

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

“ ANTONIO NARRO ”

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



**IDENTIFICACION DE MICRORGANISMOS PRESENTES EN
Azalea spp, Gardenia jasminoides, Ungnadia speciosa
ASÍ COMO EL CONTROL QUIMICO DE BACTERIAS IN
VITRO.**

Por:

VERONICA CEREZO HERNANDEZ

TESIS

Presentada como Requisito Parcial Para

Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Noviembre de 1998.

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

“ ANTONIO NARRO ”

DIVISIÓN DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Identificación de microorganismos presentes en *Azalea spp*, *Gardenia jasminoides*, *Ungnadia speciosa*, así como el control químico de bacterias in vitro.

POR:

VERONICA CEREZO HERNANDEZ
TESIS

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

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

APROBADO:

PRESIDENTE DEL JURADO.

M.C. MA. ELIZABETH GALINDO CEPEDA

M.C. ARACELI CHAVEZ PEREZ
SINODAL

Dr. VALENTIN ROBLEDO TORRES
SINODAL

M.C. MARIANO DÁVILA FLORES
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA.

NOVIEMBRE DE 1998.

INTRODUCCION

En casi todas las culturas del mundo las plantas de ornato juegan un papel muy importante, México cuenta con una gran diversidad de especies, además de que durante siglos han sido importadas diversas especies de otras regiones.

En la actualidad esta actividad está generando gran entrada de ingresos por divisas al País, ya que gran parte de la producción se destina a exportación, principalmente a Estados Unidos de Norteamérica, aún y cuando dicho proceso dicho proceso de exportación de cualquier producto exige un estricto control sanitario y de calidad.

Dentro de las plantas ornamentales la *Gardenia spp.* Es muy popular en los estados de Puebla, Hidalgo, Michoacán, Oaxaca por el aroma que despiden sus flores y su costo de producción es bajo, pero sin embargo, éste va en incremento debido al uso de pesticidas para el control de plagas y enfermedades.

En los estados de Puebla y Michoacán donde se produce la azalea están usando los siguientes productos como preventivos tales como: Benlate, Diazinón, Pasistín, Nuvacrón. La planta de *Gardenia jasminoides* y *Unghadia speciosa* son de un costo de producción relativamente bajo, pero que sin embargo tienen pérdidas considerables debido a la presencia de ciertos patógenos que aumentan costos de producción y ocasionan la muerte de una cantidad considerable de planta.

El precio actual de una maceta de azalea es de cinco pesos al mayoreo y cinco cincuenta al menudeo cuando ésta mide aproximadamente 20 cm., Una planta de gardenia de aproximadamente 45 cm. está en 40 pesos al mercado, y el costo de producción de la *Ungnadia speciosa* es de aproximadamente de .66 pesos, pero ésta especie no es para venta, ya que es producida en un convenio de PRONARE – UAAAN.

Debido a que en nuestro país existen pocos trabajos sobre identificación de enfermedades en ornamentales, éste trabajo plantea los siguientes objetivos:

- 1.- Identificar los microorganismos presentes en plantas de *Azalea spp*,
Gardenia jasminoides, *Ungnadia speciosa*.
- 2.- Evaluar el control que ejerce un producto químico a diferentes dosis sobre los géneros de bacterias identificados in vitro.
- 3.- Evaluar la Incidencia y severidad del agente causal de la enfermedad presente en plantas de *Azalea spp*, *Gardenia jasminoides*, *Ungnadia speciosa*.

HIPOTESIS

Los géneros bacterianos identificados, se pueden controlar con el producto a evaluar, en condiciones in vitro.

REVISION DE LITERATURA

Características de la planta. *de Azalea spp*

Esta planta . Pertenece a la familia *Ericaceae* puede llegar a ser un arbusto de dos metros, por lo cual es utilizada para maceta ó para jardines

La raíz está constituida por un sistema de raíces fibrosas, numerosas raíces laterales, bien extendidas. Las azaleas presentan limitación fisiológica: esto es un factor ligado al funcionamiento del sistema radicular.(Mas Guindal, 1942).

El tallo se desarrolla tanto a partir del epicótilo del embrión como de una de las yemas ó meristemas apicales que se encuentran en estado latente en las plantas perennes. Está compuesto de nudos y entrenudo, presentan un tallo de leñoso a semileñoso del cual se originan ramas y de éstas hojas (González, 1998)

Las características morfológicas de las hojas son una ayuda para identificar especie ó quizás los progenitores de algún híbrido. El tamaño de la hoja varía en las azaleas caducas de 0.8 a 2.5 cm. de longitud y de 0.4 a 0.8 cm. de ancho. Presenta hojas angostas lanceoladas. Las azaleas caducas pierden hojas y automáticamente brotan hojas nuevas, con un gran número de amplias hojas antes de la floración. La forma varía desde ovoide a oval ó lanceolada a lanceoladaoval y de casi redondo a oblongo.(González, 1998).

El color de las hojas varían desde un verde claro de las azaleas caducas hasta el verde oscuro en el verano. Usualmente durante la floración tienen hojas de color verde claro y al transcurrir el tiempo de caída va cambiando su coloración, por ejemplo en "Snow," "Glacier" "Coral bell".

Descripción de las flores: La corola tiene 5 pétalos ó lobulos y es gamopétala. Conjuntamente los pétalos desde el embudo forman la corola, ésta tiene una forma de un tubo, con porciones fundidas en la base. Los 5 pétalos son simétricos, semejante a una mariposa, los dos pétalos del ala superior, se inclinan un poco más.

El cáliz se encuentra cerca de la base de la corola y compuesta de 5 pequeños sépalos verdes que son fusionados en la base. En tipos de flores doble y manguera en manguera, el sépalo puede convertirse en pétalo ó ser usualmente visible como una parte separada de la flor., además la flor es sésil.

El ovario se encuentra en el centro justo sobre la base de la corola, consta de cinco celdas ó lóbulos. El pistilo es un tubo hueco originado del ovario y terminado en una pequeña y redonda añadidura que es el estigma. Mientras que los estambres se encuentran comúnmente cinco y son frecuentemente de desigual longitud, van insertados extendiéndose más allá de la corola.

La forma de las flores varía:

a)Tipo simples: Es el más común , consiste de una corola de cinco pétalos ó

lóbulos, la corola se encuentra usualmente fundida a la base.

b) Tipo manguera en manguera: Un término no botánico, cuando el pétalo sufre una metamorfosis completa, agrandándose y transformándose por dentro los pétalos.

c) Tipos semidobles: Son flores con una corola verdadera, simplemente unos pocos. Los estambres tienden a ser transformados en verdaderos pétalos ó sólo parcialmente transformados los sépalos.

d)Tipo doble: Las flores tienen pétalos verdaderos y tienen una completa o aproximadamente completa transformación de estambres en pétalos.

. El color de los pétalos varían desde un color sólido blanco, rosa mexicano, por ambos lados, coloreadas con un matiz , el cual únicamente es usual en flores de tono brillantes, flores con una base en blanco, y un margen de color rallado.

(González, 1998)

Fruto

Es una cápsula seca con numerosas semillas pequeñas, las semillas son generalmente de tamaño pequeño y numerosas pueden presentar alas o ser sin ellas. Algunas variedades híbridas han perdido su capacidad de semillas.

(Bali, 1998.)

Requerimientos del Cultivo

Temperatura

Se puede esperar un crecimiento rápido y vigoroso cuando las temperaturas diurnas son de 25 a 30°C, con temperaturas nocturnas de aproximadamente 20°C. , Por lo tanto en climas frescos tales temperaturas se pueden proporcionar solamente a cultivos protegidos durante gran parte del año.

El crecimiento vegetativo adecuado se puede efectuar con temperaturas nocturnas de 16 a 18°C, y diurnas de hasta 13°C pero la plantas crecen lentamente.

Para floración, aproximadamente 18°C se considera óptima para la iniciación del botón floral en la mayoría de los cultivares, por lo menos durante ocho semanas, si las temperaturas son de 15°ó menos las plantas permanecerán vegetativas ó la iniciación floral será esporádica. Los botones florales seguirán desarrollándose a 18°C ó más hasta que llega una etapa donde los botones entran en estado de latencia y se requieren temperaturas menores para contrarrestar éste estado.

Luz

Violetas, helechos y azaleas son ejemplos de plantas esciófilas (amantes de la sombra) (Miller, 1981 citado por González, 1998). Las azaleas se deben proteger de la luz directa del sol colocándo una tela para sombrear en el invernadero. Esta tela

puede ser tela Saran ó tela de tabaco,ó podría ser un compuesto químico asperjado en el material de protección.

Para la AzaleaSe sugiere un rango de intensidad luminosa de 21 klx (aproximadamente 2000 fc) y como mínimo 42 klx (4000 fc) como intensidad máxima (Larson, 1980).

La duración del día y la intensidad luminosa afectan la iniciación floral. Los días largos favorecen el crecimiento vegetativo para muchos cultivares, mientras que días cortos estimulan la iniciación del botón floral, y esta va ocurriendo conforme se va acortando la duración del día.

Se recomienda una intensidad luminosa de 2000 a 3000 fc durante el periodo de iniciación del botón floral, los brotes laterales permanecen vegetativos mientras los brotes superiores inician los botones florales. Se consideran a las azaleas como plantas de día neutro en cuanto a los efectos del fotoperiodo sobre la floración (Larson, 1988).

La temperatura del agua también puede tener un papel importante en el crecimiento. Plantas de la Universidad de Carolina del Norte fueron irrigadas con agua a 4°C mostrando clorosis y un crecimiento lento en todos los cultivares, pero los problemas se corrigieron fácilmente con un calentador de agua que mantenía la temperatura a 24°C, aparentemente fue afectada la absorción y transporte de nutrientes (Larson, 1988).

Suelo y Agua

La selección apropiada del medio de crecimiento puede influir para simplificar la tarea de regar las azaleas. Larson (1988) la azalea es una planta acidófila, el pH óptimo de desarrollo es de 3.5 – 5.

Ramírez (1988) recomienda aplicar riegos de cuatro minutos cada tercer día al principio del ciclo, seis minutos una vez a la semana, esto en la fase intermedia del ciclo y ocho minutos cada cuatro ó cinco días, Cuando ya se tiene programada para la venta. El sustrato utilizado en los viveros El morro se prepara a base de hoja de encino, hoja de pino molida, tezontle agrícola, previamente se esteriliza con bromuro de metilo, tierra de bosque y peat moss.

Fertilización

Se recomienda hacer aplicaciones semanalmente vía riego, aplicando elementos mayores tales como: Nitrato de amonio, Calcio, Potasio, Magnesio, ácido sulfúrico y por vía foliar se utilizan los siguientes productos: verdil, triple 17, fertiquel, ya que es la mejor forma de que las plantas adquieran fácilmente éstos elementos (Ramírez, 1997).

Despunte

Las plantas pueden ser despuntadas cinco veces desde la fecha de propagación hasta que inician y desarrollan botones florales, esto se traduce en mayor rapidez de crecimiento.

Propagación

El primer requisito para que un programa de propagación tenga éxito es un abastecimiento adecuado de plantas madre vigorosas y sanas.. Estas plantas pueden cultivarse en el campo, bajo tela de sombreado ó en invernadero la azalea puede ser propagada por semilla, estacas, injerto, corte de raíz, división y cultivo de tejidos.

Propagación Sexual

Las semillas son germinadas generalmente en musgo sphagnum. Es un verdadero musgo de las plantas de pantano y cuando se encuentra seco puede absorber en poco tiempo de 10 a 20 veces su peso en agua (Galle, 1991, citado por González, 1998). Las cápsulas con las semillas se deben recolectar en el otoño después de que han tomado un color pardo, almacenándolas luego a temperatura ambiente en un recipiente que reciba las semillas cuando se abran las cápsulas.

Las semillas no tienen problemas de letargo pero pierden viabilidad si se guardan por un tiempo largo en almacenamiento abierto, siendo preferible guardarlas en envases sellados y a temperaturas bajas. Las semillas germinan satisfactoriamente en una capa de musgo esfagníneo cribado sobre una mezcla de suelo ácido (Hartmann et al 1988).

Propagación Asexual

El periodo de propagación es de 6 a 8 semanas. Las plantas madre por lo regular deben tener 2 años, sanas y con características de vigor, pueden cultivarse en maceta ó en camas y los esquejes son obtenidos cuando los brotes están bien desarrollados. La condición sana se debe asegurar con un programa de prevención, y un programa de fertilización adecuado para estimular el vigor.

La mayoría de los esquejes se obtienen en junio y julio ó cualquier época del año que sea programada, cuándo miden aproximadamente 7 a 10 cm. de largo. (González, 1998). Una vez cortado el esqueje se le aplica raizal 400 y se pone en el medio para enraizamiento, con nebulización cada 5 min, tarda en enraizar tres meses, ó dos si las temperaturas son las más óptimas, los esquejes deben ser despuntados y defoliados, dejando 4 ó 5 hojas por esqueje el transplante debe hacerse en macetas de 6 pulgadas, sin espaciamiento, por 20 días, posteriormente se va aumentándo el tamaño y el espaciamiento entre plantas, seis pulgadas con medio espaciamiento. Durante 20 días más y con espacio completo seis semanas ó hasta que se venda. Después de éste periodo se vuelve a despuntar, para rejuvenecer a la planta (Ramírez, 1997).

Se observó que hay compuestos químicos de metilo, como el caproato, caprilato, caprato, laurato, milistato, palmitato, y estearato de metilo, que producen el efecto de despunte cuando se asperjan sobre azalea. (González, 1998)

Descripción de *Gardenia jasminoides*

Perteneciente a la familia *Rubiaceae*. Y es arbusto de hasta dos metros de alto, con hojas verde oscuro brillante (Bali, 1998) Originaria de China. Las gardenias crecen como arbusto tropical, con las flores solitarias muy fragantes, blancas ó color crema de 7 a 12 cm. de diámetro y que son producidas en las axilas de la hoja. El cáliz es tubular, la corola es corta y tubular y tiene de 5 a 11 lóbulos carnosos como pétalos.

Para la propagación se toman los esquejes terminales que se enraizan bajo riego intermitente con temperatura en la parte basal inferior 24°C, en un medio de arena y peat moss los esquejes se protegen de la luz directa, se requieren de uno a dos años para que las plantas alcancen la madurez de floración.

Las plantas se deberán cultivar en un suelo bien aireado con gran cantidad de materia orgánica (Larson, 1980). No tolera los suelos compactos ni pobres en nutrientes, ya que se pone amarilla con facilidad. Prácticamente carece de plagas el pH del suelo debe ser de 5.0 a 5.5, temperaturas nocturnas no menos de 18°C. una temperatura diurna de 21°C. es crítica para la formación del botón floral

Las plantas de 1 año se colocan con un espacio entre plantas de 30 cm. y las plantas de 2 años se separan cada 45 cm. La cosecha de las flores se hace cuando no sobrepasen un ángulo mayor de 90° de apertura hacia el tallo y generalmente se cosechan sin el follaje. Pueden ser almacenadas de 0 a 2°C por hasta 2 semanas, sin agua y durarán hasta 2 días a temperatura ambiente. Las gardenias deberán manejarse lo menos posible ya que con cualquier contacto con los pétalos causa que se tornen de color café. (Larson, 1980).

Descripción de *Ungnadia speciosa* Endl.

La importancia económica de ésta especie es doble, esto debido a que se usa para jardines ó parques como planta de ornato y la razón más importante es que actualmente se está utilizando para reforestar las zonas devastadas por incendios en el verano que acaba de terminar, para escuelas y áreas cercanas a la ciudad de Saltillo(Zavag, 1998) El nombre del género Ungnadia, es en honor al barón de Uganda, embajador del emperador Rudolph II.El nombre de la especie, speciosa significa preciosa en referencia a las flores, también se le conoce como Monilla, ojo de venado, ojo de cachorro (Texas) ojo de cañón, ojo de falso. Este árbol es ornamental en primavera, las flores parecen botones rojos ó brotes de durazno, es una fuente de nectarios las semillas son venenosas para los humanos en exceso, en un determinado número causa disturbios estomacales, igual que las hojas y frutos. Casi nunca tiran las hojas

Descripción botánica.

Villarreal (1993) y Sprague (1965) dan la descripción botánica de esta especie, mismas que coinciden con la dada por Vines (1960) que es más extensa y precisa quien indica que es un árbol o arbusto que alcanza los 9 m de altura y 25 cm de diámetro basal, con ramas pequeñas, erectas, dispuestas irregularmente, de color café rojizo, glabras; cuando son jóvenes imbricadas, en posición ovada, casi globosa, la cicatriz que dejan las hojas es larga y subcordiforme, de color café anaranjado, algo pubescentes; la corteza está moteada de gris a café, es delgada, firme, lisa, con

fisuras superficiales en las ramas y troncos viejos, la madera de albura es de color café rojizo, ligera, quebradiza, de grano cerrado. Las hojas son imparipinnadas, alternas, deciduas, de 11 a 31 cm de largo, compuestas, en hojuelas de 5 a 7 (rara vez 3), ovadas, lanceoladas, con ápice acuminado, de base redondeada, margen crenado aserrado, de 7 a 13 cm de largo, 4 a 5 cm de ancho, algo coriáceas, de color verde oscuro, lustrosas y glabras por el haz, de tono pálido y pubescentes por el envés, con pecíolos de 5 a 15 cm de largo, el peciolulo de la hojuela terminal llega a medir de 5 a 25 mm, las hojuelas laterales son sésiles o ligeramente pecioluladas.

Las flores aparecen en fascículos pubescentes durante la primavera, inmediatamente antes o al mismo tiempo que las hojas, son hermafroditas, irregulares, característica de la familia *Sapindáceae* de casi 3 cm de diámetro, normalmente con 4 pétalos (ocasionalmente 5), de color rosado a lila, deciduos, ovovados, erectos, clavados, de margen crenado, algo tomentoso, con un racimo de vellos gruesos en la base; estambres en número de 7 a 10, desiguales, exsertos o insertos al lado del pistilo, filamentosos y filiformes, de color rosado; anteras de forma oblonga y color rojo el ovario es súpero, de forma ovoide, con estipite vellosa, con 2 óvulos posteriores, filiformes, curvos, estigma terminal diminuto; el cáliz es acampanulado, de 5 lóbulos oblongos, lanceolados.

El fruto es una cápsula con estipite, de forma ovoide, coronado por el estilo remanente, de 5 cm de ancho, coriáceo, áspero, de color café rojizo, con 3 celdas y 3 valvas, dehiscente longitudinalmente; las semillas usualmente son solitarias debido a la aborción de las demás, de aproximadamente 1 cm de diámetro, de forma esférica,

lisas y brillantes de color café o negro, con el hilo de la cicatriz visible, reportadas como venenosas.

Distribución.

Usualmente crece en suelos calizos, en los bancos de los arroyos, en las partes húmedas de los cañones o en partes escarpadas. Se le encuentra en los estados de Texas y New Mexico en los U.S.A. y en Nuevo León, Coahuila y Chihuahua en la República Mexicana. Según Martínez (1979) indica que su rango de distribución se amplía a Tamaulipas además de los otros tres estados mexicanos citados por Vines (1960),

Usos.

Se le cultiva como planta ornamental, pues sus flores son vistosas. Es una planta melífera; los frutos no son comestibles pues contienen sustancias que provocan disturbios estomacales.

Principales Enfermedades Causadas por Bacterias en Ornamentales.

De acuerdo al número de investigaciones reportadas la más común es *Xanthomonas*, que es uno de los patógenos más ampliamente distribuidos.

Xanthomonas campestris pv. *Dieffenbachiae* es el agente causal de *Anthurium blight*, identificado como el patógeno que causa enfermedad foliar. (Lipp, 1992) (Norman, 1994). También *Xanthomonas campestris* causa daños a la familia,

Araliaceae (*Hedera helix*, *Polyscias spp* *Brasaia actynophylla*, *Schefflera arboricola*) (Chase, 1992).

Xanthomonas begoniae. Causa la enfermedad de las manchas aceitosas de las begonias (López, 1991). *X. Pelargonii* agente causal de la pudrición bacteriana del geranio, estos daños se presentan a nivel de propagación, una medida preventiva es el indexaje. (García, 1989).

Pseudomonas cariophylli causa el chancro bacteriano del clavel, se observa a bajas temperaturas (15° a 18°C), se presenta tanto en la parte aérea como en la parte subterránea, los entrenudos bajos presentan un exudado que evolucionan seguido de una marchitez progresiva. A temperaturas elevadas (20° a 25°C), la aparición de chancros es más esporádica y tardía (López, 1991).

Pseudomonas marginata Se presenta en los bulbos del gladiolo causándo los síntomas de una bacteriosis. En los bulbos se nota la aparición de manchas circulares aceitosas, luego negruscas de aspecto barnizado de 5 a 10 mm de diámetro, limitadas por un borde sobresaliente en relieve con un exudado gomoso. Esta es una característica que evita confusión. Posteriormente éstas alteraciones se desprenden muy fácilmente de los tejidos sanos, dejándo cicatrices en forma de cráteres, (López, 1991).

Corynebacterium fascians , también es común ya que daña a un gran número de especies como: crisantemo, begonia, petunia, gladiola principalmente a la dalia causando ramificaciones. Se presenta a nivel cuello, se nota una proliferación

de hojas nuevas deformes y gruesas, agallas foliares, pegadas una a otras, a esto se le llama fasciaciones. (López, 1991).

Corynebacterium flaccumfaciens pv oorti presenta pústulas amarillas en tulipanes y produce un cambio de coloración a amarillo del tejido vascular y pequeñas manchas blancas en las escamas más externas de los bulbos, las hojas afectadas desarrollan manchas gris plateado de hasta 5 mm de diámetro, quebradizas, rugosas y agrietadas (García, 1989).

Enfermedades de *Azalea spp*

Pudrición del collar

Causada por el hongo *Phytophthora*, la pudrición puede ocurrir en cualquier tiempo durante la fase de nebulización en propagación. Como una medida preventiva, regularmente tratar con un fungicida los cortes que se sabe son susceptibles a ésta enfermedad. El tejido interno al punto de rompimiento de color café, se dispersa hacia arriba y hacia abajo, el tejido conductor se vuelve dañado. Las plantas enfermas empiezan a secarse, las hojas empiezan a cambiar a un verde cafesusco y no hay nuevo desarrollo,.(Diagnosing, 1974)(Sinclair, 1987).

El pH del suelo afecta la esporulación, por esta razón, el abatimiento del pH se recomienda para la generalidad de los cultivos, pero para el Rodhodendro no es práctico, pues a pH bajo la planta crece muy lentamente (Romero, 1996).

Las plantas infestadas con éste patógeno no mueren inmediatamente sino hasta que declinan gradualmente de una temporada a otra como control químico se puede aplicar fosetyl AI, metalaxil, etridiazol, para controlar la pudrición radical de las azaleas.

Tizón del pétalo (*Ovulinia azaleae*)

Durante el período del crecimiento, los pétalos delicados se vuelven cafés prematuramente. Las áreas café varían de pequeñas manchas a pétalos completos ocasionan que la flor se vuelva fea. Esto es causado por el hongo *Ovulinia*, en periodos húmedos cuando la temperatura es templada. Periodos de lluvia en primavera que coinciden con periodos de florecimiento de azaleas, pueden resultar en severas irrupciones de tizón del pétalo. Para el control se recomienda Aplicar tratamientos con fungicidas preventivamente cuando el tiempo sea favorable y los brotes florales están comenzando a desarrollar. La roya del pétalo puede ser confundida con el daño por helada en los tipos tardíos. (Diagnosing, 1974) (Sinclair, 1987) (Romero, 1993) (www, 1998).

Pudrición del ápice por *Rhizoctonia*

En cortes de hoja, bajo nebulización se vuelven café blancuzco y generalmente se pudren rápidamente con una textura aguanosa. A menudo pequeñas fibras pueden ser vistas entre los cortes. Estas características distinguen a la pudrición de aquella causada por *Phytophthora*. El hongo del suelo *Rhizoctonia solani* es la causa y puede ser controlado con aplicaciones de un fungicida apropiado tan pronto como es detectado. (Diagnosing, 1974).

***Phytophthora cinnamomi* (Marchitez)**

Ataca cultivos perennes incluyéndo azalea y cítricos. La actividad antagónica de *Phytium ultimum nunn* sobre *P. cinnamomi* consiste en la penetración y lisis de las estructuras reproductivas. Este reacción no fué efectiva en la azalea (Fang, 1995)

Septoria azalea

Causa manchas cafés, usualmente angulares con halo amarillo sobre hojas de plantas de clima templado húmedo y ocasionalmente en invernaderos, también llamada mancha angular de las hojas ó quemado, causa encafecimiento general de los ápices y de los márgenes que muchas veces desarrollan cuándo las lesiones son numerosas. Las manchas, usualmente de 1.4 a 4 mm de diámetro son amarillas a amarillo rojizas al inicio y se vuelven café oscuras con la edad. Los picos de los picnidios sobresalen de ambas superficies, la enfermedad aparece tarde en la estación de crecimiento y se intensifica lentamente durante el tiempo frío en las regiones de clima templado. Las temperaturas de 16 a 28°C favorecen la germinación de las esporas.(www, 1998).

Enfermedades de gardenia

Deficiencia de hierro

Expresan su reacción a esta deficiencia por una severa clorosis de las hojas mientras que las venas permanecen verdes. Causada por diversos factores como suelos con mucho calcio, son la causa más común de los suelos literalmente deficientes en hierro, esto es más frecuente en jardines que en viveros, el calcio bloquea, las aplicaciones foliares o en suelo de compuestos con hierro recomendados y usados regularmente para mantener una suficiencia y evitar el daño, suelos fríos y húmedos acentúan el bloqueo de hierro; con un cuidadoso riego el problema puede a menudo ser corregido. Como medidas de prevención el suelo no se mantendrá constantemente húmedo; los riegos serán manuales para humedecer sólo la mitad de la zona de las raíces en cualquier tiempo. Posteriormente, en los jardines, evitar plantar gardenias donde este problema es severo y no puede ser manejado rutinariamente. (Diagnosing, 1974)

Cáncer de gardenia (*Phomosis*)

Crecimiento ralo, y una ocasional clorosis total de hojas, hinchamiento anormal con agrietamientos externos, corchoso, tejido interno parcialmente necrótico y teñido de un distintivo amarillo-naranja. La prevención es esencial, por lo tanto es necesario llevar a cabo un programa regular de inundación con un fungicida sistémico.

(Diagnosing, 1974) (Daughtrey, 1995).

Secamiento (*Phoma*)

Atribuida al hongo *Phoma*, causa el secamiento de retoños completos durante periodos húmedos de primavera. Asperjar una combinación de un fungicida

sistémico mezclado con otro de contacto. Lo anterior ayuda a prevenir la entrada del organismo y la posterior muerte del inóculo. Usar fungicidas selectivos para gardenias en invernadero porque puede causar caída excesiva de hoja.

Los síntomas son: áreas muertas cafés y hundidas aparecen en la base del tallo. Conforme el cáncer se desarrolla, el tejido se ve afectado se vuelve hinchado, corchoso y la corteza se raja. El verde claro desarrolla una decoloración anaranjada en el área del cáncer. Picnidios negros son producidos sobre los cánceres y sobre el tejido de la hoja en contacto con el suelo húmedo.

Los cánceres también pueden desarrollar sobre ramas. *P. gardeniae* es reportado solo de *G. augusta*, éste hongo es un parásito de heridas.(Daughtrey, 1997)

Manchas bacterianas en hojas de Gardenia

Xanthomonas campestris pv. Maculifoliigardeniae en los 40`s causò fuertes pérdidas de gardenia en California. Las manchas ocurren sobre las hojas más jóvenes como puntos pequeños.

Conforme la lesión se agranda, desarrollan centros amarillo pálido, el cual posteriormente se vuelve café rojizo con un halo amarillo. Los márgenes de las lesiones están engrosados y parecen grasosos. Las manchas pueden coalescer para formar manchas necróticas y la defoliación es lo que sigue. Las condiciones óptimas para el desarrollo de la enfermedad no ha sido establecida, pero la incubación se realiza en 7-9 días después de la inoculación y con temperaturas de 27 - 32°C .(Daughtrey, 1997).

Enfermedades de Ungnadia speciosa

Marchitez (*Phytophthora cinnamomi*)

Phytophthora cinnamomi Es el mayor patógeno de muchas especies de plantas hortícolas y forestales alrededor del mundo. Se conoce que a nivel celular es responsable del complejo infeccioso en la propagación de pinos por callo, en condiciones in vitro. (Jang, 1990).

En éste género no se han reportado ningún tipo de enfermedades, tal vez porque es una especie relativamente poco conocidas

Importancia Económica de las Bacterias

La importancia principal de las bacterias, es por el daño que causan a los cultivos, lo cual se traduce en pérdida para los productores, el desabasto de los productos aumento en el precio de los mismos, ésto puede llegar a ser un problema social.

Dos spp, *Xanthomonas campestris*, producen grandes cantidades de un polisacárido extracelular conocido como gomas de xanthanas, que se utilizan ampliamente en la industria particularmente en industrias de grasas y alimentación (Smith, 1992). Las bacterias presentan amplia distribución y cada vez mayor especialización de huéspedes, por lo cual tienen mayor resistencia a los pesticidas

tradicionales, ésto eleva costos de producción por el número de aplicaciones, preventivas y/o curativas.

Los citricos están asociados con 64 especies de bacterias dañinas, actualmente las bacterias son parte importante del control biológico por ejemplo *Pseudomonas* sp, ejerce antagonismo sobre *fusarium oxysporum* forma especial *dianthi*. (Van Peer, 1991) Las pérdidas debido a *Pseudomonas syringae* pv. *psyringae* pueden ser elevadas. En Hungría se han señalado casos del 40% de muerte de chabacano de 5-6 años, en Yugoslavia y Noruega pérdidas de hasta 25% en cerezo y ciruelo en vivero, pero en general causa mas pérdidas de las estimadas.

CUANTIFICACION DE ENFERMEDADES (Patometría)

Las formas más comunes para cuantificar una enfermedad es evaluando la incidencia y la severidad (Guigón 1994). Por incidencia se entiende la proporción ó porcentaje de entidades enfermas dentro de una unidad de muestreo; es una medida cuantitativa, rápida y sencilla que es generalmente más precisa y reproducible que otras mediciones cuantitativas. En la práctica las estimaciones de la incidencia han sido más usadas en las enfermedades sistémicas ó en casos en los que las plantas enfermas representan pérdida total.

Para evaluar la severidad existen varios métodos.

El conocimiento de la incidencia y la severidad ha adquirido mayor importancia conforme la economía de la agricultura ha requerido decisiones más críticas a todos los niveles. Instituciones públicas y privadas usan ésta información para evaluar sus

programas para la asignación de recursos, la aplicación para la toma de decisiones en el manejo de plagas.

La medición de la enfermedad es usada para cuantificar el desarrollo de epidemias en el tiempo y en el espacio, para el análisis de los factores que afectan el desarrollo de una enfermedad, para medir la resistencia en plantas y la eficiencia de pesticidas, como base para la predicción de enfermedades y rendimientos y para la definición de umbrales para programas de manejo.

Una epidemia puede definirse como un cambio en la enfermedad con el tiempo cuya descripción fundamental expresa la interacción del patógeno, hospedero y ambiente a través del tiempo. (Guigón, 1994 plantas enfermas se.

Desglose informativo de los productos probados

A continuación se presenta la información técnica de los dos productos evaluados en el presente trabajo, de acuerdo a los datos proporcionados por las empresas que los han formulado o los distribuyen.

N – alquil – dimetil – bencil- cloruro de amonio

Fabricante: Okehi Group. Macon, Georgia. 31201. U.S.A.

(Fungicida, Bactericida e inhibidor de virus)

Registro en Estados Unidos EPA#507-3-66784

Ingredientes activos: n-alkil (60% C₁₄, 30% C₁₆, 5% C₁₂, 5% C₁₈ dimetyl, benzyl, cloruro de amonio (NH₄Cl)

Ingredientes inertes: Urea

Información General

El N-alkil-dimetil-bencil-cloruro de amonio es una sustancia de gran eficacia, diseñado para curar y proteger plantas contra enfermedades causadas por hongos, bacterias y virus, así como desinfectar equipos agrícolas. Controla bacterias y hongos los más comunes, así como los más difíciles de eliminar mediante el uso de otros productos en los cultivos, se usa en tratamientos de alta tecnología mediante el cual se encuentra encapsulado el compuesto N-alkil dimetil benzil amonio al 40%, en urea estabilizada que representa un 60% de la formulación; el producto es 100% soluble en agua.

Características fisicoquímicas

N-alkil-dimetil-bencil-cloruro de amonio es estable y trabaja desde pH 3 hasta 11 en relación a su medio de aplicación.

Nombre químico del ingrediente activo: N-alkil dimetil benzil cloruro de amonio.

Solubilidad: 100 %

Incompatibilidad: jabones aniónicos.

Daños a la salud **a) Inhalación: negativo, b) Por la piel: negativo**

c) Ingestión: positivo (DL50: 525 mg /kg)

Mecanismos de acción

La alta eficiencia y efectividad de Timsen se fundamenta en la técnica de selección, refinamiento y distribución de los radicales alkil para integrar alkil dimetil bencil amonio, molécula formada por carga lipofílica positiva (cationica) e hidrofílica positiva (aniónica). Esta característica incrementa el rango de control de Timsen que abarca un número considerables de bacterias y hongos.

Es estable en presencia de materia orgánica, contrariamente a los productos halogenados, que pierden algunas características químicas de acuerdo con el tiempo de contacto con el oxígeno y los rayos ultravioleta.

a través de sus componentes desactiva las enzimas proteolíticas de la pared a través de una desnaturalización química y morfológica, la cual no permite el emboncamiento correcto entre la enzima y el sustrato. De esta manera se inhibe en las paredes de la bacteria, del micelio y de la espora del hongo, así como el de la cápside del virus, es decir todas las reacciones bioquímicas dependientes de estas enzimas. Esto genera en primera instancia un bloqueo de la síntesis de sustancias en la pared, una ruptura de la misma y posteriormente su plasmólisis.

La muerte del microorganismo ocurre en un tiempo de hasta 30 minutos después de la aplicación, dependiendo de la concentración y el tipo de microorganismo. Este mecanismo de acción se fundamenta en dos principios básicos considerando su uso agrícola.

La lenta liberación del ingrediente activo cuando es aplicado en forma sólida, mezclado con fertilizantes químicos.

Cuando disuelve Timsen en agua se libera inmediatamente el ingrediente activo entrando en solución, lo que implica que al aplicarse esta solución la actividad biológica es menos prolongada que en el primer caso. La aplicación de Timsen para controlar microorganismos del suelo que son patógenos puede eliminar otro tipo de microorganismos mientras dura su acción tóxica, la cual no es en forma permanente, es transitoria.

En la planta la fracción dimetil y la urea tienen una alta afinidad con las enzimas transportadoras, lo que permite su movimiento tanto acropétalo como basipétalo. La fracción urea, que es mínima en relación a las dosis de aplicación, forma parte de los compuestos nitrogenados, integrándose así a los metabolitos primarios. La fracción dimetil por su alta polaridad sigue la ruta de los inhibidores y en función de su poca cantidad se integra al etileno para seguir desempeñando junto con ésta sustancia las acciones biológicas correspondientes.

La fracción alquil es sólo un radical para mantener el ingrediente activo estable hasta entrar en contacto con el blanco (microorganismos) o bien la planta). En éste caso el radical alquil sigue la ruta metabólica de los precursores adentro de la planta.

La fracción bencil amonio tienen una acción específica sobre los microorganismos y en la medida que tiene contacto con ellos su concentración va disminuyendo, ya que cada acción requiere de una cierta cantidad de bencil amonio, por lo cual esta sustancia no tiene ningún efecto colateral metabólico en la planta, ni tampoco tóxico por residuos en el suelo.

N-alquil-dimetil-bencil-cloruro de amonio aplicado en cualquier forma no tienen ninguna alteración para el ambiente, ya que no se gasifica porque carece de presión de vapor.

Su actividad biológica aplicada en forma sólida en el suelo tienen una duración de 25 a 30 días, periodo en el cual lleva a cabo su efecto en el control de los microorganismos. Cuando se aplica Timsen en solución, ya sea en el suelo ó foliarmente, su acción va de 20 a 25 días.

De cualquier forma, su rango de acción puede extenderse ó reducirse dependiendo de la fuente de inóculo ó bien de la cantidad del mismo presente en el suelo, sobre la hoja o en la planta. Timsen tiene un proceso de degradación natural

en el suelo mediante un mecanismo de deactivación que genera la materia orgánica alterando con el tiempo la relación química en el enlace de los radicales alquil y los ingredientes activos lo que origina una fracción del producto en urea, radicales y bencil dimetil amonio.

Características de uso

* **Compatibilidad** Timsen es compatible con todos los compuestos catiónicos y no iónicos en la proporción de 1.5 a 1.0. Es incompatible con los jabones aniónicos y los detergentes. No se recomienda almacenar Timsen en recipientes de fierro vaciado ó aluminio.

Toxicología

Timsen no es tóxico para humanos ni animales, como ya se dijo antes su DL_{50} es de 525 mg/kg; sin embargo, se recomienda evitar su inhalación así como el contacto directo.

Beneficios

- Amplio espectro de acción, Estabilidad en pH ácido y alcalino. Mayor eficiencia en presencia de materia orgánica. Mayor actividad biológica durante un tiempo prolongado.

Riego por aspersión

En la aplicación usando equipo de riego subterráneo o bien ,microaspersión con un volumen de agua hasta 150 m³/ha la dosis es de 0.5 hasta 1.0kg., dependiendo del grado de infestación. En éste caso se prepara una solución maestra

equivalente a: horas de riego/ha multiplicado por 80 litros de agua más la dosis de Timsen por hectárea. Esta solución se inyecta al sistema de riego.

Ejemplo: Superficie 20has., Tiempo de riego 6 hrs. Dosis de Timsen/ha 1kg. La solución maestra es igual a $80 \times 20 = 1600$ litros de agua
20 kg de Timsen + 1580 litros de agua.

***Riego rodado**

Con alto volumen de agua/ha, la dosis es de 1.5 hasta 2.0 kg/ha dependiendo del grado de infestación. En este caso se prepara una solución maestra equivalente a: horas de riego x 100 litros de agua + dosis de Timsen/ha.

Esta solución se inyecta al sistema de riego.

Ejemplo: Superficie 20has. Tiempo de riego 6 hrs. ,Dosis de Timsen/ha 1kg
Solución maestra: $100 \times 200 = 2000$ litros de agua
20 kg de Timsen + 1980 litros de agua.

Desinfección de semillas

se usa como desinfectante y protector de semillas de cultivos, tubérculos de papa y esquejes contra bacterias y hongos, usando las siguientes concentraciones:

Hongos(protección) 400 - 1600 ppm Bactericida (Protección) 300 -1000ppm

Tratamiento de postcosecha, desinfección de áreas y utensilios.

Timsen sirve también para tratamiento de postcosecha en frutales, flores, hortalizas de frutas y de hojas para asegurar su almacenamiento y transporte evitando problemas de pudrición por hongos y bacterias. Para ello se usa una

inmersión (5 a 10 min). Ó aspersión con una solución de Timsen de 100 hasta 800 ppm de ingrediente activo

Fungicida – bactericida agrícola (polvo soluble)

Los ingredientes activos de éste producto son Sulfato de estreptomicina en un 18.75% y Clorhidrato de Oxitetraciclina 2.0%, el resto (79.25%) son diluyentes y humectantes. En un tambo de 200 lt. Agregue agua hasta la mitad de su capacidad. Vierta lentamente en el continuamente hasta obtener una mezcla uniforme. Sin dejar de agitar, llene el tambo con el agua necesaria. Para, obtener una mayor calidad en la aplicación de AGRYMICU.100 (cobertura, dispersión, extensión y humectación) es recomendable el uso de un coadyuvante del tipo no iónico. Pertenece al grupo químico de los antibióticos. Es fabricado por Cuproquim de México S.A. de C.V.

CONTRAINDICACIONES

No aplique este producto cuando amanece con lluvia ó ésta se presente, porque puede lavar el producto de la superficie foliar. Se recomienda hacer las aplicaciones en las primeras horas. No en horas de calor intenso, ni cuando el viento sea fuerte (más de 15 km/hr). Puede aplicarse mezclado con la mayoría de los insecticidas y fungicidas existentes exceptuando BHC, clordano, caldo bordelés y otros productos de reacción alcalina.

Se recomienda usar para combatir a tizón de fuego (*Erwinia amylovora*) en peral, Moho azul (*Peronospora tabacina*) en tabaco aplicar 60 g/100lts. de agua. Con una residualidad de 30 días.

}

MATERIALES Y METODOS

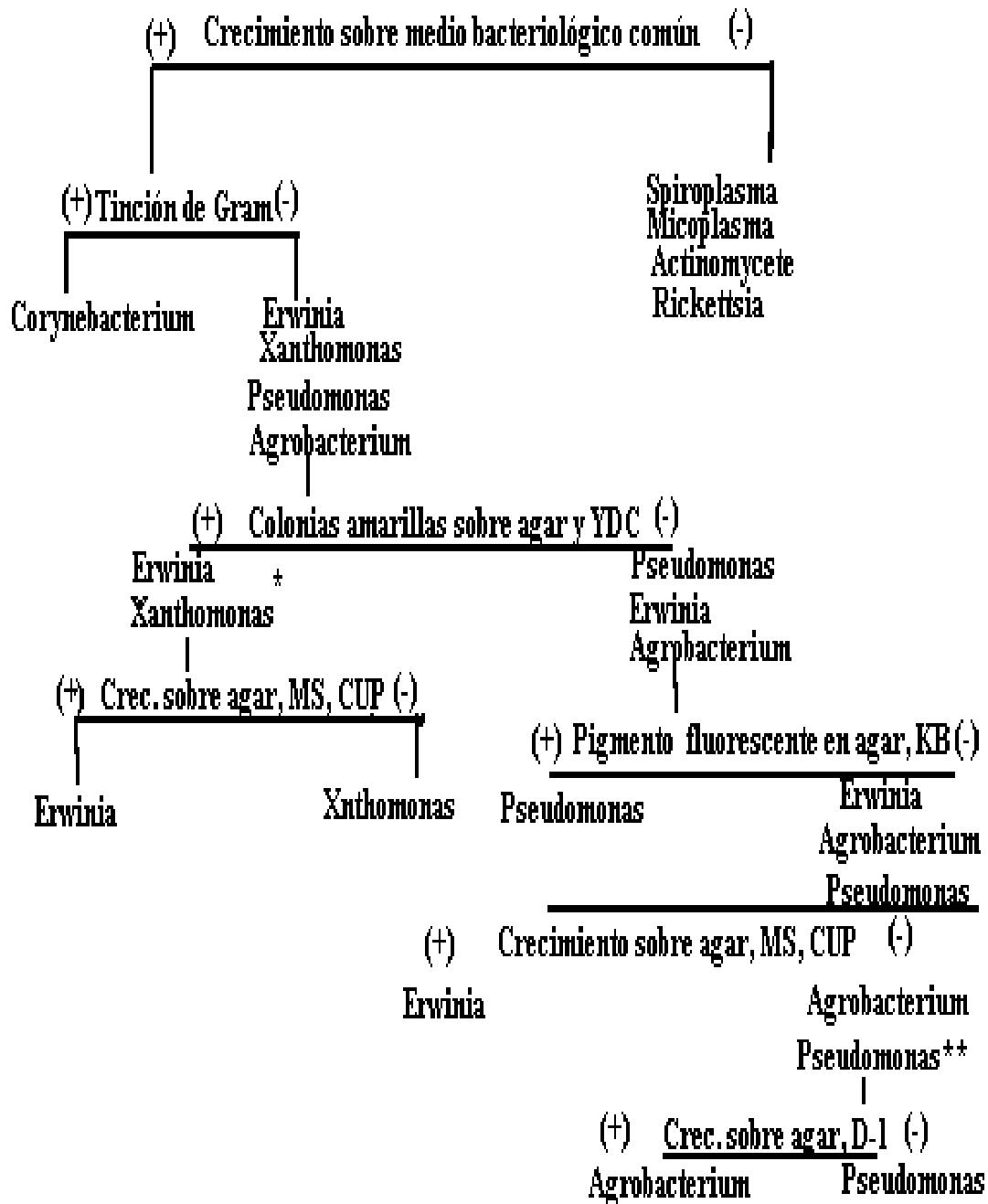
Este trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de fitopatología, Dpto de Parasitología de la UAAAN y se dividió en dos etapas.

1° etapa. Toma de muestras de *Ungnadia speciosa*, identificación de microorganismos presentes, evaluación de Incidencia y Severidad en : *Azalea spp*, *Gardenia jasminoides*, *Ungnadia speciosa*.

2° etapa . Toma de muestras de *Azalea spp*, *Gardenia jasimoides*
Identificación de microorganismos , evaluación de los productos

El procedimiento para aislar é identificar a las bacterias fue basado en la siguiente tabla (SHAAD).

IDENTIFICACION DE BACTERIAS FITOPATOGENAS



En la realización del presente trabajo se utilizó el siguiente material:

Material vegetativo enfermo, de cada una de las tres especies,(10 plantas por cada una de las repeticiones. Material de laboratorio bisturi, agujas de disección, pinzas, porta objetojos, pipetas, matraces, tubos de ensayo, asa microbiológica, cajas petri, mechero de bunsen, ,microscopio, compuesto y de disección, papel estéril, cámara bioclimática, cámara de flujo laminar, incubadora. Material biológico Agar nutritivo, papa dextrosa agar (PDA) , medios específicos, medios diferenciales, alcohol, reactivos utilizados en la tinción de Gram (cristal violeta, lugol, safranina, alcohol), agua destilada.

Material químico N-alquil – dimetil – bencil – cloruro de amonio como producto a evaluar, un fungicida-bactericida a base de Cu como testigo, antibiótico cephalaxina.

Al intentar cultivar in vitro a los microorganismos habrá crecimientos de diversas colonias, que no indican necesariamente cuál ó cuáles de dichos agentes es ó son los responsables de la enfermedad. Se recurrirá entonces a satisfacer los postulados de Koch mediante las pruebas de patogenicidad.

Toma de muestras

Las plantas afectadas fueron seleccionadas tomando en cuenta que presentara daños en los tejidos. Las muestras tomadas se pusieron en bolsas de polietileno, para su traslado al laboratorio.

Identificación de inclusiones virales

Las inclusiones virales son agregados proteinicos que se forman dentro de una célula hospedera como respuesta al ataque de un virus, por lo tanto la forma, tamaño y el lugar de formación son característicos de un grupo de virus.

El procedimiento que se siguió fué el siguiente: se utilizaron hojas con síntomas y asintomáticos, se separó tejido epidermal, con ayuda de las pinzas, éste tejido se colocó en un portaobjetos. Se le agregó el colorante verde de Malaquita por tres minutos, se enjuagó con agua se aplicó colorante de contraste, se observó al microscopio.

Preparación de medios

Para preparar los medios adecuados se usaron las medidas indicadas en la etiqueta. Se puso agua destilada en un matraz, se pesa el medio, se adiciona al agua destilada, posteriormente se pone a calentar hasta que tome un color cristalino, tapar, esterilizar en autoclave a 121°C , dejar enfriar ya que haya perdido calor, sin llegar a frío se hace la mezcla con el producto químico previamente pesado de acuerdo a la dosificación planteada, mezclar con ayuda de la placa agitadora, sin dejar que se solidifique el medio, porque al volver a calentar se daña la molécula del ingrediente activo y pierde efectividad el producto.

Medios diferenciales

En éste paso, se seguirá fielmente los procedimientos recomendados por Shaad. Medios específicos sólo se preparó un medio específico para identificar a *Pseudomonas Syringae* y el medio para identificar al pv. *Syringae*.

Limpieza del material vegetativo.

Las hojas y tallos se dividieron en trozos pequeños, procurando que tuvieran un 50% de tejido sano y un 50% de tejido dañado, previamente, se preparó una solución de Hipoclorito de sodio al 3% y se sumergieron las muestras en en ésta solución durante tres minutos, se pasó en agua destilada estéril 1 minuto, 2 veces, para eliminar residuos del hipoclorito de sodio. La muestra se puso en papel estéril para absorber la humedad superficial de los cortes.

Siembra y Purificación

Se hizo la siembra posteriormente en cajas Petri que contengan agar nutritivo y PDA para propiciar el crecimiento de hongos y bacterias, ya después de la siembra, sellar las cajas y guardar en la incubadora a una temperatura de 29°C por 48 horas ó las q ue sean necesarias para que haya incremento de las poblaciones de patógenos. La purificación consistió en sembrar cada uno de los organismos presentes en las cajas madre por lo cual sembramos por separado y en los medios adecuados PDA para hongos y agar nutritivo para bacterias.

Lo anterior se hace las veces que sea necesario hasta obtener un solo organismo por caja es decir por unidad experimental. Este procedimiento se realizó de esta forma para realizar el primer objetivo planteado. Después se hizo la tinción de Gram para cada una de las colonias que se presentaron, y se sembró cada uno de los hongos por caja.

Se hizo siembras en medios de cultivo diferenciales como son: la seri KD, KB, YDC, YME, VTC. En el caso de Ungnadia se preparó el medio KBC para identificar la especie.

Diluciones

Consiste en prepara una suspensión bacteriana, con determinado contenido de unidades formadoras de colonias por ml. (UFC/ml

- a) Preparar una solución madre, si se va a trabajar con varios géneros hacer diluciones para cada uno de ellos, para lo cual necesitamos un tubo con 10 ml. de agua destilada estéril, agregar una azada del crecimiento bacteriano puro con 24 horas de crecimiento.
- b) Tomar 1ml de esta solución agregar a otro tubo con 9 ml. para completar 10 agitar, hasta que se forme una sustancia blanquecina, hacer el mismo procedimiento las veces que se requiera hasta llegar a la concentración deseada.
- c) Tomar .1 ml de él último tubo preparado, poner en la caja petri, con el medio de cultivo+producto, en el caso de los tratamientos, para el testigo las cajas sólo deben de contener agar nutritivo. Esparcir la solución bacteriana con una varilla de cristal previamente quemada a la flama y fría, de lo contrario corremos el riesgo de eliminar bacterias por el calor.
- e) Sellar las cajas con Kleen pack , poner en incubación a 29 °C, hacer las primeras observaciones a las 24 hrs. Hacer el conteo de colonias por unidad experimental con el aparato cuantacolonia.

Pruebas de patogenicidad.

Estas pruebas se realizaron para confirmar si los síntomas son causados por el patógeno aislado, para realizarlas es necesario seleccionar un método de inoculación adecuado al hospedante, y dependerá del tipo de síntoma, órgano o tejido afectado y la vía de entrada del patógeno, además, para tratar de reproducir las condiciones ambientales que permitan la manifestación de los síntomas .

Es necesario para realizar éstas pruebas que los cultivos bacterianos estén puros y no tengan más de 24 horas de haberse sembrado en los medios de cultivo, ya que se podría correr el riesgo de perder virulencia

La penetración de las bacterias, generalmente es pasiva, esto es, entran a través de heridas ó aberturas naturales, por lo que al hacer la inoculación artificial se debe favorecer su penetración, por éste motivo se han ideado diferentes métodos de inoculación, el que vamos a usar en éste trabajo es el método de aspersión Se recomienda para bacterias que causan manchas foliares ó tizones, porque penetran por los estomas, y para bacterias que penetran a través de los nectarios y estigmas como es el caso de *Erwinia amylovora*, agente causal de tizón de fuego de la rosáceas.

Cuándo se sospecha que es *Pseudomonas*, utilizar una suspensión bacteriana con 10^{-3} a 10^{-5} Unidades Formadoras de Colonias por mililitro. (UFC/MI). Para *Xanthomonas* 10^{-6} , 10^{-7} UFC/ml, si se emplean dosis más altas se corre el riesgo de que los síntomas desarrollados no sean los característicos.

Se seleccionaron 15 hojas sanas de cada una de las especies, y se pasaron por un proceso de limpieza con hipoclorito de Na, se pusieron en cámara húmeda

Previamente se hicieron diluciones con cada una de los géneros bacterianos, para *Pseudomonas*, 10^{-3} *Xanthomonas* 10^{-4} y *Corynebacterium* 10^{-4} de colonias con 24 hrs. De crecimientos.

Obteniéndose el siguiente esquema de inoculación:

Especies	A	B	C	B+C	D	TOTAL
Azalea spp.	4	4	4	4	4	20
Gardenia jasminoides	4	4	4	4	4	20
Ungnadia speciosa	4	4	4	4	4	20

INOCULACION

En cada cámara húmeda se colocó un papel estéril, con agua destilada, y la hoja sana, a la cual se le aplicó .1ml de la dilución de cada uno de los géneros bacterianos.

Se puso en incubación 3 semanas, en humedad más temperatura (29°) , hasta que la hoja pasó a un estado de deshidratación.

Para calcular la incidencia y Severidad, se hizo se trabajó con el modelo propuesto por French (1982) donde plantea que la **Intensidad** es el grado de daño que ésta ejerce sobre un cultivo, incluye dos componentes:

La **Incidencia** como el número de plantas afectadas expresado como porcentaje del total. La **Severidad** Es la porción de tejido afectado, expresado como porcentaje del área total. Para evaluar severidad se necesita establecer escalas que pueden ser arbitrarias, se pueden definir experimentalmente de acuerdo al patógeno estudiado, y el daño que presente. Y para medir la Incidencia hay que cuantificar el grado de severidad (%) multiplicado por el número total de observaciones de ese grado, lo mismo para los diferentes grados, la sumatoria total se divide entre el número total de observaciones.

Evaluación del producto

Las concentraciones se prepararon en base a 100 ml. De agar nutritivo, 150ml y 300 ml , esto se planteó así para hacer más práctico la medición del producto para poder recomendarlo en cantidades de gramos fáciles de pesar ó de calcular, ya que en los viveros es común que las aplicaciones se hagan de acuerdo al criterio de las personas que preparan las soluciones.

Partiéndolo de que el producto vienen en una concentración del 40%. Usándolo como referencia la recomendación de aplicación:

3.75 gms I.A./100ml de agua esto equivale a :

9.37 gms de Timsen que equivale a 15 000 ppm.

Se formuló las dosis utilizando la siguiente fórmula:

Si 10 gramos de Timsen contiene 4.0 gramos de Ingrediente Activo

Idem 4000 mg. de Ingrediente Activo.

Idem 4000 ppm de Ingrediente Activo.

$VF = \frac{(Vi) (Concentración\ inicial)}{}$

Concentración final

Por ejemplo: $V_i = \frac{(300\text{ml.})(4000\text{ ppm})}{400,000\text{ ppm}} = 3.0\text{ gms de Timsen}$

400, 000 ppm

Este resultado nos indica que para obtener 4,000 ppm de Ingrediente Activo a partir de Timsen que va a ser diluido en 300 ml. de agua, necesitamos 3.0 gramos.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Diseño Experimental

Originalmente se planteó un diseño Completamente al azar para la variable Número de colonias bacterianas por unidad experimental, que representa una caja petri. Se evaluaron 3 tratamientos con 5 repeticiones por tratamiento, pero durante el desarrollo de éste trabajo se observó que las dosis aplicadas eran muy altas, por lo cual se decidió seguir disminuyendo las dosis en cuanto el manejo del producto lo permitiera por eso se trabajó hasta la dosis 70 ppm.

TRATAMIENTO 1. DOSIS ALTA

GRAMOS PRODUCTO COMERCIAL	INGREDIENTE ACTIVO (GMS)	AGAR NUTRITIVO (ML)	CONCENTRACION PPM
3.0	1.2	300	4000
2.5	1.0	300	3340

2.0	0.8	300	2680
------------	------------	------------	-------------

Esquema 1. Evaluación para las dosis altas

<i>Especie</i>	<i>dosis</i>	<i>3.0</i>	<i>2.5</i>	<i>2.0</i>	<i>testigo</i>	<i>Total U.E.</i>
Azalea spp		5	5	5	5	20
Gardenia jasminoides		5	5	5	5	20
Ungnadia speciosa		5	5	5	5	20

TRATAMIENTO 2. DOSIS MEDIA

GRAMOS PRODUCTO COMERCIAL	INGREDIENTE ACTIVO (GMS)	AGAR NUTRITIVO (ML)	CONCENTRACION PPM
75	0.3	100	3000
0.50	0.2	100	2000
0.12	0.05	100	500

Esquema 2. Evaluación para las dosis medias

<i>Especie</i>	<i>dosis</i>	<i>.75</i>	<i>.50</i>	<i>.12</i>	<i>testigo</i>	<i>Total U. E.</i>
Azalea spp		5	5	5	5	20
Gardenia jasminoides		5	5	5	5	20
Ungnadia speciosa		5	5	5	5	20

TRATAMIENTO 3. DOSIS BAJA

GRAMOS	INGREDIENTE	AGAR NUTRITIVO	CONCENTRACION
PRODUCTO	ACTIVO	(ML)	PPM
COMERCIAL	(GMS)		
1.50	0.6	150	4000
1.25	0.5	150	3335
1.00	0.4	150	2670
0.09	0.03	150	250
0.06	0.02	150	180
0.02	0.08	150	70

Esquema 3. Evaluación para las dosis bajas.

<i>Especie</i>	<i>dosis</i>	<i>1.5</i>	<i>1.25</i>	<i>1.0</i>	<i>.09</i>	<i>.06</i>	<i>.02</i>	<i>testigo</i>	<i>Total</i>
----------------	--------------	------------	-------------	------------	------------	------------	------------	----------------	--------------

Azalea spp.	5	5	5	5	5	5	5	35
Gardenia speciosa	5	5	5	5	5	5	5	35
Ungnadia speciosa	5	5	5	5	5	5	5	35

El producto compuesto por N-alquil-dimetil-bencil-cloruro de amonio es un producto codificado. En las pruebas realizadas con este se determinó que fue efectivo en el control. Se demostró que el producto Timsen, aplicado en la dosis alta, media, baja tuvo un control total sobre el crecimiento de bacterias en condiciones In vitro.

El rango de variación de las dosis fué muy amplio, se utilizaron dosis desde 70 ppm hasta 4000 ppm y en ninguna unidad experimental, se presentó crecimiento de colonias bacterianas solamente en los testigos.

Número de colonias que se desarrollaron en las unidades experimentales.

Genero	dosis	D.A.	D.M.	D.B.	Agrymicin	Testigo
Pseudomonas		0	0	0	0	1720
Xanthomonas		0	0	0	0	433
Corynebacterium		0	0	0	0	1583

El fungicida-bactericida a base de Cu es un producto registrado. Por lo cuál no vamos a evaluar varias dosis, sólo la recomendada por los fabricantes que fue .12 gm que equivale a .02 gms de Ingrediente Activo, ésta dosis fue diluida en 200 ml. de agua, obteniendo así una concentración de 120 ppm.

Los datos que ahora presentamos representan al objetivo de evaluar Incidencia y Severidad

TABLA 1. Escala de severidad utilizada para la evaluación de daño por bacterias en *Azalea* spp.

1.- 0 -5%	5.- 60 - 70 %
2.- 5 - 10%	6.- 70 - 80%
3.- 10 - 30%	7.- 80 - 100%
4.- 30 - 60%	

TABLA 1.1 Evaluación de Incidencia y Severidad en *Azalea* spp.

Planta Num.	(% de daño)							
	100	80	70	60	30	10	5	0

1						♣		
2						♣		
3								♣
4							♣	
5								
6					♣			
7				♣				♣
8						♣		
9		♣	♣					
10								

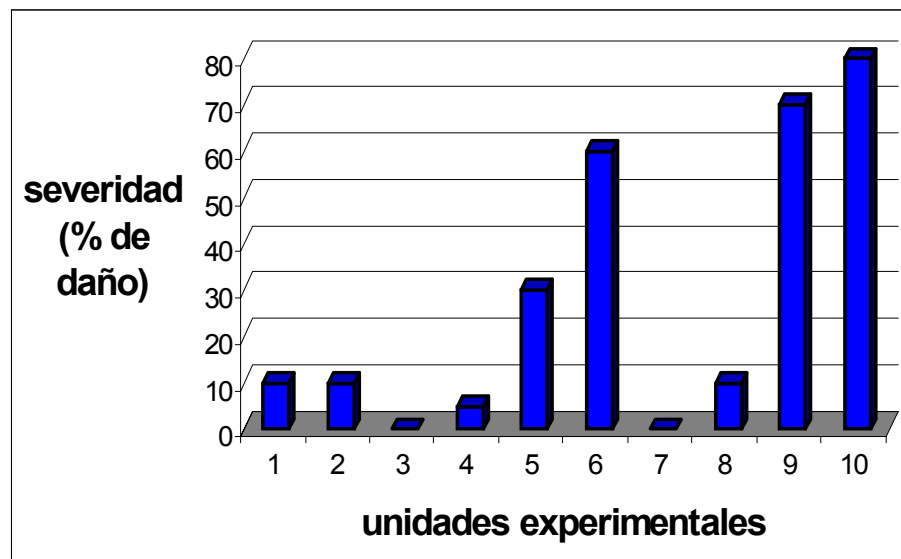


Figura 1. Porcentaje de área foliar dañada de la especie *Azalea spp*

Por el género *Xanthomonas*

Se obtuvo en promedio 27.5% de daño en las plantas muestreadas, lo cual indica un nivel bajo, en éste cuadro podemos apreciar, que hay algunas unidades muy avanzadas, encontrándose amplias variaciones desde 0% de daño, hasta 80% lo cual nos indica un comportamiento progresivo, sobre todo si presentan las condiciones climáticas requeridas.

TABLA 2. Escala de severidad utilizada para la evaluación de daño

Por mancha foliar en *Gardenia jasminoides*

1.- 10 - 25%	3.- 75 - 85%
2.- 25 - 75%	4.- 85 - 100%

TABLA 2.2 *Gardenia Jasminoides*

Planta N.	% de daño (severidad)				
	100	85	75	25	10

1				*	
2				*	
3			*		*
4				*	
5					
6				*	
7				*	
8				*	
9					
10					*

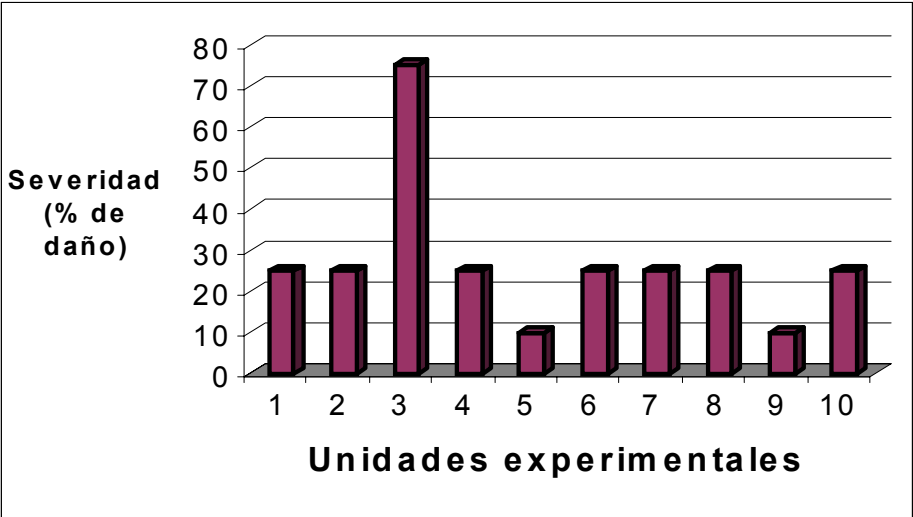


Figura 2. Porcentaje de área foliar dañada de *Gardenia jasminoides*

Por *Fusarium spp*

Esta tabla nos demuestra que el daño foliar en gardenia es bajo.

El 27% del área foliar se encuentra en el tercer grado de la escala que se utilizó para esta evaluación.

El comportamiento epidémico es estático ya que la mayoría de las unidades evaluadas presenta un daño menor al 25%, ó es probable que la enfermedad se encuentre en la fase de incremento ó en progresión geométrica ó logarítmica.

(French).

TABLA 3. Escala de severidad utilizada para la evaluación de daño por

Pseudomonas syringae pv. *Syringae* en *Ungnadia speciosa*

1.- 10 - 25%	3.- 75 - 85%
2.- 25 - 75%	4.- 85 - 100%

TABLA 3.1 *Ungnadia speciosa*

Planta N.	% de daño (severidad)					
	100	85	75	50	25	10
1						♣
2					♣	
3					♣	
4				♣		
5					♣	
6						♣
7					♣	
8					♣	
9				♣		
10					♣	

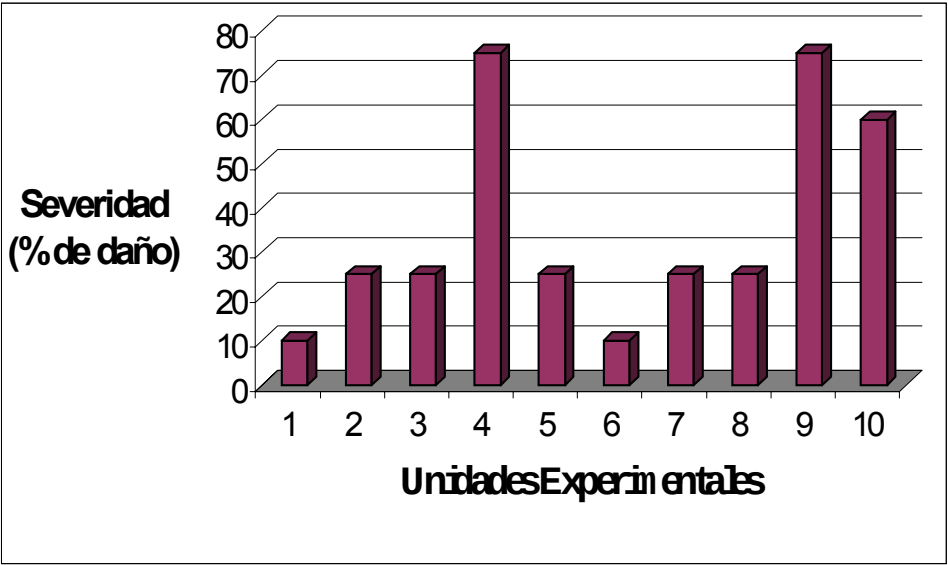


Figura 3. Porcentaje de área foliar dañada de *Ungnadia speciosa* por *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae*.

La media obtenida fue de 32% de tejido dañado por planta. Esto nos muestra un grado avanzado de la enfermedad, sugiriéndonos que la fuente de inóculo sigue aumentando, y que las estrategias empleadas no están rindiendo resultados adecuados. No observamos que tenga un amplio rango de variación, como se obtuvo en el cultivo de la azalea, aquí sólo es de 10 - 75% de área foliar dañada.

La incidencia que presentó el lote evaluado de plantas de *Azalea spp.* fué de 27.5%, de *Gardenia jasminoides*, 27%, *Ungnadia speciosa* 32% de acuerdo a la fórmula propuesta por French (1983).

CONCLUSIONES

En base a los objetivos planteados, los resultados obtenidos y su discusión se puede concluir lo siguiente

Los organismos patógenos en orden de frecuencia son:

Pseudomonas, *fusarium*, *Xanthomonas*, *Corynebacterium*, *Aspergillus* *Alternaria*, *Cephalosporium*. *Mucor*, *virus mosaico rugoso del frijol*. *Helminthosporium* *bipolaris*. Los hongos fitopatógenos que atacan al cultivo de la Azalea se encuentran ampliamente distribuidos ya que las plantas ya que las plantas muestreadas fueron transportadas desde el estado de Puebla, lo cual deja abierta la posibilidad de pensar que ya estaban contaminadas con dichos hongos, no se habían manifestado tal vez, porque no se encontraban en las mismas condiciones climatológicas.

Fusarium es el hongo que causa las manchas foliares en *Gardenia jasminoides*. El desarrollo de la enfermedad causada por *Fusarium* fue la que presentó menor variabilidad en las unidades experimentales, presenta un comportamiento endémico.

El virus presente en *Gardenia jasminoides* no ha causado un alto daño aparentemente, pero hay que destacar que si se puede observar síntomas de deficiencia de hierro, tales síntomas se pueden confundir con mosaicos, aunado a enchinamientos también presentes en las plantas de *Gardenia jasminoides*

El hongo *Helminthosporium bipolaris* que se aisló de *U. Speciosa* no se ha manifestado de tal manera que puede ser asociado a la enfermedad causada por *Pseudomonas syringae*. Esta bacteria ha alcanzado altos niveles de incidencia y severidad, en la especie de *Ungnadia speciosa*.

El efecto de las enfermedades sobre rendimiento se espera sea variable en cada especie evaluada, expresándose generalmente por una reducción en la calidad y en la presentación, que como sabemos en ornamentales lo que se exige son especies Vistasas.

El producto Timsen presentó un alto efecto de control en dosis muy bajas, hasta muy altas, en el control in vitro de los géneros bacterianos identificados, presentando alta residualidad ya que las unidades experimentales estuvieron en observaciones durante 2 semanas y el medio de cultivo se mantuvo sin crecimiento de bacterias

BIBLIOGRAFIA

Bañuelos, H.L., 1997, Apuntes del curso de plantas ornamentales y medicinales
U.A.A.A.N., Saltillo Coah.

Bali, J.1998, Jardineria mexicana, plantas de ornato, Editorial México desconocido,
Núm. 2, D.F.

Barnnett y Hunter 1988. Illustrated genera of imperfect fungi.

Cárdenas, S.E. 1986, Diagnóstico de virus mediante inclusiones virales. Colegio de
Postgraduados. Montecillos, México 71 pp.

Chase, A.r. 1992 Characterization of *Xanthomonas campestris* of Florida strains from *Araliaceae*, Phytopathology 1992.

Daughtrey, L.M. 1995 Compendium of flowering potted plant disease. University
Long island Hott New York. 128 pp

----- 1974, Diagnosing ornamental plant diseases, An Illustrated Handbook
University of California publicación 21446

Donovan, S.C. et. al. Manual of the plants of Texas. 1970

Fang J.G. et al 1995. Evaluati6n of *Phthium nunn* as a potential biocontrol agent
Against *Phytophthora* root rots of *Azalea* and sweet orange.

French R. E., 1982, Métodos de investigación fitopatologica, Instituto Interamericano
De cooperaci6n para la agricultura, Costa Rica 290 pp.

García, A. F. 1989, Manual de enfermedades de las plantas, Ediciones Mundi prensa
Madrid España.

González, V. G., 1998, El cultivo de la Azalea (*Rhododendron* spp), Monografía,
Licenciatura, Saltillo, Coahuila, México, 1998, pp. 113.

Gotwald, T.R. , 1992 Relantionship of leaf, surface populations of strains of *X.*
Campestris pv. *citrumelo* to Development of citrus bacterial spot and
Persistence of Disease symptoms, Phytopathology , vol 82 pág 625

Guigón L.C. 1994 Epidemiología de las enfermedades de la papa causadas por Hongos fitopatógenos del suelo en el Sur de Coahuila y Nuevo León, Tesis posgrado U.A.A.A. N Buenavista, Saltillo, Coah. 104 pp

Herwig, Rob 1993. Guía de las plantas de interior, ediciones omega, Barcelona

Jang, J.C. 1990, et. Al Cellular Responses of pine callus to infection by *Phytophthora cinnamomi*.

J.B. Jones. 1991 Population Dynamics of *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* on tomato leaflet. Treated with copper bactericides Phytopathology

Kyrally, Z.Z. et. al 1970, Methods in plant pathology akademias Kado Budapest

Larson, Roy A. 1980, Introducciòn a la floricultura. Editorial A. G.T Dpto. De ciencias hortícolas de la universidad del estado de Carolina, Carolina del Norte.

Lipp, R.L. et al 1992, Use of Monoclonal Antibodies and Pathogenicity tests to Characteriza strains of *X. Campestris* pv. *Diefenbachiae* from Aroids. Phytopathology, vol 82, p. 677

López , F.M.C. 1991 Fitobacterias en algunas plantas ornamentales

U.A.Chapingo.

Lozoya S.H. 1989 Diagnóstico de enfermedades de plantas y bibliografía sobre

Fitopatología, U.A. Chapingo, Dpto. Fitotecnia, 78 pp.

Norman, et. al. 1994, Rapid detection of *Xanthomonas campestris* pv *dieffenbachiae* in *Anthurium* plants with a miniplate Enrichment/elisa system .

Universidad de Hawaii. Plant Disease 1994.

Romero, C. S. 1993, Hongos fitopatógenos U.A. Chapingo, 1ª reimpresión.

Spreage, 1965

Shaad, N.W., 1980, Laboratory guide for identification of plant pathogenic Bacteria.

Department of plant pathology University of Georgis. Bacteriology of comitee of American Phytological Society.

Sinclair A.W. 1987, Diseases of trees and shrubs, Comstock Publishing Associates.

Smith, I.M.

University Ornamental of California. Diagnosing ornamental plant disease en illustrated Handbook, 1974.

Van Peer, et. al. Induced resistance al phytoalexin acumulation in Biological control of fusarium wilt of carnation by pseudomonas sp strain WCS

417 R. Phytopathology 1991.

Villarreal Q.J., 1993. Introducción a la botánica forestal Ed. Trillas-UAAAN 2ª

Edición México, D.F.

Vines, R.A., 1960 Trees, shrubs, and woody vines of the southwest. Dancinger

Apapublications Fund- Univ. Of Texas Press, Austin, Tx.

APENDICE

PATOGENOS IDENTIFICADOS EN *Azalea spp*

Se obtuvieron diferentes organismos:

- a) **BACTERIAS:** Se aisló e identificó los géneros *Xanthomonas* y *Corynebacterium*.

Se encontró como principal patógeno a *Xanthomonas* causando manchas foliares y a *Corynebacterium* como agente causal de los crecimientos cortos en las plantas de azalea estudiadas.

Reino : *Procaryotae*

División : *Gracilicutes*

Clase: *Proteobacteria*

Familia: *Pseudomonadaceae*

Género: *Xanthomonas*

- * Hay más de 100 spp reportadas en todo el mundo
- * Son areólicas
- * Son gram negativas
- * Sólo tienen un flagelo a veces dos
- * Forman colonias amarillas
- * La mayoría son lipolíticas
- * Su temperatura óptima es de 25 – 27° y 35° In vitro
- * Provoca pudriciones blandas, marchitez y manchas foliares.

Género: *Corynebacterium*

- *Son gram positivas
- *Son bacilos pleomórficos
- *Se asocian en V en la división celular

*No son móviles

* Son aerobios obligados

PATOGENOS IDENTIFICADOS EN *Gardenia jasminoides*.

Se identificaron los siguientes géneros de hongos:

Mucor

Subdivisión :*Eumycotina*

Clase: *Phycomycetes*

Subclase: *Zygomycetidae*

Orden: *Mucorales*

Familia: *Mucoraceae*

Género: *Mucor*

CARACTERISTICAS MORFOLÓGICAS

Micelio bien desarrollado, sin rizoides, ni estolones, esporangióforos no fasciculados, individuales, simples ó muy poco ramificados monopódica ó simpódicamente, todas las ramas terminan con un esporangio, grande globoso multiespóricos, con columela.

Una de las especies más importantes fitopatógenas es *Mucor racemosus* que ataca a la papa. Se considera un agente contaminante del ambiente. (Romero, 1983)

Aspergillus

Subdivisión: *Eumycotina*

Clase: *Deuteromycetes*

Orden: *Moniliales*

Familia: *Moniliácea*

Género: *Aspergillus*

CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

Conidióforos largos, lisos ó rugosos, con el ápice hinchado y cubierto parcial ó totalmente por una ó dos series de esterigmas, célula basal modificada; conidios hialinos ó de colores brillantes, globosos, ovales ó elípticos, lisos ó esquinulados.

La mayoría son saprófitos, algunos son parásitos benignos de plantas y animales, es cosmopolita. Ataca principalmente granos almacenados.

El daño es una pudrición parcial ó total del sustrato , en granos sobreviven hasta con 13% de humedad. Se recomienda para su control el manejo cuidadoso de la cosecha, evitar heridas, almacenar los productos con un contenido bajo de humedad.

Este patógeno ataca a gladiola , se recomienda utilizar paraq su control Maneb, Tecto- 60.

Fusarium

Subdivisión: *Eumycotina*

Clase: *Deuteromycetes*

Orden: *Moniliales*

Familia: *Moniliaceae*

Género: *Fusarium*

Conidióforos alargados en forma de botella, con ramas a intervalos regulares ó verticilados, septados, individuales ó agrupados en esporodoquios, conidios de dos tipos , microconidios elípticos ó piriformes, unicelulares ó bicelulares, curvados, en cabezuelas ó en cadenas,

Macroconidios falcados, en forma de media luna ó elípticos, dos a nueve septas, ápice puntiagudo con ó sin clamidiosporas.

La principal especie es *oxysporum*, con categorías inferiores, con diferente patogenicidad y hacia diferentes hospedantes, causando daños como clorosis, achaparramiento, coloración café del xilema.

Se recomienda para su control usar variedades resistentes al patógeno, y hacer aplicaciones de Benlate.

Alternaria

Clase: *Deuteromycetes*

Orden: *Moniliales*

Familia: *Moniliaceae*

Género: *Alternaria*

Existen diversas especies de importancia fitopatógica como lo son: *A. Tenuis*, que se desarrolla como parásito en hojas, tallos y frutos de cultivos debilitados, ataca principalmente a frijol, remolacha, cebolla, tomate, causando manchas con anillos concéntricos y color oscuro. *A. Porri*, causa la mancha púrpura del género *Allium*, ésta es endémica de Canadá, en México en Tamaulipas y Morelos los principales síntomas son pérdida de turgencia y doblamiento, manchas de apariencia húmeda y color café, que posteriormente se tiñe de color púrpura. La temperatura favorable fluctúa entre los 5° y 30° C, de 24° a 12°C casi no ocurre infección. La más conocida *Alternaria solani*, que causa la enfermedad del tizón.

Cephalosporium

Clase: *Deuteromycetes*

Orden: *Moniliales*

Familia: *Moniliaceae*

Género: *Cephalosporium*

Pertenece a los hongos imperfectos que forman conidios sobre conidióforos ó ramificados característico de el orden *Moniliales*. Incluye a *C. Apii*. Que causa daños a plantas con deficiencias de Magnesio, Boro, y exceso de humedad causando manchas café irregulares que pueden llegar a abarcar todo el tallo. *C. Gregatum* que causa la pudrición café de la soya, se caracteriza por la muerte prematura,

acame, causan pudrición café del cilindro central y xilema del tallo, Se distribuye en forma ascendente.

PATOGENOS IDENTIFICADOS EN *Ungnadia speciosa*

a) bacterias

Se encontró como patógeno a la bacteria del género *Pseudomonas*, y de acuerdo a las pruebas con medios específicos, donde se presentó crecimiento en el medio D1 determinamos que pertenece a la especie *syringae*.

Reino: *Procariote*

Clase: *Schyzomycetes*

Familia: *Pseudomonadaceae*

Género: *Pseudomonas*

Especie: *syringae*

Pseudomonas syringae* pv. *Syringae

Ataca a los frutales de hueso, comparable con el *pv. Morsprunorum*, causa podredumbre y necrosis de flores, en huéspedes herbáceos, causa lesiones foliares y necrosis (chícharo, alfalfa, cilantro, pimienta morrón) muerte progresiva de árboles y arbustos, incluyendo aguacate y nogal.

En ornamentales, abedul, roble, laurel, piracanto y magnolia. La distribución geográfica es muy amplia, en Europa, en regiones productoras de frutales de hueso y en cítricos, también en todas las regiones templadas del mundo. En base a las pruebas realizadas en el para identificar patovares, se comprobó que pertenece al

patovar syringae, ya que mostró una respuesta de crecimiento en el medio CVP, que es el adecuado para identificar éste patovar.

b) hongos

También se identificó el hongo *Helminthosporium bipolaris*, con la ayuda de la clave de identificación de Barnett.

Subdivisión: *Eumycotina*

Clase: *Deuteromycetes*

Orden: *Sphaeropsidales*

Familia: *Dematiaceae*

Género: *Helminthosporium*

Especie: *bipolaris*

Diferentes spp de *Helminthosporium*, que en la actualidad se conocen bajo los nombres de *Bipolaris*, *Dreschlera* ó *Exserohilum*, producen los tizones de maíz, mancha foliar en el trigo.

Causa las enfermedades *Cochliobolus* y *Pyrenophora* *H. bipolaris* causa el tizón foliar sureño en las hojas del maíz destruyen varias zonas de la superficie de la hoja, atacan y destruyen parte del tallo ó de las raíces ó bien atacan directamente a los granos y, en todos los casos producen pérdidas considerables en la producción. Toda ésta información fue obtenida de Romero(1993).