

## INTRODUCCIÓN

En nuestro país el cultivo de sandía cuya producción es en ciclo primavera verano para el centro del país en el ciclo otoño invierno se lleva a cabo en las costas. En la época otoño invierno es muy importante por la producción en general porque se exporta a Estados Unidos y Canadá.

Para México en los años de 1991 a 1996 se reporta una superficie de 44,000 a 50,000 has, con un promedio de 9 a 29.8 ton./ha (Infocifos 1998)

En México los estados productores de sandía para consumo nacional son Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Veracruz, Coahuila, Durango, y para exportación son Baja California Norte, Baja California Sur, Sonora, Jalisco, Tamaulipas, Nayarit.

Para siembra del cultivo de sandía la semilla en un 90 % es de importación, la cual viene de diferentes compañías, en 1994 México compró al exterior 569,502 libras de dato otorgado por (DGSV 1995) teniendo un costo de 150 dólares / libra.

Las pérdidas que se tienen en el cultivo de sandía por enfermedades van de un 17 a un 25% siendo el problema por Hongos, Bacterias, Virus, Micoplasmas y Nematodos. Se dice que estos microorganismos pueden encontrarse en la región o venir vía semilla.

En México la situación geográfica cuenta con zonas de producción para este cultivo de sandía con un clima cálido húmedo, siendo así lo ideal para que los hongos y bacterias se desarrollen sin ningún problema provocando pérdidas de importancia económica.

Gabrielson (1988) menciona la importancia que tienen las condiciones climáticas de las zonas de producción a donde va dirigida la semilla para establecer las tolerancias de

los patógenos en semilla, o bien las cuarentenas. De aquí la necesidad de hacer prueba de sanidad en semilla.

Actualmente el agricultor está optando por la producción de plantas en charolas en invernadero para aprovechar la semilla pero a la vez se tiene un problema con bacterias ya que con una tolerancia de inóculo baja puede infectar un gran número de plantas y hasta charolas completas y el productor hace aplicaciones de productos químicos y no desecharlas, sabiendo que no erradica solo controla y al transplantar se lleva una gran cantidad del inóculo de ahí el interés de hacer pruebas en sanidad de semilla.

Por lo ya mencionado se decidió emplear métodos para detectar patógenos y dar a conocer la sanidad de la semilla.

### **Objetivos del trabajo.**

Detectar la incidencia en hongos portados en semilla de sandía.

## LITERATURA REVISADA

### **Generalidades de la patología de semillas**

Romero(1993) menciona que la economía mundial, sufre anualmente, significativo menoscabo debido a las enfermedades causadas por agentes de diversa índole, entre los cuales figuran, preponderadamente, los hongos, bacterias, los virus, y los nematodos, aun en países de grandes recursos, científicos y técnicos, se doblan las pérdidas que, en forma global, efectúan entre el 7 y el 10% de la cosecha total.

González(1981) nos dice que la diseminación es el transporte del inóculo de un órgano a otro en una misma planta, de una planta a otra dentro de un mismo plantío de un plantío a otro dentro de una misma región o de una región geográfica a otra; es decir, puede ser local, regional, interregional y aún intercontinental, la diseminación puede ser gradual e intermitente o rápida y continua; Su efectividad será mayor en la medida en que logre transportar el inóculo viable, en cantidades adecuadas, a hospederos susceptibles, en el momento en que las condiciones ambientales favorezcan la penetración. Los agentes que más corrientemente llevan a cabo la diseminación de los patógenos son en orden aproximado de importancia, las corrientes de aire, lluvia, transporte de suelo, los insectos, la manipulación de plantas y el transporte de material de siembra.

González(1981) señala que el transporte de inóculo en el material de siembra puede ser de importancia determinante, de diseminación a largas distancias. Se da tanto en semillas como en material vegetativo, la contaminación por patógenos, por lo general, no alcanza un porcentaje muy elevado en la semilla verdadera, aunque esto varía mucho según el cultivo y la enfermedad; pero aún un porcentaje muy bajo de semilla infectada puede significar una fuente de inóculo primario suficiente para servir de base para una epifitias severa. Ya que los

propágulos del patógeno van directamente asociados con el hospedante susceptible y se favorecen con las mismas condiciones que favorecen la viabilidad de la semilla.

De la Garza(1996) menciona que SAGAR informo que las pérdidas debidas a plagas y enfermedades en la agricultura ascendieron a 32500 millones de pesos, equivalente al 25% de la producción agrícola nacional, de las cuales al menos el 10% corresponden a enfermedades.

Warham,J.E;Butter,L.D., and Stton,B.C.menciona que los organismos transmitidos por la semilla son propagados por la semilla o transportados con ésta y sobreviven como esporas o estructuras en reposo dentro de la semilla y sobre ella. Los hongos transmitidos por la semilla a menudo producen plantas infectadas, mientras que los que son transportados por la semilla se consideran relativamente poco importantes en la dispersión de enfermedades. Ambos tipos de hongos pueden constituir un mecanismo mediante el cual un agente patógeno puede ser introducido en una zona donde originalmente no existía y, por consiguiente, esos hongos son importantes para las autoridades fitosanitarias y los fitopatólogos.

Mendoza(1996)señala el incremento constante de la población en México y la incorporación del país al tratado de libre comercio con estados unidos y Canadá, exigen que la agricultura nacional sea más eficiente y busque nuevas alternativas de producción que le permitan ser autosuficiente y obtener productos de calidad que puedan ser competitivos a nivel internacional. Para eso se señala a los principales agentes causantes de enfermedades que impiden que el producto sea de calidad provocado por hongos patógenos, los cuales presentan una gran variación morfológica, patogénica, y de adaptación a diversas condiciones climáticas, por lo cual tienen la capacidad de atacar a los cultivos en diferentes etapas de desarrollo.

## **Metodos de detección de hongos en semillas**

Neergaard(1977) indica que la temperatura de incubación para las semillas se recomienda de 20°C más o menos 2°C es el estándar utilizado en las pruebas de germinación, pero dice también que existe hongos que se desarrollan a los 12°C y otros que se desarrollan a 28°C como lo s en climas tropicales y subtropicales, y se debe tomar o utilizar la prueba de alternancia de luz, exponiendo 12 horas a luz ultravioleta la semilla y 12 horas oscuridad.

Neergard(1977) nos menciona la técnica propuesta por Limonard(1996) que consiste en papel secante más congelamiento para detectar hongos que sean de rápido crecimiento micelial y esporulativo, teniendo como éxito la detección de los géneros como *fusarium spp*, *hemilthosporium sp*, *alternaría*, el cual se guía por el propósito en colocar las semillas en cajas transparentes y que contenga papel esterilizado húmedo, enseguida provocar la inhibición de la semilla, y llevarla a temperatura de -20°C y nuevamente incubarla a temperatura de 20°C, con alternancia de la luz, el objetivo del congelamiento es inhibir la germinación matando al embrión.

Existen otras técnicas como detección de placas en agar principalmente para hongos que no tienen crecimiento profuso o de lento desarrollo y los medios mas utilizados son PDA Y M.A.

French y Heber(1980) nos dicen que los hongos se desarrollan con un ph ácido mientras que tanto las bacterias se desarrollan a un PH neutro, por lo tanto se recomienda que cuando se utilice medios de agar para detectar hongos estos medios se acidifiquen para evitar el crecimiento de bacteria

el método de crecimiento directo en el suelo, en el cual se utilizan charolas, suelo, y una vez sembradas se cubren con bolsas de polietileno para mantener una humedad hasta

el final de la incubación, y la temperatura será según el patógeno a detectar. Este método se ha utilizado más para prueba rutinaria de germinación y sanidad de cereales, el problema es que requiere más tiempo dependiendo del tipo de semilla, espacio y que se puedan presentar plantas sintomáticas pero que presentan el inóculo y requieren de más tiempo. Se dice que con este método se ha detectado *Fusarium* sp. En repollo, tomate y sandía.

Frech. Y Hebert(1980) para tener una exitosa identificación de microorganismos fúngicos, es necesaria la purificación de hongos y propone 2 técnicas.

1.- es la obtención de un cultivo puro por punta de hifa en la que se utiliza un medio con bajo contenido nutritivo para tener un crecimiento lento y microscópico.

2.-técnica de la obtención de un cultivo monosporico a partir de diluciones sembradas en medio nutritivo y tomando solo una espora con la ayuda del microscopio compuesto.

## **MÉTODOS DE DETECCIÓN DE HONGOS**

Randhawa(1995) citada por Julieta retis(1998) menciona que la mayoría de las bacterias se localizan en la superficie de la semilla y debajo de la cubierta de la semilla;

además de la técnica para la detección deben ser rápidas, reproducibles por diferentes laboratorios, deben prever características del patógeno que sean reconocidas con facilidad, certeza. Comenta que las pruebas que se llevan a cabo en medios de crecimiento en placa de agar utilizando agar agua o agar nutritivo tienen la desventaja de que no proporcionen los requerimientos necesarios para el desarrollo de las bacterias fitopatógenas, otra de las desventajas es que la mayoría de las veces se tiene crecimiento excesivo de bacterias saprofitas que interfieren para recobrar las patógenas por lo que propone medios específicos para su detección.

Rodríguez(1991) dice que para determinar las características de un género o especie bacteriana es necesaria la obtención de un cultivo puro, donde teóricamente cada colonia aislada es la progenie de una sola célula.

Para la obtención de un cultivo puro menciona 2 técnicas la primera es estría cruzada que consiste en tomar una gota de suspensión bacteriana y realizar de una a cinco estrías, cuidando que cada estría que se hace sólo debe ser tocada con la última de cada etapa y la técnica de dilución y vaciada en una placa. Además menciona que la base para hacer un aislamiento de una bacteria posiblemente fitopatógena para su posterior seguimiento se hace en base a características como morfología de colonia, color, margen, consistencia, presencia, posición, y número flagelos y tinción de gram.

Rodríguez(1991) menciona que para llevar a cabo una prueba de patogenicidad en bacterias es necesario conocer los síntomas que causa el patógeno en el hospedero, órgano afectado y vía de entrada del patógeno, así como las condiciones ambientales que permitan la manifestación de síntomas y considerar la concentración de unidades formadoras de colonias según el género y utilizar el cultivo bacteriano de 24 a 48n horas de edad.

Randhawa (1995) menciona que las pruebas de patogenicidad es necesario correrlas pa estar seguro que los resultados que se obtienen de los medios específicos para bacterias no sean falsos positivos o bien, que si sea la bacteria pero al no manifestarse en las pruebas de patógeneciudad esta haya perdido virulencia y ya no sea problema en esa muestra y por lo tanto tampoco en el lote de semilla muestreado.

## **METODOS DE DETECCIÓN PARA VIRUS**

Llacer(1978) Señala que la puesta en práctica de estás técnicas exige una organización racional. Debe realizarse en grandes series homogéneas, cada una de las cuales constituye un bloque de indexaje, se llama así al conjunto de plantas indicadoras de una misma variedad y de un mismo origen, cultivadas e inoculadas simultáneamente y en las mismas condiciones.

Cada bloque de cada indexaje comprende

Conjunto de tratamientos. Cada uno comprende a su vez a un número variable de plantas indicadoras, según la enfermedad a detectar; Inoculadas a partir de una sola planta de entre las que se controlan.

-los testigos sanos de 5 a 10 por 100 plantas del total indicadoras inoculadas por sí misma y situadas al azar dentro del bloque.

- los testigos enfermos 5 por 100 por lo mínimo, inoculadas con la enfermedad o complejo que quiere detectar.

### **Observaciones que deben realizar varían según la enfermedad**

El investigador señala reacciones fisiológicas, reducción de crecimiento, retraso de la vegetación.

-reacciones morfológicas: manchas necrosis, decoloraciones, deformaciones.

Un indexaje se declara positivo si por lo menos dos plantas indicadoras inoculadas presentan síntomas típicos e idénticos entre sí, se declara negativo, por el contrario, si no reacciona ninguna planta, en los otros casos, el indexaje se considera dudoso y debe ser repetitivo, el conjunto del indexaje de un bloque se declara nulo si los

testigos sanos presentan síntomas de virosis o micoplasmas o si los testigos enfermos no reaccionan.

## **TÉCNICA PARA LA DETECCIÓN DE NEMATODOS**

Los nematodos son parásitos que atacan casi todos los cultivos; su hábitat natural es el suelo o el agua, por lo que el agrónomo debe conocer sus relaciones ecológicas, su ciclo biológico su sintomatología, hospederos, etc. que le permitan en un momento dado establecer principios y técnicas para su control. Este control va a depender por un parte de la identificación del genero y cantidad de nematodos existentes en esa área de cultivo, lo cual se determinará a través del análisis para, para que el análisis de suelo sea confiable, debe ser representativo de toda la superficie, tomar muestras ala profundidad apropiada y

seguir las técnicas específicas, de aquí que se hayan establecido diferentes tipos de muestreos de suelo para la detección y el diagnóstico de nematodos, que permitan conocer el tipo de control adecuado para llevar a cabo la extracción de nematodos son el método de embudo de BERKMAN y el método de la centrifuga estos son para la extracción de nematodos filiformes y el método de Fenwick para la extracción de nematodos de quistes. lo anterior señalado por Cepeda (1995).

### **SEMILLAS DE SANDÍA Y *Fusarium oxysporum***

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

En el caso del cultivo de la papa Guigön(1994), señala que algunas especies de *fusarium* son importantes como patógeno en el cultivo. Su ataque es más severo en lugares donde se cultiva la Papa a temperaturas relativamente altas o durante la estación seca y

calurosa, causan una variedad de problemas al cultivo tales como marchitamiento vasculares, pudriciones de tubérculo, raíz, tallos. Para el caso de *Fusarium oxysporum* causa marchitamiento, vasculares en Papa.

### **Descripción y características de Fusarium**

El crecimiento micelial presenta un aspecto variable siendo este de color blanco al inicio de su desarrollo, posteriormente adquiere una coloración violeta púrpura a morado (Smith, 1992), si hay abundancia de esporoquios la coloración del medio puede ser crema a naranja (Tousson y Nelson, 1968) forma 2 tipos de conidias micro conidias y macro conidias son abundantes y producidas en fialidas simples y cortas, presentan forma oval a elipsoidales cilíndricas; mono o obicelulares; De recta a curvadas, el tamaño de estas esporas en promedio es de 6.8 a 2.2 micras (Guigon, 1994) las macro conidias son

relativamente escasas(Walker,1973;) Dice que tiene de 3 a 5 septos, fusiformes de pared delgada terminando en puntas en ambos lados, con medidas de 16.2 x 3 micras en promedio(Guigon en 1994) .

Este patógeno forma estructuras de resistencia llamada clamidosporas normalmente abundantes, pueden ser globosas, circulares, lisas o arrugadas ,unicelulares; Se puede encontrar en la parte terminal o media del micelio o hifa; Formadas en pares solitarias, (Guilman,1963; Mendoza,1996).

### **Ubicación taxonómica de *Fusarium oxysporum***

Alexopoulos y Mims(1979;) Clasifican ha este patógeno así.

Superreyno----- Eucaryonta

Reyno----- Micetae

División-----Amastygomicota

Subdivision-----Deuteromycotina

Clase -----Deuteromycetes

Subclase-----hyphomycetidae

Orden -----Moniliales

Familia-----Tuberculariaceae

Genero-----*Fusarium*

Especie -----*oxysporum*

### **Sintomatología**

Calderón(1978),menciona que *Fusarium oxysporum* se encuentra en casi todos los suelos, especialmente en aquellos de alto contenido de materia orgánica. El ataque que con frecuencia inicia en el sistema radicular, especialmente en aquellas raíces mas finas, de ahí el daño avanza hacia el tallo, los síntomas de la marchites fusarica, se observa , principalmente en las hojas más viejas muestran estas una clorosis, seguida de una marchites; Inmediatamente después pasas alas hojas más jóvenes iniciándose al mismo tiempo una invasión del sistema vascular por el patógeno( Smithetal1992).

De igual manera señala que las partes dañadas por *Fusarium oxysporum* adquieren o tornan una coloración parda , en la raiz y parte del tallo; la necrosis o empardecimiento

puede observarse con facilidad al realizar cortes tanto transversales como longitudinales en la parte dañada.

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

### **Ciclo biológico**

El hongo es un habitante muy común del suelo siendo este la principal fuente del inóculo, además de sobrevive en los restos de las plantas infectadas que quedan en el campo en forma de micelio. en cualquiera de sus formas de conidias o clamidosporas, dichas clamidosporas pueden persistir en forma inactiva o latente durante 5 o 10 años.

(Robert y Boothroyd.1978) y germinar al tener nutrientes disponible, principalmente cuando hay contacto o proximidad de raíces jóvenes de sus hospederos.

El inóculo se propaga a través de agua, equipo agrícola contaminado, por semilla, etc. cuando las plantas sanas se desarrollan en el suelo contaminado las esporas germinan y el micelio penetra directamente los tejidos de las puntas de las raíces a la altura de la zona

de elongación; la penetración también la puede realizar mediante heridas causadas por nematodos principalmente de los géneros *pratylenchus* spp y *meloidogyne* spp. Y a través de heridas hechas por labores culturales (Agrios, 1988; Smith 1992).

El micelio una vez que ha penetrado al tejido se propaga intercelularmente y llega a los vasos xilémicos e invade el sistema vascular, el micelio avanza en floema ascendente unos 15 o 20 cm. Por arriba de la zona de transición entre el tallo y el sistema radicular, el micelio se ramifica y empieza a producir esporas principalmente microconidios que son desprendidos y llevados a la savia hacia la parte superior de la planta, las microconidias germinan y el micelio invade nuevamente los haces vasculares, la partenogénesis está relacionada con el bloqueo de los vasos impidiendo el paso del agua y nutrientes y con la formación de toxinas que pueden afectar la síntesis de la clorofila, hay pérdida de turgencia, marchitamiento y posteriormente la muerte; también hay formación de enzimas que catalizan reacciones hidrofílicas destruyendo la lamina media del parénquima del xilema, tomando una coloración pardo-oscuro y que estas coloraciones pueden ser utilizadas como síntomas para diagnóstico de la enfermedad

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

De la Garza (1996) señala que *Fusarium oxysporum* tiene crecimiento y reproducción adecuada cuando la temperatura del suelo fluctúa de 27 a 29°C; Por su parte

Wlker(1968, indica que las temperaturas por debajo de los 17 °c la enfermedad no aparece aún encontrándose plantas susceptibles enfermas infestadas con el patógeno.

### **Distribución y hospedero del hongo *Fusarium oxysporum***

*Fusarium oxysporum* es la especie económicamente más importante dentro del género *Fusarium* ;*Fusarium* se encuentra mundialmente distribuido, causa daño aun gran diversidad de plantas Smith(1992), menciona que esta especie no afecta Alos a cultivos pertenecientes ala familia poaceae.

### **Descripción de Alternaria alternata**

Walker(1973) menciona que el agente patógeno fue descrito por primera vez por ellis y martin, en 1882, que lo aislaron sobre hojas de patata recogidas en nueva jersey. La identificación de esta enfermedad,, diferenciándola de otras enfermedades del follage, se inicio hacia 1891 , la investigación más exacta sobre l misma se debe a Tones y fue realizado en Vermond entre los años de 1891 a 1903.

Rands fue el primero en comprobar que las enfermedades de la hoja y tallo, tanto en patata como en tomate eran provocadas por el mismo agente patógeno, la podredumbre del tubérculo paso inadvertida hasta 1925, en que fue descrita por folsom Y Bonde.

Como con anterioridad a 1945; los daños producidos eran difíciles de evaluar en la patata, debido en general, a la coexistencia con los daños producidos por las cicadulas. El empleo de nuevos y más eficaces insecticidas han hecho posible eliminar casi por completo los daños producidos por las cicadulas; así los verdaderos efectos de la alternariosis pueden determinarse con más aproximación. Es indudable que sigue siendo una enfermedad importante, y una de las más difíciles de combatir con los funguicidas actuales.

*Alternaria* es una de las enfermedades más comunes de muchos tipos de plantas en todo el mundo. Afectan principalmente a las hojas, tallos, frutos, flores, y frutos de plantas anuales, en particular de hortalizas y plantas de ornato, pero afectan también a ciertas partes de árboles como los cítricos y manzanos.

Por lo común las enfermedades causadas por *Alternaria* aparecen en forma de manchas y tizones foliares, pero pueden ocasionar también el ahogamiento de plántulas, pudriciones de cuello, así como pudriciones de los frutos y tubérculos: Algunas de las enfermedades más comunes ocasionadas por *Alternaria* incluyen al tizón temprano de la Papa y del tomate, la mancha foliar del frijol, tabaco y geranio, el tizón del tallo de la zanahoria, clavel, crisantemo y petunia, la mancha foliar y del fruto de la calabaza y del manzano.

Por lo general, el color de las manchas foliares varía de café oscuro a negro, a menudo son numerosas y cuando se extienden casi siempre forman anillos concéntricos que adquieren forma de un blanco, las hojas senescentes de la parte inferior de la planta son atacadas en primer término, pero la enfermedad asciende hacia la parte superior de aquella y hace que las hojas afectadas se tornen amarillas y senescentes, se dessequen y debiliten o desprendan ramas y tallos de las plantas tales como el tomate aparecen varias manchas oscuras profundas con frecuencias en forma de blanco a veces las lesiones del tallo en las plántulas forman chancros que pueden extenderse, cubrir el tallo o matar la planta o si se

forma cerca de la superficie del suelo puede desarrollarse y originar una pudrición del cuello.

Los frutos afectados por *Alternaria* casi siempre son atacados cuando se aproximan a la madurez y la infección en algunas plantas ocurre a nivel extremo del tallo mientras que en otras se produce al nivel de extremo de la inflorescencia o en otros puntos a través de heridas, grietas dejadas por el desarrollo de un órgano.

Thomas(1994) Las manchas tienen un color que varía del café al negro y pueden ser pequeñas, profundas y con bordes bien definidos, o pueden extenderse y cubrir la mayor parte del fruto, tener una consistencia correa y una capa superficial aterciopelada y de color negro constituidas por esporas e hifas del hongo.

El patógeno *Alternaria* spp. Tienen un micelio de color oscuro y en los tejidos viejos infectados produce conidioforos cortos, simples y erectos que dan origen a cadenas simples o ramificadas de conidio, los conidios son grandes alargados y oscuros o bien multicelulares y en forma de pera y presentan septos tanto transversales como longitudinales, los conidios se desprenden con facilidad y son diseminados por las corrientes de aire. *Alternaria* infecta a varias especies vegetales en todo el mundo. Sus esporas están presentes en el aire y polvo en todas partes y son una de las causas más comunes de las alergias de la fiebre del heno, dichas esporas también llegan al laboratorio y crecen como contaminantes en los cultivos de otros microorganismos y sobre los tejidos muertos destruidos, por otros patógenos u otras causas, de hecho, muchas de estas especies de *Alternaria* son principalmente saprofitas, es decir no pueden infectar a tejidos vivos de plantas y solo se desarrollan sobre tejidos vegetales muertos o en proceso de descomposición y; al más, sobre tejidos viejos y frutos maduros, por lo tanto, con frecuencia surge la

dificultad para decidir si un hongo del género *Alternaria* que se encuentra sobre el tejido enfermo es la causa de la enfermedad o un contaminante secundario.

Muchas especies de *Alternaria* producen toxinas, algunas de cuales, como la tenotoxina que la produce *Alternaria tenuis* son no específicas de su hospedante, mientras que otras, como las toxinas AK y AM, que son producidos respectivamente *Pakikuchiana* y *Alternaria mali* son específicas de su hospedante correspondiente.

Las especies fitopatógenas de *Alternaria* invernan como micelio en los restos de las plantas infectadas y en forma de esporas o micelios en la semillas, en caso de que sea hongo vaya con las semillas ataca a las plántulas (por lo común después de que han emergido) y produce el ahogamiento de ellas o bien lesiones en el tallo y la pudrición de cuello, sin embargo es más frecuente que las esporas que forman el hongo en gran abundancia (especialmente cuando las lluvias son frecuentes y hay rocío abundante) sean desprendidas del micelio para desarrollarse sobre restos de los vegetales, malezas, o plantas, cultivadas infectadas. Las esporas que han germinado penetran a los tejidos susceptibles directamente o a través de heridas y en poco tiempo producen nuevas conidias que son diseminadas por el viento, la lluvia, las herramientas, etc.

Este hongo se encuentra en residuos de cosecha y en la semilla de la temperatura óptima para la germinación de los conidios es de 28 a 30°C. Los límites de temperatura es 2°C y de 37 a 45 °C en cultivo puro. *Alternaria* penetra directamente por la epidermis de las hojas y tallos o por heridas.

### **Ciclo y desarrollo de la enfermedad**

El micelio conserva su vitalidad en las hojas secas durante un año o algo más, permaneciendo viables los conidios durante 17 meses a la temperatura ambiente.

La invernación puede tener efecto sobre restos de plantas infectadas y semillas, los conidios germinan en una o dos horas a temperaturas entre 6 y 34 ° C, y en 35 a 45 minutos a la temperatura óptima de 28° a 30 ° C las temperaturas límites para el crecimiento en cultivos puros son de uno 1 a 2°C la mínima un óptimo de 26 a 28 |C y un máximo de 37 A 45 °C. El hongo penetra en los tejidos de la hoja y del tallo directamente a través de la epidermis en condiciones favorables de temperatura y humedad, las manchas son visibles al cabo de 2 a 3 días y pueden aparecer esporas dentro de los 4 días siguientes. La producción de esporas se inicia, por lo general, cuando las manchas foliares, tienen un diámetro aproximado de 3 mm. Los rocíos fuertes, unidos a frecuentes lluvias, son esenciales para esporulación abundante, los conidios se desprenden con facilidad, y son diseminados, principalmente por el viento. El escarabajo y otros coleópteros facilitan la infección al ocasionar heridas, ya que probablemente pueden transportar esporas adheridas a su cuerpo.

## Clasificación taxonómica

Superreyno-----Eucariota  
Reyno -----myceteae  
División-----Amastygomycota  
Subdivisión-----Deuteromycotina  
Clase-----Deuteromycetidae  
Subclase-----Hyphomycetidae  
Orden-----Mniliales  
Familia-----Dematiaceae  
Genero-----*Alternaria*  
Especie-----*alternata*

Alexsopoulos y Mims (1979)

Una característica de esta enfermedad es la de su aparición sobre las hojas, que es el comienzo de la tuberización y fructificación tanto en tomate como en Papa, si bien hoy en día se desconoce gran parte de la epidemiología de esta enfermedad, se sabe que uno de los factores más importantes es la predisposición de las plantas hospederas, provocadas por las condiciones del clima o suelo, que tienden en un momento dado a reducir su valor fisiológico por el contrario, la elevada fertilidad de un suelo tiende a reducir la gravedad de daños.

## **MATERIALES Y METODOS**

El presente trabajo se llevo acabo en el laboratorio del departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Buenavista Saltillo Coahuila.

La semilla que utilice fue proporcionada por campesinos de la colonia las brisas municipio de villa comaltitlan Chiapas. Siendo estas la semilla pic nic y semilla de sandia rayada, esta semilla fue proporcionada directamente de la que cosechan para sembrara el siguiente año.

### **Incidencia**

Se utilizo para Incidencia el modelo de Diseño completamente al azar con 2 tratamientos y 2 repeticiones dado por:

$$Y_{ijk} = \mu + f_i + E_{ij}$$

i= 1,2,tratamientos

j= 1,2,repeticiones.

El trabajo se desarrollo mediante la observación en laboratorio.

## **Prueba de papel húmedo congelamiento**

Se utilizaron 100 semillas por cada híbrido colocando 50 semillas por cada charola que eran cajas de plástico de color transparente de 18 por 20cm. lo cual se colocaron 4 cuadros de papel saturados de agua esta semillas se colocaron en forma equidistante, con 2 repeticiones de cada material, estas cajas se sellaron con clean pack y las etiquete con datos que fueran identificativos, material, repetición, cultivo, fecha, posteriormente se dejaron a temperatura ambiente por un lapso de tiempo de 24 horas después se incubaron a temperatura ambiente por 11 días.

Después del tiempo de incubación se procedió al conteo de colonias fungosas, de acuerdo a su coloración mediante la observación de las 100 semillas por híbrido midiendo así la incidencia.

Identificación de hongos presentes en semilla de sandía para identificar los hongos se caracteriza el tipo de crecimiento color y forma de hongos presentes en la semilla.

En la caracterización morfológica se utilizó el microscopio compuesto: determinando el tamaño y forma del conidioforo así también la caracterización de las conidias utilizando claves de Barnett y Hunter (1972) y el de CMMYT Y tesis de Esteban Cabrera Motor.

## **Pruebas de germinación**

Siembra. Se utilizaron 200 de cada híbrido de sandía para esta prueba previamente homogenizadas de las muestras de cada material la cual se dividieron en 4 repeticiones.

Las semillas se colocaron en una misma posición y a espacios uniformes sobre el papel húmedo. Posteriormente se colocó otra toalla sobre las semillas para cubrir las, enrollándolas y amarrándolas con una liga de cada lado, la dirección del endospermo es muy importante, lo cual se señaló con una flecha y se anotó el cultivo repetición, y fecha. Se colocaron dentro de unas bolsas los rollos en forma vertical, con las flechas hacia abajo para meterlas a la cámara germinadora a 25 °C durante 7 días.

### **Evaluación**

Se realizaron 2 conteos; el primero se realiza al 4 día y no se encontró ninguna germinada y se enrollaron nuevamente para meterla a la cámara.

El segundo conteo se realiza al 7 día los criterios de evaluación fueron. Plantas normales, aquellas de más de 2.5 cm. De crecimiento de la plántula y plántulas anormales aquellas que no cumplen con la longitud de plantas normales y semillas no germinadas .

Para contar se calcula el porcentaje de cada parámetro.

### **Prueba de vigor (envejecimiento acelerado)**

De las 200 semillas por cada material para esta prueba se dividieron en 2 repeticiones de 100 por cada repetición cada repetición se colocó en una canastilla de alambre con una maya dentro de un vaso de precipitado de 250ml. Con 100ml. De agua la canastilla se introdujo en el vaso sobre un soporte de alambre, de tal manera que las semillas no quedaran en contacto con el agua el vaso se tapó con un plástico sujetado con ligas y se colocó dentro de una cámara de envejecimiento a una temperatura de 42 °C a una humedad relativa cercana al 100% por un lapso de tiempo de 48 horas.

Luego se hizo la siembra en cuatro repeticiones por cada híbrido utilizando 50 semillas por repetición dejando el endospermo hacia la parte inferior en dirección a la flecha y se puso una toalla de papel saturada de agua para cubrir la semilla, y se amarraron a ambos lados con ligas y se metieron los tacos en las bolsas de plástico abiertas en la parte superior se metieron a la cámara germinadora a 25°C por 7 días

### **Evaluación**

Determine la cantidad de plántulas, normales, anormales y semillas no germinadas en cada repetición de 100 semillas( Internacional seed Testing Association.1987.handbook of vigor Testing Methods.ISTA,Switzerland.)

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Identificación de hongos

Los hongos detectados e identificados fueron *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. obteniendo los resultados de descripción de estas por medio de las claves de i CIMMYT, Nelson y Toussoun(1983), Neegaard(1977)

En esta prueba los hongos detectados fueron *Alternaria* y *Fusarium*. Presentando a *Alternaria* como incidencia más alta con una media de 25% en el tratamiento 1 y con una media de 22.5 en tratamiento 2, al mismo tiempo presentando *Fusarium* con una media en el tratamiento 1 de 11.5% y en tratamiento 2 con una media de de 16.5 %.

De acuerdo al análisis de varianza con el coeficiente de variación s de 16.67% para el tratamiento 1 presentando una variación entre repeticiones lo cual no es diferencia significativa por lo tanto es aceptable. en el tratamiento 2 el coeficiente de variación es de 10.88% habiendo una diferencia entre repeticiones pero no una diferencia significativa por lo tanto es aceptable.

Estadísticamente de acuerdo al DMS ( diferencia mínima significativa) el tratamiento 1 presento mayor significancia con un porcentaje de un 25% en *Alternaria* teniendo esta más severidad de daño en semilla, tomando en cuenta que el genero *Fusarium* tiene una media de 11.5% causando menos daños en la semilla. Para el tratamiento 2 tenemos a *Alternaria* con una media de 22.5% teniendo una mínima reducción de incidencia comparándolo con el tratamiento 1 de la misma manera *Fusarium* con una media en el tratamiento 2 de 16.5%

incremento su incidencia comparándolo con el tratamiento 1 causando más daño en la semilla..

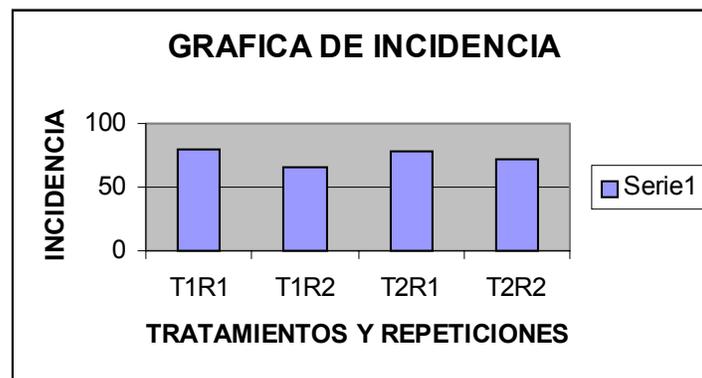
Tomando en cuenta que la contaminación de estos hongos se llevo acabo o lo atribuyo al uso incorrecto que se le da ala semilla sembrada bajo ningún tratamiento ya que esta es usada extrayéndola directamente del fruto pasando por un proceso de secado y guardado para sacarla sembrar en el siguiente ciclo.Este hongo presento las siguientes características que se utilizaron para su identificación: Colonia en semilla es generalmente gris oscura, pero también puede ser blanca y color verde oscura, café o casi negro, conidio foros son de color café oscuro a oliváceo en ocasiones, en pequeños grupos; pueden ser simples o ramificados miden de 3 a 6  $Mm$  de espesor y 50  $Mm$  de largo los distintivos conidios de color café claro y con pico con septos transversales y longitudinales y conidios en cadenas.

Este hongo se presento con las siguientes características. la colonia de semillas crecen con moderada rapidez y produce una cantidad variable del micelio, aéreo, inicialmente blanco, que cambia de color durazno, salmón, gris vino púrpura violeta. Las masas de esporas blanco cremoso.

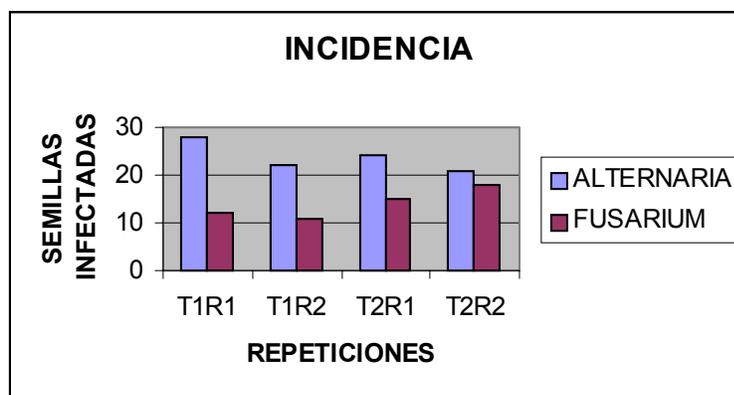
Los macroconidios producidos en conidioforos cortos y ramificados son generalmente abundantes, hialinos, unicelulares, variables, de forma ovalada o arriñonada y miden 5-12x 7<sup>a</sup> 4  $Mm$  .

Los macroconidios que se originan en conidioforos más ramificados son pocos frecuentes en algunas cepas. Los macroconidios son hialinos, tienen paredes delgadas, son apenas curvos, puntiagudos en ambos extremos con 3 a 5 septos ,un apice en forma de gancho y una celula basal en forma de pie los 3 septos miden 27 –66 x 3 A 5  $Mm$  . las clamidosporas son esféricas con paredes rugosas;se forman individualmente o en pares a intervalos a lo

largo de las hifas, en ramificaciones laterales cortas la presencia de clamidosporas y los microconidios producidos en conidioforos cortos y ramificados son las características más distintivas de *Fusarium oxysporum* y es una de las ssp más variable.



**Figura 9:** Comparación tratamientos de hongos presentes por la prueba de congelamiento



**Figura 10:** Comparando la incidencia de cada hongo identificado por la prueba de papel húmedo y congelamiento

## **Resultados de la prueba de germinación**

La prueba de germinación en los materiales que se utilizaron en el primer tratamiento se encontró muy pobre la germinación cayendo de un 14 a 8 % de germinación, mientras que el tratamiento 2 se incremento la germinación de plántulas normales de un 18 % por encima del tratamiento 1 quedando el porcentaje de un 32 % a un 48 % la mayor germinación de plántulas normales; En estos 2 tratamientos he considerado baja la germinación, atribuyéndole ala latencia de la semilla y por hongos ya encontrados en la semilla por medio de los métodos utilizados, incluyendo alas plántulas anormales afectadas por los ya mencionados.

<b>Repetición</b>	<b>%plántula Normles</b>	<b>%deplántula anormales</b>	<b>%semilla muerta</b>
<b>1</b>	7	3	40
<b>2</b>	6	4	40
<b>3</b>	3	1	46
<b>4</b>	3	3	44

**Cuadro 1:** Germinación de semillas de Sandía de la variedad Pic Nic

<b>Repetición</b>	<b>%de plantulas Normales</b>	<b>%de plántulas Anormales</b>	<b>% semillas muertas</b>
<b>1</b>	9	7	34
<b>2</b>	15	7	28
<b>3</b>	13	7	30
<b>4</b>	18	6	26

**Cuadro 2:** Germinación de semilla de Sandía de la variedad rayada

### **Resultado de la prueba de vigor(envejecimiento acelerado)**

En esta prueba el tratamiento 1 incremento su germinación de plántulas normales y por lo tanto también se incremento las plántulas anormales.

En el tratamiento 1 va de un 18 % hasta un 36 % de plántulas normales y en el tratamiento 2 el mayor porcentaje fue de un 30% y bajo hasta un 6 % de plántulas normales asumiendo la perdida en germinación y plántulas anormales ala latencia en la semilla y a hongos que hemos encontrado, pueden influir en la inhibición de germinación y plántulas anormales. Las plántulas normales tiene 2.5 cm de crecimiento longitud. Las plántulas anormales menos de 2.5 no-reúne el requisito de longitud. Como se puede observar en cuadros 3 y 4

<b>Repetición</b>	<b>% de plántulas</b>		<b>% de semillas</b>
	<b>normales</b>	<b>anormales</b>	<b>muertas</b>
<b>1</b>	9	18	23
<b>2</b>	11	21	18
<b>3</b>	12	17	21
<b>4</b>	18	11	21

**Cuadro 3:** Prueba de vigor (envejecimiento acelerado) en semillas de sandía de la variedad Pic-Nic

<b>Repetición</b>	<b>%de plántulas</b>		<b>% de semillas</b>
	<b>Normales</b>	<b>Anormales</b>	<b>muertas</b>
<b>1</b>	3	2	45
<b>2</b>	1	1	48
<b>3</b>	15	12	23
<b>4</b>	3	16	31

**Cuadro 4:** Prueba de vigor (envejecimiento acelerado) en la variedad Rayada

## **CONCLUSIONES**

Los hongos que se encontraron asociados a la semilla de sandía son: *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*.

El hongo que causó mayor incidencia en estas pruebas fue *alternaria* causando daño a la semilla de la sandía.

Las pruebas de vigor y germinación están asociadas a los detectados

## **LITERATURA CITADA**

- Agrios,N.,G. (1988). Plant Pathology Tirad Edition Academic Press.London.
- Alexopoulos, C.J. and Mims, C.W. 1979. Introductory mycology Tirad edition.  
Wiley,New York.
- Cepeda S, M.1995. Practicas de nematologia agricola,,Trillas:UAAAN.México
- De la Garza G. J. L.1996. Fitopatología general .Universidad Autónoma de Nuevo Leon
- Calderón, A.V. 1978. Enfermedades de la papa y su control Editorial hemisferio sur,  
Buenos aires Argentina
- French , R.E. y Hebert, t.t. 1980. métodos de investigación de fitopatología instituto  
interamericano de ciencias agrícolas san José costaría De IICA 289 p.
- Guijon,L.C. 1994. Epidemiología de las enfermedades de la papa causada por hongos  
fitopatogenos del suelo en el sur de Coahuila y Nuevo Loen, Tesis de  
maestría Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Buenavista saltillo  
Coahuila .
- Gilman ,L. C. 1963. Manual de hongos de suelo compañía Editorial C ontinental S. A  
Primera Edición en español México D. F.
- Gabrielson, R. L. 1988. Fungi. Part of Inoculum Thresholds of seedborne Pathogens  
Symposium.Phytopathology 78(6):868-871.
- ISTA,1985.Internacional Rules for Seed Testing, Rules 1985. Seed Science Technology  
13:356-513.
- INSTITUTO DE LA POTASA Y EL FÓSFORO (INPOFOS).1998. Vol.3.No2.p. 5  
México.
- Llacer. I. G. (1978) Las virosis y micoplasmosis de los árboles frutales
- Romero, C. S. 1993. Hongos fitopatogenos Universidad Autónoma de Chapingo. Dirección  
del patronato Universitario, ah. C. Chapingo, México.

- Roberts, DA y Boothroyd, C.W. 1978. Fundamentos de la fitopatología vegetal Editorial acribia Zaragoza España.
- Randhawa, p. 1995. Seedborne bacteria and their detection Rosevilla col.
- Rodríguez M. M. 1991. Manual de identificación de bacterias fitopatógenas UACH México 96 pg.
- Mendoza, Z.C.1996. Enfermedades fungosas de hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo Estado de México 85 pg.
- Nelson P.E., Toussoun T.A. Cook R.J.(1981) Fusarium diseases, biology and taxonomy.Pennsylvania State University Press
- Neegaard,P.1977.Seed Pathology.Vol.1. Gran Bretaña.
- Snyder W.C. and Hansen H.N. 1940. The species concept in Fusarium. American Journal of Botany. 27:64-67.
- Smith, L. M. Dunez J. Lelliot, R.A, Phillips b. H. Y Anchor, S.A.,1992.Enfermedades de las plantas Ediciones Mundi prensa Madrid España .
- Thomas,C.E.1994.Alternaria Leaf blight. IN: Zitter,A.T., Hopkins, L.D., and Thomas, E.C.1994 . (Ed.). Compendium of Cucurbit diseases.APS. PRESS. P. 24. United States of America.
- Walker. J.C. 1973 .Plant pathology 3th Edition Mcgraw Hill New York .
- Warham,J.E., Buttler,L.D., and Sutton,B.C.1994. Ensayos para la semilla de maiz y trigo CYMMYT.

## APENDICE

### **Cuadro 5.- Analisis de varianza para el tratamiento 1**

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

---

TRATAMIENTOS	1	182.250000	182.250000	19.7027	0.044 NS
ERROR	2	18.500000	9.250000		
TOTAL	3	200.750000			

**C.V. = 16.67 %**

---

**Cuadro 6.-** comparación de medias para el tratamiento 1

Tratamiento	Repetición		Prueba de medias
	1	2	
<i>Alternaria</i>	28	22	25.00 A
<i>Fusarium</i>	12	11	11.58 B
<b>N. de significancia</b>	0.05		

**Cuadro 7.-** analisis de varianza para el tratamiento 2

---

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

---

TRATAMIENTOS	1	36.000000	36.000000	8.0000	0.105
ERROR	2	9.000000	4.500000		

TOTAL                    3                    45.000000

**C.V. = 10.88 %**

-----  
**Cuadro 8.-** Comparación de medias para el tratamiento 2

Tratamientos	Repetición		Medias
	1	2	
<i>Alternaria</i>	25	21	<b>22.5 A</b>
<i>Fusarium</i>	15	18	<b>16.5 A</b>
Nivel de significancia	0.05		
DMS	9.12		