíces infectadas por Fusarium sp., el tratamiento 6 presentó el nivel de insidencia más bajo con un 20 por ciento, mientras que el 9 (Rhizobium más Fusarium más Captan) y el 10 (Rhizobium más Fusarium más Tiabendazol) desarrollaron un 80 por ciento de raíces infectadas siendo este el más alto (Cuadro 4.8).

Por otra parte, al evaluar las plantas creciendo en macetas con suelo de Zacatecas, se pudo establecer que los tratamientos número 4, 6, 11 y 13 (Rhizoctonia más Fusarium) presentaron el por ciento de infección por Rhizoctonia sp., más alto. Sin embargo, el tratamiento 15 (Rhizoctonia más Fusarium más Tiabendazol a 1000 ppm.) denotó un 40 por ciento de infección. Para el caso de Fusarium sp., se estableció que los tratamientos número 5, 10 y 12 desarrollaron un

80 por ciento de infección, mientras que los niveles más bajos se registraron en los tratamientos 14 y 15 (Cuadro 4.8).

Severidad de la Enfermedad

Al establecer la severidad de la enfermedad en plantas creciendo en jarras Leonard a nivel de invernadero. Se corroboró que el tratamiento 13 (Rhizoctonia más Fusarium) y el 11 (Rhizoctonia) presentaron las medias más altas en cuanto a la intensidad de la lesión del hipocótilo, con un 4.77 y 4.74 respectivamente. En contraparte, se observó que el tratamiento 14 (Rhizoctonia más Fusarium más Captan a 100 ppm.) presentó una de las medias de lesión más bajas (Cuadro 4.9 y Figura 4.21).

Mientras que en las plantas creciendo en macetas con suelo de Zacatecas, se detectó que el tratamiento 6 (Rhizobium más Rhizoctonia más Fusarium) presentó una intensidad de lesión media de 5.12. Seguida muy de cerca por el tratamiento 11 (Rhizoctonia) con una media de 5.0. Por otra parte, se comprobó que el tratamiento 15 (Rhizoctonia más Fusarium más Tiabendazol a 1000 ppm.) exhibió la media de lesión más baja con un 2.55 (Cuadro 4.9 y Figura 4.22).

Cuadro 4.8. Resultados de la insidencia de la enfermedad al muestrear hipocótilos y raíces de plantas creciendo en las pruebas de invernadero.

N ^o Trat.	En jarras leonard		En macetas con suelo	
	por ciento hipocotilos con Rhizoctonia	por ciento raíces con Fusarium	por ciento hipocotilos con Rhizoctonia	por ciento raíces con Fusarium
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	70	0	90	0
5	0	60	0	80
6	90	20	90	40
7	70	0	80	0
8	80	0	60	0
9	0	80	0	70
10	0	80	0	80
11	80	0	90	0
12	0	60	0	80
13	80	30	90	30
14	90	40	60	10
15	80	50	40	10
16	0	0	0	0

Cuadro 4.9. Severidad de la enfermedad causada por Rhizoc-
toni sp. en plantas creciendo en invernadero.

Tratamiento	En jarras	En macetas con
Nº	leonard	suelo
	\bar{Y} *	\bar{Y} *
1	1	1
2	1	1
3	1	1
4	4.49	4.8
5	1	1
6	4.3	5.12
7	4.40	4.37
8	3.47	4.37
9	1	1
10	1	1
11	4.74	5.0
12	1	1
13	4.77	4.95
14	3.87	3.52
15	4.62	2.55
16	1	1

* Media de 12 observaciones.

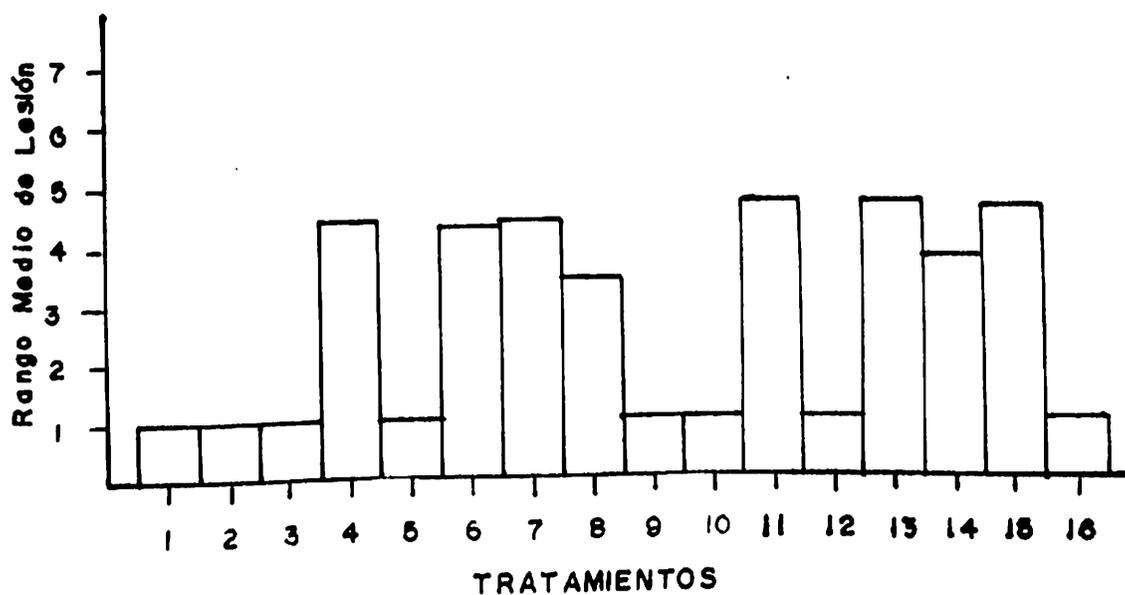


Figura 4.21 Promedio de lesión media causada por Rhizoctonia sp. a nivel de Jarras Leonard.

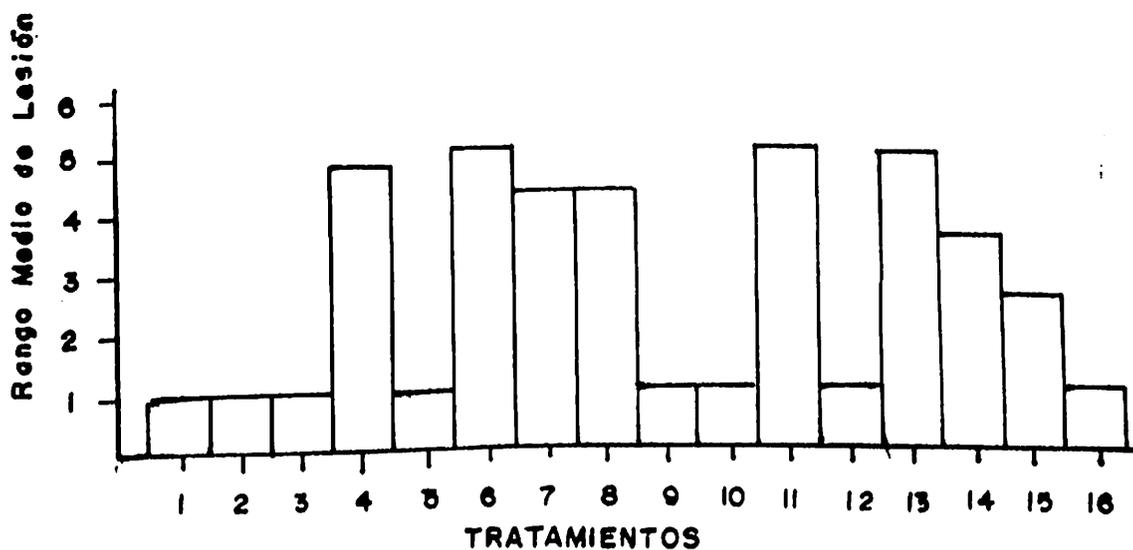


Figura 4.22 Promedio de lesión media causada por Rhizoctonia sp. a nivel de macetas con suelo de Zacatecas.

D I S C U S I O N

Aislamientos

Es importante aclarar que de los sitios muestreados, la mayoría de las plantas colectadas presentaron lesiones radical en menor o mayor grado. Sin embargo, en el muestreo del área que comprende a Calera, Zacatecas se detectó un daño radical mas pronunciado. Debido principalmente a que en estos sitios se siembra año con año el cultivo del frijol sin efectuar una rotación de cultivos adecuada.

De este último sito se aisló a Fusarium sp., y Rhizoctonia sp.. Estos datos son semejantes a los publicados por -- Sánchez (1987) el cual señala que los patógenos responsables de las pudriciones radicales del frijol en el estado de Durango son Rhizoctonia solani (Kuhn), Fusarium oxysporum (Schlecht) f. sp. phaseoli (Kendrick y Snyder), Fusarium solani (Mart.) Appel y Wollenw f. sp. phaseoli (Burk) Snyder y Hansen, Pythium sp. y Sclerotium rolfsii Sacc..

Así mismo, el autor indica que la disminución del rendimiento atribuida al complejo de patógenos fue de 36.4 por ciento, tal reducción se correlaciona directamente con los incrementos en la severidad del daño y dicha disminución del rendimiento

se asocia principalmente con decrementos en el número de vainas por planta.

Por lo que respecta a la bacteria aislada a partir de nódulos, esta corresponde a Rhizobium leguminosarum Bv. phaseoli. Esta bacteria también fué aislada por Padilla (1989) en los estados de Durango, Zacatecas y Aguascalientes. Esto demuestra la amplia localización de cepas nativas en las zonas frijoleras del país.

Mientras que las pruebas de patogenicidad resultaron positivas, registrándose que la variedad bayo Zacatecas fué -- más dañada siguiéndole en orden decreciente flor de mayo, -- ojo de cabra y pinto americano. Al respecto Sánchez (1987) publicó que los tipos de frijol que resultaron más susceptibles al ataque por Rhizoctonia sp. y Fusarium sp. fueron: -- río grande, ojo de cabra, negro brillante y bayos en los que se observaron pérdidas en más del 15 por ciento. Esto nos da una idea de la diversidad en cuanto a la agresividad de las ce--pas con respecto al lugar de origen.

En cuanto a la medición de estructuras en Fusarium sp., al registrarse las mediciones de las macroconidias, microconidias, clamidósporas y número de septos, estas concuerdan -- con las características que Booth (1977); Heinz y Gams (1980) mencionan para F. solani, lo que apoya los resultados de -- que la especie aislada es la misma.

Finalmente, puede sentarse la base de que los patógenos aislados son: F. solani y R. solani, ésto a su vez apoyado - en los reportes de Crispin y Campos (1976) que indican que - estas especies son los principales agentes etiológicos de -- las pudriciones radicales en México.

Pruebas in vitro

Al establecer el efecto de captan sobre el crecimiento de Fusarium sp., éste presentó diferencias altamente signifi- cativas para la interacción concentración por días de incuba- ción. Destacándose que la concentración de 1250 y 1500 ppm - del fungicida, presentaron la tasa de crecimiento más baja - con respecto al testigo. Lo anterior nos señala la pauta pa- ra sugerir que al aplicar captan a 1250 ppm resultará en un control adecuado de Fusarium sp. en el cultivo del frijol.

Mientras que al analizar el efecto de captan sobre Rhizo ctonia sp., el análisis de varianza para el crecimiento y --- días de incubación mostró diferencias altamente significati-- vas. Observándose que las concentraciones de 1000 y 1250 ppm exhibieron una tasa de crecimiento más baja con respecto al - testigo. A la vez se detectó una inhbiación total del creci-- miento del hongo a 1500 ppm. Estos datos nos conducen para - recomendar la dosis de 1000 ppm de captan en el control de -- Rhizoctonia sp. únicamente a nivel in vitro.

En relación al efecto del Tiabendazol, éste mostró una inhibición total del crecimiento en Fusarium sp. y Rhizoctonia sp., aún a la dosis más baja de 5 ppm. Al respecto -- Kannaiyan (1988), menciona que el Tiabendazol a una dosis de 100 ppm es más que suficiente para inhibir el desarrollo de Rhizoctonia solani.

Por lo que respecta al crecimiento de Rhizobium sp. en presencia de captan a 500 ppm se registró una disminución notable en la densidad bacteriana con respecto al testigo -- de las 72 horas de incubación. Lo anterior concuerda con -- los resultados de Banerjee y Banerjee (1987), al utilizar -- captan en grado técnico a una dosis de 200 microgramos.

Mientras que al crecer Rhizobium sp. en presencia de -- Tiabendazol a 50 ppm, éste presentó una densidad bacteriana muy cercana a la del testigo (2.3×10^7); y al considerar -- que este fungicida no es específico para bacterias, lo anterior nos sugiere que el Tiabendazol actúa estimulando o favoreciendo el desarrollo bacteriano y no inhibiéndolo como sería lo ideal al aumentar la dosis.

Los datos anteriores obtenidos en pruebas in vitro, -- son únicamente válidos para las cepas de Fusarium sp., Rhizoctonia sp. y Rhizobium sp. y bajo las condiciones en las cuales se llevaron acabo los experimentos. Sin embargo, va -- rios de los resultados logrados en el laboratorio al ser ex

trapolados a invernadero ó campo, no concuerdan o no dan un buen control al utilizar cierta dosis de fungicida, debido a factores bióticos y abióticos que influyen intensamente en el desarrollo exitoso de la infección.

Estudios en Invernadero

El número de propágulos utilizado en estas pruebas, para Fusarium sp. fué de 5'040'000 por kilogramo de suelo, - - mientras que para Rhizoctonia sp., fué de 120,000 propágulos por kilogramo de suelo. Estos datos son semejantes a los pu blicados por Zambolin et al (1983), los cuales inducen una - reducción significativa del peso de la raíz, peso aéreo y al tura de la planta.

En las pruebas usando jarras leonard, los tratamientos que contienen inóculo de Rhizobium sp., no se desarrollaron nódulos. Esto se debió muy probablemente a que la cantidad de bacterias utilizadas fué muy baja. Esto concuerda con lo establecido por Burton (1975), el cual insistió en el uso de turba como soporte y su aplicación con altos contenidos de - bacterias.

Longitud Aérea

En jarras leonard, ésta mostró diferencias altamente -- significativas entre las medias de los tratamientos. Notán-

dose que el tratamiento 3 (Rhizobium más Tiabendazol a 50 ppm) presenta una media superior a las demás, mientras que el tratamiento 14 presentó la media más baja. De lo anterior se -- puede establecer que en el tratamiento 3, el Tiabendazol no -- fué fitotóxico a esta dosis. A la vez en el tratamiento 14 el captan a 100 ppm no pudo evitar el desarrollo e infección de los dos hongos.

En macetas con suelo de Zacatecas, la longitud aérea demostró diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos. Registrándose que el tratamiento 3 presentó la media de altura más alta y el tratamiento 13 la media más baja. Esto demuestra que en el tratamiento 3 que contiene a Rhizobium sp. + Tiabendazol, la bacteria es favorecida en su desarrollo y formación de nódulos. Esto va de acuerdo a lo establecido por Curley y Burton (1975) en que el efecto biostático puede ser dependiente del rango de aplicación y de la sensibilidad de las cepas. Mientras que en el tratamiento 13 (Rhizoctonia + Fusarium) se presentó una altura de la planta muy baja, lo anterior es similar a lo reportado por Zambo-lin et al (1983), al indicar que la mezcla de los dos hongos reducen significativamente la altura de la planta de frijol -- al ser comparada con el testigo.

Longitud de la Raíz

En jarras Leonard, presentó diferencias altamente signi-

cativas entre las medias de los tratamientos. Estableciéndose se que en el tratamiento 1 (Rhizobium sp) presentó la media más alta y el tratamiento 14 la más baja. Estos datos sugieren que la presencia de la bacteria causó un estímulo positivo en la longitud de la raíz, sin embargo, en el tratamiento 14 se aprecia un efecto aditivo de los dos hongos sin ser inhibidos por captan a 100 ppm.

En macetas con suelo, la longitud de la raíz presentó diferencias significativas entre las medias de los tratamientos. Observándose, que el tratamiento 1 (Rhizobium sp.) presentó la media más elevada y el tratamiento 13 la más baja. Por lo que respecta a la interacción de los dos hongos, Burke y Barker (1966) señalaron que F. solani, causa un daño -- más importante sobre las raíces laterales que sobre el hipocótilo y la raíz principal. Lo anterior concuerda con lo -- propuesto por Datnoff y Sinclair (1988) en que la interacción de los dos hongos en la pudrición radical parece tener un efecto aditivo.

Peso Fresco Aéreo

En jarras leonard, presentó diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos. Percibiéndose se que el tratamiento 9 (Rhizobium + Fusarium + captan a 100 ppm) presentó la media más alta, mientras que el tratamiento 15 (Rhizoctonia + Fusarium + Tiabendazol) y 8 (Rhizobium + --

Rhizoctonia + Tiabendazol) exhibieron las medias más bajas. - Los resultados en el tratamiento 9 nos indican que Fusarium - sp. no influye considerablemente en reducir el peso fresco aéreo de las plantas cosechadas a los 25 días de edad, aunado a la presencia del fungicida. A la vez en el tratamiento 15 y 8 Rhizoctonia sp., si reduce en algo este parámetro, notándose se que la dosis del fungicida no influye en el proceso de infección y desarrollo de la enfermedad.

En macetas con suelo de Zacatecas, el peso fresco aéreo, presentó diferencias no significativas entre las medias de -- los tratamientos.

Peso Fresco de la Raíz

En jarras leonard, presentó diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos. Registrándose se que el tratamiento 3 (Rhizobium + Tiabendazol a 50 ppm) -- presentó la media más alta, en contraste con el tratamiento 8 (Rhizobium + Rhizoctonia + Tiabendazol 50 ppm) que demostró -- la media más inferior. Los datos de éste último tratamiento nos muestra que Rhizoctonia sp. influye grandemente al afec-- tar este parámetro. Mientras que el fungicida no impidió el desarrollo del hongo.

En macetas con suelo, al determinar el peso fresco de la raíz, ésta presentó diferencias altamente significativas en--

tre las medias. Observándose, que el tratamiento 16 (testigo) exhibió la media más alta en contraste con la media más baja en el tratamiento 7 (Rhizobium + Rhizoctonia + Captan a 100 ppm). Lo anterior coincide con las afirmaciones de Chamber y Montes (1982), de que el captana a una dosis de 2 g por kilogramo de semilla aumenta el número de nódulos y peso seco de éstos en raíces laterales con respecto al testigo. No obstante, Rhizoctonia sp. no fué afectada por el fungicida y acaparó la mayoría de los sitios de infección en la planta.

Distancia entre el Nudo Cotiledonario y la Primer Raíz Lateral

En jarras Leonard, ésta presentó diferencias altamente significativas entre las medias. Registrándose que el tratamiento 1 demostró la media más alta, mientras que los tratamientos 6 y 11 (Rhizoctonia) mostraron las medias más bajas. Al respecto, Grau y Martinson (1979), indicaron que R. solani tiene la habilidad para causar la inhibición de la elongación del hipocótilo a 25°C, pero no a 30°C en plantas creciendo en vermiculita o con una mezcla de suelo y vermiculita, esto concuerda con lo expresado inicialmente en esta prueba.

En macetas con suelo de Zacatecas, ésta mostró diferencias altamente significativas entre las medias. Denotando que el tratamiento 2 presentó la media más alta, en contras-

te el tratamiento 6 exhibió la media más baja. Powell (1979) informó que un patógeno primario puede inducir la enfermedad si está o no presente un patógeno secundario, este patógeno - primario infecta primero al hospedero para que sea colonizado por el secundario. Sin embargo, el patógeno secundario puede alterar el desarrollo de la enfermedad y eventualmente dominar el síntoma en el complejo de la enfermedad. Lo anterior es factible de ser considerado al intervenir los 3 - microorganismos.

Peso Seco Aéreo

En jarras Leonard, demostró diferencias significativas - entre las medias de los tratamientos. Notándose que el tratamiento 9 (Rhizobium + Fusarium + Captan a 100 ppm) presentó - la media más alta, y el tratamiento 8 y 15 (Rhizoctonia + Fusarium + Tiabendazol a 50 ppm) expresaron la media más baja. Al respecto Zambolin et al (1983) reportan que los dos hongos reducen significativamente el peso seco aéreo comparado con - el testigo. Lo anterior nos sugiere que Rhizoctonia sp. induce un efecto negativo en el peso seco aéreo, y al unirse con Fusarium sp. el efecto casi fué el mismo, mientras el fungicida no indujo una protección adecuada a la planta.

En macetas con suelo de Zacatecas, éste presentó diferencias no significativas entre las medias. No obstante se pudo establecer que el tratamiento 10 (Rhizobium + Fusarium + Tia-

bendazol a 50 ppm) presentó la media más alta y el tratamiento 12 (Fusarium) la más baja. Estos datos demuestran que -- hubo una ganancia positiva en el peso seco aéreo debido a la presencia de la bacteria la cual fué estimulada por la presencia del Tiabendazol a 50 ppm. Esto es respaldado por el resultado presentado en el tratamiento 1 que contiene únicamente a Rhizobium sp. Por otra parte Pieczarka y Abawi -- (1978) indicaron que F. solani f. sp. phaseoli, induce una reducción en el peso seco aéreo de las plantas con respecto al testigo. Esto coincide con el efecto observado en el tratamiento número 12 que contiene a Fusarium sp.

Peso Seco de la Raíz

En jarras Leonard, éste demostró diferencias altamente significativas entre las medias. Confirmándose que el tratamiento 9 (Rhizobium + Fusarium + Captan) demostró la media mayor, mientras que el tratamiento 8 (Rhizobium + Rhizoctonia + Tiabendazol) la más baja. El primer dato hace pensar que Fusarium sp. es incapaz de causar un efecto negativo en este parámetro, sin olvidar la presencia del fungicida. No obstante, Schroth y Snyder (1961), establecen que las clamidosporas de Fusarium solani f. sp. phaseoli germinan en el suelo cuando las condiciones como la humedad, temperatura, oxígeno y nutrientes son los adecuados. Mientras los datos del tratamiento 8 nos permiten analizar la situación en la cual la dosis del fungicida no afectó el desarrollo del hon-

go, ésto es semejante a lo comentado al determinar el peso fresco de la raíz.

En macetas con suelo, al establecer el peso seco de la raíz, se demostró diferencias no significativas entre las medias. Notándose que los tratamientos 12 (Fusarium) y 16 --- (testigo) tuvieron la media más alta y el tratamiento 8 (Rhizobium + Rhizoctonia + Tiabendazol) la media más baja. Por lo que respecta al tratamiento 16, este dato también fué el más alto al analizar el peso fresco de la raíz. En cuanto a lo observado en el tratamiento 8 la dosis del fungicida no impidió el desarrollo de Rhizoctonia sp. y observando el tratamiento 15 que contiene tiabendazol a 1000 ppm, se aprecia que el hongo no induce un efecto negativo en el peso seco de la raíz.

Número de Nódulos

En macetas con suelo, se detectó diferencias altamente significativas entre las medias. Estableciéndose que el tratamiento 8 (Rhizobium + Rhizoctonia + Tiabendazol a 50 ppm) expresó la media más baja. Sugiriendo que el hongo es capaz de causar un efecto negativo al ocupar la mayoría de los sitios de infección. Mientras que el tratamiento 1 expresó la media más alta como era de esperarse.

Peso de los Nódulos

En macetas con suelo, se demostró diferencias significativas entre las medias. Registrándose que el tratamiento 1 (Rhizobium) presentó la media más alta y el tratamiento 6 -- (Rhizobium + Rhizoctonia + Fusarium) la media menor. Este -- último dato concuerda con lo reportado por Orellana et al -- (1976), al iniciar que R. solani reduce significativamente -- el peso de los nódulos. Lo anterior nos sugiere que existe un efecto sinérgico en detrimento del peso de los -- nódulos.

Incidencia

En cuanto a los datos registrados en jarras Leonard, se puede observar que la incidencia de la enfermedad fué más alta para Rhizoctonia sp. en presencia de Fusarium sp. adicionado con ó sin captan. Al contrario de lo indicado por Danoff y Sinclair (1988) al mencionar que la infección por R. solani fué baja en presencia de F. oxysporum que cuando esta sólo Rhizoctonia solani. En tanto, al analizar el por ciento de raíces infectadas por Fusarium sp., éste fué bajo en presencia de Rhizoctonia sp. como puede notarse en el tratamiento 6. Sin embargo, la incidencia fué alta en presencia de -- captan o tiabendazol.

Mientras que al analizar el por ciento de infección por Rhizoctonia sp., en plantas creciendo en macetas con suelo --

de Zacatecas, se comprobó que fué alto estando en combina-
ción con Rhizobium sp. ó con Fusarium sp. ó estando sólo --
Rhizoctonia sp. Lo anterior, nos indica que no existe una
relación sinergista entre los microorganismos implicados en
el experimento. Al respecto Pieczarka y Abawi (1978) con-
cluyeron que ninguna interacción se observó entre R. solani
y Fusarium solani f. sp. phaseoli. En cuanto a la inciden-
cia por Rhizoctonia sp., ésta presentó el nivel más bajo en
el tratamiento 15 con un 40 por ciento de infección. Esto
nos indica que el tiabendazol a una dosis de 1000 ppm. lle-
va a cabo un control adecuado de la infección. Estos datos
concuerdan con los publicados por Kannaiyan (1988) al men-
cionar que el tiabendazol a una dosis de 100 ppm. da un - -
buen control sobre R. solani.

Al analizar el por ciento de infección por Fusarium sp
se puede notar que éste fué alto (80 por ciento) estando en
presencia de Rhizobium sp ó tiabendazol a 50 ppm ó Fusarium
sp. sólo. En contraste, este fué bajo (10 por ciento) en
el tratamiento 14 y 15 que contienen a Rhizoctonia sp más -
captan a 1250 ppm ó tiabendazol a 1000 ppm. Al respecto -
Mussa (1986), concluyó que el tiabendazol fué el fungicida
más efectivo en forma individual, en controlar y reducir la
incidencia de la enfermedad causada por Fusarium solani f.
sp. phaseoli en el cultivo del frijol.

Severidad

La intensidad de la lesión del hipocótilo registrada en plantas creciendo en jarras leonard, nos indica que al estar presentes los dos hongos Rhizoctonia sp. y Fusarium sp. estos inducen un mayor grado de intensidad de lesión; seguido muy de cerca por Rhizoctonia sp. individualmente. Al respecto Pieczarka y Abawi (1978) informaron que aunque la severidad de la enfermedad no difiere significativamente entre la mezcla de los hongos y R. solani sólo, pero ambos si difieren de F. solani f. sp. phaseoli en forma individual. Al observar el efecto de captan a 100 ppm en el tratamiento 14, nos sugiere que aunque éste presentó la media de lesión más baja no lleva acabo un efecto protector adecuado.

En las plantas creciendo en macetas con suelo, se aprecia que al estar en forma conjunta Rhizobium sp. más Rhizoctonia sp. y Fusarium sp, se detectó una mayor intensidad de lesión, superando ligeramente a Rhizoctonia sp. en forma individual. Estos resultados nos indican que es posible de que exista un efecto aditivo en la interacción de los dos hongos en la pudrición radical. Datos semejantes fueron publicados por Datnoff y Sinclair (1988) indicando que los rangos de severidad de la enfermedad para las plantas en parcelas infestadas con la mezcla de F. oxysporum y R. solani, fueron más altos que al estar ambos patógenos individualmente a los 36 días después de la siembra. Finalmente, la aplicación de

tiabendazol a 1000 ppm reduce la severidad de la lesión hasta un nivel muy bajo, lo que nos sugiere que este fungicida aplicado en el momento adecuado nos brinda protección en las plantas de frijol.

CONCLUSIONES

Los organismos aislados de las plantas de frijol con pudrición radical en las áreas muestreadas fueron: Fusarium sp. y Rhizoctonia sp. En cuanto a la bacteria formadora de nódulos esta fué Rhizobium leguminosarum.

Las pruebas in vitro indican que para el control de Fusarium sp. se requiere una dosis de 1250 ppm de captan; mientras que éste mismo fungicida a una dosis de 1000 ppm inhibe a Rhizoctonia sp. En cuanto al Tiabendazol a una concentración de 5 ppm es suficiente para inhibir a los dos hongos. -- Para el caso de Rhizobium sp., éste fué inhibido por captan a 500 ppm, sin embargo estimuló su crecimiento en presencia de Tiabendazol a 50 ppm.

En la prueba con jarras Leonard, la cepa de Rhizoctonia sp. estando sólo o en combinación con el Tiabendazol a 50 ppm redujo significativamente algunas de las mediciones evaluadas excepto la longitud aérea, longitud de la raíz y peso seco -- aéreo.

En la prueba en macetas con suelo de Zacatecas, estando los tres microorganismos, redujeron significativamente la dis

tancia entre el nudo cotiledonio y la primer raíz lateral y el peso de los nódulos.

El Tiabendazol a 1000 ppm brindó una protección adecuada contra Rhizoctonia sp. y Fusarium sp. en varias de las mediciones efectuadas a nivel de invernadero.

Existe compatibilidad al aplicar inóculo de esta cepa - de Rhizobium sp. más Tiabendazol a 50 ppm o captan a 100 ppm en semillas de frijol bayo zacatecas.

La incidencia de la enfermedad en jarras leonard, revela la existencia de una relación sinergista entre los patógenos implicados. Mientras lo contrario se mostró en las pruebas en macetas con suelo.

La severidad de la lesión del hipocótilo en jarras leonard y en macetas con suelo, fué mayor al estar en forma conjunta los dos hongos.

R E S U M E N

Los aislamientos efectuados de las raíces e hipocótilos afectados y con base en las características morfológicas y patogénicas, son los organismos responsables de la pudrición radical en las áreas muestreadas en el Estado de Zacatecas y que corresponden a Fusarium sp. y Rhizoctonia sp. Mientras que la bacteria aislada a partir de nódulos corresponde a -- Rhizobium leguminosarum, de acuerdo a sus características -- cualitativas.

En las pruebas in vitro, captan a una dosis de 1250 y 1500 ppm llevan a cabo un control adecuado de Fusarium sp. Este mismo fungicida a 1000 y 1250 ppm da resultados positivos al disminuir notablemente la tasa de crecimiento de Rhizoctonia sp., mientras que el tiabendazol inhibió totalmente el desarrollo de los dos hongos a una dosis de 5 ppm. Por otra parte, el crecimiento de Rhizobium sp. se vió disminuido notablemente al estar en presencia de captan a 500 ppm. Sin embargo, al crecer la bacteria en presencia de tiabendazol a 50 ppm, se detectó una estimulación en el desarrollo bacteriano.

En la prueba utilizando jarras leonard, la cepa de Rhizoctonia sp. estando sólo ó en combinación con el tiabenda--

zol a 50 ppm, redujo significativamente el peso fresco aéreo peso fresco de la raíz, la distancia entre el nudo cotiledonario y la primera raíz lateral y el peso seco de la raíz. Mientras que al estar en combinación Rhizoctonia sp. con Fusarium sp. redujeron significativamente la longitud aérea, longitud de la raíz y peso seco aéreo, estando en presencia de captan ó tiabendazol.

En las pruebas en macetas con suelo de Zacatecas, la cepa de Rhizoctonia sp. en presencia de Rhizobium sp. más captan a 100 ppm ó tiabendazol a 50 ppm, redujeron significativamente el peso fresco de la raíz, el peso seco de la raíz y el número de nódulos. Por otra parte al estar en forma conjunta los tres microorganismos, se redujo significativamente la distancia entre el nudo cotiledonario y la primera raíz lateral y el peso de los nódulos. Al estar Rhizoctonia sp. más Fusarium sp. se redujo significativamente la longitud aérea de las plantas. En otro aspecto, Rhizobium sp. estando en forma individual ó con tiabendazol a 50 ppm ó captan a 100 ppm aumentan significativamente la longitud aérea, el peso fresco de la raíz, la distancia entre el nudo cotiledonario y la primera raíz lateral, número de nódulos y peso de nódulos en las plantas de frijol de la variedad bayo Zacatecas, a los 25 días de edad.

Por lo que toca a los fungicidas utilizados, el tiabendazol a 1000 ppm brindó una protección adecuada contra Rhi-

zoctonia sp. y Fusarium sp. en varias de las determinaciones.

En cuanto a la incidencia de a enfermedad, en jarras -- leonard, se estableció que fué más alta para Rhizoctonia sp. en presencia de Fusarium sp., adicionado con ó sin captan a -- 100 ppm. En tanto, el por ciento de raíces infectadas por -- Fusarium sp. fué baja en presencia de Rhizoctonia sp. Al es- tablecer la incidencia en plantas creciendo en macetas con -- suelo de Zacatecas, se comprobó que no existe una relación -- sinergista entre los microorganismos implicados en el experi- mento. Finalmente, se corroboró que el tiabendazol a una -- dosis de 1000 ppm. reduce el por ciento de infección por -- Rhizoctonia sp. y Fusarium sp.

La severidad o intensidad de la lesión del hipocótilo en jarras leonard y en macetas con suelo, fué mayor al estar en combinación los dos hongos.

LITERATURA CITADA

- Alexopoulos, J.C., and C.W. Mims. 1979. *Introductory Mycology*. John Wiley and Sons. Third Edition. United States of America. 632 p.
- Andrew, C.S. 1977. Nutrition restrain on legume-symbiosis, - CSIRD. División of Tropical crops and Pasture. - - Canberra. Australia. 80 p.
- Banerjee, A., and A.K. Banerjee. 1987. Influence of captan - on some microorganisms and microbial processes related to the nitrogen cycle. *Plant and Soil*. 102: - 239-245.
- Barnett, H.L., and B.B. Huter. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Company. - - - United States of America. 237 p.
- Barrera, J. 1977. Influencia de la densidad de siembra sobre el rendimiento, pudriciones radicales y componentes de rendimiento en variedades de frijol. Tesis Profesional, Escuela Nacional de Agricultura, Chapingo, México.
- Bergersen, F.J. 1971. Biochemistry of simbiotic nitrogen - - fixation in legumes. Division of Plant Industry, - CSIRO Canberra, Australia. 20 p.

- Bolkan, A.H. 1980. Las Pudriciones Radicales. En Schwartz, F.H. y G.E. Gálvez (Ed.). Problemas de Pudrición del Frijol. Centro Internacional de Agricultura - Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 310 p.
- Bollen, W.B. 1961. Interactions between pesticides and soil microorganisms. Annu. Rev. Microbiol. 15: 69-92.
- Booth, C. 1977. The genus Fusarium. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 58 p.
- Brill, J.W. 1977. Biological Nitrogen Fixation. Scientific American. 8:68-81
- Burke, D.W. 1965. The near immobility of Fusarium solani f. phaseoli in natural soils. Phytopathology. 55:1188-1190.
- Burke, D.W., and A.W. Barker. 1966. Importance of lateral roots in Fusarium root rot of beans. Phytopathology. 56:292-294.
- Burke, D.W., L.D. Holmes and A.W. Barker. 1972 b. Distribution of Fusarium solani f. sp. phaseoli and bean roots in relation to tillage and soil compaction. Phytopathology. 62:550-554.
- Burke, D.W., D.E. Miller, L.D. Holmes, and A.W. Barker. 1972 a. Counteracting bean root rot by loosening the soil. Phytopathology. 62:250-253.
- Burkholder, W.H. 1919. The dry root-rot of the bean. Cornell Univ. Agric. Exp. Stn. Mem. 26:1003-1033.

- Burton, J.C. 1975. Methods of inoculating seeds and their effect on the survival of rhizobia. In: Nutman, P.S. Symbiotic nitrogen fixation in plants. International Biological Programme 7. Cambridge University Press. London pp. 175-189.
- Byther, R. 1965. Ecology of plant pathogens in soil. V. In organic nitrogen utilization as a factor of competitive saprophytic ability of Fusarium roseum and F. solani. Phytopathology. 55:853-858.
- Campos, A.J. 1987. Enfermedades del frijol. Trillas. México. 132 p.
- Chamber, M.A., and F.J. Montes. 1982. Effects on some seeds disinfectants and methods of rhizobial inoculation on soybeans (Glycine max L. Merrill). Plant and Soil. 66:353-360.
- Christou, T. 1962. Penetration and host-parasite relationships of Rhizoctonia solani in the bean plant. -- Phytopathology. 52: 381-389.
- Cook, R.J., and M.N. Schroth. 1965. Carbon and nitrogen -- compounds and germination of chlamydospores of --- Fusarium solani f. phaseoli. Phytopathology. 55: 254-256.
- Crispin, A., and J. Campos. 1976. Bean diseases of importance in México in 1975. Plant Dis. Repr. 60:634-635.

- Curley, R.L., and J.C. Burton. 1975. Compatibility of Rhizobium japonicum with chemical seed protectants. *Agronomy Journal*. 67:807-808.
- Datnoff, L.E., and J.B. Sinclair. 1988. The interaction of Fusarium oxysporum and Rhizoctonia solani in causing root rot of soybeans. *Phytopathology* 78: 771-777.
- Diatloff, A. 1986. Compatibility of systemic and non-systemic fungicides with Rhizobium japonicum applied to soybean seed. *Soil Biol. Biochem.* 18 (1):121-122.
- Djordjevic,, A.M., D.W. Gabriel and B.G. Rolfe. 1987. Rhizobium the refined parasite of legumes. *Ann. Rev. - Phytopathol.* 25:145-168.
- Egeraat, A.W.SM. 1975. The growth of Rhizobium leguminosarum on the root surface and in the rhizosphere.
- Etten, H.D., D.P. Maxwell and D.F. Bateman. 1967. Lesion maturation fungal development and distribution of -- endopolygalacturonase and cellulase in Rhizoctonia infected bean hypocotyl tissues. *Phytopathology.* - 57: 121-126.
- French, E.R., and B.W. Kennedy. 1963. The role of Fusarium in the root rot complex of soybean in Minnesota. - *Plant Dis. Rep.* 47: 672-676.
- Gerra, D., and J.A. Anderson. 1985. The effect of iron and Boron amendments on infection of bean by Fusarium solani. *Phytopathology.* 75: 989-991.

- Graham, P.H., G. Ocampo, L.D. Ruiz, and A. Duque. 1980. Survival of Rhizobium phaseoli in contact with chemical seed protectants. *Agronomy Journal*. 72 (6): - 625-627.
- Grau, C.R., and C.A. Martinson. 1979. Inhibition of soybean hypocotyl elongation by Rhizoctonia solani. *Phytopathology*. 69: 706-709.
- Heinz, D.K., and W. Gams. 1980. *Compendium of soil fungi*. - Academic Press. New York. 360 p.
- Hutton, D.G., R.E. Wilkinson, and W.F. Mai. 1973. Effect of two plant-parasitic nematodes on Fusarium dry root rot of beans. *Phytopathology*. 63: 749-751.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. - (IMEGI). 1988. *El Sector Alimentario en México*. México. 392 p.
- Jones, R., and J. Giddens. 1984. Introduction of effective N_2 -fixing Rhizobial strains into the soybean plant by use of fungicide resistance. *Agronomy Journal*. 76: 599-602.
- Kannaiyan, S. 1988. Effect of certain fungicides on the production of enzymes by Rhizoctonia solani. *Plant and soil* 108: 299-302.
- Kenning, L.A., and P. Hanchey. 1980. Ultrastructure of lesion formation in Rhizoctonia-infected bean hypocotyls. *Phytopathology*. 70: 998-1004.

- Kornelius, E., and J.G. Stammel. 1973. Respostas do duas -- leguminosas tropicais a foa foro e calcario em um solo acido do Rio Grande do Soul. Agron. Sulrio-grandense, Porto Alegre, 9 (2): 177-190.
- Krieg, R.N., and G.J. Holt. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 1. Williams & Wilkins, Baltimore. United States of America. 964 p.
- Lai, M., A.R. Weinhold and J.G. Hancock. 1968. Permeability changes in Phaseolus aureus associated with infection by Rhizoctonia solani. Phytopathology. 58: 240-245.
- Lennox, B.L., and M. Alexander. 1981. Fungicide enhancement of nitrogen fixation and colonization of Phaseolus vulgaris by Rhizobium phaseoli. Applied and Environmental, Microbiology. 41 (2) 404-411.
- Lewis, J.A., and G.C. Papavizas. 1977. "Effect of plant residues on chlamidospore germination of Fusarium solani f. sp. phaseoli and Fusarium root rot of -- beans". Phytopathology. 67: 925-929.
- Maloy, O.C. 1959. Microbial associations in the Fusarium -- root rot of beans. Plant Dis. Rep. 43: 929-933.
- Mallik, M.A.B., and K. Tesfai. 1985. Pesticidal effect on -- soybean-rhizobia symbiosis. Plant and Soil. 85: 33-41.
- Mussa, A.E.A. 1986. The control of Fusarium solani f. sp. --

phaseoli by fungicide mixtures. Journal of Phytopathology. 117 (2): 173-180.

- Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis - and intraspecific groups of Rhizoctonia solani -- Kühn. Ann. Rev. Phytopathol. 25: 125-143.
- Olivas, E.E. 1972. Estudio sobre control biológico de Fusarium solani f. phaseoli. Agrociencia. 9:83-90.
- Orellana, R.G., C. Sloger and V.L. Miller. 1976. Rhizoctonia - Rhizobium interactions in relation to yield parameters of soybean. Phytopathology. 66:464-467
- Padilla, J.S. 1989. Evaluación de cepas de Rhizobium leguminosarum Bv. phaseoli sobre la nodulación y rendimiento del frijol. En INIFAP, Segunda Reunión - Científica. Aguascalientes. México. pp 1-95.
- Papavizas, G.C., and J.A. Lewis. 1975. Effect of seed treatment with fungicides on bean root rots. Plant Disease Reporter. 59: 24-28.
- Parameter, J.R.Jr., R.T. Sherwood, and W.D. Platt. 1969. -- Anastomosis grouping among isolates of Thanatephorus cucumeris. Phytopathology. 59 (10): 1270-1278.
- Pérez, T.H., and Chan, C.J.L. 1988. Fijación biológica de nitrógeno en frijol. INIFAP-Zacatecas, México. pp. 1-48
- Pieczarka, D.J., and G.S. Abawi. 1978. Effect of interaction between Fusarium, Pythium and Rhizoctonia on seve-

- rity of bean root rot. *Phytopathology*. 68:403-408
- Pierre, R.E., and R.E. Wilkinson. 1970. Histopathological - relationship of Fusarium and Thielaviopsis with -- beans. *Phytopathology*. 60: 821-824.
- Postgate, J. 1979. Nitrogen Fixation. Edward Arnold. Lon-- don. 67 p.
- Powell, N.T. 1979. Internal Synergism among organisms indu- cing disease. in: Plant Disease: An Advanced Trea- tise. Vol. IV. J.G. Horsfall and E.B. Cowling, Aca- demic Press, New York, N.Y. 113-133 p.
- Rennie, R.J., and S. Dubetz. 1984. Effect of fungicides and herbicides on nodulation and N₂ fixation in soybe- an fields lacking indigenous Rhizobium japonicum. *Agronomy Journal*. 76: 451-454.
- Romero, C.S. 1988. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autóno- ma de Chapingo, México. 347 p.
- Sánchez, A.J.H. 1987. Etiología y daños de las pudriciones radicales del frijol, en el estado de Durango. En: Difusión de la Investigación Científica-agronómica de la U.A.CH. Vol. XII, Núm. 58-59. pp 43-49.
- Schroth, M.N., and W.C. Snyder. 1961. Effect of host exuda- tes on chlamyospore germination of the bean root rot fungus Fusarium solani f. phaseoli. *Phytopa-- thology*. 51: 389-393.
- Schroth, M.N., and F.F. Hendrix, Jr. 1962. Influence of non

susceptible plants on the survival of Fusarium solani f. phaseoli in soil. *Phytopathology*. 52: 906-909.

Shaw, E.J. 1972. *Western Fertilizer Handbook*. Soil Improvement Committee California Fertilizer Association. United States of America. 214 p.

Starr, P.M., 1981. *The Prokaryotes, a Handbook on Habitats, Isolation, and Identification of Bacteria*. Volume 1. Springer-Verlag. United States of America. - - 1102 p.

Streets, R.B. 1978. *The Diagnosis of Plant Diseases*. The University of Arizona Press. United States of America. 237 p.

Sylvestre, G.S., and J.C. Fournier. 1979. Effects of pesticides on the soil microflora. *Advances in Agronomy*. 31: 44-53.

Toussoun, T.A., and P.E. Nelson. 1968. A pictorial guide to the identification of Fusarium species according to the taxonomic system of Snyder and Hansen. The Pennsylvania States University Press. United States of America. 51 p.

Toussoun, T.A., and R.V. Bega. 1970. *Root Diseases and Soil Borne Pathogens*. University of California Press. - 120 p.

Treviño, R.J.G. 1987. Etiología y epidemiología de la pudri

- ción radical de frijol (Phaseolus vulgaris L.) en el área de influencia de la Universidad Autónoma - Agraria Antonio Narro. Tesis M.C. UAAAN. Saltillo, Coah. México.
- Tu, J.C., and S.C. Tan. 1988. Soil compaction effect on photosynthesis, root rot severity and growth of white beans. Canadian Journal of Soil Science. 68: 455-459
- Vincent, J.M. 1975. Manual Práctico de Rhizobiología. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. 200 p.
- Vincent, J.M. 1977. Rhizobium: General Microbiology. In: A treatise on dinitrogen fixation, Section I.I.I. -- Biology. R.W.F. Hardy and W.S. Silver, John Wiley and sons. p. 328-338.
- Vincent. J.M. 1981. Exploiting the legume-Rhizobium Symbiosis in tropical agriculture. College of Tropical Agriculture Miscellaneous Publication. University - of Hawaii. p. 145.
- Zambolim, L., N.C. Schenck and D.J. Mitchell. 1983. Inoculum density, pathogenicity and interactions of soybean root-infecting fungi. Phytopathology. 73: 1398- - 1402.

A P E N D I C E

APENDICE A-1

Análisis de Varianza del efecto de captan sobre el crecimiento de Fusarium sp. en el laboratorio.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c	F	
					.05	.01
C	4	250.629	62.65	949.2 **	2.58	3.75
D.I.	2	57.577	28.78	436.06**	3.19	5.10
C. X D.I.	8	16.673	2.08	31.5 **	2.16	2.94
E.E.	45	2.991	0.066			
Total	59	327.87				

C. V. = 9.24

* C = Concentración, D.I. = Días de incubación,

C. X D.I. = Concentración por días de incubación.

APENDICE A-2

Análisis de Varianza del efecto de captan sobre el crecimiento de Rhizoctonia sp. en el laboratorio.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c	F	
					.05	.01
C	3	368.75	122.41	819.4 **	2.88	4.41
D.I.	2	16.96	8.48	56.53**	3.27	5.28
C. X D.I.	6	1.0175	0.1695	1.13N.S	2.38	3.38
E.E.	36	5.432	0.150			
Total	47	392.18				

C. V. = 13.18

APENDICE A-3

Análisis de Varianza de la Longitud Aérea de Plantas - -
Creciendo en Jarras Leonard.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c	F	
					.05	.01
Trat.	15	263.5044	17.57	2.51 **	1.88	2.48
Error	48	336.2450	7.01			
Total	63	599.7494				

** Altamente significativo.

APENDICE A-4

Análisis de Varianza de la Longitud de la Raíz de Plan--
tas Creciendo en Jarras Leonard.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c	F
Trat.	15	182.17	12.14	2.76 **	
Error	48	211.10	4.40		
Total	63	393.27			

** Altamente significativo.

APENDICE A-5

Análisis de Varianza del Peso Fresco Aéreo de Plantas --
Creciendo en Jarras Leonard.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c	
Trat.	15	40.6173	2.71	2.79 **	
Error	48	46.5475	0.97		
Total	63	87.1648			

** Altamente significativo.

APENDICE A-6

Análisis de Varianza del Peso Fresco de la Raíz, de Plantas Creciendo en Jarras Leonard.

F.v.	g.1.	s c	c m	F c
Trat.	15	82.3894	5.49	4.23 **
Error	48	62.3850	1.30	
Total	63	144.774		

** Altamente significativo.

APENDICE A-7

Análisis de Varianza de la Distancia entre el Nudo Cotiledonario y la primera Raíz Lateral, de Plantas Creciendo en Jarras Leonard.

F.v.	g.1.	s c	c m	F c
Trat.	15	111.0011	7.40	6.31 **
Error	48	56.2975	1.17	
Total	63	167.2986		

** Altamente significativo.

APENDICE A-8

Análisis de Varianza del Peso Seco Aéreo, de Plantas Creciendo en Jarras Leonard.

F.v.	g.1.	s c	c m	F c
Trat.	15	1.4694	0.10	2.31 *
Error	48	2.0350	0.04	
Total	63	3.5044		

* Significativo.

APENDICE A-9

Análisis de Varianza del Peso Seco de la Raíz, de Plan--
tas Creciendo en Jarras Leonard.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c
Trat.	15	1.2300	0.08	4.86 **
Error	48	0.8100	0.02	
Total	63	2.0400		

** Altamente significativo

APENDICE B-1

Análisis de Varianza de la Longitud Aérea, de Plantas --
Creciendo en Macetas con Suelo.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c
Trat.	15	591.3150	39.42	3.33 **
Error	48	568.4450	11.84	
Total	63	1159.7600		

** Altamente significativo.

APENDICE B-2

Análisis de Varianza de la Longitud de la Raíz, de Plan--
tas Creciendo en Macetas con Suelo.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c
Trat.	15	1180.9186	78.73	2.47 *
Error	48	1529.6225	31.87	
Total	63	2710.5411		

* Significativo.

APENDICE B-3

Análisis de Varianza del Peso Fresco Aéreo, de Plantas Creciendo en Macetas con Suelo.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c
Trat.	15	64.8198	4.32	0.97 N.S.
Error	48	213.8118	4.45	
Total	63	278.6317		

N.S. No significativo.

APENDICE B-4

Análisis de Varianza del Peso Fresco de la Raíz, de --- Plantas Creciendo en Macetas con Suelo.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c
Trat.	15	19.7199	1.31	4.17 **
Error	48	15.1412	0.32	
Total	63	34.8611		

** Altamente significativo.

APENDICE B-5

Análisis de Varianza de la Distancia entre el Nudo Cotiledonario y la Primera Raíz Lateral, de Plantas Creciendo en Macetas con Suelo.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c
Trat.	15	189.8094	12.65	15.05 **
Error	48	40.3700	0.84	
Total	63	230.1794		

** Altamente significativo.

APENDICE B-6

Análisis de Varianza del Peso Seco Aéreo, de Plantas Creciendo en Macetas con Suelo.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c
Trat.	15	2.6020	0.17	1.02 N.S.
Error	48	8.1769	0.17	
Total	63	10.7789		

N.S. No significativo.

APENDICE B-7

Análisis de Varianza del Peso Seco de la Raíz, de Plantas Creciendo en Macetas con Suelo.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c
Trat.	15	1.0334	0.07	0.81 N.S.
Error	48	4.0601	0.08	
Total	63	5.0935		

N.S. No significativo.

APENDICE B-8

Análisis de Varianza del Número de Nódulos, de Plantas Creciendo en Macetas con Suelo.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c
Trat.	9	52.8048	5.87	4.28 **
Error	30	41.1578	1.37	
Total	39	93.9626		

** Altamente significativo.

APENDICE B-9

Análisis de Varianza del Peso de los Nódulos, de Plantas
Creciendo en Macetas con Suelo.

F.v.	g.l.	s c	c m	F c
Trat.	9	0.1144	0.01	2.91 **
Error	30	0.1308	0.00	
Total	39	0.2452		

** Altamente significativo.