



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA
CHAPINGO, MEXICO.**

✓ INTERACCION DE Globodera rostochiensis (Woll,)
Mulvey y Stone, Rhizoctonia solani Kuhn y
Fusarium oxysporum Schl., EN LA VARIEDAD
DE PAPA "ALPHA" BAJO CONDICIONES
DE INVERNADERO.

SALVADOR GONZALEZ MARROQUIN

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
ESPECIALISTA EN PROTECCION VEGETAL**



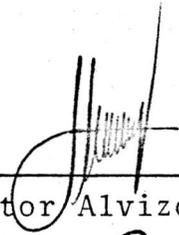
1987



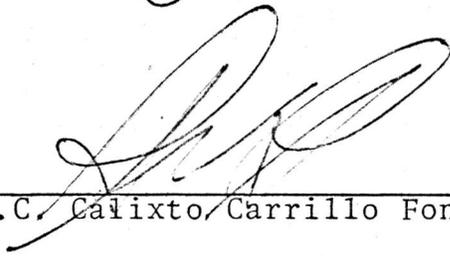
**DIRECCION ACADEMICA
CHAPINGO, MEX.**

Esta Tesis fué realizada bajo la dirección del Consejo Particular, siendo aprobada por el mismo y por el Jurado examinador.

PRESIDENTE


M.C. Hector Alvizo Villasana

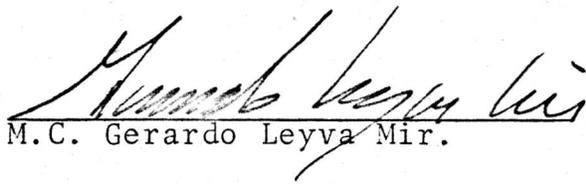
SECRETARIO


M.C. Calixto Carrillo Fonseca

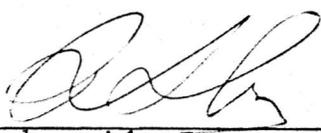
VOCAL


Dr. Roberto Gómez Aguilar

SUPLENTE


M.C. Gerardo Leyva Mir.

SUPLENTE


Dr. Sebastián Romero Cova

19439

Chapingo, Méx., a 7 de mayo de 1987.

A G R A D E C I M I E N T O S

Al F.I.R.A. (Fideicomisos Instituidos con relación con la Agricultura) por haberme financiado y dado la oportunidad para realizar mis estudios de especialización.

Al M.C. Calixto Carrillo Fonseca por la dirección y orientaciones en el desarrollo de este trabajo, así como, por su amistad brindada.

Al Dr. Roberto Gómez Aguilar por su asesoramiento en el desarrollo de este trabajo.

Al M.C. Héctor F. Alvizo Villasana por su ayuda y revisión del presente trabajo.

Al Dr. Sebastián Romero C. y M.C. Gerardo Leyva Mir., por sus valiosas sugerencias y revisión de este trabajo.

Al M.C. Benito Pinto Cortés por su valiosa ayuda, sugerencias y revisión de este trabajo.

Al personal académico y laboratoristas del Departamento de Parasitología (UACH) por su colaboración durante mi estancia de estudios.

A los Ings: Fermín Flores Aguilera (QEPD) y Felipe García
Gómez (QEPD), por su espíritu de superación.

A la Srita Cleotilde y a la Sra. Mary Sosa por su imprescindible
ayuda mecanográfica

A todas aquellas personas que de una forma u otra hicieron
posible la realización del presente trabajo.

DEDICATORIAS

A mis padres

Con cariño y respeto

A mi esposa

Con amor y admiración

A mis hermanos

Por su ayuda y amistad incondicional

A todos mis familiares y amigos

Que me alentaron a superarme

Esta tesis fue realizada bajo la dirección del Consejo Particular indicado, siendo aprobada y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
ESPECIALISTA EN PROTECCION VEGETAL**

Consejo Particular:

Consejero: M.C. Héctor Felix Alvizo Villasana

Asesor: M.C. Calixto Carrillo Fonseca

Asesor: Dr. Roberto Gómez Aguilar

Chapingo, Méx., Marzo de 1987

I N D I C E

	Pág.
INDICE DE CUADROS Y FIGURAS.....	i
RESUMEN.....	ii
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	7
2.1. <u>Solanum tuberosum</u> L. var. "Alpha".....	7
2.2. <u>Globodera rostochiensis</u> (Woll) Mulvey y Stone,	8
2.3. <u>Rhizoctonia solani</u> Kuhn.....	11
2.4. <u>Fusarium oxysporum</u> Schl.....	13
2.5. Interacción de patógenos.....	14
III. MATERIALES Y METODOS.....	22
3.1. Descripción del estudio.....	22
3.1.1. Localización.....	22
3.1.2. Semilla.....	22
3.1.3. Suelo y Fertilización.....	23
3.1.4. Manejo.....	23
3.2. Fuentes de inóculo.....	23
3.2.1. Muestreo para nemátodo y hongos.....	23
3.2.2. <u>Globodera rostochiensis</u> (Woll) Mulvey y Stone,	24
a) Extracción.....	24
b) Identificación.....	24

	Pág.
c) Patogenicidad.....	25
d) Estimación de la población.....	25
3.2.3. <u>Rhizoctonia solani</u> Kuhn y <u>Fusarium</u>	
<u>oxysporum</u> Schlecht.....	26
a) Aislamiento.....	26
b) Identificación.....	27
c) Patogenicidad.....	27
d) Estimación del inóculo.....	27
3.3. Interacción Nemátodo-Hongo.....	28
3.3.1. Efecto sobre la variedad de papa "Alpha"	
de <u>G. rostochiensis</u> , <u>R. solani</u> y <u>F. oxys-</u>	
<u>porum</u> incorporados bajo condiciones de -	
invernadero	28
3.3.2. Parámetros utilizados para conocer el da	
ño de los patógenos sobre la variedad de	
papa "Alpha".....	29
a) Número de tallos por planta.....	29
b) Altura de planta.....	30
c) Peso fresco y seco de follaje.....	30
d) Longitud, peso fresco y seco de raíz...	31
e) Número, peso y clasificación de tu--	
bérculos.....	31
f) Población inicial y final de hueveci	
llos-larva del nemátodo.....	32
3.3.3. Análisis de los datos.....	33

IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	35
4.1. Fuentes de Inóculo.....	35
4.1.1. <u>Globodera rostochiensis</u> (Woll)	
Mulvey y Stone.....	35
a) Identificación y patogenicidad.....	35
4.1.2. <u>Rhizoctonia solani</u> Kuhn y <u>Fusarium</u>	
<u>oxysporum</u> Schl.....	39
a) Identificación y patogenicidad.....	39
i) <u>R. solani</u> Kuhn.....	39
ii) <u>F. oxysporum</u> f.sp. <u>tuberosi</u>	
(W) S & H.....	39
4.2. Interacción nemátodo-hongo.....	39
4.2.1. Interacción de <u>G. rostochiensis</u> , <u>R. so-</u>	
<u>lani</u> y <u>F. oxysporum</u> en la variedad de	
papa "Alpha".....	43
a) Tallos por planta.....	43
b) Altura de tallos.....	44
c) Apariencia del follaje.....	49
d) Follaje.....	51
e) Raíz.....	53
f) Rendimiento.....	55

	Pág.
4.2.2. Tasa de crecimiento de huevecillo-larva de <u>G. rostochiensis</u>	58
4.2.3. Coeficientes de correlación.....	60
4.2.4. Contrastes.	61
V. CONCLUSIONES.....	63
VI. BIBLIOGRAFIA.....	65
APENDICE.....	73

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO	Pág.
1	TRATAMIENTOS Y CARACTERISTICAS EMPLEADAS PARA EVALUAR LA INTERACCION ENTRE <i>G. rostochiensis</i> , <i>R. solani</i> y <i>F. oxysporum</i> SOBRE LA VARIEDAD DE PAPA "ALPHA", BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO..... 29
2	CLASIFICACION DE LOS TUBERCULOS DE ACUERDO A SU DIAMETRO Y/O PESO 32
3	IDENTIFICACION DE QUISTES PROCEDENTES DE LA REGION PAPERERA DE HUAMANTLA, TLAX., EN BASE A LAS CARACTERISTICAS DE LA FENESTRALIA..... 35
4	PATOGENICIDAD DEL NEMATODO DORADO SOBRE LA VARIEDAD DE PAPA "ALPHA", BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO..... 38
5	COMPORTAMIENTO DE LA PATOGENICIDAD DE LOS HONGOS <i>R. solani</i> , <i>F. oxysporum</i> SOBRE LA VARIEDAD DE PAPA "ALPHA", BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO..... 42
6	PROMEDIO DE TALLUELOS POR TRATAMIENTO Y PORCENTAJE DE REDUCCION EN SUELOS INFECTADOS CON <i>G. rostochiensis</i> , <i>R. solani</i> y <i>F. oxysporum</i> SOLOS Y ASOCIADOS..... 44
7	ALTURA DE LAS PLANTAS DE PAPA, COMO RESPUESTA A LA PRESENCIA DE <i>G. rostochiensis</i> , <i>R. solani</i> y <i>F. oxysporum</i> , BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO..... 45
8	APARIENCIA AEREA DEL CULTIVO DE LA PAPA BAJO EL EFECTO DE <i>G. rostochiensis</i> , <i>R. solani</i> y <i>F. oxysporum</i> SOLOS Y ASOCIADOS..... 50
9	COMPORTAMIENTO DE LA RAIZ DEL CULTIVO DE LA PAPA BAJO EL EFECTO DE <i>G. rostochiensis</i> , <i>R. solani</i> y <i>F. oxysporum</i> EN CONDICIONES DE INVERNADERO..... 54
10	RENDIMIENTO Y CLASIFICACION DE TUBERCULOS EN LOS TRATAMIENTOS..... 55

CUADRO

Pág

11	HUEVECILLOS-LARVA Y PORCENTAJE DE INCREMENTO O DISMINUCION DE LAS POBLACIONES DEL NEMATODO DORADO, DESPUES DE UN CICLO DE CULTIVO CON LA VARIEDAD DE PAPA "ALPHA", BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO.....	59
12	PRUEBAS DE HIPOTESIS DE "CONTRASTE" PARA CUATRO PARAMETROS DE INTERES, EN EL DESARROLLO DEL CULTIVO DE LA PAPA.....	62

FIGURA

1	CORTE DE FENESTRA DE UN QUISTE DE <i>G. rostochiensis</i>	37
2	MICELIO CARACTERISTICO DEL GENERO <i>Rhizoctonia solani</i>	41
3	MACROCONIDIOS Y MICROCONIDIOS DEL GENERO <i>Fusarium oxysporum</i>	41
4	VARIACION ESTADISTICA DE LA ALTURA EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS Y FECHA DE MEDICION.....	46
5	VARIACION DE LOS PESOS DE FOLLAJE PRESICO Y SECO, SEGUN EL TRATAMIENTO.....	52
6	REPRESENTACION GRAFICA DE LA PRUEBA DE DUNCAN PARA LAS MEDIAS DE RENDIMIENTO DE TUBERCULO (Y20).....	56

R E S U M E N

Globodera rostochiensis, Rhizoctonia solani y Fusarium oxysporum son de los patógenos del suelo que provocan daños - de consideración al cultivo de papa. Además, como la mayoría de las áreas paperas en el país se ubican en regiones climáticas propicias para el desarrollo de estos patógenos, representan un peligro potencial constante al cultivo. Es por esto, - que en el presente trabajo se estudia la interacción patológica de G. rostochiensis, R. solani y F. oxysporum en el cultivo de papa var. "Alpha"; así como, la correlación de algunos caracteres de la planta con la presencia de los patógenos, - bajo condiciones de invernadero.

Para el propósito anterior, se midió el número de tallos por planta, la altura, el peso fresco y seco del follaje y raíz, el número y peso de los tubérculos, la población final de huevecillos-larva del nemátodo, etc. Se obtuvo además la correlación entre los ^{VARIABLES} parámetros y se planteó una prueba - de hipótesis a través de contrastes.

El análisis de varianza resultó significativo ($\alpha = 0.05$) para las variables: número de tallos, altura, peso seco de raíz y producción de tubérculo. No obstante que en el resto de las variables no resultaron estadísticamente diferentes, - la información permitió en un análisis conjunto, inferir sobre el comportamiento de la planta como respuesta al ataque -

de los patógenos. Así por ejemplo el número de talluelos se redujo hasta en un 50% menos que su número inicial en los tratamientos Rhizoctonia y Nemátodo Rhizoctonia-Fusarium.

La altura y el rendimiento de tubérculos fueron las variables que mostraron mayores diferencias en sus promedios por tratamientos. El tratamiento testigo se encontró generalmente en los promedios más altos; el promedio de patógenos solos, la interacción de primer orden y finalmente la interacción de segundo orden lograron respectivamente valores cada vez menores.

Por tanto, podemos concluir que existió una acción limitante en el crecimiento y producción de la planta, a medida que la participación de patógenos fue más compleja.

I. INTRODUCCION

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.), tiene un papel preponderante en la alimentación y desarrollo de los pueblos, ubicándose entre los 10 primeros productos agrícolas más importantes del mundo. Su origen geográfico está ubicado en la Cordillera de los Andes del Perú, lugar de donde se ha distribuido a casi todos los países (44).

El tubérculo es la parte comestible de la planta que contiene reservas de almidón y proteínas útiles en la alimentación, constituyendo una fuente de energía en la dieta humana. En la historia se menciona que a la llegada de los españoles, los indígenas ya cultivaban la papa, especialmente en las poblaciones del Altiplano (Perú-Bolivia) y en el Sur de Chile, lugar donde no se producía bien el maíz (44).

En México, la época moderna del cultivo data de 30 años a la fecha, habiendo alcanzado en estos últimos años notables incrementos en su superficie; citando para 1980, una cifra de 123,415 hectáreas, con una producción total de 1'514,199 toneladas que representan un valor de producción de 5'610 millones de pesos. Los principales estados productores y su porcentaje de aportación es: Veracruz 20.4%, Puebla 15.8%, Chihuahua 11.2%, Sinaloa 10.7%, Guanajuato 8.7%, Michoacán 8.6%, Edo. de México 6.8.% y Tlaxcala con

1.9% (5,59).

Por otra parte, se ha observado que una diversidad de problemas restringen el buen desarrollo del cultivo; entre ellos se encuentran las enfermedades que han llegado a causar serios daños, obligando en ciertos lugares a cambio de cultivo o hábitos; ejemplo de ello, son los estragos que causó el hongo Phytophthora infestans en 1854 en Irlanda, donde murieron un millón de personas y otras tantas tuvieron que emigrar, ya que los campos de este cultivo fueron completamente arrasados por la enfermedad conocida como Tizón Tardío de la papa (44). Dentro de los principales patógenos que atacan al cultivo de la papa en México, se encuentran: Phytophthora infestans (Mont) DBD, Alternaria solani Kuhn, Rhizoctonia solani Kuhn, Fusarium spp Schl, además de otros como Globodera rostochiensis Mulvey y Stone, Pseudomonas solanacearum E.F. Smith que en algunas regiones son factores limitantes en su producción tanto para consumo humano como para semilla.

No obstante que las variedades de papa difieren en cuanto a sus características de resistencia a enfermedades, G. rostochiensis, R. solani y F. oxysporum como patógenos del suelo han llegado a causar pérdidas de importancia socio-económica.

Así examinando las pérdidas que producen los nemátodos fitoparásitos, particularmente de las especies que se enquistan, encontramos que el más conocido y de importancia socio-económica mundial es el llamado "nemátodo dorado" de la papa (*G. rostochiensis*) que puede reducir hasta en 70% los rendimientos. Además, las hembras enquistadas protegen los huevecillos-larva de factores adversos, llegando a permanecer viables hasta por 30 años en el suelo, situación que ha dificultado su erradicación (63, 72).

En relación con los hongos radicales, Turkensteen (69) menciona a *R. solani* y *F. oxysporum* como los patógenos más importantes de la papa, señalando que la enfermedad causada por *R. solani* es la más antigua y ampliamente extendida en el mundo, asimismo, que se presenta en numerosos cultivos y malezas. Entre los diversos daños que ocasiona este hongo, encontramos: ahogamiento de plántulas, pudrición de raíz y tallo, también suele atacar las partes aéreas especialmente en el follaje que se encuentra cerca del suelo. El patógeno se mantiene de un año a otro en forma de esclerocio en el suelo y tubérculo o como micelio en restos de vegetales (31).

Por su parte, *F. oxysporum* comprende el grupo más cosmopolita y de mayor difusión en el mundo, identificándose como responsable de un sinnúmero de alteraciones tales como: podredumbre de raíz, tallos y frutos, ahogamientos, etc. La

enfermedad puede ocasionar pérdidas considerables, especialmente en variedades susceptibles y bajo condiciones climáticas favorables, esto es, en lugares donde se cultiva papa a temperaturas relativamente altas o durante la estación seca y calurosa. Carreto (15) cita que en 1944 se le observó en Tandil, B.A. (Argentina) donde el parásito había provocado la muerte del 100% de las plantas de papa.

En general, en un medio ambiente no controlado, las plantas sufren del ataque simultáneo de más de un fitoparásito. Aunque cada uno actúa en forma individual, generalmente la primera infección afecta en cierto modo el establecimiento posterior de otro patógeno en la misma planta. Así se señala que los nemátodos, predisponen a las plantas al ataque de otros organismos o incrementan la severidad de otras enfermedades, como es el caso del efecto combinado de los nemátodos agalladores del género Meloidogyne y el hongo Fusarium en la marchitez del algodón (46,51).

Otro tipo de interacción patológica, puede darse entre organismos similares, por ejemplo, Alconero (2) indica que R. solani predispone las raíces de Vainilla planifolia a la infección por F. oxysporum f. sp. vainillae, también concluye que ocurren mayores proporciones de infección cuando se inoculan los hongos simultáneamente, que cuando éstos se inoculan solos.

Objetivos

El presente estudio nació al considerar el gran peligro potencial que representa la asociación de estos patógenos en el cultivo de papa, dado que una mayoría de las áreas paperas del país reúnen condiciones climáticas favorables para su desarrollo. Una muestra, la constituye la región productora que se localiza en la parte Centro del país, comprendida por los estados de Puebla, Tlaxcala y Veracruz (alrededor de 50,000 ha), las tierras son en su mayor parte de temporal, básicamente en Tlaxcala, en Puebla y Veracruz existen algunas áreas regables de consideración donde se practica este cultivo. También la alta siniestralidad por la presencia de heladas tardías y tempranas, escasa precipitación y fuertes vientos, los cultivos tradicionales como el maíz no son -- atractivos, por tal motivo, la papa constituye un cultivo muy importante por la seguridad, redituabilidad y ocupación de mano de obra. Si bien es cierto, que no se ha tenido noticias de la gravedad de los patógenos en estudio, se debe posiblemente a que no han alcanzado un nivel poblacional capaz de causar graves daños económicos; sin embargo no existen estudios precedentes en el país que relacionen la influencia de estos patógenos asociados con el grado de daño.

Por tal motivo, se consideró conveniente realizar una investigación bajo condiciones de invernadero con los siguientes objetivos:

- a) Evaluar el efecto que causa G. rostochiensis, R. solani y F. oxysporum sobre la variedad de papa Alpha.
- b) Determinar la correlación entre las variables en estudio.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. Solanum tuberosum var. Alpha

La especie de papa cultivada a escala comercial más difundida es Solanum tuberosum L., dado que presenta gran número de variedades con amplio espectro de respuestas a distintas condiciones ambientales, enfermedades y plagas; la variedad utilizada en nuestro estudio "Alpha", fué desarrollada por el Dr. J.C. Dorst en Holanda (Paul Kruger x Preferent), teniendo las siguientes características: de maduración tardía, muy buena productora, tubérculos grandes oval-redondos, ojos superficiales, pulpa amarillo clara y bastante harinosa, desarrollo lento, cubre bien el terreno, sensible al tizón tardío, nemátodo dorado, virus A, X y Y, muy sensible al virus del enrollamiento, además resiste bien la sequía (6).

Por su calidad culinaria en nuestro país es ampliamente cultivada, su forma de cultivo varía de acuerdo a las regiones; así, existen valles donde el cultivo es tecnificado ocupando el 50% (65,000 ha) de la superficie total sembrada, siendo Alpha la variedad más usada. La otra forma de manejo de las siembras es sin tecnificación, practicándose en el otro 50% de la superficie, estas se localizan principalmente en las sierras, sembrándose con variedades crio---

llas sin certificación (14). A su vez, el 50% de las plantaciones comerciales se cultivan con variedades extranjeras de Holanda y los Estados Unidos de América, aproximadamente el 45% se siembra con variedades criollas y el 5% restante con variedades mejoradas del país (26).

Según sus exigencias, la papa se le clasifica como una planta de temperatura fresca, ya que en condiciones más cálidas, la planta no manifiesta su potencial de producción. Para el crecimiento del cultivo se requiere de rango de temperatura de 13°- 18°C, humedad moderada, lluvias bien distribuidas, con vientos de velocidad media, días largos y ausencia de heladas durante el período vegetativo (44).

2.2. Globodera rostochlensis

Los primeros quistes del nemátodo fueron observados en 1881 por Kuhn en Alemania, en raíces de papa. Hasta 1976 Mulvey y Stone separan definitivamente al grupo Heterodera, basándose en la presencia o ausencia de cono vulvar, a los grupos que no la presentan los clasifican en base a la fenestralia y define dos nuevos géneros Punctodera y Globodera, este último fué el género propuesto por Skarbilovich en 1959 (16, 66).

Por tanto, la ubicación taxonómica del nemátodo dorado quedó comprendida dentro del Orden Tylenchida, Superfamilia

Tylenchoidea, Familia Heteroderidae, género y especie Globodera rostochiensis (Heterodera rostochiensis) Mulvey y Stone, 1976 (67). Morfológicamente se caracteriza porque las hembras son sésiles, globosas, presentan fenestra vulvar, los machos son activos, vermiformes, tienen espículas con puntas redondeadas sin bifurcación, el segundo estado larval es infectivo, ya que penetra a las raíces, muestra un disco oral casi circular y redondeado por diferentes sectores labiales (66, 67).

Winslow (73) realizó una revisión de literatura, señalando que el 70% de las publicaciones sobre nemátodos de papa concernían al nemátodo dorado (Globodera sp.), siguiendo en importancia Ditylenchus y Meloidogyne. El nemátodo afecta el rendimiento, calidad ó ambos; así lo demuestran los estudios de Brown (10) quien indicó un equivalente en pérdidas por año debido al nemátodo dorado, de 1 ton/ha por cada 8 huevos por gramo de suelo, pudiendo variar por localidades. Rodríguez (55) señala que la variedad de papa Alpha, bajo condiciones de invernadero muestra reducciones progresivas en los rendimientos a medida que se incrementa la población inicial de nemátodos (H. rostochiensis); pero en condiciones de campo ha demostrado ser tolerante aún en poblaciones altas. Una población de 10,142.0 huevecillos-larva por 50 cm de suelo, redujo el rendimiento de papa comercial en más de 9 ton/ha, que equivale a un 64.3% de rendi-

miento.

Entre los cultivos que afecta y que podrían ser hospedantes y portadores del nemátodo se encuentran: papa, tomate, berenjena, ajo, cebolla, col, fresa, camote, melón, cacahuete jicama, remolacha y zanahoria (9).

El nemátodo dorado en México, fué detectado en 1954 por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), en productos mexicanos de exportación (65). Sosa Moss (64) confirmó la presencia en suelos de León, Gto., basándose en análisis hechos de fenestralias de quistes; Iverson (32) indicó que efectivamente se trataba de G. rostochiensis. En base a estos hechos, en julio de 1972 es oficialmente aceptada la presencia del nemátodo dorado en el país; y a partir de 1973 la Dirección General de Sanidad Vegetal (SARH) inició la campaña para prevenir la diseminación del nemátodo dorado en las zonas paperas de México (13). Actualmente se reporta su presencia en los Estados de Guanajuato, Nuevo León, Veracruz, Tlaxcala, Puebla y México (59). Como resultado de esta identificación, el país se ve afectado por las restricciones internacionales aplicadas a productos agrícolas cosechados en regiones donde se reporta este nemátodo (13).

2.3. Rhizoctonia solani

Este hongo de distribución universal, fué reconocido primeramente por Kuhn en 1858, atacando partes inferiores de la planta, raíces y tallos subterráneos, Por su naturaleza versátil y gran habilidad para ser atraída a la papa de diferentes maneras, el hongo puede considerarse uno de los fitopatógenos de mayor importancia (71).

Se ha estimado que R. solani ataca a mas de 200 especies de plantas comprendidas en 66 familias, viviendo como parásito o saprófito; entre otros hospedantes de importancia socioeconómica tenemos: algodón, benrenjena, clavel, cebolla, haba, lechuga, chile, tomate, tabaco, pinos, etc. (76). Algunas investigaciones reportan reducciones en la producción, con pérdidas del 45-68% cuando la infección ocurre durante el período de germinación. Otros autores agregan que son comunes las pérdidas de 5 a 15%, pudiendo ser considerablemente altas en condiciones muy favorables para el patógeno y bajas en áreas secas con suelos ligeros (48). Atkins (7) informa que la enfermedad por Rhizoctonia fué la más severa en Louisiana (E.U.), en el ciclo 50-51 del cultivo de soya, dado que las condiciones fueron favorables y el hongo pudo mostrar su potencial destructivo.

R. solani es el estado imperfecto de Thanatephorus cucumeris (Frank) Donk, pertenece taxonómicamente a la Clase Deutoromicetes, Orden- Mycelia sterilia (3,1). El hongo mata los brotes subterráneos, retardando o anulando su emergencia, especialmente en suelos húmedos y fríos. En los tubérculos causa agrietamiento, malformaciones y necrosis en los extremos de unión con el estolón (31,48). La fase sexual se observa comunmente en plantas desarrolladas en ambientes sombreados y de alta humedad. El micelio del hongo es color blanco sucio, envuelve el tallo a nivel del suelo y en la parte externa de ese tejido nacen los basidios, los que dan origen a las basidiosporas, estructura reproductiva que disemina el patógeno (12, 48).

Esta especie comprende un gran número de cepas que pueden distinguirse en base al rango de hospedantes, virulencia temperatura a la cual ocurre el ataque, habilidad de crecer y sobrevivir en los niveles inferiores y/o superiores del suelo o como patógeno aéreo, habilidad de tolerar el CO₂ en altas concentraciones, etc. (48, 71).

Parmeter (48) menciona que las pudriciones del fruto de tomate ocasionados por R. solani, se desarrollan únicamente si la penetración del patógeno se realiza a través de heridas.

2.4. Fusarium oxysporum

El género Fusarium comprende un grupo muy cosmopolita y de amplia difusión en el mundo. En 1971 Radtke y Escande, citados por Calderoni (12) hicieron un estudio señalando a varias especies de Fusarium causantes de marchitez en papa, pero de ellos el más importante es F. oxysporum.

Taxonómicamente el hongo se ubica dentro de la Clase Deuteromicetes, Orden Moniliales, Familia-Forma Tuberculariaceae, Género y especie Fusarium oxysporum Schl f. sp. tuberosi (Wr) S&H, (3,15). Este patógeno ocasiona daños en la raíz, dando como resultado un marchitamiento de la parte aérea de la planta; las primeras manifestaciones se observan en las hojas apicales en forma de puntitos amarillos o cobrizos, la alteración avanza hacia los bordes de las hojas y los síntomas progresan en el resto del follaje que se torna amarillo. En la raíz el ataque se inicia especialmente en las raicillas más finas, dando un color castaño oscuro (15, 31). De estas alteraciones es evidente que el mayor porcentaje de la marchitez es debida a una obliteración micelial de los vasos o por necrosis de los mismos ocasionadas por las toxinas producidas por el mismo hongo (1,12). En tubérculos aparecen pequeñas manchas cafés, que en poco tiempo se extienden, hunden y muestran anillos concéntricos que contienen cavidades cubiertas con un micelio blanco (12, 31).

La enfermedad es más drástica en climas cálidos y en suelos calientes y arenosos de las regiones templadas. Su daño se caracteriza por el achaparramiento de las plantas, las cuales al poco tiempo se marchitan y finalmente mueren con o sin pudrición de raíces, tallos y tubérculos (1). El patógeno inverna en el suelo en forma de micelio, pero lo hace con mayor frecuencia en forma de clamidosporas; se propaga a corta distancia por el agua y equipo agrícola contaminado. El micelio penetra en las puntas de la raíz o sobre ellas a través de heridas (12, 15).

Shirley (60) en un estudio sobre tendencia a la marchitez en papa, incorporó clamidosporas de F. oxysporum f sp. batatas; encontrando que en suelos de California la enfermedad se presentó a las 4 semanas (50 clamidosporas/gramo).

Su importancia económica y social ha sido relevante por los daños ocasionados en el cultivo del plátano ("Mal de Panamá"), ya que esta enfermedad aniquiló gran número de plantaciones en el sur de México y países centroamericanos (31).

2.5. Interacción de Patógenos

Los procesos y mecanismos asociados con una enfermedad, dependen de la interacción de muchos factores en el medio ambiente físico y biológico. Las explicaciones de los mecanismos de acción entre los patógenos son en gran parte especuladas.

tivas, ya que poco se ha investigado acerca de los fenómenos fisiológicos que gobiernan tales interacciones (19). Powell (52) señala tres mecanismos teóricos envueltos en una predisposición: 1) El patógeno primario puede hacer al tejido del hospedante más susceptible al patógeno secundario; 2) El patógeno primario puede enlazar la actividad del patógeno secundario y 3) El patógeno secundario puede también enlazar la actividad del patógeno primario. Por muchos años, se asumió que el daño por los nemátodos incrementaba la susceptibilidad de las plantas a la invasión de otros patógenos; esto parece razonable por la costumbre del nemátodo a entrar dentro de la planta. Sin embargo, es frecuente encontrar opiniones contrarias acerca del comportamiento en la asociación de un patógeno en particular, generandose una gran variedad de explicaciones; por ejemplo, un nemátodo afecta el rendimiento, aumenta o disminuye la población del nemátodo, incrementa la susceptibilidad del hospedante, etc.

Powell (52) cita a Heterodera spp. en un complejo de enfermedades como patógeno primario, indicando muchos casos de sinergismo. Los patógenos secundarios incluyen miembros de varios géneros de hongos como Fusarium, Phytophthora, Rhizoctonia y otros.

Krikum y Orion (38) demuestran que los nemátodos solos, no reducen apreciablemente la producción de papa; pero en

combinación con el hongo Verticillium, en variedades tolerantes, sufrieron bajas en el rendimiento del orden de 30-40%. También señalan que una población de 10,000 larvas/100 ml de suelo pueden reducir la producción en papas susceptibles del orden de 24-94%.

En un estudio de interacción de G. pallida y la severidad de un hongo, el número de nuevos quistes se abatió cuando se inocularon ambos simultáneamente; aparentemente el hongo infecta las raíces, factor que retarda el desarrollo del nemátodo (20). Situación semejante señala Jatala (34) al hacer una investigación en S. tuberosum andigena reconociendo que los hongos infectaron las raíces en presencia de los nemátodos, y que dichas combinaciones retardaron el desarrollo de los nemátodos. Sin embargo en observaciones recopiladas por Ross (57), cita a investigadores que trabajaron con: H. glycines en presencia de Fusarium spp., Pratylenchus penetrans en presencia de V. albo-atrum, etc., concluyendo que hay plena evidencia de que el número de nemátodos se incrementa cuando está presente otro parásito.

La asociación de H. rostochiensis y V. dahliae incrementó la severidad del daño por el hongo y una rápida aparición de síntomas en papa, mencionando que las heridas producidas por las hembras jóvenes del nemátodo al romper el tejido de la raíz, facilitan la penetración del hongo (18).

Meagher y Chambers (42) indican que en trigo H. avenae y R. solani reducen severamente el número de vastagos, altura y peso fresco de la planta.

Es frecuente la asociación de R. solani y Pratylenchus minyus en infecciones naturales de raíces de trigo, proponiendo que en algunos casos el nemátodo ayuda a la colonización del hongo; en pruebas de invernadero los síntomas (amarillamiento y reducción de talluelos) fueron mayores cuando estuvieron juntos que cuando estuvieron solos. La incidencia del hongo aparentemente puede estar correlacionada con las poblaciones de nemátodos endoparásitos (43).

En otras investigaciones (de asociación) se observó que la infección ocurre temprano en presencia del nemátodo pero las poblaciones de nemátodo fueron superiores a 24°C y no a 30°C (33). Conroy (17) por otro lado encontró que la influencia de Verticillium se correlaciona con la densidad de inóculo; la mayor incidencia ocurrió con la densidad de 200 propagulos/gramo de suelo. Incrementos considerables de infección fueron encontrados en todas las densidades de inóculo en presencia de nemátodos, el número de nemátodos extraído de las raíces de tomate infestadas con Verticillium fué significativamente más bajo, que el número extraído de raíces con nemátodo solo.

Otros efectos de interacción se han estudiado sobre tomate, específicamente sobre la marchitez del tomate causada por Meloidogyne spp. y F. oxysporum f sp. lycopersici; se encontró que en variedades resistentes a la marchitez por Fusarium los nemátodos reducen esa resistencia al hongo; por ejemplo, trabajando con 18 variedades determinaron que 5 de 8 que normalmente son resistentes, se vieron infectadas por el hongo, no obstante que la capacidad para romper la resistencia genética varió con el cultivar. En otro trabajo encontraron que plantas de 4-8 semanas de edad, con niveles de inóculo superiores a 10,000 larvas/planta y con un lapso de tiempo mayor de 35 días, fué reducida la resistencia genética (74,50,29). En México, López (40) señala que cuando se inoculó F. oxysporum con M. incognita las variedades de tomate ACE 55 y Homestead perdieron su resistencia a dicho hongo.

En la revisión sobre patógenos de igual entidad, se encontró que Rhizoctonia comunmente puede estar asociado también con otros hongos patógenos en ciertas enfermedades de raíz. Se conoce un efecto sinergista con F. solani en la pudrición de tubérculos de papa; aquí el factor sinergista fué atribuido a la interacción del sistema de enzimas pectínicas de los dos hongos (22). Yang y Hagedorn (75) señalan que los agentes causales de pudriciones radicales en frijol son F. solani y R. solani, determinando que la relación fue siempre mayor en hipocotilos y raíces secundarias. Snyder

(62) comprueba que la relación (R. solani - F. solani y F. phaseoli) frecuentemente se observa en frijol, siendo R. solani muy importante en las primeras etapas del cultivo.

En trigo, maíz y avena, de las 8-10 semanas de edad de las plantas, se encontró que el número de plantas infectadas por Fusarium fué aproximadamente el doble de las infectadas por Rhizoctonia. Al entremezclar los cultivos, la infección de Fusarium continuó siendo mayor (37). Papavizas (47) señala que las pudriciones radicales en frijol son causadas por Fusarium y Thielaviopsis en siembras tempranas, y por Fusarium y Rhizoctonia en siembras tardías.

El comportamiento de la interacción nemátodo-hongo, puede también dar por resultado una disminución del período de incubación del hongo (11).

Otra actividad sobresaliente de la interacción nemátodo-hongo, es el papel que juega en las enfermedades de almá cigo. Norton (45) encontró que el damping-off en postemergencia de semillas de algodón, debida a los hongos F. oxysporum, Phythium debaryanum y R. solani fué prevenido colocando a mayor profundidad la semilla que el inóculo, pero causó problemas cuando estuvo presente M. incognita acrita.

Van Gundy (70) encontró que una mezcla de F. solani y F. oxysporum reduce la germinación de 7-17% (secadera), pero esta reducción fue mayor cuando el hongo se combinó con Rhizopholus similis (76%). Pitcher (49) señala que usualmente los nemátodos transportan el patógeno hacia el hospedante, frecuentemente bacterias, pero ocasionalmente esporas de hongos en la superficie externa de su cuerpo. Ejemplo: H. pallida y Pseudomonas solanacearum en papa, donde la combinación da como resultado un sinergismo, apareciendo síntomas de marchitez bacteriana más pronto y más severas que las causadas por la bacteria sola.

Lucas (41) menciona que plantas de tabaco que crecieron en suelos infectados con P. solanacearum y M. incognita, presentaron los síntomas de marchitez, no así cuando crecieron en suelos sin nemátodos; señalando a los nemátodos como los principales causantes de las heridas que propician la infección por las bacterias.

En otros estudios de interacción se ha observado que Tilletia tritici incrementa la susceptibilidad en el follaje del trigo a la infección de Puccinia glumarum (21). También se ha observado que en el tejido del floema del peciolo o tallo de papa infectados por el virus del enrollamiento de la hoja, las hojas infectadas por el virus son más susceptibles a la infección por Phytophthora infestans, los peciolos o ta

llos se dañan y los carbohidratos no pueden ser transportados de las hojas a la raíz (51). Plantas de papa infectadas con el virus Y muestran un incremento en la susceptibilidad a la infección por Alternaria solani (30).

No obstante que en las referencias anteriores se han señalado ciertos grados de sinérgismo entre los patógenos, para otros autores esta situación es discutible o bien no existe, así se señala en las investigaciones de Joachim (35), quien en sus estudios de invernadero sobre la interacción de P. penetrans y V. albo-atrum usando belén como planta testigo, estima que no siempre hay interacción con ambos patógenos, pero que puede existir interacción con otros organismos. Shoemaker (61) concluyó en sus estudios de dos años de experiencia, que M. incognita no tiene efecto sinérgico en el marchitamiento por Verticillium en tomate bajo condiciones semi-controladas.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Descripción del Estudio

3.1.1. Localización

La presente investigación se realizó en forma semicon--
trolada en los invernaderos y laboratorios del Departamento
de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapin-
go, Chapingo, Edo. de Méx., durante el período comprendido de
1984 a 1986.

3.1.2. Semilla

Para la realización de este estudio se utilizó semilla
(tubérculo) de papa de la variedad "Alpha", que es una de
las más usadas en nuestro país; su preferencia se debe a que
posee características agronómicas y culinarias excelentes.
Además, se le considera como una variedad tolerante a los pa-
tógenos en estudio. Los tubérculos fueron proporcionados por
un agricultor, a través del Laboratorio de Sanidad Vegetal
(SARH) con residencia en Huamantla, Tlax., su tamaño aproxi-
mado fue de 30 mm (20-25 gramos) con 2-3 yemas brotadas. La
distribución de los tubérculos fué al azar en cada uno de
los tratamientos.

3.1.3. Suelo y Fertilización

Para las pruebas de patogenicidad e interacción de los patógenos, se prepararon macetas de plástico de 3 kg de capacidad; el suelo fué una mezcla (2:1) de dos partes de arena de río y una parte de tierra de monte, ambos fueron homogeneizados y se esterilizaron con bromuro de metilo (1 lb/m^3 - de suelo). La fertilización de las plantas se realizó empleando una solución nutritiva disuelta en el agua de riego (A1).

3.1.4. Manejo

Al momento de la siembra, los tubérculos a usar en el tratamiento testigo fueron tratados con PCNB polvo, previendo así el ataque de algún patógeno que estuviera latente en la semilla. Los riegos fueron tan frecuentes como para mantener una humedad constante cerca de la capacidad de campo. También fué necesaria la aplicación de tamarón 1000 líquido aproximadamente a los 77 días después de establecido el experimento, debido a que estuvo infestado por mosquita blanca.

3.2. Fuentes de Inóculo

3.2.1. Muestreo para nemátodos y hongos

Para contar con inóculo de los patógenos seleccionados

se realizaron recorridos de reconocimiento y colecta por las zonas paperas de Guanajuato, México, Puebla y Tlaxcala recolectándose muestras de plantas con los síntomas de la enfermedad (menor altura, marchitamientos, daños en la raíz, etc). El material se transportó en bolsas de plástico del campo al laboratorio donde se procesó.

3.2.2. Globodera rostochiensis Mulvey y Stone, 1976.

a) **Extracción**

Los quistes empleados en el experimento se obtuvieron a partir de extracciones de suelo realizadas en la región de Huamantla, Tlax. otra parte fué proporcionada por el "Programa Preventivo Contra el Nemátodo Dorado" de Huamantla, Tlax., quienes los obtuvieron de extracciones realizadas en la Sierra de Puebla, ambas partes se homogeneizaron y se utilizaron en la prueba. La obtención de los quistes de nemátodos se realizó por el método de Fenwick utilizando suelo seco (24, A2).

b) **Identificación**

Para confirmar la población del nemátodo, se identificó tomando en cuenta tanto la forma fenestral como la respuesta del hospedante al daño por el nemátodo.

Las características de las fenestralias observadas fueron comparadas con las señaladas por Stone, 1973; Camacho, 1980; así como la población denominada "Huamantla"

por Quiñones, 1979. Estas dos últimas, se obtuvieron de poblaciones mexicanas de nemátodos.

c) Patogenicidad

Para corroborar su ataque, se sembraron varias macetas adicionándoles 500 y 1,000 quistes por kilogramo de suelo, así como un testigo. Al final del ciclo vegetativo (120 días), se determinó su altura, rendimiento de planta, etc., además, se extrajeron muestras de suelo y se analizó su incremento o disminución de quistes por kilogramo de suelo; todas las variables se compararon contra el testigo.

d) Estimación de la población

- i. La población inicial empleada de *G. rostochiensis*, se determinó cuantificando el contenido de huevecillos-larva por quiste. Se procedió a cortar por mitad un quiste, lavando su contenido sobre una caja contadora de nemátodos donde se adicionó un mililitro de agua, homogeneizando la suspensión. Posteriormente se pasó al microscopio compuesto (10X) y se efectuó el conteo de huevecillos-larva (h-l) por medio de un contador manual. Para mayor precisión el procedimiento se repitió 10 veces, sacando al final una media que fué de 207 huevecillos-larva/quiste.
- ii. Para fijar el nivel de inóculo de huevecillos que correspondiera a cada tratamiento, se estimó el número

de quistes que contenía un miligramo y se relacionó con el contenido de huevecillos-larva por quiste. Así, se determinó una cantidad de inóculo de 207 huevecillos-larva/gramo de suelo, o bien 1,000 quistes/kilogramo de suelo.

- iii. La estimación de la población final del nemátodo dorado se realizó procesando una muestra de 200 gr de suelo seco y homogeneizado por maceta. La extracción de los quistes se efectuó por el método de Fenwick, se cuantificaron los quistes con ayuda del microscopio estereoscópico. Posteriormente, se determinó el contenido de huevecillo-larva por la forma anteriormente mencionada.

3.2.3 Rhizoctonia solani Kühn y Fusarium oxysporum Schlecht.

a) Aislamiento

El aislamiento de los microorganismos se efectuó en el laboratorio de Fitopatología (UACH). De la muestra de tejido vegetal enfermo se obtuvieron pequeñas porciones de la zona de transición entre el tejido sano y enfermo, estos se desinfectaron por uno o dos minutos en hipoclorito de sodio al 1%, fueron secados en papel filtro estéril y sembrados en cajas de petri con aproximadamente 20 ml de medio de cultivo papa dextrosa-agar (PDA) (A3). Transcurridos de 3-4 días de incubación a 20°C, su crecimiento

se transfirió para obtener un cultivo puro en cajas de petri con medio PDA, en el cual duraron 7 días (39).

b) Identificación

Después de haberse inoculado en plantas sanas de papa, se procedió a realizar reaislamientos e identificación de los patógenos que reprodujeron los síntomas característicos; los criterios usados para la identificación fueron: Características macroscópicas de la colonia; características morfológicas del patógeno aislado, referencias bibliográficas y claves de identificación.

c) Patogenicidad

El ataque de los hongos purificados fué confirmado al establecer varias macetas con suelo estéril, e inoculadas con una mezcla del micelio del hongo y el medio de cultivo homogeneizado en una licuadora, los propágulos fueron adicionados al momento de la siembra junto con el tubérculo madre. Se dieron riegos periódicos para mantener una humedad constante. Los reaislamientos y evaluaciones se efectuaron dentro de los 70 días posteriores a la emergencia, utilizando porciones de tallo y raíz.

d) Estimación del inóculo.

Para contar con inóculo suficiente, se procedió a incrementarlo en medio de papa-dextrosa, vaciando 70 ml del me

dio de un matraz estéril con capacidad de un litro, incubándose a temperatura ambiente durante 14 días para Rhizoctonia y 18 días para Fusarium tiempo en el cual el hongo cubrió con su crecimiento la superficie del medio donde desarrollaba. A la fecha de inoculación de los tratamientos, el crecimiento fungoso se colocó en un vaso de licuadora aforado con agua estéril a 250 ml, se licuó por 2 minutos y se cuantificó el inóculo usado, empleando un hematocitómetro para conocer el número de propágulos por centímetro cúbico a aplicar; el resultado fué un promedio de 10 muestras. Para Rhizoctonia se inocularon 2 ml que resultan 150,000 propágulos (hifas) por centímetro cúbico de suelo; para Fusarium se inoculó 1 ml que contenía 2'500,000 propágulos (conidios) por centímetro cúbico.

3.3. Interacción nemátodo-hongo

3.3.1. Efecto sobre la variedad de papa "Alpha" de G. rostockiensis, R. solani, F. oxysporium, incorporados bajo condiciones de invernadero.

La prueba de interacción se efectuó bajo un diseño experimental de "Bloques al Azar" con 8 tratamientos y 4 repeticiones. Se utilizó una maceta de 3 kg de suelo como parcela útil y por tratamiento; 4 por repetición, 32 macetas en total para todo el experimento.

En el Cuadro 1, se definen los tratamientos con sus características:

CUADRO 1. TRATAMIENTOS Y CARACTERISTICAS EMPLEADAS PARA EVALUAR LA INTERACCION DE *G. rostochiensis*, *R. solani* y *F. oxysporum*, SOBRE LA VARIEDAD DE PAPA "ALPHA", BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO. CHAPINGO, MEX.

CLAVE	T R A T A M I E N T O	CARACTERISTICAS*
T	Testigo	Sin patógenos
N	Nemátodos	207 huevecillos-larva
R	<i>Rhizoctonia</i>	150 propágulos
F	<i>Fusarium</i>	2,500 conidios
NR	Nemátodo + <i>Rhizoctonia</i>	207 + 150
NF	Nemátodo + <i>Fusarium</i>	207 + 2,500
RF	<i>Rhizoctonia</i> + <i>Fusarium</i>	150 + 2,500
NRF	Nemátodo + <i>Rhizoctonia</i> <i>Fusarium</i>	207 + 150 + 2,500

* Todos los tratamientos se inocularon al momento de la siembra. Para nemátodo corresponde 207 huevecillos-larva por gramo de suelo, en el caso de los hongos corresponde 150,000 propágulos y 2'500,000 conidios por centímetro cúbico.

3.3.2. Variables utilizados para conocer el daño de los patógenos sobre la variedad de papa "Alpha"

a) Número de tallos por planta.

Los tallos iniciales (Y1) se registraron a los 8 días después de emergidos. El número de tallos final (Y2) se registró al momento del corte del follaje (80 días de -

edad del cultivo).

b) Altura de planta:

Se realizaron varias mediciones durante el desarrollo del cultivo, la medición se efectuó seleccionando un tallo por planta; midiendo desde la superficie del suelo hasta el meristemo apical del mismo; la selección fué al azar en las matas que tenían más de dos plantas, siguiendo éste en todas las mediciones. Las mediciones se hicieron con una frecuencia de 8 días durante las 10 primeras semanas después de brotada la planta (Y3.....Y11). Para fines de análisis se optó por utilizar las medidas anotadas cada 15 días a partir de la primera lectura.

c) Peso fresco y seco del follaje

Esta medida se dá en gramos de material vegetativo que produjo la parte aérea de la planta a la fecha del corte del follaje. El peso fresco del follaje (Y14) son los gramos/planta, obtenidos a los 80 días después de sembrado el cultivo. El peso seco del follaje (Y15) se obtuvo después de 15 días de mantener el follaje dentro de bolsas de papel extendidas bajo la acción de calor seco e intenso, perdiendo su contenido de humedad.

d) Longitud, peso fresco y seco de raíz

Estos variables fueron tomados al momento de la cosecha (120 días posteriores a la siembra). La longitud (Y16) se dá en centímetros de la base del tallo al extremo de la raíz con mayor tamaño; esta medida puede tener cierto error, ya que se mide únicamente la raíz extraída (expuesta a su tratamiento) y no la raíz total de la planta. El peso fresco de raíz (Y17) se determinó en gramos y fué la mayor cantidad de material vegetativo recolectado: por tanto, al igual que el anterior, tiene cierto error ya que no es el total de raicillas que produjo la planta, dado que muchas fueron afectadas fuertemente por su tratamiento (podridas) y no fué posible juntarlas por encontrarse muy mezcladas con el suelo. El peso seco de la raíz (Y18) se determinó en gramos, después que las raíces se recogieron en bolsas de papel, se dejaron extendidas a la influencia del calor fuerte y seco del invernadero durante 8 días.

e) Número, peso y clasificación de tubérculos

Ambos se determinaron a la cosecha. Se extrajeron todos los tubérculos de cada parcela (maceta), se contaron (Y19), pesaron (Y20) (gramos total de tubérculo) y se calificaron (Y21-Y23), clasificandolos de acuerdo al Cuadro 2, modificados de Rojas (56).

CUADRO 2. CLASIFICACION DE LOS TUBERCULOS DE ACUERDO A SU DIAMETRO Y/O PESO (ROJAS, 56).

Tamaño	Diámetro (mm)	Peso (gramos)
Pequeña	Menor de 30	Menor de 25
Mediana	35-45	60-80
Grande	Mayor de 50	Mayor de 100

f. Población inicial y final de huevecillos-larva del nemátodo.

La población inicial de huevecillo-larva (Y24) se inoculó al momento de la siembra. La población final de huevecillo-larva (Y25) de cada una de las muestras se extrajo de los quistes, de acuerdo al proceso ya señalado, posteriormente se determinó el contenido de huevecillo-larva por quiste y por tratamiento.

Relacionando Y24 y Y25 se determinó el incremento o disminución de huevecillo-larva a través de la fórmula de la tasa de crecimiento en porciento:

$$T.C. = \frac{Y25 - Y24}{Y24} \times 100$$

Donde:

- T.C. = Tasa de crecimiento en porciento
- Y24 = Población inicial
- Y25 = Población final

Además se determinaron algunos otros datos que no se analizaron estadísticamente, pero que ayudan a un mejor análisis del comportamiento general de los tratamientos; esta información es Vigor, se utilizó una clasificación de 0-5 propuesta por Jones y Waltz (36) donde: 0 = plantas sin síntomas, 1 = epinastia y ligero enanismo, 2 = 1-30% de las hojas amarillas, 3 = 30-80 % de las hojas amarillas, 4 = 80-100% de las hojas amarillas, 5 = plantas muertas. También grosor y distancia de entrenudos; estos fueron tomados por única vez al momento de la cosecha a una altura de 10 cm del tallo.

3.3.3. Análisis de los datos

Con los datos obtenidos en el trabajo se realizó el análisis de varianza, para determinar la significancia entre los tratamientos. Diferencia entre medias de acuerdo a la prueba de Duncan (con una $\alpha = 0.05$); para: número de tallos final, altura de plantas cada 15 días, peso fresco y seco del follaje, longitud, peso fresco y seco de la raíz, número y producción de tubérculos.

También se obtuvo tasa de crecimiento de huevecillos-larvas, correlaciones de los parámetros estudiados y contraste de los tratamientos en las variables más importantes, como son: altura final de planta; peso seco de follaje, peso

seco de la raíz y rendimiento de tubérculo. Para este último las hipótesis fueron:

$$H_0: 7\mu_t - \mu_f - \mu_n - \mu_{fn} - \mu_{rn} - \mu_{nrf} - \mu_r - \mu_{rf} = 0$$

$$H_a: 7\mu_t - \mu_f - \mu_n - \mu_{fn} - \mu_{rn} - \mu_{nrf} - \mu_r - \mu_{rf} \neq 0$$

Donde μ_t es el promedio poblacional generado por el tratamiento testigo; μ_f es el promedio poblacional generado por el Fusarium... μ_{rf} es el promedio poblacional generado por el tratamiento Rhizoctonia + Fusarium, para lo cual se usa el contraste:

$$T1 = 7X_t - X_f - X_n - X_{fn} - X_{rn} - X_{nrf} - X_r - X_{rf}$$

Donde X_t es el promedio total del tratamiento testigo, X_f promedio total del tratamiento Fusarium ... X_{rf} promedio total del tratamiento Rhizoctonia + Fusarium. Es decir, queremos probar si el tratamiento testigo es igual al promedio de todos los demás tratamientos.

Se analizaron además, otros tres contrastes, plantéandose para cómputo:

Contraste		C o e f i c i e n t e s							T	
		F	N	FN	RN	NRF	R	RF		
T1	=	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	7
T2	=	-1	-1	0	0	0	-1	0	0	3
T3	=	0	0	-1	-1	-1	0	-1	0	4
C2	=	0	0	-1	-1	3	0	-1	0	0

Estos análisis estadísticos se realizaron en el Centro de Estadística y Cálculo del Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Fuentes de Inóculo

4.1.1. Globodera rostochiensis Mulvey y Stone, 1976.

a) Identificación y Patogenicidad

Las observaciones al microscopio de los cortes fenestrales de las hembras y su comparación con las señaladas por Stone (66) y Camacho (14), así como la población "Huamantla", estudiada por Quiñones (53), además de la semejanza con microfotografías, permitieron identificar a la población estudiada dentro del género Globodera y más específicamente con la especie G. rostochiensis (Wool, 1923) Mulvey y Stone, 1976. La información se encuentra resumida en el Cuadro 3, así como en la Figura 1.

En el Cuadro 3, se observa que las características de la población estudiada **Proc. de Huamantla, están dentro de los márgenes citados por Stone (66) y más cercanas a la información obtenida por Camacho (14). La relación con la población "Huamantla" definida por Quiñones (63), se encuentra específicamente a nivel de género.

Así observamos que el diámetro de fenestra obtenido en los cortes de quistes realizados fue de 19.6 micras, que que-

da dentro del margen propuesto por Stone (66) de 18.2 ± 2.2 . De esta misma forma podemos analizar el margen de la fenestra vulvar que resultó ser de 64.2 micras, mientras que Stone (66) cita, un margen de 66.5 ± 10.3 . En ambas situaciones los promedios obtenidos quedan dentro de la información definida por Stone para identificar la especie.

CUADRO 3. IDENTIFICACION DE QUISTES PROCEDENTES DE LA REGION PAPERERA DE HUAMANTLA, TLAX., EN BASE A LAS CARACTERISTICAS DE LA FENESTRALIA.

Población	Diámetro de fenestra*	Distancia mv-ano*	Radio - Granek	No. arrugas o puentes
Stone (66)	18.2 ± 2.2	66.5 ± 10.3	3.6 ± 8	21.6 ± 3.5 Usual 14
Camacho (14)	22.7	64.2	2.87	13.2
Proc. de** Huamantla	19.6	59.2	3.01	12.8
Quiñones (53)	21.0 ± 3.8	55.0 ± 13.6	$2.3 \pm .6$	8.0 - 23.0

La forma de fenestra es circular en los trabajos de los distintos investigadores.

Promedio de 10 observaciones.

* = Dado en micras

** = Resultados del presente estudio

mv = Margen de la fenestra vulvar

Radio de Granek = Distancia del mv al ano/diámetro de fenestra vulvar.

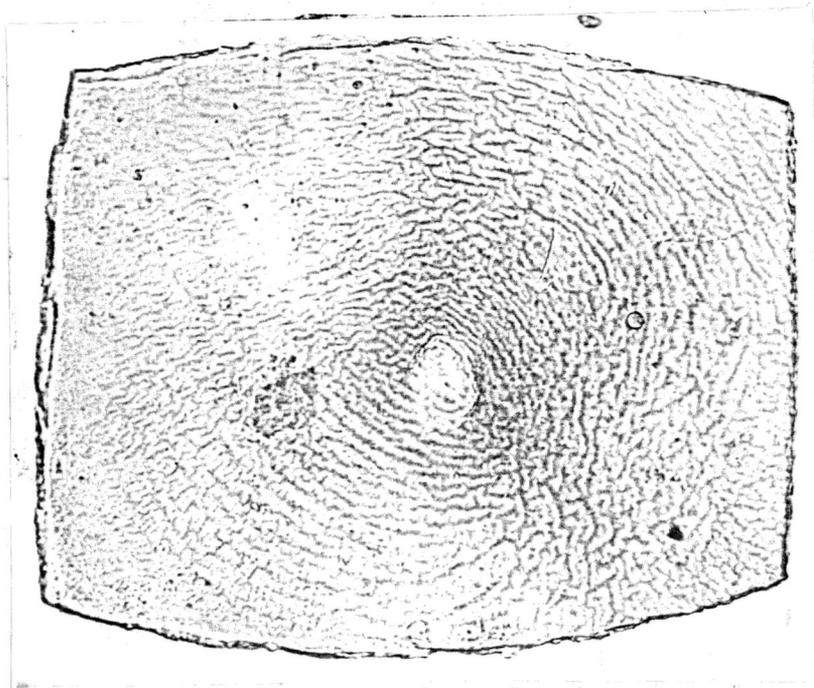


FIGURA 1. Corte de ventana de un quiste de G.rostochiensis

La forma circular de la ventana, así como el número de pliegues aproximado puede apreciarse en la Figura 1, que es un corte de ventana del quiste de G. rostochiensis, obtenido en este trabajo.

Al realizar las pruebas de patogenicidad para el nemátodo dorado, se observa una reducción en altura, rendimiento y aumento en la población de quistes; esta situación manifiesta cierto efecto debido al daño del nemátodo, así como su adaptación en el hospedante probado. Los resultados se resumen en el Cuadro 4.

CUADRO 4. PATOGENICIDAD DEL NEMATODO DORADO SOBRE LA VARIEDAD DE PAPA "ALPHA", BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO.

Tratamiento	Resultados		P _i	Quistes*		T.C.
	Altura cm	Rendimiento gr		P _f		
Testigo	42.0	185.8				
Nemátodo 1	38.0	147.0	500	720		40.4
Nemátodo 2	37.0	140.1	1000	1330		33.0

* El número de quistes se dá en quistes/kilogramo de suelo.

P_i = Población inicial

P_f = Población final

T.C. = Aumento en porciento del número de quistes

Las observaciones son promedio de 3 repeticiones.

La altura y el rendimiento (Cuadro 4), al compararse contra el testigo, resultó mayor en este último, lo que hace suponer que las plantas desarrollan más cuando se encuentran libres de patógenos. Con respecto al aumento de la población de quistes, se notó una mayor reproducción cuando la densidad inoculada fué menor (Nemátodo 1).

Los valores de la población final se obtuvieron después de homogeneizar la muestra de suelo seco de cada maceta, determinando el número de quistes por tratamiento. A su vez, se extrajo una muestra de quistes por tratamiento (10

quistes) para determinar el contenido de huevecillos-larva, sacando finalmente un promedio.

4.1.2. Rhizoctonia solani Kühn y Fusarium oxysporum
Schlecht.

a) **Identificación y Patogenicidad**

Para la identificación, además de los síntomas particulares observados en las plantas, se tomó en cuenta el crecimiento de los hongos y su forma en el laboratorio:

i. Rhizoctonia solani Kühn

En medio de cultivo PDA el aspecto de la colonia fué de color café obscuro, de escaso desarrollo vertical y rápido y amplio desarrollo horizontal. En algunas cajas de petri, a partir del octavo día de sembrado el cultivo hubo formación de esclerocios. Al microscopio se observa que el micelio es grueso y ramificado, en las ramificaciones perpendiculares (ángulo recto) se observa una contricción en su base; estas características señaladas no difieren en mayor medida de las marcadas por Parmeter (48), Hooker (31), Calderoni (12) y otros autores, respecto al patógeno.

ii. Fusarium oxysporum f. sp. tuberosi (W) Schl. S&H.

En medio de cultivo de PDA, el hongo forma un micelio blanquecino de crecimiento lento, que en el medio de cultivo se va tornando a un color morado y/o rosa fuer

te característico. Al microscopio se puede observar la presencia de abundantes macro y microconidios, los primeros generalmente con cuatro septas con forma de canoa y los segundos de una forma más o menos oval. Dichas características son semejantes a las citadas por Barnett (8), Agrios (1), Carrera (15) para esta especie. Este último autor cita que tanto las formas especializadas como las razas, no son reconocibles morfológicamente; solo la inoculación y el comportamiento frente al hospedante específico permite su identificación.

Ambos patógenos pueden observarse en las Figuras 2 y 3, donde se muestra el micelio característico de Rhizoctonia y los conidios del género Fusarium.

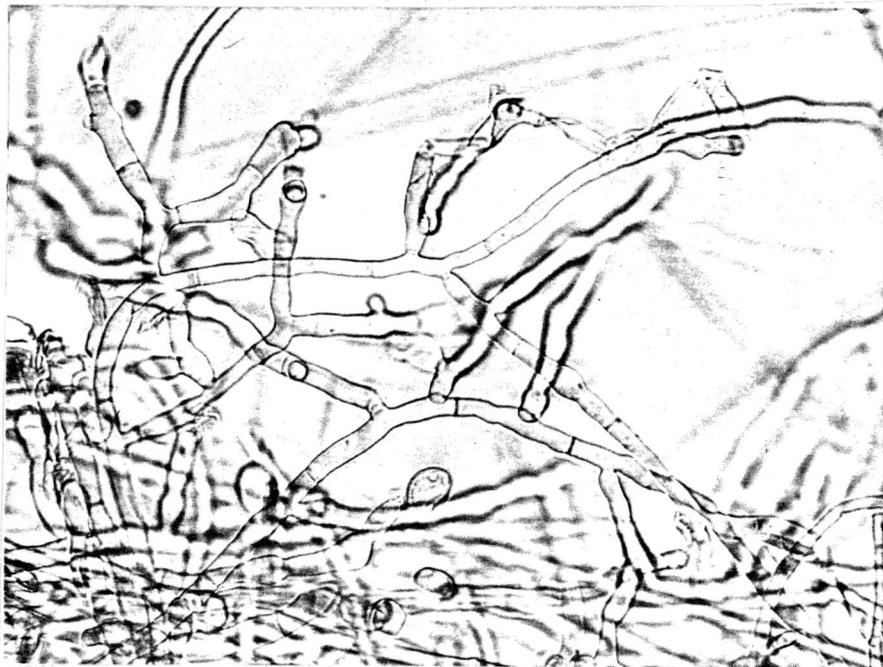


FIGURA 2. Micelio característico del género Rhizoctonia solani.



FIGURA 3. Macroconidios y microconidios del género Fusarium oxysporum.

Los reaislamientos y evaluación de los patógenos se obtuvo de plantas inoculadas, las cuales fueron observados después de su emergencia y durante su desarrollo, notando entre otras cosas: epinastia, amarillamientos, marchitez y crecimiento micelial blanquecino en la base del tallo. Las diferencias entre los tratamientos al compararse contra el testigo, reflejaron que su crecimiento (altura y vigor) y rendimiento se encontraron afectados por la presencia de algún microorganismo patógeno dentro de su sistema radical. En esta prueba aunque no hubo muerte total de plantas, si existe reducción en el número inicial de tallos. Lo anterior se muestra en el Cuadro 5, donde además podemos notar reducciones en el rendimiento de 45% y 33% para *Rhizoctonia* y *Fusarium* respectivamente.

CUADRO 5. COMPORTAMIENTO DE LA PATOGENICIDAD DE LOS HONGOS *R. solani*, *F. oxysporum* SOBRE LA VARIEDAD DE PAPA "ALPHA" BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

Tratamiento	R E S U L T A D O S		
	Altura (cm)	Vigor*	Rend.(gr)
Testigo	42.0	0	185.8
<i>Rhizoctonia</i>	31.2	4	101.9
<i>Fusarium</i>	36.0	3	124.4

Promedio de tres observaciones

* = Escala de 0-5 Jones y Waltz (36).

4.2. Interacción nemátodo-hongo

4.2.1. Interacción de G. rostochiensis, R. solani y F. oxysporum en la variedad de papa "Alpha".

Los resultados de la interacción, de los patógenos en estudio sobre la papa variedad "Alpha", se describirán a continuación:

a) Tallos por planta.

Al comparar los promedios generales de número de tallos inicial (Y1) y número de tallos final (Y2) (Cuadro 6), se aprecia que el comportamiento tiende a una reducción progresiva, siendo el testigo T uno de los que menor número de tallos produjo, como también fué menor la pérdida de estos al corte del follaje, mientras los tratamientos Rhizoctonia y Nemátodo-Rhizoctonia-Fusarium llegaron a reducir el número de tallos hasta en un 50%. Se hizo notorio el hecho de que en los tratamientos donde se incluyó Rhizoctonia, las plantas tendieron a producir un mayor número de tallos, pero también hubo una mayor pérdida. Cabe señalar que el mayor número de tallos perdidos por Rhizoctonia fué en los 15 días siguientes a la brotación de la planta; mientras que para los tratamientos con Fusarium ésto se presentó a los 50-60 días.

CUADRO 6. PROMEDIO DE TALLUELOS POR TRATAMIENTO Y PORCENTAJE DE REDUCCION, EN SUELOS INFECTADOS CON *G. rostrata*, *R. solani* *F. oxysporum* SOLOS Y ASOCIADOS.

Tratamientos	Variables		R.T. %
	Y1	Y2	
T	1.7	1.5	11.7
N	1.7	1.2	29.4
R	3.0	1.5	50.0
F	1.5	1.0	33.3
NR	3.2	2.2	31.2
NF	2.0	1.5	25.0
RF	2.0	1.2	40.0
NRF	2.5	1.2	52.0

Y1 y Y2 son promedio de 4 observaciones donde;

Y1 = Tallos inicial

Y2 = Tallos final

RT = Porcentaje de reducción de tallos, con respecto al número de tallos iniciales en cada tratamiento.

b) Altura de planta

El Comportamiento de la altura de las plantas se muestra en el Cuadro 7. En la Figura 4 se señala con letras iguales los tratamientos que mostraron estadísticamente un efecto similar sobre la planta.

CUADRO 7. ALTURA DE LAS PLANTAS DE PAPA, COMO RESPUESTA A LA PRESENCIA DE *G. rostochiensis*, *F. solani* Y *F. oxysporum* BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

Trat.	Alturas (cada 15 días)				
	Y3**	Y5*	Y7*	Y9*	Y11**
T	9.0	19.7	33.5	38.7	41.0
N	6.0	11.7	29.5	36.0	38.2
R	5.0	16.5	29.2	32.7	32.7
F	4.7	15.5	30.5	34.5	35.0
NR	3.0	13.0	22.5	28.0	29.2
NF	4.7	16.0	27.7	31.0	32.0
RF	4.7	15.2	27.7	30.0	31.0
NRF	3.5	16.2	24.0	27.2	27.7

Promedio de 4 repeticiones.

* Diferencia significativa

** Altamente significativa

Y3..Y11 = Primera y última medición de la altura, respectivamente, a intervalos de 15 días.

Al comparar las medias de altura por la Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$), se observa que el testigo estuvo siempre en el grupo más alto. Los tratamientos que incluyen los patógenos solos, son estadísticamente iguales a excepción de Nemátodo solo en Y5 y *Rhizoctonia*, *Fusarium* en Y11, que fueron inferiores. Conforme transcurrió el ciclo, se hizo más patente la presencia de la asociación de los patógenos, que tiende a una menor altura de planta, lo cual hace muy significativas las variables Y9 y Y11. Ejemplo de ello en Y11, el

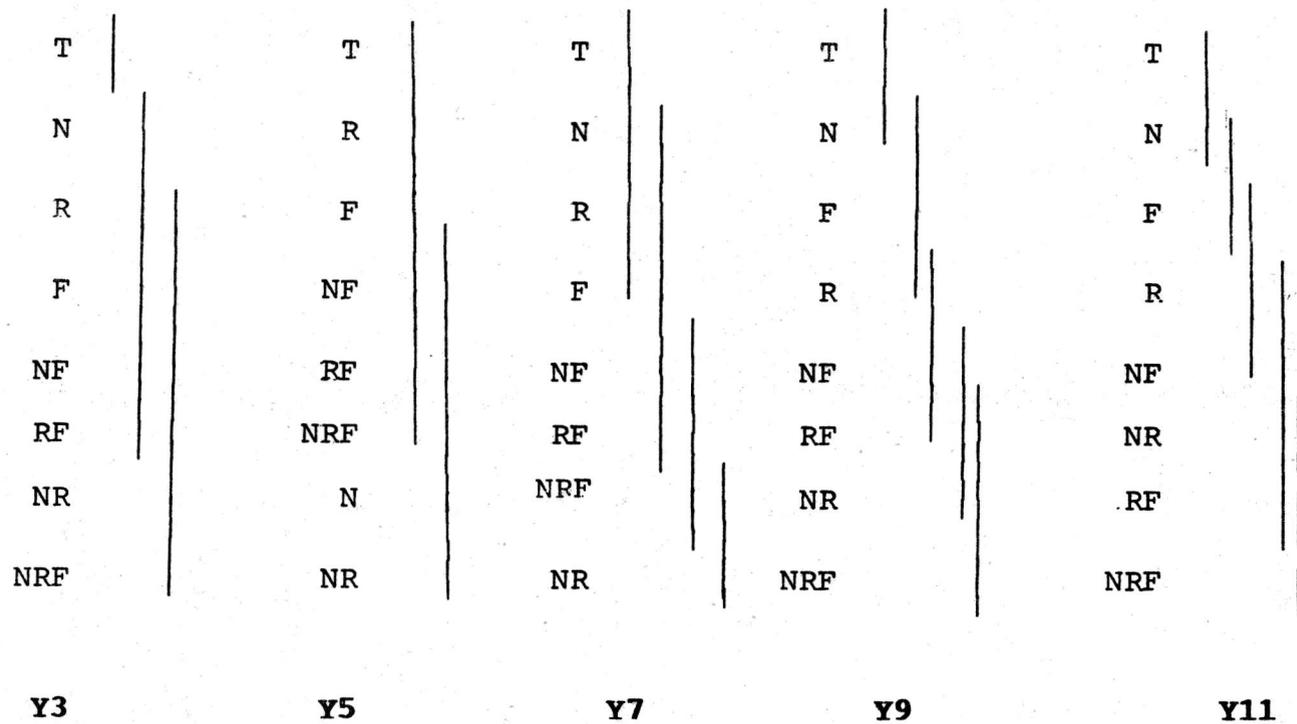


FIGURA 4. Variación estadística de la altura en los diferentes tratamientos y fechas de medición, utilizando la Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$). La primera línea corresponde al grupo a, y las siguientes a los grupos b, c, .. e, respectivamente, a estadísticamente es mayor que el resto de las letras (b, c, d y e).

testigo está en el grupo a, mientras que Nemátodo-Rhizoctonia-Fusarium llegó hasta el grupo e que estadísticamente es menor.

Esta situación puede ofrecer otra explicación; al comparar en las tres primeras muestras los valores de N, suponemos que en Y3 y Y5 se sucede una liberación paulatina de nemátodos (larvas), provocando en las plantas retención en su crecimiento, que puede semejar con los resultados de Fenwick (25) quién señala que arriba del 80% de las larvas emergen en las primeras 5 semanas de plantada la papa (en una eclosión paulatina). De igual forma Trudeill (68) observó que las plantas de papa infectadas con muchos nemátodos enquistados crecieron más lentamente, tuvieron hojas pequeñas, haciéndose viejas prematuramente. Por tanto, es de suponerse que a la fecha del segundo muestreo (Y5), existía gran cantidad de larvas de nemátodo recién eclosionadas e invadiendo las raíces de la planta, obligándole a retardar su crecimiento; para posteriormente equilibrar su desarrollo cuando la planta fué más tolerante al ataque o la patogenicidad del nemátodo pudo disminuir por causas variadas.

En relación al ataque de los hongos y su asociación, podemos pensar que existió alguna influencia en el desarrollo de los brotes emergidos, provocando pérdidas de tallos (Y3) y retardó en su crecimiento, sin embargo, posterior

mente esta situación se observa menos agresiva (Y5, Y7), no obstante que para Y9 y Y11 se hace patente influyendo en menores alturas.

En las asociaciones Hongo-Nemátodo no se observan grandes diferencias, ya que a pesar de que hubo reproducción de nemátodos en los tratamientos, no existieron condiciones propicias (humedad, temperatura, etc.), para que se manifestara una mayor agresividad y desarrollo de los hongos. Esto nos lleva a asociar la gran variedad de condiciones que influyen en la predisposición de las plantas al ataque de un patógeno; a este respecto, Faulkner y Balauder (23) observaron un fenómeno con Pratylenchus minyus y Verticillium. Cuando Verticillium estuvo solo, el marchitamiento desarrolló óptimamente a 24°C, pero este cambió a 27°C cuando el nemátodo estuvo presente; esto sugiere que el nemátodo cambia la susceptibilidad de la planta a la marchitez con respecto a la temperatura óptima. También se sabe que los exudados de las plantas y la presencia de tejidos blandos facilita el ataque por Rhizoctonia (71).

Por tanto, podemos mencionar que existe cierta acción limitativa en el crecimiento, a medida que se hace más compleja la participación de los patógenos. Así tenemos que las reducciones en altura comparadas contra el testigo van de 7% con el nemátodo solo a un 32% con la participación de los tres -

patógenos juntos. Hasting (28), en una prueba de asociación resume que P. penetrans reduce el crecimiento en pruebas de invernadero en un 50-75%.

c). Apariencia del follaje

Aunque no fué significativo, ya que su información se tomó en una sola ocasión (a la cosecha), se aprecia que el Vigor dado por las variables grosor de tallo (Y12) y distancia de entrenudos (Y13) en los tratamientos Nemátodo, Fusarium o juntos provocan en las plantas tallos más delgados y con una distancia de entrenudos mayor (Cuadro 8).

La parte foliar mostró desde sus primeras etapas sintomatología característica: como la tendencia a producir foliolos pequeños y en gran número en Rhizoctonia, elongación de tallos y menor número de foliolos en Fusarium y Nemátodo, además, en este último los foliolos fueron pequeños, comparadas siempre las observaciones contra un testigo. La apariencia aérea se anotó a partir de los 15 días después de la brotación de las plantas, de acuerdo a la escala de 0-5 propuesta por Jones y Waltz (36), dichas anotaciones en promedio se muestran en el Cuadro 8.

CUADRO 8. APARIENCIA AEREA DEL CULTIVO DE LA PAPA, BAJO EL EFECTO DE *G. rostochiensis*, *R. solani*, Y *F. oxysporum* SOLOS Y ASOCIADOS.

TRATAMIENTO	VIGOR		COMPORTAMIENTO DIAS DESPUES DE BROTA DA			
	Y12	Y13	16	30	45	75
T	0.6	3.5	0.0	0.0	0.0	0.5
N	0.5	3.7	0.7	1.7	1.5	1.5
R	0.5	2.7	3.0	1.0	1.2	1.3
F	0.4	3.7	2.5	1.0	1.7	2.0
NR	0.5	3.6	3.5	2.5	1.5	1.7
NF	0.3	4.9	3.2	2.0	1.5	1.7
RF	0.5	3.6	3.0	1.0	1.0	1.5
NRF	0.4	3.8	4.0	2.2	1.7	2.6

Promedio de 4 repeticiones

Del Cuadro 8, se puede apreciar un buen comportamiento de las plantas testigo; cuando los patógenos estuvieron solos el tratamiento que se mostró más uniforme en cada una de sus repeticiones fué el de *Fusarium*. Cuando los patógenos estuvieron por pareja (NR, NF, RF), se notó mayor efecto de enfermedad en la asociación donde estuvo presente el nemáto- do, que cuando participaron únicamente los dos hongos; más aún, los síntomas se vieron sumados cuando los tres patóge- nos se encontraron juntos, especialmente a las horas del me- dio día, la planta proyectaba una coloración pajiza.

e) Follaje

El comportamiento del follaje (Y14, Y15) se representa en la Figura 5. Las diferencias no resultan estadísticamente significativas ($\alpha = 0.05$), pero sí muestran relación al interpretarse juntamente con número de tallos y sanidad (Cuadro 7 y 8), alcanzando mayores promedios en peso, aquellos que finalmente fueron menos afectados. En estas relaciones, al incluirse la altura Vs. peso fresco, no existe tal correspondencia, ya que el envejecimiento de las plantas no fué uniforme, y el porcentaje de humedad de los tallos influye en el peso, siendo mayor en aquellos con tallos verdes, y vigorosos que estaban presentes a la fecha del corte.

En referencia a peso seco, las diferencias existentes entre los tratamientos con patógenos son muy cercanas y un poco más alto el testigo, razón por la que no hubo diferencia significativa. Sin embargo, podemos decir que hay una relación entre el número final de tallos, altura, sanidad y peso seco de follaje. Esto es, el testigo no mostró un gran promedio de tallos, pero estos se comportaron sanos y lograron una mayor altura con buen vigor alcanzando su Y15 un valor de 14.3 gr, mientras que Nemátodo-Rhizoctonia logró un mayor número de tallos, pero su sanidad estuvo afectada en un inicio y un poco menos al final del ciclo, la altura fué 29% menos que el testigo, dando por

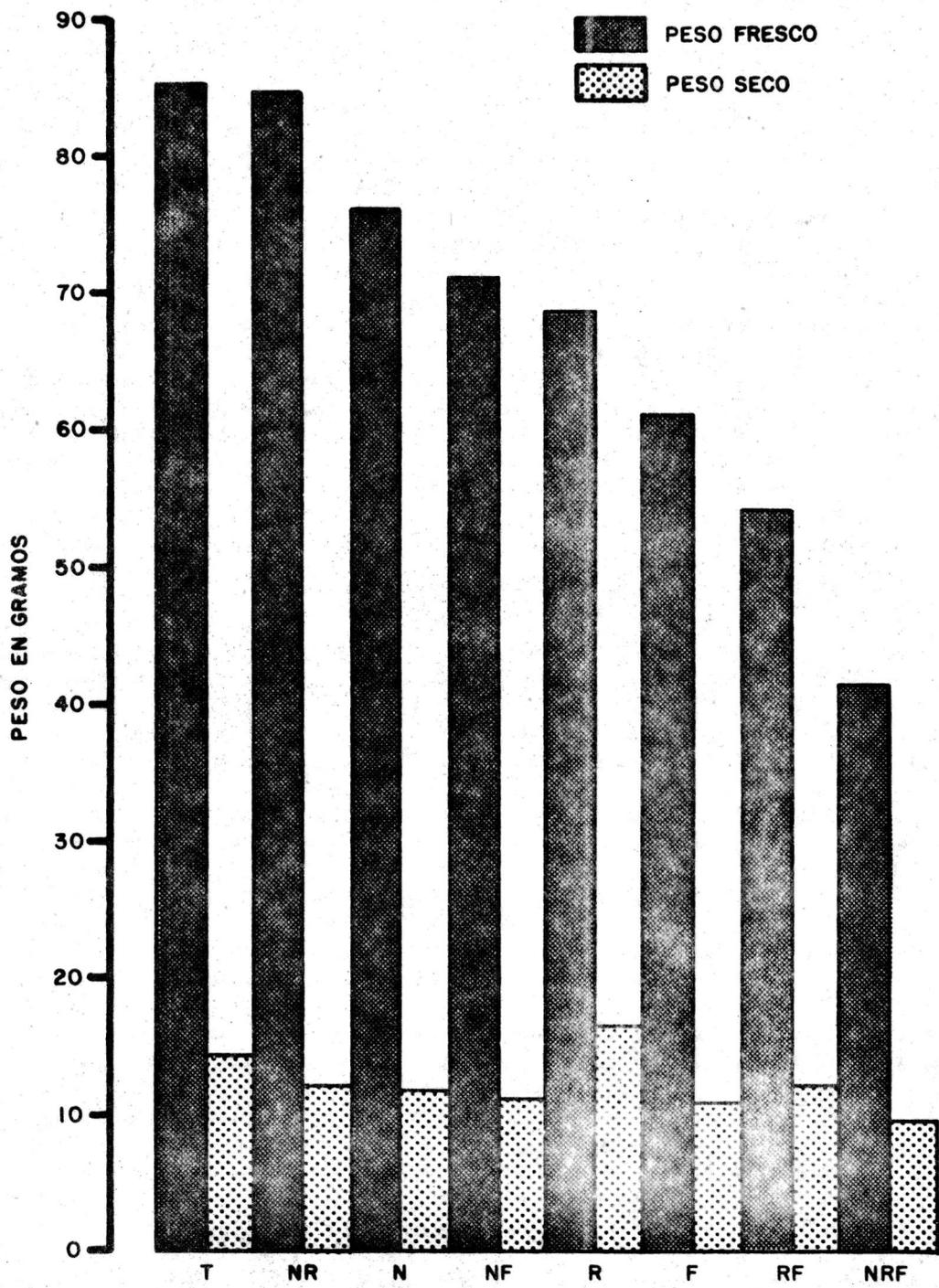


FIGURA 5. Comportamiento de los pesos de follaje fresco y seco, con relación a el tratamiento portado.

tanto un valor de Y15 igual a 12.0 gr. Otro ejemplo podría ser Rhizoctonia-Fusarium, su número de tallos es bajo, la sanidad en un inicio no fué muy buena, pero mejoró posteriormente por un tiempo alcanzando una altura de 6.5% mayor que Nemátodo-Rhizoctonia, siendo su Y15 igual a 11.8 gr. Estos variables analizados en conjunto, van dando más claridad del efecto limitativo que existe en el desarrollo de una planta cuando es parasitada por uno o varios microorganismos patógenos.

f) Raíz

Al analizar estadísticamente (ANOVA) los tres variables del Cuadro 9, solamente encontramos diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) para Y18, lo que refleja que la actividad subterránea de los patógenos fue importante.

Las medidas obtenidas para Y16 y en parte para Y17 y Y18, no obstante de haberse extraído con sumo cuidado, pudo cometerse error, ya que en los tratamientos con patógenos muchas partes de la raíz pudieron quedar en el suelo, dado que se encontraban dañadas (podridas), sin embargo, el peso obtenido en Y18, permite notar la presencia de los patógenos y el daño que causan en la raíz.

CUADRO 9. COMPORTAMIENTO DE LA RAIZ DEL CULTIVO DE LA PAPA BAJO EL EFECTO DE *G. rostochiensis*, *R. solani* Y *F. oxysporum* EN CONDICIONES DE INVERNADERO

TRATAMIENTO	R A I Z		
	Y16 (cm)	Y17 (gr)	Y18 (gr)
T	13.7	13.7	9.3
N	9.6	11.8	7.0
R	9.1	8.2	3.8
F	10.4	10.8	5.6
NR	9.7	10.1	6.7
NF	11.3	9.8	5.3
RF	9.4	7.2	3.9
NRF	6.9	3.1	1.9

Promedio de 4 repeticiones

Y16 = Longitud

Y17 = Peso fresco

Y18 = Peso seco

Así el peso seco de la raíz (Y18), fué afectado significativamente de la manera siguiente: Se redujo en un 25% en base al testigo con *G. rostochiensis*, 59% con *Rhizoctonia* y 40% con *Fusarium*. Un comportamiento similar se tuvo con Nemátodo-*Rhizoctonia* y Nemátodo-*Fusarium*, siendo más drástico con *Rhizoctonia-Fusarium* y Nemátodo-*Rhizoctonia-Fusarium*, llegando este último hasta un 80% de reducción.

g) Rendimiento

Al analizar el número de tubérculos (Y19), de acuerdo con nuestros tratamientos, resulta que no existe un patrón de comportamiento (Cuadro 10); esto es, la cantidad de tubérculos producidos fué muy variado en número pero no en tamaño como se verá posteriormente.

CUADRO 10. RENDIMIENTO Y CLASIFICACION DE TUBERCULOS EN LOS TRATAMIENTOS.

TRATAMIENTO	PRODUCCION		CLASIFICACION (%)		
	Y19	Y20	G	M	C
T	5.25	213.0	52	33	15
N	3.75	177.1	62	10	28
R	5.75	160.1	31	16	56
F	4.25	156.3	26	35	38
NR	5.25	148.8	8	41	51
NF	5.25	124.7	21	33	46
RF	3.00	139.8	39	46	15
NRF	2.50	100.7	16	22	62

Promedio de 4 repeticiones

Y19 = Número de tubérculos

Y20 = Peso en gramos de tubérculos y

Clasificación = Es el porcentaje de tubérculos grandes (G) medianos (M) y chicos (C) de cada tratamiento.

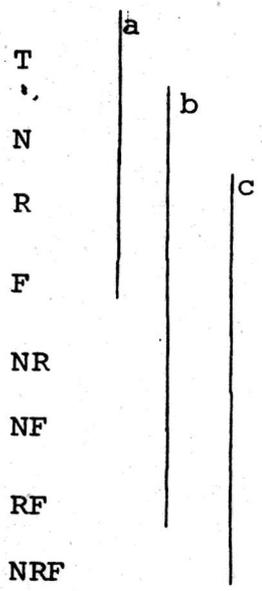


FIGURA 6. Representación gráfica de la Prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) para las medias de rendimiento de tubérculo (Y20).

Estadísticamente, sólo existió significancia para Y20 que es una de las variables de mayor interés, por ser el que afecta la reproductibilidad económica del cultivo. Así tenemos que el nemátodo sólo redujo la producción en un 17% en base al testigo, mientras que con los hongos solos fué de un 25-27%, 10% más que el nemátodo solo. En base al nemátodo, la asociación con los hongos disminuyó 16, 30 y 43% para Nemátodo-Rhizoctonia, Nemátodo-Fusarium y Nemátodo-Rhizoctonia-Fusarium, respectivamente. De forma similar, analizando la asociación Rhizoctonia-Fusarium en base a Rhizoctonia, ésta alcanzó mayor peso y se tuvo una disminución del 13%. Esta situación hace ver que la acción de los dos patógenos asociados aumenta el daño en la planta hospedante. A este respecto, Granger (27) señala que H. rostochiensis y R. solani solos no afectan la producción de papa, sin embargo cuando ambos fueron adicionados simultáneamente, la producción se redujo. En una investigación en frijol, la producción fué afectada en su rendimiento en un 34.4% (58).

En la clasificación de los tubérculos producidos puede observarse (Cuadro 10) que hay variación entre los diferentes tratamientos. Así tenemos, que el Testigo se comportó más uniforme con tendencia a una buena producción comercial, según la clasificación citada por Santamaría (59), quien señala que la categoría más deseable para consumo y semilla es la "segunda" ya que es la mejor pagada en el mercado (122 gr de 45-55 cm de diámetro). En nuestro caso el Testigo obtuvo

un 52-33-15 que corresponde a los porcentajes de tubérculo de clase Grande, Mediana y Chica, respectivamente. A su vez, las proporciones obtenidas por Nemátodo-Rhizoctonia-Fusarium fueron 16-22-62. Ahora, si comparamos el porcentaje de tubérculos grandes únicamente con los tratamientos que incluyeron nemátodos, tenemos que: Nemátodo tiene un 62%, Nemátodo-Fusarium 21%, Nemátodo-Rhizoctonia-Fusarium 16%, y Nemátodo-Rhizoctonia 8 %, lo que muestra nuevamente un efecto por la presencia de patógenos y su grado de agresividad.

4.2.2. Tasa de crecimiento de huevecillos-larva de G. rostochiensis

Otro factor de gran interés es el considerar hasta qué punto un suelo queda infectado después de la ocurrencia de algún microorganismo. Para el presente, la examinaremos con el nemátodo dorado que continua siendo una amenaza para las zonas agrícolas, especialmente de cultivos de exportación ya que existen leyes cuarentenarias que no permiten la entrada a productos agrícolas cultivados en suelos donde se tienen noticias de la existencia del nemátodo. En nuestro trabajo, los datos determinados se resumen en el Cuadro 11.

CUADRO 11. HUEVECILLOS-LARVA Y PORCENTAJE DE INCREMENTO O DISMINUCION DE LAS POBLACIONES DEL NEMATODO DORADO, DESPUES DE UN CICLO DE CULTIVO CON LA VARIEDAD DE PAPA ALPHA, BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO.

Tratamiento	Población Inicial		Población Final		T.C. (%)	
	qq	Y24	qq	Y25	qq	H-L
N	1000	621.0	1189	909.4	19.0	46.4
NR	1000	621.0	963	736.3	(3.7)	18.6
NF	1000	621.0	775	602.4	(22.5)	(3.0)
NRF	1000	621.0	919	731.9	(8.1)	17.9

Promedio de 4 repeticiones.

qq = Número de quistes/kilogramo de suelo

Y24 = Inóculo inicial de huevecillos-larva en miles por maceta.

Y25 = Miles de huevecillos-larva obtenidos en la población final por maceta.

T.C. Incremento o disminución en porciento de huevecillos-larva; las cantidades entre () indica disminución.

Los resultados indican que existe una mayor tendencia a reproducirse los nemátodos cuando estos se encuentran invadiendo la planta solos; cuando estuvieron asociados su T.C. de huevecillos-larva fue menor en Nemátodo-Rhizoctonia, Nemátodo-Rhizoctonia-Fusarium o bien se observa que puede existir cierto antagonismo (Nemátodo-Fusarium) ya que el nemátodo

no se reprodujo igual en presencia de Fusarium, resultando una T.C. negativa en ambos casos. Esta última situación se hacen más patentes en los valores para huevecillos-larva que para quistes, dado que el contenido de huevecillos-larva/quistes en Y24 fué de 207, mientras que en Y25 aumentó a un promedio de 255 huevecillos-larva/quistes.

4.2.3. Coeficiente de correlación

Se obtuvieron los coeficientes de correlación para las variables estudiadas; pero únicamente discutiremos las variables que resultaron con mayor correlación.

A partir de la tercera medición de la altura de planta (Y5), se nota una alta correlación entre las restantes alturas Y6...Y11 que es la altura final. Esta situación supone que la falta de correlación con las dos primeras mediciones se debe primordialmente a que hubo gran variación en sus tamaños ocasionada por la influencia inicial de los patógenos. Y11 también estuvo correlacionado con el grosor del tallo, longitud, peso fresco y seco de raíz, así como el rendimiento, el cual alcanzó un valor de correlación de 0.61, altamente significativo ($\alpha = 0.01$).

El peso fresco y seco de follaje (Y14 y Y15) está correlacionado con la altura (Y11); peso fresco (Y17) y seco (Y18) de raíz, así como con el peso de tubérculos (Y20).

Los parámetros longitud y peso fresco de raíz se correlacionaron positivamente con los ya mencionados; el peso seco de raíz alcanzó su coeficiente más alto de correlación cuando se le comparó con el peso seco de follaje.

El rendimiento de tubérculo (Y20) se correlaciona altamente con altura final, grosor y peso de follaje y raíz.

Finalmente, el número de huevecillos-larva obtenidos al final del trabajo (Y25), se encontró relacionado estadísticamente ($\alpha = 0.05$), con la primera medida de altura (Y3), con un valor de correlación de 0.49.

4.2.4. Contrastes

Al probar las hipótesis planteadas en las variables más importantes del estudio, se obtuvieron respuestas significativas (*) en algunas de ellas, como se observa en el Cuadro 12.

CUADRO 12. PRUEBAS DE HIPOTESIS DE "CONTRASTES" PARA 4 PARAMETROS DE INTERES EN EL DESARROLLO DEL CULTIVO DE LA PAPA.

Contraste	V A R I A B L E S			
	Y11	Y15	Y18	Y20
T1		*	**	**
T2	**	*	**	*
T3		*	**	**
C2	*		*	

* Significancia $\alpha = 0.05$

Así tenemos que la prueba para T1 resultó muy significativa para Y18 y Y20, lo que indica que el tratamiento testigo se desarrolla en forma diferente si se encuentra presente cualquiera de los patógenos solo o asociados, que si se encuentra libre. Esto apoya que para T2 y T3 se haya tenido significancia estadística.

C2 indica que la participación de dos patógenos asociados puede tener el mismo efecto que la participación de tres patógenos asociados considerando las variables Y15 y Y18, y diferente en Y11 y Y20.

V. CONCLUSIONES

- 1) El número de tallos, fue afectado por la presencia de los fitoparásitos estudiados, siendo menor en los tratamientos Rhizoctonia solo y Nemátodo-Rhizoctonia-Fusarium asociados.
- 2) La altura de planta varió con el tratamiento, ya que las mayores alturas las alcanzaron el Testigo y Nemátodo solo; mientras que los tratamientos Nemátodo-Rhizoctonia, Rhizoctonia-Fusarium, Nemátodo-Rhizoctonia-Fusarium formaron el último grupo con promedio de altura menores.
- 3) La diferencia entre el peso fresco y seco del follaje estadísticamente no resultó significativo. No obstante estos valores al relacionarse con los obtenidos de sanidad de las plantas, manifestaron síntomas del efecto causado por los patógenos en la planta.
- 4) De las variables estudiadas para determinar el daño en la raíz solamente el peso seco de raíz resultó estadísticamente significativo; resultando en el tratamiento Nemátodo-Rhizoctonia-Fusarium un 73% de reducción del peso tomando como base el tratamiento testigo.

- 5) Una de las variables que mejor mostró el efecto de los patógenos fue el rendimiento del cultivo. Así, teniendo como base el testigo los patógenos solos Nemátodo, Rhizoctonia, Fusarium, redujeron el rendimiento en un 17 a 27%, siendo Rhizoctonia la más agresiva, en tanto que cuando los patógenos estuvieron asociados los menores rendimientos se obtuvieron con Nemátodo-Fusarium y Nemátodo-Rhizoctonia-Fusarium.
- 6) El cultivo de papa variedad Alpha es susceptible al ataque del nemátodo dorado, ya que en todos los tratamientos se encontró multiplicación del patógeno y menor producción de tubérculo.
- 7) Las variables que presentaron valores altos de correlación estadísticamente significativos fueron: Altura, peso fresco y seco del follaje y raíz, y rendimiento del cultivo.
- 8) Al analizar las hipótesis de los contrastes, las pruebas donde se determinó significancia estadística fueron: T1, T2, y T3 para Y15, Y18 y Y20.

VI. BIBLIOGRAFIA

1. Agrios, G.N. 1985. Fitopatología. Primera edición. Ed. LIMUSA. México.
2. Alconero, R. and A.G. Santiago. 1969. Micorrhizal infection of nature portions of vainilla roots by Rhizoctonia solani as a predisposing factor to Fusarium oxysporum f. sp. vanillae. Phytopathology 59: 1521-1524.
3. Alexopoulos, C.J. 1979. Introducción a la Micología. 3ra. Edición. Ed. Universitaria de Buenos Aires, Argentina.
4. Anónimo, 1976. Consumos aparentes. Dirección General de Economía. SARH México, D.F. Boletín Técnico.
5. Anónimo, 1980. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. SARH. D.G.E.A. 285 p.
6. Anónimo. 1982. Catálogo de Variedades de Papa. Instituto Holandes de Consulta sobre Papa.
7. Atkins, J.G. Jr. and W.D. Lewis. 1952. Rhizoctonia aerealblight of soybeans in Louisiana. Phytopathology (abstr.) 42:1
8. Barnett, H.L. and B.B. Hunter, 1982. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company, Minneapolis.
9. Bautista, J.N. 1978. Efecto de Diferentes Cultivos Vegetales sobre Poblaciones de Nemátodo Dorado Globodera rostochiensis (Woll, 1923) Mulvey y Stone, 1976. Tesis Profesional. UACH, CHapingo, Méx.
10. Brown, K.B. 1961. Assessing the damage caused by Heterodera rostochiensis Woll. Nature, Long. (Helm. Avs. 3, 1193) 191: 937-938.

11. Burpee, L.L. and J.R. Bloon, 1974. Interaction of Verticillium albo-atrum and Pratylenchus penetrans. Phytopathology. 64: 579 (abs).
12. Calderoni, A.V. 1978. Enfermedades de la Papa y su Control. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.
13. Camacho, G.J. 1977. Control Químico del Nemátodo Dorado de la Papa Globodera rostochiensis (Woll, 1923) Mulvey y Stone, 1976. (Nemátoda: Heteroderidae). Bajo Condiciones de Invernadero. Tesis Profesional UACH. Chapingo, Méx.
14. _____ . 1980. Efecto de Globodera rostochiensis (Woll) Mulvey y Stone, 1976. (Nemátodo Dorado de la Papa) Pseudomonas solanacearum E.F. Smith causante de "La Marchitez Bacterial" inoculados en forma aislada y asociados, sobre diferentes variedades de papa. Tesis M.C. Colegio de Postgraduados Chapingo, Méx.
15. Carreto, C.J.M. 1975. Las especies de Fusarium causantes de enfermedades en plantas en la República de Argentina. Sarasola A. y María A. Rocca. Micología. Ed. Hemisferio Sur. Argentina (III): 120-126.
16. Clark, S.A., A.M. Shepherd and Kemton. 1973. Spicule structure in some Heterodera species. Nematológica. 19: 242-247.
17. Conroy, J.J., R.J. Green Jr. and J.M. Ferris. 1971. Introduction of Verticillium albo-atrum and Pratylenchus penetrans under controlled inoculum densities. (abstr.) Phytopathology. 61: 888.
18. Corbett, D.C.M. and G.A. Hide. 1971. Interactions between Heterodera rostochiensis Woll and Verticillium dahliae on potatoes and effect of CCC on both. Ann. Appl. Biol. 68: 71-80.
19. De la I. de Bawer M.L. 1984. Fitopatología. Primera Ed. Centro de Fitopatología. C.P., Chapingo, Méx.

20. De Scurrah, M.M. and J. Franco. 1978. Research progress in potato cyst nematode, Globodera spp. Report of the 2da. Nematode Planing Conference 1978. International Potato Center. Lima, Perú.
21. Dillon-Weston, A.A.R. 1927. Incidence and intensity of Puccinia glumarum Eriks & Henn. on wheat infected and non-infected with Tilletia tritici Wint. showing the apparent relationships between susceptibility of wheat plants yellow rust and to bunt. Ann. Appl. Biol. 14:105-112.
22. Elarosi, H.M. 1958. Fungal associations. III the role of pectine enzymes on the synergistic relation between Rhizoctonia solani Kühn and Fusarium solani S & H in the rooting of potato tubers. Ann. Botany (N.S.) 22: 399-416.
23. Fraulkner, L.R., W.J. Bolander, and C.B. Skotland 1970. Interaction of Verticillium dahliae and Pratylenchus minyus in Verticillium wilt of peppermint: influence of the nematode is determined by a double root technique. Phytopathology 60:100
24. Fenwick, D.W. 1940. Methods for the recovery and counting cyst of Heterodera schachtii from soil. J. Helminth. 18: 155-172.
25. Fenwick, D.W. and E. Reid 1953. Populations studies on the potato root eelworm. Heterodera rostochiensis Woll. Journal of Helminthology 27: 119-128.
26. Fernández, B.J. 1976. Producción y certificación de semillas de papa en México. S.N.I.C.S. Folleto s/n S.A.G. México.
27. Grainger, J. and M. Clark 1965. Interaction of Rhizoctonia and potato root eelworm. European Potato Journal (Abs.) 8:190.
28. Hasting, R.J. and J.F. Bosher. 1939. A study of the pathogenicity of the meadow nematode and associated

- fungus, Cylindrocarpon radicola. Wr. Canad. Jour. Resp. 16: 225-229.
29. Hirano, K. 1977. Interrelationships between plant parasitic nematode and other plant pathogenic organisms. Helminthological abstracts serie B 46: 102.
 30. Hooker, W.J. and F.R. Fronck. 1960. The influence of virus Y infection on early blight susceptibility in potato. Conf. Potato Virus Disp. Proc. 4: 76.
 31. Hooker, W.J. 1980. Compendium of potatoes diseases. International Potato Center (CIP). Lima, Perú.
 32. Iverson, L.G.K. 1972. Golden nematode infestation found in Mexico. America Potato Journal. 49: 281.
 33. Jacobsen, B.J., D.H. Mac Donald, and H.L. Bissonette. 1979. Interaction between Meloidogyne hapla and Verticillium albo atrum in the Verticillium wilt disease of potato. Phytopathology. 69 (3): 288.
 34. Jatala, P. and L.J. Turkenstee. 1977. Interrélation ships of Globodera padilla with some Phoma sp. and Colletotrichum coccoides on potatoes. Journal of Nematology. 9: 272-273.
 35. Joachim, M. 1973. Vergleichende versuche uber den Verticillium-Pratylenchus Krankheitskomplex unter sterilen und-unsterilen bedingungen. (Abs.) Nematologica. 19: 249-258.
 36. Jones, J.P. and S.S. Waltz 1969. Fusarium wilt (Race 2) of tomato; coleium, P.H. and micronutrient effects on disease development Plant. Dis. Repr. Vol. 53: 276-279.
 37. Kommedahl, T. 1952. The incidence of Fusarium and Rhizoctonia infected plant in wheat, corn, and oats. (Abs) Phytopathology 42: 468-469.
 38. Krikum, J. and D. Orion. 1977. Studies of the interaction of Verticillium dahliae and Pratylenchus thornei on potato. Phytoparasitica 5: 67.

39. López, A.G. 1978. Técnicas de uso común en el manejo de hongos fitopatógenos. Tesis profesional. Escuela Nacional de Agricultura, Chapingo, Méx.
40. López, H.S. 1980. Estudio de la interacción del nemátodo nodulador y hongos fitopatógenos del suelo, en el cultivo del tomate de Morelos. Tesis M.C. Colegio de Postgraduados, Chapingo, Méx.
41. Lucas, C.B., N.J. Sasser and A. Kelman 1955. The relationship of root knot nematode to graville wilt resistance in tobacco. *Phytopathology* 45: 537.
42. Meagher, J.W. and S.C. Chambers. 1971. Pathogenic effects of *Heterodera avenae* and *Rhizoctonia solani* and their interaction on wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 22: 189-194.
43. Mountain, W.B. and W.C. Benedict. 1956. The association of *Rhizoctonia solani* and nematodes in a root rot of winter wheat. *Phytopathology (Abs.)* 46: 241.
44. Montaldo, A. 1984. Cultivo y mejoramiento de la papa. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José Costa Rica.
45. Norton, D.C. 1960. Effect of combinations of pathogenic organisms at different temperatures on the cotton seedling disease. *Texas. Agr. Expt. Sta. Misc. Publ.* 412.
46. Page, O.T. 1978. Reporte de nemátodos patógenos. Report of the 2nd Nematod Planning Conference 1978. International Potato Center, Lima, Perú.
47. Papavizas, G.C. and J.A. Lewis 1971. Black root rot of bean and tobacco caused by *Thielaviopsis basicola* as affected by soil amendments and fungicides in the greenhouse. *Plant. Dis. Reprtr.* 55: 352-356.
48. Parmeter, J.R. 1970. *Rhizoctonia solani* biology and pathology. University of California Press. Berkeley and Los Angeles, Cal.
49. Pitcher, R.S. 1963. Role of plant parasitic nematodes

- in bacterial diseases. *Phytopathology* 53: 35-39
50. Pitcher, R.S. 1974. Reduction of resistance of tomato to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by *Meloidogyne javanica*. *J. Nematol* 6: 148.
 51. Powell, N.T. 1963. The role of plant-parasitic nematodes in fungus diseases. *Phytopathology* 53: 28-35
 52. _____ . 1971. Interactions between nematodes and fungi in disease complexes. *Ann. Rev. of Phytopathology* 9: 253-274.
 53. Quiñones, F.J.A. 1979. Comparaciones morfométricas entre tres poblaciones mexicanas del género *Globodera* y las especies descritas del mismo. Tesis de M.C. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Méx.
 54. Richardson, E.D. and D.A. Doling. 1957. Potato blight and leafroll virus. *Nature (London)* 180: 866-867.
 55. Rodríguez, Ch. R. 1977. Segunda reunión latinoamericana de actividades de investigación y producción de papa. Centro Internacional de la papa (ALAP) Puerto Varas, Chile 33-35.
 56. Rojas, S.J.G. 1976. Efecto del tamaño y número de brotes del tubérculo semilla en el rendimiento y otros caracteres de la papa. (*Solanum tuberosum* L.). Tesis M.C., C.P. Chapingo, Méx.
 57. Roos, J.P. 1965. Predisposition of soybeans to *Fusarium* wilt by *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita*. *Phytopathology* 55: 361.
 58. Sánchez, A.J.H. 1983. Etiología y daños de las pudriciones radicales del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en el estado de Durango. Tesis Profesional. UACH, Chapingo, Méx.
 59. Santamaría, C.P. 1984. Control químico del nemátodo dorado *Globodera rostochiensis* (Woll, 1923) Mulvey y Stone, 1976. (Nematoda: Heteroderidae) de la papa *Solanum tuberosum* en condiciones de campo en Tlaxcala. Tesis Profesional. UACH, Chapingo, Méx.

60. Shirley, N. Smith and W.C. Snyder, 1971. Relationship of inoculum density and soil types to severity of Fusarium wilt of sweet potato. *Phytopathology* 61: 1041-1053.
61. Shoemaker, P.B. and K.R. Barker, 1979. Influence of Meloidogyne incongnita and Verticillium dahliae on tomato at different inoculum densities. *Phytopathology* (Abs) 69: 1-9.
62. Snyder, W.C., M.N. Schroth and T. Chistov 1959. Effect of residues on root of beans, *Phytopathology*. 49: 775-776.
63. Spears, J.F. 1978. The golden nematode Handbook, survey laboratory control and quarantine procedures Agr. Handbook 853: 69-81.
64. Sosa Moss, C. 1971. Determinación de la presencia del nemátodo dorado Heterodera rostochiensis Woll, 1923 en México. Inedito.
65. Stakman, E.C. and Harrar, J.C. 1957. Principles of plant pathology. The Ronald Co. New York.
66. Stone, A.R. 1973. Taxonomy of potato cyst nematodes Rothamstead Experimental Station. Harpenden. Paper presented at the EPP0 Conference on Heterodera rostochiensis A thus (Denmark) 0-11.
67. Thorne, G. 1961. Principles of Nematology. Mc. Graw-Hill Book Company, inc., New York. 553 p.
68. Trudeill, D.L. and D.M. Parrott 1975. Effects of potato cyst-nematodes on potato plants. *Nematologica* 21: 169,183, 273.
69. Turkensteen, L. 1978. Importancia de los hongos patógenos de la papa. Report of the planning conference 1978. CIP. Lima Perú.
70. Van Gundy, S.D. and H.P. Tsao. 1963. Growth reduction of citrus seedlings by Fusarium solani as influenced by the citrus nematode other soil factors. *Phytopathology* 53: 488-489.

71. Walker, J.C. 1957. Plant Pathology. Third Ed. Mc. Graw Hill Book Co. New York, USA.
72. Webster, J. 1972. Economic nematology. Academic Press. London and New York. 563 p.
73. Winslow, R.D. 1978. An overview of the important nematode pest of potato. Rep. of the 2nd Nematode planning conference 1978. CIP. Lima, Perú.
74. Yang, S.M. 1939. Tomato wilt resistance and its decrease by Heterodera marioni. Phytopath 29: 871-879.
75. _____ and D.H. Hagedor, 1965. Major incitants of root of process by bean (P. vulgaris) in Wisconsin Phytopathology 55: 1084-1085.
76. Zarka, A.M. 1965. Studies on Rhizoctonia solani Kuhn the cause of black scurf disease of potato. Wagenin gen, Agric. Univ. 73 p.

A P E N D I C E

A.1. Solución nutritiva para plantas

Se utilizaron los siguientes ingredientes:

- | | |
|--------------------------------|------------|
| a) $\text{NH}_4 \text{ NO}_2$ | 225 gramos |
| b) $\text{NH}_4 \text{ HPO}_4$ | 225 gramos |
| c) KCl | 225 gramos |
| d) Agua corriente aforar | 20 litros |

Procedimiento:

Se midió un litro de la solución base y se agregaron 19 litros de agua (proporción de 1:19). Posteriormente se riega de acuerdo a la humedad del suelo requerida.

A.2. Extracción de quistes por el método de flotación de Fenwick, 1940. (modificado)

Las muestras de suelo se dejan secar. Posteriormente se homogeniza el material y se toma una porción de 200 gramos que se procesa en el aparato de Fenwick, 1940. El aparato es un recipiente de lámina en forma de cono truncado (invertido), con un embudo y una coladera en la parte superior. La parte inferior tiene un ducto de salida con un tapón que sirve para desalojar los desechos de cada extracción de quistes.

El aparato se llena con agua previamente antes de cada muestra procesada. Se deposita el suelo en estudio, colo

cándose en la parte superior del aparato, haciendo pasar una corriente de agua con baja presión. El material grueso (1 mm entre mallas) piedras, basura, etc., es retenido por una coladera y las partículas que pasan se sedimentan en el fondo del recipiente, excepto los quistes y materia orgánica que tiene la capacidad de flotar son arrastrados hacia la base del embudo y salen por la boca del aparato con el exceso de agua. Los quistes y demás material se recogen en dos tamices sobrepuestos; el de arriba de 60 mallas por pulgada cuadrada que retiene partículas mayores y el de abajo de 100 mallas por pulgada cuadrada que retiene quistes y partículas orgánicas pequeñas. El material retenido se pasa a un recipiente de vidrio con un papel adherido en las paredes. Posteriormente se agregan unos granulos de detergente para romper la tensión superficial del agua; con esta operación, los quistes se adhieren al papel y son fácilmente separados de las partículas de materia orgánica y otros materiales ajenos.

A.3. Preparación del medio de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar)

Se pelan 200 gramos de papa y se cortan en pedazos pasando a cocer durante 10 minutos a 15 libras de presión. Posteriormente se filtra el jugo obtenido, repartiéndose en dos matraces de un litro y se afora a 500 mililitros con agua destilada. A cada matraz se le agregan 7 gramos de dextrosa y 10 gramos de agar, se esteriliza el medio a 15 libras de presión durante 15 minutos; para posteriormente dejarlo enfriar y vaciar en cajas de petri en un medio ambiente estéril.