Botryosphaeria ribis (Tode ex Fr.) Gross y Dug

(= Botryodiplodia ribis) Pat, Y SU RELACION CON EL

RUEZNO PEGADO EN NOGAL PECANERO

(Carva illinoensis Wang K. Koch)

EN GENERAL CEPEDA, COAHUILA

ROBERTO FLORES ROMERO

## TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS
ESPECIALIDAD DE PARASITOLOGIA AGRICOLA



## Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro

PROGRAMA DE GRADUADOS Buenavista, Saltillo, Coah. MAYO DE 1988 Tesis elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial, para optar al grado de

#### MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGIA AGRICOLA

COMITE PARTICULAR

Asesor principal:

Ing. M.C. Abiel Sanchez Arizpe

Asesor:

Ing. M.S. Jesús Noel Yañez Reyes

Asesor:

Biol. M.C. Guadalupe López Nieto

DR. ELEUTERIO LOPEZ PEREZ

Subdirector de Asuntos de Postgrado

EGIDIO G. REBON-BANCO DE TES

#### **AGRADECIMIENTOS**

Al Pueblo de México, por hacer posible la educación en nuestro país.

A la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por su apoyo económico para la realización de mis estudios de postgrado.

Al Ing. M.C. Abiel Sánchez Arizpe, por su amistad y confianza que me brindó dentro y fuera de la Universidad, así como su dirección técnica para llevar a cabo la presente investigación.

Al Ing. M.S. Jesús Noel Yañez Reyes y Biol. M.C. Guadalupe López Nieto, por la revisión del presente trabajo.

Con profunda admiración al Ing. M.S. Rubén Castro Medina, por sus valiosos consejos y sugerencias.

Al Sr. Luis Siller Blanco y Familia, por las facilidades que me brindaron para la realización del trabajo.

A mis maestros y amigos del Departamento de Parasitología - Agrícola de la U.A.A.A.N.

A todas aquellas personas que en cierta forma contribuyeron a la realización de este trabajo.

#### DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico con todo mi cariño y respeto a mis Padres

> Sr. Roberto Flores Soto Sra. Ma. Ines Romero de Flores

A mis Hermanos:

Ana María Verónica Patricia Lorena Ricardo Claudia

A mis Sobrinos:

Ricardo
Adriana
Jerson Roberto
Ana Laura
Enrique

Con especial afecto:

A mis compañeros de la I Generación de Parasitología Agricola

A mi "ALMA MATER"

#### COMPENDIO

<u>Botryosphaeria ribis</u> (Tode ex Fr.) Gross y Dug (= <u>Botryodiplodia ribis</u>) Pat, y su relación con el Ruezno Pegado en Nogal Pecanero (<u>Carya illinoensis</u> Wang K. Koch), en General Cepeda, - Coah.

POR

#### ROBERTO FLORES ROMERO

#### MAESTRIA

#### PARASITOLOGIA AGRICOLA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. MAYO DE 1988.

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

Palabras clave: Ruezno pegado, nogal pecanero, <u>Botryosphaeria</u>, Botryodiplodia

El presente estudio se realizó con el propósito de - identificar al agente causal del ruezno pegado en nogal pecanero (Carya illinoensis Koch), se hicieron trabajos de aislamientos e identificación del patógeno de Enero de 1986 a Octubre de 1987. Los trabajos se realizaron en La Huerta "Villa Verde", Municipio de General Cepeda, Coahuila y en el Laboratorio de Parasitología Agrícola de la U.A.A.A.N. en Buenavista, Saltillo, Coah., los aislamientos se hicieron a partir de fragmento de tallos y frutos, utilizando P.D.A. y

Agar - Agua. Se identificó a <u>Botryodiplodia ribis</u> (Pat) a - través de sus picnidios y conidios, así como su estado perfecto <u>Botryosphaeria ribis</u> (Tode ex Fr.) Gross y Dug, mediante - la observación de sus peritecios, ascas y ascosporas. Las - pruebas de patogenicidad resultaron satisfactorias. Asímismo, se realizaron bioensayos <u>in vitro</u> para probar la efectividad inhibitoria contra el patógeno, utilizándose un Thiabendazole, Triadimefon, Zineb y Dinocab, mostrando mayor eficiencia és-tos dos últimos sobre el patógeno.

#### ABSTRACT

Botryosphaeria ribis (Tode ex Fr.) Gross y Dug (= Botryodip dia ribis) Pat, relation ship of sticky shuck in pecan nut rya illinoensis Wang K. Koch), in General Cepeda, Coahuila.

BY

#### ROBERTO FLORES ROMERO

#### MASTER OF SCIENCE

#### PLANT PROTECTION

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. MAY, 1988.

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

Key words: sticky shuck, pecan nut, <u>Botryosphaeria</u>, <u>Botryo</u> <u>diplodia</u>.

A study was conducted to identify a funges responsi ble of "sticky shuck" in pecan nut (Carya illinoensis Koch) Isolation and identification work of pathogen were initiate in January 1986 to October 1987. This work was carried out in "Villa Verde" orchard and Plant Protection Laboratory of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Isolates - were made from cut leaves and fruits, using PDA and Water - Agar. Botryodiplodia ribis (Pat), was identified by means of pycnidia and conidia. The sexual state of Botryosphaeri

ribis (Tode ex Fr.) Gross y Dug, was observed through pheritecium, ascus and ascospores. The pathogenicity tests were satisfactory. Tests in vitro were also performed to show the effectivity against the pathogen, using Thiabendazole, Triadimefon, Zineb y Dinocab. The last two products were the most efficient.

## INDICE DE CONTENIDO

	PAGINA
INTRODUCCION	1
REVISION DE LITERATURA	4
SINTOMAS	4
OTROS ESTUDIOS	6
ETIOLOGIA	8
OTROS ESTUDIOS	10
OTROS ESTUDIOS	. 12
ESTUDIOS DE PATOGENICIDAD	13
OTROS ESTUDIOS	14
EPIDEMIOLOGIA	15
MATERIALES Y METODOS	1.6
UBICACION	16
ESTUDIOS ETIOLOGICOS	18
ESTUDIOS DE PATOGENICIDAD	18
ESTUDIOS HISTOLOGICOS	19
BIOENSAYOS CON FUNGICIDAS	20
ANALISIS ESTADISTICO	20
PARAMETRO A EVALUAR	20
RESULTADOS	22
ESTUDIOS ETIOLOGICOS	22
PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	26
ESTUDIOS HISTOLOGICOS	26
BIOENSAYO CON FUNGICIDAS	26
EVALUACION GRAFICA DE LA INHIBICION DEL -	
CRECIMIENTO DEL MICELIO DE LOS CUATRO DIFE	
PENTES PRODUCTOS	27

	PAGIN
DISCUSION	35
ESTUDIOS ETIOLOGICOS	35
PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	<b>3</b> 7
ESTUDIOS HISTOLOGICOS	37
BIOENSAYOS CON FUNGICIDAS	37
CONCLUSIONES	39
RESUMEN	40
LITERATURA CITADA	42
<b>A DENDICE</b>	45

## INDICE DE CUADROS

NUMERO		PAGIN
3.1	PRODUCTOS USADOS EN EL BIOENSAYO	21
4.1	CRECIMIENTO DEL MICELIO DEL HONGO Botryos-	
	phaeria ribis (=Botryodiplodia ribis) EX-	
	PRESADO EN CM <sup>2</sup> EN EL SUSTRATO PDA CON CUA-	
*	TRO PRODUCTOS FUNGICIDAS Y A DIFERENTES IN-	
	TERVALOS DE EXPOSICION	28

## INDICE DE FIGURAS

NUMERO		PAGI
4.1	Botryodiplodia ribis	24
4.2	Botryosphaeria ribis	25
4.3	COMPORTAMIENTO DEL CRECIMIENTO DEL HONGO Botryodiplodia ribis A LA APLICACION DE LOS CUATRO DIFERENTES PRODUCTOS Y A DIFE RENTES INTERVALOS, COMPARADO CON EL TES- TIGO.	.29
4.4	RESPUESTA DEL HONGO Botryodiplodia ribis A LA APLICACION DEL FUNGICIDA THIABENDAZO LE DURANTE UN TIEMPO DE EXPOSICION DE CIN CO DIAS.	30
4.5	COMPORTAMIENTO DEL HONGO Botryodiplodia - ribis A LA APLICACION DEL FUNGICIDA ZI - NEB DURANTE UN TIEMPO DE EXPOSICION DE - CINCO DIAS	31
4.6	COMPORTAMIENTO DEL CRECIMIENTO DEL HONGO BOTTYODI PODEL FUNGICIDA TRIADIMEFON DURANTE UN TIEM PO DE EXPOSICION DE CINCO DIAS	.32
4.7	COMPORTAMIENTO DEL CRECIMIENTO DEL HONGO  Botryodiplodia ribis CON LA APLICACION DEL  FUNGICIDA DINOCAB DURANTE UN TIEMPO DE EX  POSICION DE CINCO DIAS	33

#### CAPITULO I

#### INTRODUCCION

El nogal pecanero (<u>Carya illinoensis</u> Wang K. Koch) - es originario de América, específicamente del Norte de México y Sureste de los Estados Unidos.

Los tres estados más importantes productores de nuez pecanero en México son: Coahuila, Chihuahua y Nuevo León.

El cultivo del nogal está considerado como una de - las empresas agrícolas más permanentes y es una de las especies frutales que más auge está cobrando en las regiones frutícolas de la República Mexicana.

Desde las decadas de los 60's y 70's se ha registrado un incremento notable en la superficie cultivada con esta especie; para 1976 se registraron 38,000 ha, considerando árboles nativos y mejorados; para 1984 hubo un registro de 27,000 ha de árboles plantados, dando un total de 65,000 ha cultivadas en la República Mexicana\*.

Considerando lo mencionado anteriormente y debido a la creciente importancia que está adquiriendo la producción comercial del nogal pecanero en el país y a las enormes potencialidades que ofrece el cultivo tecnificado, es de gran — importancia para el nogalero conocer el enorme perjuicio que

<sup>\*</sup>CONAFRUT

vienen ocasionando las enfermedades a este cultivo, daño que repercute tanto sobre el volumen de la cosecha, como sobre - la calidad del fruto, afectando muy seriamente en ambos ca - sos la economía del productor nogalero y frustrando seriamente sus esfuerzos e inversiones.

En los últimos años, se han llevado a cabo estudios sobre la importancia econômica que representa este renglón habiéndose considerado que el daño por enfermedades puede - representar hasta un 100 por ciento de pérdidas en la cosecha.

Dentro de éstas el "ruezno pegado", es un problema que ha estado adquiriendo gran importancia, tanto en Estados Unidos como en la República Mexicana, principalmente en el - Norte de México y específicamente en el Estado de Coahuila.

Como un hecho sumamente importante de lo devastadora que puede ser esta enfermedad, hemos de mencionar que en la huerta denominada "El Tunal", Municipio de Peñón Blanco, y que se encuentra en el área de influencia de la Comarca Lagunera, tuvo un 100 por ciento de pérdidas en la cosecha de bido a este problema del "ruezno pegado".

Johnson (1975) menciona que el problema del "ruezno pegado", puede ser causado por un desorden fisiológico y un agente patológico, trabajo que concuerda con Booth y Sha - nnon (1982). Debido a esto, el problema fundamental es que no se tiene información exacta sobre el papel que desempeña el hongo Botryosphaeria ribis (Tode ex Fr.) Gross y Dug, en dicha enfermedad. Por lo tanto, con la realización de este - trabajo se pretende generar información respecto al problema

en cuestión, que por consiguiente traerá beneficios a las regiones nogaleras del Norte de México.

Por lo anterior los objetivos de este trabajo son:

- 1) Detección del agente causal del "ruezno pegado
- 2) Evaluación de cuatro productos químicos para e control del patógeno mediante bioensayos <u>in vi</u> <u>tro.</u>

# CAPITULO II REVISION DE LITERATURA

#### Sintomas,

Según Saharan (1974) el hongo causante del ruezno pegado fue aislado e identificado como Botryosphaeria ribis, donde realizó varios estudios sobre el problema y define los síntomas del patógeno como pequeñas infecciones circulare e irregulares, manchas cafés obscuras necróticas y hundidas sobre el ruezno, que forman una serie de lesiones ovoiformes El eje longitudinal de cada una de las lesiones, es paralelo al eje de la cáscara de la nuez; estas lesiones se unen y fi nalmente cubren el ruezno entero; las lesiones desarrollas se agrietan sobre el ruezno y la infección penetra a través de la cáscara, conforme el hongo avanza, pasa directo a la almendra atacándola finalmente, deshidratándola y ocasionándole un sabor desagradable; además hay indicios de que apa rentemente es el primer escrito de B. ribis, causando pudri ciones en las nueces del nogal pecanero. Sin embargo, una es pecie de B. berengeriana ha sido señalada causando la muerte regresiva de árboles plantados en el Sureste de Georgia y Noreste de Florida en los Estados Unidos.

Halliwel y Johnson (1978) concluyeron que la reacción que causa la caída del fruto podría estimularse con aplicaciones externas de etileno, o detenerse con bióxido de carbono en la misma forma. Además, encontraron que aplicaciones
de Benomyl o Du-ter en otoño reducían éste fenómeno que ocurre en Agosto pero, no tenían efecto sobre una caída tardía.

Se descubrió que la enfermedad del ruezno (Shuck disease) en realidad eran dos problemas diferentes. La verdadera enfermedad del ruezno (Shuck disease), es causada por una reacción fisiológica y transmitida genéticamente, la otra conocida como ruezno pegado (Sticky shuck).

Se utiliza el término Stem end blight (tizón de la punta de la rama) y Johnson prefiere emplearlo como Sticky Shuck (ruezno pegado), pues parece ser el más adecuado.

El ruezno pegado (Sticky shuck) aparece cuando la nuez está en estado acuoso o en período del endospermo líquido, el cual indica que la enfermedad es más severa en ramas tiernas o débiles y enfermas, esto no debe confundirse con la caída - normal de nueces, en que la flor hembra y el grano de polen - fallan al unirse. Estas nueces son más chicas cuando se comparan con la enfermedad.

Johnson (1979) indica que <u>Bortyodiplodia ribis</u> Pat, es el estado imperfecto (asexual) de <u>Botryosphaeria ribis</u> y su infección se desarrolla en los tallos causando así la - muerte con tumorcillos que llegan a alcanzar 1.6 mm en el - tamaño y que cuando hay rupturas de éstos, forman pequeñas -

lesiones elongadas o extendidas y de color negro en su interior, la lesión continúa creciendo y eventualmente llega
ser de 3.1 a 6.2 mm en tamaño y un poco planas. No se cono
ce el papel exacto de <u>Botryodiplodia</u> dentro del ciclo de la
enfermedad del ruezno pegado (Sticky shuck), pero supuesta
mente el hongo se encuentra invernando dentro de las partes
dañadas. No obstante, éstas observaciones han sido limita
das y hay algunos cultivares de reacción diferente a <u>Botryo</u>
phaeria (= <u>Botryodiplodia</u>).

#### Otros Estudios

Stein y McEachern (1983) mencionan que los síntomas constan de un enegrecimiento del ruezno, el cual se inicia de la punta de la nuez hacia la base, siguiendo la línea de unión del ruezno. Sin embargo, esta característica varía con la latitud en que se encuentran los nogales, ya que más al Este de los Estados Unidos, las manchas se localizan al centro del ruezno.

Malstrom y Kaufman (1984) reportan que la necrosis del ruezno es un término usado para describir a unas pústu las negras y anormales sobre el ruezno. Esta anormalidad s inicia o comienza durante el desarrollo del estado acuoso y puede continuar hasta su estado masoso o de llenado. Obser vándose dos o más pústulas que usualmente son encontradas - sobre el ruezno en cierta medida, pero suele ser más pronun ciada a lo largo de la sutura. Las manchas negras son usua mente ligeras y brillantes, pero no necesariamente, pues

varía con el cultivar, y puede ser definido o indefinido · su límite entre un tejido afectado y otro no afectado. muchos casos las nueces caen prematuramente, y en otros ca sos permanece adherido al árbol, causando también una conc ción de pegado. Algunas veces la necrosis del ruezno pudi ra ser confundida con un obscurecimiento normal de los rue nos a lo largo de las suturas, el cual muchas veces indic una maduración o el final del ciclo del cultivo. La caus o causas de la necrosis del ruezno aún no han sido determi nada; muchos intentos se han realizado para aislar un orga nismo causal de daño a estos rueznos, pero no se conocen o ganismos patogénicos que hayan sido identificados. sis del ruezno puede ser confundida con el tizón de la pur de la rama (Stem end blight) y enfermedad del ruezno (Shuc disease), que son algunas enfermedades que se han reportad en otros estados, donde se plante el cultivo del nogal.

Según Witcher y Clayton (1963) el síntomas más vis ble del tizón del tallo del arándano azul en el campo, es una o más ramas muertas mezcladas con las ramas normales. En estado temprano de infección las hojas se tornan amaril o rojizas, pasando por un color café, las hojas permanecer adheridas y después mueren; la infección la produce Botryo sphaeria ribis.

Seaver (1942) reporta que <u>Diplodia theobromae</u> es ponsable de considerables pérdidas al atacar el estado mas de los tubérculos de Cassava (<u>Manihot vtilisima</u>) Pohl, el pio fue encontrado en porciones de áreas muertas de los tallos asociados con el peritecio de Botryosphaeria ribis; sin

embargo, los estudios de cultivo no revelaron una conexión - entre estos dos patógenos.

Parmeter et al. (1960) mencionan que varios organis - mos fueron asociados a la muerte regresiva en los tallos de Laurel (Calefania laurel), este síntoma fue más severo en el verano. La producción de peritecios de Botryosphaeria, así como la de picnidios de Dotrhiorella y Botryodiplodia indi - can que hay una relación entre estos organismos, sin embargo, no se han realizado intentos por determinar las especies.

Carey y Schoeneweiss (1975) mencionan que el abedul blanco de Europa (Betula alba L.) es fuertemente dañado, ya que se forman cánceres en sus tallos y ramas y que por consecuencia trae una defoliación; varios hongos forman sus cuerpos fructiferos en los cánceres donde comunmente se encuen tra, asociada la especie de Dothiorella, que es el estado amorfo de Botryosphaeria dothidea (Morig. ex Fr.) Ces & De Not. y Botryosphaeria ribis, que para los autores son sinónimos estos dos organismos.

## Etiología

Según Connor (1967) el ciclo de <u>Botryosphaeria ribis</u> en la fase de cáncer en manzana es desconcida particularmente con respecto a la penetración del tiempo de infección y formación de cánceres, pues es necesario un período de un año para la formación de estructuras reproductivas del hongo. Intentos por demostrar la penetración del patógeno a la corteza, mostraron que la conidia del hongo no germinó cuando -

estuvo en contacto con la corteza del exterior, ya que ésta tiene un efecto inhibitorio en la germinación conidial.

Shahin y Claflin (1980) reportan que en inoculaciones preliminares los síntomas causados por <u>Dothiorella</u> speran similares a los observados en falsa truga (pino), y de ramas infectadas, en aislamientos se observaron <u>Dothiorella</u>, fue identificado como un estado imperfecto de <u>Botryosphaeria dothidea</u>. Uno o varios picnidios fueron obscuros, estromáticos y más tarde erupentes, globosos o subglobosos y de 215 a 537 µ de espesor; la conidia fue hialina, clavada a elipsoi dal, midiendo 18.0 a 28.0 x 4.3 a 7.7 //, las hifas fueron hialinas, septadas de 4 mm de diámetro, en algún tiempo fueron cafés o negras en cultivo viejo.

es causada por Botryosphaeria dothidea y que el picnidio es negro y estroma ascógeno; la enfermedad se estableció sobre las lenticelas de la cubierta de árboles de Durazno, también fueron producidas en cultivo. El picnidio contiene conidias hialinas, no septadas, fusiformes midiendo de 15.2 a 28.8 ¼ de longitud x 4.8 a 8.0 ¼ de ancho. El peritecio de Botryosphaeria dothidea contiene ascas clavadas con un promedio de 120 x 19 ¼ y estas separadas por pseudoparafisis; cada asca contiene ocho ascosporas, hialinas no septadas, fusiformes, las cuales midieron 17.5 a 28.0 x 9.3 a 12.0 ¼. Las microconidias fueron producidas en los lóculos, contenidos en picnicios y estroma ascógeno.

#### Otros Estudios

Harley et al. (1975) realizaron aislamientos en trocos y ramas de almendro de la variedad Non-Pareil, donde se produjeron dos hongos clasificados en los géneros <u>Dothiore</u> lla (= <u>Botryosphaeria</u>) y <u>Hendersonula</u>. Donde se produjeron picnidios con picnidiosporas en su interior elipsoidales o fusiformes, halinas, no septadas con un promedio de dimensiónes de 21.5  $\mu$  (con rango de 12.5 a 33.7) x 5.9  $\mu$  (con rango de 3.8 a 7.7  $\mu$ ).

Witcher y Clayton (1963) mencionan que el tamaño relativo de la conidia de varios aislamientos de <u>Botryodiplid</u>:

dothidea fueron obtenidos por medición de 100 conidios de cada islamiento. La conidia de 11 aislamientos de <u>Botryodi</u> 
plodia dothidea de arándano y otros 11 aislamientos de otros hospederos fueron de 16 a 22.9 H de longitud y 4.9 a 7.8 H da ancho. El promedio conidial para el arándano fue ligeramente más pequeño a los otros hospederos.

Seaver (1942) indica que <u>Botryosphacria ribis</u> fue encontrada en porciones de área muerta de Cassava (<u>Manihot vitilisima</u>) Pohl., el cual parece ser una nueva hospedera - más. Las medidas de las ascosporas fueron de 12.5 a 24.0 \mu de largo x 6.9 a 10 \mu de ancho.

Según Pesante (1951) la enfermedad del roble en Turin, Italia, es causado por <u>Botryodiplodia</u> sp, y que los síl tomas aparecieron a los 50 días después de las inoculaciones El patógeno invade el cortex y muere el tejido. El picnidio midió de 200 a 370 y de diámetro, y la conidia de 25 a 32 y

de largo x 13.7 a 17.15  $\mu$  de ancho.

·Millholand (1972) menciona que el "Stem blight" (tizón del tallo) en el arándano (<u>Vaccinum corbosum</u>) es causado por el hongo <u>Botryosphaeria dothidea</u> y que según Witcher y Clayton (1963) asemejan a B. dothidea con el hongo formalmente conocido como <u>Botryosphaeria ribis</u> ya que siempre se encuentran los dos al identificarlos. En los trabajos relacionados con la histopatología de <u>B. dothidea</u> menciona que los picnidios se formaron después de 14 días de inoculados las plantas midiendo de 120 a 240 de diámetro, las conidia tuvieron dimensiones de 15.27 de largo x 6 a 9 de ancho, y la hifa un promedio de 4 de diámetro.

Según Samuels y Singh (1986) el cáncer del tallo en el guisante palumbario (Cajanus cajan) es Botryosphaeria - xanthocephala (= Fusicoccum cajani) Sydow y Butler, y que - además es el primer escrito de la enfermedad y conexión de éstos dos patógenos en las islas Fijí al Sureste del Pacífico. Los estudios Etiológicos mostraron que los picnidios so subglobosos, negros y no papilados con dimensiones promedio de 100 // de largo x 150 a 200 // de ancho y las conidias de 6 a 15 de largo x 2 a 3 // de ancho; el peritecio es globoso, negro y papilado de 200 a 200 // de diámetro, con ascas de 20 a 26 // de ancho por 80 a 133 // de largo y con ocho ascosporas e su interior hialinas, unicelulares y de pared delgada con dimensiones de 8.0 a 11.0 // de ancho por 20 a 25 // de largo.

1

Stevens (1941) indica que la mayoría de las especies de Diplodia y Botryodiplodia son extremadamente semejantes uno del otro, por lo que probablemente constituyen un sólo género, y que puede ser distinguida por la planta hospedera en que se encuentran.

Webster et al. (1974) mencionan que una simple espora o colonia de hongos puede ser clasificada correctamente con la literatura que se tiene disponible, así como los medios de cultivo, temperatura y condiciones de luz y hospedero, donde se desarrolla el patógeno. En los estudios de Diplodia indican que algunos investigadores distinguen al género sobre las características del picnidio, tal como si es picudo, cabado, con estrias o suave, separado o agrupado, superficial o inmerso en el tejido del hospedero, presencia o ausencia del estroma y el tipo del ostiolo; para las características de las picnidiosporas se incluye el tamaño, ornamentación, presencia o ausencia de la constricción del septum y si el medio es húmedo o seco. En muchos casos las características usadas por un autor para distinguir a un determinado género son empleadas por otro autor para distinguir las especies de un género.

Harley et al. (1975) mencionan en sus escritos que algunos investigadores han reclasificado a los Pyrenomicetes y reducen a Botryosphaeria ribis como sinónimo de Botryosphae ria dothidea.

## Estudios de Patogenicidad

Según Saharan (1974) en aislamiento de nuez dañada en diferentes estados de infección se encontró el hongo Bo tryosphaeria ribis. Este patógeno se sembró en P.D.A. (Papa, Dextrosa, Agar) y produjo un gran número de conidias. Se hicieron inoculaciones artificiales de nueces, habiéndose en contrado multiplicación de conidias con o sin partes dañadas; las condiciones de humedad para el ruezno o envoltura de la nuez fueron Alkatene, bolsas de papel y en el laboratorio las muestras se pusieron en cajas petri con algodón mojado por 48 horas se mantuvo un control adecuado en las inocula ciones y empezaron a presentar síntomas después de los tres días en brotes y nueces dañadas. El progreso de la enfermedad de la inoculación fue similar al observado bajo condicio nes de campo. En reaislamientos artificiales de infección se conservó el mismo hongo, al igual que en todas las mues tras que se observaron.

Weaver (1975) realizó estudios de patogenicidad en frutos y árboles de Durazno, inoculando el hongo Botryosphaeria dothidea, donde a los tres meses después se presentaron
los síntomas observados en los lenticelos del área de la corteza enferma.

Harley et al. (1975) mencionan que las pruebas de patogenicidad aportaron y ayudaron a la información de la relación entre Dothiorella sp y Botryosphaeria dothidea, trabajos realizados en árboles de almendro de dos años de edad de la variedad Plus-ultra fueron inoculados en el cambium con dos

aislamientos de <u>Dothiorella</u> sp y <u>B. dothidea</u>, donde ambos - organismos fueron patogénicos y concluyeron que <u>Dothiorella</u> sp en almendro es en realidad el estado imperfecto de <u>Botry phaeria</u> <u>dothidea</u>.

## Otros Estudios

En 1972, en plantaciones grandes del cultivo de ave llano al Oeste de Nigeria, llamó la atención una severa en fermedad que causaba la muerte regresiva en tallos y flores del Meri (avellano), el organismo fue aislado e identificad como Lasiodiplodia (Pat.) (= Botryodiplodia theobromae Pat) inoculaciones en el campo con micelio del hongo produjeron los síntomas que indican que son los observados en natural, del cual el hongo fue aislado. Intentos para inducir la in fección con las conidias del hongo han sido del todo negati vo (Olunlovo y Esurvoso, 1975).

Millholand (1970) menciona que <u>Botryosphaeria corti</u> (Demaree y Wilcox) Arx y Muller en tallos de frambueso pene tra a través de los lenticelos y que la madurez del perite cio fue observada un año después de la infección.

Fenner (1925) reporta a <u>Botryosphaeria ribis</u> como u enfermedad muy importante que provoca cánceres en troncos y ramas del manzano, causando considerables pérdidas a los pr ductores en E.U.A.

#### Epidemiología

Johnson (1975) menciona en sus estudios del ruezn pegado en nogal pecanero, que en una atmósfera húmeda, la producción es rápida y, por lo tanto, la nuez al estar en fase de endospermo líquido (estado acuoso) no llega a la guiente fase de desarrollo, debido a la infección con pud ciones fuertes o serveras, el ruezno se adhiere fuertemen la cáscara de la nuez. Los rueznos con pudriciones moder empiezan a abrirse parcial o completamente antes de la ma ración en el extremo distal. En tiempo seco, la enfermed es restringida, pero al cambiar inmediatamente el tiempo medo, la pudrición es severa, momifica el fruto y los res duos caen o se adhieren al árbol; por lo tanto, esto ayud la diseminación del hongo.

Según Lewis y Van Arsdel (1978) <u>Botryodiplodia th</u>
<u>bromae</u> produce cánceres en las ramas del Sicomoro (<u>Platan</u>
<a href="mailto:occidentalis">occidentalis</a>) a temperatura de 30 a 35°C en un 98 por cie
de los puntos inoculados a la planta.

Shahin y Claflin (1980) mencionan que el hongo <u>Dot</u> rella creció entre los 20 y 37°C y un leve crecimiento oc rrió a los 40°C y el óptimo fue a los 30°C. El hongo pro micelio blanco algodonoso, que después con el tiempo se t gris y éste de un color negro, esto fue en PDA. Se reali ron varias pruebas <u>in vivo</u> e <u>in vitro</u> para producir el es perfecto <u>Botryosphaeria dothidea</u>, pero los resultados fue negativos. La no aparición del estado sexual de este hon en tejidos de hospederos infectados y en cultivo fueron r tadas por varios investigadores.

# CAPITULO III MATERIALES Y METODOS

#### Ubicación

El presente trabajo se realizó en la huerta denominada "Villa Verde", propiedad del Sr. Luis Siller, localizala en el Municipio de General Cepeda, Coah., y forma parte lel programa de investigaciones del Departamento de Parasito-ogía Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio - Jarro"

## Situación Geográfica\*

Latitud	25°	23'	Norte
Longitud	101°	19'	Oeste
Altitud	1514 msnm	٠	

## laracterísticas climático-Edáficas

Precipitación media anual	396.9 mm
Temperatura media anual	19.2°C

Clima seco, semicálido con invierno fresco, muy extremoso y escasa precipitación invernal; lluvias de verano y sequía - corta en la temprada.

Depto. Agrometeorología de la U.A.A.A.N.

El trabajo se desarrolló en árboles de nogal pecanero (<u>Carya illinoensis</u>, Koch) utilizando plantas con características similares de edad y vigor. Los cultivares empleados para este estudio fueron Western y Wichita, plantados en
1967.

Los parámetros a realizar fueron los siguientes:

- 1. Estudios etiológicos
- 2. Pruebas de patogenicidad
- 3. Estudios histológicos
- 4. Bioensayos con fungicidas

#### Estudios Etiológicos

Para la identificación y aislamiento del microorganismo se colectó material vegetal enfermo de la huerta en cuestión y en condiciones de laboratorio se utilizó la técnica de vertido en placa, donde se aislaron en medios de P.D.A. (Papa, Dextrosa, Agar) y A.A. (Agar - Agua). Para la caracterización del hongo se inoculó en los medios de cultivo mencionados y se sometió a condiciones de luz y obscuridad, así como de temperatura.

Para la inducción del estado sexual de hongo, se manejaron condiciones adversas al microorganismo, se colocaron en frascos partes de tejido vegetal (tallos y frutos) en refrigerador a una temperatura 2 a 7 °C, con la finalidad de provocar la formación de estructuras sexuales del patógeno. Además, bajo el microscopio se midieron estructuras reproductivas, tanto del estado imperfecto como del perfecto en montas permanentes.

#### Estudio de Patogenicidad

Una vez identificado el microorganismo se procedió a aislarlo efectuando siembras puras con conidias y picnidios correspondientes a Botryodiplodia; así mismo, se colocó en tubos inclinados con aceite mineral para su conservación.

Para la obtención de la suspensión, se utilizaron las capas puras del hongo que se preservaron en tubo inclinado; posteriormente en una licuadora se colocaron las cepas del -

hongo, agregándole agua destilada para de ese modo ser 1i - cuados y pasadas por un tamiz 325 con la finalidad de obtener las conidias libres para su conteo, donde se utilizó - una laminilla cuadriculada y un counter tipo H 102-4 donde - finalmente se obtuvo una suspensión en 150 ml con 6,908 conidias ml.

Para las pruebas de campo se seleccionaron cuatro árboles al azar, dos Wichita y dos Western, donde se tomaron - cuatro brotes de la parte media del árbol y se asperjaron - con un atomizador donde una suspensión fue de agua destilada estéril, utilizada como testigo y otra tanta que contenía la suspensión del hongo. Para cada uno de los cultivares fue - tratado con testigo y suspensión. Una vez ya inoculados, se procedió a cubrir los brotes con bolsas de cera, donde posteriormente se hicieron observaciones cada semana, hasta que - aparecieron los síntomas típicos de la enfermedad.

## Estudios Histológicos

De las muestras colectadas se cortaron trozos de 1 cm de tejido enfermo y sano y se fijaron en una solución - Graff III por un lapso de 20 días, después se deshidrataron en una serie de alcoholes y fueron embebidas en parafina, y hacerse cortes de 10 a 15 y teñirse con safranina y verde rápido FCF.

#### Bioensayos con Fungicidas

Se evaluó la efectividad e cuatro fungicidas para - el combate de <u>Botryosphaeria ribis</u> (=<u>Botryodiplodia ribis</u>) - in vitro.

Este trabajo se llevó a cabo en la cámara bioclimáti ca número siete del laboratorio del Departamento de Parasito logía de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro".

#### Análisis Estadístico

Los resultados fueron evaluados a través de un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial e igual número de repeticiones por tratamiento, utilizándose para la interpretación de este análisis la prueba de rango múltiple de Duncan, con nivel de significancia de 0.01 por ciento para cada factor analizado (Producto dosis).

#### Parámetro a Evaluar

En este trabajo únicamente se evaluó el área de crecimiento del hongo.

CUADRO 3.1. Productos usados en el bioensayo

Nombre Común del producto	Concentración	Formulación	Dosis comercial en 100 lt agua
فارج والمراجعة والمساورة والمراجعة والمراجعة والمراجعة والمراجعة والمراجعة والمراجعة والمراجعة والمراجعة والمراجعة	οŅ		æ
Thiabendazole <sup>1</sup>	09	polvo	50 a 90
Zineb <sup>2</sup>	80	polvo	48 a 97
Triadimefon <sup>3</sup>	25	polvo	25 a 50
Dinocab 4	25	polvo	60 a 90
			والمنافقة والمساوة والمنافقة والمنافقة والمنافقة والمنافقة والمنافقة والمنافقة والمنافقة والمنافقة والمنافقة
Nombre C	Nombre Comercial		
. 1 Te	Tecto 60		
2 zi	Zineb		
3 Ba	Bayleton		
4 Ka	Karathane		

## CAPITULO IV RESULTADOS

## Estudios Etiológicos

Este factor fue muy importante, ya que a través de un gran número de pruebas de laboratorio, tanto de siembras de tejido vegetal (frutos y tallos) en los medios de cultivo, así como los cortes de los mismos, vistos al microscopio; se logró obtener e identificar a Botryosphaeria ribis (= Botryodiplodia ribis) donde se contempló la presencia de los picnidios típicos del estado amorfo (imperfecto) del organismo en estudio; caracterizándose por su apariencia globosa y de co lor obscuro y acoraceo provista de una abertura circular, así mismo, para confirmar dicha identificación se procedió a ob servar los conidios que contenían en su interior los picnidio para esto en un portaobjetos y con sumo cuidado se reventaron los cuerpos fructíferos (picnidios), donde se observaron coni dios hialinos y de color café, algunos unicelulares y otros tanto bicelulares; cabe mencionar que el tamaño relativo de los picnidios y conidios fueron obtenidos por la medición de 30 y 100 de ellos respectivamente, y que de acuerdo con Alexo poulos (1966), así como la ilustración de géneros de hongos imperfectos de Barnett y Hunter (1972) coinciden con la de -

سافيا فيدا السافقية وللافقال للتداريج

Los valores promedio micrométricos obtenidos de los picnidios fueron de 462 4 de ancho x 523 4 de largo, para - los conidios de 10 4 de ancho x 21.6 4 de largo, (Figura 4.1)

Diferentes partes de tejido vegetal como tallos y frutos se colocaron en frascos y puestos en refrigerador a una temperatura de 2 a 7 °C con el propósito de inducir el estado sexual del hongo, donde cada 15 días se sacaron pequeñas muestras para su observación, no lográndose apreciar niguna estructura de resistencia.

En los meses de febrero y marzo de 1987, se presentaron fríos intensos en toda la región Norte del país, inclu sive en el área de General Cepeda, Coah., se registraron ter peraturas abajo de los -4°C\*, donde en los meses de Abril y Mayo se trajeron muestras al laboratorio para ser procesa das, lográndose observar peritecios del tipo globoso que contenían ascas con ocho ascosporas en su interior unicelula res y hialinas a una tonalidad verde, el tamaño relativo de los peritecios, ascas y ascosporas fue obtenido de la medi ción de 20, 50 y 100 de ellos respectivamente, y que de acuerdo con el diagnóstico de las enfermedades de las plan · tas de Rubert Streets (1978), así como su revisión de litera tura coinciden con las de Botryosphaeria ribis. Los valo res promedio micrométricos obtenidos de los peritecios fueron de 515 $\mu$  de ancho x 605 $\mu$  de largo; para las ascas de 11 $\mu$ ancho x 132 $\mathcal{H}$  de largo y ascosporas de dimensiones de 10 $\mathcal{H}$ de ancho x 20  $\mu$  de largo, (Figura 4.2)

<sup>\*</sup>D.G.E.A. - S.A.R.H.



FIGURA 4.1. Botryodiplodia ribis



FIGURA 4.2. Botryosphaeria ribis

## Pruebas de Patogenicidad

Las inoculaciones en el campo se realizaron el 22 de junio de 1987, y hubo de transcurrir un mes en que aparecieran los síntomas típicos del patógeno, donde en el mes de - Septiembre se procedió a reaislar al organismo, confirmando así una vez más que el agente causal del "ruezno pegado" es Botryosphaeria ribis (= Botryodiplodia ribis).

#### Estudios Histológicos

Para realizar esta prueba, hubo que esperar hasta un período de dos meses, pues los trozos de 1 cm de tejido no lograban fijarse en la solución. Una vez ya fijados, se procedió a su manipuleo, encontrándose con la dificultad para sus cortes al microtomo, pues el tejido del ruezno de la nuez es muy poroso no lográndose buenas muestras para su observación al microscopio ni su clara nitidez a la presencia de estructuras fungosas que pudieran ser las del microorga nismo en cuestión.

#### Bioensayo con Fungicidas

En este apartado se presentan los resultados obtenidos, así como las evaluaciones estadísticas correspondientes
En este trabajo se evaluó el comportamiento de los productos
con Thiabendazole, Zineb, Triadimefon y Dinocab, sobre el hongo Botryosphaeria ribis (= Botryodiplodia ribis) expresán-

por el micelio del hongo sobre PDA en sus respectivos tratamientos como se observa en el Cuadro 4.1.

En la Figura 4.3 se puede ver claramente el comportamiento del crecimiento del micelio del hongo al final de la prueba realizada con los cuatro diferentes fungicidas y diferentes intervalos de exposición. El crecimiento del hogo se puede comparar con el testigo.

Evaluación Gráfica de la Inhibición del Crecimiento del Micelio de los Cuatro Diferentes Productos

Los resultados de la inhibición del crecimiento de micelio del hongo Botryosphaeria ribis (=Botryodiplodia ribis) por los productos: Thiabendazole, Zineb, Tridimefon y Dinocab; los datos se tomaron de los cinco días de exposición, al producto realizando un análisis de varianza por día, esto con el objeto de poder detectar estadísticamente la efectividad de cada uno de éstos.

En las Figuras 4.4, 4.5, 4.6 y 4.7 se puede observar el comportamiento de los productos: Thiabendazole vs. testigo; Zineb vs testigo; Tridimefon vs. testigo; y Dino cab vs. testigo. Como se puede observar, el crecimiento de hongo en el testigo se tuvo un crecimiento más rápido que e de todos los tratamientos.

Estadisticamente en el transcurso de las primeras : hrs el Zineb fue el producto que mejor se comportó en cuanto

Nombre comín		Tata tata	Crecimiento en cm2	cm2 ici6p (bre)	
del producto	24	48	72	96	120
Thiabendazole $^{f 1}$	0.100	0.680	1.463	2.227	3.843
Zineb <sup>2</sup>	0.00.0	0.037	0.120	0.220	0.666
Tridimefon <sup>3</sup>	0.070	0.120	0.173	0.247	0.363
Dinocab <sup>4</sup>	0:030	0.057	0.087	0.097	0.103
Testigo	1.230	3.903	10.823	23.180	39.280

Nombre Comercial

1 Tecto 60

2 Zineb

3 Bayleton

4 Karathane

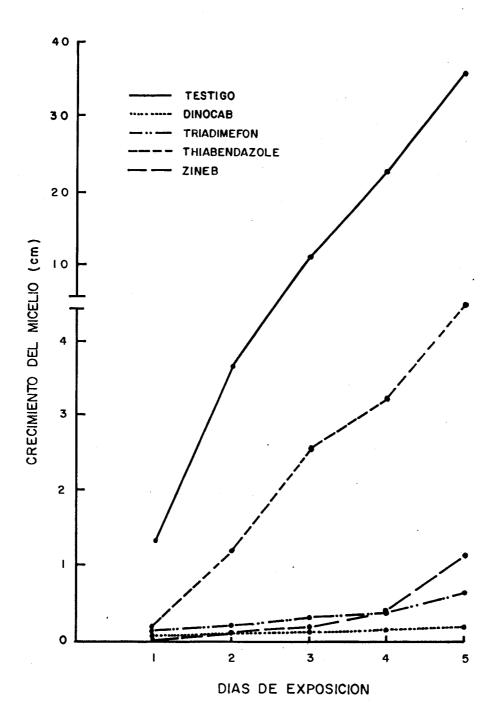


Figura 4.3 Comportamiento del crecimiento del hongo Botryodiplodia ribis a la aplicación de los cuatro diferentes productos y a diferentes intervalos, comparados con el testigo.

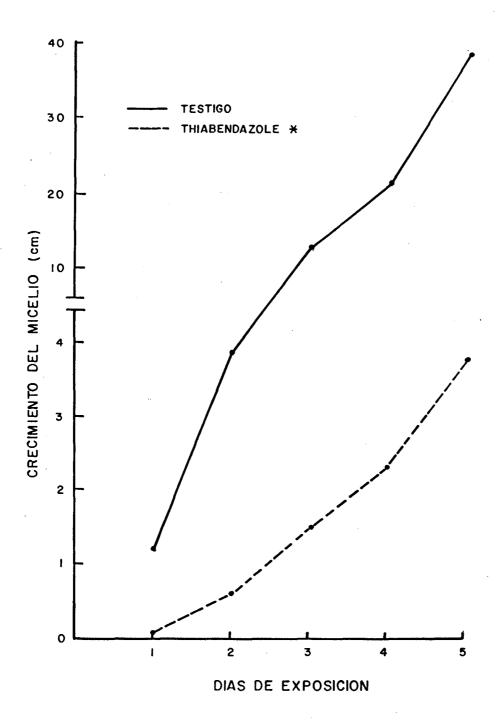


Figura 4.4 Respuesta del hongo <u>Botryodiplodia ribis</u> a la aplicación del fungicida Thiabendazole durante un tiempo de exposición de cinco días

\* TECTO 60

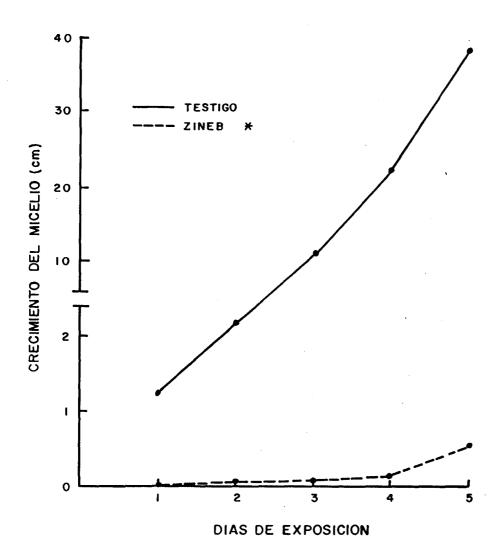
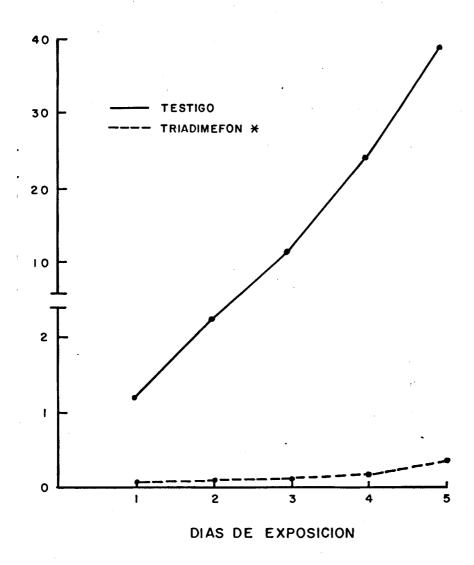


Figura 4.5 Comportamiento del crecimiento del hongo

Botryodiplodia ribis A la aplicación del fungicida Zineb\* durante un tiempo de exposición de cinco días

\* ZINEB

051



igura 4.6 Comportamiento del crecimiento del hongo

Botryodiplodia ribis con la aplicación del fungicida Triadimefon durante un tiempo de exposición de 5 dias.

\* BAYLETON

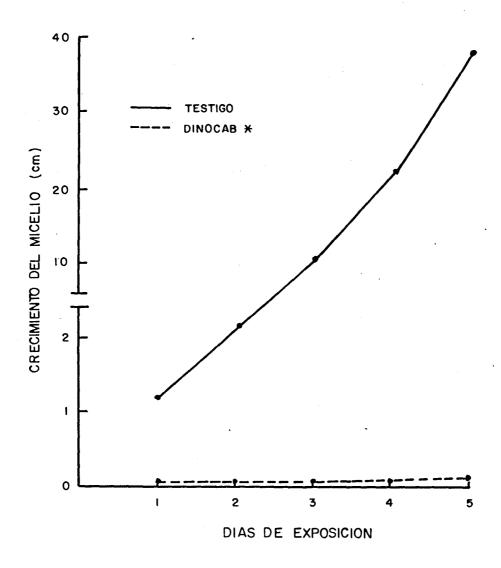


Figura 4.7 Comportamiento del crecimiento del hongo

Botryodiplodia ribis con la aplicación del fungicida Dinocab\* durante un tiempo de exposición de 5 días

## \* KARATHANE

a la inhibición del crecimiento del micelio, seguido de éste el Dinocab, Triadimefon y Thiabendazole. Al término de 48 hr. el mismo producto (Zineb) siguió su mismo comportamiento de inhibición de crecimiento del hongo, ya que su crecimiento - fue de 0.037 cm como se puede observar en el Cuadro 4.1. Al transcurso de las 72 hrs hubo un cambio notable en cuanto al comportamiento de los productos; principalmente del Dinocab, ya que éste comenzó a mostrar mejor acción fungistática, comparado a los demás productos.

En el lapso de las 72 a 120 hrs estadísticamente el Dinocab siguió comportándose de una manera tal que fue el único producto que durante todo el tiempo de exposición siguió una tendencia más homogénea.

Por otra parte, el Zineb durante las 72 y 96 hrs de exposición fue el siguiente mejor producto en cuanto a la inhibición del crecimiento del micelio; pero hubo un cambio repentino a las 120 hrs de exposición a tal grado que el Triadimefon mejoró su acción fungistática en ese lapso de exposición. En tanto que el Zineb no fue capaz de inhibir lo suficiente en el crecimiento del micelio.

# CAPITULO V

#### DISCUSION

### Estudios Etiológicos

En relación con estos estudios, se puede decir que de acuerdo con Webster et al (1974) donde considera los c terios para la identificación y clasificación de un determi do género o especie y tomando en cuenta los valores micromé tricos de las estructuras, tanto sexuales como asexuales de patógeno; se puede afirmar que el agente causal del "ruezno pegado" en nogal pecanero es Botryosphaeria ribis (= Botryo diplodia ribis), ya que así lo demostraron los resultados o tenidos en esta prueba; donde los valores promedios obtenid del estado perfecto fueron los siguientes: Peritecios de 60 de largo x 515 de ancho; Ascas de 132 de largo x 21 de ancho; y Ascosporas de 20 de largo x 10 de ancho. Para el estado imperfecto: Picnidios de 523 de largo x 462 de ancho y conidios de 21.6 de largo x 10 de ancho.

Lo anterior refleja una relación aceptable en cuant a la semejanza de las estructuras en los trabajos realizado por los autores como Seaver (1942), donde menciona que las a cosporas del hongo <u>Botryosphaeria ribis</u> midieron de 12.5 a 24.0 de largo x 6.9 a 10.0 de ancho. Witcher y Clayton

(1963) obtienen para <u>Botryosphaeria</u> <u>dothidea</u> ascas de 101 de largo x 9.5 de ancho; así mismo, obtienen picnidios que en su interior contenían conidios de 16 a 22.9 de largo x 4.9 a 7.8 de ancho. Harley <u>et al</u>. (1975) señala que los picnidios de <u>Dothiorella</u> (= <u>Botryosphaeria</u>) midieron de 52 a 574 de largo x 258 a 443 de ancho y los conidios de 12 a 33.7 de largo x 3.8 a 7.9 de ancho.

Weaver (1974) obtiene para <u>Botryosphaeria</u> <u>dothidea</u> ascas de 1204 de largo x 194 de ancho y ascosporas de 17.5 28.04 de largo x 9.3 a 12.04 de ancho; así mismo, obtiene picnidios donde encuentra conidios con dimensiones de 15.24 de largo x 6 a 94 de ancho.

Samuels y Singh (1986) mencionan para Botryosphaeri xanthocephala, peritecios de 200 a 300 4 de diámetro; con cas de 80 a 133 4 de largo x 20 a 26 4 de ancho; ascosporas 20 a 26 4 de largo x 8.0 a 11.0 4 de ancho; picnidios de 150 200 4 de diámetro y conidios de 17.0 a 27.8 4 de largo x 6.9.0 4 de ancho.

De acuerdo a estos investigadores, la proporción d las medidas de las estructuras sexuales y asexuales del ho go son muy estrechas y considerando lo mencionado al inici de este apartado, motiva a afirmar lo dicho por Saharan (1974) y Johnson (1979) que el agente causal del "ruezno p gado" en nogal pecanero es Botryosphaeria ribis (=Botryodi plodia ribis).

#### Pruebas de Patogenicidad

Estas pruebas demostraron que el patógeno sembrado en P.D.A. (Papa, Dextrosa, Agar) produjo un gran número de estructuras reproductivas y que las inoculaciones artificiales en laboratorio y campo, fueron satisfactorias, ya que en los reaislamientos se conservó el mismo hongo Botryosphaeria ribis (= Botryodiplodia ribis) esto coincide con Saharan
(1974) pero, difiere de la aparición de los síntomas en el campo; ya que aquí tardaron cuatro semanas en aparecer, y él
en sus estudios indica únicamente tres días, sin embargo, vebster et al (1974) en sus trabajos con Botryosphaeria dothidea en Durazno, los síntomas tardaron hasta tres meses en
aparecer después de las inoculaciones; se supone que esta diferencia se deba posiblemente a la divergencia de las regiomes, así como las condiciones en que se efectuaron estos tabajos

#### Estudios Histológicos

En esta prueba no se logró observar con claridad aluna estructura reproductiva o efecto que pudiera ser la del
rganismo en estudio; se supone que la dificultad para fijar
l tejido vegetal en la solución, así como el problema para os cortes al micrótomo debido a la porosidad del fruto no e llegó a definir al patógeno en esta prueba.

#### Bioensayos con Fungicidas

Estadísticamente en el testigo se tuvo un crecimieno micelial más rápido que el de todos los tratamientos; el cual nos indica la habilidad de desarrollo del patógeno; y - que al aplicar los productos en esta prueba fue inhibido en diferentes períodos de tiempo por el Zineb y el Dinocab. Esto nos demuestra que el uso de estos compuestos para inhibir el desarrollo del patógeno es correcto. La acción del Thiabendazole fue pobre y el Triadimefon tardó en dar una res puesta satisfactoria para la inhibición del hongo; observando las pruebas estadísticas se puede asegurar que el Dinocab fue el mejor de todos.

Para las pruebas de campo se reserva el comentario de la acción de estos fungicidas, ya que posiblemente el comportamiento de éstos en esas condiciones pudieran variar con lo obtenido en este experimento bajo condiciones <u>in vitro</u>.

## CAPITULO VI

#### CONCLUSIONES

- 1. El síntoma patológico del "ruezno pegado" en nogal pecanero es causado por el hongo <u>Botryosphaeria ribis</u> (= <u>Botryodiplodia ribis</u>).
- 2. El Zineb y Dinocab mostraron mayor efectividad inhibito ria in vitro contra el patógeno.

#### CAPITULO VII

#### RESUMEN

Los objetivos del presente trabajo fueron el de la identificación del agente causal del "ruezno pegado" en nogal pecanero (Carya illinoensis Koch), así como el de realizar bioensayos in vitro, para probar la efectividad inhibito ria contra el patogeno por cuatro fungicidas, éste con el propósito de encontrar alternativas de manejo químico de la enfermedad.

El trabajo se realizó en la huerta "Villa Verde", mu nicipio de General Cepeda, Coahuila, con árboles de 20 años de edad, donde se seleccionaron los cultivares Western y Wichita. Se efectuaron trabajos de aislamientos e identificación de Enero de 1986 a Octubre de 1987.

Para la identificación y aislamiento del microorga - nismo se colectó el material vegetal enfermo de la huerta y en condiciones de laboratorio se utilizó la técnica de verti do en placa, donde se aislaron en PDA (Papa, Dextrosa, Agar) y AA (Agar - Agua).

Se logró identificar a <u>Brotyosphaeria ribis</u> (Tode ex Fr.) Gross y Dug (=Botryodiplodia ribis) Pat, como agente - causal del "ruezno pegado" en nogal pecanero. Una vez ident ficado el microorganismo se procedió a aislarlo, efectuando

siembras puras en tubos inclinados agregándole aceite mine ral para su preservación, así mismo, se examinaron las es tructuras reproductivas del hongo, coincidiendo con las de mismo aquí estudiado.

Para complementar el trabajo, se realizaron las probas de campo inoculando algunos brotes de los árboles con suspensión del hongo y otra con agua destilada estéril com testigo, donde se manifestaron los síntomas típicos de la efermedad, reaislando una vez más en el laboratorio al orga nismo causante del ruezno pegado.

Los productos utilizados en los bioensayos in vitipara evaluar la efectividad en el control de Botryosphaeria ribis (=Botryodiplodia ribis) fueron los siguientes: Thiabadazole, Zineb, Triadimefon y Dinocab. El Zineb y Dinocab fueron los mejores productos en cuanto a la efectividad, mas sin embargo, el Dinocab fue el que tuvo un mejor efecto inlibitorio sobre el desarrollo del patógeno.

#### CAPITULO VIII

## LITERATURA CITADA

- Alexopoulos, J.C. 1966. Introducción a la Micología Edit. Univ. Buenos Aires. Argentina. pp 17-19; 266-267.
- Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 1972. Illustred Genra of In perfect fungi. CAT. 188 pp. Minneapolis, Minn.
- Booth, J.A. and Shannon, E.L. 1982. Problems Contributing to Pecan not Inmaturity in the West. 16th. Western Pecan Conference. NMSU. Las Cruces, New Mexico. p 95-96.
- Carey, R.C. and D.F. Schoeneweiss. 1975. The Influence of Controlled Stress on Susceptibility of European White Birch Stem to a Atack by Botrhyosphaeria dot dea. Phytopathology 65:369-373.
- Connor, S.R. 1967. Some Aspects of Canker Development App Wood by Botryoshpaeria ribis. Phytopathology. 57: 645-646.
- Fenner, E.A. 1925. A Rot of Apples. Caused by Botryospha ria ribis. Phytopathology. 15:230-234.
- Halliwell, R.S. and J.D. Johnson. 1978. Chemical Control o Pecan "Stem and Blight" and "Shuck die Back". Texa A & M University Bull. No. 1392. p.p. 1 - 4.
- Harley, E., J. P. Davis and J.E. Devay. 1975. Relationship of Botryoshaperia dothidea and Herdersonula torulo dea to a Canker Disease of Almond. Phytopathology. 65:114-112.

- Johnson, J.D. 1975. Ruezno Pegado en Nogal Pecanero. IV Ciclo de Conferencias Internacionales de Productores de Nuez en la República Mexicana. CONAFRUT SAG. pp 96 97.
- \_\_\_\_\_. 1979. Two Diseases Causing Serious Losses in Pecans. Bull Texas A & M University. College Station pp. 2 4.
- Lewis, R., Jr. and E.P. Van Arsdel. 1978. Development of Botryodiplodia Cankers in Sycamore at Controlled Temperatures. Plant Diseases Reporter. 62:125-126.
- Malstrom, H., and H. Kaufman. 1984. Controlling Pecan Diseases. New Mexico State University. Cooperative Extensión Service. Las Cruces. Bull 400 W-11. pp 1-8.
- Millholand, R.D. 1970. Histology of Botryosphaeria Canker of Susceptible and Resistante Higbusk Blueberries. Phytopathology 60:60-74.
- . 1972. Histopatology and Pathogenicity of Bc tryosphaeria dothidea on Blueberry Stems. Phytopathology 62:654-660.
- Olunlovo, O.A. and O.F. Esurvoso. 1975. Lasiodiplodia theobromae Floral Shhot Dieback Disease of Cashew Nigeria. Plant Disease Reporter. 49:176-179.
- Parmeter, J.R., Beva R. V. and Hood J.R. 1960. Epidemil -Leaf-Blighting of Calefania laurel. Plant Diseases Reporter. 44:669-671.
- Pesante, A. 1951. On a Disease of Red Oak (Quercus rubra).
  Review Applied Micology, 30:129-130.
- Saharan, G.S. 1974. Botryosphaeria Nut Rot of Pecan. Plant Disease Reporter. 58 (II): 1030-1031.

- Samuels, G.J. and B. Singh. 1986. <u>Botryosphaeria xanthoce-phala</u>, Causes of Stem Canker in Pigeon Pea Trans Br. Mycol. Soc. 2:295-299.
- Seaver, M.J. 1942. <u>Botryosphaeria ribis and Liplodia theo</u> <u>bromae</u> in Cassava (<u>Monihot vtilissima</u>) <u>pohl. Micrologia.</u> 44:519-523.
- Shahin, E.A. and L.E. Claflin. 1980. Twig Blight of Douglas Fir: A New Disease Caused by <u>Dothiorella dothidea</u>. Plant Disease. 64:47-50.
- Stein, L., and R. McEachern. 1983. Pecan Shuck Disorders 62nd. Annual Conference of the Texas Pecan Growers Association, Fort Worth, Texas. July. 17-20. pp 1-5.
- Stevens, N.E. 1941. Host Relations in Specied of <u>Diplodia</u> and Similar Genera. Micología. 33:69-73.
- Streets, R.B. 1978. The Diagnosis of Plant Diseases. Cat. pp 9-13. 9-14. University of Arizona Press.
- Weaver, D.J. 1974. A Gummosis Disease of Peach Tress Caused by Botryosphaeria dothidea. Phytopathology 64:1429-1432.
- Webster, R.K., Hewitt, W.B., and Bolstad J. 1974. Studies on Diplodia and Diplodia Like Fungi VII. Criteria for Classification. Hilgardia 42:451-465.
- Witcher, W., and C.N. Clayton. 1963. Blueberry Stem and Blight Caused by Botryospaheria dothidea (=B. ribis)
  Phytopathology 53:705-711.

APENDICES

APENDICE A

Número de cánceres por brote y año.

TABLA I

Número de árbol	Número de brote	Brote 1985	Brote 1986
	1 2	5 1	0
	3	2	2
_	4	1	1
1	5	3	ī
Western	6	1	0
	. 7	1	1
	8	1	. 0
	1	1	2
	2	1	1
	3	2 1	1
2	4 =	2	0 0
Wichita	5 6	1	0
	7	1	ĭ
	8	3	ō
	1	9	3
	2	0	3 3
	3	0	0
3	4	1 .	1
Western	5	1	1
	6 7	1	1 0
	8	0 4	2
	8	4	2
	1	4	0
	2	1	0
	3	1	0
4	4	1	1 0
Wichita	5 6	2 0	0
	5 7	0	0
	8	1	0

. . . . .

# ..... continuación Tabla I

Número de árbol	Número de brote	Brote 1985	Brote 1986
	1	3	0
•	2	0	0
	3	0	0
5	4	0	. 0
Western	5	0	0
	6	5	3
	7	1	2
	8	1	1
6 Wichita	1 2 3 4	5 1 2 4	2 0 0 2
••••	5	0	0
	о 7	υ 2	1
	/	2	1
	<b>ა ა</b>	, . <b>U</b> .	

Número de cánceres por brote y año

TABLA II

Número de árbol	Número de brote	Brote 1985	Bort 1986
	1	10	0
	2	2	1
	2 3	0	0
1	4	. 1	.0
Wichita	5	2	0
	6	7	2
	7	0	0
	8	20	3
	1	0	. 0
	2	0	0
	3	1	0
2	<b>. 4</b> .	7	0
Western	5	<u>1</u> ·	0
	6	7	0
	5	1	0
	6 7	1	0
		1	0
	8	1	U
	1	7	0
	2	5	0
3	3	3	3
Wichita	<b>4</b> .	0	0
WICHILLA	5	0	0
	6	0	0
	7	' 1	0
	8	3	0

Número de Cánceres por brote y año

TABLA III

Número de árbol	Número de brote	Brote 1985	Brote 1986
1 Western	1 2 3 4 5 6 7 8	6 3 0 1 1 0 2	2 0 0 0 0 0 0 1
2 Wichita	1 2 3 4 5 6 7 8	1 0 1 0 1 3 0	2 0 0 0 0 0 0
3 Western	1 2 3 4 5 6 7 8	1 1 0 0 1 0 1 2	0 0 0 0 0 0 1
		7	2
4 Wichita	2 3 4 5 6 7 8	2 0 1 0 2 2 2 5	0 0 0 0 0 0 0

. . . .

# ... continuación Tabla III

Número de árbol	Número de brote	Brote 1985	Bort 1986
5 Western	1 2 3 4 5 6 7 8	5 0 2 0 2 1 0	0 0 0 0 0 0
6 Wichita	1 2 3 4 5 6 7 8	1 0 1 1 3 0 3	0 0 0 0 1 0 0

(x,y) = (x,y) + (x,y

Número de cánceres por brote y año.

TA	BLA	ΙV

Número de árbol	Número de brote	Brote 1985	Brote 1986
1 Wichita	1 2 3 4 5 6 7 8	6 0 2 3 1 1 1 3	1 0 0 0 0 0 0
2 Western	1 2 3 4 5 6 7 8	4 2 0 0 1 2 3 1	. 7 2 0 1 3 4 2
3 Wichita	1 2 3 4 5 6 7 8	2 1 1 0 0 0 2	0 0 0 0 0 0
4 Western	1 2 3 4 5 6 7 8	1 0 4 4 0 3 3 3	0 1 0 0 0 5 0

. . . . . .

# .... continuación Tabla IV

Número de árbol	Número de brote	Brote 1985	Brote 1986
	1	1	0
	2	2	1
e	3	1 .	0
J	4	2	0
Western	5	0	0
	6	0	0
	7	6	.0
	8	0	0

## APENDICE B

CONCENTRACION DE DATOS ORIGINALES, ANALISIS DE VARIANZA Y PRUEBA DE DUNCAN DE LA INHIBICION DEL CRECIMIENTO DEL HONGO Botryosphaeria ribis (=Botryodiplodia ribis) In VitroCON CUATRO FUNGICIDAS A DIFERENTES INTERVALOS DE TIEMPO.

T T TOTOMETH

Concentración de datos originales, análisis de varianza y prueba de Duncan, de la inhibición del crecimiento del hongo Botryodiplodia ribis in vitro con cuatro fungicidas de diferentes grupos toxicológicos, expuestos a 24 hrs después de haber aplicado los cinco tratamientos con tres dosis diferentes (comerciales) y con seis repeticiones cada una. Una caja petri por repetición. Buenavista, Saltillo, Coah.

						فيتكسن والمتاريخ والمتاركة			
Tratamientos			II	Repeti III	Repeticiones III IV	Λ	IA	Tota1	ı×
(ppm) Thiabedazole 300 420 540	(ppm) 300 420 540	0.00	0.03	0.00	0.00	0.03	0.03	0.12 0.12 0.07	0.100
Zineb	384 576 776	0.00	0000	0000	0.00	0.00	0000	00.00	00.0
Triadimefon	63 94 125	0.00	0000	0.00	0.03	0.00	0.00	0.03 0.15 0.03	0.070
Dinocab	150 188 225	0000	0.00	0.03	0.00	0.00	0000	0.05 0.04 0.00	0.030
Testigo		0.13 0.07 0.17	0.10 0.10 0.17	0.58 0.13 0.13	0.10	5.34 0.17 0.13	0.64 0.13 0.20	6.89 0.80 1.00	1.230

.... continuación

F.V.	G.L.	s.c.	C.M.	F.C.	.05	.01
Tratamiento	14	.674	. 048	11.16**	1.845	2.360
Error	75	.328	.004			
Total	89	1.002				
C.V. =	22.60 %					
** Dife	Diferencia altamente	e significativa				
Promedios $(\bar{x})$	00.0	0.03	0.07	0.10	1.23	
Crecimiento del hongo (x)	mgo (x)					
					ਲ	
			a a			
		U				
		d	واستسارة مرسوا مساورة والمساورة والمساورة والمساورة والمساورة والمساورة والمساورة والمساورة والمساورة والمساورة			
	Φ					
		•				

Concentración de los datos originales, análisis de varianza y prueba de Duncan, de la inhibición del crecimiento del hongo Botryodiplodia ribis in vitro con cuatro fungicidas de diferentes grupos toxicológicos, expuestos a 48 hrs después de haber aplicado los cinco tratamientos con tres dosis diferentes (comerciales) y con seis repeticiones cada uno. Una caja petri por repetición. Buenavista, Saltillo, Coah.

				0:10000					
Tratamientos		i i i i H	 	III IV	iones IV	Λ	IA	Total	ı×
Thiabendazole	(ppm) 300 420 540	0.58 0.03 0.03	0.20 0.13 0.20	0.03 0.13 0.20	0.00 0.13 0.03	0.15 0.07 0.00	0.10 0.03 0.00	1.06 0.52 0.46	0.680
Zineb	384 576 776	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.03 0.08 0.00	0.037
Triadimefon	63 94 125	0.00	0.02 0.00 0.00	0.03	0.03	0.00	0.00 0.13 0.00	0.08 0.23 0.05	0.120
Dinocab	150 188 225	00.00	0.02 0.00 0.00	0.10 0.03 0.00	0.00	0.00	0.00	0.12 0.05 0.00	0.057
Testigo		0.72 0.45 0.64	0.50 0.50 0.38	1.68 0.34 0.34	0.34 0.58 0.50	0.79 0.64 0.38	1.77 0.58 0.58	5.80 3.09 2.82	3,903

.... continuación

				;		
F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	50.	F .01
Tratamiento	14	6.505	0.465	15.00**	1.845	2.360
Error	75	2,297	0.031			
Total	68	8.802				
C.V.		18.36 %				
*	Difer	Diferencia altamente significativa	significativa			
Promedios $(ar{x})$	0.037		0.057	0.120	089°0	3.903
Crecimiento del hongo $(\vec{x})$	jo (x̄)					ਲ
					д	
		υ				
		q				
•	U					

APENDICE 3 B

tres dosis diferentes (comerciales) y con seis repeticiones cada una. Una caja petri por re-petición. Buenavista, Saltillo, Coah. Concentración de datos originales, análisis de varianza y prueba de Duncan, de la inhibición del crecimiento del hongo Botryodiplodia ribis in vitro con cuatro fungicidas de diferentes grupos toxicológicos, expuestos a 72 hrs después de haber aplicado los cinco tratamientos con

					•				
Tratamientos		H	II		-Repeticiones III IV	Λ	IA	Tota1	١x
Thiabendazole	(ppm) 300 420 540	0.88 0.17 0.17	0.28 0.58 0.25	0.13 0.34 0.38	0.05 0.28 0.20	0.28 0.17 0.02	0.28 0.10 0.13	1.90 1.64 1.15	1,563
Zineb	384 576 776	0.03	0.02	0.03	0.03	0.00	0.03	0.23 0.11 0.02	0.120
Triadimefon	63 94 125	0.00	0.05	0.03	0.03	0.02 0.05 0.02	0.02 0.13 0.03	0.15 0.27 0.10	0.173
Dinocab	150 188 225	0.00	0.00	0.10 0.13 0.00	0.00	0.00	0.00	0.16 0.05 0.05	0.087
Testigo	::	2.43 1.33 1.91	1.91	4.15 1.33 1.13	1.76	0.95 1.54	3.46	14.66 8.99 8.82	10.823

. . continuación

F.V.	G.L.	s.c.	C.M.	F.C.	• 05	F01
Tratamiento	14	47.268	3.376	31.260**	1.845	2,360
Error	75	8.115	0.108			
Total	68	55,383				
	C.V. 12.87 % ** Diferencia a	. 12.87 % Diferencia altamente significativa	icativa	·		
Promedio $(\bar{x})$	0.087	0.120	0.173		1,563	10.823
Crecimiento del hongo (x)	hongo (x̄)					
						<b>ਹ</b>
					q	
		Ö				
		P		I		
		***************************************				
	O !	!				
		{				

APENDICE 4 B

Concentración de datos originales, análisis de varianza y prueba de Duncan, de la inhibición del crecimiento del hongo Botryodiplodía ribis in vitro con cuatro fungicidas de diferentes grupos toxicológicos, expuestos a 96 hrs después de haber aplicado los cinco tratamientos con tres diferentes dosis (comerciales) y con seis repeticiones cada una. Una caja petri por repetición. Buenavista, Saltillo, Coah.

								ووسية تتراوي ويسترك فيهمون والمتراث فيهمون	
Tratamiento	,	Н	H		repetitiones————————————————————————————————————	Λ	VI	Total	×
Thiabendazole	(pgm) 300 420 540	1.25 0.17 0.25	0.45 0.72 0.38	0.21 0.34 0.58	0.10 0.38 0.25	0.45 0.17 0.03	0.50 0.17 0.28	2.96 1.95 1.77	2.227
Zineb	384 576 776	0.03	0.05 0.03 0.02	0.05	0.03 0.10 0.00	0.05	0.10 0.05 0.00	0.31 0.33 0.02	0.220
Triadimefon	63 94 125	0.00 0.10 0.02	0.05	0.03	0.03	0.07 0.10 0.02	0.05	0.25 0.36 0.13	0.247
Dinoca <b>b</b>	150 188 225	0.00	0.00	0.10 0.03 0.00	0.00	0.03	0.00	0.16 0.08 0.05	0.097
Testigo		4.37 3.02 4.75	4.15 3.46 3.46	7.07 3.14 2.54	4.15 3.33 3.14	3.14 3.80 2.54	6.16 3.66 3.66	29.04 20.41 20.09	23.180

. . . . . . . .

.... continuación

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.		90	년 01
Tratamiento	14	212,496	15.178	71.59**	1	1.845	2.360
Error	75	15 .89	0.212			,	
Total	68	228.386					
	C.V. = 8.865 %	, 00					
	** Diferencia	ncia altamente significativa	gnificativa	,			
Promedio $(\bar{x})$	0.097	0.220		0.247	2.227		23.180
Crecimiento del hongo (x)	hongo (x̄)						В
					ą	1	
		υ					
		d		1			
	ð		ι				

APENDICE 5 B

Concentración de datos originales, análisis de varianza y prueba de Duncan, de la inhibi-ción del crecimiento del hongo Botryodiplodia ribis in vitro con cuatro fungicidas de diferentes grupos toxicológicos, expuestos a 120 hrs después de haber aplicado los cinco tratamientos con tres diferentes dosis (comerciales) y con seis repeticiones cada una. Una caja petri por repetición, Buenavista, Saltillo, Coah.

				£			1		1
Tratamientos		Н	HH	III	rependides III	Λ	VI	Total	×
Thiabendazole	(ppm) 300 420 540	2.01 0.25 0.45	0.72 0.95 0.72	0.50	0.28 0.58 0.45	0.04 0.28 0.08	0.13 0.28 0.78	5.28 2.92 3.33	3.843
Zineb	384 570 776	0.13 0.13 0.03	0.13 0.13 0.10	0.17 0.20 0.00	0.03 0.20 0.05	0.13 0.25 0.03	0.13 0.13 0.03	0.72 1.04 0.24	999.0
Triadimefon	63 94 125	0.05 0.10 0.08	0.05	0.07 0.00 0.03	0.03	0.13 0.20 0.00	0.05 0.17 0.03	0.42 0.50 0.17	0.363
Dinocab	150 188 225	00.0	0.00	0.10 0.05 0.00	0.00	0.00	0.00	0.16 0.10 0.05	0.103
Testigo	·	8.04 5.15 7.07	6.60 6.16 6.16	11.37 4.75 4.15	6.61 5.31 5.98	4.91 6.16 4.42	11.34 6.16 6.42	48.84 33.69 35.30	39.28

•

.... continuación

F.V.	G.L.	s.c.	C.M.	F.C.		•05	.01
Tratamiento	14	606.85	43.34	72.96**		1.845	2.360
Error	75	44.61	0.594				
Total.	68	651.46					
C.V.	8.70 %						
*	Diferencia	Diferencia altamente significativa	nificativa				
	*						
Promedio (x)	.103	.363	53	999°	3.843	39.227	27
Crecimiento del hongo (x)	go ( <u>x</u> )					В	
					Q		1
		Ö		•			
		q					
	υ			·			