

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

**PATOGENICIDAD, COMPATIBILIDAD Y FUNGICIDAS EN
Phytophthora capsici (Leo.) Y EVALUACION DE VARIEDADES
DE FRIJOL EJOTERO A *Phytophthora phaseoli* (Thaxter).**

T E S I S
QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
EN PROTECCION VEGETAL



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

PRESENTA:

JUAN RAMÓN GAYTÁN MEJÍA



CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO. JUNIO DE 2006

PATOGENICIDAD, COMPATIBILIDAD Y FUNGICIDAS EN *Phytophthora capsici* (Leo.) Y EVALUACION DE VARIEDADES DE FRIJOL EJOTERO A *Phytophthora phaseoli* (Thaxter). Tesis realizada por Juan Ramón Gaytán Mejía bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

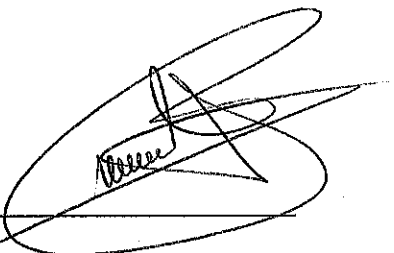
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR:



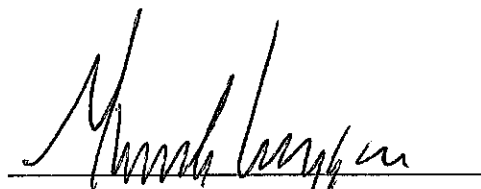
Dr. Marcelo Acosta Ramos

ASESOR:



M. C. Bertha Tlapal Bolaños

ASESOR:



Dr. Santos Gerardo Leyva Mir

DEDICATORIA

A mis padres, que les debo la vida y me forjaron de la mejor manera para poder lograr todas mis metas, objetivos y me educaron con todo el esmero que un hijo puede esperar de un padre. Gracias por todo.

A mi esposa Lourdes, por estar conmigo en todo momento, por comprenderme y amarme.

Con todo mi amor a mi hijo Dante Iojanán Gaytán Cerón.

A mi abuela Maria, por ser la persona que me ha encaminado en la vida con sus enseñanzas en el ámbito productivo.

A mi hermana Mayenne, que me ha apoyado en mi vida en todo momento.

Con cariño a mis sobrinas Idalia y Andrea Samara.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento y apoyo otorgado para la realización de los estudios de maestría.

A la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), institución que me brindo su apoyo y sus instalaciones para escalar un peldaño más en mi formación académica.

Al programa de la Maestría en Protección Vegetal del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, por darme la oportunidad a través de su personal e instalaciones de cursar y concluir mis estudios en este programa.

A mi comité Asesor: Dr. Marcelo Acosta Ramos, M. C. Bertha Tlapal Bolaños y Dr. Gerardo Leyva Mir. Agradezco por sus conocimientos que me brindaron por sus sugerencias y revisiones realizadas a mi trabajo de investigación.

A los profesores-investigadores de este programa por compartir su conocimiento, tiempo y experiencia para mi formación académica.

A todas las personas que no he nombrado pero que de una o de otra forma contribuyeron en mi formación y elaboración de este trabajo.

DATOS BIOGRÁFICOS

EL AUTOR DE LA PRESENTE TESIS NACIÓ EL 13 DE ABRIL DE 1976 EN EL ESTADO DE HIDALGO. REALIZÓ SUS ESTUDIOS DE EDUCACIÓN BÁSICA EN EL ESTADO DE HIDALGO. EN 1996 INGRESA A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD XOCHIMILCO, DE DONDE EGRESA EN EL 2000, CON EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO. DURANTE 2000 Y 2001 PRESTÓ SUS SERVICIOS AL VIVERO FLORAPLANT, EN LA PRODUCCIÓN DE ESQUEJES DE ORNAMENTALES Y ESPECIES AROMÁTICAS DE EXPORTACIÓN EN EL ESTADO DE MORELOS, DEL 2001 AL 2003 TRABAJÓ EN EL INVERNADERO "EL PLAN" EN EL ESTADO DE HIDALGO ADEMÁS DE DEDICARSE POR CUENTA PROPIA A LA PRODUCCIÓN DE HORTALIZAS TALES COMO: CALABACITA, FRIJOL EJOTERO, CHILE SERRANO, BROCOLI, COLIFLOR, ETC. HA PARTICIPADO EN DIVERSOS CURSOS, CONGRESOS, REUNIONES Y SIMPOSIOS, COMO ASISTENTE Y ORGANIZADOR. EN AGOSTO DEL 2003 INICIA SUS ESTUDIOS DE MAESTRIA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL EN LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO, CONCLUYENDO ESTOS EN EL 2005.

INDICE

	Página.
ÍNDICE DE FIGURAS (Capítulo 1).....	i
ÍNDICE DE FIGURAS (Capítulo 2).....	ii
ÍNDICE DE CUADROS (Capítulo 1).....	iii
ÍNDICE DE CUADROS (Capítulo 2).....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	2
3. HIPOTESIS.....	3
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
4.1. Origen del frijol ejotero.....	3
4.2. Clasificación taxonómica del frijol ejotero.....	3
4.3. Descripción botánica del frijol ejotero.....	5
4.4. Composición química del frijol ejotero.....	6
4.5. Importancia económica del frijol ejotero.....	7
4.6. Fitopatogenos que afectan al follaje y vainas.....	7
4.6.1. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> de Bary.....	10
4.6.1.1. Importancia y rango de hospedantes.....	10
4.6.1.2. Síntomas.....	10
4.6.1.3. Clasificación taxonómica.....	11
4.6.1.4. Características morfológicas.....	11
4.6.1.5. Ciclo de la enfermedad y epidemiología.....	12
4.6.1.6. Estrategias de manejo.....	13
4.6.2. <i>Phytophthora phaseoli</i> (Thaxter).....	15
4.6.2.1. Importancia y rango de hospedantes.....	15

4.6.2.2.	Síntomas.....	16
4.6.2.3.	Clasificación taxonómica.....	16
4.6.2.4.	Características morfológicas.....	16
4.6.2.5.	Ciclo de la enfermedad y epidemiología.....	17
4.6.2.6.	Estrategias de manejo.....	20
4.6.3.	<i>Phytophthora capsici</i> (Leo.).....	22
4.6.3.1.	Importancia y rango de hospedantes.....	22
4.6.3.2.	Síntomas.....	23
4.6.3.3.	Clasificación taxonómica.....	24
4.6.3.4.	Características morfológicas.....	24
4.6.3.5.	Ciclo de la enfermedad y epidemiología.....	25
4.6.3.6.	Estrategias de manejo.....	28
5.	LITERATURA CITADA.....	31
CAPITULO 1º PATOGENICIDAD, COMPATIBILIDAD Y PRUEBAS DE EFECTIVIDAD BIOLOGICA DE FUNGICIDAS PARA <i>Phytophthora capsici</i> EN FRIJOL EJOTERO		1
	RESUMEN.....	1
	1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	2
	2. MATERIALES Y METODOS.....	3
2.1	Localización de las áreas de estudio.....	3
2.2	Muestreos.....	3
2.3	Aislamiento y purificación.....	4
2.4	Pruebas de patogenicidad " <i>In Vivo</i> ".....	5
2.5	Identificación.....	7
2.6	Pruebas de patogenicidad en invernadero.....	8
2.7	Evaluación de fungicidas " <i>In Vitro</i> " para el manejo de tizón de la vaina en frijol ejotero.....	11
3.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	13
3.1	Incidencia y síntomas de la enfermedad encontrados en campo.....	13

3.2	Diversidad de síntomas.....	13
3.3	Pruebas de patogenicidad en vainas de frijol ejotero en laboratorio....	18
3.4	Identificación de pseudohongo.....	20
3.5	Métodos de inoculación en invernadero.....	24
3.6	Eficacia de fungicidas " <i>In Vitro</i> " para el manejo de tizón de la vaina en frijol ejotero.....	34
4.	CONCLUSIONES.....	38
5.	LITERATURA CITADA.....	39
CAPÍTULO 2º. PATOGENICIDAD, DE <i>Phytophthora phaseoli</i> Y EVALUACION DE VARIEDADES DE FRIJOL EJOTERO, BAJO CONDICIONES CONTROLADAS EN INVERNADERO		1
	RESUMEN.....	1
1.	INTRODUCCIÓN.....	2
2.	OBJETIVOS.....	3
3.	MATERIALES Y METODOS.....	4
3.1	Localización de las áreas de estudio.....	4
3.2	Muestreos.....	4
3.3	Aislamiento.....	4
3.4	Pruebas de patogenicidad en plántulas.....	4
3.5	Identificación.....	7
3.6	Evaluación de variedades de frijol ejotero para el manejo de tizón del ejote en condiciones controladas.....	8
4.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	11
4.1	. Incidencia de la enfermedad y síntomas.....	11
4.2	Aislamiento directo.....	13
4.3	Aislamiento indirecto.....	13
4.4	Pruebas de patogenicidad en plántulas de frijol ejotero en invernadero	14
4.5	Identificación del pseudohongo.....	17
4.6	Evaluación de variedades de frijol ejotero.....	19
5.	CONCLUSIONES.....	23
6.	LITERATURA CITADA.....	24
	APENDICES.....	25

INDICE DE FIGURAS (Capítulo 1º)

Figura	Página
1. Sintomatología presente en campo afectando a tallo (A), hoja (D), pedicelo (C), inflorescencias y vainas de frijol ejotero variedad "Strike" en la región de Valle del Mezquital en Hidalgo, México.....	14
2. Crecimientos diferentes de <i>Phytophthora</i> , obtenidos de frijol ejotero en las localidades de Doxey (A y B), Teocalco (C y D) y Tlaxcoapan (E y F) en la Región del Valle del Mezquital, Estado de Hidalgo México.....	16
3. Pruebas de patogenicidad " <i>In Vitro</i> " en vainas de frijol ejotero inoculadas con <i>P. capsici</i> , en el laboratorio mostrando diversos grados de patogenicidad, sintomatología e incidencia.	19
4. Variabilidad de esporangios: con dos papilas $>4\mu$ (A), piriformes y alimonados (D), globosos (E), y oosporas café apertóticas presentando anteridio de tipo anfigino (B, C y F) obtenidos en medio jugo V-8 agar de <i>Phytophthora capsici</i>	21
5. Incidencia del tizón en plantas de frijol ejotero inoculadas con <i>Phytophthora capsici</i> al follaje y al suelo bajo condiciones controladas en invernadero.....	29
6a. Síntomas inducidos por <i>Phytophthora capsici</i> inoculadas al follaje (10 mL de una solución de 2000 zoosporas/mL) en plantas de frijol ejotero variedad "Strike" en etapa de floración-frutificación. Atacando tallo (A), fruto (B) pedúnculos y tallo (C) e inflorescencias y tallo (D).....	30
6b. Síntomas inducidos por <i>Phytophthora capsici</i> inoculadas al suelo (10 mL de una solución de 2000 zoosporas/mL) en plantas de frijol ejotero variedad "Strike" en etapa de floración-frutificación. Atacando tallo (A), fruto (B) pedúnculos tallo y hojas (C) e inflorescencias y tallo (D).....	31
7. Crecimiento radial de <i>Phytophthora capsici</i> " <i>In Vitro</i> " en medio PDA con fungicidas en dos dosis baja y media 7 días después de la aplicación de los tratamientos. Sin embargo la imagen correspondiente al testigo fue tomada 15 días después de iniciar la prueba.....	36

INDICE DE FIGURAS (Capítulo 2º)

Figura	Página
1. Síntomas encontrados en campo del tizón del frijol ejotero en tres localidades de la región productora del Valle del Mezquital en Hidalgo, México.....	12
2. Aspecto del aislamiento obtenido en forma indirecta de plantas con síntomas del tizón del frijol ejotero, en medio de cultivo PDA.....	13
3. Síntomas presentes en inoculación del patógeno a plántulas de frijol ejotero variedad "Strike".....	15
4a. Esporangio de <i>Phytophthora phaseoli</i> con papila inconspicua, alimonado, pedicelo corto y con el hinchamiento típico.....	17
4b. Esporangios caducos, esporangioforo de ramificación simple, con micelio cenocítico e hinchamientos típicos de <i>Phytophthora phaseoli</i> , agente causal del tizón del frijol ejotero en la región del Valle del Mezquital en Hidalgo México.....	18
5. Diversidad de síntomas de <i>Phytophthora phaseoli</i> en base a la reacción de resistencia en cada una de las variedades evaluadas de frijol ejotero en invernadero bajo condiciones controladas.....	20

INDICE DE CUADROS (Capítulo 1º)

Cuadro	Página
1. Representación grafica de pruebas de patogenicidad " <i>In Vivo</i> " en vainas de frijol ejotero variedad "Strike".....	5
2. Diseño de cruzamientos entre aislamientos de <i>Phytophthora</i> obtenidos.....	7
3. Diseño grafico del experimento de las pruebas de patogenicidad en invernadero con inoculación al follaje y suelo en plantas de frijol ejotero en etapa de fructificación de la variedad "Strike".....	8
4. Fungicidas y dosis evaluadas " <i>In Vitro</i> " como alternativa a utilizar para el manejo del agente causal del tizón del frijol ejotero en la región del Valle del mezquital en Hidalgo, México..	12
5. Incidencia de la enfermedad acumulada en proporción de los aislamientos inoculados " <i>In Vivo</i> " en vainas de frijol ejotero en laboratorio.....	18
6. Grupos de compatibilidad de los aislamientos de <i>Phytophthora capsici</i> obtenidos de vainas frijol ejotero, variedad "Strike" en la región del Valle del Mezquital Hidalgo, México.....	23
7. Comportamiento temporal de la incidencia del tizón de la vaina, y área bajo la curva progreso de la enfermedad en plantas en fructificación de frijol ejotero variedad "Strike" inoculadas al follaje bajo condiciones controladas.....	27
8. Comportamiento temporal de la incidencia del tizón de la vaina, y área bajo la curva progreso de la enfermedad de plantas en fructificación de frijol ejotero variedad "Strike" inoculadas al suelo bajo condiciones controladas.....	28
9. Comparación de medias (Prueba de Tukey) y eficacia de los fungicidas evaluados " <i>In Vitro</i> ". Datos tomados a los 15 días después de la aplicación de los tratamientos.....	37

INDICE DE CUADROS (Capítulo 2º)

Cuadro	Página
1. Variedades de frijol ejotero inoculados con <i>Phytophthora phaseoli</i> bajo condiciones controladas en invernadero”.....	9
2. Parámetros establecidos por Davidson <i>et al.</i> 2001 para determinar la reacción de resistencia a <i>Phytophthora phaseoli</i> en diversas variedades de frijol ejotero en invernadero.....	10
3. Incidencia del tizón del frijol ejotero en plántulas de la variedad Strike en proporción del aislamiento inoculado en invernadero bajo condiciones controladas.....	16
4. Variedades evaluadas para determinar resistencia a <i>Phytophthora phaseoli</i> en base al porcentaje de infección en invernadero.....	19

PATOGENICIDAD, COMPATIBILIDAD Y FUNGICIDAS EN
Phytophthora capsici (Leo.) Y EVALUACIÓN DE VARIEDADES DE
FRIJOL EJOTERO A *Phytophthora phaseoli* (Thaxter)

PATHOGENICITY, COMPATIBILITY AND FUNGICIDES IN
Phytophthora capsici (Leo.) AND EVALUATION OF SNAP BEANS
VARIETIES TO *Phytophthora phaseoli* (Thaxter)

Gaytán Mejía Juan Ramón¹

Acosta Ramos Marcelo²

RESUMEN

Con el objetivo de determinar la etiología del tizón del frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris*) además de un manejo químico y la evaluación de variedades contra esta enfermedad, se realizaron siete aislamientos de plantas colectadas en la región del Valle del Mezquital, Hgo., en 2003 y 2004. Al efectuarse los Postulados de Kosh se obtuvo que los agentes causales fueron: *Phytophthora capsici* y *Phytophthora phaseoli*. Se realizaron pruebas "In vitro" de efectividad biológica de los fungicidas dimetomorf + clorotalonil, iprovalicarb + mancozeb, propamocarb clorhidrato, propamocarb clorhidrato + clorotalonil, fosetil-al, cimoxonil + clorotalonil, mancozeb, clorotalonil, metalaxil-m+clorotalonil para el manejo de *Phytophthora capsici* y todos tuvieron un buen control sobre el patógeno. Las variedades XP8104098, Zodiac, Posquad, Opus, Bronco y Huracán se establecieron en invernadero bajo un diseño completamente al azar y se inocularon con *Phytophthora phaseoli* para observar la resistencia y evaluar el porcentaje de plantas enfermas de cada variedad, resultando susceptibles al fitopatógeno mencionado.

ABSTRACT

With the objective of determining the etiology of blight in snap beans (*Phaseolus vulgaris*) determining a chemical control of this disease, and evaluating of susceptibility of each variety of snap beans against the disease, seven isolations were collected in the Mezquital Valley region of the Hidalgo in 2003 and 2004. Upon applying of Koch's Postulates, the causal agents were found to be: *Phytophthora capsici* and *Phytophthora phaseoli*. In Vitro tests to determine biological effectiveness in the control of *Phytophthora capsici* were carried out using the following fungicides dimetomorf + clorotalonil, iprovalicarb + mancozeb, propamocarb hydrochlorate, propamocarb clorhidrato + clorotalonil, fosetil-al, cimoxonil + clorotalonil, mancozeb, clorotalonil, metalaxil-m + clorotalonil all these chemical products effectively control the pathogen. XP8104098, Zodiac, Posquad, Opus, Bronco and Hurricane varieties of snap beans were grown under greenhouse conditions, arranged in a totally random design, and inoculated with *Phytophthora phaseoli* to observe their resistance and to evaluate the percentage of sick plants from each variety that was susceptible to this phytopathogen

Palabras clave: frijol ejotero, tizón, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora phaseoli*, identificación, manejo químico, evaluación de variedades.

Key words: snap bean, blight, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora phaseoli*, identification, chemical control, evaluation of varieties.

¹ Tesista

² Director de tesis

¹Thesis author

²Thesis director

1. INTRODUCCION

El frijol (*Phaseolus vulgaris*), ha tenido desde épocas prehispánicas un papel fundamental en nuestro país, junto con el maíz constituyen la base de la alimentación para gran parte de la población, al combinarse estos dos granos se complementan en sus componentes, principalmente en los aminoácidos, con lo cual se mejora el valor biológico de la proteína y en algunas zonas del país donde los regímenes alimenticios son muy pobres, el frijol sustituye a la carne (Jacinto, 2003). En los Valles Altos de la Mesa Central, región que comprende parte de los estados de México, Puebla, Hidalgo, Tlaxcala, Querétaro, Morelos y el Distrito Federal, se cosechan anualmente alrededor de 120 mil hectáreas de frijol con un rendimiento promedio de $650 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ (SAGARPA, 2002).

En México, en los últimos años las hortalizas han cobrado un auge importante desde el punto de vista de la superficie sembrada, y en el aspecto social, debido a la gran demanda de mano de obra y a la captación de divisas (Valadez, 2001).

El frijol ejotero es una hortaliza que se consume en fresco. En el estado de Hidalgo, durante 2003 la superficie cosechada fue de 1,838 ha con una producción de 13,709 t, equivalente a $7.01 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$, con un valor de producción de \$ 63,629,513.10 (SAGARPA-SIAP, 2003). Este cultivo ofrece perspectivas

económico-sociales, por la demanda de mano de obra que genera, los precios altos que alcanza en el mercado y la demanda de consumo (Sánchez, 1996).

La capacidad de rendimiento de este cultivo no se ha alcanzado debido principalmente a problemas fitosanitarios que merman la cosecha y aumentan el costo de producción (Schwartz y Gálvez, 1980); dentro de este complejo se encuentran las enfermedades, siendo la más importante el tizón de la vaina; esta enfermedad ocasiona daños en la parte media de los pecíolos y vainas (Campos, 2001). En el Valle del Mezquital, Hidalgo provoca pérdidas considerables en las zonas productoras de la región y hasta el momento no existe ningún diagnóstico fitosanitario o estudio fitopatológico, que indique el agente causal y menos aun el manejo de esta enfermedad en el proceso productivo del frijol ejotero. La falta de información acerca del cultivo, la alta incidencia de la enfermedad, y las pérdidas económicas de los productores son las razones para realizar estudios que permitan determinar el agente causal del tizón de la vaina en frijol ejotero; así como establecer estrategias de manejo genético, cultural y químico que ayuden a reducir el problema. Por lo anterior se planteó la presente investigación con los objetivos siguientes.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- 1) Determinar la etiología del tizón de la vaina en frijol ejotero.

2.2. Objetivos específicos

- a) Determinar el agente causal del tizón de la vaina en frijol ejotero en regiones productoras de Hidalgo, Méx.

- b) Evaluar y detectar resistencia, en un grupo de variedades de frijol ejotero en invernadero contra el agente causal del tizón de la vaina.
- c) Evaluar la efectividad biológica *in vitro* de nueve fungicidas contra el agente causal del tizón de la vaina del frijol ejotero.

3. HIPÓTESIS

El tizón de la vaina en frijol ejotero es causada por diversos fitopatógenos fungosos.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Origen del frijol ejotero

El frijol es una planta originaria de América tropical y subtropical, y su domesticación se relaciona con la del maíz. Procede de México y Perú, donde se empezó a cultivar 8000 años a. de C. junto con el maíz. La llegada de los españoles a América, permitió que esta leguminosa se introdujera al viejo mundo a comienzos del siglo XVI y se difundiera a todo el mundo, de tal forma que hoy se ubican a los principales países productores en diversas zonas del planeta: tales como la India, China, Brasil y EE.UU. (Jacinto, 2003).

4.2. Clasificación taxonómica del frijol ejotero (Crop Protection, 2001)

Reino: Plantae

Phylum: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Clase: Dicotyledonae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Faboideae

Género: *Phaseolus*

Especie: *P. vulgaris*

El género *Phaseolus* presenta cuatro especies *Phaseolus vulgaris* o frijol común, *P. coccineus* o frijol ayocote, *P. lunatus* o frijol lima y *P. acutifolius* o frijol tepari o ecomistes. Al cultivarlas se les trata como anuales, pero de *P. coccineus* y *P. lunatus* algunos cultivares son perennes y *P. vulgaris* presenta ambas formas y solo *P. acutifolius* es estrictamente anual (CIAT, 1984). En México se cultivan las cuatro especies, en los estados de los Valles de la Mesa Central, en la mayoría de siembras se utiliza el frijol común, que es el de mayor área de adaptación. Siembras con frijol ayocote son notables en Puebla y en menor grado en el estado de México y Morelos, no obstante, la superficie total de esta especie es reducida; esta especie se caracteriza por tolerar más el frío que las otras tres. El frijol lima sólo se siembra en una superficie reducida en el estado de Morelos y se caracteriza por ser de clima cálido. El frijol tepari tolera hasta cierto grado la sequía, por lo que es más adaptado a regiones semiáridas (Jacinto, 2003).

4.3. Descripción botánica de la planta de frijol

La planta de frijol pertenece a la familia de las Fabáceas y es anual, por su naturaleza es autógama, con 4 a 10 % de cruzamiento natural, florece en respuesta a días cortos y es favorecida por temperaturas moderadas (Campos 2003).

La raíz es superficial (primeros 50 cm del suelo) y puede tener forma fasciculada, pivotante y fibrosa; con nódulos en la parte superior y media del sistema radical (Hynes *et al.*, 1998).

El tallo presenta las características siguientes: es herbáceo con sección cilíndrica o levemente angular, puede ser erecto, semipostrado o postrado y tiende a ser vertical; por su pilosidad puede ser erecto subglabro y pubescente, con pelos uncinulados; su color puede ser verde, rosado, rojizo y morado; con flores de color blanco, rosa y morado (Campos, 2003).

Las hojas son de dos tipos: simples y compuestas y están insertadas en los nudos de los tallos y ramas (Campos, 2003).

Las inflorescencias pueden ser axilares y terminales. Desde el punto de vista botánico se consideran como racimos de racimos, es decir un racimo principal

compuesto de racimos secundarios, los cuales se originan de un complejo de tres yemas (tríada floral) (Campos, 2003).

El fruto es una vaina con dos valvas, los cuales provienen del ovario comprimido. Dos suturas aparecen en la unión de las dos valvas: la sutura dorsal o placentar y la sutura ventral. Los óvulos que son las futuras semillas, alternan en la sutura placentar y por consiguiente en las dos valvas. La presencia de fibra en las suturas y en la capas pergaminosas adheridas a la superficie interna de las valvas determina la dehiscencia de la vaina y puede ser de tres tipos: pergaminosa (se abre fácilmente la vaina), coriáceo y carnoso (casi no hay abertura de la vaina) (Campos, 2003).

En un estudio de etapas fenológicas del frijol, el CIAT (1982) definió nueve etapas de desarrollo: germinación, emergencia, hojas simples, primera hoja trifoliada, tercera hoja trifoliada, prefloración, floración, formación de vainas, llenado de vainas y maduración. Dichas etapas facilitan la toma de datos, principalmente de enfermedades; sirven de guía para programar algunas actividades (labores de cultivo, aplicación de productos químicos y otras); y permiten estimar el daño aposteriori causado por fenómenos agroclimáticos.

4.4. Composición química del frijol

El componente nutrimental de importancia mayor en el frijol es la proteína, la cual es rica en lisina por lo que constituye un suplemento proteínico excelente

para los cereales. Este grano también aporta cantidades valiosas de hierro, calcio y vitaminas del complejo B como la tiamina, niacina y riboflavina, además de potasio y fósforo, por ser de origen vegetal, el frijol no contiene colesterol. Por otra parte es una fuente valiosa de carbohidratos, especialmente almidón. El consumo de frijol, por su contenido de fibra soluble, ejerce un efecto positivo en la salud, relacionado con una disminución del colesterol (Ali *et al.*, 1981)

4.5. Importancia económica del frijol ejotero

Existen parámetros que hacen importante al cultivo del frijol ejotero en nuestro país, uno de ellos es que es una hortaliza que se produce todo el año; sin embargo, en los meses de Mayo-Julio es cuando se alcanza la mayor producción.

A nivel nacional, en 2002 se cosecharon 11,018.70 ha con un volumen de producción de 104,897.60 t·ha⁻¹ (SAGARPA-SIAP, 2003). En 2002, en Morelos se sembraron 4,000.20 ha, 2,659 ha en Sinaloa e Hidalgo con 1,974 ha, con un volumen de producción de 42,875.70, 29,689.48 y 13,709 t·ha⁻¹ respectivamente (SAGARPA-SIAP, 2003).

4.6. Fitopatógenos que afectan el follaje y vainas

Una de las limitantes principales de la producción de frijol en los Valles Altos de la Mesa Central de México, son las enfermedades, dentro de las cuales se destacan el tizón común, roya, antracnosis, tizón de halo y pudriciones de la raíz. En algunos años se detectó un incremento de la incidencia de la mancha angular y en ciertas zonas se observó la presencia de la mancha blanca. Se

considera que el frijol es un cultivo con rentabilidad baja, por lo que la mejor opción para el manejo de estos patógenos es el uso de variedades resistentes, aunque en el caso de frijol ejotero se pueden utilizar fungicidas para reducir la incidencia, siempre y cuando se estime que es costeable su uso (Garza *et al.*, 2003)

Los patógenos, causantes de las enfermedades en cultivos, generalmente penetran a las plantas por las heridas que sufren, ya sea por el ataque de insectos defoliadores, por daños de granizo o el paso de las herramientas al cultivo, y en algunos casos en forma directa a través de las paredes celulares o la semilla. Las plantas atacadas muestran una gran variación de síntomas de acuerdo con el patógeno involucrado en la infección: achaparramientos, amarillamiento, manchas necróticas, marchitez, mosaicos, pústulas, arrugamiento, enrollamiento y deformación de las hojas. Estos organismos dañinos requieren de ciertas condiciones de temperatura, humedad y luz para su establecimiento y multiplicación, las cuales determinan su distribución y severidad en las diferentes zonas productoras, por lo que es muy importante conocer la época en que son más severas sus infecciones en el campo (Garza *et al.*, 2003)

En campo los términos “mildiu o cenicilla”, son conocidos para muchos agricultores y los utilizan como sinónimos, lo que explica el fracaso al usar productos químicos para estas enfermedades, no solo en este cultivo sino en muchos más.

El cultivo del frijol ejotero es atacado por diferentes organismos fitopatógenos que reducen en forma considerable la producción y la calidad del fruto.

Diversos autores han reportado en otros países síntomas con tizón de la vaina en plantas de frijol lima, *Phaseolus lunatus* (Goth y Wester, 1963, Hyre, 1957., 1966, Wester *et. al.*, 1966 y Wester 1976); en México se ha reportado en frijol común *Phaseolus vulgaris* (Campos, 1976, 1980 además de Buenrostro y Soriano, 1987), pero ninguno en frijol ejotero, desde los trabajos de Thaxter en 1889 (citado por Erwin y Ribeiro, 1996), dicha enfermedad se ha atribuido a *Phytophthora phaseoli* como el agente causal, pero en algunos casos no se ha logrado aislar a este patógeno del tejido infectado. Campos, 1980 mencionó que en los Altos de Jalisco y el área de influencia de Chapingo, el tizón de la vaina en frijol común era causado por *P. phaseoli*, y en esa época ésta enfermedad se catalogó como la principal del cultivo debido a que afectó en forma considerable el material genético del programa de mejoramiento, donde causó daños totales, tan sólo en la variedad Bayomex que es la de mayor adaptación; los daños fueron de un 50%. Es hasta 1987 cuando Buenrostro y Soriano realizan el primer trabajo en México sobre tizón de la vaina en *Phaseolus vulgaris*.

Entre otros reportes que causan tizón en la vaina se puede citar a los fitopatógenos; *Sclerotinia sclerotiorum* (Gaxiola, 1976); *Erysiphe polygoni* (Schwartz *et al.*, 1978) *Phytophthora capsici* (Davidson *et al.*, 2002).

A continuación se describen varios aspectos de algunas enfermedades relacionadas a los síntomas de tizón de la vaina en frijol ejotero.

4.6.1. *Sclerotinia sclerotiorum* de Bary

4.6.1.1. Importancia y rango de hospedantes

El moho blanco se observó en México desde 1955 (Yerkes, 1959), dañando considerablemente la producción. Esta enfermedad se encuentra distribuida en todo el país, y produce graves daños si encuentra condiciones favorables, como humedad ambiental alta (Campos, 2001).

En México se ha observado que ataca a zanahoria, cebolla, apio, papa, tomate, calabaza, pepino, berenjena, chile, okra, chicharo y sandia entre otros frutos. Purdy (1979), indicó que el hongo ataca 361 especies de 225 géneros y de 64 familias de cultivos; sólo en la familia *Fabaceae* ataca a 21 géneros y 52 especies diferentes.

4.6.1.2. Síntomas

Los síntomas se observan en tallos, vainas y hojas cercanas al suelo. Los primeros síntomas son manchas acuosas pequeñas que se desarrollan rápidamente y en 3 ó 4 días se tiene micelio abundante de aspecto algodonoso. Las ramas atacadas adquieren un color café claro pajizo y sobre ellas se forman los esclerocios o en la parte interna de ésta. Los síntomas son más

notorios en las vainas, sobre todo en las cercanas al suelo, la infección se inicia con puntitos cafés y a medida que ésta avanza la consistencia del área afectada se vuelve acuosa y de color café claro sobre la que se desarrolla micelio de aspecto algodonoso (Campos, 2001).

Posteriormente, este tejido infectado se seca, tomando un color claro y una apariencia blanquecina. Los esclerocios negros se forman sobre los tejidos infectados pocos días después de la infección. Toda la planta puede infectarse pero, generalmente, la infección ocurre en las partes próximas al suelo. El hongo puede ser portado internamente en la semilla; sin embargo la dispersión primaria se hace por esclerocios o por esporas liberadas por las estructuras reproductivas llamadas apotecios, producidas por esclerocios enterrados en el suelo (Swchartz *et al.*, 1978).

4.6.1.3. Clasificación taxonómica (Kirk *et al.*, 2001)

Dominio: Eucariota

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Ascomycetes

Orden: Leotiales

Familia: Sclerotiniaceae

Género: *Sclerotinia*

Especie: *S. sclerotiorum*

4.6.1.4. Características morfológicas

El hongo produce en los tallos y las vainas una masa de micelio blanco que posteriormente se torna de color negro y compacto, para dar origen a las

estructuras llamadas esclerocios; los cuales tienen la capacidad de permanecer en reposo de un año a otro y pueden germinar emitiendo micelio, o bien pueden pasar un periodo de temperatura baja de 10 a 12 °C periodo en el que se rompe la latencia y el esclerocio germina emitiendo apotecios (reproducción sexual). En cada apotecio se forman miles de ascas cilíndricas; cada una de ellas contiene ocho ascosporas. Las ascas miden de 7 a 10 μ de diámetro y de 112 a 156 μ de largo. Un apotecio libera 2 millones de ascosporas en poco tiempo. Las ascosporas son ovoides y miden de 4 a 10 μ de ancho por 9 a 16 μ de largo. Este hongo rara vez produce microconidios (Schwartz y Gálvez 1980). Un sólo apotecio produce 3×10^7 ascosporas, y un sólo esclerocio puede producir 2.3×10^8 ascosporas (Abawi *et al.*, 1975). Los esclerocios pueden llegar a perdurar en el suelo hasta diez años, y germinar cuando las condiciones sean favorables (Le Torneau, 1979).

4.6.1.5. Ciclo de la enfermedad y epidemiología

El hongo produce una cantidad de esclerocios que pueden ser confundidos fácilmente con partículas del suelo. Los esclerocios que se forman en el tejido infectado del tallo o en las vainas, o en el interior de estas, se desprenden y caen al suelo de donde son diseminados cuando se prepara la tierra para el ciclo siguiente. El viento también contribuye a la diseminación sobre todo en zonas de riego (Abawi y Grogan, 1979). Para que se formen los apotecios se requiere una temperatura de 15 a 18° C y una humedad en el suelo de 50%. La formación de apotecios se presenta en varios cultivos, por ejemplo, en frijol,

maíz, haba, tomate, praderas, naranja, lima y en otros árboles frutales (Swchartz y Gálvez 1980). Cada esclerocio produce cinco apotecios en promedio y casi siempre cerca del tallo de la planta, lo que le proporciona las condiciones óptimas para que el esclerocio forme apotecios. Las ascosporas liberadas por el apotecio son depositadas a 2 ó 3 cm del punto de descarga, sin embargo, se han localizado a 25 metros y pueden permanecer viables en el follaje hasta por 12 días (Abawi y Grogan 1979).

4.6.1.6. Estrategias de manejo

4.6.1.6.1. Culturales

En terrenos infectados conviene disminuir la cantidad de semilla por hectárea y en consecuencia la población de plantas. Gaxiola (1977) en un trabajo realizado con frijol en Sinaloa, encontró que al dejar 95 cm entre cada surco se tuvo una mejor ventilación y se redujo la incidencia de la enfermedad. La producción de grano fue mayor a la que se obtiene en surcos de 50 a 65 cm, que normalmente usa el agricultor.

La rotación de cultivos reduce la incidencia de la enfermedad y consecuentemente la cantidad de esclerocios. Se recomienda sembrar maíz, trigo, avena o cualquier otro cereal, pero nunca se deben incluir hortalizas como lechuga, jitomate, zanahoria, col, y apio, que son muy susceptibles al ataque de ésta. También es conveniente juntar y quemar la paja de la cosecha anterior, ya

que ayuda a reducir el inóculo. En zonas de riego, es necesario regular la humedad, a fin de no favorecer el desarrollo del hongo e inundación del terreno para que se pudra (Romero, 1994).

4.6.1.6.2. Genéticas

Se ha comprobado que los materiales de hábito de crecimiento determinado (mata) son menos atacados por la enfermedad, debido a su porte, ya que la cantidad de follaje que producen es reducida permitiendo una circulación mayor del aire y una iluminación mejor, condiciones no favorables para el desarrollo del hongo. Por otro lado, se ha observado que las variedades de semiguía y guía son susceptibles al patógeno, ya que producen mucho follaje que crea un microclima favorable para el desarrollo de la enfermedad (Schwartz, 1980).

Se recomienda el uso de variedades de porte erguido, para propiciar la ventilación y evitar el exceso de humedad, condiciones que favorecen la infección y desarrollo del hongo (Romero, 1994).

4.6.1.6.3. Químicas

Sclerotinia sclerotiorum es uno de los hongos más difíciles de manejar por la resistencia de los esclerocios y la facilidad con que son diseminados en el campo durante las labores de cosecha y de cultivos. Sin embargo, se puede reducir la cantidad de inóculo con tratamientos del suelo con Vapam o Mylone,

por otra parte, se pueden proteger los cultivos con fungicidas, como Ziram[®], Benlate[®] y Tecto 60[®] (Romero, 1994).

Aplicaciones de Benlate[®] 50% en dosis de 1 kg ha⁻¹ durante la floración y formación de las primeras vainas, disminuyen la infección en forma notable. Semilla tratada con PCNB, Botran[®] inhiben eficientemente el crecimiento del hongo (Campos, 2001).

4.6.2. *Phytophthora phaseoli* Thaxter

4.6.2.1. Importancia y rango de hospedantes

En México se ha observado que ataca principalmente al frijol común, *Phaseolus vulgaris*, y en forma incipiente al frijol ayocote, *Phaseolus coccineus* (Campos 1976). De acuerdo con la bibliografía, la mayoría de investigaciones acerca de este patógeno se han realizado con frijol lima, *Phaseolus lunatus*, considerado el hospedante principal (Goth y Wester, 1963; Hyre, 1957; Hyre, 1978). Se afirma que en otros países el tizón de la vaina únicamente ataca al frijol lima, *Phaseolus lunatus*, (Goth y Wester, 1963; Hyre, 1957; Hyre, 1978; Wester *et.al*, 1966; Thomas y Blount 1976); ya que *Phytophthora phaseoli* es un parásito cuyos requerimientos nutricionales son complejos y pertenecen a los parásitos que tienen una habilidad competitiva baja para crecer fuera del hospedante, pasando la mayoría de su vida como patógeno (Buenrostro y Soriano, 1987; Lewis, 1973; Parlevliet, 2002); sin embargo, en México desde que se identificó, se ha observado en frijol común, *Phaseolus vulgaris*. La distribución de esta enfermedad se reporta en el Estado de México, Jalisco y Michoacán (Campos,

2001). Hasta el momento no existe ningún reporte de que *Phytophthora phaseoli* se le asocie con frijol ejotero.

4.6.2.2. Síntomas

En la parte media de los pecíolos tiernos es donde inicialmente se nota la presencia de la enfermedad; aparece en forma de manchas blanquecinas causadas por el crecimiento y esporulación de este pseudohongo. Cuando la infección circunda el pecíolo, ocasiona un decaimiento de las yemas florales y vegetativas. Posteriormente, se dobla en el punto de infección, además las inflorescencias se secan por completo y finalmente se desprenden. Si el ataque es severo, muchos pecíolos se doblan y por consiguiente, mueren los racimos de flores y hojas, así como las yemas y estipulas (Campos, 2001).

En las vainas, por ser muy susceptibles, es más notoria la enfermedad. La infección aparece en forma de parches blancos rodeados por un borde de color café a rojizo. El pseudohongo *Phytophthora phaseoli* produce esporangios de color blanco que al invadir toda la vaina le da un aspecto vistoso. Debido a la infección, la vaina se arruga y se seca; esto reduce significativamente la producción. En Estados Unidos se han identificado diferentes razas de este patógeno en el frijol lima, mismas que se han denominado razas A, B, C, D, E y F (Campos, 2001).

4.6.2.3. Clasificación taxonómica (Kirk *et al.*, 2001)

Dominio: Eucariota

Reino: Chromista

Phylum: Oomycota

Clase: Oomycetes

Orden: Pythiales

Familia: Pythiaceae

Género: *Phytophthora*

Especie: *P. phaseoli*

4.6.2.4. Características morfológicas

P. phaseoli pertenece a la clase Oomycete, y se caracteriza por que su micelio es cenocítico; presenta micelio bien desarrollado, esta clasificada dentro del grupo IV (Stamps *et al.*, 1990), los esporangios son semipapilados o con papila inconspicua ($<4\ \mu$), alimonados, ovales a elípticos con la base truncada y el tamaño varía dependiendo del medio en el cual son producidos (Hyre y Cox, 1953). Thaxter (1889; citado por Erwin y Ribeiro, 1996) reportaron dimensiones de 35 a 50 x 20 a 24 μ (promedio 28 x 19), una longitud en su anchura de radio en promedio 1.4:1. Esporangios no proliferados, caducos y el pedicelo corto de 5 a 20 μ . Esporangioforos simples o en racimos que emergen de los estomas, simples o ramificados en la base; y la presencia de hinchamientos típicos en el esporangioforo.

P. phaseoli es homotática y produce oosporas abundantes sobre frijol lima o en el tejido del hospedante. El anteridio es anfigino. Oogonios de pared delgada subesférica; con dimensiones de 16.2 a 35.6 μ de diámetro en promedio de 23 a 28 μ . Oosporas esféricas o subesféricas con paredes gruesas lisas hialinas o ligeramente amarillas; miden de 14.4 a 26.6 μ de diámetro y 18 a 26 μ en promedio (Hyre y Cox, 1953).

4.6.2.5. Ciclo de la enfermedad y epidemiología

Se han definido condiciones precisas para el desarrollo de la enfermedad y se han llevado a cabo programas que prevén al tizón de la vaina en muchas áreas de los Estados Unidos. La infección óptima ocurre después de cinco días en que la temperatura media ha variado por debajo de los 26°C, y con una mínima de 7.2°C. Así como, después de diez días de lluvia acumulada de 3.05 cm o más. La presencia inicial de síntomas se puede esperar en ocho días aproximadamente después de dichos eventos (Hyre, 1957). El tizón de la vaina también se puede predecir para aparecer cuando hay intensidad de rocío por las mañanas y temperaturas de 20.5 °C durante el día; además de que el pronóstico meteorológico indica que este clima durará por lo menos otras 48 h. En regiones áridas que se pensaban libres de la enfermedad la humedad relativa alta es suficiente para que ocurra la infección (Scarpa y Raniere, 1964). Los esporangios son transportados por el viento y también se pueden diseminar por los insectos. Sturgis (1889) citado por Erwin y Ribeiro (1996) ilustraron en detalle los mecanismos involucrados en la diseminación de los esporangios de *P. phaseoli* por abejas que visitan las flores. Los patógenos también se pueden

transferir por animales que se alimentan de cotiledones y hojas jóvenes de frijol lima (Wester *et al.*, 1964). El patógeno sobrevive en el suelo como oosporas o como micelio en las vainas de frijol de lima infectadas. Las oosporas que se forman en las vainas y semillas en las que sobrevive es el inoculo primario, capaz de causar la enfermedad. Sin embargo, los esporangios y micelio no sobreviven en tejido infectado (Wester *et al.*, 1966).

La germinación de los esporangios ocurre cuando estos se mantienen durante 48 horas a 12 °C (Hyre y Ettinger, 1969). La temperatura óptima para el crecimiento y esporulación es a 20 °C, y la liberación de zoosporas fue alta a *P. phaseoli* 10 °C. La esporulación máxima se obtuvo a 20° C (Hyre y Cox, 1953). Cox (1954), reportó que el rango de temperatura para el desarrollo de una epidemia es de 15 a 25 °C.

En las regiones de México en donde se reportó la enfermedad se ha observado una esporulación abundante, cuando las condiciones ambientales son de humedad alta y la temperatura fluctúa de 13 a 22 °C. Los esporangios se desprenden fácilmente con la acción del viento, pueden ser transportados por insectos, la lluvia e incluso el mismo hombre y a través de cualquiera de estas vías de dispersión este patógeno puede llegar a las plantas sanas (Campos, 2001).

El tizón de la vaina aparece durante el mes de julio, afecta plántulas y permanece durante la época de lluvias, de agosto a septiembre. La enfermedad desaparece por completo cuando las lluvias se terminan (Campos, 2001).

4.6.2.6. Estrategias de manejo

4.6.2.6.1. Culturales

Se sugiere la rotación de cultivos, por lo menos durante tres años, de especies no hospedantes. Así mismo, se recomienda quemar los residuos de la cosecha anterior, utilizar surcos más amplios (90 a 100 cm) y altos para evitar la formación de microclimas favorables para el establecimiento y desarrollo de la enfermedad, otra medida posible podría ser; disminuir la densidad de siembra, la nutrición debe ser balanceada; evitando exceso de nitrógeno con aplicaciones de magnesio, calcio y sílice ya que estos elementos menores han mostrado incrementar los mecanismos de defensa de las plantas, es recomendable el uso de semilla certificada o libre del patógeno, para evitar la presencia de la enfermedad. Probablemente estas medidas sean suficientes para disminuir el impacto de la enfermedad en el cultivo y en la región, para así evitar el uso de productos químicos, los cuales incrementan los costos de producción (Campos, 2001; Schwartz, 1978).

Otra estrategia es el movimiento de las fechas de siembra, a temporadas secas en donde las condiciones climáticas no permiten el fácil desarrollo del fitopatógeno.

4.6.2.6.2. Genéticas

El uso de variedades resistentes es el método más económico para reducir las enfermedades. En México se han evaluando materiales genéticos contra las

enfermedades del frijol y se han descubierto variedades que toleran al tizon de la vaina, entre ellas se reportan: Perry Marrow, Negro Mecentral, Bayo 400, Negro 150, B 524, Bayo 107. También presentan cierta resistencia las colectas Chiapas 34B, Chiapas13, Michoacán 5, Morelos 3-A, Guerrero 6, 5B-20, LEF-20RB. Aunque estas tienen características agronómicas no deseables, pueden servir como fuentes de resistencia en los programas de mejoramiento (Campos, 2003).

En Estados Unidos la evaluación de cultivares comerciales a las seis razas presentes de *P. phaseoli* A, B, C, D, E y F ha tenido éxito, debido a que han incorporado resistencia a las razas A, B y C en cultivares comerciales. En 1958 liberaron la variedad Thaxter con resistencia a la raza A; por su parte Wester (1968) reportó resistencia a la raza B y Wester *et al.* (1972), reportaron resistencia múltiple a las razas de *Phytophthora phaseoli*. Davidson *et al.*, (2001), reportaron resistencia a la raza E en cinco variedades de frijol de lima.

4.6.2.6.3. Químicas

Se ha observado que las aplicaciones de Daconil[®], Manzate[®] y Zineb[®] ayudan a tener un cierto control de *P. phaseoli*. No obstante, es necesario seguir investigando sobre este aspecto, ya que se carece de información para un mejor manejo de dicha enfermedad (Campos, 2001). En otros países se han obtenido resultados favorables de forma preventiva con los fungicidas siguientes: Maneb[®], Nabam[®], sulfato de cobre y Captan[®] (Crossan y Lloyd, 1957). También se ha encontrado que la estreptomycin controló dicha enfermedad en pruebas de invernadero (Zaumeyer y Wester, 1956). Los fungicidas Metalaxil y fosetil-al deben de ser eficaces ya que están registrados para su uso en tizón de la vaina (Erwin y Ribeiro, 1996).

Dominiak *et al.* (2001) reportaron que aplicaciones preventivas y semanales de los fungicidas Quadris 2.08 SC[®], Kocide 2000 DF[®], Bravo Ultrex 82.5 DG[®], Phostrol[®] y Ridomil Gold/Copper WP[®] tienen un excelente control sobre la raza “E” de *Phytophthora phaseoli*. Davey *et al.* (2003 y 2004) encontraron que aplicaciones de los fungicidas Ridomil Gold/Copper WP[®] y Champ DP[®] realizadas posteriormente a la presencia de los primeros síntomas no son recomendables ya que la incidencia y severidad de la enfermedad fue alta y no mostró diferencias significativas con el testigo.

4.6.3. *Phytophthora capsici* Leo. (pseudohongo)

4.6.3.1. Importancia y rango de hospedantes

Esta especie de *Phytophthora* fue encontrada por primera vez en Nuevo México, USA., por Leonian (1922), atacando el cultivo de pimienta. Seguramente, por esta razón se le denominó *P. capsici*. Después de 1922, Romero (1994) señaló que, este pseudohongo fue descubierto en otros hospedantes, tales como *Capsicum annuum* L. (1942), *Cucúrbita* spp. (1945), *Cucumis sativus* (1947), *Lycopersicon esculentum* L. (1948) y *Solanum melongena* (1948). En México fue descubierta por Galindo en 1956, atacando plantaciones de chile en los campos de la Escuela Nacional de Agricultura en Chapingo, México y pueblos aledaños.

Recientemente Davidson, *et al.* (2002), realizaron el primer reporte de *Phytophthora capsici* sobre frijol lima (*Phaseolus lunatus*) en Delaware, Maryland y New Jersey USA., atacando cinco cultivares comerciales y que a

diferencia de los otros hospedantes este cultivo pertenece a la familia de las Fabaceas y no a Solanaceas o Cucurbitaceas que ambas son hospedantes de *P. capsici*. Así mismo, Gevens y Hausbeck, (2003), señalaron a frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris*) como un hospedante nuevo en campos de Michigan USA., mostrando síntomas típicos de la enfermedad en otros cultivos.

4.6.3.2. Síntomas

Los síntomas más sobresalientes que ocasiona *Phytophthora capsici* sobre frijol ejotero y frijol lima, son parecidos; en la vaina se observa generalmente la presencia de micelio blanco, en tallo y hojas las lesiones pueden ser desde una color café grisáceo a café rojizo, de consistencia acuosa, si la enfermedad es severa hay un necrosamiento total de la planta. Los síntomas de la enfermedad son severos en plantas del frijol localizadas a lo largo de la superficie de agua encharcada (Davidson *et al.*, 2002., Gevens y Hausbeck, 2003a y 2003b).

En otros hospedantes, los síntomas varían; en chile el síntoma más sobresaliente de *P. capsici* es la marchitez general o parcial de la planta debido a su característica principal que es la pudrición del cuello de la raíz o base del tallo, la cual induce taponamiento en los conductos vasculares que evitan el paso de nutrientes y agua, lo que provoca una marchitez súbita de la planta entera sin que el follaje se vuelva amarillo además de que estos síntomas generalmente se asocian en la etapa de floración (Galindo, 1962; Mendoza, 1999; Tlapal, 2000). En cucurbitáceas se observa una pudrición suave en los frutos y guías distinguiendo en ellas manchas pardas en las cuales se observa un moho blanco correspondiendo a la esporulación de este patógeno

(Mendoza, 1999). Romero (1994), reportó que es frecuente observar primero pudrición de los frutos y posteriormente, muerte de las plantas por avances del hongo a través de pedúnculos del fruto, ramas y tallos. En tomate, los daños aéreos más frecuentes en tallos y ramas son lesiones alargadas a manera de tizón, de color café oscuro a negro, que en mucho de los casos inicia en el cuello de la planta o en las ramas que están en contacto con el suelo; la lesión se desarrolla rápidamente en condiciones de humedad alta y logra matar a la planta al afectar el tallo principal. También ataca la raíz manifestando una coloración café (Mendoza, 1996).

4.6.3.3. Clasificación taxonómica (Kirk *et al.*, 2001)

Dominio: Eucariota

Reino: Chromista

Phylum: Oomycota

Clase: Oomicetes

Orden: Pythiales

Familia: Pythiaceae

Género: *Phytophthora*

Especie: *P. capsici*

4.6.3.4. Características morfológicas

El micelio de *Phytophthora capsici* es cenocítico, hialino, liso o con hinchamientos, ramificado y con un diámetro que varía entre 6 y 14 μ (Romero,

1994; Erwin y Ribeiro, 1996). Los esporangios (estructuras asexuales) pueden ser ovoides, elípticos, subesféricos, fusiformes, piriformes o de formas irregulares. La mayoría de los esporangios son papilados, pero en algunos casos son semipapilados (grosor apical de 1.4 a 9.2 μ) y en ocasiones puede presentar de dos a tres papilas (Erwin y Ribeiro, 1996). Las dimensiones de los esporangios que reportan diversos autores son: 53 x 30.5 μ (Ramírez del Ángel, 1994), 55.6 a 62.8 x 34.1 a 38.8 μ (Satour and Bluter, 1968, citados por Tlapal, 2000), 28 a 123 x 21 a 50 μ (Romero, 1994) y de 32.8 a 65.8 x 17.4 a 38.7 μ (Erwin y Ribeiro, 1996).

Los esporangióforos son largos, simples o ramificados, gruesos, robustos, con un hinchamiento cercano a la base del esporangio y largos (35 a 138 μ de longitud) (Erwin y Ribeiro, 1996; Romero, 1994). Ristaino y Johnston (1999) indicaron que en aislamientos de chile y cucurbitáceas no se forman clamidosporas. *P. capsici* es heterotálico, produce dos tipos de micelio conocidos como A1 y A2, estos son compatibles y no corresponden a formas dimórficas. Cuando en un suelo o en una planta se encuentran los dos tipos existe una formación abundante de oosporas (estructuras sexuales), las cuales se forman a partir de la combinación del material genético del anteridio y el oogonio (Ristaino y Johnston, 1999). En México se presentan los dos grupos de compatibilidad (A1 y A2), pero es más frecuente el A2 (Tlapal, *et al.*, 1995). La posición del anteridio en el oogonio es anfigino. El diámetro medio de las oosporas de los aislamientos de chile va de 23.7 a 34.9 μ , en promedio miden 31.5 μ (Ristaino y Johnston, 1999; Romero, 1994).

4.6.3.5. Ciclo de la enfermedad y epidemiología

El inóculo primario de *P. capsici* lo constituyen las oosporas conocidas como “esporas de invierno” porque pueden sobrevivir hasta dos años en ausencia del hospedante. Estas pueden germinar de manera directa formando un tubo germinativo o de manera indirecta formando un esporangio (Ristaino y Johnston, 1999). Los esporangios son transportados por viento, lluvia o agua de riego. Los esporangios liberan zoosporas biflageladas que son móviles en suelos saturados de humedad o bajo condiciones de agua libre sobre las plantas, y detienen su movimiento cuando se adhieren a la epidermis de las plantas, germinan e infectan, al penetrar por heridas, lentécelas o estomas. Una vez liberadas las zoosporas, si las condiciones no son adecuadas para su supervivencia, éstas tienen la capacidad de enquistarse; el proceso de enquistamiento ocurre cuando la humedad o el agua libre no es favorable para su dispersión (suelos secos), no encuentren una raíz hospedante donde se establezcan, ausencia de nutrientes, la composición química del suelo no es la adecuada (por ejemplo condiciones de salinidad); si se someten a temperaturas mayores de 30°C o menores de 10°C, se enfrentan a una superficie sólida o se someten a agitación también son causa de enquistamiento (Tsao, 1969; Erwin y Ribeiro, 1996). Los quistes pueden germinar y dar origen a hifas o formar un microesporangio (conteniendo una sola zoospora) en la punta del tubo germinativo, este proceso se puede repetir varias veces (Tsao, 1969). Las zoosporas presentan una quimiotaxia positiva hacia las heridas, probablemente como una respuesta a sustancias químicas exudadas (Rodríguez, 1969; Nuez

et al., 1996; Ramírez, 1998; Ristaino y Johnston 1999). Cuando en un suelo o en una planta se encuentran los dos tipos de compatibilidad de *P. capsici* (A1 y A2) existe una abundante formación de oosporas como resultado de la fertilización por la combinación del material genético del anteridio y oogonio producidas por *P. capsici* (Ristaino y Johnston, 1999). El micelio es una fuente importante de inóculo secundario durante el ciclo del cultivo, permanece en frutos infectados o en suelo húmedo durante nueve semanas y en la semilla no sobrevive más de un mes (Ramírez, 1998).

P. capsici se puede diseminar por medio de varios mecanismos, el crecimiento de las raíces hace que éstas se pongan en contacto con el inóculo o que el inóculo se mueva hacia las raíces, por el contacto de una raíz enferma con una sana, por medio del agua de riego o por medio de salpicaduras desde el suelo hasta las partes aéreas (Ristaino y Johnston, 1999; Erwin y Ribeiro, 1996; Pernezny *et al.*, 2003). Las infecciones de *P. capsici* en campo se presentan con frecuencia en estado de floración y/o fructificación, esto probablemente a que las oosporas han terminado su periodo de reposo, que coinciden con los riegos o las lluvias más frecuentes, humedad relativa alta y temperatura favorable para su germinación (Ramírez, 1998). Las condiciones principales que le favorecen a *P. capsici* son la temperatura (25-28°C) y humedad alta, bajo estas condiciones este patógeno puede destruir campos enteros de berenjena, calabaza, chile, pepino, tomate, etc., en un tiempo muy corto debido a la gran velocidad de crecimiento y abundante esporulación (Romero, 1994). La

distribución de la enfermedad en campo generalmente sigue la dirección del riego aplicado al cultivo (Ristaino y Johnston, 1999).

4.6.3.6. Estrategias de manejo

4.6.3.6.1. Culturales

Se debe realizar un manejo integrado del cultivo en el cual se debe involucrar las estrategias siguientes: obtención de planta sana, terrenos bien nivelados y con buen drenaje, para evitar encharcamientos, así como formar surcos profundos y sembrar en la parte alta del lomo. La práctica de solarización es usada un mes previo al transplante con plástico transparente. Se sabe que la aplicación de gallinaza reduce la enfermedad (Tlapal, 2000), sin embargo la combinación de solarización y aplicación de gallinaza tiene mejores resultados (Chávez, 1994) La rotación de cultivos es una práctica que presenta resultados excelentes, en este caso se sugiere rotar con gramíneas, especialmente cereales, cuyo rastrojo se debe incorporar al suelo (Ristaino y Johnston, 1999). Eliminación de residuos de la cosecha, de preferencia quemarlos fuera del campo (Tlapal, 2000).

Evitar las rotaciones con cucurbitáceas (pepino, calabacita, melón) y solanáceas (tomate, chile y berenjena), En presiembra usar un tratamiento a la semilla que sea eficaz contra *Phytophthora* y utilizar semilla certificada. Durante la producción no irrigar un campo con agua que contenga el escurrimiento de campos donde se ha presentado la enfermedad, los riegos deben de ser ligeros y, si es posible, no irrigar antes de la cosecha, ya que traería problemas a la producción, por último barbechar profundamente al termino de la cosecha para

evitar posibles diseminaciones del patógeno de áreas aledañas, debido a que *Phytophthora capsici* una vez que se introduce, puede permanecer indefinidamente (Gevens y Hausbeck, 2003).

4.6.3.6.2. Genéticas

La resistencia genética o tolerancia es a menudo el centro de atención y sería especialmente útil en un programa de manejo integrado. En algunos otros países tales como Estados Unidos para cucurbitáceas ha liberado hasta 300 variedades comerciales de pepino tanto para encurtidos y consumo en fresco con resistencia genética a este patógeno, esta resistencia no es una resistencia completa al no presentar síntomas severos, puesto que solo limita el desarrollo de la lesión por lo que sólo hablaríamos de hipersensibilidad (Gevens y Hausbeck, 2003). Babadoost and Islam (2002), Driver and Louws (2003), y Johnston *et al.* (2002), evaluaron variedades comerciales y líneas experimentales de mejoramiento de chile (*Capsicum annum*), y coinciden que la variedad comercial 'Paladin' es una de mejores resultados. En México se reportó la variedad de chile "Criollo de Morelos" con resistencia alta y compatibilidad buena con las variedades comerciales (poblano, mulato ancho, etc.), a diferencia del chile pasilla, aunque es resistente, no es compatible con las variedades comerciales (Romero, 1994; Mendoza, 1996).

Para frijol ejotero hasta el momento no se ha liberado ninguna variedad comercial con resistencia a *P. capsici*.

4.6.3.6.3. Químicas

Mendoza (1996)., en marchitez del chile sugirió, el tratamiento de la semilla con metalaxil (Apron®), aplicaciones al suelo con Ridomil® 5% granulado o con Ridomil 4E® y las aspersiones dirigidas al cuello de la planta con Ridomil®, Aliette®, Ricoil® o Curzate®, pueden ayudar a reducir la enfermedad siempre y cuando se sigan las primeras recomendaciones; incluso antes del trasplante, donde se puede sumergir la raíz de la plántula en solución fungicida (Ridomil®, 1000 ppm) antes de llevarlo al campo definitivo, después de esto aplicar fungicidas cúpricos o Daconil® cada semana, principalmente antes de la floración esto para evitar daños aéreos.

Durante el 2003 de cada aislamiento de *P. capsici* aislado de frijol ejotero se probó su sensibilidad al fungicida mfenoxam disponible en Ridomil Gold®, Apron® y Ultra Fluorish®; la mayoría de cepas (74%) respondió a estos fungicidas. Sin embargo para el 2004 de los aislamientos de campo, sólo un 40% fue sensible al mfenoxam. En esta situación, los fungicidas Ridomil Gold®, Apron® y Ultra Fluorish®; no fueron muy útiles para el control de esta enfermedad (Geuens and Hausbeck, 2004).

5. LITERATURA CITADA

- Abawi, G. S., Polach, F. J. y Molin, W. T., 1975. Infection of bean by ascospores of *Whetzelinia sclerotiorum*. *Phytopathology* 65: 673-678.
- Abawi, G. S., and Grogan, R. G. 1979 Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology* 69(8) 899-904.
- Ali, R., Staub, H., Coccodrilli, G., y Scchanbarchet, L. 1981. Nutritional significance of dietary fiber: Effect of nutrient bioavailability and select gastrointestinal functions, *Journal agricultural food chemical*. 29: 465-467.
- Babadoost, M., and Islam, S. Z. 2002. Bell peppers resistant to *Phytophthora* blight. (Abstr.) *Phytopathology* 92:S5.
- Buenrostro, O. y Soriano, E. 1987. Identificación de *Phytophthora phaseoli* a partir de lesiones en *Phaseolus vulgaris*. *Revista mexicana de fitopatología* 5:98-100.
- Campos, A. J. 1976. Informe Anual 1976 del Programa de Fitopatología SARH, INIA. Campo Agrícola Experimental "El Horno" Chapingo, México.

Campos, A. J.-1980 Informe Anual 1980 del Programa de Fitopatología SARH, INIA. Campo Agrícola Experimental "Los Altos de Jalisco" Jalisco, México

Campos, A. J.-2001 Enfermedades del frijol. México. Trillas. pp. 42-47.

Campos, E. A. 2003 Variedades de frijol: Características y prácticas agronómicas *In*: Memoria técnica del primer curso sobre: Aspectos básicos y prácticos para el mejoramiento y producción de frijol. CEVAMEX-CIRCE-SAGARPA-INIFAP. Alianza para el Campo. Chapingo, México. pp. 1-8.

Centro Internacional de Agricultura (CIAT) 1982. Etapas de desarrollo de la planta de frijol común *In*: Guía de estudio. Calí, Colombia, CIAT. 26 p.

Centro Internacional de Agricultura (CIAT)1984. Morfología de planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) *In*: guía de estudio. Calí, Colombia, CIAT. pp 42-49.

Cox, R. S. 1954. Effect of temperature on the development of downy mildew of lima bean. *Phytopathology* 41: 325-327.

Crop Protection Compendium. 2001. Global Module. Software. Center for Agriculture and Biosciences International. United King.

Crossan, D. F. Lloyd, P. J. 1957. Control de *Phytophthora phaseoli* causal agent of lima bean downy mildew. *Phytopathology* 47; 451-452.

Davey, J. F. Carroll R. B., Evans T. A., Mulrooney R. P. 2003. Timing of post-infection fungicide applications for the control of downy mildew of baby lima bean. Plant and Soil Sciences Department University of Delaware Newark, Delaware, USA pp. 19716-2170

Davey, J. F. Carroll R. B., Evans T. A., Mulrooney R. P. 2003. -2004. Fungicide efficacy and timing trials for the control of downy mildew of baby lima bean University of Delaware, Newark, Delaware. USA. *Phytopathology* 94:S24. Publication no. P-2004-0157-AMA.

Davidson C. R., Carroll R. B., Evans T. A., Mulrooney R. P. 2001 Evaluation of lima bean cultivars for resistance to downy mildew race "E". Plant and Soil Sciences Department University of Delaware Newark, Delaware, USA. pp. 19717-1303

Davidson C. R., Carroll R. B., Evans T. A., Mulrooney R. P. 2002. First report of *Phytophthora capsici* infecting lima bean (*Phaseolus lunatus*) in the Mid-Atlantic Region USA. *Plant Disease* 86: p.1049.

Dominiak, J. D., Evans T. A., Mulrooney R. P. 2001. Fungicide evaluation for the control of downy mildew of baby lima beans. Plant and Soil Sciences

Department University of Delaware Newark, Delaware, USA. pp 19717-1303

Driver, J. G., and Louws, R J. 2003. Management of *Phytophthora* crown and root rot in peppers. (Abstr.) *Phytopathology* 93:S22.

Erwin D. C. y Ribeiro O. K. 1996 *Phytophthora* Diseases Worldwide. The American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota, USA. pp.562.

Galindo, A. J. 1962 Marchitez de las plantas de chile causada por *Phytophthora capsici* Leonian. *Revista Mexicana de Fitopatología* 1:15-17.

Gaxiola L.S. 1976. Efecto de diferentes distancias entre surcos sobre la incidencia del hongo *Whetzelinia sclerotiorum* causante del moho blanco del frijol. *Agricultura Técnica de México*. 4 (1) 73-76.

Gevens, A., and Hausbeck, M. K. 2003a. *Phytophthora capsici* in irrigation water and isolation of *P. capsici* from snap beans in Michigan. Mich. State University Ext. Veg. Crop Advisory Team Alert 18:3.

Gevens, A., and Hausbeck, M. K. 2003b. *Phytophthora capsici* isolated from snap bean is pathogenic to cucumber fruit and soybean. American Phytopathological Society North Central Division Meeting. St. Haul. MN. In press.

- Gevens, A., and Hausbeck, M. K. 2004. A New *Phytophthora* for Snap Beans. Proceeding. Great Lakes Fruit. Vegetables., Farm Market Expo. Grand Rapids. Dec. 7-9. Michigan State University MI. p. 2-4
- Goth, R. W. y Wester, R. E., 1963. Culture of *Phytophthora phaseoli* on living and sterilized media. *Phytopathology* 53: 233-234
- Hynes, R. K., Bremer E., and Staples T. 1998. Liquid inoculant for dry beans. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.* 41: 13-14
- Hyre, R. A. y Cox, R. S. 1953. Factors affecting viability and growth of *Phytophthora phaseoli*. *Phytopathology* 43:8 pp 419-425.
- Hyre, R. A. 1957. Forecasting downy mildew of lima bean. *Plant disease report*, 41:(1) 7-9.
- Hyre, R. A. 1966. Effect high postinoculation temperature on colonization of lima bean stems by *Phytophthora phaseoli*. *Phytopathology*, 63:749-751.
- Jacinto, H. C. 2003 Calidad del grano de frijol *In*: Memoria técnica del primer curso sobre: Aspectos básicos y prácticos para el mejoramiento y producción de frijol. CEVAMEX-CIRCE-SAGARPA-INIFAP. Alianza para el Campo. Chapingo, México. pp. 15-22.

- Johnston, S. A., Kline, W. L., Fogg, M. L., and Zimmerman, M. D. 2002. Varietal resistance evaluation for control of *Phytophthora* blight of pepper. (Abstr.) *Phytopathology* 92:840.
- Kirk, P. P., Cannon, P. F., David, J. C., y Stalper, J. A. 2001 Dictionary of the fungi. Center for Agriculture and Biosciences International. United King. 655 p.
- Le Torneau, D. 1979. Morphology, cytology, and physiology of *Sclerotinia* species in Culture. *Phytopathology* 69 (8) 887-890.
- Lewis, D. H. 1973. Concepts in fungal nutrition and the origin of biotrophy. *Biological Review* 48: 261-278.
- Mendoza, Z. C. 1996. Enfermedades fungosas de las hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. México. 87 p.
- Mendoza, Z. C. 1999. Diagnostico de enfermedades fungosas. Universidad Autónoma Chapingo. México. 168 p.
- Nuez, V. F., Gil, R. O., y Costa, J. G. 1996 El cultivo del pimiento, chiles y ajies. Ed. Mundi Prensa, España. 607p.

- Parlevliet, J. E. 2002 Durability of resistance against fungal bacterial and viral pathogens; present situation. *Euphytica* 124:147-156.
- Pernezny, K., Roberts, P. D., Murphy, J. F. and Goldberg, N. P. 2003. Compendium of pepper diseases. The American Phytopathological Society. 63 p.
- Purdy, L. H. 1979. *Sclerotinia sclerotiorum*. History diseases and sintomatology, host range geografic distribution and impact. *Phytopathology*, 69(8) 859-861.
- Ramírez del Ángel, M. 1994. Incidencia, daño y control de la marchitez del chile en la variedad jalapeño (*Capsicum annuum*) en elegido 18 de Marzo, Escárcega, Campeche, México. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Ramírez, M. C. 1998. Evaluación de fungicidas en el tratamiento a semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) para el control de *Rhizoctonia solani* en Chapingo, México. Tesis. Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Ristaino, J. B. and Johnston, S. A. 1999. Ecologically based approaches to management of phytophthora blight on bell pepper. *Plant Disease* 83: 1080-1089.

Rodríguez, M. R. 1969. Estudio sobre el mecanismo de infección y la causa de la marchitez del chile (*Phytophthora capsici*). Tesis Profesional. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, México.

Romero, C. S. 1994. Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 347 p.

SAGARPA, 2002. Centro de Estadística Agropecuaria. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. SAGARPA-México. p. 276-319.

SAGARPA-SIAP, 2003. Servicios de información agrícola y pecuaria. México, Distrito Federal.

Sánchez, Kim 1996. Migración de la Montaña de Guerrero: el caso de jornaleros estacionales en Tenextepango, Morelos. Tesis de Maestría en Antropología Social, México, ENAH/DES.

Scarpa, M. J., y Raniere, L. C. 1964. The use of consecutive hourly dewpoints in forecasting downy mildew of lima bean. Plant Disease. Reporter 48:77-81.

Schwartz, F. H., y Gálvez E. G. 1980. Problemas de producción de frijol. Calí, Colombia, CIAT. pp 136-138.

Schwartz, F. H., Gálvez E. G., Schoonhoven, A. V., Howeler, R. H., Graham, P. H., Flor, C., 1978. Problemas de campo en los cultivos de frijol en América Latina. CIAT Calí, Colombia. p 134.

Stamps, D. J., Waterhouse, G. M., Newhook, F. J., and Hall, G. S. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. Micological papers. 162. 28p.

Sturgis, W. C. 1898. On some aspects of vegetable pathology and the conditions which influence the dissemination of plant diseases. Bot. Gaz. 25:187-194 (Citado por Erwin y Ribeiro, 1996).

Thaxter, R. 1889 A new American *Phytophthora*. Bot. Gaz. 14:273-274 (Citado por Erwin y Ribeiro, 1996).

Thomas C. A y Blount V. L. 1976 Race D of *Phytophthora phaseoli* Plant disease reporter 60: 308.

2/ Tlapal, B. B. 2000. Características de las enfermedades fungosas en los cultivos hortícolas. p 106-117. In: Bautista N. M., Suárez V. A. D. y Morales G. O. (eds). Temas selectos en fitosanidad y producción de hortalizas. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México.

- Tlapal B. B., Osada K. S., González C. F., Mendoza Z. C. 1995. Physiological behaviour of 30 isolates of *Phytophthora capsici* Leo. Revista Mexicana de Fitopatología, 13:41-51.
- Tsao, P. H. 1969. Studies on the saprophytic behavior of *Phytophthora parasitica* in soil. In: H. D. Chapman (ed). Proc. First.Internat. Citrus Symp. Vol. 3. University of California, Riverside.
- Valadez, L. A. 2001. Producción de hortalizas. Ed. Limusa México, Distrito Federal. p. 298.
- Wester R. E. 1968. New lima beans resistant to "B" strain of *Phytophthora phaseoli*. Plant Disease Reporter 52:563-564.
- Wester R. E., Goth, R. W. y Webb, R. E. 1964. Transmission of downy mildew of lima beans by slugs (Abstract). Phytopathology 54:749
- Wester R. E., Goth, R. W. y Drechsler C. 1966. Sintering of *Phytophthora phaseoli*. Phytopathology 56: 95-97.
- Wester R. E., Fisher, V. J. y Blount, V. L. 1972. Multiple resistance in lima beans to downy mildew (*Phytophthora phaseoli*) Plant Disease. Reporter 56: 65-66.

Yerkes, W. D., Galindo, A. Jorge. 1959. Some plant diseases observed in México in 1958, Plant Disease Reporter 43 (4): 500-503

Zaumeyer, W. J. y Wester, R. E. 1956. Control de downy mildew of lima beans with streptomycin. Plant Disease. Reporter. 40: 776-780.

PATOGENICIDAD, COMPATIBILIDAD Y PRUEBAS DE EFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE FUNGICIDAS PARA *Phytophthora capsici* EN FRIJOL EJOTERO

JUAN RAMÓN GAYTÁN-MEJÍA¹, MARCELO ACOSTA-RAMOS¹ BERTHA TLAPAL-BOLAÑOS², GERARDO LEYVA-MIR¹

¹PROGRAMA EN PROTECCIÓN VEGETAL. DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO. 56230. CHAPINGO, EDO. DE MÉXICO. MÉXICO. gaytanjr76@yahoo.com.mx

²DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO. 56230. CHAPINGO, EDO. DE MÉXICO. MÉXICO.

RESUMEN

Se determinó el agente causal del tizón del frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris*) obteniéndose seis aislamientos de plantas colectadas en la región del Valle del Mezquital en Hidalgo, México durante 2003 y 2004. Al efectuarse los Postulados de Koch se determinó que el agente causal de dicha enfermedad fue *Phytophthora capsici*. Se realizaron pruebas "In Vitro" de efectividad biológica de los fungicidas: dimetomorf+clorotalonil, iprovalicarb+mancozeb, propamocarb clorhidrato, propamocarb clorhidrato+clorotalonil, fosetil-al, cymoxonil+clorotalonil, mancozeb, clorotalonil, metalaxil-m+clorotalonil para el manejo de *Phytophthora capsici* en donde todos tuvieron un control bueno sobre el patógeno.

1. INTRODUCCIÓN

Desde los años noventas, el frijol ejotero *Phaseolus vulgaris* L., ha cobrado un auge importante en la producción comercial de hortalizas en el estado de Hidalgo y los Valles Altos de la Mesa Central de México. En Hidalgo; el Valle del Mezquital y la Vega de Mezquitlan, utilizan 2000 ha de superficie a la producción de frijol ejotero, lo cual representa el 20% de la superficie total y por tanto, lo ubica en tercer lugar nacional (SIAP-SAGARPA, 2003). La capacidad de rendimiento de este cultivo no se ha alcanzado debido principalmente a problemas fitosanitarios que merman la cosecha y aumentan el costo de producción, dentro de este complejo se encuentra la enfermedad conocida como el tizón de la vaina; esta enfermedad ocasiona daños en la parte media de los pecíolos y vainas (Campos, 2001). En el Valle del Mezquital, Hidalgo provoca pérdidas considerables en las zonas productoras de la región y hasta el momento no existe ningún diagnóstico fitosanitario o estudio fitopatológico que indiquen el agente causal de dicha enfermedad. Debido a la incidencia alta de la enfermedad, las pérdidas económicas que sufren los productores y la escasez de estudios en este cultivo, es de gran interés realizar estudios que permitan determinar el agente causal del tizón de la vaina en frijol ejotero; así como establecer estrategias de manejo que permitan reducir el problema. Por lo anterior se planteo la presente investigación con los objetivos siguientes 1) determinar el agente causal del tizón de la vaina en frijol ejotero en regiones productoras de Hidalgo, Méx., 2) evaluar la efectividad biológica de nueve fungicidas "*In Vitro*".

2. MATERIALES Y METODOS

FASE 1 MUESTREO, SINTOMAS, INCIDENCIA EN CAMPO, COLECTA, AISLAMIENTO Y PURIFICACION DEL FITOPATOGENO

2.1. Localización de las áreas de estudio

Durante el verano-otoño de los ciclos agrícolas 2003-2004, se realizaron recorridos de campo en las regiones productoras de frijol ejotero en el Valle del Mezquital; en las localidades con antecedentes de síntomas de tizón de la vaina. Estas fueron: Doxey, Tlaxcoapan y Teocalco, Estado de Hidalgo, México.

2.2. Muestreos

En cada localidad se realizaron dos colectas de material vegetal en agosto 2003 y septiembre 2004, se tomaron diferentes partes vegetativas como son inflorescencias, tallos, pedicelos y frutos con síntomas de crecimiento micelial blanquecino sobre vainas, tallos y hojas con lesiones de color café grisáceo a café rojizo, de consistencia acuosa así como necrosamiento en el resto de la planta. Se tomaron datos de la incidencia de la enfermedad en campo para lo cual, de un surco central de cada parcela se observaron 100 plantas y se contó el porcentaje de plantas enfermas. En cada muestreo se colectaron 10 plantas por localidad. La colecta se realizó en "W" sobre un terreno de 500 m² por localidad. El material fue depositado en bolsas de polietileno y etiquetado. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Hongos Fitopatogenos del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, en donde se colocaron a 4° C, para ser analizadas posteriormente.

2.3. Aislamiento y purificación

Directo. Una parte del material colectado se colocó en cámara humedad para estimular la esporulación, posteriormente se observó al microscopio para buscar estructuras reproductivas y vegetativas.

Indirecto. Las muestras colectadas con síntomas de necrosis, presencia de micelio blanquecino, flacidez en yemas florales y vainas, lesiones en tallo y vaina de coloración café a café rojizo fueron seleccionadas y lavadas a chorro de agua durante 5 minutos, para retirar residuos de tierra, después se cortaron trozos de 5 mm, este material se desinfectó con hipoclorito de sodio al 1% (Apéndice 1) durante tres minutos y se lavó tres veces consecutivas con agua destilada esterilizada durante 2 minutos en cada lavado, el material se retiró del agua y se secó sobre sanitas esterilizadas.

Siembra. Los medios de cultivo utilizados para la siembra del material vegetal fueron PDA (papa-agar-dextrosa) (Apéndice 2) y 3P (harina-maíz-benomyl-antibióticos-agar) (Apéndice 3). De cada planta colectada se sembraron en PDA cinco trozos de tallo, hojas y vainas por caja, este material se incubó a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm$) con 12 horas luz / 12 horas oscuridad. En 3P se sembró la misma cantidad de material y se incubó a 25°C en oscuridad constante. En total por localidad y por fecha de muestreo se sembraron 250 trozos de tallos, hojas y vainas respectivamente.

Purificación. Los seis aislamientos al no producir conidios se transfirieron a agua-agar (Apéndice 4) para purificarlos mediante la técnica de punta de hifa. Una vez purificados se identificaron a nivel de género. Finalmente, los aislamientos se preservaron en tubos con PDA.

FASE 2. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD “*In Vivo*” EN VAINAS DE FRIJOL EJOTERO, REAISLAMIENTO, EVALUACION DE LA INCIDENCIA, IDENTIFICACION Y TIPO DE COMPATIBILIDAD DEL PATOGENO.

2.4. Pruebas de patogenicidad

Se realizó “*In Vivo*” al inocular vainas en madurez comercial. Esta prueba se llevo a cabo de Abril a Junio del 2004. En esta fase se evaluaron los seis aislamientos obtenidos a partir de las plantas enfermas de campo; cada aislamiento correspondió a una unidad experimental con diez repeticiones (dos charolas con cinco vainas cada una). La prueba de patogenicidad para cada tratamiento se realizó bajo el procedimiento siguiente.

En charolas de plástico se coloco agua destilada esterilizada, una capa de algodón cubierta con sanitas y malla de polietileno, sobre la superficie se colocaron cinco vainas de frijol ejotero, en cada vaina se hicieron cinco heridas de 1 mm de diámetro, donde se coloco trozos de 3 mm de diámetro de PDA con micelio de ocho días de edad, de los seis aislamientos crecidos en PDA. Las charolas se colocaron a una temperatura de 25 °C± en oscuridad continua. Se inocularon los seis aislamientos por duplicado, y un testigo, en total fueron 14 charolas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Representación grafica de pruebas de patogenicidad “*In Vivo*” en vainas de frijol ejotero variedad “Strike”.

Aislamiento 1 con cinco vainas	Aislamiento 2 con cinco vainas	Aislamiento 3 con cinco vainas	Aislamiento 4 con cinco vainas	Aislamiento 5 con cinco vainas	Aislamiento 6 con cinco vainas	Testigo con 5 vainas
Aislamiento 1 con cinco vainas duplicado	Aislamiento 2 con cinco vainas duplicado	Aislamiento 3 con cinco vainas duplicado	Aislamiento 4 con cinco vainas duplicado	Aislamiento 5 con cinco vainas duplicado	Aislamiento 6 con cinco vainas duplicado	Testigo con 5 vainas duplicado

Reaislamiento del hongo. De cada tratamiento se seleccionaron las vainas con tejido infectado, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% durante cinco minutos, se lavaron tres veces consecutivas con agua destilada esterilizada para finalmente secarlas con sanitas esterilizadas y sembrarlas nuevamente en cajas de petri con PDA e incubarlas a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C}\pm$) en oscuridad constante. Los aislados desarrollados se reaislaron en medio de cultivo PDA y se compararon morfológicamente con los aislamientos inoculados.

Evaluación de la incidencia. Cada tratamiento fue evaluado a través de la incidencia de la enfermedad, la cual se considero como el número de vainas que presentaron daño en relación a la población total de cada tratamiento. Las evaluaciones se realizaron a las 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 h después de la inoculación, es decir, las evaluaciones se hicieron en un intervalo de 4 días con una frecuencia de 12 h.

La incidencia se estimo mediante la siguiente ecuación:

$$I_i = \frac{\sum n_i}{N_i} \dots\dots\dots \text{Ecuación 1}$$

Donde:

I_i = incidencia de la enfermedad en el momento i ;

n_i = numero de vainas enfermas en el momento i ;

N_i = población total de vainas en el momento i .

2.5. Identificación

A género: Por tratarse de un pseudohongo se utilizaron claves taxonómicas, de Ainsworth *et al.* (1973) y Watanabe (2002).

A especie: Se tomaron en cuenta características del micelio; dimensiones y características de 100 esporangios y 100 oosporas, según las claves de Waterhouse (1963), Stamps *et al.*, 1990 y Erwin and Riveiro (1996). Los esporangios se produjeron cultivando este pseudohongo en medio V-8 (jugo de verduras V8 Cambells-CaCO₃-Agar) (Apéndice 5) a 28°C manteniéndolo en oscuridad constante por siete días, después se tomaron 10 discos de 0.5 cm de diámetro de la colonia y se colocaron en una caja de Petri con agua destilada esterilizada más dos hojas de chile previamente hervidas por cinco minutos; se incubó a temperatura ambiente (25°C) con luz blanca constante por 96 horas (Jonson *et al.*, 1972). Las oosporas se produjeron al aparear en medio V8 aislamientos de *Phytophthora capsici* tipo A1 y A2 con los aislamientos en estudio, el apareamiento se realizó colocando un disco de 0.5 cm de diámetro de PDA con cada aislamiento a 2 cm de distancia entre ellos, el material se incubó a 28°C y oscuridad constante durante siete días. El diseño de cruzamiento entre aislamientos de *Phytophthora* fue una matriz de dos filas por seis columnas (Cuadro 2):

Cuadro 2. Diseño de cruzamientos entre aislamientos de *Phytophthora* obtenidos

		Aislamientos de <i>Phytophthora</i> en estudio					
		1	2	3	4	5	6
<i>P. capsici</i>	A1	*	*	*	*	*	*
	A2	*	*	*	*	*	*

Donde: A1=*P. capsici* tipo A1; A2=*P. capsici* tipo A2; 1-6=Aislamientos de *Phytophthora* en estudio. *Cruzamientos realizados (A1x1 hasta A2 x6).

FASE 3. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD EN INVERNADERO BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, EVALUANDO FORMAS DE INOCULACIÓN AL SUELO Y AL FOLLAJE POR MEDIO DE LA INCIDENCIA DE ENFERMEDAD Y AREA BAJO LA CURVA PROGRESO DE LA ENFERMEDAD EN PLANTAS DE FRIJOL EJOTERO VARIEDAD STRIKE.

2.6. Pruebas de patogenicidad en invernadero.

En esta fase se inoculo solo el aislamiento que mostró una agresividad mayor en las pruebas de patogenicidad realizadas "*In Vivo*" en vainas de frijol ejotero en el laboratorio, dicho aislamiento era proveniente de la localidad de Doxey en la región del Valle del Mezquital en el Estado de Hidalgo, México y perteneciente al tipo de compatibilidad A1. El diseño se realizó bajo un diseño completamente al azar y cada tratamiento consistió de 15 macetas con cinco plantas de frijol ejotero cada una, por lo que la unidad experimental fue cada maceta con plantas que se encontraban en producción de vainas (Cuadro 3). Las plantas se sembraron en macetas con 2 kg de suelo pasteurizado y se utilizaron dos formas de inoculación: a) directamente al suelo, b) al follaje.

Cuadro 3. Diseño grafico del experimento de las pruebas de patogenicidad en invernadero con inoculación al follaje y suelo en plantas de frijol ejotero en etapa de fructificación de la variedad "Stryke".

Tratamientos	Inoculación al follaje	Inoculación al suelo
	T1	T2
Repeticiones	R1	R1
	R2	R2
	R3	R3
	R4	R4
	R5	R5
	R6	R6
	R7	R7
	R8	R8
	R9	R9
	R10	R10
	R11	R11
	R12	R12
	R13	R13
	R14	R14
	R15	R15
Unidad experimental		= una maceta con 5 plantas

Preparación del inóculo

Los esporangios se produjeron cultivando este pseudohongo en medio V-8 (jugo de verduras V8 Cambells- CaCO_3 -Agar) (Apéndice 5) a $28^\circ\text{C} \pm$ en oscuridad constante por siete días, después se tomaron 10 discos de 0.5 cm de diámetro de PDA con la colonia y se colocaron en una caja Petri con agua destilada esterilizada mas dos hojas de chile previamente hervidas por cinco minutos e incubaron a temperatura ambiente (25°C) con luz blanca constante por 96 horas (Jonson *et al.*, 1972). Los esporangios producidos se colocaron en refrigeración a 4°C por diez minutos para promover la liberación de zoosporas, posteriormente con la ayuda de un hematocitómetro se ajustó la solución a $2,000 \text{ zoosporas} \cdot \text{mL}^{-1}$ pr. Se inocularon 10 mL de esta solución a cada planta

Métodos de inoculación. Se evaluaron dos formas de inoculación; al suelo y directamente al follaje; para conocer el mecanismo de infección.

Al suelo. El inóculo se dirigió a la parte basal y subterránea de la planta, se aplicó con una jeringa y se distribuyeron 10 mL^{-1} del inóculo a una profundidad de 1 cm de tal manera que fuera homogénea la inoculación. La humedad del suelo en las macetas siempre permaneció a capacidad de campo.

El inóculo dirigido a la parte aérea de la planta (10 mL^{-1} a cada planta) se aplicó con un aspersor manual (atomizador). La humedad relativa se mantuvo a 90%. La temperatura en ambos tratamientos se mantuvo a 25°C durante el día con variaciones durante la noche a 8.5°C .

Variables evaluadas en inoculación al follaje y al suelo en plantas de frijol ejotero

Incidencia de la enfermedad. Se evaluó la incidencia de la enfermedad, la cual, se considero como la proporción de plantas enfermas en relación a la población total de plantas inoculadas por tratamiento. Las evaluaciones se realizaron a las 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132, 144, 156 y 168 h después de la inoculación, es decir, las evaluaciones se hicieron en un intervalo de 7 días cada 12 h.

Análisis de datos: Con los datos de la incidencia de la enfermedad se estimó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) para cada uno de los tratamientos. El ABCPE se estimó con el software sistema de análisis estadístico (SAS) versión 8. Las unidades se expresaron como proporción de enfermedad-día. Las estimaciones se realizaron de acuerdo a la ecuación siguiente:

$$ABCPE = \sum \left[\left(\frac{Y_{i+1} + y_i}{2} \right) (t_{i+1} - t_i) \right] \dots \text{Ecuación 2}$$

Donde:

I_i = Incidencia de mediciones;

t_{i+1} = tiempo "x" donde se realizó una medición

t_i = tiempo inmediatamente anterior al tiempo "x";

y_{i+1} = incidencia en el tiempo "x";

y_i = incidencia inmediatamente anterior al tiempo "x";

Los datos del ABCPE de cada tratamiento se estandarizaron mediante la estimación del área bajo la curva del progreso de la enfermedad absoluta,

dividiendo el ABCPE entre la duración real de la enfermedad (Campbell y Madden, 1990).

FASE 4. PRUEBAS DE EFECTIVIDAD BIOLOGICA “*In Vitro*” COMO ALTERNATIVA AL TIZON DEL FRIJOL EJOTERO

2.7. Evaluación de fungicidas “*In Vitro*” para el manejo de tizón de la vaina en frijol ejotero

Se llevaron a cabo estudios “*In Vitro*” con el fin de investigar un posible uso de fungicidas para el manejo de *Phytophthora capsici*, agente causal del tizón del frijol ejotero en la región del Valle del Mezquital Hidalgo, México. Para ello, se evaluó el efecto de nueve fungicidas de amplio uso en el manejo de dicho patógeno (Cuadro 4). Las dosis utilizadas fueron 0 (testigo sin fungicida), baja y media, del rango recomendado por las empresas que los producen para evitar que la dosis alta formara resistencia al patógeno.

El experimento se realizó en un diseño completamente al azar con diez repeticiones para cada tratamiento (dosis baja y media), donde la unidad experimental fue una caja de Petri que contenían PDA ajustados a las distintas concentraciones de los productos químicos, para que después se colocara un disco de agar de 5 mm de diámetro con micelio del patógeno de 15 días de edad.

La variable a evaluar fue efectividad de los fungicidas expresado a través del crecimiento radial de la colonia en mm. Los datos obtenidos de esta prueba fueron analizados en SAS con el fin de conocer cual de los fungicidas tuvo un control mejor sobre el patógeno y poder utilizarlo en campo contra el agente

causal del tizón del frijol ejotero en la región del Valle del Mezquital en Hidalgo, México.

CUADRO 4 Fungicidas y dosis evaluadas "*In Vitro*" como alternativa a utilizar para el manejo del agente causal del tizón del frijol ejotero en la región del Valle del Mezquital en Hidalgo, México.

	No. DE TRATAMIENTOS	FUNGICIDAS	DOSIS
Aislamientos de <i>Phytophthora</i>	T1 repetición del 1-10	Sin fungicida	0.0 L • ha ⁻¹
	T2, repetición del 11-20	Acrobat CT[®] (Dimetomorf + Clorotalonil)	BAJA 2.0 L • ha ⁻¹
	T3, repetición del 21-30		MEDIA 2.5 L • ha ⁻¹
	T4, repetición del 31-40	Melody med[®] (Iprovalicarb + Mancozeb)	BAJA 2.5 kg • ha ⁻¹
	T5, repetición del 41-50		MEDIA 3.0 Kg • ha ⁻¹
	T6, repetición del 51-60	Previcur[®] (Propamocarb clorhidrato)	BAJA 1.0 L • ha ⁻¹
	T7, repetición del 61-70		MEDIA 1.5 L • ha ⁻¹
	T8, repetición del 71-80	Tatoo C[®] (Propamocarb clorhidrato + Clorotalonil)	BAJA 2.5 L • ha ⁻¹
	T9, repetición del 81-90		MEDIA 3.0 L • ha ⁻¹
	T10, repetición del 91-100	Alliette[®] (Fosetil-al)	BAJA 2.0 L • ha ⁻¹
	T11, repetición del 101-110		MEDIA 2.5 L • ha ⁻¹
	T12, repetición del 111-120	Strike 800[®] PH (Cimoxanil + Clorotalonil)	BAJA 2.0 Kg • ha ⁻¹
	T13, repetición del 121-130		MEDIA 2.5 Kg • ha ⁻¹
	T14, repetición del 131-140	Manzate[®] (Mancozeb)	BAJA 1.5 Kg • ha ⁻¹
	T15, repetición del 141-150		MEDIA 2.0 Kg • ha ⁻¹
	T16, repetición del 151-160	Daconil[®] 2787 W-75 (Clorotalonil)	BAJA 1.5 Kg • ha ⁻¹
	T17, repetición del 161-170		MEDIA 2.0 Kg • ha ⁻¹
	T18, repetición del 171-180	Ridomil Gold Bravo[®] (Metalaxil-M + Clorotalonil)	BAJA 2.0 Kg • ha ⁻¹
	T19, repetición del 181-190		MEDIA 2.5 Kg • ha ⁻¹

3. RESULTADOS Y DISCUSION

FASE 1 MUESTREO, SINTOMAS, INCIDENCIA EN CAMPO, COLECTA, AISLAMIENTO Y PURIFICACION DEL FITOPATOGENO

3.1. Incidencia y síntomas de la enfermedad encontrados en campo.

De los recorridos realizados en la región del Valle del Mezquital en el estado de Hidalgo, se encontró una incidencia alta de la enfermedad, debido a que de cada 100 plantas monitoreadas, 80 presentaron síntomas con crecimiento micelial blanquecino sobre vainas, tallo y hojas con lesiones de coloración café grisáceo a café rojizo; de consistencia acuosa, así como necrosamiento en el resto de la planta, como se indicó en la Figura 1, síntomas que coinciden con lo reportado por Davidson *et al.* 2002.

3.2. Diversidad de síntomas

De las 60 plantas colectadas en las localidades de Doxey, Tlaxcoapan y Teocalco en Hidalgo durante los dos muestreos, se encontró que los síntomas son variables, así como la intensidad de la enfermedad. En la localidad de Doxey fue donde se notó presencia mayor de síntomas de tizón de la vaina, diversidad de síntomas que afectan en su totalidad a las distintas partes vegetativas del cultivo. Todo esto en comparación con los otros sitios de estudio, esto puede ser debido a que en estos sitios, la presencia de lluvias fue menor, además de que los riegos aplicados al cultivo son más ligeros y por último la densidad de siembra fue menor que en la primera, por lo que las condiciones fueron adversas para el desarrollo de la enfermedad y por tanto, la presencia de diversidad de síntomas fue menor en comparación de la localidad de Doxey, Hidalgo., donde los síntomas son más severos en plantas localizadas a lo largo de la superficie de agua encharcada tal como lo cita Gevens and Hausbeck, 2003a y 2003b.

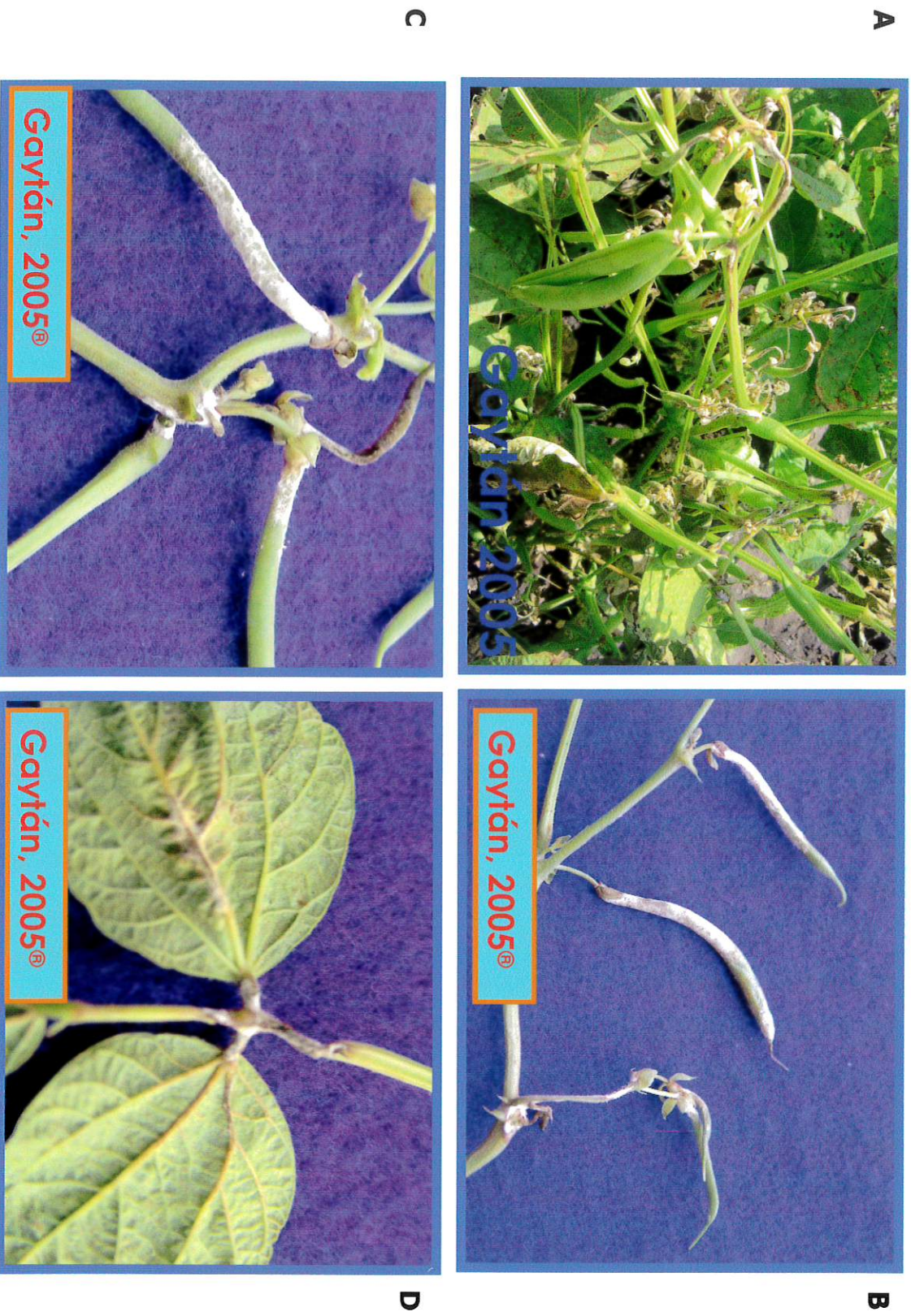


Figura 1. Sintomatología presente en campo afectando a tallo (A), hoja (D), pedicelo (C), inflorescencias y vainas de frijol (B) ejotero variedad "Strike" en la región de Valle del Mezquital en Hidalgo, México.

Aislamiento directo. De los aislamientos directos que se realizaron y colocaron en cámara humedad se encontró que la esporulación del hongo, mostró micelio de tipo cenocítico, esporangios ovoides, elípticos papilados frecuentemente bipapilados, papila conspicua y la presencia de oosporas apteróticas esféricas de color amarillo a castaño, características que corresponden al género *Phytophthora* (Romero 1993).

Aislamiento indirecto. De acuerdo a aislamientos de los tres sitios de estudio, bajo este método se obtuvieron seis aislamientos (Figura 2), dichos aislamientos pertenecieron al género *Phytophthora*, ya que mostraron las características siguientes: micelio cenocítico esporangios papilados $>4\mu$ y la presencia de oosporas generalmente apteróticas (Waterhouse, 1962).

Los resultados indicaron que el número de aislamientos del género *Phytophthora* encontrados es alto y se puede explicar si partimos de lo que señalan Erwin y Ribeiro (1996), quienes mencionaron que el género *Phytophthora* es predominantemente acuático y ecológicamente es favorecido por el agua libre del suelo y follaje, al respecto se debe señalar que debido a la presencia de lluvias en la región durante el periodo de muestreo, el suelo de las parcelas en las que se realizó dicho muestreo tuvo suficiente humedad y por tanto brindó las condiciones necesarias para activar al pseudohongo o para diseminar el inóculo hacia otras áreas de la parcela. También se debe considerar que la temperatura de la región fue baja (15 a 18°C) lo que provocó una humedad relativa alta y por consiguiente un contenido mayor de humedad en el suelo y en la parte aérea, condiciones suficientes para crear un ambiente favorable para la presencia y desarrollo de *Phytophthora*, lo cual coincide con lo indicado por Tlapal (2000).

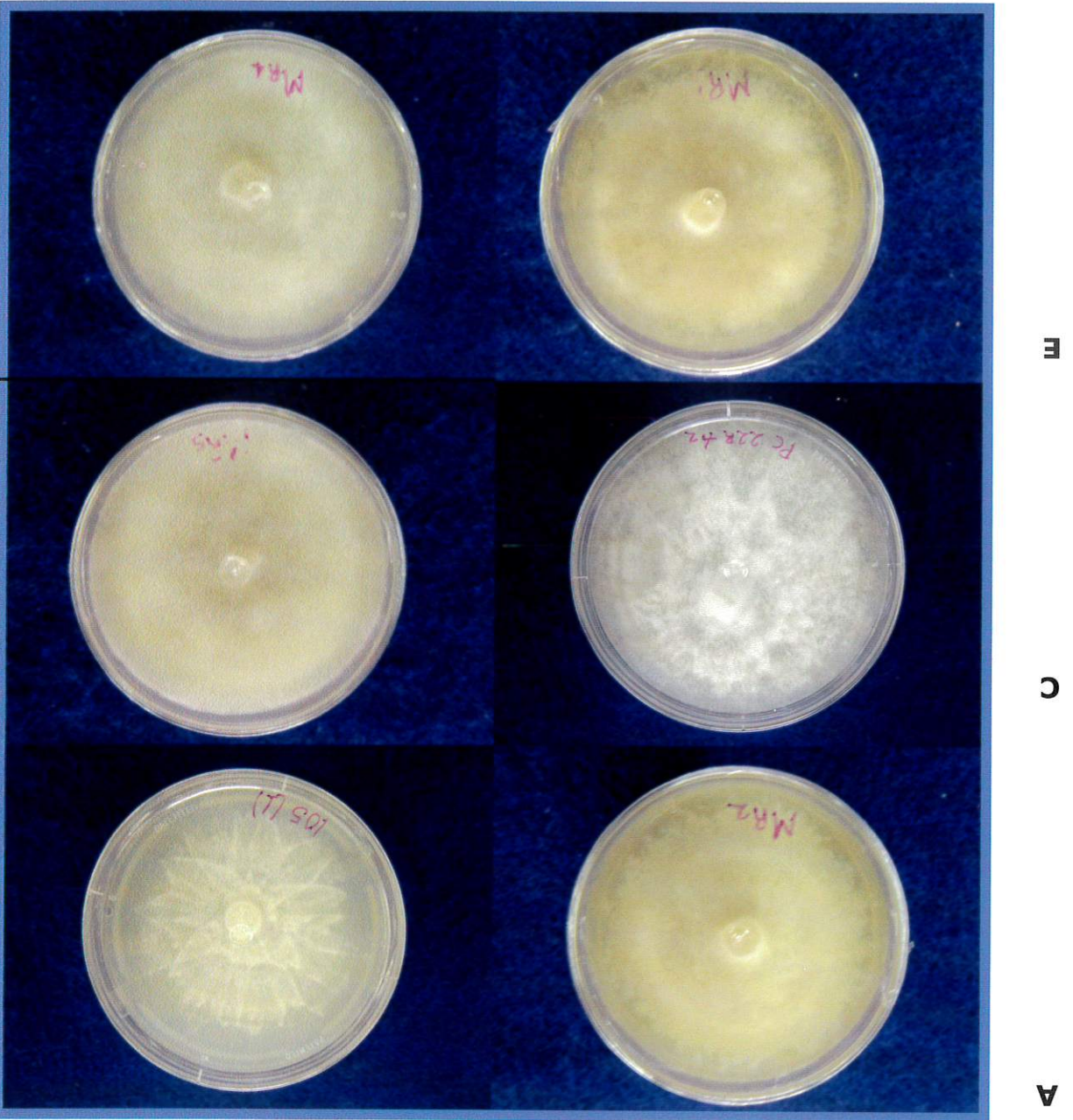


Figura 2. Crecimientos diferentes de *Phytophthora*, obtenidos de frijol ejotero en las localidades de Doxey (A y B), Teocalco (C y D) y Tlaxcoapan (E y F) en la Región del Valle del Mezquital, Estado de Hidalgo México.

Los riegos fueron pesados al ser proporcionados al cultivo de ejote en donde se colectaron las plantas, por lo que ocasionó suelos saturados y esto ayudó a la dispersión del inoculo, lo anterior se infirió en base a lo que mencionaron Pemezny *et al.*, 2003 que el agua de riego es uno de los vehículos más importante para la dispersión del inoculo de *P. capsici*. Además, Ristaino (1999), menciona también que las zoosporas liberadas por los esporangios se pueden mover fácilmente bajo condiciones de saturación o agua libre sobre las plantas, al existir estas condiciones la movilidad de las zoosporas es muy frecuente. Otro medio de dispersión del inoculo son los vientos (Pemezny *et al.*, 2003). En la región se registran vientos fuertes que juegan un papel importante en la diseminación. Por otro lado Ramírez (1998), señaló que las oosporas germinan si son estimuladas por la conjugación de varios factores, entre ellos saturación del suelo, humedad relativa altas y temperatura de 25 a 28°C, al respecto se puede mencionar que la presencia de lluvias en la región originó que la humedad del suelo y la humedad relativa fueran altas, además de una temperatura óptima, por lo cual se reunieron las condiciones propicias para que *Phytophthora* se expresara. Es conveniente señalar que *Phytophthora* esta presente en la región del Valle del Mezquital, debido a que por décadas, el sistema de producción incluye cultivos como, calabacita, chile serrano, tomate, etc., que como se sabe son hospedantes de dicho género.

FASE 2. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD “In Vivo” EN VAINAS DE FRIJOL EJOTERO, REAISLAMIENTO, EVALUACION DE LA INCIDENCIA, IDENTIFICACION Y TIPO DE COMPATIBILIDAD DEL PATOGENO.

3.3 Pruebas de patogenicidad en vainas de frijol ejotero en laboratorio

De las inoculaciones “In Vivo” en ejotes se encontró que todos los aislamientos fueron patógenicos. En esta fase se observó que algunos aislamientos causaron enfermedad con un periodo de incubación más corto con respecto a otros, así mismo la incidencia y los síntomas también variaron entre aislamientos, ya que algunos presentaron una patogenicidad mayor en relación con el resto, e incluyendo de qué localidad provenían, tal como se muestra en el Cuadro 5. Esto sirvió para determinar que el R5 proveniente de Doxey, Hidalgo fue el más patógeno (Figura 3).

CUADRO 5. Incidencia de la enfermedad acumulada en proporción de los aislamientos inoculados “In Vivo” en vainas de frijol ejotero en laboratorio.

Tiempo después de la inoculación (Horas)											
Muestra	Localidad	Incidencia final									
		12	24	36	48	60	72	84	96		
R ₁	Tlaxcoapan	0.0	0.2	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.8	0.8	
R ₂	Teocalco	0.0	0.3	0.4	0.5	0.7	0.8	1.0		1.0	
R ₃	Teocalco	0.1	0.2	0.4	0.7	0.7	0.8	0.9	1.0	1.0	
R ₄	Doxey	0.0	0.2	0.6	0.8	1.0				1.0	
R ₅	Doxey	0.4	0.4	0.7	1.0					1.0	
R ₆	Tlaxcoapan	0.0	0.2	0.4	0.5	0.6	0.7	0.7	0.9	0.9	

Figura 3. Pruebas de patogenicidad "In Vitro" en vainas de frijol ejotero mostrando diversos grados de patogenicidad, con *P. capsici*, en el laboratorio mostrando incidencia y sintomatología e incidencia.

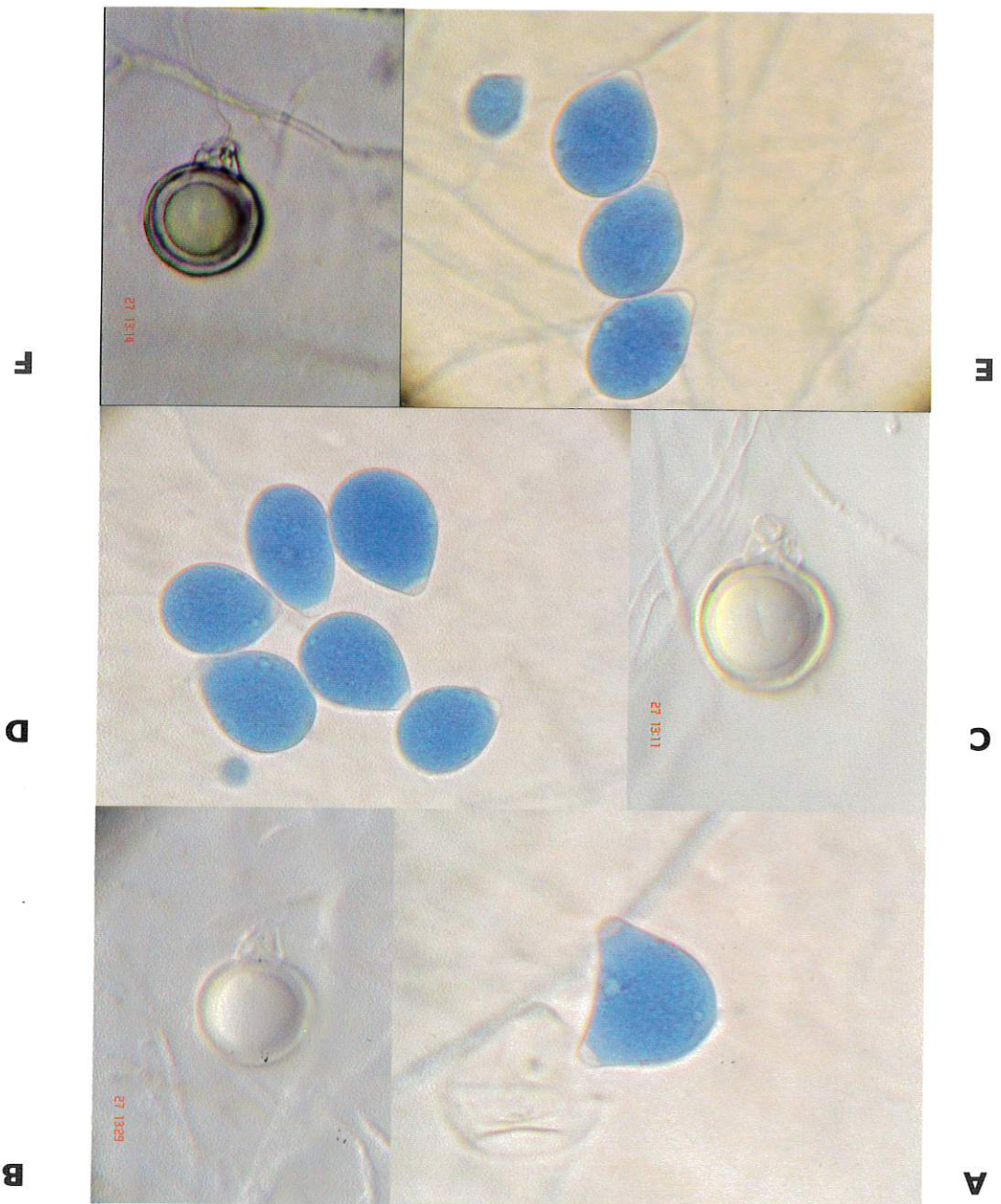


El aislamiento R5 procedente de la localidad de Doxey presentó una incidencia del 100, con un periodo de incubación de 12 h, además infesto en su totalidad a la vaina en 48 h, presente micelio blanquecino, de aspecto algodonoso, con manchas café a café rojizo para posteriormente finalizar en una necrosis. De acuerdo a estos resultados este tratamiento fue el de patogenicidad mayor y de rápida expresión de síntomas, por lo que se utilizó en las distintas pruebas de invernadero y efectividad biológica.

3.4 Identificación de pseudhongos

Todos los seis aislamientos que se encontraron de las vainas infectadas y crecidas a 20°C presentaron micelio toruloso, hifas cenocíticas, con un pedicelo largo de 100 μ , con esporangios de formas variables; globosos, piriformes, alimonados con la base adelgazada con una o dos papilas $>4 \mu$ y con las dimensiones siguientes: 42.80-(49.2)-57.68 x 23.45 – (31.50) – 41.58 μ . Así como Osporas café aploicas con diámetro de 28.53 – (31.65) – 35.53 μ , y grosor de pared de 3.21 – 4.32 μ , anteridio tipo antrigino y heterotalica (Figura 4). Dichas características coinciden con las reportadas para *Phytophthora capsici* y fueron similares a las reportadas por Davidson *et al.* 2002 quien hace el primer reporte de este patógeno afectando a *Phaseolus lunatus*, por lo que concluyo que el tizón del frijol ejotero es causado por *Phytophthora capsici* debido a que el aislamiento de dicho patógeno fue consistente y se observó las características de dicho patógeno tanto en los aislados y realisamientos en las pruebas de patogenicidad "In Vivo".

Figura 4. Variabilidad de esporangios: con dos papilas >4 μ (A), piriformes y de tipo anfigino (B, C y F) obtenidos en medio jugo V-8 agar de *Phytophthora capsici*.



Dentro de las posibles causas a las que se atribuyo la presencia de *Phytophthora capsici* puede ser una prolongada sequía del suelo y variación de temperaturas (al no sembrarse en invierno), el cual actúa como reservorio de inóculo para varias especies hospedantes del patógeno, inclusive para aquellas que causan su principal daño en las partes aéreas de la planta (Zentmyer y Erwin 1970) y temperaturas altas (Hine et al., 1964) por lo que reducen el grado de sobrevivencia, pero algunas especies de *Phytophthora* puede sobrevivir como colonizador dinámico en raíces u otra materia orgánica, produciendo esporangios y grandes cantidades de zoosporas (Old et al., 1984; Timmer y Menge, 1989; Zentmyer y Erwin 1970) por lo que hace a éste género del patógeno muy agresivo, otra forma de sobrevivencia del oomycete es a través de los hospedantes alternos (Cothier y Griffin, 1973), como en este caso fue el trébol ejotero al no contar con sus hospedantes principales. En el 2002 se da el primer reporte de *Phytophthora capsici* atacando al género *Phaseolus* (Davidson et al., 2002). Lo cual, coincide con lo encontrado en este trabajo, debido en que las zonas de este estudio y muy en especial en el poblado de Doxey, es donde por décadas se han cultivado tanto especies del género *Capsicum* sp. y *Cucurbita* sp., considerados como hospedantes principales de *P. capsici* y al no contar con plantaciones de estos hospedantes emigra a infectar al género *Phaseolus*.

Por otro lado, no se descarta una posible evolución del patógeno y su ataque sea dirigido al follaje ya que los daños son aéreos, causando pudriciones de yemas o frutos, necrosamiento de tallos e inclusive tizón foliar, sin importar matar a plantas jóvenes o adultas.

Tipos de compatibilidad de *Phytophthora capsici* obtenidos de plantas de frijol ejotero en la región del Valle del Mezquital en Hidalgo, México

En lo que se refiere a las pruebas de compatibilidad realizadas se encontró que el tipo A2 fue dominante en una relación 2:1, tal y como lo citó Tlapal (1995) en México, quien señaló que ambos tipos de compatibilidad se han encontrado en un mismo terreno de cultivo, sin embargo el tipo A2 es el más frecuente (Cuadro 6), sin embargo el tipo A1 a pesar de que se encontró en una proporción menor en relación del A2 para las pruebas de patogenicidad "In Vivo" fueron estos los que presentaron una agresividad mayor para infectar las vainas de frijol ejotero en el laboratorio.

CUADRO 6. Grupos de compatibilidad de los aislamientos de *Phytophthora capsici* obtenidos de vainas frijol ejotero, variedad "Stryke" en la región del Valle del Mezquital Hidalgo, México.

LOCALIDAD	AISLAMENTOS	GRUPO
Tlaxcoapan	R ₁	A ₂
Tlaxcoapan	R ₆	A ₂
Teocalco	R ₂	A ₂
Teocalco	R ₃	A ₁
Doxey	R ₄	A ₂
Doxey	R ₅	A ₁

FASE 3. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD EN INVERNADERO BAJO CONDICIONES CONTROLADAS, EVALUANDO FORMAS DE INOCULACIÓN AL SUELO Y AL FOLLAJE POR MEDIO DE LA INCIDENCIA DE ENFERMEDAD Y ÁREA BAJO LA CURVA PROGRESO DE LA ENFERMEDAD EN PLANTAS DE FRIJOL EJOTERO VARIEDAD STRIKE

3.5 Métodos de inoculación en invernadero

Después de realizar estas pruebas, se encontró que las dos formas de inoculación en invernadero causaron enfermedad, sin embargo estas mostraron diferencias significativas, tal como lo muestra el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPe) (Cuadro 7, 8 y Apéndice 6) y la prueba de Tukey (Apéndice 7).

El ABCPe se tomó como un parámetro para medir la intensidad de la enfermedad en los dos tipos de inoculación. En el Cuadro 7, se presentan los datos del ABCPe donde se aprecia una intensidad mayor de la enfermedad en la inoculación aérea (86.580), por lo que se asume que esta forma de inoculación, causó la intensidad mayor de enfermedad, debido a que mostró el periodo de incubación más corto observándose los primeros síntomas a las 24 horas después de la inoculación (HDI), tal como se muestra en la Figura 5; el síntoma se manifestó en tallos, inflorescencias y pedúnculos del fruto, apreciándose necrosamiento local y generalizado, así mismo después de 96 HDI se agudizó paulatinamente y debido a la severidad de la enfermedad algunas hojas se necrosaron por completo, además se observó la esporulación

del oomycete en todas las partes de la planta (Figura 6a). De las 108 a 168 HDI, las plantas se necrosaron por completo, el daño fue irreversible y hubo muerte total de plantas, estos síntomas coincidieron con los reportados por Davidson et al., 2002.; Gevens y Hausbeck, 2003a y 2003b quienes señalaron que al realizar pruebas de patogenicidad "In Vivo" con vainas de *Phaseolus lunatus* del cultivar Early Thorogreen después de siete días de inoculados mostraron los síntomas encontrados en campo y las características del patógeno correspondieron a *Phytophthora capsici*.

En la inoculación en invernadero dirigida al suelo a pesar de que la aparición de síntomas fue a las 48 HDI (Figura 5), los síntomas apreciables partieron en un inicio con necrosamiento de tallo, así como marchitamientos y esporulación del pseudohongo en vainas que se encontraban tocando el suelo, posteriormente estos síntomas se transformaron en esporulación en el envés de las hojas, pedicelos y frutos pequeños (Figura 6b). Después de las 108 HDI aparecieron las primeras plantas muertas, a pesar de que el periodo de incubación duro más tiempo en relación con la inoculación al follaje, los síntomas no se manifestaron de una forma agresiva, pero los síntomas siguieron causando daños en las plantas para morir a las 168HDI (Figura 6b).

El análisis de varianza mediante el procedimiento **glim** (Apéndice 7) para la variable ABCPE indicó que hubo diferencias significativas entre los tratamientos. El ABCPE que presento la inoculación al follaje fue significativamente mayor a la inoculación al suelo. Esta diferencia quizás se deba a que dicho aislamiento se obtuvo de partes aéreas y además de que esta parte (follaje) es más susceptible que la raíz o que la infección es mas rápida

que en el follaje, lo cual coincide con Galindo 1956, al descubrir a *Phytophthora capsici* atacando plantaciones de chile en campos de la Escuela Nacional de Agricultura en Chapingo, México., señalo su sintomatología típica de la enfermedad "Marchitez del chile", pero es frecuente observar primero pudrición de los frutos y posteriormente, muerte de la planta por avance del pseudohongo a través del pedúnculo del fruto, ramas y tallo. Además de que en años subsiguientes, *Phytophthora capsici* fue encontrada en algunas solanáceas y cucurbitáceas y la sintomatología fue similar, pero no hay que olvidar que dicho patógeno forma oosporas a las que Galindo 1956 y Romero 1993 mencionaron que por su resistencia a las temperaturas bajas y secas, constituyen la fuente de inóculo más efectiva de un año al siguiente, por lo que se asume que ambas formas son infectivas; al follaje de forma natural por el salpique del inóculo y en el suelo al atacar a raíz y tallo por el agua de riego. La inoculación al follaje causo la muerte de las plantas en 168 horas, con la aparición de síntomas en un periodo de incubación bastante corto 24 HDI y un ABCPE mayor (86.580), lo cual hace la diferencia en comparación con la inoculación al suelo, debido a que su periodo de incubación fue más largo (48 HDI) y con un ABCPE menor (65.784), sin embargo, con la muerte de plantas en el mismo periodo de tiempo que la inoculación al follaje, lo que es similar con lo señalado con Davidson, 2002, Gevens y Hausbeck, 2003a, 2003b y Romero, 1993 de que *Phytophthora capsici* bajo condiciones favorables (de 11 a 35°C optima de 25 a 28°C) y humedad relativa alta >90% es un pseudohongo sumamente agresivo y que puede destruir campos enteros de sus hospedantes, en un tiempo muy corto debido a su gran velocidad de crecimiento y abundante esporulación.

Cuadro 7. Comportamiento temporal de la incidencia del tizón de la vaina, y área bajo la curva progreso de la enfermedad en plantas en fructificación de frijol ejotero variedad "Strike" inoculadas al follaje bajo condiciones controladas.

Tratamiento I INOCULACION AL FOLLAJE EN INVERNADERO																
Rep	h	0	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120	132	144	156	168
R1	0	0	0	0	0	.2	.2	.4	.6	.8	1					
R2	0	0	0	.2	.2	.2	.4	.4	.4	.6	.6	1				
R3	0	0	0	0	0	.2	.6	.8	.8	.8	.8	1				
R4	0	0	0	.2	.4	.6	.6	.8	.8	1						
R5	0	0	0	.2	.2	.4	.4	.6	.6	.8	.8	1				
R6	0	0	0	.2	.2	.4	.4	.8	.8	.8	.8	1				
R7	0	0	0	0	0	.2	.2	.6	.6	.6	.8	.8	1			
R8	0	0	0	0	.2	.2	.6	.6	.8	.8	.8	1				
R9	0	0	0	0	0	.2	.2	.2	.6	.6	.6	.8	.8	.8	.8	1
R10	0	0	0	0	.2	.2	.4	.4	.4	.6	.6	.8	.8	.8	.8	1
R11	0	0	0	.2	.2	.2	.4	.4	.6	.6	.6	.8	.8	.8	.8	1
R12	0	0	0	0	.2	.2	.2	.2	.4	.4	.4	.8	.8	1		
R13	0	0	0	.2	.2	.4	.4	.6	.6	.6	.8	.8	1			
R14	0	0	0	0	.2	.2	.2	.2	.4	.4	.6	.6	.8	.8	1	
R15	0	0	0	0	0	.2	.2	.2	.4	.4	.4	.6	.8	.8	1	
ABCPE	0	0	0.396	1.272	2.232	3.432	4.632	5.916	7.200	7.998	9.114	10.314	10.956	11.358	11.760	86.580
INCIDENCIA																
días	→	1	2	3	4	5	6	7								
24hrs		R1														
36hrs		R15														
48hrs																
Cada repetición = Unidad experimental = Maceta C/5 plantas																

Cuadro 8. Comportamiento temporal de la incidencia del tizón de la vaina, y área bajo la curva progreso de la enfermedad de plantas en fructificación de frijol ejotero variedad "Strike" inoculadas al suelo bajo condiciones controladas.

Tratamiento 2. INOCULACION AL SUELO, EN INVERNADERO

	0 HR	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120	132	144	156	168
R1	0	0	0	0	0	0	2	4	6	8	1				
R2	0	0	0	0	0	2	4	5	4	6	6	8	8	1	
R3	0	0	0	0	0	2	2	2	4	6	6	8	8	8	1
R4	0	0	0	0	0	0	0	2	2	4	6	8	8	8	1
R5	0	0	0	0	0	0	0	2	4	6	8	1			
R6	0	0	0	0	0	2	2	4	6	8	1				
R7	0	0	0	0	2	2	6	6	8	8	8	8	8	1	
R8	0	0	0	0	0	0	2	2	4	4	6	6	8	8	1
R9	0	0	0	0	2	2	4	4	6	8	8	1			
R10	0	0	0	0	0	0	0	2	2	4	4	6	6	8	1
R11	0	0	0	0	0	2	2	4	4	6	6	8	8	8	1
R12	0	0	0	0	0	0	2	2	6	6	6	8	1		
R13	0	0	0	0	0	0	2	2	4	6	8	8	1		
R14	0	0	0	0	0	2	2	2	4	4	6	8	8	8	1
R15	0	0	0	0	0	2	4	4	4	6	6	8	8	8	1

															ABCPE	
															Total	
ABCPE	0	0	0	0	0.156	0.792	1.992	3.192	4.554	6.318	7.758	8.958	9.996	10.632	11.436	65.784
INCIDENCIA	0.026 0.106 0.226 0.306 0.453 0.600 0.693 0.800 0.866 0.906 1.0															
días	→	1		2		3		4		5		6		7		
	R1- R15	→ repetición														
24hrs																
36hrs																
48hrs																

Cada repetición = Maceta C/5 plantas

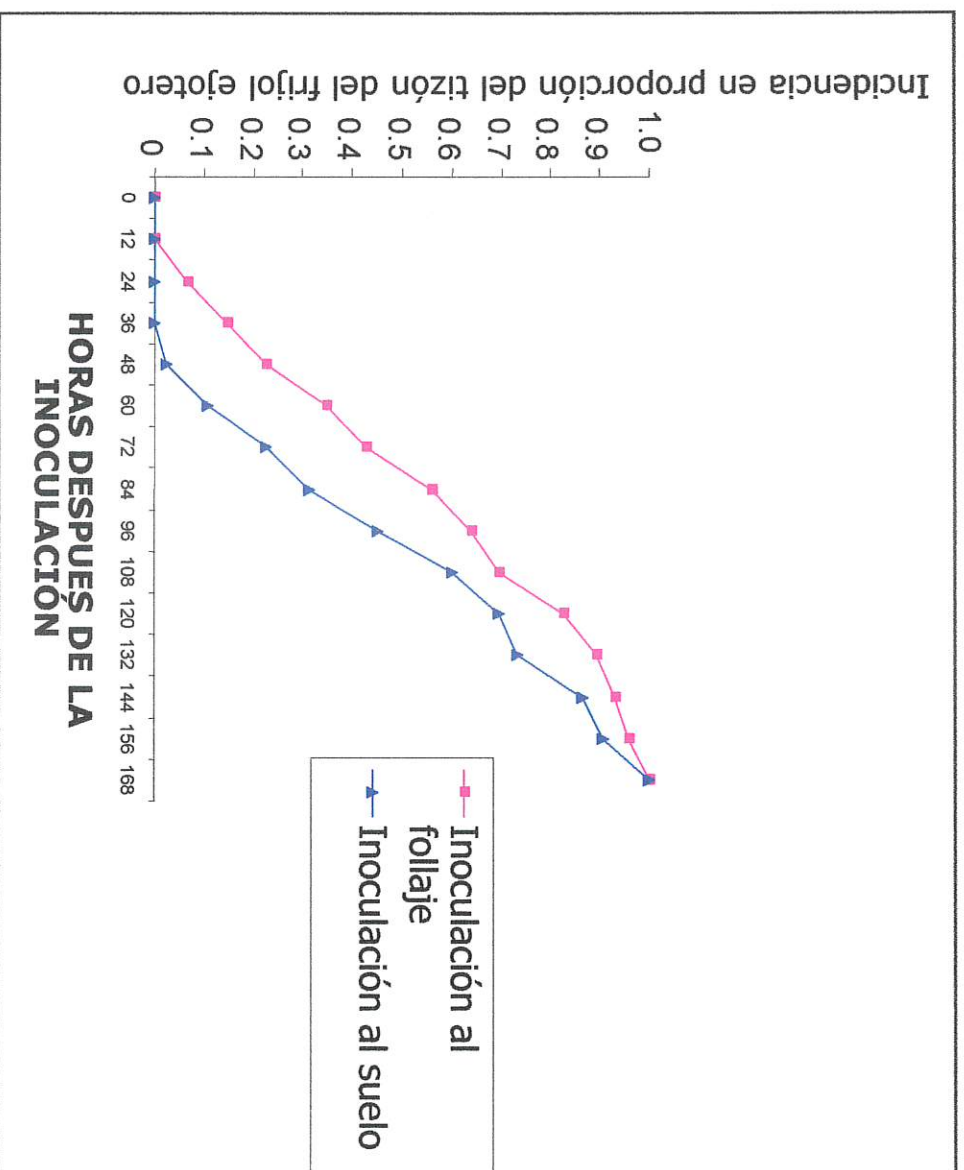


Figura 5. Incidencia del tizón en plantas de frijol ejotero inoculadas con *Phytophthora capsici* al follaje y al suelo bajo condiciones controladas en invernadero.

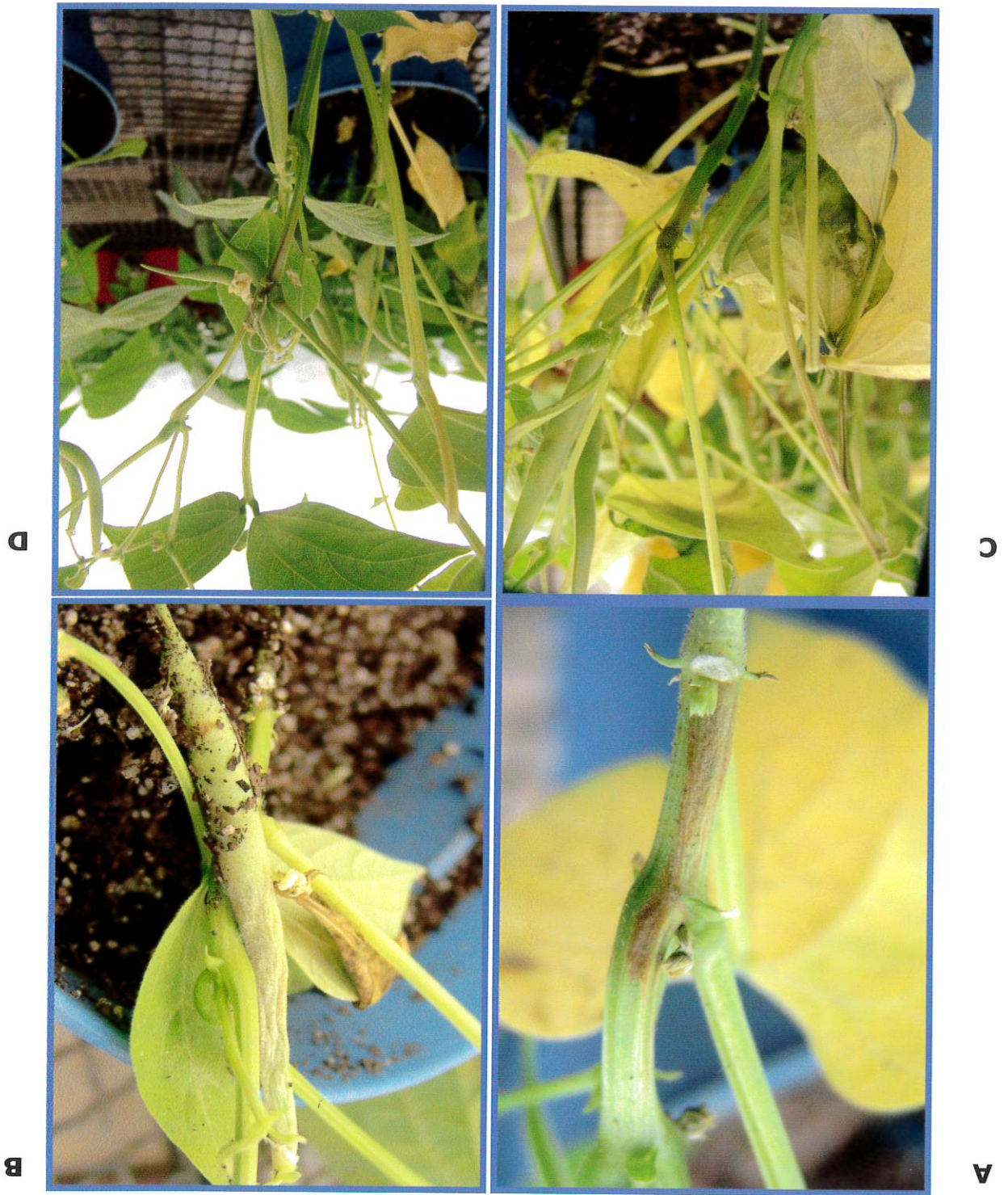


Figura 6a. Síntomas inducidos por *Phytophthora capsici* inoculadas al follaje (10 mL de una solución de 2000 zoosporas•mL) en plantas de frijol ejótero variedad "Strike" en etapa de floración-fructificación. Atacando tallo (A), fruto (B) pedúnculos y tallo (C) e inflorescencias y tallo (D).



Figura 6b. Síntomas inducidos por *Phytophthora capsici* inoculadas al suelo (10 mL de una solución de 2000 zoosporas•mL) en plantas de frijol ejótero variedad "Strike" en etapa de floración-fructificación. Atacando tallo (A), fruto (B) pedúnculos tallo y hojas (C) e inflorescencias y tallo (D).

La presencia de síntomas en poco tiempo en ambos casos se debe a que las

condiciones controladas en invernadero fueron las óptimas y favorecieron la presencia de la enfermedad; las condiciones de temperatura de 25-30° C y humedad relativa >90% durante las primeras 48 HDI propicio la infección. Las zoosporas permanecieran en agua libre, lo que se cree que favoreció su dispersión por la planta y la adhesión a la epidermis de las mismas, germinaron e infectaron al penetrar por aberturas naturales tales como: lenticelas o estomas, tal como lo citan Tsao, (1969); Erwin y Ribeiro, (1996). Cuando existe alguna abertura natural en la planta, las zoosporas presentan quimiotaxia positiva hacia estas, probablemente como una respuesta a sustancias químicas exudadas (Rodríguez, 1969; Nuez et al., 1996; Ramírez, 1998; Ristaino y Johnston 1999).

A pesar de que Galindo (1962), Aguirreola et al. (1995), Mendoza (1999) y Guigón et al. (2001) mencionaron que la flacidez en hojas, en cultivos como chile, es la primera manifestación de *Phytophthora capsici*, en floración; y amarre de fruto, en especial a medio día cuando la evapotranspiración alcanza su mayor intensidad, y por las mañanas se logra alcanzar la turgencia; éstos señalamientos no difieren a lo observado en este trabajo, ya que las zoosporas fueron aplicadas tanto al follaje como al suelo, por lo que el éxito de infección fue grande al ser invadido el sistema vascular, por lo que la planta tuvo poca oportunidad de recuperarse, además de que, Mendoza (1999) indicó que el necrosamiento en los tallos se puede desarrollar tanto en sentido ascendente y descendente, a partir del punto de infección. Por otro lado, al ser inoculadas las raíces los síntomas se presentaron en tallo, hojas y vainas debido a que el riego

fue realizado diario estimulando así el salpique, que como lo citan Ristaino y

Johnston (1999), Erwin y Ribeiro (1996), Pemeznny *et al.* (2003), es una forma de dispersión del inoculo dentro de los mecanismos de infección presentes para este patógeno. Mendoza (1999) señaló que cuando *P. capsici* ataca raíces y tallos los daños son muy severos e irreversibles. Además, Eggea *et al.* (1984), señalaron que lo anterior se debe a que el oomycete destruye xilema y floema de las plantas e impide el paso de nutrientes y agua al follaje. Por otro lado Alcazar *et al.* (1995), Aguirreola *et al.* (1995), Ristaino (1995) y Pemeznny *et al.* (2003) coincidieron en que el patógeno causa diversos síntomas como son pudrición y lesiones necróticas en el tallo. En la inoculación al suelo el daño no fue tan agresivo, en comparación con la inoculación al follaje, debido posiblemente a que la cantidad de inoculo aplicado a las plantas no fue suficiente, o bien, el agua de riego pudo haber arrastrado las zoosporas y por tanto, disminuyó la cantidad del inoculo y entonces el éxito de infección fue bajo en comparación con la inoculación aérea; por ejemplo Ristaino (1999) y Pemeznny *et al.* (2003) mencionaron que las zoosporas son fácilmente arrastradas por el agua de riego debido a que es una medida natural de infección.

La temperatura jugó un papel importante debido a que también estuvo dentro de los rangos establecidos para darse la infección (23 a 28°C) durante el día y frescas durante la noche (7.5-10°C) por lo que en ambos tratamientos contribuyo para que se diera la infección tal y como lo señalan Davidson *et al.* (2002) y Gevens y Hausbeck (2003a). Así mismo, Erwin and Ribeiro (1996)

aclararon que cuando existe un incremento en la temperatura esto induce a que

las zoosporas se enquisten y aceleren la germinación al emitir su tubo germinativo, además, Carlile (1983) especificó que las zoosporas poseen sistemas sensores que con la ayuda del movimiento proporcionado por sus flagelos, les permite acumularse en sitios específicos (taxis positiva) o evitar estos sitios (taxis negativa), con lo que incrementan las posibilidades de las infecciones, por lo que se deduce que al momento de encontrar estos sitios específicos y por otro lado existir dicha variación en las temperaturas hicieron que se expresara la enfermedad.

El clima influye sobre el desarrollo e impacto de las enfermedades causadas por *Phytophthora*. La humedad y la temperatura son los factores más importantes a considerar, tanto en el suelo como en las partes aéreas. El necrosamiento en tallos se presenta debido a la variación de temperaturas y humedad alta del suelo y del aire; de ahí que las infecciones a la base del tallo y el follaje sean más comunes (Duniway, 1983).

FASE 4. PRUEBAS DE EFECTIVIDAD BIOLÓGICA “*In Vitro*” COMO ALTERNATIVA AL TIZON DEL FRIJOL EJOTERO

3.6 Eficacia de fungicidas “*In Vitro*” para el manejo de tizón de la vaina en frijol ejotero

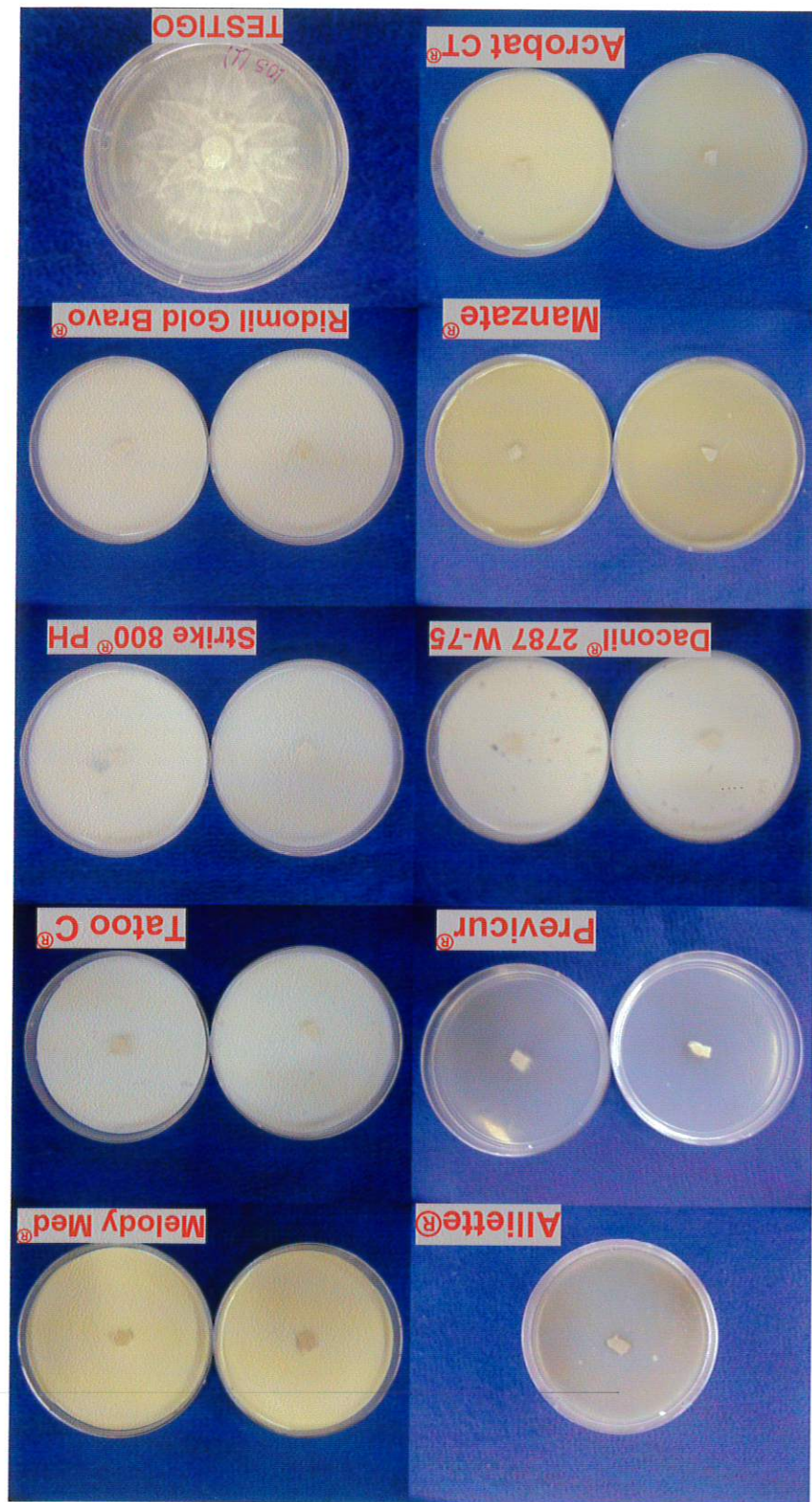
Al realizarse el análisis de varianza y la prueba de Tukey (Apéndice 8 y Cuadro 9) solo se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos del fungicida Previcur® (Propamocarb clorhidrato) con el resto de los tratamientos, sin embargo, todos los tratamientos fueron diferentes al testigo

estadísticamente (Figura 7 y Cuadro 9). En dicho Cuadro 9 y Figura 7 se

aprecio que todos los tratamientos, tienen un control eficiente de *Phytophthora capsici* en ambas concentraciones (baja y media), sin embargo, la presencia de crecimiento micelial en el tratamiento correspondiente a Previcur® (Propamocarb clorhidrato) se puede deber al modo de acción que éste posee, debido a que dicho producto es un inhibidor multitisio que reduce el crecimiento del patógeno (micelio, esporas y esporangios) e influye sobre el metabolismo de ácidos grasos y fosfolípidos por lo que estimula el crecimiento de raíces, tallo y follaje en plantas tratadas; es importante que penetre a la planta para que proporcione el efecto deseado; así mismo, el fungicida Tatro C® (Propamocarb clorhidrato + Clorotalonil) el cual contiene el mismo ingrediente activo que Previcur® más clorotalonil y no presentaron crecimiento alguno en el tratamiento; lo cual nos indica que la mezcla de ambos productos favorecen el manejo de la enfermedad. Aunque el comportamiento de dichos datos fue tomado a los 12 días después de la aplicación de los tratamientos, sin embargo, después de 30 días, el crecimiento en este tratamiento no continúa. Por lo de que se requiere de ambos tipos de fungicidas (sistémicos y de contacto) para hacer rotaciones o mezclas con ellos, y evitar la aparición de resistencia, reducir el riesgo y sirve para mejorar la eficacia del manejo de la enfermedad.

Es importante mencionar que fungicidas como clorotalonil y mancozeb, son productos que se deben aplicar al inicio de la enfermedad o en dosis baja o media, rotarlos o mezclarlos para evitar desarrollar resistencia, ya que son los fungicidas de mayor uso en la zona de estudio debido a su bajo costo.

Figura 7. Crecimiento radial de *Phytophthora capsici* "In Vitro" en medio PDA con fungicidas en dos dosis baja y media 7 días después de la aplicación de los tratamientos. Sin embargo la imagen correspondiente al testigo fue tomada 15 días después de iniciar la prueba.



Cuadro 9. Comparación de medias (Prueba de Tukey) y eficacia de los fungicidas evaluados "In Vitro". Datos tomados a los 15 días después de la aplicación de los tratamientos.

MEDIAS*	FUNGICIDAS	No. TRATOS		Aislamientos de <i>Phytophthora</i>	95% de confiabilidad
27.3000 A	Sin fungicida	0			*Valores con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey al
0.0000 D	Acrobat CT®	10	(Dimetomorf + Clorotalonil)		
0.0000 D	Melody med®	20	(Iprovalicarb + Mancozeb)		
4.9000 B	Previcur®	30	(Propamocarb clorhidrato)		
3.2000 C	Tatoo C®	31	(Propamocarb clorhidrato + clorhidrato)		
0.0000 D		40	(Propamocarb clorhidrato +		
0.0000 D		41	Clorotalonil)		
0.0000 D	Alliette®	50	(Fosetil-al)		
0.0000 D	Strike 800® PH	60	(Cymoxanil + Clorotalonil)		
0.0000 D		61	Manzate®		
0.0000 D		70	(Mancozeb)		
0.0000 D		71	Daconil® 2787 W-75		
0.0000 D		80	(Clorotalonil)		
0.0000 D	Ridomil Gold Bravo®	90	(Metaxil-M + Clorotalonil)		
0.0000 D		91	Clorotalonil)		

4. CONCLUSIONES

- De síntomas del tizón del frijol ejotero se aisló e identificó a *Phytophthora capsici* como el patógeno responsable.
- De las inoculaciones del hongo en vainas de ejote "*in vivo*" se encontró que los seis aislamientos fueron patógenos y correspondieron a *Phytophthora capsici*.
- El aislamiento de *Phytophthora capsici* la localidad de Doxey Hidalgo presentó una incidencia alta de la enfermedad en relación con el resto de los aislados en la pruebas "*in vivo*" en vainas de frijol ejotero variedad "Strike" y dicho aislamiento perteneció al tipo de compatibilidad A1.
- En las pruebas de grupo de compatibilidad de *Phytophthora capsici* realizadas, se encontró que el tipo A2 fue el más dominante en una relación 4:2.
- La inoculación de *Phytophthora capsici* en invernadero realizadas al suelo y al follaje causaron enfermedad. La forma de inoculación al follaje mostró una intensidad de enfermedad mayor.
- De la pruebas "*In Vitro*" de eficacia de los fungicidas el hongo *Phytophthora capsici* no creció en medio de cultivo PDA con ninguno de los fungicidas a las distintas concentraciones excepto en Previcur® donde por 12 días tuvo un ligero crecimiento, sin embargo, después de 30 días el crecimiento en dicho tratamiento no continuo

5. LITERATURA CITADA

- Aguirreolea, J. J., Sánchez, D. M., and Salaverri, J. 1995. Physiological alterations in pepper during wilt induced by *Phytophthora capsici* and soil water deficient. Plant Pathology 44(3): p. 587-596.
- Ainsworth, C. G., Sparrow, F. K., and Sussman, A. S. 1973. The Fungi. An Advanced Treatise. Vol. IVB. A Taxonomic Review with Keys: Basidiomycetes and Lower Fungi. Academic Press. 504 p.
- Alcazar, M. D., Egea, C., Espín, A., and Candela, E. 1995. Peroxidase isoenzymes in the defense response of *Capsicum annuum* to *Phytophthora capsici*. Physiology Plantarum 94: 736-742.
- Cambell, C. L. and Madden, V. L. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley & Sons, Inc. USA. P. 532.
- Campos, A. J. 2001 Enfermedades del trébol. México. Trillas. p. 132.
- Cartile, M. J. 1983. Motility, taxis and tropism in *Phytophthora*. In. Erwin D. C. y Ribeiro O. K. 1996 *Phytophthora* Diseases Worldwide. The American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota, USA. p. 95-107.
- Coffey, M. D. 1991. Strategies for the integrated control of soilborne *Phytophthora* species. In. Lucas, J. A.; Shattock, R. C.; Shaw, D. S. y Cooke, L.R. eds. 1991. *Phytophthora*. Cambridge, Great Britain. British Mycological Society. pp 411-432.

Cothier, E. J. y Griffin, D. M. 1973. The role of alternative hosts in survival of *Phytophthora dresehleri* Australian Journal of Biological Sciences. 26:1109-1113.

Davidson C. R., Carroll R. B., Evans T. A., Mulrooney R. P. 2002. First report of *Phytophthora capsici* infecting lima bean (*Phaseolus lunatus*) in the Mid-Atlantic Region. Plant Disease 86: p1049.

Duniway, J.M. 1983 The Role of physical factors in development of *Phytophthora* diseases. In Erwin D. C. et al., eds. *Phytophthora*: its biology, taxonomy, ecology and pathology. St. Paul, Minnesota. American Phytopathological Society, pp 175-187.

Egea C., Garcia, P. M. and Candela, M. E. 1996. Capsidol accumulation in *Capiscum annuum* stems during the hypersensitive reaction to *Phytophthora capsici*. Journal of Plant Pathology 149 (6): 762-764

Erwin D. C. y Ribeiro O. K. 1996 *Phytophthora* Diseases Worldwide. The American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota, USA. p. 562.

Galindo, A. J. 1962 Marchitez de las plantas de chile causada por *Phytophthora capsici* Leonian. Revista Mexicana de Fitopatologia 1:15-17.

Gevens, A., and Hausbeck, M. K. 2003a. *Phytophthora capsici* in irrigation water and isolation of *P. capsici* from snap beans in Michigan. Mich. State University Ext. Veg. Crop Advisory Team Alert 18:3.

-2003b. *Phytophthora capsici* isolated from snap bean is pathogenic to cucumber fruit and soybean. American Phytopathological Society North Central Division Meeting. St. Haul. MN. In press

- Guigón L. C., y González, G. P. A., 2001. Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. Revista Mexicana de Fitopatología 19 (1): 49-56.
- Hine, R. B., Alaban, C. y Klemmer, H. 1964. Influence of soil temperatura on root and heart rot of pineapple caused by *Phytophthora cinnamomi* and *Phytophthora parasitica*. Phytopathology 54: 1287-1289.
- Johnson, L. F., and Carl, E. A. 1972 Methods for research on the ecology of soil borne plant pathogens. USA. 247 p.
- Mendoza, Z. C. 1999. Diagnostico de enfermedades fungosas. Universidad Autónoma Chapingo. México. 168 p.
- Nuez, V. F., Gil, R. O., y Costa, J. G. 1996 El cultivo del pimiento, chiles y ajíes. Ed. Mundi Prensa, España. 607p.
- Old, K. M., Oros, J. M. y Malafant, K.W. 1984. Survival of *Phytophthora cinnamomi* in root fragments in Australian forest soils. Transactions of the British Mycological Society 82: 605-613.
- Pernezny, K., Roberts, P. D., Murphy, J. F. and Goldberg, N. P. 2003. Compendium of pepper diseases. The American Phytopathological Society. 63 p.
- Ramírez, M. C. 1998 Evaluación de fungicidas en el tratamiento a semillas de trébol (*Phaseolus vulgaris*) para el control de *Rhizoctonia solani* en Chapingo, México. Tesis. Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.

- Ristaino, J. B. and Johnston, S. A. 1999. Ecologically based approaches to management of *Phytophthora blight* on bell pepper. Plant Disease 83: 1080-1089.
- Rodríguez, M. R. 1969. Estudio sobre el mecanismo de infección y la causa de la marchitez del chile (*Phytophthora capsici*). Tesis Profesional. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, México.
- SAGARPA-SIAP, 2003. Servicios de información agrícola y pecuaria
- Stamps, D. J., Waterhouse, G. M., Newhook, F. J., and Hall, G. S. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. Micological papers. 162. 28p.
- Tapal, B. B. 1995. Variabilidad de *Phytophthora capsici* Leo. en Jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Tesis de Maestría en Ciencias, C.P. Montecillo, México.
- Tapal, B. B. 2000. Características de las enfermedades fungosas en los cultivos horticolas. p 106-117. In: Bautista N. M., Suárez V. A. D. y Morales G. O. (eds). Temas selectos en fitosanidad y producción de hortalizas. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México.
- Timmer, L. W. y Menge, J. A. 1989. *Phytophthora*-induced diseases. In. Whiteside, J. O., Gamsey, S. M., Timmer, L. W. Eds. Compendium of citrus diseases. St. Paul, Minnesota. The American Phytopathological Society. pp 22-24.

- Tsao, P.H. 1969 Studies on the saprophytic behavior of *Phytophthora parasitica* in soil. p.1221-1230. In: H.D. Chapman (ed). Proc. First. Internat. Citrus Symp. Vol. 3. University California Riverside.
- Watanabe, T. 2002. Pictorial atlas of soil and seed fungi, morphologies of cultured fungi and key to species. USA. 485 p.
- Waterhouse, G. M. 1963. Key to the specie of *Phytophthora* de Bary. Mycological Papers No. 92. Commonw. Mycol. Inst., Assoc. Appl. Biol., Kew, Surrey, England. 22 p.
- Zentmyer, G. A. y Erwin, D. C. 1970 Development and reproduction of *Phytophthora*. Phytopathology 60: 1120-1127.

**PATOGENICIDAD, DE *Phytophthora phaseoli* Y EVALUACION DE
VARIEDADES DE FRIJOL EJOTERO, BAJO CONDICIONES
CONTROLADAS EN INVERNADERO**

**JUAN RAMÓN GAYTÁN-MEJÍA¹, MARCELO ACOSTA-RAMOS¹ BERTHA
TLAPAL-BOLAÑOS², GERARDO LEYVA-MIR¹**

¹PROGRAMA EN PROTECCIÓN VEGETAL. DEPARTAMENTO DE
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO,
56230. CHAPINGO, EDO. DE MÉXICO. MÉXICO. gaytanjr76@yahoo.com.mx

²DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA. UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA CHAPINGO. 56230. CHAPINGO, EDO. DE MÉXICO. MÉXICO.

RESUMEN

Se determinó el agente causal del tizón del frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris*) obteniéndose un aislamiento de plantas colectadas en la región del Valle del Mezquital en Hidalgo, México durante 2003 y 2004. Al efectuarse los Postulados de Koch se determinó que el agente causal de dicha enfermedad fue *Phytophthora phaseoli*. Se evaluó la resistencia de las variedades XP810498098, Zodiaco, Posquad, Opus, Bronco y Huracan contra *Phytophthora phaseoli*, las cuales se establecieron en invernadero bajo un diseño completamente al azar, resultando todas susceptibles a dicho fitopatógeno.

1. INTRODUCCION

En México, en los últimos años las hortalizas han cobrado un auge importante desde el punto de vista de la superficie sembrada, y en el ámbito social obligado al número de mano de obra que requiere y a la captación de divisas que genera (Valadez, 2001).

En el estado de Hidalgo el frijol ejotero es una hortaliza que en los últimos años ha mostrado un crecimiento importante en la producción comercial de hortalizas; sólo en el 2002 la superficie sembrada alcanzó las 1,974 ha, con una producción que rebasa las 13,000 toneladas y ubicaron al estado en el tercer lugar de producción a nivel nacional (SIAP-SAGARPA, 2003).

Los problemas fitosanitarios de este cultivo no han permitido alcanzar su potencial de producción por diversas enfermedades, dentro de las cuales se encuentra el tizón del ejote, aparte de que, los costos de producción se han incrementado debido al manejo inadecuado de la enfermedad en el cultivo de frijol ejotero por desconocerse el agente causal de dicha enfermedad. En el Valle del Mezquital, Hidalgo provoca pérdidas considerables en las zonas productoras de la región y hasta el momento no existe ningún diagnóstico fitosanitario o estudio fitopatológico, que indique el agente causal y menos aun el manejo de esta enfermedad en el proceso productivo del frijol ejotero. La falta de información acerca del cultivo, la incidencia alta de la enfermedad, y las pérdidas económicas de los productores son las razones para realizar estudios

que permitan determinar el agente causal del tizón de la vaina en frijol ejotero; así como establecer estrategias de manejo genético, cultural y químico que ayuden a reducir el problema. Por lo anterior se planteó la presente investigación con los objetivos siguientes:

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

1) Determinar el agente causal del tizón en frijol ejotero, en regiones productoras del Valle del Mezquital en Hidalgo, México.

2.2. Objetivos específicos

a) Determinar el agente causal del tizón en frijol ejotero en regiones productoras de Hidalgo, México.
b) Evaluar la posible resistencia, de diferentes variedades de frijol ejotero en

invernadero.

HIPÓTESIS

El tizón del frijol ejotero es causada por diversos hongos.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Localización de las áreas de estudio

Durante el verano-otoño de los ciclos agrícolas 2003-2004, se realizaron recorridos de campo en tres localidades Dcoxey, Tlaxcoapan y Teocalco en la región productora de frijol ejotero en el Valle del Mezquital, Hidalgo, en donde se presentaron síntomas del tizón del frijol ejotero.

3.2. Muestras

En cada localidad se realizaron dos colectas de material vegetal en agosto 2003 y septiembre 2004, se tomaron diferentes partes vegetativas como son inflorescencias, tallos, pedicelos y frutos con síntomas de crecimiento micelial blanquecino sobre vainas, tallos y hojas con lesiones de color café grisáceo a café rojizo, de consistencia acuosa así como necrosamiento en el resto de la planta. Se tomaron datos de la incidencia de la enfermedad en campo para lo cual, de un surco central de cada parcela se observaron 100 plantas y se contó el porcentaje de plantas enfermas. En cada muestreo se colectaron 10 plantas por localidad. La colecta se realizó en "W" sobre un terreno de 500 m² por localidad. El material fue depositado en bolsas de polietileno y etiquetado. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Hongos Fitopatógenos del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, en donde se colocaron a 4° C, para ser analizadas posteriormente.

3.3. Aislamiento

Directo. Una parte del material colectado se colocó en cámara humedad para estimular la esporulación, posteriormente se observó al microscopio para buscar estructuras reproductivas y vegetativas.

Indirecto. Las muestras colectadas con síntomas de necrosis, con presencia de

micelio, flacidez en yemas florales y vainas, además de lesiones en tallo y vaina de coloración café a café rojizo fueron seleccionadas y lavadas a chorro de agua durante 5 minutos, para retirar residuos de tierra, después se cortaron trozos de 5 mm, este material se desinfectó con hipoclorito de sodio al 1% (Apéndice 1) durante tres minutos y se lavo tres veces consecutivas con agua destilada esterilizada durante 3 minutos en cada lavado, el material se retiró del agua y se secó sobre sanitas estériles.

Siembra. Los medios de cultivo utilizados para la siembra del material vegetal fueron PDA (papa-agar-dextrosa) (Apéndice 2) y 3P (harina-maíz-benomyl-antibióticos-agar) (Apéndice 3). De cada planta colectada se sembraron en PDA cinco trozos de tallo, hojas y vainas, este material se incubó a temperatura ambiente (25°C) con 12 horas luz / 12 horas oscuridad. En 3P se sembró la misma cantidad de material y se incubó a 25°C en oscuridad constante. En total por localidad y por fecha de muestreo se sembraron 250 trozos de tallo, hoja y vaina respectivamente.

Purificación. Los aislamientos se transfirieron en agua-agar (Apéndice 4) para purificarlos mediante la técnica de punta de hisa. Una vez purificados los aislamientos se identificaron a nivel de género. Los aislamientos se preservaron en tubos con PDA con aceite.

3.4. Pruebas de patogenicidad en plantas

Se realizaron en plantas de frijol ejotero variedad "Strike" de siete días de emergencia, dichas pruebas se llevaron a cabo en invernadero con temperatura que oscilaban de 25°C durante el día y 10°C en la noche. Se realizó en

invernadero bajo condiciones controladas al inocular plántulas de frijol ejotero de la variedad "Stryke", con presencia de más de dos hojas verdaderas ó 7 días después de emergencia de las plantas; el experimento se realizó de febrero a marzo del 2005. En esta fase se evaluó el aislamiento obtenido de plantas enfermas de campo, dicho aislamiento se inoculó en diez repeticiones y se dejó un testigo. La prueba de patogenicidad para este tratamiento se realizó bajo el procedimiento siguiente.

Se sembraron diez macetas con cinco semillas cada una con la variedad "Stryke" más un testigo, se espero a que las plántulas tuvieran siete días de emergidas, para posteriormente ser asperjadas con 50 mL de una solución esporangial a cada maceta. Las macetas se colocaron a una temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ durante el día y $10 \pm 3^\circ\text{C}$ en la noche con una humedad relativa $>90\%$.

Preparación del inóculo

Los esporangios se produjeron cultivando este pseudohongo en medio V-8 (Jugo de verduras V8 Cambells- CaCO_3 -Agar) (Apéndice 5) a 20°C en oscuridad constante por 20 días, después se tomaron 10 discos de 0.5 cm de diámetro de la colonia y se colocaron en una caja Petri con agua destilada esterilizada, posteriormente se incubaron a temperatura ambiente ($25 \pm 4^\circ\text{C}$) con luz blanca constante por 1 hora, posteriormente con la ayuda de un hematócitómetro se ajustó la solución a una concentración de 1000 esporangios $\cdot\text{mL}^{-1}$. Los esporangios producidos se colocaron en refrigeración a 4°C por cinco minutos para promover la liberación de zoosporas.

Reaislamiento del fitopatógeno

Del tratamiento se seleccionaron las plántulas con síntomas típicos de la enfermedad, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% durante tres minutos, se lavaron tres veces consecutivas con agua destilada esterilizada para finalmente secarlas con sanitas estériles y se sembraron nuevamente en cajas de petri con PDA e incubaron a temperatura ambiente ($25 \pm 4^\circ \text{C}$) en oscuridad constante. El aislado desarrollado se realizó en medio de cultivo PDA y se comparo morfológicamente con el aislamiento inoculado.

3.5. Identificación

A género: Por tratarse de un pseudohongo se utilizaron claves taxonómicas de Ainsworth *et al.* (1973) y Watanabe (2002).

A especie: Se tomaron en cuenta características de micelio; dimensiones y características de 100 esporangios. Según las claves de Waterhouse (1963), Stamps *et al.*, 1990 y Erwin and Riveiro (1996). Los esporangios se produjeron cultivando este pseudohongo en medio V-8 (jugo de verduras V8 Cambells-CaCO₃-Agar) (Apéndice 5) a $20^\circ \text{C} \pm$ manteniéndolo en oscuridad constante por 15 días.

Variable evaluada en inoculación al suelo en plántulas de frijol ejotero

Incidencia de la enfermedad. Se evaluado la incidencia de la enfermedad, la cual se considero como la proporción de plántulas que presentaron daño en relación a la población total del tratamiento. Las evaluaciones se realizaron a las 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 h después de la inoculación, en un intervalo de siete días con una frecuencia de 24 h.

La incidencia se estimó mediante la siguiente ecuación:

$$I_i = \frac{\sum n_i}{N_i} \dots \dots \dots \text{Ecuación 1}$$

Donde:

I_i = incidencia de la enfermedad en el momento i ;

n_i = número de plántulas enfermas en el momento i ;

N_i = población total de plántulas en el momento i .

3.6. Evaluación de variedades de frijol ejótero para el manejo de tizón del ejote en condiciones controladas

En esta fase se inóculo el aislamiento obtenido de las pruebas de patogenicidad en invernadero. Se evaluaron seis distintas variedades (Cuadro 1) de frijol ejótero con el objetivo de detectar resistencia al ataque del hongo, las variedades evaluadas pertenecen a la empresa Seminis Vegetables Seed Company.

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con diez repeticiones para cada variedad, cada tratamiento consistió de diez macetas con cinco plantas de la misma variedad por maceta, para formar un total de diez macetas con 50 plantas por tratamiento, donde la unidad experimental fue una maceta; para cada maceta se utilizó seis kg de suelo pasteurizado y la inoculación se realizó en floración-fructificación. De cada tratamiento se evaluó el porcentaje de plantas infectadas en aproximadamente dos semanas después de la inoculación a cada 48 h, durante la evaluación se tuvo una humedad relativa alta >90% y temperatura de $22 \pm 3^\circ \text{C}$ durante el día y $10 \pm 3^\circ \text{C}$ en la noche manteniendo estas condiciones durante 10 días después de la inoculación.

Preparación del inóculo

Se realizó una aplicación de una solución esporangial del patógeno, el inóculo fue producido al ser removido el crecimiento micelial del patógeno en medio de cultivo V-8 (jugo de verduras V8 Cambells-CaCO₃-Agar) (Apéndice 5) agregando los volúmenes completos de las cajas de petri a frascos que contenían el agua destilada esterilizada. La suspensión fue completamente mezclada, agitando con la mano para obtener la liberación de zoosporas, se filtro la suspensión para retirar cualquier residuo de agar, para posteriormente ser examinados bajo el microscopio y verificar la presencia de esporangios. Cada maceta se inoculó con 100 mL de la suspensión esporangial a una concentración de 1000 esporangios•mL y vertiéndolos hacia la superficie del suelo.

Cuadro 1. Variedades de frijol ejotero inoculados con *Phytophthora phaseoli* bajo condiciones controladas en invernadero.

No. TRATOS		VARIEDADES
0	TESTIGO	(STRIKE)
10	XP8104098	
20	ZODIAC	
30	POSQUAD	
40	OPUS	
50	BRONCO	
60	HURACAN	

Variable a evaluar.

Resistencia. La resistencia o susceptibilidad fue determinada por la presencia o ausencia del desarrollo de micelio sobre las plantas de las distintas variedades de frijol ejotero. Además, se estimó la reacción de resistencia (Cuadro 2) de las distintas variedades de frijol ejotero en base al porcentaje de infección observado en las plantas de cada variedad usando la escala siguiente (Davidson *et al.* 2001).

Cuadro 2. Parámetros establecidos por Davidson *et al.* 2001 para determinar la reacción de resistencia a *Phytophthora phaseoli* en diversas variedades de frijol ejotero en invernadero.

REACCIÓN DE	REACCIÓN
VALOR DE LA	REACCIÓN
ALTA	SUSCEPTIBLE
Entre 15 y 17 % plantas infectadas	SUSCEPTIBLE
MODERADAMENTE	RESISTENTE
Entre 5 y 15% plantas infectadas	RESISTENTE
RESISTENTE	<2% plantas infectadas

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Incidencia de la enfermedad y síntomas

De los muestreos realizados en la Región del Valle del Mezquital, Hidalgo, se observó una incidencia de la enfermedad mayor al 80%, además de encontrar síntomas en diversas partes de la planta (Figura 1), lo cual afecta sin duda el rendimiento y calidad de la vaina, esto a pesar de que en la mayoría de los casos se habían realizado aplicaciones de algún fungicida.

Fue muy notoria la presencia de síntomas en aquellas partes donde el tipo de suelo era más arcilloso o pesado aun estando en una misma parcela; es importante indicar también que en parcelas donde la densidad de siembra era alta, la incidencia de la enfermedad fue mayor que en aquellas parcelas donde su población era baja. Con referencia a los síntomas encontrados se observo que ataca a pecíolos, racimos florales, y vainas lo cual coincide con Campos, 2001, debido a que menciono que el hongo ataca la parte media de los pecíolos, y cuando la infección circunda el pecíolo, ocasiona la flacidez de las yemas florales y vegetativas, además, en las vainas por ser muy susceptibles es más notoria la enfermedad. En aquellas parcelas donde estaba sembrado con semilla obtenida por los mismos agricultores a partir de semilla certificada, es donde la intensidad de dicha enfermedad llegó alcanzar una devastación casi total del cultivo sin oportunidad de realizar la cosecha, ya que dicho patógeno atacó severamente los racimos florales, lo mismo pasó con aquellas parcelas donde tenían antecedentes de que con anterioridad su siembra ha sido de frijol ó frijol ejotero.



Figura 1. Síntomas encontrados en campo del tizón del frijol ejotero en tres localidades de la región productora del Valle del Mezquital en Hidalgo, México.

Aquellos productores que por alguna razón a pesar de presencia de lluvias realizaban riegos en su cultivo fue evidente que no permitieron al cultivo llegar a la etapa de floración debido a la incidencia alta del patógeno en el cultivo, lo cual se asemeja con lo citado con Campos, 2001., ya que indico que en las regiones de México donde se presenta esta enfermedad se ha visto una abundante esporulación, cuando el tiempo es muy húmedo y las temperaturas son de 13 a 23 ° C.

4.2. Aislamiento directo

De los aislamientos directos se encontró la presencia abundante de esporangios semipapilados o con papila inconspicua (<4 µ), alimonados, ovales a elípticos con la base truncada además de oosporas y micelio cenocítico, características del género *Phytophthora* (Romero 1993).

4.3. Aislamiento indirecto

De los diversos aislamientos indirectos que se realizaron se obtuvo un aislamiento del patógeno (Figura 2), con características específicas del género *Phytophthora* (Waterhouse, 1962). El crecimiento fue muy lento en medio de cultivo PDA en comparación con el medio de cultivo 3P esto debido a que dicho hongo requiere de ciertos nutrientes específicos para su crecimiento.



Figura 2. Aspecto del aislamiento obtenido en forma indirecta de plantas con síntomas del tizón del frijol ejotero, en medio de cultivo PDA.

4.4. Pruebas de patogenicidad en plántulas de frijol ejotero en invernadero

De la evaluación realizada de la inoculación del patógeno a plántulas en invernadero, se encontró que el aislamiento obtenido de frijol ejotero resulto patogénico en todo el tratamiento. En esta fase se observó que el periodo de incubación del patógeno fue de las 48 a 72 h después de la inoculación (Cuadro 3) y en todo el tratamiento se expresaron los síntomas observados en campo (Figura 3), además de que, en aquellas plántulas que tenían altura o número de hojas mayor, la presencia de síntomas fue más tardía, lo cual coincide con lo reportado por Goth and Wester (1963), quienes señalaron que plántulas de frijol de lima fueron susceptibles cuando se encontraban en etapa de desarrollo de la (primeras hojas verdaderas o de siete días de emergidas a 30 °C). Es decir, en este estado de desarrollo la plántula entera fue infectada, excepto por los cotiledones, los cuales no mostraron síntoma alguno en contraste con plantas de 40 días de emergidas las cuales presentaron dificultad mayor para infectarse.

Es importante señalar que para que se expresen los síntomas es trascendental que las condiciones sean las propicias para el desarrollo de la enfermedad ya que de no ser así no es factible la expresión de síntomas, puesto que la viabilidad del esporangio puede ser afectada si se encuentra a una temperatura menor a los 5°C o en su defecto si supera los 30°C por un periodo de dos semanas tal como lo expresaron Hyre and Cox, 1953.

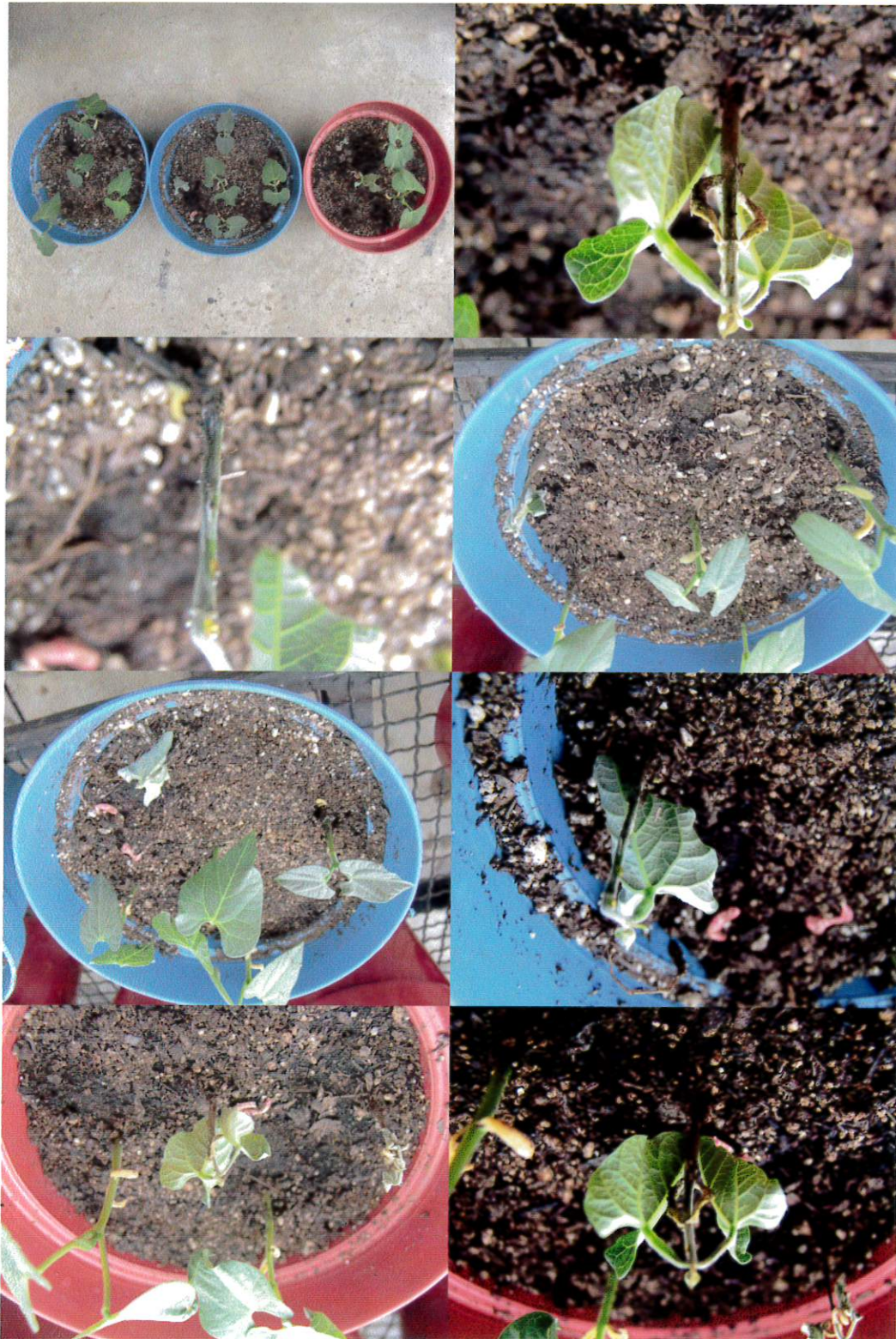


Figura 3. Síntomas presentes en inoculación del patógeno a plántulas de frijol

ejotero variedad "Strike".

Cuadro 3. Incidencia del tizón del frijol ejotero en plántulas de la variedad Strike en proporción del aislamiento inoculado en invernadero bajo condiciones controladas.

TIEMPO DESPUES DE LA INOCULACION									
EXPRESADA EN HORAS									
Tratamiento	Incidencia								
	0	24	48	72	96	120	144	168	final
R1	0.0	0.0	0.4	0.4	0.6	0.8	0.8	0.8	0.8
R2	0.0	0.0	0.2	0.4	0.4	0.8	0.8	1.0	1.0
R3	0.0	0.0	0.0	0.2	0.4	0.8	0.8	0.8	1.0
R4	0.0	0.0	0.0	0.2	0.4	0.6	0.6	0.8	1.0
R5	0.0	0.0	0.2	0.2	0.2	0.4	0.4	0.8	0.8
R6	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.4	0.6	0.6	0.8
R7	0.0	0.0	0.0	0.4	0.4	0.4	0.8	0.8	1.0
R8	0.	0.0	0.2	0.2	0.6	0.6	0.8	1.0	1.0
R9	0.0	0.0	0.2	0.6	0.6	0.8	0.8	0.8	1.0
R10	0.0	0.0	0.2	0.4	0.6	0.6	0.8	0.8	1.0

En base a los síntomas encontrados en dicha evaluación, estos concuerdan con los encontrados en campo y esto sirvió para conocer la diferencia que existe con otros patógenos como *Phytophthora capsici* ó *Sclerotinia sclerotiorum* y que se asocian al cultivo del frijol ejotero, además de que al no tenerlo combinado con algún otro patógeno es importante el conocer bien su sintomatología para que al momento de realizar un diagnóstico, esté sea exitoso y poder definir la

mejor estrategia de manejo de la enfermedad ya que dicho patógeno puede atacar desde etapas tempranas al tener las condiciones favorables para que esta se desarrolle.

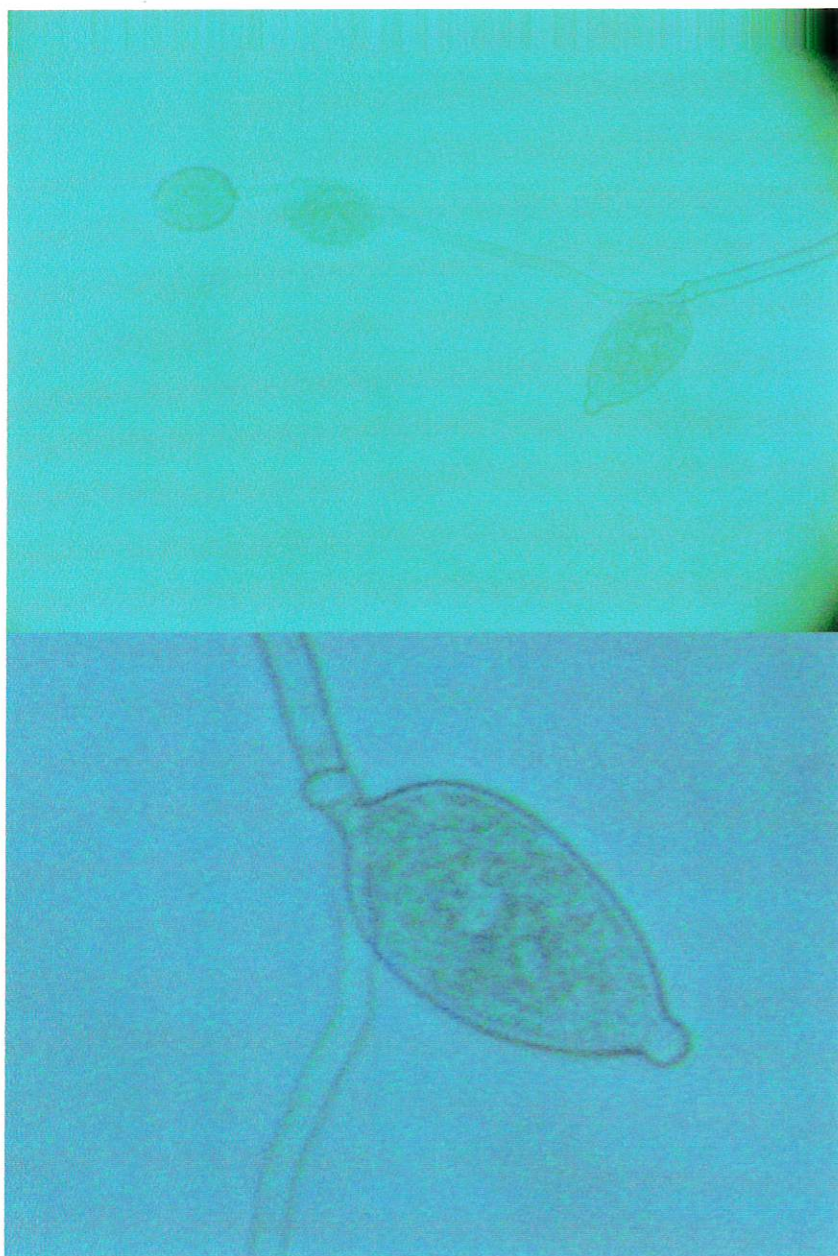
4.5 Identificación del pseudohongo

Phytophthora phaseoli. El aislamiento de *Phytophthora* que se encontro infectando a frijol ejotero, presentó micelio cenótico, bien desarrollado, con pedicelo corto de 4 a 18 μ . Los esporangioforos fueron simples y ramificados en la base, con hinchamiento típico de la especie. Los esporangios fueron semipapilados y con papila inconspicua (<4 μ), ovales a elípticos, allmonados con la base truncada y sus dimensiones fueron de 38-45 x 19 a 25, caducos con pedicelo bastante corto de 4 a 15 μ (Figura 4a y 4b), lo cual nos llevo a determinar que correspondió a *Phytophthora phaseoli*, lo cual coincide con lo reportado por Buenrostro y Soriano (1987) y Campos (2001)



Figura 4a. Esporangio de *Phytophthora phaseoli* con papila inconspicua, allmonado, pedicelo corto y con el hinchamiento típico.

Figura 4b. Esporangios caducos, esporangioforo de ramificación simple, con micelio cenocítico e hinchamientos típicos de *Phytophthora phaseoli*, agente causal del tizón del frijol ejotero en la región del Valle del Mezquital en Hidalgo, México.



4.6 Evaluación de variedades de trébol ejotero a *Phytophthora phaseoli* en invernadero

Los resultados de la incidencia de la enfermedad mostraron valores altos debido a que se tuvieron las condiciones favorables para propiciar el desarrollo de la enfermedad. En todas las variedades se mostraron síntomas, por lo que todas las variedades fueron susceptibles (Figura 5).

El porcentaje de plantas infectadas fue variable debido a que cada variedad mostró niveles distintos de resistencia. Las variedades que presentaron menor porcentaje de plantas infectadas fueron XP8104098, Zodiac, Bronco. Sin embargo el patógeno estuvo presente por lo que fueron susceptibles a *Phytophthora phaseoli* (Cuadro 4,) y a pesar de que dichas variedades no

Cuadro 4. Variedades evaluadas para determinar resistencia a *Phytophthora phaseoli* en base al porcentaje de infección en invernadero

VARIEDADES	Porcentaje de plantas infectadas ^a	
	Resistencia ^b	

TESTIGO	HS	100
XP8104098	S	21.5
ZODIAC	S	19.4
POSQUAD	HS	97.5
OPUS	HS	92.4
BRONCO	S	14.3
HURACAN	HS	96.4

^a Porcentaje de plantas infectadas incluye la infección cualquier parte de la planta conteniendo racimos, pecíolos o vainas.

^b Reacción de resistencia: HS=altamente susceptible(>85% plantas infectadas), S=susceptible (entre 15 y 17% plantas infectadas), MR=moderadamente resistente(entre 5 y 15% de plantas infectadas), R=resistente (< 2% de plantas infectadas).



Figura 5. Diversidad de síntomas de *Phytophthora phaseoli* en base a la reacción de resistencia en cada una de las variedades evaluadas de frijol ejótero en invernadero bajo condiciones controladas.

obtuvieron un porcentaje alto de plantas infectadas y si se pudiera pensar en utilizarlas dentro de un manejo integrado al cultivo, dichas variedades no presentarían las características comerciales deseables que se demandan en este producto para su venta, o su venta es a un precio menor o sólo si hay carencia

del producto en el mercado.

La presencia de síntomas en el resto de las variedades fue más permanente ya que afectó diversas partes de la planta, aunque hay que señalar que en la variedad Huracán la precocidad de esta variedad para emitir tanto la inflorescencia como las primeras vainas podrían ser una alternativa a utilizar, debido a que, al mover un poco la fecha de siembra y asociado a la precocidad de esta variedad y en determinado momento se evada la presencia del patógeno para no coincidir con las condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad o en su defecto afectaría al cultivo solamente cuando esté se encuentre en el tercer o último corte, los cuales por las características comerciales que se demandan en el mercado son de menor precio a menos de que exista una carestía del producto en el mercado. A pesar de que Opus y Posquad son variedades que son recomendadas para sembrarse en temporada de lluvias, presentar resistencia intermedia a Roya y de poseer las características deseables para su comercialización su porcentaje de plantas infectadas es alto y no es recomendable su uso para épocas en las que se pueden presentar las condiciones ideales para el desarrollo de la enfermedad.

La razón por la cual estas variedades presentaron un porcentaje alto de infección fue el hecho de que para *Phytophthora phaseoli* se han reportado que presenta por lo menos seis distintas razas en frijol lima (*Phaseolus lunatus*)

(Santamaría, et. al. 2003) y por tanto dichas variedades no cuentan con resistencia para una o mas de una raza del patógeno, no omito señalar que en esta investigación no se determino que raza o razas son las que están presentes en frijol ejotero en la región del Valle del Mezquital, Hidalgo, México.

Es importante el hecho de sugerir el que se establezca un manejo integrado del cultivo, que incluyan desde rotaciones con algunos granos, el utilizar exclusivamente semilla certificada y variedades precoces con un alto rendimiento en los primeros cortes durante la cosecha del cultivo, mover las fechas de siembra para no coincidir con el periodo de lluvias o humedad relativa alta, establecer un excelente programa de fertilización para que en todo momento la planta tenga un mecanismo de defensa por si misma pero evitando caer en excesos en la fertilización que nos puedan llevar a tener plantas suculentas, otra practica sería el uso de micorrizas asociado a la inoculación de bacterias fijadoras de nitrógeno; dentro de las practicas agricolas es recomendable el uso de surcos altos y a mayor distanciamiento entre hileras (>.80m) completando con densidades de población más bajas para evitar que se faciliten las condiciones propicias para el desarrollo de la enfermedad, además de tener un manejo adecuado de agroquímicos para las distintas plagas presentes en la producción de frijol ejotero, no obstante por todo esto se elevarían bastante los costos de producción, pero el riesgo de contar con la presencia de *Phytophthora phaseoli* en el cultivo sería menor.

5. CONCLUSIONES

- Del sintoma de tizón del frijol ejotero en la región del Valle del Mezquital, Hidalgo, México., se aisló e identificó a *Phytophthora phaseoli*.
- En las pruebas de patogenicidad en plántulas en invernadero *Phytophthora phaseoli* indujo el tizón de frijol ejotero variedad "Strike" en plántulas de 7 días de emergidas.
- Las variedades Bronco, Zodiac y XP8104098, presentaron el porcentaje menor de plantas infectadas, pero sus características no son comerciales como el resto de las variedades.

6. LITERATURA CITADA

- Alinsworth, C. G., Sparrow, F. K., and Sussman, A. S. 1973. The Fungi. An Advanced Treatise. Vol. IVB. A Taxonomic Review with Keys: Basidiomycetes and Lower Fungi. Academic Press. 504 p.
- Davidson C. R., Evans T. TA., Mulrooney R. P., and Carroll R. B. 2001. Evaluation of lima bean cultivars for resistance to downy mildew, 2001. Plant and Soil and Sciences Department University of Delaware Newark, DE 19717-1303.
- Erwin D. C. y Ribeiro O. K. 1996 *Phytophthora* Diseases Worldwide. The American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota, USA. pp.562.
- Goth, R. W. y Wester, R. E., 1963. Culture of *Phytophthora phaseoli* on living and sterilized media. *Phytopathology* 53: 233-234.
- SAGARPA-SIAP, 2003. Servicios de información agrícola y pecuaria. México, Distrito Federal.
- Stamps, D. J., Waterhouse, G. M., Newhook, F. J., and Hall, G. S. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. *Micological papers*. 162. 28p.
- Valadez, L. A. 2001. Producción de hortalizas. Ed. Limusa México, Distrito Federal. p. 298.
- Watanabe, T. 2002. Pictorial atlas of soil and seed fungi, morphologies of cultured fungi and key to species. USA. 485 p. Watanabe (2002).
- Waterhouse, G. M. 1963. Key to the specie of *Phytophthora* de Bary. *Mycological Papers* No. 92. Commonw. Mycol. Inst., Assoc. Appl. Biol., Kew, Surrey, England. 22 p.

APÉNDICES

1.- Solución de hipoclorito al 1 % para 100 mL de solución

Componente	Cantidad
Blanqueador "Cloralex" al 6%.....	16.66 mL
Agua destilada.....	83.34 mL

Procedimiento. Para obtener la concentración deseada de la solución (1%) se

utiliza la siguiente fórmula:

$$V_1C_1=V_2C_2$$

Donde:

V_1 = Volumen necesario de cloro para preparar 100 mL de solución al 1%;
 C_1 =Concentración inicial del cloro (6);

V_2 = Volumen final de la solución (100 mL); C_2 = concentración final de la solución

(1%)

Por lo tanto:

$$(X) (6) = (100)(1)$$

$$X=16.66 \text{ mL de cloro}$$

$$100-16.66=83.34 \text{ mL de agua destilada}$$

Mezclar las cantidades correspondientes de agua y cloro.

2.- Medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA)

Componente	Cantidad
Papas peladas en trozos.....	200 g
Agar-agar.....	18 g

Dextrosa.....	12 g
Agua destilada.....	1,000 mL

Procedimiento. En un matraz con 500 mL de agua destilada colocar los trzos de papa y cocerlos a 120 °C (15 lb) durante 15 minutos. Después pasar el caldo pon manta de cielo, colectarlo en un v aso de precipitado y aforarlo a un litro. Distribuir la solución en partes iguales en dos matraces (500 mL en cada uno). Previamente a cada matraz agregar 9 g de agar-agar y 6 g de dextrosa. Esterilizar el medio a 15 lb de presión po 15 minutos, dejar enfriar a 30 °C y vaciar en cajas de Petri.

3.-Medio de cultivo 3P

Componente	Cantidad
Harina de maíz.....	20 g
Agar-agar.....	18 g
Agua destilada.....	1,000 mL
Benlate.....	0.04 g
Rifamicina.....	0.01 g
Ampicilina.....	0.125 g

Procedimiento. En un matraz colocar 500 mL de agua destilada y 20 g de harina de maíz, poner la mezcla al fuego hasta punto de hervor, después la cocción es fuego lento durante 15 minutos, inmediatamente después centrifugar la solución durante 20 minutos a 5,000 rpm. Pasar el sobrenadante de los tubos por manta de cielo, colectarlo en un vaso de precipitados y aforarlo a un litro (desechar el material sedimentado). Distribuir la solución en partes iguales en dos matraces (500 mL en cada uno). Previamente a cada matraz agregar nueve

g de agar-agar. Esterilizar el medio a 15 lb de presión por 15 minutos, dejar enfriar a 30 °C y adicionar el Benlate y los antibióticos para después vaciar en cajas Petri.

4.- Medio de cultivo Agua-Agar (A-A)

Componente	Cantidad
Agar-agar.....	18 g
Agua destilada.....	1,00 mL

Procedimiento. En un matraz colocar 500 mL de agua destilada y adicionar la cantidad correspondiente de agar. Esterilizar el medio a 15 lb de presión por 15 minutos, dejar enfriar a 30 °C y vaciar en cajas de Petri.

5.- Medio de cultivo Jugo V-8

Componente	Cantidad
Jugo de verduras (V-8) <i>Campbell's</i>	300 mL
Carbonato de calcio.....	4 g
Agar-agar.....	18 g
Agua destilada.....	1,000 g

Procedimiento. Mezclar el jugo V8 con el carbonato de calcio, agitar la solución para homogenizarla y centrifugar durante 20 minutos a 5,000 rpm. Pasar el sobrenadante de los tubos po manta de cielo, colectarlo en un vaso de precipitados y aforarlo a un litro (desechar el material sedimentado). Distribuir la solución en partes iguales en dos matraces (500 mL en cada uno). Previamente a cada matraz agregar 9 g de agar-agar. Esterilizar el medio a 15 lb de presión por 15 minutos, dejar enfriar a 30 °C y vaciar en cajas de Petri.

Apéndice 6. Cálculo del ABCPE en dos formas de inoculación de *Phytophthora capsici* en frijol ejotero bajo condiciones controladas.

```

data capsici;
input R1 t sev;
cards;
1 0 0
1 12 0
1 24 0.066
1 36 0.146
1 48 0.226
1 60 0.346
1 72 0.426
1 84 0.560
1 96 0.640
1 108 0.693
1 120 0.826
1 132 0.893
1 144 0.933
1 156 0.960
1 168 1.00
2 0 0
2 12 0
2 24 0
2 36 0
2 48 0.026
2 60 0.106
2 72 0.226
2 84 0.306
2 96 0.453
2 108 0.600
2 120 0.693
2 132 0.800
2 144 0.866
2 156 0.906
2 168 1.00
!
run;
data area;
set capsici;
ABCPE = ((sev+lag(sev))/2)*(t-lag(t));
if t=0 then ABCPE=.;
proc print; proc sort; by R1;
proc summary data=area nway;
class R1;
var ABCPE;
output out=totarea sum (ABCPE)=TOTAREA;
PROC PRINT;

```

[illegible]

Apéndice 7. Prueba de Tukey de comparación de ABCPE en las dos formas de inoculación de *Phytophthora capsici* en frijol ejótero bajo condiciones controladas.

```
data DIFABCPBCapsici;
  INPUT F1 T ABCPE;
  CARDS;
```

```
1 12 0.00
1 24 0.396
1 36 1.272
1 48 2.232
1 60 3.432
1 72 4.632
1 84 5.916
1 96 7.200
1 108 7.998
1 120 9.114
1 132 10.314
1 144 10.956
1 156 11.358
1 168 11.760
2 12 0.00
2 24 0.00
2 36 0.00
2 48 0.156
2 60 0.792
2 72 1.992
2 84 3.192
2 96 4.554
2 108 6.318
2 120 7.758
2 132 8.958
2 144 9.996
2 156 10.632
2 168 11.436
```

```
!
PROC GLM;
  CLASSES F1 T;
  MODEL ABCPE = T F1;
  MEANS F1/TUKEY;
RUN;
```

```
The SAS System
17:23 Saturday, December 5, 1992 1

The GLM Procedure

Class Level Information

Class      Levels      Values
F1          2          1 2
T          14         12 24 36 48 60 72 84 96 108 120 132 144 156 168

Number of observations      28
```

The SAS system 17:23 Saturday, December 5, 1992 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: ABCPE

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	14	492.3119571	35.1651398	78.77	<.0001
Error	13	5.8039097	0.4464546		
Corrected Total	27	498.1158669			

R-Square 0.988348

Coeff Var 12.27904

Root MSE 0.668173

ABCPE Mean 5.441571

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr
T	13	476.8664709	36.6820362	82.16	<.0001
F1	1	15.4454863	15.4454863	34.60	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr
T	13	476.8664709	36.6820362	82.16	<.0001
F1	1	15.4454863	15.4454863	34.60	<.0001

The SAS system 17:23 Saturday, December 5, 1992 3

The GLM Procedure

Tukey's studentized Range (HSD) Test for ABCPE

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but it generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha 0.05

Error Degrees of Freedom 13

Error Mean Square 0.446455

Critical Value of Studentized Range 3.05529

Minimum Significant Difference 0.5456

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey grouping	Mean	N	F1
A	6.1843	14	1
B	4.6989	14	2

Apéndice 8. Prueba de Tukey para efectividad “in vitro” de fungicidas.

data Efectividad;
input rep trat diam;
cards;

1	00 25	2	00 26	3	00 29	4	00 29	5	00 28
6	00 25	7	00 26	8	00 27	9	00 28	10	00 30
1	10 0.0	2	10 0.0	3	10 0.0	4	10 0.0	5	10 0.0
6	10 0.0	7	10 0.0	8	10 0.0	9	10 0.0	10	10 0.0
1	11 0.0	2	11 0.0	3	11 0.0	4	11 0.0	5	11 0.0
6	11 0.0	7	11 0.0	8	11 0.0	9	11 0.0	10	11 0.0
1	20 0.0	2	20 0.0	3	20 0.0	4	20 0.0	5	20 0.0
6	20 0.0	7	20 0.0	8	20 0.0	9	20 0.0	10	20 0.0
1	21 0.0	2	21 0.0	3	21 0.0	4	21 0.0	5	21 0.0
6	21 0.0	7	21 0.0	8	21 0.0	9	21 0.0	10	21 0.0
1	30 05	2	30 06	3	30 04	4	30 04	5	30 05
6	30 04	7	30 05	8	30 06	9	30 05	10	30 05
1	31 03	2	31 04	3	31 03	4	31 04	5	31 03
6	31 03	7	31 02	8	31 04	9	31 03	10	31 03
1	40 0.0	2	40 0.0	3	40 0.0	4	40 0.0	5	40 0.0
6	40 0.0	7	40 0.0	8	40 0.0	9	40 0.0	10	40 0.0
1	41 0.0	2	41 0.0	3	41 0.0	4	41 0.0	5	41 0.0
6	41 0.0	7	41 0.0	8	41 0.0	9	41 0.0	10	41 0.0
1	50 0.0	2	50 0.0	3	50 0.0	4	50 0.0	5	50 0.0
6	50 0.0	7	50 0.0	8	50 0.0	9	50 0.0	10	50 0.0
1	51 0.0	2	51 0.0	3	51 0.0	4	51 0.0	5	51 0.0
6	51 0.0	7	51 0.0	8	51 0.0	9	51 0.0	10	51 0.0
1	60 0.0	2	60 0.0	3	60 0.0	4	60 0.0	5	60 0.0
6	60 0.0	7	60 0.0	8	60 0.0	9	60 0.0	10	60 0.0
1	61 0.0	2	61 0.0	3	61 0.0	4	61 0.0	5	61 0.0
6	61 0.0	7	61 0.0	8	61 0.0	9	61 0.0	10	61 0.0
1	70 0.0	2	70 0.0	3	70 0.0	4	70 0.0	5	70 0.0
6	70 0.0	7	70 0.0	8	70 0.0	9	70 0.0	10	70 0.0
1	71 0.0	2	71 0.0	3	71 0.0	4	71 0.0	5	71 0.0
6	71 0.0	7	71 0.0	8	71 0.0	9	71 0.0	10	71 0.0
1	80 0.0	2	80 0.0	3	80 0.0	4	80 0.0	5	80 0.0
6	80 0.0	7	80 0.0	8	80 0.0	9	80 0.0	10	80 0.0
1	81 0.0	2	81 0.0	3	81 0.0	4	81 0.0	5	81 0.0
6	81 0.0	7	81 0.0	8	81 0.0	9	81 0.0	10	81 0.0
1	90 0.0	2	90 0.0	3	90 0.0	4	90 0.0	5	90 0.0
6	90 0.0	7	90 0.0	8	90 0.0	9	90 0.0	10	90 0.0
1	91 0.0	2	91 0.0	3	91 0.0	4	91 0.0	5	91 0.0
6	91 0.0	7	91 0.0	8	91 0.0	9	91 0.0	10	91 0.0

```

PROC GLM;
  CLASSES REP TRAT;
  MODEL DIAM = TRAT REP;
  MEANS TRAT/TUKEY;
RUN;

```

```

The SAS System      14:04 Saturday, December 5, 1992      1
The GLM Procedure

  Class Level Information

    Class          Levels          Values
    rep              10          1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
    trat             19          0 10 11 20 21 30 31 40 41 50 51 60 61 70 71 80 81 90 91

Number of observations      190

The SAS System      14:04 Saturday, December 5, 1992      2
The GLM Procedure
Dependent Variable: diam

```

<.0001	> F	Source	DF	Sum of squares	Mean Square	F Value	Pr
		Model	27	7137.757895	264.361404	1234.76	
		Error	162	34.684211	0.214100		
		Corrected Total	189	7172.442105			
R-Square 0.995164							
Coeff Var 24.83469							
Root MSE 0.462709							
Diam Mean 1.863158							
<.0001	> F	Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr
		trat	18	7135.842105	396.435673	1851.64	
		rep	9	1.915789	0.212865	0.99	
		Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr
<.0001	> F	trat	18	7135.842105	396.435673	1851.64	
<.0001	> F	rep	9	1.915789	0.212865	0.99	