

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA
MAESTRIA EN PROTECCION VEGETAL

26 / Chap.
K. Negro

ETIOLOGIA DE LA PUDRICION RADICAL DE LA OCRA
(Hibiscus esculentus L.) EN EL VALLE DE IGUALA
GUERRERO, /

TIRZO PAUL GODOY ANGULO



DIRECCION ACADEMICA
CHAPINGO, MEX.

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

CHAPINGO, MEX.

AGOSTO, 1988.

DEDICATORIA

A MIS PADRES, POR EL CARIÑO Y APOYO QUE SIEMPRE
ME HAN DADO.

A MI ESPOSA MARIA MAGDALENA, CON AMOR, POR EL
ESTIMULO Y APOYO QUE SIEMPRE ME DIO.

A MIS HIJOS, A QUIENES CONSIDERO EL MEJOR
ESTIMULO PARA SUPERARME.

Esta tesis fue realizada bajo la dirección de la Dra. Emma Zavaleta Mejía, fue revisada y aprobada por el Jurado Calificador y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

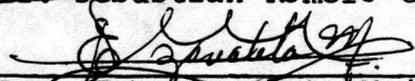
MAESTRO EN CIENCIAS ESPECIALISTA
EN PROTECCION VEGETAL

JURADO CALIFICADOR

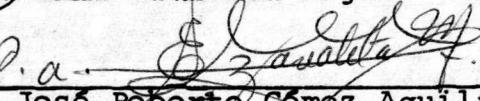
PRESIDENTE:


~~Dr. Sebastián Romero Gova~~

SECRETARIO:


~~Dra. Emma Zavaleta Mejía~~

VOCAL:

P.a. 
~~Dr. José Roberto Gómez Aguilar~~

SUPLENTE:


~~M.C. Lourdes Rodríguez Mejía~~

SUPLENTE:


~~M. C. Francisco Ponce González~~

20688

AGRADECIMIENTOS

A la Escuela Superior de Agricultura de la Universidad Autónoma de Sinaloa, por haberme dado la oportunidad de realizar los estudios de postgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el financiamiento durante mis estudios de maestría.

A la Dra. Emma Zavaleta Mejía, por la excelente dirección de este trabajo.

Al Dr. Sebastián Romero Cova, por su invaluable colaboración en esta tesis.

Al Dr. José Roberto Gómez Aguilar, por sus orientaciones en el asesoramiento estadístico.

A la M.C. Lourdes Rodríguez Mejía, por sus acertadas opiniones en la conducción de este trabajo.

A los Profesores de la Maestría en Protección Vegetal.

Al Dr. Carlos Sosa Moss, por haberme proporcionado las plantas diferenciales para la identificación del nemátodo agallador.

Al M. C. David Noriega Cantú, por su amistad y colaboración desinteresada en las salidas de campo.

I N D I C E

	Pág.
INDICE DE CUADROS -----	vii
INDICE DE FIGURAS -----	x
RESUMEN -----	xi
I. INTRODUCCION -----	1
II. REVISION DE LITERATURA -----	3
2.1. Interacción de <u>Meloidogyne</u> con hongos fitopatógenos -----	3
III. MATERIALES Y METODOS -----	11
3.1. Aislamiento de microorganismos asociados con la pudrición radical de la oca -----	11
3.2. Pruebas de patogenicidad -----	11
3.3. Identificación -----	13
a) Del nemátodo nodulador -----	13
b) De los hongos fitopatógenos -----	15
3.4. El efecto de <u>M. incognita</u> , <u>R. solani</u> y <u>F. solani</u> sobre oca var. Clemson Spineless bajo condiciones de invernadero -----	15
3.5. Análisis estadísticos de los resultados ----	19
IV. RESULTADOS Y DISCUSION -----	21
4.1. Aislamiento de microorganismos asociados con la pudrición radical de la oca -----	21
4.2. Pruebas de patogenicidad -----	21
4.3. Identificación -----	22
a) Del nemátodo nodulador -----	22
b) De los hongos fitopatógenos -----	24

	Pág.
4.4. Efecto de <u>M. incognita</u> , <u>R. solani</u> y <u>F. solani</u> sobre otra var. Clemson Spineless bajo condiciones de invernadero -----	26
V. CONCLUSIONES -----	41
VI. BIBLIOGRAFIA -----	43
VII. APENDICE -----	48

INDICE DE CUADROS

DEL TEXTO CUADRO		Pág.
1	Reacción de hospedantes diferenciales al ataque de especies y razas de <u>Meloidogyne</u> -----	14
2	Efecto de los patógenos <u>M. incognita</u> , <u>R. solani</u> y <u>F. solani</u> sobre el índice de infección radical, peso seco del follaje y producción de frutos de oca var. Clemson Spineless (primer experimento) -----	28
3	Análisis de varianza para los datos de peso seco del follaje a los 5 meses y peso del fruto obtenidos en el primer experimento ---	30
4	Efecto de la infección radical de la oca por <u>M. incognita</u> , <u>R. solani</u> y <u>F. solani</u> sobre la producción de fruto, y resultados de los análisis de regresión y correlación entre ambas variables (primer experimento) ---	34
5	Efecto de los patógenos <u>M. incognita</u> , <u>R. solani</u> y <u>F. solani</u> sobre oca var. Clemson Spineless (segundo experimento) -----	35
6	Análisis de varianza para los datos de peso seco del follaje y peso del fruto obtenidos en el segundo experimento -----	36
7	Efecto de la infección radical de la oca por <u>M. incognita</u> , <u>R. solani</u> y <u>F. solani</u> sobre la producción de fruto, y resultados de los análisis de regresión y correlación entre ambas variables (segundo experimento) --	38
DEL APENDICE		
1	Análisis de varianza de la regresión entre las variables agallamiento (N) y peso del fruto (primer experimento) -----	49

CUADRO		Pág.
2	Análisis de varianza de la regresión entre las variables pudrición (R) y peso del fruto (primer experimento) -----	49
3	Análisis de varianza de la regresión entre las variables agallamiento - pudrición (NR) y peso del fruto (primer experimento) -----	49
4	Análisis de varianza de la regresión entre las variables pudrición (F) y peso del fruto (primer experimento) -----	50
5	Análisis de varianza de la regresión entre las variables agallamiento - pudrición (NF) y peso del fruto (primer experimento) -----	50
6	Análisis de varianza de la regresión entre las variables pudrición (RF) y peso del fruto (primer experimento) -----	50
7	Análisis de varianza de la regresión entre las variables agallamiento - pudrición - (NRF) y peso del fruto (primer experimento)	51
8	Análisis de varianza de la regresión entre las variables agallamiento (N) y peso del fruto (segundo experimento) -----	51
9	Análisis de varianza de la regresión entre las variables pudrición (R) y peso del fruto (segundo experimento) -----	51
10	Análisis de varianza de la regresión entre las variables agallamiento - pudrición (NR) y peso del fruto (segundo experimento) -----	52
11	Análisis de varianza de la regresión entre las variables pudrición (F) y peso del fruto (segundo experimento) -----	52
12	Análisis de varianza de la regresión entre las variables agallamiento - pudrición (NF) y peso del fruto (segundo experimento) -----	52

CUADRO

Pág.

13	Análisis de varianza de la regresión entre las variables pudrición (RF) y peso del fruto (segundo experimento) -----	53
14	Análisis de varianza de la regresión entre las variables agallamiento - pudrición (NRF) y peso del fruto (segundo experimento) -----	53

INDICE DE FIGURAS

DEL TEXTO		Pág.
FIGURA		
1	Indice de agallamiento, donde 1 = ausencia de agallas, 2 = del 1 al 25% de raíces agalladas, 3 = 26 al 50%, 4 = 51 al 75% y 5 = 76 al 100% -----	20
2	Indice de necrosis, donde 1 = plantas sanas, 2 = daño muy leve, 3 = daño regular, 4 = daño severo y 5 = daño severo con plantas muertas o casi muertas -----	20
3	Modelo perineal de <u>Meloidogyne incognita</u> .	23
4	<u>Rhizoctonia solani</u> a) Micelio b) Células moniloides -----	25
5	<u>Fusarium solani</u> a) Fialides y microconidios b) Macroconidios c) Clamidosporas -----	27
6	Efecto de la interacción entre los patógenos sobre el peso seco del follaje (a), b), c) y d)) y peso del fruto (e) de la oca.	31

R E S U M E N

El cultivo de la oca (Hibiscus esculentus L.) es importante en el valle de Iguala, Gro., porque representa considerables ingresos para los productores, es una fuente de empleos para los habitantes de la región y además constituye una entrada importante de divisas para el estado. Sin embargo, existen muchos factores que limitan su producción entre los que sobresalen los problemas fitopatológicos ocasionados por microorganismos del suelo. De estos, el nemátodo modulador Meloidogyne sp. y ciertos hongos parecen estar involucrados en una severa pudrición del sistema radical de la oca, que resulta en un fuerte detrimento de los rendimientos del cultivo. Este problema se encuentra difundido en todas las áreas productoras de Iguala, Gro.; por tanto, el presente trabajo tuvo por objetivos: identificar los patógenos involucrados en la pudrición radical, evaluar su efecto sobre el peso seco del follaje y producción de fruto, y conocer la posible interacción entre los patógenos asociados a la enfermedad radical.

Los aislamientos realizados a partir de raíces de plantas enfermas mostraron que los organismos más frecuentemente asociados con el síntoma de pudrición fueron Meloidogyne incognita raza 1, Fusarium solani y Rhizoctonia solani.

Para evaluar los daños causados por cada uno de los patógenos y detectar posibles interacciones en su efecto sobre el peso seco del follaje y la producción de fruto, se realizaron dos experimentos bajo condiciones de invernadero. Los resultados de este estudio mostraron que M. incognita sólo o en combinación con los hongos F. solani y/o R. solani, se comportó como el patógeno principal, reduciendo considerablemente el peso seco del follaje y la producción de frutos en oca Var. Clemson Spineless. Los hongos F. solani y R. solani disminuyeron significativamente el peso seco del follaje en un 65.5 y 103%, respectivamente; sólo en el primer ensayo la combinación M. incognita-R. solani resultó en una interacción de tipo aditivo sobre el decremento de ambas variables señaladas en el primer experimento; en contraste, las asociaciones R. solani - F. solani, y M. incognita - R. solani, F. solani y M. incognita-F. solani, presentaron una relación antagónica sobre el peso seco del follaje y solamente la última combinación mostró también una interacción significativa de tipo antagónico al analizar su efecto sobre la producción de fruto en el mismo ensayo. En el segundo experimento no se detectaron interacciones significativas.

I. INTRODUCCION

La importancia del cultivo de la oca (Hibiscus esculentus L.) en México se debe a que genera empleos, representa una fuente de divisas para el país y según los productores de Iguala, Gro., es uno de los cultivos más redituables en la región. El interés del país en producir esta hortaliza es con el fin de exportarla a E.U.A. ya que los mexicanos no la consumen. Las vainas verdes de la oca se emplean como verduras en la preparación de diversos platillos en los Estados Unidos; la semilla se usa como café, harina para helados y en concentrados especiales para alimentar aves ponedoras; además de sus tallos se obtienen fibras y papel.

Los principales países productores de oca son Estados Unidos, Japón, Canadá, Brasil, Tailandia, India y México (Brook, citado por Toledo, 1983). La nación que consume actualmente una cantidad considerable de oca es E.U.A., y debido a la demanda de este producto, México la produce en varios estados de la república, siendo los más importantes Tamaulipas, Guerrero, Guanajuato y Morelos (UNPH, 1982). De acuerdo con los datos del Prontuario Estadístico Hortofrutícola de 1986, el país produjo 15,000 toneladas de oca.

La introducción de la oca a Iguala fue en 1966 y en los últimos años se han incrementado las áreas productoras en los ejidos de Acayahualco, Rincón de la Cocina, Santa Teresa, Tierra Colorada y la zona de la Laguna de Tuxpan.

Entre los factores que limitan la producción del cultivo de la oca se reportan 40 enfermedades causadas por diferentes patógenos, siendo los microorganismos del suelo problemas potenciales en la producción; al respecto, Toledo (1983) señala que las plantas de oca en el valle de Iguala, Gro. son afectadas por el nemátodo nodulador (Meloidogyne sp.) y que la población de éste aumenta en gran escala conforme pasa el tiempo. Asimismo, López (1986) encontró que las plantas de oca con mayor producción de frutos fueron las tratadas con nematicida (nemacur) sólo o en combinación con fungicida y/o insecticida, concluyendo que este cultivo es más atacado por nemátodos que por hongos e insectos del suelo.

En los campos agrícolas de Iguala se encuentra muy difundida una enfermedad en el cultivo de la oca, cuya sintomatología es achaparramiento, defoliación y muerte prematura de las plantas a consecuencia del agallamiento y la pudrición radical. Por tal motivo se decidió realizar el presente estudio con los siguientes objetivos.

- a) Identificar los patógenos involucrados en la pudrición radical de la oca.
- b) Evaluar bajo condiciones de invernadero el efecto de los microorganismos asociados con la pudrición radical.
- c) En condiciones de invernadero conocer la posible interacción de los patógenos.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. Interacción de *Meloidogyne* con Hongos Fitopatógenos

Las raíces de las plantas en la naturaleza siempre es tan en contacto con numerosos microorganismos, dentro de estos los nemátodos y los hongos se presentan con mayor frecuencia causando enfermedades radicales, y generalmente el daño que ocasionan cuando se presentan en asociación es mucho más severo que el daño causado cuando atacan separada mente. Un número considerable de estudios señalan que los nemátodos al infectar plantas cultivadas, las predisponen a la invasión y crecimiento de otros patógenos propiciando un mejor desarrollo de las enfermedades fungosas; ésto ha sido observado en cultivos de algodón y sandía inoculados con Fusarium oxysporum y Meloidogyne incongnita (Summer y Jhonson, 1973, Ibrahim et al., 1982). Observaciones similares se reportan en algodón inoculado con Rhizoctonia solani y M. incongnita acrita (Harold y Hanson, 1957). Por otro lado, Sharma et al., (1981) observaron que la asociación M. incongnita-Rhizoctonia bataticola resultó en un 37% de pudrición radical en oca, comparada con 5.3 y 12.7% causada por el nemátodo y el hongo, respectivamente. Por otro lado, Pelcs et al., (1983) indican que plantas de pepino infectadas con M. incongnita y F. oxysporum mostraron síntomas en menor tiempo y con mayor intensidad que las afectadas únicamente por el hongo.

Varios investigadores han encontrado que la máxima predisposición de las plantas al ataque de hongos ocurre cuando éstas han sido previamente infectadas por Meloidogyne spp., Porter y Powel (1976) mencionan que la máxima predisposición se presenta después de 3 ó 4 semanas de haber sido infectadas por nemátodos y señalan que dicho tiempo es suficiente para la formación de agallas e implica cambios morfológicos y fisiológicos en el hospedante, los cuales son favorables para el desarrollo de patógenos secundarios. Batten y Powell (1971) reportan que cuando la inoculación de M. incognita precedía por 10 ó 20 días a la de Rhizoctonia solani, las plantas de tabaco presentaban mayor pudrición que al inocular cada uno de los patógenos por separado. Otras investigaciones señalan que las raíces de tomate y oca fueron muy susceptibles a la infección por R. solani cuando M. incognita se inoculó 4 ó 5 semanas antes que el hongo (Golden y Van Gundy, 1975). Asimismo plantas de frijol y pepino manifestaron una disminución importante en longitud y peso del follaje cuando M. incognita se inoculó varios días antes que R. solani (Reddly et al., 1983 y Chahal y Chhabra, 1984).

Otros trabajos señalan efectos importantes sobre el desarrollo de enfermedades a consecuencia de infecciones simultáneas por diferentes patógenos. Padilla et al., (1980) encontraron que la inoculación conjunta de M.

incognita, M. hapla y F. oxysporum f. sp. pisi durante la siembra de chicharo, provocó muerte de las plantas a los 45 días; mientras que las dos especies del nemátodo solamente ocasionaron un severo achaparramiento, y el hongo no causó daños de importancia en las plantas. Singh et al., (1982) mencionan que el máximo porcentaje de marchitez en frijol se logró con la inoculación simultánea de M. incognita y F. oxysporum, o cuando el nemátodo precedió al hongo.

Algunas investigaciones han tenido por objetivo determinar las causas del incremento en la susceptibilidad de las plantas a otros patógenos por el ataque de nemátodos; así, Golden y Van Gundy (1975) al estudiar la interacción de M. incognita-R. solani en plantas de oca y tomate, encontraron que las plantas afectadas por el nemátodo resultaron ser altamente susceptibles al hongo; sin embargo, cuando las plantas se inocularon con M. incognita o R. solani no mostraron pudrición radical. Estudios sobre preparaciones histológicas de raíces agalladas indicaron que el hongo colonizó extensivamente las células gigantes ocasionando su completa destrucción, también se observó que R. solani era especialmente atraído por el tejido agallado, ya que los esclerocios se formaron selectivamente sobre las agallas; asimismo, las raíces de oca infectadas por M. incognita presentaron niveles más altos de

carbono y nitrógeno que las no afectadas por el nemátodo. Por otro lado, Sidhu y Webster (citados por Webster, 1985) señalan que las plantas de tomate infectadas por M. incognita manifestaron cambios cualitativos y cuantitativos en los aminoácidos del xilema radical; además, mencionan que los exudados radicales pueden reflejar algunos de estos cambios internos e influir en la composición de la rizosfera y en la dormancia de esporas fungosas. Por otra parte, Van Gundy et al., (1977) reportan pudrición en la raíz de tomate por Rhizoctonia solani cuando M. incognita estaba presente; empero, ésta no se desarrolló cuando los exudados radicales de las plantas infectadas por el nemátodo fueron continuamente removidos por lixiviación, también observaron que la exudación era mayor en las raíces agalladas que en las sanas; por otra parte, las concentraciones de Ca, Mg, Na, K, Fe, y Cu fueron más altas en los exudados de raíces atacadas por M. incognita que en las no afectadas. Estos resultados refuerzan la idea de que los cambios en los exudados radicales causados por la infección de nemátodos pueden jugar un papel importante en la patogenicidad de los hongos del suelo. Estudios realizados por Bergeson y colaboradores (citados por Horsfall y Cowling, 1979) indican que las plantas de tomate infectadas por M. incognita presentaban una disminución en la población de un actinomicete y un aumento de las unidades infectivas de Fusarium sp.; sin embargo, cuando se adicionó

quitina al suelo se incrementó el actinomicete y se protegió a las plantas del daño por ambos patógenos. Esta información permite apreciar la gran importancia que puede tener la microflora sobre el desarrollo de las enfermedades.

Se ha observado también que el ataque del nemátodo nodulador, Meloidogyne spp. puede ocasionar que hongos normalmente no patogénicos a un cultivo causen enfermedad. Al respecto Powell et al., (1971) mencionan que la inoculación de Pythium ultimum, Curvularia trifolii, Botrytis cinerea, Aspergillus ochraceus, Penicillium martensii y Trichoderma harzianum no provocó enfermedad en plantas de tabaco; sin embargo, cuando los hongos se aplicaron 4 semanas después de M. incognita todos causaron pudrición.

Otro efecto sumamente importante que resulta de la infección de nemátodos fitoparásitos en plantas, es la reducción o eliminación de la resistencia genética de los cultivos a otros fitopatógenos. Por ejemplo, Young (1939) observó que variedades de tomate resistentes a la marchitez, sembradas en campos fuertemente infestados con Meloidogyne sp. y Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici, mostraron síntomas de marchitez causados por el hongo. Asimismo, Goode y McGuirre (1967) reportan que la variedad Bradley resistente a la raza 1 de F. oxysporum f.sp. lycopersici y la línea de tomate P.I. 126915 resistente a la raza 2, fueron

atacadas por los hongos en presencia de M. incognita. Resultados similares obtuvo Pitcher (1974) en la variedad Pearson V.F moderadamente resistente a la raza I de F. oxysporum f.sp. lycopersici inoculados en presencia de M. javanica. Por otra parte, López (1980) cuando inoculó plantas de tomate de la variedad Ace 55 VF y Homestead 61 con F. oxysporum f.sp. lycopersici y M. incognita raza 3 presentaron síntomas severos de marchitez; mientras que las tratadas sólo con el hongo no mostraron síntomas. Salem (1983) señala que las plantas de algodón susceptibles y resistentes a la marchitez inoculadas con M. incognita y F. oxysporum f.sp. vasinfectum mostraron un incremento en la enfermedad respecto a las infectadas sólo por el hongo. Plantas de calabaza de la variedad Straightneck (EPS) moderadamente resistente a F. oxysporum f. sp. niveum, fueron más afectadas cuando M. incognita infectaba conjuntamente con el hongo (Martyn y Starr, 1984).

Es importante señalar que los nemátodos no siempre alteran la resistencia de los cultivos a otros microorganismos; al respecto, Orion y Hoestra (1974) mencionan que la variedad de tomate Fortos conservó su resistencia a F. oxysporum f. sp. lycopersici en presencia de M. incognita.

Por otra parte, algunos estudios indican que la resistencia genética del tomate a Fusarium puede ser debida parcialmente a requerimientos nutricionales de aminoácidos.

En general, mayores cantidades de aminoácidos libres se presentan en raíces agalladas de tomate en comparación con las no afectadas; en experimentos con aislamientos auxotróficos de Fusarium para ciertos aminoácidos se mostró que la susceptibilidad de las variedades Bonny Best y Rutgers estuvo asociada con un incremento significativo de ciertos aminoácidos como treonina, metionina y arginina en sus exudados radicales (Sidhu y Webster, citados por Webster; 1985). Asimismo se encontró que al aplicar el aminoácido correspondiente al aislamiento auxotrófico respectivo, la mayoría de los cultivares tratados presentaron mayor marchitez, y las plántulas resistentes al hongo manifestaron síntomas de la enfermedad. Otra posible explicación sobre el rompimiento de la resistencia del cultivo citado, a Fusarium spp., es la falta de desarrollo de tílides en las plantas infectadas por el nemátodo modulador (Beckman et al., 1972).

Existen numerosas evidencias experimentales que indican que factores ambientales, como la temperatura y el tipo de suelo, influyen de manera determinante sobre el desarrollo de microorganismos en el sistema radical. Carter (1975) señala que conforme se incrementaba el contenido de partículas de arena en el suelo, la interacción sinérgica entre Meloidogyne incognita y Rhizoctonia solani también aumentaba en plántulas de algodón. Este mismo investigador encontró que inoculando en algodón M. incognita y R. solani jun-

tos y por separado la infección era más severa por el efecto simultáneo de los patógenos cuando la temperatura del suelo fluctuaba entre 18 y 21 C (Carter, 1975). En plantas de tomate infectadas por Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici se observó que la severidad de la enfermedad era más alta a temperatura de 21 a 24°C (Morell y Bloom, 1981).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Aislamiento de Microorganismos Asociados con la Pudrición Radical de la Ocra

Con el objeto de aislar e identificar a los organismos asociados con la pudrición radical, se tomaron en forma dirigida diez muestras de raíces de plantas enfermas en el ejido Santa Teresa en Iguala, Gro.; posteriormente en el laboratorio se observó que las raíces agalladas presentaban gran cantidad de huevecillos, larvas y hembras adultas en forma de pera, semejantes a Meloidogyne sp.. A partir de trocitos de raíz que incluían tejido sano y enfermo previamente desinfectados con hipoclorito de sodio al 1% y lavados en agua destilada esterilizada, se aislaron cuatro hongos y una bacteria en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA).

3.2. Pruebas de patogenicidad

Estas pruebas se llevaron a cabo en condiciones de invernadero con dos hongos, una bacteria y un nemátodo que resultaron ser los organismos más frecuentemente asociados con la pudrición radical de las plantas colectadas. Se utilizó semilla de ocra de la variedad Clemson Spineless la cual fue tratada con hipoclorito de sodio al 1% por 3 minutos y posteriormente se sembraron (15 semillas/maceta) en macetas de plástico que contenían 5 kg de suelo arcillo-

so (18.0% de arena, 68.0% de arcilla y 14% de limo) previamente esterilizado con bromuro de metilo (1 lb/m³ de suelo). Una vez emergidas las plantas se dejaron 8 por maceta. El riego fué tan continuo como necesario para mantener el suelo a capacidad de campo.

La inoculación del nemátodo se efectuó al momento de sembrar las semillas de oca agregando en cada maceta 5 g de raíces agalladas (10,000 huevecillos-larva/maceta). Para los hongos se hizo de la siguiente forma, quince días antes de la inoculación se reprodujeron ambos aislamientos en cajas de petri con PDA acidificado (15 gotas de ácido láctico por 500 ml de medio de cultivo) a temperatura ambiente, en el tiempo indicado el micelio de los microorganismos cubrió la superficie del medio donde se desarrollaban. Uno de los hongos no formó conidios, únicamente formó micelio y la inoculación se efectuó vaciando el contenido de una caja de petri por maceta durante la siembra de oca. El otro aislamiento fungoso sí desarrolló conidios y la inoculación se realizó agregando 40 ml de agua (10,000,000 de conidios) por maceta al colocar las semillas de oca en ésta.

Por otro lado, la inoculación de la bacteria se llevó a cabo de 3 formas: a) sumergiendo las semillas en una suspensión bacteriana de 3×10^8 unidades formadoras de colonias (ufc/ml) durante 30 minutos, b) pinchando plántulas

(de 15 días de emergidas) a la altura del cuello con palillos esterilizados que contenían crecimiento bacteriano y c) depositando cultivo bacteriano sobre discos de papa y trozos de raíz de oca previamente desinfectados y colocados en cajas de petri estériles con papel filtro húmedo, inmediatamente después este material se incubó tres días a 30°C en el laboratorio.

En todas las pruebas de patogenicidad se utilizaron 3 repeticiones; asimismo, se dejaron testigos con el fin de comparar resultados. La evaluación del trabajo de laboratorio se efectuó a los tres días de la inoculación, mientras que en el resto de las pruebas se hizo a los 3 meses, a través de la apariencia del follaje y la observación detallada del sistema radical.

3.3. Identificación

a) Del nemátodo nodulador

El nemátodo se identificó considerando la forma del patrón perineal y la respuesta de hospedantes diferenciales. Para la preparación de modelos perineales se tiñeron raíces agalladas en lactofenol-fucsina ácida caliente, dejándolas hervir por dos minutos y lavándolas posteriormente en agua corriente y finalmente los tejidos de las raíces teñidas se aclararon en lactofenol sin colorante (Thorne, 1961). De las raíces así tratadas se extrajeron hembras y

se colocaron en un portaobjetos de vidrio con una gota de agua, se cortó la región posterior de la hembra y se colocó en ácido láctico al 45% durante 20 minutos con el fin de facilitar la eliminación de tejidos adheridos a la cutícula. Una vez limpia se montó en lactofenol sobre una lámina de Cobb.

La identificación de la raza se hizo en base a hospedantes diferenciales (Hartman y Sasser, 1985). Las plantas diferenciales y sus reacciones a las diferentes razas de Meloidogyne spp. se presentan con el Cuadro 1.

Cuadro 1. Reacción de hospedantes diferenciales al ataque de especies y razas de Meloidogyne

Raza	Algodón DP 61	Tabaco NC 95	Chile California Wonder	Sandía Charleston Gray	Cacahuete Florruner	Jitomate Rutgers
<u>M. incognita</u>						
Raza 1	-	-	+	+	-	+
Raza 2	-	+	+	+	-	+
Raza 3	+	-	+	+	-	+
Raza 4	+	+	+	+	-	+
<u>M. arenaria</u>						
Raza 1		-	+	+	+	+
Raza 2		-	+	-	+	+

+ = Formó agallas; - = No formó agallas.

b) De los hongos fitopatógenos

El hongo que formó conidios se incubó a 22 °C en luz con tínua durante 10 días y se hicieron observaciones de la colo nia, macroconidios, microconidios y clamidosporas. Asimismo, se realizaron 100 mediciones al microscopio de cada una de las estructuras mencionadas.

El hongo que no desarrolló conidios, se cultivó a tempe ratura ambiente durante 10 días y se observaron las caracte-
rísticas de la colonia y del micelio. La identificación de ambos microorganismos se hizo mediante las claves de Parme-
ter, 1970 y Booth, 1977 y en base a las descripciones origi-
nales de los géneros y especies correspondientes.

3.4. Efecto de M. incognita, R. solani y F. solani sobre ocra de la var. Clemson Spineless bajo Condiciones de Inverna-

Con el fin de conocer el efecto de cada uno de los pató-
genos y las combinaciones de ellos sobre la producción de
ocra, se estableció un experimento factorial 2^3 bajo un di-
seño experimental completamente al azar. Los tratamientos
en el experimento fueron los siguientes:

Testigo (T)	Sin patógenos
Nemátodo (N)	10,000 huevecillos larva (hl)
<u>Rhizoctonia</u> (R)	1 caja de petri (cp)

<u>Fusarium</u> (F)	10,000,000 de conidios (c)
Nemátodo + <u>Rhizoctonia</u> (NR)	10,000 hl + 1 cp
Nemátodo + <u>Fusarium</u> (NF)	10,000 hl + 10,000,000 c
<u>Rhizoctonia</u> + <u>Fusarium</u> (RF)	1 cp + 10,000,000 c
Nemátodo + <u>Rhizoctonia</u> + <u>Fusarium</u> (NRF)	10,000 hl + 1 cp + 10,000,000 c

Todas las inoculaciones se efectuaron al momento de la siembra y la cantidad de inóculo que se indica para cada patógeno fué lo aplicado por maceta. Cada tratamiento constó de 4 repeticiones y cada repetición consistió de una maceta con 4 plantas en el primer experimento, mientras que para el segundo ensayo se utilizaron 8 plantas por repetición.

La extracción de huevecillos del nemátodo se realizó por el método de McClure et al. (1973), a esta técnica se le hicieron algunas modificaciones. Raíces agalladas fueron lavadas cuidadosamente para eliminar el suelo que tenían adherido, éstas se cortaron en trozos de aproximadamente 1 cm de largo y se mezclaron para homogenizarlas, de este material se tomaron al azar trocitos de raíz hasta completar 20 gr y se colocaron en la licuadora a la cual se le agregaron 180 ml de agua destilada y enseguida 20 ml de hipoclorito de sodio al 6%. Se licuó por 3 minutos e inmediatamente después se vertió el contenido en una cubeta con abundan

te agua para reducir la acción del hipoclorito, que pudierra dañar la viabilidad de los huevecillos. El contenido de la cubeta se pasó por los tamices de 30 y 200 mallas por pulgada cuadrada, recogiendo el líquido en otra cubeta. Los trozos de raíz que quedaron en los tamices fueron lavados para arrastrar todos los huevecillos hacia la segunda cubeta. El contenido de este recipiente se pasó por un tamiz de 500 mallas donde quedaron retenidos los huevecillos. Posteriormente los huevecillos se transfirieron a un recipiente de vidrio y se aforó hasta un volumen determinado, se agitó y se tomó 1 ml para vaciarse en una caja contadora rectangular con cuadrícula en el fondo. Después bajo el microscopio de disección se contaron los huevecillos y una vez conocido el número de estos por mililítros, se calculó el número total de huevecillos en el recipiente que correspondían a 20 g de raíz. La inoculación se llevó a cabo depositando 10,000 huevecillos-larva por maceta.

El cultivo e inoculación de los hongos, así como el tratamiento a la semilla y suelo y manejo del riego se realizaron en forma similar a la descrita en la sección pruebas de patogenicidad. Por otro lado, la fertilización de las plantas se efectuó empleando una solución nutritiva compuesta de 250 g de cloruro de potasio, 250 g de superfosfato triple y 250 g de sulfato de amonio; estos tres productos se disolvieron en 25 litros de agua y de esta so

lución se tomaron 250 ml para diluirlos en 5 litros de agua y con esta solución se regaron las plantas. Dicha fertilización se llevó a cabo agregando 500 ml de la dilución indicada a cada maceta cuando las plantas tenían 20 días de emergidas, esto mismo se repitió 30 días después de la primera fertilización.

El experimento se estableció en septiembre de 1986 y se dió por terminado en febrero de 1987. Debido al frío y a las "heladas" que se presentan en el invierno se consideró conveniente incrementar la temperatura colocando focos "spot".

La evaluación del experimento se hizo en base al peso seco del follaje, peso de frutos e índice de infección radical (índice de agallamiento + índice de necrosis radical).

Para determinar el peso seco de las plantas, estas se cortaron a la altura del cuello y fueron secadas a una temperatura de 70 C; la recolección y peso de los frutos se efectuó dos veces. Por otro lado, para conocer el grado de agallamiento y necrosis radical, las raíces fueron extraídas de las macetas e inmediatamente se lavaron, el agallamiento se estimó usando una escala del 1 al 5, don 1 = ausencia de agallas, 2 = del 1 al 25% de raíces agalladas, 3 = 26 al 50%, 4 = 51 al 75% y 5 = 76 al 100%; la necrosis se evaluó con una escala similar donde 1 = plantas

sanas, 2 = daño muy leve, 3 = daño regular, 4 = daño severo y 5 = daño severo con plantas muertas. En las Figuras 1 y 2 se muestran los índices considerados.

El mismo experimento se volvió a establecer en mayo de 1987 y se evaluó en octubre del mismo año. Este ensayo se condujo de manera similar al primero, excepto que no se colocaron los focos "spot" y que la cosecha de los frutos se realizó conforme estos alcanzaban el tamaño requerido para su comercialización.

3.5. Análisis Estadístico de los Resultados

Los datos obtenidos en ambos experimentos fueron sometidos a análisis de varianza y la comparación de medias se hizo mediante la prueba de Tukey. Para detectar las posibles interacciones entre los patógenos inoculados se llevó a cabo el análisis de varianza para un experimento factorial 2^3 .

También se realizaron análisis de regresión y correlación para conocer la relación existente entre el índice de infección de las raíces y el peso del fruto.

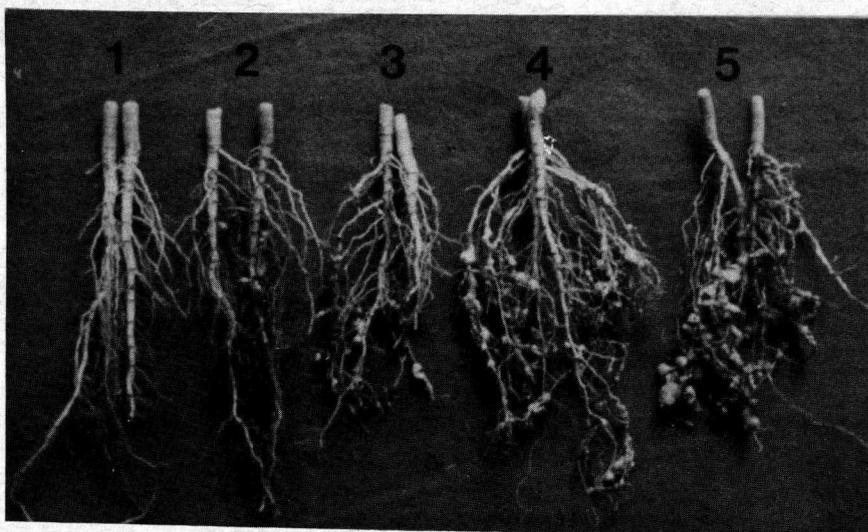


Figura 1. Índice de agallamiento, donde 1 = ausencia de agallas, 2 = del 1 al 25% de raíces agalladas, 3 = 26 - 50%, 4: 51-75% y 5 = 76 - 100%

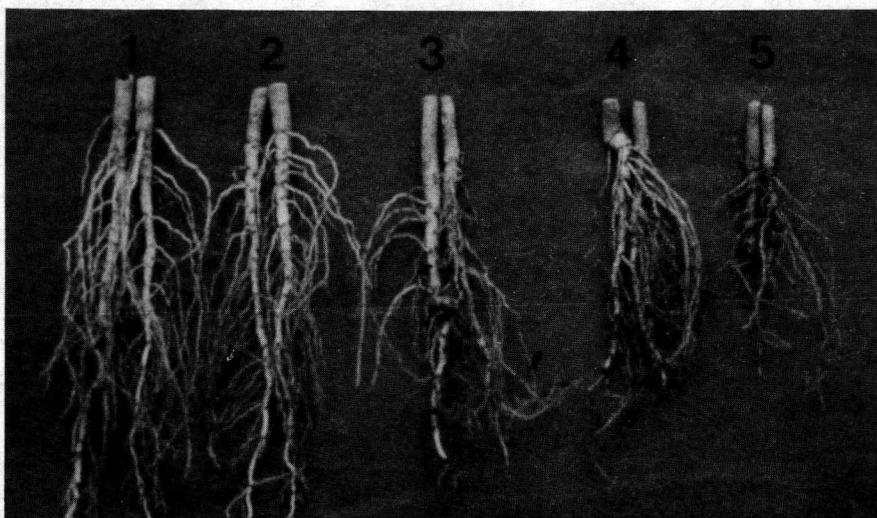


Figura 2. Índice de necrosis, donde 1 = plantas sanas, 2 = daño muy leve, 3 = daño regular, 4 = daño severo y 5 = daño severo con plantas muertas

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Aislamientos de microorganismos asociados con la pudrición radical de la oca

De las 10 muestras tomadas en el ejido Santa Teresa de Iguala, Guerrero, se determinó que en las raíces enfermas frecuentemente se encontraba el nemátodo formador de agallas Meloidogyne sp., los hongos Rhizoctonia sp., Fusarium sp. y una bacteria. En forma esporádica también se presentó un fitomiceto y un hongo que formaba esclerocios.

4.2. Pruebas de patogenicidad

Estas se realizaron con los organismos que se encontraron más frecuentemente asociados a la pudrición radical de la oca. Las plantas inoculadas con Meloidogyne sp. mostraron achaparramiento y poca producción debido a la abundante formación de agallas en las raíces, donde se pudieron observar huevecillos, larvas y hembras adultas del nemátodo mencionado. De las raíces de oca inoculadas con Rhizoctonia sp. o Fusarium sp. se reaislaron y observaron al microscopio compuesto cada uno de los hongos, corroborando así la infección por ambos microorganismos; Rhizoctonia sp. no provocó síntomas en el follaje debido a la escasa pudrición causada en el sistema radical, mien-

tras que Fusarium sp. ocasionó achaparramiento, defoliación y muerte de algunas plantas a consecuencia de la extensiva pudrición de las raíces.

La bacteria inoculada no causó síntomas en las plantas de oca y tampoco se logró reaislarla; sin embargo, en pruebas de laboratorio este organismo originó pudrición blanda en tubérculos de papa y en fragmentos de raíces de oca. La ausencia de infección en las plantas desarrolladas en el invernadero pudo deberse a la pérdida de virulencia de la bacteria cuando se preservó, falta de condiciones ambientales adecuadas para la infección, o a la forma en que se llevó a cabo la inoculación.

4.3. Identificación

a) Del nemátodo nodulador

La población del nemátodo en estudio se identificó como Meloidogyne incognita (Kofoid y White) Chitwood en base a los modelos perineales de hembras adultas, los cuales presentaron arco dorsal alto formado por estrías que variaban de lisas a onduladas; algunas estrías se bifurcaban cerca de las líneas laterales y no estaban claramente visibles; además frecuentemente se observaron estrías dirigidas hacia la vulva (Fig. 3).

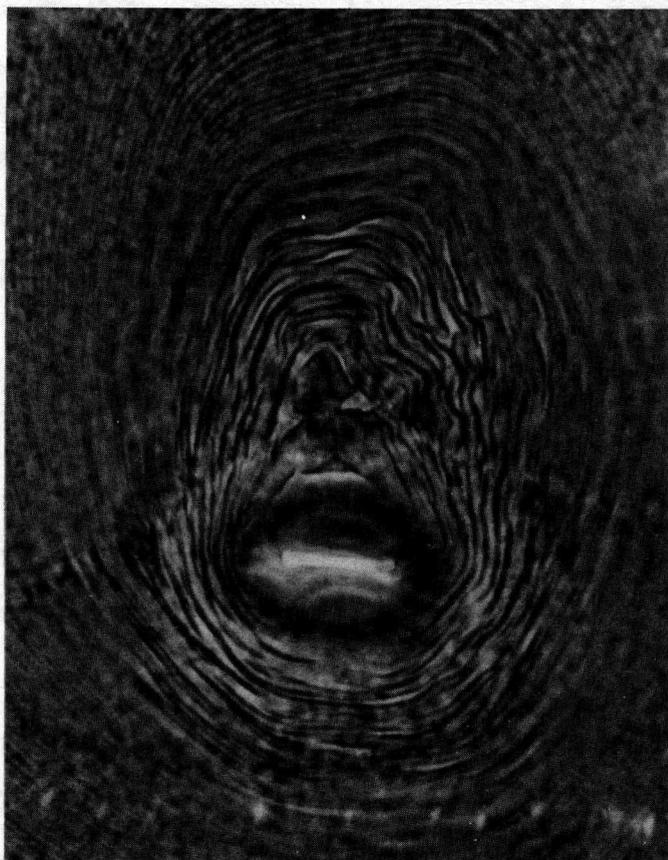


Figura 3. Modelo perineal de Meloidogyne incognita

Estas características son similares a las señaladas para M. incognita en la clave pictórica preparada por Eisenback et al. (traducida al español por Sosa-Moss, 1983). Con respecto a la reacción de las plantas diferenciales, se observó que el nemátodo ocasionó agallas en chile, sandía y jitomate; en algodón provocó muy pocas agallas de tamaño bastante reducido, mientras que en tabaco y cacahuate no hubo infección. Estos resultados sugieren que tanto la raza 1 como la raza 3 estuvieron presentes; sin embargo, la raza 1 fue la predominante.

b) De los hongos fitopatógenos

El aislamiento de Rhizoctonia sp. presentó las siguientes características macroscópicas; la colonia desarrolladas en medio de PDA fue de color café, con amplio y rápido crecimiento horizontal; asimismo hubo formación de esclerocios a los seis días de haberse transferido este organismo al medio señalado. Por otra parte, mediante observaciones microscópicas del hongo se descubrió la presencia de células multinucleadas y moniliooides, ramificación de las hifas en ángulo recto, con una construcción en su base y formación de una septa cerca del punto de ramificación (Fig. 4). Todas las características mencionadas coinciden con las señaladas por Parmeter (1970) para la especie Rhizoctonia solani Kuhn.

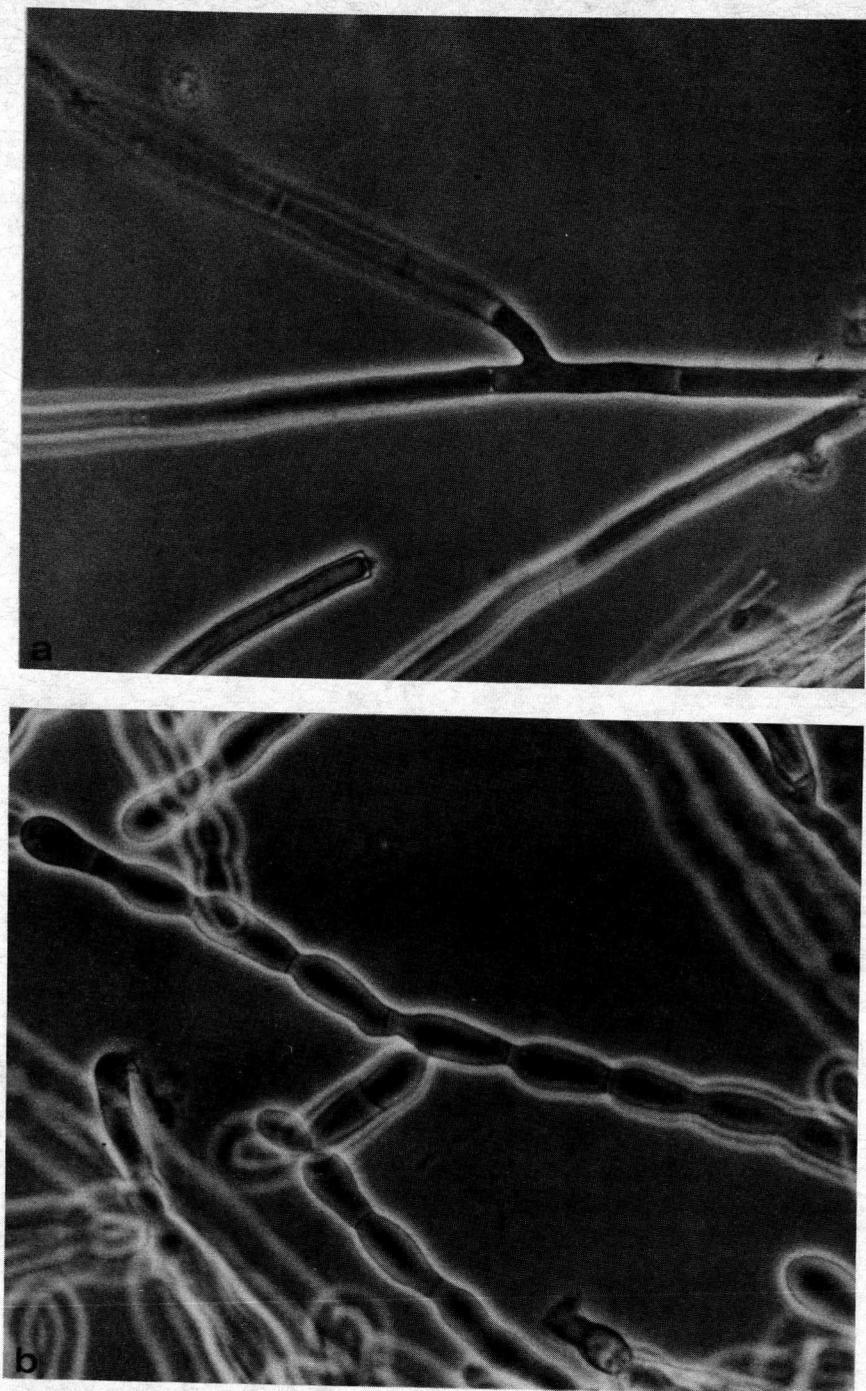


Figura 4. Rhizoctonia solani
a) Micelio
b) Células monilioides

La cepa de Fusarium sp. en medio de cultivo (PDA) desarrolló micelio blanco-grisáceo, presentando en algunas ocasiones áreas de color azul. A través del microscopio se observaron clamidosporas, macroconidios y microconidios. Las clamidosporas eran globosas y se encontraban solas o en pares en forma terminal o intercalar, el tamaño promedio de éstas fue de 10μ de longitud por 9μ de diámetro y el tamaño máximo y mínimo fue de $12 \times 10\mu$ y $9 \times 8\mu$, respectivamente; los macroconidios mostraron generalmente 3 septas y el tamaño promedio fue de 40μ de longitud por 5.5μ de diámetro, mientras que el tamaño máximo fue de $45 \times 6\mu$ y el mínimo de $36 \times 5.5\mu$; el número de células en los microconidios varió de 1 a 2, presentando un tamaño promedio de $10 \times 3.7\mu$ y el tamaño máximo y mínimo fue de $16 \times 4\mu$ y $8 \times 3\mu$, respectivamente (Fig. 5). Las características indicadas coinciden con las citadas por Booth (1977) para la especie Fusarium solani (Mart) Sacc..

4.4. Efecto de M. incognita, R. solani y F. solani sobre oca var. Clemson Spineless bajo condiciones de invernadero

En el Cuadro 2 se resumen los resultados del efecto de cada uno de los patógenos solos y en combinación sobre las plantas de oca del primer experimento. En el cuadro citado se aprecia que en la variable peso seco del follaje, hubo una re-

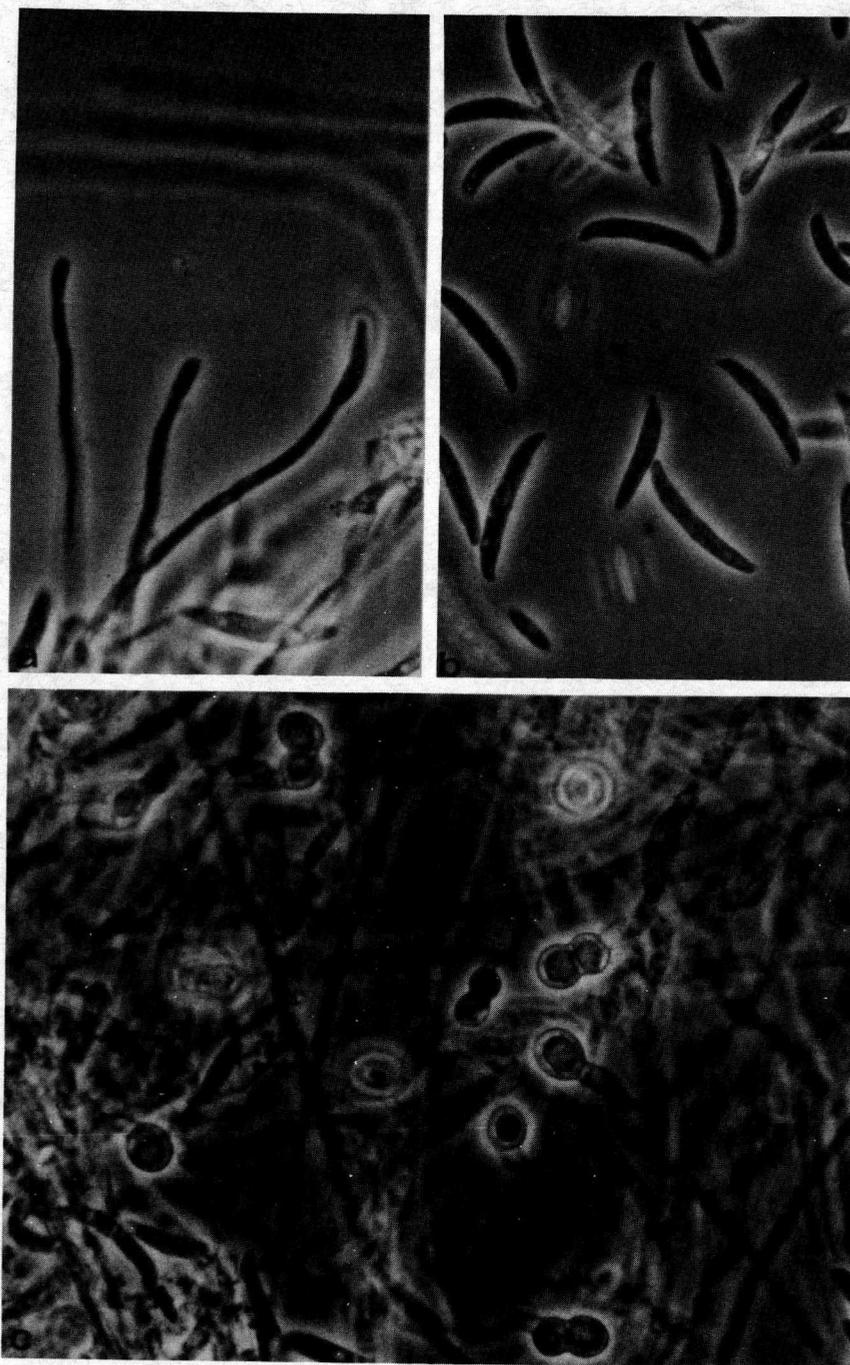


Figura 5. Fusarium solani

- a) Fialides y microconidios
- b) Macroconidios
- c) Clamidospodas

Cuadro 2. Efecto de los patógenos *M. incognita*, *R. solani* y *F. solani* sobre el índice de infección radical, peso seco del follaje y producción de frutos en oca var. Clemson spineless (primer experimento).

Tratamiento	INDICE DE INFECCION			PESO SECO DEL FOLLAJE		PESO DEL FRUTO	
	Pudrición	Agallamiento	Total	5 meses (gr)	%D	(gr)	% D
T	1.0	1.0	2.0	5.8 A	----	32.6A	---
N	1.0	4.1	5.1	2.0 C	65.5	18.9BC	42.0
R	2.1	1.0	3.1	5.2 B	10.3	31.0A	4.9
F	3.7	1.0	4.7	2.0 C	65.5	23.3AB	28.5
NR	4.3	2.7	7.0	1.0 D	82.7	16.6C	49.0
NF	4.1	4.4	8.5	2.0 C	65.5	19.1ABC	41.4
RF	2.6	1.0	3.6	5.5 A	5.2	22.3ABC	31.6
NRF	4.5	3.0	7.5	1.0 D	82.7	16.4C	49.7

Cada dato representa la media de cuatro repeticiones

D = Decremento respecto al testigo

Medias con la misma letra no presentan diferencia significativa ($p=0.05$) según la prueba de separación de medias de Tukey.

ducción significativa ($p = 0.05$) respecto al testigo en los tratamientos NR (82.7%), NRF (82.7%), N (65.5%), F (65.5%), NF (65.5%) y R (10.3%); en contraste, el tratamiento RF (5.2%) se comportó igual que el testigo. En relación al peso del fruto los tratamientos R, F, RF, NF, N, NR y NRF resultaron en reducciones de 4.9%, 28.5%, 31.6%, 41.4%, 42.0%, 49.0% y 49.7%, respectivamente; sin embargo, sólo los daños originados por N, NR y NRF fueron significativos ($p = 0.05$).

El análisis estadístico del factorial 2^3 (Cuadro 3) realizado con el objeto de detectar posibles interacciones entre los organismos inoculados, indicó que para la variable peso seco del follaje existieron interacciones altamente significativas ($P = 0.01$) en las combinaciones NR, NF, RF y NRF. Aparentemente la combinación NR provocó una interacción de tipo aditivo ya que la reducción por los dos patógenos juntos (82.7%) fue prácticamente similar a la sumatoria de daño causado por cada uno de los patógenos actuando separadamente (N= 65.5% y R= 10.3%) (Fig. 6a). Por otra parte, la combinación RF causó una disminución de 5.2%, mientras que el detrimento por R (10.3%), o F(65.5%) resultó ser mayor (Fig. 6c y d); esto sugiere que la interacción fue antagonista. En el tratamiento NF posiblemente se trate también de una interacción de tipo an

Cuadro 3. Análisis de varianza para los datos de peso seco del follaje a los 5 meses y peso del fruto obtenidos en el primer experimento.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
a) PESO SECO DEL FOLLAJE				
N	1	77.81	77.81	144.09 ++
R	1	0.42	0.42	0.77
F	1	6.21	6.21	11.50 ++
NR	1	12.37	12.37	22.90 ++
NF	1	6.39	6.39	11.83 ++
RF	1	7.90	7.90	14.62 ++
NRF	1	8.50	8.50	15.74 ++
Error	24	13.04	0.54	
Total	31	132.64		
b) PESO DEL FRUTO				
N	1	734.40	734.40	21.94 ++
R	1	28.31	28.31	0.845
F	1	161.55	161.55	4.82 +
NR	1	2.94	2.94	0.087
NF	1	160.65	160.65	4.79 +
RF	1	0.00	0.00	0.00
NRF	1	0.57	0.57	0.01
Error	24	803.35	33.47	
Total	31	1891.77		

+ Significativo al 0.05 de probabilidad

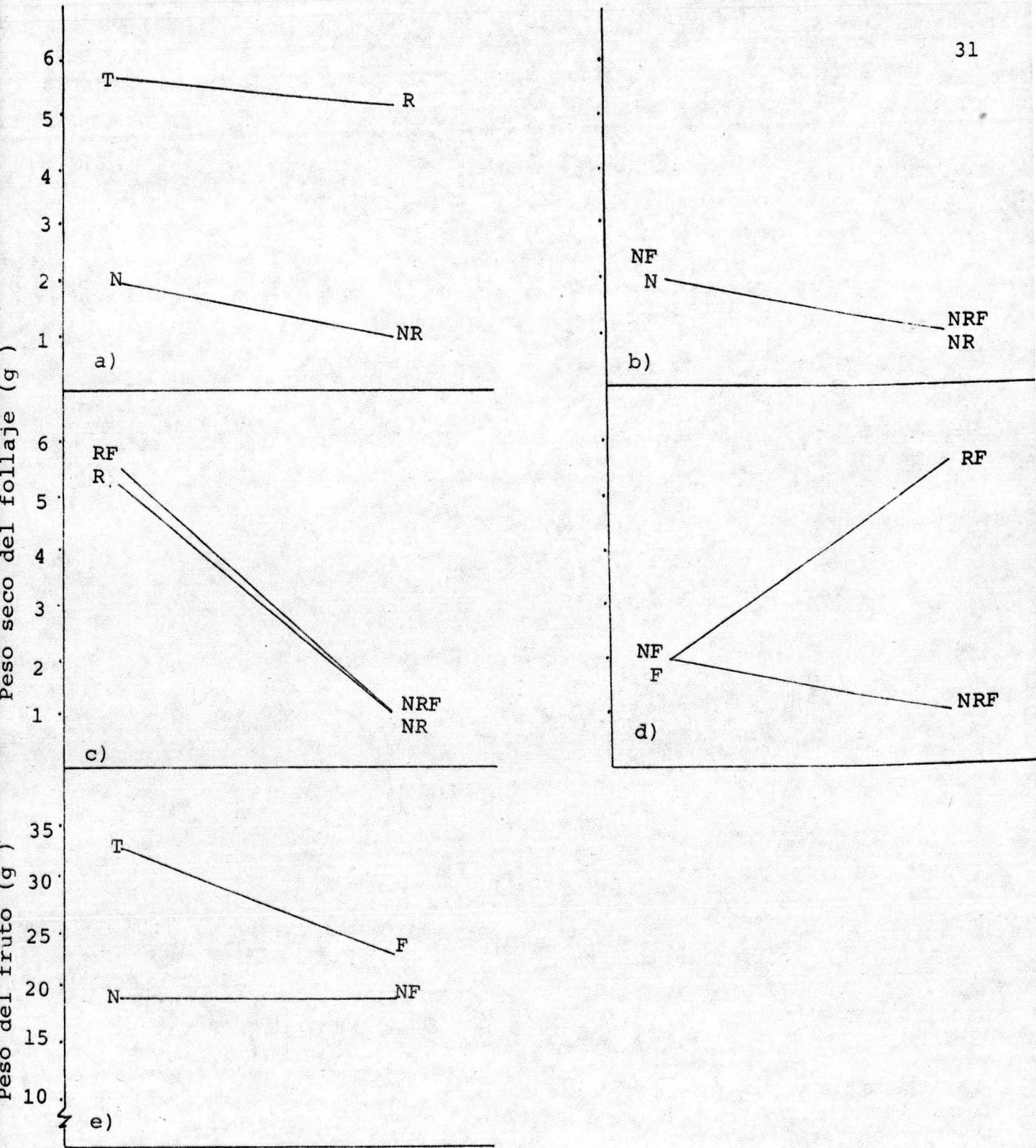


Figura 6. Efecto de la interacción entre los patógenos sobre peso seco del follaje a), b) c) y d) y peso del fruto e) de la oca.

tagónico, dado que la reducción provocada por cada uno de los patógenos (N=65.5% y F=65.5%) fue igual (NF=65.5%) a la acción conjunta de ambos organismos (Fig. 6b y d). La combinación NRF menoscabó el peso seco en forma similar a NR (82.7%), posiblemente el efecto de Fusarium no se manifestó en la asociación de los tres patógenos mencionados, lo que hace suponer también la existencia de cierto antagonismo (Fig. 6c). En relación al peso del fruto se encontró que únicamente la combinación NF fue significativa ($P=0.05$) y probablemente se trata de una relación antagónica, ya que N redujo la producción en un 42.0%, mientras que F mermó el peso del fruto en un 28.5%; no obstante el efecto de NF (41.4%) fue semejante al del nemátodo solo (Fig. 6e).

Respecto al índice de infección (Cuadro 2) se encontró que el tratamiento NF mostró el máximo grado de infección radical 8.5, seguido por los tratamientos NRF=7.5 y NR=7.0; los índices de infección presentados por los otros tratamientos fueron N=5.1, F=4.7, RF=3.1 y testigo 2.0. Cuando se realizaron los análisis de regresión (Cuadros 1 al 7 del Apéndice) y correlación para conocer la relación existente entre las variables índice de infección radical y peso del fruto, se encontró que en todos los tratamientos a excepción de R, existía una re

lación significativa para ambas variables y los coeficientes de correlación calculados fueron de -0.82 a -0.94 (Cuadro 4).

Los resultados obtenidos en el segundo experimento se resumen en el Cuadro 5. A los 2 meses el efecto de los patógenos y sus combinaciones sobre el peso seco del follaje, no fue estadísticamente significativo, aún cuando los tratamientos NR, NF, NRF y N causaron decrementos (con respecto al testigo) de 7.8%, 12.5%, 20.3%, y 21.8%, respectivamente; sin embargo, a los 5 meses estos mismos tratamientos causaron una disminución significativa ($p=0.05$) de 73.8% (NR), 80.0% (NF), 80.8% (NRF) y 79.9% (N); mientras que R, F y RF se comportaron estadísticamente igual que el testigo. Para la variable peso del fruto, los únicos tratamientos que mostraron reducciones significativas ($p=0.05$) fueron: N(84.8%), NR (82.3%), NF (82.8%) y NRF (82.8%); los tratamientos R, F y RF presentaron una producción de frutos similar al testigo.

En el segundo experimento, el análisis estadístico del factorial (Cuadro 6) indicó que para ambas variables, peso seco del follaje (a los 2 y 5 meses) y peso del fruto), no existieron interacciones entre los patógenos inoculados en forma combinada (NR, NF, NRF y RF).

Cuadro 4. Efecto de la infección radical de la ocrea por M. incognita, R. solani y F. solani sobre la producción de fruto, y resultados de los análisis de regresión y correlación entre ambas variables (primer experimento).

Trata- miento	INDICE DE INFECCION			Peso del fruto (g)	Valor es timado de B	Coeficien- te de co- rrelación
	podri ción	agalla miento	total			
T	1.0	1.0	2.0	32.6		
N	1.0	4.1	5.1	18.9	- 3.84 +	- 0.82 ++
R	2.1	1.0	3.1	31.1	- 0.27	- 0.42
F	3.7	1.0	4.7	23.3	- 4.54 +	- 0.86 +
NR	4.3	2.7	7.0	16.6	- 2.86 ++	- 0.91 ++
NF	4.1	4.4	8.5	19.1	- 2.22 +	- 0.83 ++
RF	2.6	1.0	3.6	22.3	- 6.02 ++	- 0.92 ++
NRF	4.5	3.0	7.5	16.4	- 2.80 ++	- 0.94 ++

+ Significativo al 0.05 de probabilidad.

++ Significativo al 0.01 de probabilidad.

Los datos sobre índice de infección y peso del fruto son medias cuatro repeticiones.

Cuadro 5. Efecto de los patógenos M. incognita, R. solani y F. solani sobre oca var. Clemson spineless (segundo experimento).

Trata- miento	INDICE DE INFECCION			PESO SECO DEL FOLLAJE (g)				PESO DEL FRUTO			
	podri- ción	agalla miento	total	2 me ses	D	% I	5 me ses	D	I	(g) %	D
T	1.0	1.0	2.0	6.4	A		21.4	ABC		105.6	A
N	5.0	5.0	10.0	5.0	A	21.8	4.3D	79.9		16.0	B
R	1.0	1.0	2.0	7.7	A	20.3	22.0	A	2.8	103.9	A
F	1.0	1.0	2.0	6.6	A	3.1	24.3	A	13.5	87.7	A
NR	5.0	5.0	10.0	5.9	A	7.8	5.6	D	73.8	18.7	B
NF	5.0	5.0	10.0	5.6	A	12.5	4.2	D	80.3	18.1	B
RF	1.0	1.0	2.0	7.4	A	15.6	21.9	AB	2.3	88.7	A
NRF	5.0	5.0	10.0	5.1A		20.3	4.1	D	80.3	18.1	B

Los datos sobre índice de infección, peso seco del follaje y del fruto son medias de cuatro re-
peticiones.

D = Decremento respecto al testigo.

I = Incremento respecto al testigo.

Medias con la misma letra no presentan diferencia significativa ($p = 0.05$) según la prueba de
separación de medias de Tukey.

Cuadro 6. Análisis de varianza para los datos de peso seco del follaje y peso del fruto obtenidos en el segundo experimento.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
a) PESO SECO DEL FOLLAJE (DOS MESES)				
N	1	21.60	21.60	21.40
R	1	0.06	3.06	0.05
F	1	0.03	0.03	0.00
NR	1	1.24	1.24	0.02
NF	1	0.02	0.00	0.00
RF	1	1.75	1.75	0.03
NRF	1	0.42	0.42	0.00
Error	24	1294.80	53.95	
Total	31	1323.11		
b) PESO SECO DEL FOLLAJE				
N	1	1541.80	2541.80	633.80**
R	1	0.24	0.24	0.06
F	1	0.84	0.84	0.21
NR	1	4.50	4.50	1.12
NF	1	10.12	10.12	2.52
RF	1	9.68	9.68	2.41
NRF	1	1.44	1.44	0.35
ERROR	24	96.24	4.01	
Total	31	2664.86		
c) PESO DEL FRUTO				
N	1	49573.13	49573.13	241.44*
R	1	2.25	2.25	0.01
F	1	500.86	500.86	2.43
NR	1	5.69	5.69	0.02
NF	1	602.20	602.20	2.93
RF	1	0.00	0.00	0.00
NRF	1	14.71	14.71	0.07
Error	24	4927.74	205.32	
Total	31	55626.58		

**Significativo al 0.01 de probabilidad.

La relación existente entre la variable índice de infección radical y peso del fruto fue altamente significativa ($p=0.01$) solamente en los tratamientos N, NR, NF y NRF, en los que se calculó un coeficiente de correlación de -0.95 (Cuadro 7). Los análisis de varianza de las regresiones se muestran en los Cuadros del 8 al 14 del Apéndice.

En los experimentos realizados fue evidente que el mayor daño sobre el crecimiento y producción de la oca fue causada por el nemátodo agallador M. incognita, responsable de reducciones significativas del orden del 65.5% al 79.9% y de 42.0% a 84.8%, en el peso seco del follaje y peso fresco del fruto, respectivamente. Por otro lado, fue obvio que en todos los tratamientos donde estuvo presente el nemátodo hubo una reducción considerable en ambas variables indicadas, siendo dicha disminución, en la mayoría de los casos, similar a la causada por la acción del nemátodo solo (Cuadro 2 y 5). Estos resultados en cierta forma confirman lo reportado por López (1986), en relación a que la mayor producción se obtuvo en parcelas tratadas con Nema-cur solo o combinado con fungicida y/o insecticida, en comparación con las parcelas con fungicida y/o insecticida.

Cuadro 7. Efecto de la infección radical de la oca por M. incognita, R. solani y F. solani sobre la producción de fruto, y resultados de los análisis de regresión y correlación entre ambas variables (segundo experimento).

Trata- miento	<u>Indice de infección</u>			Peso del fruto (g.)	Valor es- timado de B	Coeficien- tes de co- rrelación
	<u>Pudri- ción</u>	<u>Agalla- miento</u>	<u>Total</u>			
T	1.0	1.0	2.0	105.6		
N	5.0	5.0	10.0	16.0	-11.20**	-0.95**
R	1.0	1.0	2.0	103.9	0.0	0.0
F	1.0	1.0	2.0	87.7	0.0	0.0
NR	5.0	5.0	10.0	18.7	-10.85**	-0.95**
NF	5.0	5.0	10.0	18.1	-10.92**	-0.95**
RF	1.0	1.0	2.0	88.7	0.0	0.0
NRF	5.0	5.0	10.0	18.1	-10.92**	-0.95**

**Significativo al 0.01 de probabilidad.

Los datos sobre índice de infección y peso del fruto son medias de cuatro repeticiones.

El daño por F. solani únicamente se apreció en el primer experimento, donde provocó reducciones del 65.5% y 28.5% sobre el peso seco del follaje y producción de frutos, respectivamente; las razones por las que F. solani no ocasionó pudrición radical en las plantas de oca del segundo ensayo, pudieron deberse a que la temperatura del suelo no fue la adecuada para el desarrollo del hongo, ya que no se colocaron focos "spot" para incrementar la temperatura durante el día, también debe considerarse que la inoculación en los experimentos 1 y 2 se realizaron con aislamientos diferentes de F. solani; en consecuencia, existe la posibilidad de haber trabajado con cepas patogénicamente distintas.

El hongo R. solani resultó ser el microorganismo que menos redujo el peso seco del follaje (10.3%) y el peso del fruto (4.9%) en el primer experimento, lo cual puede explicarse por el bajo índice de infección radical que originó en las plantas; por otra parte, al realizar los análisis de regresión y correlación entre necrosis radical y producción de frutos se observó que no hubo relación significativa ($p = 0.05$) entre las variables. No obstante lo anterior, la prueba de separación de medias (Tukey) indicó que R. solani mermó significativamente el peso seco del follaje.

Es importante mencionar que los dos hongos citados, lograron reaislarse de raíces aparentemente sanas del segundo experimento, por tanto se supone que la ausencia de necrosis se debió a la falta de condiciones adecuadas para el desarrollo de la enfermedad.

Es interesante señalar que en el segundo ensayo, las combinaciones donde estuvo presente el nemátodo M. incognita-R. solani, M. incognita-F. solani y M. incognita-R. solani-F. solani ocasionaron un daño similar al originado por la acción de M. incognita solo. En este último tratamiento el índice de pudrición radical fue igual que el índice de pudrición de las raíces inoculadas con las combinaciones anteriormente mencionadas. Esto sugiere que donde estuvo presente únicamente el nemátodo, la necrosis radical se debió a invasores secundarios que fueron capaces de causar daño solo en presencia del nemátodo, ya que en ausencia de éste no hubo pudrición, estos resultados son congruentes con lo reportado por Powell et al. (1971) donde hongos que normalmente no atacan el tabaco, lograron provocar pudrición radical en tabaco en presencia de M. incognita.

V. CONCLUSIONES

Del análisis y discusión de los resultados obtenidos se derivan las siguientes conclusiones:

- 1) Los patógenos encontrados más frecuentemente asociados con la pudrición radical de la oca fueron: Meloidogyne incognita, Fusarium solani y Rhizoctonia solani.
- 2) Mediante las pruebas de patogenicidad se demostró que los 3 microorganismos infectaron las raíces y afectaron el desarrollo de la oca.
- 3) Los hongos F. solani y R. solani redujeron significativamente el peso seco del follaje.
- 4) El nemátodo agallador M. incognita, actuando solo o en combinación con los hongos F. solani y/o R. solani, fue el principal responsable de reducciones severas en el peso seco del follaje y producción de fruto.
- 5) La combinación M. incognita - R. solani resultó en una interacción de tipo aditivo sobre el peso del follaje y peso del fruto en el primer ensayo.

- 6) Las asociaciones R. solani-F. solani, M. incognita-F. solani y M. incognita-R. solani-F. solani presentaron una relación antagónica sobre el peso seco del follaje del primer experimento.

IV. BIBLIOGRAFIA

- Batten, C.K. and N.T. Powell. 1971. The Rhizoctonia - Meloidogyne disease complex in flue-cured tobacco. J. Nematol. 3: 164-169.
- Beckman, C.H., D.M. Elgysma and W.E. Machardy. 1972. The localization of fusarial infections in the vascular tissue of single dominant-gene resistant tomatoes. Phytopathology 62: 1256-1260.
- Bergeson, G.B. 1975. The effect of Meloidogyne incoqnita on the resistance of four muskmelon varieties to Fusarium wilt. Pl. Dis. Repr. 59: 410-413.
- Booth, C. 1977. Fusarium laboratory guide to the identification of the major species. Commonwealth Micology Institute, Surrey England. 58 p.
- Carter, W.W. 1975. Effects of soil temperature and inoculum levels of Meloidogyne incoqnita and Rhizoctonia solani on seedling disease of cotton. J. Nematol. 7: 229-233.
- Carter, W.W. 1975. Effects of soil texture on the interaction between Rhizoctonia solani and Meloidogyne incoqnita on cotton seedlings. J. Nematol. 7: 234-236.
- Chahal, P.P.K.; H.K. Chhabra. 1984. Interaction of - - Meloidogyne incoqnita with Rhizoctonia solani on tomato. Indian J. Nematol. 14: 56-57.
- Chabra H.K., A.S. Sidhu, I. Singh. 1980. Influence of soil types on the interactions of fungus, Rhizoctonia solani and root-knot nematode, Meloidogyne incoqnita on okra. Helminth. Abstr. Ser. B. 49: 45.

- Eisenback, J.D., H. Hirschman, J.N. Sasser y A.C. Triantaphilow. 1983. Guía para la identificación de las cuatro especies más comunes del nemátodo agallador (Meloidogyne especies) con una clave pictórica. Publicación cooperativa entre: Depts. of plant Path. and Gen. North Carol. State Univ., Dpto. de Fitopatología del Colegio de Postgraduados, Chapingo, México; y Agencia para el Desarrollo Internacional de los Estados Unidos. Raleigh, North Carolina. 48 p. (Traducida al español por C. Sosa Moss).
- Golden, J.K. and S.D. Van Gundy. 1975. A disease complex of okra and tomato involving the nematode, Meloidogyne incognita, and the soil inhabiting fungus, Rhizoctonia solani. *Phytopathology* 65: 265-273.
- Goode, M.J. and J.M. McGuirre. 1967. Relationship of root-knot nematodes to pathogenic variability in Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. *Phytopathology* 57: 812.
- Harold, W.R. and R.G. Hanson. 1957. Rhizoctonia disease of cotton in presence or absence of the cotton root-knot nematode in Arizona. *Phytopathology* 47: 256-261.
- Horsfall, J.G. and E.B. Cowling, 1979. Plant disease advanced treatise. Volume IV. How pathogens induce diseases. Academic Press. New York, San Francisco London. 465 p.
- Hartman, K.M. and J.N. Sasser. 1985. Identification of Meloidogyne species on the basis of differential host tests and perineal pattern morphology. 69-77 pp. In: Barker, K.R., C.C. Carter and J.N. Sasser (Eds.). An advanced treatise on Meloidogyne. Volume II. Methodology. North Carolina State University Graphis. Raleigh, North Carolina.

- Ibrahim, I.K.A., M.A. Rezk, and H.A.A. Khail. 1982. Effects of Meloidogyne incoqnita and Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum on plant growth and mineral content of cotton, Gossypium barbandense L. Nematología 28: 298-302.
- López, E.M.E. 1986. Evaluación del daño que causa el nemátodo agallador Meloidogyne incoqnita en el cultivo de la oca (Hibiscus esculentus L.) en el Valle de Iguala, Gro. Tesis profesional C.S.A.E.G. 66 p.
- López, H.S.R. 1980. Estudio de la interacción nemátodo nodulador y hongos fitopatógenos del suelo, en el cultivo de tomate del Estado de Morelos. Tesis M.C. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 46 p.
- Martyn, R.D. and J.L. Starr. 1984. The influence of Meloidogyne incoqnita on vascular wilt of summer squash caused by Fusarium oxysporum f. sp. niveum. Helminth. Abstr. Ser B 74: 865.
- Mcclure, M.A., T.H. Krup and I. Misaghi. 1973. A method for obtaining quantities of clean Meloidogyne eggs. J. Nematol. 5: 230.
- Morell, J.J., J.R. Bloom. 1981. Influence of Meloidogyne incoqnita on Fusarium wilt of tomato at or below the minium temperature for wilt development. J. Nematol. 13: 57-60.
- Orion, D. and H. Hoestra. 1974. The root-knot nematodes and Ethrel on Fusarium wilt of tomatoes. Neth. Jour. Pl. Path. 80: 28-36.
- Padilla, C., R. López and E. Vargas. 1980. Interaction between Meloidogyne spp. and Fusarium oxysporum f. sp. pisi on pea. Agronomía Costarricense 4: 55-60.

- Parmeter, J.R. 1970. Rhizoctonia solani biology and pathology. University of California Press. Los Angeles, Cal. 255 p.
- Pelcz, J.; G. Oetel and S. Thiele. 1983. Infection and symptoms of Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum on cucumber plants. Influence of Meloidogyne incoqnita. Helminth. Abstr. Ser B 52: 585.
- Pitcher, J.R. 1974. Reduction of tomato to Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici by Meloidogyne javanica. J. Nematol. 6 (4): 148.
- Porter, D.M. and N.T. Powell. 1967. Influence of certain Meloidogyne species on Fusarium wilt development in fluecured tobacco. Phytopathology 57: 282-285.
- Powell, N.T.; P.L. Melendez and C.K. Batten. 1971. Diseases complexes in tobacco involving Meloidogyne incoqnita and certain soil-borne fungi. Phytopathology 61: 1332-1337.
- Reddly, P.P.; D.B. Singh and S.R. Sharma. 1983. Interactions of Meloidogyne incoqnita and Rhizoctonia solani in a root rot disease complex of french bean. Indian Phytopathol. 32: 651-652.
- Salem, A.A.M. 1983. Effect of Meloidogyne incoqnita and Fusarium oxysporum f.sp. vasinfectum on cotton, Gossypium barbadense. Helminth. Abstr. Ser. B. 58: 112.
- Sharma, J.K.; I. Singh; H.K. Chhabra. 1981. Observations on the influence of Meloidogyne incoqnita and Rhizoctonia bataticola on okra. Indian J. Nematol. 1: 84-85.

- Singh, D.B.; P.P. Reddly; S.R. sharma. 1982. Effect of root-knot nematode, Meloidogyne incognita on Fusarium wilt of french beans. Helminth. Abstr. Ser. B.5 (2): 7.
- Summer, D.R. and A.W. Johnson. 1973. Effect of root-knot nematode on Fusarium wilt of watermelon. Phytopathology 63: 857-861.
- Thorne, G. 1961. Principles of Nematology. McGraw-Hill Book Co., New York, U.S.A. 553 p.
- Toledo, L.R. 1983. Identificación de especies y dinámica poblacional del nemátodo agallador Meloidogyne spp. en el cultivo de la oca (Hibiscus esculentus L.) en el Valle de Iguala, Gro. Tesis Profesional C.S.A. E.G. 69 p.
- UNPH. 1982. XII Convención anual y XIII Asamblea General Ordinaria, Mazatlán, Sin., Méx. 18, 19, 20 noviembre.
- Van Gundy, S.D.; J.D. Kirkpatrick and J. Golden. 1977. The nature and role of metabolic leakage from root-knot nematode galls and infection by Rhizoctonia solani. J. Nematol. 9: 113-121.
- Webster, J.M. 1985. Interaction of Meloidogyne with fungi on crop plants. 183-192 pp. In Sasser J.N. and C.C. Carter (Eds.) An advanced treatise on Meloidogyne, Vol. 1 Biology and control, North Carolina State University Graphics. Raleigh North Carolina.
- Young, P.A. 1939. Tomato wilt resistance and its decrease by Heterodera marioni. Phytopathology 29: 871-879.

CUADRO 1. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES AGALLAMIENTO (N) Y PESO DEL FRUTO (PRIMER EXPERIMENTO)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	458.6		
Regresión	1	310.9	31.06	12.62 *
Error	6	147.7	24.61	

* Significativo al 0.05 de probabilidad

CUADRO 2. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES PUDRICION (R) Y PESO DEL FRUTO (PRIMER EXPERIMENTO).

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	123.60		
Regresión	1	0.25	0.25	0.01
Error	6	123.35	20.56	

CUADRO 3. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES AGALLAMIENTO - PUDRICION (NR) Y PESO DEL FRUTO (PRIMER EXPERIMENTO).

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	543.28		
Regresión	1	452.60	452.60	29.95 **
Error	6	90.68	15.11	

** Significativo al 0.01 de probabilidad

CUADRO 4. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES PUDRICION (F) Y PESO DEL FRUTO (PRIMER EXPERIMENTO).

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	547.16		
Regresión	1	410.16	410.16	17.96 **
Error	6	137.00	22.83	

** Significativo al 0.01 de probabilidad

CUADRO 5. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES AGALLAMIENTO - PUDRICION (NF) Y PESO DEL FRUTO (PRIMER EXPERIMENTO)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	651.8		
Regresión	1	450.52	450.52	13.43 *
Error	6	201.28	33.54	

* Significativo al 0.05 de probabilidad

CUADRO 6. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES PUDRICION (RF) Y PESO DEL FRUTO (PRIMER EXPERIMENTO).

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	245.37		
Regresión	1	208.92	208.92	34.39 **
Error	6	36.45	6.07	

** Significativo al 0.01 de probabilidad

CUADRO 7. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES AGALLAMIENTO - PUDRICION (NRF) Y PESO DEL FRUTO (PRIMER EXPERIMENTO).

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	574.59		
Regresión	1	518.79	518.79	55.78 **
Error	6	55.80	9.30	

** Significativo al 0.05 de probabilidad

CUADRO 8 . ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES AGALLAMIENTO (N) Y PESO DEL FRUTO (SEGUNDO EXPERIMENTO).

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	17657.54		
Regresión	1	16060.80	16060.80	60.35 **
Error	6	1596.74	266.12	

** Significativo al 0.01 de probabilidad

CUADRO 9 . ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES PUDRICION (R) Y PESO DEL FRUTO (SEGUNDO EXPERIMENTO)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	1784.19		
Regresión	1	0.00	0.00	0.00
Error	6	1784.19	297.36	

A P E N D I C E

BIBLIOTECA CENTRAL U. A. CH.

CUADRO 10. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES AGALLAMIENTO - PUDRICION (NR) Y PESO DEL FRUTO (SEGUNDO EXPERIMENTO).

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	16565.3		
Regresión	1	15085.8	15085.8	61.2 **
Error	6	1479.5	246.8	

** Significativo al 0.01 de probabilidad

CUADRO 11. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES PUDRICION (F) Y PESO DEL FRUTO (SEGUNDO EXPERIMENTO).

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	2428.6		
Regresión	1	0.0	0.0	0.0
Error	6	2428.6	404.76	

CUADRO 12. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES AGALLAMIENTO - PUDRICION (NF) Y PESO DEL FRUTO (SEGUNDO EXPERIMENTO)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	16897.69		
Regresión	1	15286.26	15286.26	56.9 **
Error	6	1611.43	268.57	

** significativo al 0.01 de probabilidad

CUADRO 13. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES PUDRICION (RF) Y PESO DEL FRUTO (SEGUNDO EXPERIMENTO).

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	3293.19		
Regresión	1	0.00	0.00	0.00
Error	6	3293.19	548.80	

CUADRO 14. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION ENTRE LAS VARIABLES AGALLAMIENTO - PUDRICION (NRF) Y PESO DEL FRUTO (SEGUNDO EXPERIMENTO).

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Total corregido	7	16628.25		
Regresión	1	15286.26	15286.26	68.34 **
Error	6	1341.99	223.66	

** Significativo al 0.01 de probabilidad.

