

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA

POSGRADO EN PROTECCIÓN VEGETAL

**DIAGNÓSTICO, PATOGENICIDAD Y MANEJO INTEGRADO DE LOS
AGENTES CAUSALES DE LA PUDRICIÓN DEL BULBO Y RAÍZ DEL
TULIPÁN (*Tulipa* sp.).**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

PRESENTA

OSCAR CONTRERAS MEJÍA



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

Chapingo, Estado de México, Julio del 2006

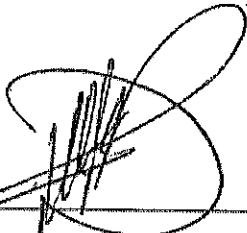
**DIAGNÓSTICO, PATOGENICIDAD Y MANEJO INTEGRADO DE LOS
AGENTES CAUSALES DE LA PUDRICIÓN DEL BULBO Y RAÍZ DEL
TULIPAN (*Tulipa* sp.).**

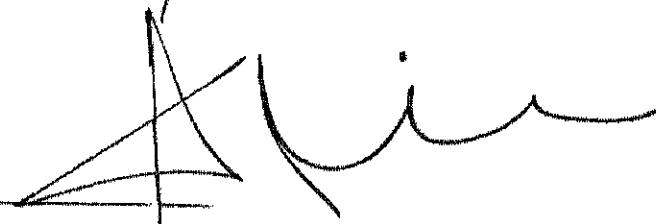
Tesis realizada por Oscar Contreras Mejía, bajo la dirección del comité Asesor
indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para
obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

COMITÉ ASESOR:

Director 
Dr. Marcelo Acosta Ramos

Asesor 
M.C Francisco Ponce González

Asesor 
Dr. Víctor Manuel Pinto

Chapingo, México, Julio de 2006

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos generales

Nombre: Oscar Contreras Mejía

Lugar de nacimiento: Huanímaro, Guanajuato

Profesión: Ingeniero Agrónomo Parasitólogo

Formación Académica

Licenciatura: Departamento de Parasitología Agrícola
Universidad Autónoma Chapingo (1995-1999)

AGRADECIMIENTOS

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada ya que sin este recurso no habría podido llegar a la culminación de esta maestría.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Departamento de Parasitología agrícola, por otorgarme la gran oportunidad de realizar mis estudios de maestría en Protección Vegetal.

Al Dr. Marcelo Acosta Ramos por su apoyo, paciencia, determinación y amistad, para que la realización de este trabajo fuera exitosa.

Al Dr. Francisco Ponce González por su ayuda para la realización de esta tesis.

Al Dr. Víctor Manuel Pinto por su disposición y ayuda en la realización de esta tesis.

A mis compañeros y amigos, Ismael Velasco, Luís Antonio Mariscal, Alonso Méndez, Rodrigo Ramírez, Honorato Pineda, Andre Aguilar, Imelda León, Lucina Sandoval, Juan Ramon Gaytan, Vicencio, Martín Murillo y Víctor. Por hacer mas amena y agradable mi estancia durante esta etapa de mi vida.

Al Ing. Gregorio Sánchez por su gran apoyo sin el cual no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

Oscar Contreras Mejía

DEDICATORIA

A mi hijo Oscar Emilio

Por renovar y crear nuevas ilusiones en mi vida.

A mis papas Eva y Régulo

Por su apoyo y cariño incondicional y por siempre querer lo mejor para sus hijos.

A mis hermanos Marea, Pavo, Rafotas y Memo.

Por ser mis hermanos, por existir, ser mis amigos y por todos los buenos momentos que hemos compartido juntos.

A mi abuelita Trina.

Por enseñarme que para vivir la vida solo hace falta querer estar ahí y tener ganas de seguir adelante.

A Doña Oli, Don Güeyo, Alex y Armando.

Por haberme aceptado como su amigo desde el primer día

A Valita.

El amor de mi vida, que me ha hecho entender que las cosas se pueden conseguir con trabajo, haciéndolas bien y por darme los momentos más felices de mi vida.

Oscar Contreras Mejía

INDICE

Índice de cuadros	VI
Índice de figuras	VIII
Resumen general	IX
General summary	IX

CAPITULO I

Diagnóstico, Patogenicidad y Manejo Integrado de los agentes causales de la pudrición del bulbo y raíz del tulipán (*Tulipa* sp.).

1	INTRODUCCIÓN GENERAL	1
	Objetivos	3
2	REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1	Taxonomía y características botánicas	4
2.2	Manejo del cultivo	6
2.2.1	Preparación del sustrato	6
2.2.2	Plantación de bulbos	6
2.2.3	Riego	7
2.2.4	Fertilización	7
2.2.5	Corte de flor	8
2.3	Información del tulipán en la zona de estudio.	8
2.3.1	Cultivares	9
2.4	Enfermedades principales causadas por hongos en tulipán.	10
2.4.1	Marchitez o pudrición seca del bulbo (<i>Fusarium oxysporum</i> Artur)	10
2.4.1.1	Importancia	10
2.4.1.2	Síntomas	10
2.4.1.3	Organismo Causal	11
2.4.1.4	Epidemiología	12
2.4.1.5	Control	12

2.4.2	Pudrición gris o fuego del tulipán (<i>Botrytis tulipae</i> Pers)	13
2.4.2.1	Importancia	13
2.4.2.2	Síntomas	13
2.4.2.3	Organismo causal	14
2.4.2.4	Epidemiología	14
2.4.2.5	Manejo	15
2.4.3	Mal de esclerocio, pudrición gris rojiza del bulbo (<i>Sclerotium tuliparum</i>)	16
2.4.3.1	Importancia	16
2.4.3.2	Síntomas	16
2.4.3.3	Organismo causal	16
2.4.3.4	Epidemiología	16
2.4.3.5	Control	17
2.4.4	Pudrición negra (<i>Sclerotinia bulborum</i>)	17
2.4.4.1	Importancia	17
2.4.4.2	Síntomas	17
2.4.4.3	Organismo causal	18
2.4.4.4	Epidemiología	18
2.4.4.5	Control	18
2.4.5	Pudrición de la raíz (<i>Pythium ultimum</i> Trow.)	19
2.4.5.1	Importancia	19
2.4.5.2	Síntomas	19
2.4.5.3	Organismo causal	19
2.4.5.4	Epidemiología	20
2.4.5.5	Control	20
2.4.6.	Moho verde o moho azul (<i>Penicillium</i> spp.)	21
2.4.6.1	Importancia	21
2.4.6.2	Síntomas	21
2.4.6.3	Organismo causal	21

2.4.6.4	Epidemiología	21
2.4.6.5	Control	22
2.4.7	Pudrición gris del bulbo (<i>Rhizoctonia tuliparum</i> Kleb	22
2.4.7.1	Importancia	22
2.4.7.2	Síntomas	22
2.4.7.3	Organismo causal	23
2.4.7.4	Epidemiología	23
2.4.7.5	Control	24
2.5	Manejo integrado de plagas (MIP)	24
2.6	Tácticas de Manejo Integrado de enfermedades fungosas	25
2.6.1	Biocontroladores	25
2.6.1.1	<i>Bacillus subtilis</i>	26
2.6.1.2	<i>Trichoderma virens</i>	27
2.6.1.3.	Residuos orgánicos	28
2.6.2	Coberturas (paja)	28
2.6.3	Fungicidas	29
3	LITERATURA CITADA	32

CAPITULO II

DIAGNÓSTICO Y PATOGENICIDAD DE LAS ENFERMEDADES FUNGOSAS DEL BULBO Y RAÍZ DEL TULIPÁN (*Tulipa* sp.)

	RESUMEN	37
	ABSTRACT	38
1	INTRODUCCION	39
	Objetivos	40
2	MATERIALES Y METODOS	41
2.1	Muestreo de bulbos y plantas de tulipán	41
2.1.1	Caracterización de síntomas	42
2.1.2	Aislamiento de los hongos.	43

2.1.2.1	Evaluación de las frecuencias de aislamiento	43
2.1.3	Purificación de los hongos e incremento del inóculo	43
2.1.4	Identificación de los hongos aislados	45
2.2	Fase de invernadero (Postulados de Koch)	45
2.2.1	Preparación del inóculo	45
2.2.2	Inoculación de bulbos	47
2.2.3	Establecimiento del experimento en invernadero	48
2.2.4	Reaislamiento de hongos	48
2.2.4.2	Mediciones y observaciones en el experimento en invernadero	48
2.2.5	Diseño experimental y variables evaluadas	49
3	RESULTADOS Y DISCUSIONES	50
3.1	Caracterización de síntomas de raíz y bulbo, e identificación de patógenos en laboratorio	50
3.1.1	Caracterización de síntomas	50
3.1.2	Frecuencia de aislamiento	51
3.1.3	Identificación de los patógenos en laboratorio	52
3.2	Experimento en invernadero	59
3.2.1	Periodo de incubación	59
3.2.2	Altura de plantas a la cosecha	59
3.2.3	Longitud de raíz a cosecha	60
3.2.4	Incidencia de la enfermedad.	61
3.3	Reaislamiento de los hongos inoculados.	62
4.	CONCLUSIONES	66
5.	LITERATURA CITADA.	67

CAPITULO III

EVALUACIÓN DEL PAQUETE DE MANEJO INTEGRADO LAS
ENFERMEDADES DE LA RAIZ Y EL BULBO DEL TULIPÁN (*Tulipa*
***gesneriana*) EN INVERNADERO (MIET).**

	RESUMEN	71
	ABSTRACT	72
1	INTRODUCCION	73
	Objetivos	74
2	MATERIALES Y METODOS	75
2.1	Localización	75
2.2	Preparación del material vegetal	75
2.3	Inoculación de los hongos fitopatógenos	75
2.4	Aplicación de los tratamientos	76
2.5	Establecimiento del experimento en invernadero	78
2.6	Diseño experimental	79
2.7	Análisis estadístico	79
2.8	Variables evaluadas	79
3	RESULTADOS Y DISCUSION	80
3.1	Resultados de todos los patógenos en conjunto con respecto a los tratamientos de control	80
3.1.1	Altura de planta	80
3.1.2	Longitud de raíz	80
3.1.3	Incidencia de las enfermedades	81
3.2	Resultados individuales de los patógenos inoculados con respecto al total de tratamientos de control	83
3.3.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	84
3.3.1.1	Altura de planta	84
3.3.1.2	Longitud de raíz	87
3.3.2	<i>Penicillium</i> sp.	88
3.3.2.1	Altura de planta	88

3.3.2.2	Longitud de raíz	88
3.3.3	<i>Pythium</i> sp.	90
3.3.3.1	Altura de planta	90
3.3.3.2	Longitud de raíz	90
3.3.4	<i>Sclerotinia bulborum</i>	92
3.3.4.1	Altura de planta	92
3.3.4.2	Longitud de raíz	92
4	CONCLUSIONES	94
5	LITERATURA CITADA	95

ÍNDICE DE CUADROS

CAPITULO II

Cuadro 1.	Síntomas que mostraron cada una de las variedades de Tulipán (<i>Tulipa</i> sp.) de donde se realizaron los aislamientos, provenientes de los dos predios en Texcoco, Edo. de México.	42
Cuadro 2.	Métodos de inoculación utilizados en las pruebas de patogenicidad de los hongos aislados e inoculados en tulipán en invernadero.	47
Cuadro 3.	Frecuencia de aislamiento de hongos obtenidos de síntomas de pudrición de del bulbo y raíz de tulipán (<i>Tulipa</i> sp.)", en San Diego, Texcoco Edo. de México.	57
Cuadro 4.	Frecuencia de aislamiento de hongos obtenidos de síntomas de pudrición de del bulbo y raíz de tulipán (<i>Tulipa</i> spp.)", en San Pablo Ixayoc, Texcoco Edo. de México	58
Cuadro 5.	Frecuencia promedio de hongos aislados de síntomas de pudriciones del bulbo y raíz en nueve variedades de tulipán (<i>Tulipa</i> sp.) en San Diego y San Pablo Ixayoc, Texcoco, Edo. De México	58

Cuadro 6.	Comportamiento de la altura de planta a cosecha y la longitud de raíz con respecto a los hongos inoculados en tulipán (<i>Tulipa</i> sp.), cultivar Ille de France bajo invernadero, en San Diego, Texcoco, Edo. de México	60
Cuadro 7.	Síntomas, incidencia y periodo de incubación de los diferentes hongos inoculados en bulbo y raíz de tulipán (<i>Tulipa</i> sp.), cultivar Ille de France, en San Diego, Texcoco, Edo. de México. Bajo invernadero.	62
Cuadro 8.	Hongos reaislados en laboratorio, provenientes de los tratamientos en campo de la prueba de patogenicidad realizada.	65

CAPITULO III

Cuadro 1.	Hongos y tipos de inoculación usados para la infección de bulbos de tulipán (<i>Tulipa</i> sp.) var. Ille de France	76
Cuadro 2.	Métodos de aplicación para los tratamientos de control evaluados en contra de <i>Penicillium</i> sp., <i>F. oxysporum</i> , <i>S. bulborum</i> y <i>Pythium</i> sp, en bulbos de tulipán (<i>Tulipa</i> sp.) var. Ille de France.	77
Cuadro 3.	Tratamientos de manejo evaluados contra <i>Penicillium</i> sp., <i>F. oxysporum</i> , <i>S. bulborum</i> y <i>Pythium</i> sp, en bulbos de tulipán (<i>Tulipa</i> sp.) var. Ille de France	78
Cuadro 4.	Análisis de las variables altura de planta y longitud de raíz, en Tulipán (<i>Tulipa</i> sp.), con respecto a todos los patógenos y testigos evaluados	82
Cuadro 5.	comportamiento de las variables altura de planta y longitud de raíz, en Tulipán (<i>Tulipa</i> sp), cultivar Ille de France, con respecto a cada uno de los hongos inoculados, considerando todos los tratamientos de control	84
Cuadro 6.	Comportamiento de las variables altura de planta y longitud de raíz de plantas de Tulipán (<i>Tulipa</i> sp), cultivar Ille de France, tratadas con productos biológicos, fungicidas y enmiendas orgánicas e inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> .	86
Cuadro 7.	Comportamiento de las variables altura de planta y longitud de raíz de plantas de Tulipán (<i>Tulipa</i> sp), cultivar Ille de France, tratadas con productos biológicos, fungicidas y enmiendas orgánicas e inoculadas con <i>Penicillium</i> sp	89
Cuadro 8	Comportamiento de las variables altura de planta y longitud de raíz de plantas de Tulipán (<i>Tulipa</i> sp), cultivar Ille de France, tratadas con productos biológicos, fungicidas y enmiendas orgánicas e inoculadas con <i>Pythium</i>	91

Cuadro 9.	Comportamiento de las variables altura de planta y longitud de raíz de plantas de Tulipán (<i>Tulipa</i> sp), cultivar Ille de France, tratadas con productos biológicos, fungicidas y enmiendas orgánicas e inoculadas con <i>Sclerotinia bulborum</i> .	93
------------------	--	-----------

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPITULO II

Figura 1.	Características culturales, morfológicas y sintomatología inducida por los <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Rhizoctonia</i> sp., y <i>Pythium</i> sp. Aislados del bulbo y raíz del tulipán (<i>Tulipa</i> sp.), en Texcoco, Edo. de México, a.) Colonia de <i>Fusarium oxysporum</i> , b.) Síntomas de <i>F. oxysporum</i> , micelio en bulbo y acaparamiento en planta, c1.) Macroconidios de <i>F. oxysporum</i> , c2.) Microconidios de <i>F. oxysporum</i> , d.) colonia de <i>Rhizoctonia</i> sp., e.) Síntomas de achaparramiento por <i>Rhizoctonia</i> sp. en planta, f.) Micelio de <i>Rhizoctonia</i> sp., g.) Micelio algodonoso de <i>Pythium</i> sp., h.) Síntomas de <i>Pythium</i> sp., achaparramiento, escaso desarrollo radicular y pudrición húmeda en bulbos, i.) oosporas de <i>Pythium</i> sp., j.) oogonio de <i>Pythium</i> sp.	55
Figura 2.	Características culturales, morfológicas y sintomatología inducida por los hongos aislados del bulbo y raíz del tulipán (<i>Tulipa</i> sp.), en Texcoco, Edo. de México, a.) Colonia de <i>Penicillium</i> sp., b.) Micelio y conidios de <i>Penicillium</i> sp. dentro de las escamas de los bulbos, c.) <i>Penicillium</i> sp. creciendo sobre bulbos, d.) colonia madura de <i>Sclerotinia bulborum</i> mostrando la formación de esclerocios, e.) Pudrición húmeda en follaje y bulbos, formación de micelio y esclerocios de <i>S. bulborum</i> en tallo y bulbos, f.) conidios de <i>Alternaria</i> sp.	56
Figura 3.	Efectos en la altura de plantas a cosecha y la longitud de raíz ocasionados por los diferentes hongos inoculados en plantas de Tulipán (<i>Tulipa</i> sp), cultivar Ille de France bajo invernadero en San Diego, Texcoco, Edo. de México	61

DIAGNÓSTICO Y MANEJO INTEGRADO DE LAS ENFERMEDADES FUNGOSAS DEL BULBO Y RAÍZ DEL TULIPÁN (*Tulipa* spp.).

DIAGNOSIS AND INTEGRATED DISEASE MANAGEMENT OF BULB AND ROOT FUNGAL DISEASES IN TULIP (*Tulips* spp.)

Oscar Contreras-Mejía¹ y Marcelo Acosta-Ramos².

RESUMEN GENERAL

La presente investigación tuvo como objetivos: diagnosticar los agentes causales de las enfermedades de pudrición de la raíz y bulbo del tulipán en Texcoco, Edo. de México; determinar la patogenicidad de dichos agentes patógenos; proponer y evaluar un paquete de Manejo Integrado para las enfermedades de la raíz y la base del tallo del tulipán. Los hongos aislados probables patógenos fueron: *Penicillium* sp. (43.92%*), *Fusarium oxysporum* (28.13%*), *Pythium* sp. (20.26%*), *Sclerotinia bulborum* (7.14%*), *Rhizoctonia* sp. (6.10%*), y *Alternaria* sp. (6.02%*), (*=frecuencia de aislamiento). *F. oxysporum* ocasionó la mayor reducción de altura y el menor desarrollo de las raíces en las plantas de tulipán. *Penicillium* sp causó el periodo de incubación más corto y tuvo mayor incidencia en campo. *Penicillium* sp., *F. oxysporum*, y *Pythium* sp. fueron encontrados como patógenos del tulipán. En las pruebas de Manejo Integrado de Enfermedades del Tulipán los tratamientos evaluados no tuvieron resultados con diferencias estadísticas significativas con respecto a los testigos absolutos.

Palabras clave: síntomas, incidencia, manejo biológico, patogenicidad, control químico.

GENERAL SUMMARY

This research had following objectives: making a diagnosis on the causal agents of bulb and root tulip rot at Texcoco, Mexico; to determine pathogenicity of these pathogens agents; to propose and to evaluate an Integrated Disease Management for root and bulb tulip diseases. *Penicillium* sp. (43.92%*), *Fusarium oxysporum* (28.13%*), *Pythium* sp. (20.26%*), *Sclerotinia bulborum* (7.14%*), *Rhizoctonia* sp. (6.10%*), and *Alternaria* sp. (6.02%*), were isolated as possible pathogens (*=isolation frequency). The Biggest growing reduction and lower root development in tulip plants were made by *F. oxysporum*. The shortest incubation period and the biggest green house incidence was caused by *Penicillium* sp. In the same way *Penicillium* sp., *F. oxysporum*, and *Pythium* sp. were found as tulip diseases pathogens. When Integrated Disease Management was conducted no differences were found among evaluated treatments and non inoculated tulip plants.

Key words: symptoms, incidence, biological management, pathogenicity, chemical control.

¹Tesista

²Director de tesis

¹Thesis writer

²Thesis director.

CAPITULO I

Diagnóstico, Patogenicidad y Manejo Integrado de los agentes causales de la pudrición del bulbo y raíz del tulipán (*Tulipa* sp.).

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La producción de plantas ornamentales tiene una importancia económica notable en el mundo. El tulipán (*Tulipa* spp.) es una de las de mayor demanda. El género *Tulipa*, se encuentra dentro de la familia Liliaceae y se reproduce por bulbos (Bent y Colombo, 2003).

En el cultivo del tulipán se distinguen dos modalidades principales de producción, una dedicada a la producción de bulbos o propagación, y la otra a la producción de flores a partir de bulbos comerciales, ya sea para jardines, macetas o para flor de corte (Bent y Colombo, 2003).

Al parecer el cultivo del tulipán comenzó a partir de la caída de Constantinopla por los turcos, esto fue en el siglo XV, cuando aparecen las primeras descripciones detalladas de los tulipanes cultivados por los nobles turcos (Bañón, , *et al.*, 1993). Se dice que los centros de origen de esta planta se encuentran desde Asia Menor (Turquía), hasta el Himalaya (Bent y Colombo, 2003). En el año de 1555 se enviaron a Europa Occidental los primeros bulbos de la especie *Tulipa turcarum*, que fueron plantados en la Villa de Absburgo. De aquí pasó a Holanda, en 1592, floreciendo los primeros tulipanes holandeses. Desde entonces y hasta nuestros días el cultivo de esta ornamental se encuentra principalmente en manos de los holandeses, cuyo país es el principal productor y exportador de plantas ornamentales en el mundo, y en 1990 se reportaron 7,007 ha dedicadas a la producción de tulipán en sus diferentes modalidades, reportándose 200 ha para la producción de "bulbos" para ese año (Bañón, *et al.*, 1993).

En México se reportaron 4,600 ha de ornamentales florícolas y de ornato en 1994, el estado de México ocupó el primer lugar en producción (FIRA, 1994). Las especies de importancia económica mayor que se cultivan en México son: rosal, crisantemo, clavel, gerbera, gladiolo, ave de paraíso y nardo. El tulipán en México, tiene una importancia menor, sin embargo desde 1992, Sáenz (citado por Lara, 1996) mencionaba que la superficie establecida con este cultivo se ha venido incrementando. Durante los últimos tres años (2000-2003), en el área de Texcoco, México, se ha incrementado la superficie cultivada de tulipán, comenzando a desplazar a los cultivos ornamentales de la zona.

El tulipán presenta problemas fitosanitarios diversos, tanto plagas como enfermedades, estas últimas son ocasionadas por hongos fitopatógenos. Las enfermedades principales son: la "pudrición gris" o "fuego del tulipán" ocasionada por *Botrytis tulipae*; la "pudrición seca de bulbo" cuyo agente causal es *Fusarium oxysporum*; el "mal de esclerocio" o "pudrición gris rojiza del bulbo" por *Sclerotium tuliparum* y *Sclerotinia bulborum*; las "pudriciones de raíces y del tallo floral", que pueden ser ocasionadas por *Pythium* spp., y *Phytophthora* spp.; pudrición gris del bulbo (*Rhizoctonia tuliparum* Kleb; así como la "pudrición del bulbo" por *Penicillium* sp. (Bañón, , et al., 1993). Lara (1996) en Xochimilco, México aisló a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tulipae*, *Penicillium* spp. y *Botrytis* sp, de los cuales el primero se encontró ocasionando los problemas más importantes, además reportó a *Erwinia carotovora* var. *carotovora* como el segundo patógeno más importante. Para el manejo y control de estos fitopatógenos se realizan estrategias de control diversas que en ocasiones puede ser inadecuadas, al tratarse de un cultivo de introducción reciente y en el cual se han realizado pocos trabajos sobre el diagnóstico correcto que permita la identificación de los agentes causales de las enfermedades y por consiguiente, en base a este generar las estrategias más adecuadas de manejo que engloben tanto el control químico, como otras opciones que ayuden a mantener bajo control a los mismos y que a la vez sean respetuosos del ambiente y aceptables por los productores del tulipán en México.

En base en lo anterior, se realizó la presente investigación con los objetivos siguientes:

1. Diagnosticar y realizar pruebas de patogenicidad de los hongos aislados de las enfermedades del tulipán en Texcoco, México.
2. Proponer y evaluar un paquete de Manejo Integrado para el manejo de las enfermedades principales del tulipán en Texcoco, México.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Taxonomía y características botánicas

El tulipán es una planta clasificada dentro de la familia Liliaceae, del cual hoy en día se cultivan numerosos híbridos que provienen principalmente de dos especies, *T. gesneriana* (de origen oriental) y *T. suaveolens*, originaria del sur de Europa. Es una planta de constitución herbácea, vivaz, con pocas hojas de color verde a verde grisáceo, lanceoladas muy carnosas, que carecen de peciolo y nacen de la parte baja de la planta, la lamina foliar es sencilla, entera y paralelinerve (Bañón, *et al.*, 1993)

Las flores son solitarias y orientadas hacia arriba, pueden tener pétalos (tépalos) dobles o simples, dispuestos en forma de cáliz y generalmente en número de seis, con una gama variada de colores. Están situadas en el extremo del tallo, en el interior de la flor hay seis estambres filamentosos con un penacho de pelos en la base o sin el, y un estigma sésil dividido en tres lóbulos. El gineceo es súpero (López, 1984, citado por Bañón, 1993).

El fruto es una cápsula de tres valvas erectas y con semillas bastante planas. La planta dispone de un bulbo, que es un órgano de reserva y multiplicación formado por un tallo axial corto y carnoso, generalmente vertical y en el que se distingue una parte inferior conocida como platillo o placa basal, y una superficie superior o ápice, que envuelve completamente a un meristemo recubierto con escamas gruesas y carnosas, situado en el eje que originará el tallo aéreo. El bulbo se caracteriza por tener las escamas exteriores secas, que reciben el nombre de túnica y cuya función primordial es la defensa contra las lesiones mecánicas y la desecación. Las escamas exteriores del bulbo poseen capacidad mayor de reserva que las interiores (Bañón, *et al.*, 1993).

El meristemo central puede generar un brote floral, normalmente formado por un tallo sobre el que se asientan las correspondientes hojas y una flor terminal.

En las axilas de las escamas carnosas se formaran yemas, que cargándose de reservas constituirán bulbos nuevos. Al final de la floración, el bulbo madre se marchita, pero estas yemas se desarrollan gracias a la alimentación generada por las hojas de la planta y las escamas carnosas que finalmente terminan arrugándose. Las yemas van incrementando su tamaño hasta el momento en que las hojas mueren, en el cual ya se habrán transformado en bulbos o bulbillos (Bañón, *et al.*, 1993).

Respecto a la fisiología de la planta, el tulipán se desarrolla en un ciclo de dos fases: la fase vegetativa, en la cual los bulbillos crecen hasta llegar al tamaño adecuado para florecer, y la fase reproductiva, que comprende: la inducción floral, diferenciación de las partes florales, alargamiento del tallo floral y floración (Bañón, *et al.*, 1993).

Los tulipanes que se cultivan en la actualidad tienen una notable variabilidad y se han dividido convencionalmente en 15 grupos según el tipo de flor y su origen a partir de diferentes especies. A los grupos del 1 al 11 se les conoce como tulipanes de jardín y mientras que a los grupos del 12 al 15 se les llama tulipanes botánicos, se trata de especies o híbridos de especies conocidas. Los colores más difundidos son amarillo, naranja, blanco, azul, violeta, rosa y rojo en diversas tonalidades hasta un color tan oscuro que parece casi negro. Algunas variedades son perfumadas (Bent y Colombo, 2003).

2.2 Manejo del cultivo

Los tulipanes se adaptan a cualquier tipo de terreno, siempre que esté bien drenado y sea ligeramente alcalino. Las especies y los híbridos enanos son en general muy resistentes al frío (Bent y Colombo, 2003).

2.2.1 Preparación del sustrato

El proceso incluye la preparación del terreno hasta una profundidad de entre 30 y 40 cm, se recomienda para el caso de suelos muy arenosos añadir turba o estiércol "viejo", se debe evitar el uso de estiércol fresco para no ocasionar quemaduras a los bulbos. Para el caso de plantaciones sucesivas en el mismo terreno se recomienda la aplicación de algún fungicida como pudiera ser el metalaxyl, el fenaminosulf, o el quintoceno (Bañón, *et al.*, 1993).

2.2.2 Plantación de bulbos

La plantación se debe realizar sobre bancadas elevadas unos 25 cm por encima del nivel del terreno con una anchura aproximada de un metro, dejando cada dos bancadas un pasillo de trabajo para facilitar el manejo y evitar la acumulación de humedad. Al recibir los bulbos se debe realizar una inspección para revisar el estado sanitario de los mismos y eliminar aquellos que muestren síntomas de algún posible patógeno. Se sugiere realizar la plantación lo más rápido posible después de la llegada de estos, realizando antes la eliminación de la túnica (pelado), lo cual favorece el enraizamiento e impide la acumulación de desinfectante en la corona. Posteriormente se debe realizar la desinfección de los bulbos mediante la inmersión de estos durante unos 15 minutos en una solución desinfectante, a base de varios fungicidas para prevenir el ataque de los hongos pudridores del bulbo como son: thiram, captan, PCNB, tiabendazol, etc., (Bañón, *et al.*, 1993).

Antes de proceder a la plantación es aconsejable realizar la aplicación de un riego abundante para facilitar este proceso y evitar que los bulbos entren

forzados al suelo, para evitar la rotura de la corona de raíces. La densidad de plantación variará en función del crecimiento del cultivar, calibre y época de plantación. Una recomendación promedio para la densidad de plantación es de 100 bulbos por metro cuadrado, para lograr esto se disponen a un marco de 12.5 cm entre filas y 8 cm entre bulbos de una misma fila. La profundidad de plantación varia de acuerdo a la textura del suelo, en un suelo pesado el bulbo debe ser cubierto, pero el ápice debe sobresalir al ras de la superficie del suelo, en suelos de textura ligera se debe profundizar hasta unos 5 cm bajo el suelo con el fin de evitar que las plantas se caigan. Los bulbos se deben colocar en forma manual sobre el terreno, introduciendo la base de estos dentro del suelo, y girándolos para no producir daños en la corona de raíces. Enseguida se puede aportar un sustrato (turba o turba más arena) que entierre los bulbos. Se aconseja también la aplicación de una cubierta vegetal sobre el suelo, con el fin de amortiguar los cambios de temperatura y disminuir la temperatura máxima alcanzada en el suelo, esta cubierta puede ser de paja, ascúculas de pino, etc. (Bañón, *et al.*, 1993).

2.2.3 Riego

Las raíces del tulipán son muy sensibles a los encharcamientos de agua. Sin embargo se debe evitar la escasez de esta, aplicando riego tres veces por semana, cuando las plantas se desarrollan en escasez de de esta presentan desarrollo escaso de raíces y la hojas se forman antes que estas y el desequilibrio puede ser la causa del aborto floral. Es necesario realizar una ventilación constante con el fin de disminuir la temperatura en la que crecen las plantas y disminuir la humedad relativa, en ocasiones es conveniente para algunos cultivares, realizar el cultivo al aire libre (Bent y Colombo, 2003).

2.2.4 Fertilización

El tulipán es una planta que tiene exigencias de potasio altas lo cual le permite mantener la rigidez del tallo y la coloración de las flores, también tiene necesidades de fósforo altas. El nitrógeno en exceso provoca un desarrollo

excesivo de las hojas y una disminución en la rigidez del tallo. Para fertilizar debemos considerar que el tulipán es una planta sensible a los suelos salinos (Bent y Colombo, 2003). Se recomienda la aplicación de fertilizantes como base antes de la plantación y aunque estas deben variar dependiendo del resultado en el análisis de suelo se puede aplicar 2 kg de sulfato de amonio, 5 kg de superfosfato de calcio y 2 kg de sulfato de potasio por área (la centésima parte de una ha) cultivada. Es un cultivo que muestra sensibilidad a la falta de cal en el suelo. (Bañón, *et al.*, 1993).

2.2.5 Corte de flor

El momento óptimo de corte (o de trasplante a maceta), generalmente coincide cuando el capullo se ve coloreado. Pero si la producción se destina a los mercados locales, el corte se realizará con los tépalos bien coloreados. Si el destino es lejano los tulipanes se recolectarán cuando el capullo empieza a virar de color; para facilitar de este modo la manipulación, transporte y duración en florero. Normalmente esta operación se efectúa en forma manual, arrancando la planta completa (incluido el bulbo). Se recomienda cosechar a primeras horas de la mañana, ya que los tejidos de la planta están más turgentes. El periodo de recolección depende del cultivar y de la fecha de plantación, aunque normalmente durante los meses fríos la recolección dura más tiempo que durante los meses cálidos. El rendimiento esperado es de un tallo floral por bulbo. Sin embargo el rendimiento real disminuye, se considera adecuado si oscila entre 85-90% de la cosecha esperada (Bañón, *et al.*, 1993).

2.3. Información del tulipán en la zona de estudio.

El tulipán que se produce en la región de Texcoco es para flor de corte y para macetas, estableciéndose las primeras plantaciones el mes de Octubre de bulbo originario de Francia, durante los meses de noviembre (finales) y en diciembre se establece el grueso de las plantaciones, de bulbos provenientes de Nueva Zelanda y Holanda, el que normalmente estará listo para cosecharse el 14 de febrero. Es en esta segunda plantación donde se presentan los

problemas más frecuentes de pudriciones de bulbo y raíz probablemente ocasionadas por hongos. Finalmente se establece una tercera época de plantación en Enero de Bulbos provenientes de Holanda.

2.3.1 Cultivares

Se dispone actualmente de una amplia gama de cultivares de tulipán cuya clasificación puede hacerse según distintos criterios, como son: el momento de floración (tempranos, medios y tardíos), tipo de flor (sencilla o doble), colorido de la flor (rojos, rosados, blancos, amarillos, bicolores, etc.) y la longitud del tallo (largos y cortos), (Bañón, *et al.*, 1993).

Durante muchos años y hasta 1980, los híbridos rojos y amarillos como el Apeldoorm, dominaron la oferta de variedades con más de 50% de esta. Sin embargo en los últimos años la presencia de este tipo de tulipán ha disminuido considerablemente, a favor de una gama más variada de cultivares, como los de flores dobles que cubren importantes cuotas en el mercado. Respecto a la oferta por el color de la flor, en Holanda y también en 1988, se dio la siguiente distribución: 24% de la oferta total para el rojo, 22% para el rosa, 19% para los bicolores, 16% para los amarillos, 12% para los blancos y el restante 7% en otros colores (Bañón, *et al.*, 1993).

Algunos de los cultivares utilizados en la zona son: Maureen (Blanco), Lee Van Der Mark (de color rojo-blanco), Don Quichotte (rosa), Irene, Golden Apeldoorm (amarillo) e Ille de France (rojo), Barcelona (rojo), Sevilla, Avignon, Banja Luka, Happy Generation, principalmente que son demandados por su coloración. Estos tienen un periodo para obtención de la flor de corte o para macetas de aproximadamente siete semanas y media (Comunicación personal del presidente de la sociedad de floricultores de Texcoco Edo. de México).

2.4 Enfermedades principales causadas por hongos en tulipán

2.4.1 Marchitez o pudrición seca del bulbo (*Fusarium oxysporum* Artur)

2.4.1.1. Importancia

La marchitez por *Fusarium* puede ocasionar grandes pérdidas en cultivos ornamentales como el crisantemo, clavel, gladiolo, tulipán, etc. El diagnóstico puede ser complicado debido a la gran variabilidad de síntomas que ocasiona, dependiendo de las especies y cultivares atacados, pudiendo confundirse con excesos de agua, deficiencias nutricionales y pudriciones causadas por *Pythium* (Tlapal-Bolaños y Mendoza-Zamora, 2003).

2.4.1.2. Síntomas

La infección se produce con mayor frecuencia a finales del periodo vegetativo, ocasionando que la parte basal del bulbo (platillo) se pudra en seco, extendiéndose el daño a las escamas carnosas que se encuentran en la periferia, apareciendo al principio manchas deprimidas pequeñas que posteriormente se pueden unir y formar grandes zonas de aspecto abollado. Si se plantan bulbos infectados, aparentemente sanos, las plantas que proceden de estos toman un color violeta y mueren, además los bulbos desprenden un olor ácido durante la pudrición (Bañón, *et al*, 1993). *F. oxysporum* produce toxinas que afectan la permeabilidad de las membranas celulares, alteran el metabolismo y contribuyen así a ocasionar el marchitamiento (Herrera y Ulloa, 1990).

Otros síntomas observados ocasionados por dicho hongo en diversos cultivos, van desde clorosis foliar, marchitez, decoloración vascular, achaparramiento o combinaciones de los mismos. Se reporta que temperaturas cálidas del suelo de 18 a 24 °C, favorecen la aparición más rápida de los síntomas de este patógeno en el cultivo de crisantemo (Tlapal-Bolaños, y Mendoza-Zamora, 2003).

2.4.1.3. Organismo causal

Los hongos causantes de la marchitez por *Fusarium oxysporum* se agrupan en una gran cantidad de formas especiales, las cuales son específicas al hospedante. Entre estas tenemos a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tulipae* como el causante de la pudrición seca del bulbo en tulipán (De Hertogh, 1974). *Fusarium* se caracteriza por producir microconidios y macroconidios, producidos a partir de fiálides (fialosporas). Los macroconidios son largos y curvados, multiseptados, en forma de luna creciente o de canoa y generalmente se originan de conidióforos dispuestos en esporodoquios, aunque también se pueden formar en conidióforos separados. Los microconidios generalmente son de forma esférica y unicelular (Herrera y Ulloa, 1990).

Las características específicas de *F. oxysporum* son altamente variables, por ejemplo tenemos que la coloración del micelio de sus colonias va desde blanco hasta violeta pálido, produciendo también abundantes macroconidios de colores naranja pálido o violeta pálido, se producen en ocasiones en una masa central de esporas en los aislamientos. Además se menciona que puede producir un pigmento de violeta pálido a oscuro o magenta oscuro en el agar, pero otros aislamientos no presentan ningún pigmento. En ocasiones puede también formar esclerocios de varios colores como son café pálido, azul o azul negro o violeta (Burguess , *et al.*, 1994).

F. oxysporum forma sus macroconidios en monofiálides sobre conidióforos ramificados en esporodoquios y en una menor cantidad en monofiálides sobre hifas, presentan pared delgada y usualmente tres septas, y son de forma curva a casi rectos, la célula apical es corta y ligeramente enganchada en algunos aislamientos. Sus microconidios se forman normalmente en cabezuelas falsas o monofiálides cortas en hifas; son normalmente no septados, ovals elípticos o reniformes y algunos cultivos no los forman en abundancia. También puede

formar clamidosporas las cuales se presentan principalmente en aislamientos saprófitos provenientes del suelo (Burguess, *et al.*, 1994).

2.4.1.4. Epidemiología

Cuando el material propagativo se planta en suelo infestado con el patógeno, el hongo infecta las raíces y coloniza la zona de elongación en el área del tejido no diferenciado que se convertirá en tejido vascular. El material para propagación vegetativa (bulbos) tomado de estas plantas puede no tener síntomas visibles pero estar infectado por el hongo. Si las plantas se desarrollan bajo condiciones de humedad alta en suelo y aire, los síntomas se presentarán y las plantas se marchitan, colapsan y mueren (Tlapal-Bolaños y Mendoza-Zamora, 2003). Al ocurrir esto se forman clamidosporas por medio de las cuales, el hongo sobrevive en el suelo; otra forma de sobrevivencia del patógeno es por la presencia de esporas en bulbos infectados, así como a través de restos de micelio. El hongo se puede transmitir fácilmente en tanques de lavado de bulbos de material infectado a material sano (Kim, and De Hertog, 1997). Los bulbos contaminados pueden contener propágulos vegetativos del patógeno, como micelio y clamidosporas, si el medio donde se cultiva no se trata, estos propágulos infectarán todo el medio y proveerán de inóculo para infectar al hospedante siguiente. La dispersión ocurre vía material propagativo infectado y suelo infestado. Las temperaturas del suelo más favorables para el desarrollo de la enfermedad e diversos cultivos son de 29 a 35 °C, durante el día y 24 a 29 °C durante la noche (Tlapal-Bolaños y Mendoza-Zamora, 2003).

2.4.1.5. Control

Existen estrategias diversas de prevención y control recomendadas para el control de esta enfermedad, tenemos por ejemplo el tratamiento con vapor al medio de crecimiento (suelo, sustrato, etc), o aplicación de fumigantes. Otro método sugerido para prevenir es la desinfección de bulbos con captafol al 1%

más benomyl al 0.2%. También se sugiere procurar durante el periodo de cultivo temperaturas bajas en el ambiente, menores a 24 °C (Bañón, *et al.*, 1993).

Bowers y James (2000) realizaron un estudio para evaluar diferentes extractos vegetales para eliminar a *F. oxysporum* f. sp. *chrysantemi* en invernadero y como alternativa para el uso de fumigantes en el suelo y encontraron que el extracto del chile pimienta y aceite esencial de mostaza disminuía la población del patógeno en 99.9%. Así mismo, Smolinska, *et al.*, (2003), mencionaron en un ensayo realizado para determinar la toxicidad individual de isotiocyanatos (compuestos provenientes de brasicáceas) en diferentes estados de desarrollo contra el hongo *F. oxysporum* en suelos de viveros forestales, observaron que los compuestos propenyl y etil isotiocyanato tuvieron la capacidad fungistática mayor, inhibiendo la germinación de clamidosporas y conidios, así como el crecimiento del micelio de todos los aislamientos evaluados, demostrando que *Brassica carinata*, *B. nigra*, y *B. juncea*, son especies que al contener concentraciones relativamente altas de estos compuestos inhiben el desarrollo del hongo.

2.4.2 Pudrición gris o fuego del tulipán (*Botrytis tulipae* Pers)

2.4.2.1. Importancia

Botrytis P. Mich. ex. Pers, es uno de los géneros de patógenos más comunes y de más amplia distribución en invernaderos. Puede colonizar material vegetal muerto e infectar una amplia gama de hospedantes. Afecta hojas y pétalos de las flores aunque se puede presentar en otras partes aéreas de la planta (Tlapal-Bolaños y Mendoza-Zamora, 2003).

2.4.2.2. Síntomas

Los síntomas se manifiestan en la parte aérea de la planta, se puede detener el crecimiento de los brotes totalmente o en todo caso emerger curvados. Las

hojas crecen curvas y deformadas. Si los síntomas se manifiestan sobre plantas ya crecidas, en hojas y flores aparecen manchas circulares pequeñas de color grisáceo o café de unos 2 mm de diámetro. En condiciones de humedad relativa y temperatura altas estas manchas pueden alargarse rápidamente. A consecuencia de esto, la parte aérea de la planta puede presentar el aspecto de chamuscado y el bulbo en formación no aumenta su tamaño. Si la infección alcanza el bulbo, a través del tallo, las escamas internas presentan manchas deprimidas de color amarillo pardo (Bañón, *et al.*, 1993). Los síntomas que aparecen sobre las hojas normalmente son ocasionados por la infección del patógeno ocasionada a través de heridas en las mismas. Las hojas muertas y senescentes son colonizadas comúnmente por el patógeno. Esto es importante porque el hongo produce sobre estas su esporulación, la cual será una de las fuentes más importantes de inóculo que ocasionarán enfermedad sobre las flores. De la flor el daño puede avanzar hacia el cáliz y el pedúnculo, hasta la punta del tallo, pudiendo descender sobre el tejido de este. Esta característica diferencia los síntomas de los ocasionados por *Ascochyta* (Tlapal-Bolaños y Mendoza-Zamora, 2003).

2.4.2.3. Organismo causal

Se trata de un helotrial de micelio septado, hialino al principio y gris posteriormente; de este se originan conidióforos que toman una coloración parduzca. Los conidióforos son ramificados y terminan en células conidiógenas hinchadas a partir de las cuales se originan simultáneamente conidios tipo blastosporas (botrioblastosporas) , los conidios son unicelulares y hialinos (Herrerías y Ulloa, 1990). La fase sexual de este hongo pertenece al género *Botryotinia* (De Bary) Whetzelk, el cual rara vez se observa formando apotecios sobre los esclerocios (Tlapal-Bolaños y Mendoza-Zamora, 2003).

2.4.2.4. Epidemiología

El patógeno se puede propagar a través de los bulbos, del material usado para cubrir las plantas, por el viento, por la lluvia, etc. Su desarrollo se ve favorecido

por una humedad relativa ambiental elevada (Bañón, *et al.* 1993). El hongo es capaz de penetrar a los tejidos de la flor de forma directa, pero es más común cuando existe el hospedante creciendo bajo condiciones desfavorables o si existen heridas. Los tejidos senescentes son rápidamente infectados y colonizados. Las partes dañadas al morir y el desarrollo de la esporulación del hongo incrementan la fuente de inóculo presente. Los conidios se desprenden fácilmente y se diseminan por las corrientes de aire. La humedad es necesaria para la germinación de las esporas y la penetración, el agua condensada en las hojas (rocío) es ideal. Temperaturas de 10 a 21°C favorecen el desarrollo de la enfermedad, siendo la óptima 18°C. Para el desarrollo de epidemias se requiere además de las condiciones anteriores, de la presencia de una alta cantidad de esporas en el ambiente y temperaturas altas durante el día y bajas durante la noche (Tlapal-Bolaños y Mendoza-Zamora, 2003). El hongo sobrevive de un ciclo a otro en restos de las plantas y como esclerocios (Kim and De Hertog, 1997).

2.4.2.5. Manejo

Para el manejo de esta enfermedad se recomienda procurar que durante las noches las plantas no permanezcan húmedas, aplicando de preferencia los riegos temprano por la mañana, además una ventilación buena del invernadero es conveniente (buscando también eliminar la formación de rocío). Se sugiere también la aplicación de productos vía aspersión con productos como el benomilo, o el vinclozolin (Ronilán®), durante la primera etapa de desarrollo de las plantas. Todas las plantas desechadas se deben retirar y eliminarse fuera de la zona de cultivo (Tlapal-Bolaños y Mendoza-Zamora, 2003).

2.4.3. Mal de esclerocio, pudrición gris rojiza del bulbo (*Sclerotium tuliparum*)

2.4.3.1 Importancia

La enfermedad inducida por *Sclerotium* es principalmente una enfermedad de climas cálidos que afectan a las plantas de los países que se ubican entre los 38° de ambas latitudes. Afectan una variedad amplia de plantas incluyendo hortalizas, ornamentales, cereales, malezas y plantas para forraje (Agrios, 1996).

2.4.3.2. Síntomas

El interior del bulbo se vuelve gris-rojizo y se pudre en seco, pero mantiene las raíces sanas. Si no se produce la brotación, el desarrollo del micelio del hongo tiene lugar en el cuello del bulbo, siendo este de color blanco. A consecuencia del ataque posterior de algún hongo o bacterias saprofitas, el bulbo finalmente aparece en forma de una masa blanca que tiene un mal olor (Bañón, *et al*, 1993).

2.4.3.3. Organismo causal.

El hongo, *Sclerotium* sp., produce micelio abundante de color blanco, veloso y ramificado que forma numerosos esclerocios pero que normalmente es estéril, es decir no produce esporas. Algunas fases sexuales se ubican en el género de basidiomycetes *Athelia* (*Pellicularia*) (Agrios, 1996).

2.4.3.4. Epidemiología.

Este hongo se propaga a través del material vegetal y de la tierra de cultivo. En el tulipán puede penetrar por el ápice del bulbo o por el brote recién emergido, en este caso el brote se marchita y se pudre, al no haber brotación y al desarrollarse el hongo en el cuello de los bulbos se forman esclerocios (Bañón, *et al*, 1993). Estos esclerocios también permiten al hongo sobrevivir de un ciclo de cultivo al otro (Agrios, 1996).

2.4.3. Mal de esclerocio, pudrición gris rojiza del bulbo (*Sclerotium tuliparum*)

2.4.3.1 Importancia

La enfermedad inducida por *Sclerotium* es principalmente una enfermedad de climas cálidos que afectan a las plantas de los países que se ubican entre los 38° de ambas latitudes. Afectan una variedad amplia de plantas incluyendo hortalizas, ornamentales, cereales, malezas y plantas para forraje (Agrios, 1996).

2.4.3.2. Síntomas

El interior del bulbo se vuelve gris-rojizo y se pudre en seco, pero mantiene las raíces sanas. Si no se produce la brotación, el desarrollo del micelio del hongo tiene lugar en el cuello del bulbo, siendo este de color blanco. A consecuencia del ataque posterior de algún hongo o bacterias saprofitas, el bulbo finalmente aparece en forma de una masa blanca que tiene un mal olor (Bañón, *et al*, 1993).

2.4.3.3. Organismo causal.

El hongo, *Sclerotium* sp., produce micelio abundante de color blanco, velloso y ramificado que forma numerosos esclerocios pero que normalmente es estéril, es decir no produce esporas. Algunas fases sexuales se ubican en el género de basidiomycetes *Athelia* (*Pellicularia*) (Agrios, 1996).

2.4.3.4. Epidemiología.

Este hongo se propaga a través del material vegetal y de la tierra de cultivo. En el tulipán puede penetrar por el ápice del bulbo o por el brote recién emergido, en este caso el brote se marchita y se pudre, al no haber brotación y al desarrollarse el hongo en el cuello de los bulbos se forman esclerocios (Bañón, *et al*, 1993). Estos esclerocios también permiten al hongo sobrevivir de un ciclo de cultivo al otro (Agrios, 1996).

2.4.3.5. Control

Como medidas preventivas se aconseja durante el periodo del cultivo, arrancar los bulbos que no hayan brotado, así como los de los alrededores que hayan brotado, incluyendo la tierra en la que estén estos plantados, así como la desinfección de los bulbos y del suelo. Se recomienda no cultivar en el mismo terreno después de una bulbosa, hasta después de uno o dos ciclos de cultivo (Bent y Colombo, 2003). Los fungicidas que se pueden utilizar son los mismos que se recomiendan contra *Botrytis* (Bañón, *et al*, 1993). Se recomienda también el uso de antagonistas de los géneros *Trichoderma* y *Streptomyces* para el tratamiento de los órganos de propagación aunque estos aun están en su fase experimental (Agrios, 1996).

2.4.4. Pudrición negra (*Sclerotinia bulborum*)

2.4.4.1 Importancia

Este hongo puede ocasionar que las plantas nunca lleguen a la floración, y si lo hacen, las flores que se obtienen son de calidad mala. Este patógeno ataca preferentemente a cultivos de bulbos, es común a temperaturas calientes y al final de la estación de crecimiento (Gould, 1979, citado por Lara, 1996).

2.4.4.2. Síntomas.

Las hojas se tornan rojizas, posteriormente se marchitan y mueren, esto sucede normalmente antes de la floración. La parte subterránea del tallo puede estar total o parcialmente putrefacta, y puede presentar esclerocios adheridos. Los bulbos muestran las primeras infecciones como manchas negras y blandas de forma irregular en las escamas exteriores. Las bases de los bulbos se pudren de forma que las hojas se separan con facilidad, las escamas externas suelen pudrirse por completo, mientras que las internas quedan delgadas y toman una coloración gris oscuro. La pudrición continua, llegando a cubrirse el bulbo de micelio blanco o gris. Las escamas presentan una pudrición progresiva hasta

solo dejar fragmentos y esclerocios negros. Los esclerocios tienen un tamaño de 5 a 20 mm y son de forma irregular, negros por fuera y blancos por dentro (Moore, 1979).

2.4.4.3. Organismo causal.

El hongo del género *Sclerotinia*, forma un micelio blanco y velloso, que forma con el tiempo estructuras compactadas de tamaño grande de resistencia, conocidas como esclerocios. Estos esclerocios son blancos al principio, pero después se ennegrecen y endurecen superficialmente y su diámetro puede ser de 0.5 a 1 mm en *S. minor*, y de 2 a 10 mm en *S. sclerotiorum*, a menudo son más aplanados y largos que esféricos (Agrios, 1996).

2.4.4.4. Epidemiología.

El desarrollo mejor de la enfermedad se da en temperaturas frías y con humedad relativa elevada. El micelio blanco que esta en bulbos con infecciones avanzadas da lugar a esclerocios. Al final de la enfermedad los bulbos pueden desintegrarse y dejan esclerocios, estos producen micelio infectivo y sobre este en la estación siguiente se desarrollan apotecios con ascosporas (Gould, 1979, citado por Lara, 1996).

2.4.4.5. Control.

Realizar rotación de cultivos por 3 ó mas años. Realizar la aplicación de fumigantes en el suelo antes de plantar. Eliminar los residuos del cultivo anterior. Tratar a las plantas con fungicidas basados en el ingrediente activo procimidona. El uso de productos fungicidas como el PCNB y el manejo adecuado de las poblaciones de malezas, reducen de forma significativa el problema (Lara, 1996). Son funcionales también las estrategias recomendadas para el control de *S. tuliparum* (Bañón, 1993). Además Agrios (1996) menciona que en los últimos años se han detectado 30 especies de hongos, bacterias, insectos y otros organismos que parasitan o inhiben el crecimiento de *Sclerotinia*. Así mismo menciona que los resultados más alentadores se

obtuvieron en pruebas realizadas con los siguientes hongos micoparásitos: *Conyothirium minitans*, *Gliocladium roseum*, *G. virens*, *Sporodesmium sclerotivorum* y *Trichoderma viridae*; estos hongos destruyen a los esclerocios o inhiben su germinación, por lo que disminuyen la población de *Sclerotinia* en el suelo, aunque aun no se han realizado recomendaciones prácticas para el control del hongo.

2.4.5. Pudrición de la raíz (*Pythium ultimum* Trow.)

2.4.5.1. Importancia

Se ha indicado a este patógeno como uno de los causantes principales de la putrefacción de raíces en bulbos (Buschman, 1995). Además menciona que el bulbo dañado por este hongo se presenta en condiciones de alta humedad en el ambiente y el suelo debido a que sus esporas suelen ser hidrófilas, ya que buscan la humedad. Estas esporas pueden sobrevivir tanto en las raíces del bulbo como en el suelo.

2.4.5.2. Síntomas

Este hongo provoca pudrición de las raíces en la base del bulbo, e incluso, en el cuello del tallo floral (Bañón, *et al.*, 1993). La pudrición es blanda de color pardo oscuro en el sitio de penetración del patógeno. Las raicillas de las plantas pueden ser atacadas, penetrando por las puntas y produciendo un colapso rápido y muerte de las raicillas, ocasionando un pobre sistema radicular y provocando la caída de las plantas.

2.4.5.3. Organismo causal

Pertenece al reino Straminopila, al Phylum Oomycota a la familia Pythiaceae. El micelio es blanco algodonoso, filamentoso, ramificado y de rápido crecimiento. Produce esporangios terminales, que germinan directamente y producen de uno a varios tubos germinales, o forman una hifa corta en el extremo de la cual se forma una vesícula en donde se forman las zoosporas;

las cuales son liberadas y nadan en el agua durante unos minutos, después entran en reposo y se enquistan al envolverse en una cubierta protectora y germinan al producir el tubo germinal. En los extremos de las hifas cortas se producen también oogonios esféricos y anteridios en forma de clava. El cigoto se forma a partir de la unión de los núcleos del anteridio y el oogonio (Abisambra, 2003).

2.4.5.4. Epidemiología

Pythium ataca tejidos juveniles o suculentos, penetra los bulbos, el embrión o los tejidos de las plántulas emergentes mediante la presión mecánica y degradación enzimática; macerando los tejidos. Por lo común la infección inicial se produce al nivel de la superficie del suelo, invade el tallo del hospedante penetrando las células epidérmicas y corticales del tallo directamente, se nutre de sus contenidos y degrada sus paredes celulares produciendo la desintegración de las células y los tejidos; a este nivel los tejidos vasculares pueden ser invadidos ocasionando una decoloración y se desarrolla, produciendo una pudrición blanda de color pardo oscuro en el sitio de penetración del hospedante (Abisambra, 2003). La etapa invernante del hongo son las oosporas las cuales toleran cambios de temperatura, estas oosporas son hidrófilas. Las temperaturas favorables para su desarrollo oscilan entre los 25 y 30 °C. Estas oosporas pueden sobrevivir tanto en el suelo como en las raíces de los bulbos (Buschman, 1995).

2.4.5.5 Control

Se recomienda utilizar material sano y desinfectar el terreno para la plantación. Cuando se tengan plantas infectadas se puede tratar los bulbos con propamocarb o algún fungicida específico para oomycetes, como metalaxyl aplicándolo especialmente en la zona del cuello (Bañón, *et al*, 1993).

2.4.6. Moho verde o moho azul (*Penicillium* spp.)

2.4.6.1. Importancia

Esta enfermedad puede ser ocasionada por *P. cyclopium* y *P. corymbiferum*, los cuales tienen un amplio rango de hospedantes y se encuentran en todo el mundo, pudiendo llegar a ocasionar problemas serios, especialmente en bulbos que han sido golpeados (Moore, 1979).

2.4.6.2. Síntomas

Penicillium spp., causa pudrición del bulbo, el micelio del hongo cubre el bulbo y puede alcanzar su interior, es fácilmente reconocido por un moho verde típico que cubre al bulbo. Las escamas se ven duras secas y esponjosas (Bañón, 1993).

2.4.6.3. Organismo causal

Su micelio es de aspecto polvoso de color verde o azul verdoso. Conidióforos simples o en sinema, ramificado en una o varias series a manera de pincel. Conidios hialinos o de colores brillantes, unicelulares, globosos u ovoides producidos en cadenas basipétalas. Son saprofitos causando daño en frutos o granos almacenados. Las especies representativas son: *P. oxalycum* Currie y Thom., el cual induce moho azul del maíz y *P. digitatum* Sacc., el moho verde de los cítricos (Montes-Belmont, 1992).

2.4.6.4. Epidemiología

La enfermedad está generalmente asociada con daños de insectos, quemaduras del sol, magulladuras, daños mecánicos, manejo inadecuado de cultivo o algún otro tipo de daño. Se presenta usualmente en almacén, cuando hay una humedad relativa alta y una aeración deficiente. Una vez ocurrida la infección, el clima caliente durante el crecimiento, estimulan el desarrollo de la enfermedad (Lara, 1996).

2.4.6.5. Control

Los bulbos afectados deben ser desechados de preferencia, o ser desinfectado. Para prevenirlo es recomendable sumergir los bulbos en una solución desinfectante a base de captan o benomilo (Bañón, *et al*, 1993). Para prevenir la infección se deben evitar los daños a los bulbos y en general durante todo el manejo del cultivo, mantener una adecuada ventilación evitando que la humedad relativa sea demasiado elevada (Lara, 1996).

2.4.7. Pudrición gris del bulbo (*Rhizoctonia tuliparum* Kleb)

2.4.7.1 Importancia

En el genero *Rhizoctonia*, la especie *R. solani* es la más importante y fue descrita en 1815 por De Candolle. En 1853 Kuhn describió a esta especie distribuida en todo el mundo, donde la humedad y la temperatura son adecuadas además ataca a una gran variedad de plantas silvestres y cultivadas. El concepto de la especie ha sido modificado en reiteradas oportunidades a causa de la gran variabilidad morfológica que presentan los hongos incluidos en este grupo (León, 1978).

2.4.7.2. Síntomas

Las primeras señales de la presencia de la enfermedad, son la inhibición de la emergencia o desarrollo de plántulas con una pudrición parcial de brotes. Posteriormente se observan hojas rojizas, marchitas y muerte antes de la floración. Los brotes pueden pudrirse antes de emerger y al igual que los bulbos pueden estar cubiertos de suelo, el cual se mantiene unido por el micelio. La parte subterránea del tallo floral se pudre y cubre con un moho gris, esclerocios y suelo. En las escamas se desarrollan manchas grandes de color gris marrón, las cuales frecuentemente se cubren de moho gris. Al realizar un corte transversal, se muestra una pudrición anillada de las escamas, la cual es seca y tiene un color gris o un blanco rosáceo y posteriormente se torna marrón. Las raíces y la base del bulbo pueden estar aparentemente sanos un tiempo pero

después se pudren completamente. Forma esclerocios de color gris o negro por fuera y blanco rosáceo por dentro (Moore, 1979).

2.4.7.2. Organismo causal

Este patógeno se incluye dentro del orden *Mycelia sterilia* debido a que durante muchos años se pensó que era incapaz de producir algún tipo de esporas ya sea sexual o asexual. Actualmente se sabe que produce basidiosporas en su fase sexual, siendo esta especie un Basidiomiceto, El estado imperfecto (micelio y esclerocios), es usualmente citado como *Rhizoctonia solani*. Kuhn. El nombre para el estado perfecto o basidial es *Thanatephorus cucumeris* Frank Donk. Las esporas del hongo solo se forman durante condiciones especiales de laboratorio y son extremadamente raras en la naturaleza (Agrios, 1999).

El hongo no presenta fructificaciones asexuales; los esclerocios son de color café a negro, de forma variable y frecuentemente pequeños pero no muy compactos y formados por filamentos miceliales y ramas saliendo aproximadamente en ángulo recto (Romero, 1988), además presenta constricciones muy marcadas en las septas y la ramificación se origina subterminalmente a la septa (Mendoza, 1990). El micelio formado por *Rhizoctonia* es septado, y una de sus características es el crecimiento formando un ángulo de entre 45 y 90 ° entre las ramificaciones de este (cuando el micelio es maduro). El micelio es estéril y rara vez forma la fase sexual (*Tanathephorus, Lewia*), al principio es incoloro y en las colonias maduras se torna amarillo o café claro (Agrios, 1996).

2.4.7.3. Epidemiología

La infección en campo se suele presentar en condiciones de baja temperatura, a finales de la primavera o principios de otoño, generalmente comienza en la corona o punta del bulbo (Gould, 1979, citado por Lara, 1996). El hongo persiste en el suelo en forma de esclerocios donde pueden sobrevivir hasta 10 años, la principal determinante de la gama de hospedantes es la temperatura.

El micelio puede crecer hasta una distancia de 15 cm desde los esclerocios en germinación, la penetración tiene lugar principalmente por medio de las hifas que se forman sólo en superficies no cutinizadas. *R. tuliparum* no invade directamente a la raíz sino que penetra por tallos y bulbos. Su dispersión es usualmente al plantar bulbos enfermos (Moore, 1979).

2.4.7.4. Control

Realizar rotaciones de cultivos por más de 5 años. Seleccionar y descartar bulbos enfermos. Sumergir bulbos durante ocho horas en una preparación de formaldehído comercial al 0.4%. Incorporar quintoceno al suelo a una dosis de 50 g m² (Lara, 1996). También se menciona que la incorporación de corteza estercolada de latifoliadas aplicada al suelo da resultados buenos en el control de *Rhizoctonia*, debido principalmente a que incrementa las poblaciones de antagonistas como *Trichoderma* y libera algunos compuestos fungitóxicos (Agrios, 1996).

2.5. Manejo integrado de plagas (MIP)

Diferentes autores definen al MIP como idea, concepto o estrategia sobre que hacer en el manejo de las plagas de las plantas. Se dice que es una filosofía, sobre el que hacer (estrategias), lo que en el campo de la protección vegetal puede corresponder a excluir, erradicar, tolerar, suprimir o manejar. Estas estrategias tienen tácticas que son las acciones ejecutadas, para materializar dicha concepción (el como hacerlo), se puede hacer uso de variedades resistentes, prácticas agrícolas, control biológico, plaguicidas, etc. Según la estrategia empleada, así serán las tácticas a utilizar. El MIP es la unión de varias estrategias, que concilia y resalta los aspectos de prevención, convivencia con las plagas y sostenibilidad ecológica y económica, esto es que ninguna de ellas reúne las características buscadas por si mismas (Ruiz, 1999).

Por su parte Téliz (2000), menciona que bajo el concepto de MIP, el objetivo no es la plaga o la enfermedad, sino el cultivo completo, y aún superior a este, el objetivo principal es el desarrollo del productor y su desarrollo socioeconómico. Además menciona que el MIP debe hacer uso del trabajo interdisciplinario, en el cual además de las acciones individuales que cada especialista realice por separado, se deben realizar reuniones entre los integrantes del equipo de trabajo para que se realicen las críticas necesarias para enriquecer el esfuerzo individual, además de que requiere de reuniones constantes del equipo para las etapas de planeación y evaluación. Esta manera de enfocar el trabajo en el MIP es contraria a la manera clásica de obtener los métodos de control de plagas o enfermedades, en las cuales el especialista permanece aislado y no recibe el enriquecimiento de su trabajo por las críticas del equipo. Este aislamiento es típico inclusive cuando se intenta llevar a cabo por algún especialista, la práctica de tácticas de control integrado de plagas, las cuales sin contemplar las demás necesidades del agricultor y del ambiente, no se consideran como un MIP verdadero.

2.6. Tácticas de Manejo Integrado para enfermedades fungosas

2.6.1 Biocontroladores

En lo que se refiere a biocontroladores, su desarrollo comercial ha recibido un incremento muy significativo en los últimos 5 años, en primer lugar por que se han logrado grandes avances en el aislamiento y caracterización de cepas nuevas de microorganismos que poseen propiedades fungicidas. El proceso fue inicialmente lento por las propiedades inherentes de las cepas naturales, las cuales requerían del hospedante para poder propagarse. Con el desarrollo de herramientas nuevas en la industria de la biología molecular y más específicamente en el área de tecnologías de fermentación, este obstáculo se ha salvado logrando una relación mejor costo beneficio para las empresas que se dedican al desarrollo de estos productos (Stefanova, *et al.*, 2002).

Los biofungicidas se han clasificado de manera comercial en tres categorías: 1) Aquellos que controlan enfermedades de la raíz, 2) los que controlan enfermedades del follaje y 3) aquellos que se utilizan en los tratamientos poscosecha y almacén (Hofstein, 1998).

2.6.1.1 *Bacillus subtilis*

Chazaró (1956), realizó uno de los primeros estudios en México sobre las amilasas producidas por una cepa de *Bacillus* aislada de pulque (bebida obtenida del maguey), reclasificando a la bacteria como *Bacillus subtilis*, y mencionando la importancia que esta bacteria podrían tener en la industria de la fermentación.

Aun no se ha demostrado que alguna bacteria ataque y parasite directamente a hongos, pero en el caso de *Bacillus subtilis*, al parecer es antagónica a ciertos hongos fitopatógenos que habitan en el suelo, a los cuales destruye mediante secreciones enzimáticas o tóxicas (Agrios, 1996).

Bacillus subtilis es una bacteria móvil, gram positiva, formadora de esporas, en forma de bastón, que se encuentra comúnmente en el suelo (Olsen, 1967). En el núcleo de las endoesporas se sintetiza ácido dipicolínico y se incorporan iones de calcio, lo que le da la capacidad de soportar elevadas temperaturas, desecación, radiación y la acción de ácidos y desinfectantes químicos (Brock, , *et al.*, 1987). Su tolerancia termal alta asegura su supervivencia después de tratamientos al suelo con vapor por otro lado se ha encontrado que estimula el crecimiento de plántulas de algunos cultivos ya que es, favorecida, por suelos ricos en materia orgánica y con contenidos de nitrógeno altos, que la estimulan a producir antibióticos poco solubles en agua, lo cual garantiza un control permanente en el suelo (Olsen, 1967; Utkhede y Rahe, 1983; Baker, 1983; Pusey y Wilson, 1988).

El mecanismo de actividad de *Bacillus subtilis* consiste en la producción de una sustancia que inhibe la germinación de esporas y el crecimiento de las hifas, también ataca los tubos germinativos; los deforma (Baker, 1983). Otras sustancias como las Bacitracinas son formadas y éstas bloquean la formación de la pared celular. Entre otras propiedades destaca la habilidad de degradar polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos por acción de enzimas hidrofílicas extracelulares (Brock, et al., 1987).

2.6.1.2 *Trichoderma virens*

El género *Trichoderma* incluye un conjunto de especies con variadas características bioquímicas y moleculares. Hasta la fecha se han descrito varias especies (*T. longibrachiatum*, *T. harzianum*, *T. anhamatum*, *T. atroviridae* y *T. asperellum*) que poseen actividad antifúngica sobre un amplio espectro de fitopatógenos. La actividad antagónica de *Trichoderma* se lleva a cabo, entre otros factores, gracias a las enzimas líticas que excretan al medio. Las enzimas líticas β -1,6 glucanasa, β -1,4 glucanasa, β -1,3 glucanasa, quitinasa y proteasa expresadas por *Trichodermas* son inducibles, tienen una gran importancia en el sustrato presente en el medio de inducción en el que son producidas (Castillejo, et al., 2000).

En el caso de hongos, especies de *Thichoderma* son antagonistas muy conocidos, particularmente en el suelo, además de ser un organismo que se caracteriza por su rápido crecimiento, involucra competencia, antibiosis, así como interacciones hiperparásitas, lo cual hace a este género atractivo para su uso como agente de biócontrol (Blakeman y Fokkema, 1982). *Trichoderma harzianum* es un agente biológico controlador de fitopatógenos que se formula como polvo humectable, se usa ampliamente contra hongos tales como *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum* spp., *Pseudoperonospora* sp, *Monilia* sp, entre otros (Araya, 2000). No es tóxico para animales, ni humanos, no contamina el agua, ni es tóxico a peces, se puede aplicar a las semillas (Barron, 2002).

2.6.1.3. Residuos orgánicos

El equilibrio o balance biológico del suelo puede ser modificado mediante la aplicación de materia orgánica, modificadores o enriquecedores orgánicos, cultivos de cobertura, etc. Los cuales alteran cualquiera de los componentes del patosistema de tal forma que resulta desfavorable para el óptimo desarrollo del patógeno (Zavaleta y Rojas, 1986).

La incorporación de residuos de crucíferas para el control de fitopatógenos del suelo, ha sido ampliamente reportada por Lewis y Papavizas (1980) quienes mencionaron que durante la descomposición de crucíferas en el suelo, hay formación de compuestos volátiles que contienen azufre (metanotiol, sulfuro y disulfuro de dimetilo), los cuales están involucrados en la inhibición de la germinación de los propágulos de *Aphanomyces euteiches*, *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Phytophthora cinnamomi* y *Sclerotium rolfsii* en la inhibición del crecimiento y movilidad de las zoosporas. Así mismo, estos autores mencionan que la incorporación de col tiene efectos nemastáticos sobre *Meloidogyne incognita*.

2.6.2 Coberturas (paja)

En la actualidad pocos estudios se han realizado para el control de fitopatógenos del suelo empleando coberturas con paja. Papavizas, 1980 menciona que el uso de paja de avena tiene efecto contra el patógeno *Rhizoctonia solani* debido a que permite el desarrollo y sirve como sustrato del antagonista *Bacillus subtilis*. La paja sirve como sustrato debido su composición que contiene celulosa que le sirve de alimento y/o sustrato a *B. subtilis*.

2.6.3 Fungicidas

Propamocarb

Este es un fungicida sistémico, que pertenece al grupo químico de los ditiocarbamatos. Su nombre químico es: propilcarbamato HCl, se clasifica por su toxicidad dentro de la categoría IV (producto ligeramente tóxico, su DL50 oral es de $10900 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y su DL50 dermal es de $5.000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). La formulación comercial disponible recibe el nombre de Previcur N® SL (Concentrado soluble), y su concentración es de $722 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Exttoxnet).

Procloraz

Es un fungicida sistémico, que controla hongos fitopatógenos en cereales, y leguminosas. Su acción es preventiva y curativa sobre hongos tales como *Septoria*, *Pseudocercospora*, *Oidium*, *Phoma*, *Mycosphaerella*, *Helminthosporium*, *Rhynchosporium*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Cercospora*. Su nombre químico es *N*-propyl-*N*-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl]-1*H*-imidazole-1-carboxamide, y pertenece al grupo de los imidazoles. Por su toxicidad se considera categoría IV, producto ligeramente tóxico, su DL50 Oral: $> 2.379 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y su DL50 Dermal: $> 4.000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. El producto comercial más común es Sportak y su formulación es un concentrado emulsionable a una concentración de $400 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Rosenstein, 2005).

PCNB ó quintoceno

Es un fungicida principalmente utilizado en tratamientos a semilla, riego por goteo u aspersión para el control del ahogamiento de plántulas y pudriciones de tallo y raíz. La Agencia de Protección al Ambiente de Estados Unidos (EPA) esta en la etapa de renovación de registro del PCNB revisando riegos y beneficios del uso del químico en cada sitio y cultivo. Su meta es crear el menor impacto posible tanto en lo económico, como minimizando los riesgos a un nivel inferior. Su nombre químico es pentacloronitrobenceno, y pertenece al grupo químico de los bencenos sustituidos. Su modo de acción es de contacto y su

categoría toxicológica es III (moderadamente tóxico), su DL50 Oral: $> 500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y DL50 Dermal: $>1000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Algunas marcas comerciales conocidas son INTERGUZAN 30-30®, PCNB®, y se formula como polvo humectable a $300 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Rosenstein, 2005).

Thiram

Thiram es un compuesto dimetil ditiocarbamato usado como fungicida para prevenir daños a cultivos en campo y para proteger cultivos cosechados de su deterioro en transporte y almacenamiento. Thiram usado también como protectante de semillas y para proteger fruta, vegetales, ornamentales, y pastos cultivados de una amplia gama de enfermedades fungosas. Además, es utilizado como repelente de animales para proteger árboles frutales y ornamentales del daño por roedores y venados. Esta disponible como polvo floable, polvo humectable, gránulos dispersables en agua, y suspensiones formuladas en agua, y en mezclas con otros fungicidas. Thiram ha sido usado en el tratamiento de sarna en humanos, como un bloqueo solar, y como bactericida aplicado directamente a la piel o incorporado al jabón. Su nombre químico es tetramethylthiuram disulfido, su modo de acción es sistémico y de contacto. Por su toxicidad se le considera dentro del grupo III, producto moderadamente tóxico, ya que su DL50 Oral es de $1900 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y su DL50 Dermal es de $1000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Sus nombres comerciales son Interguzan® y ARASAN®. (Rosenstein, 2005)

Azoxystrobin

Es un fungicida de efecto principalmente de contacto, de origen natural, con amplio espectro de control, con actividad preventiva, curativa y antiesporulante, dependiendo de la enfermedad. Actúa inhibiendo la respiración mitocondrial en los hongos. Se mueve vía xilema (movimiento acropétalo) y tiene sistemicidad y movimiento translaminar, protegiendo completamente las hojas y brotes nuevos. Está indicado para el control de tizón tardío y *Alternaria* en papas y tomates, mildiú en ajo y cebolla y *Oidium* y *Alternaria* en cucurbitáceas. Su

efecto sistémico y de contacto y su larga residualidad, aseguran la protección de las hojas y su redistribución dentro de la planta, retardando su senescencia y manteniéndolas verdes por más tiempo. Su nombre químico es metil (E)-2-{2-[6-(2-(cianofenoxi)pirimidin-4-iloxi]fenil}-3-metoxiacrilato, y su grupo químico es estrobilurinas. Por su toxicidad se le consideran dentro del grupo IV, productos ligeramente tóxicos y su DL50 Oral es $> 5.000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, y su DL50 Dermal es $> 2.000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. El producto comercial disponible es AMISTAR® 50 WG, con una concentración de $500 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ WG y su formulación son gránulos dispersables en agua (Syngenta, 2006).

3. LITERATURA CITADA

- Abisambra, A. 2003. Plagas exóticas de la floricultura colombiana, *Pythium ultimum*. Instituto Colombiano Agropecuario. Colombia. pp. 30-41.
- Agrios, G. 1996. Fitopatología. Editorial Limusa. México, México. pp. 448-452, 508-511, 513-516.
- Baker, C.J. 1983. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. Plant Disease 69: pp 770-772.
- Bañón-Arias, S., Cifuentes-Romo, D., Fernández-Hernández, J.A., y González-Benavente-García, A. 1993. Gerbera, Liliun, Tulipán y Rosa. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. pp. 160-200.
- Barrón, R. M. 2002. Sensibilidad in vitro del Agente causal de la antracnosis de los cítricos, *Colletotrichum gloesporoides*. Tesis profesional. Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 58p.
- Bent, E., y Colombo, A. 2003. Tulipanes y bulbosas, elección y cuidados. Editorial de Vecchi. Barcelona, España. pp. 10-30.
- Blakeman, J.P. and L. Fokkema. 1982. Potential for Biological Control of Plant disease on the Phylloplane. Annual Review of Phytopathology. 20:167-192.
- Bowers, J. H. and Locke, J. C. 2000. Effect of Botanical Extracts on the Population Density of *Fusarium oxysporum* in Soil and Control of Fusarium Wilt in the Greenhouse. USDA. U.S.A. Plant Disease. 84:300-305.

Brock, T.D; D.W. Smith and M.T. Madigan. 1987. Microbiología 4a edición. Prentice Hall. Hispanoamericana S.A. 906 p.

Burguees, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P., Backhouse, D. 1994. Laboratory manual for Fusarium research, 3rd. Edition. Departament of Crop Science, University of Sydney and Royal Botanic Garden, Australia. pp. 74-79.

Bushman, J.C. 1995. El Liliom como flor cortada en zonas subtrópicas. Centro Internacional de Bulbos de Flores. Holanda. pp. 17-20.

Castillejo M. A., P. Santorum, E. Monte y M. Garcia R. 2000. Influencia de los nutrientes en la expresión de enzimas líticas por cepas de *Trichoderma* utilizadas como agentes de biocontrol. In: X Congreso Sociedad española de Fitopatología. Valencia, España. 3-6 de Octubre. 69p.

Chazaró, G.M. 1956. Estudio de las amilasas de una cepa de Marburg de *Bacillus subtilis* aislada en pulque. Tesis profesional. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. pp.38-41.

De Hertogh, A. 1974. Principales for forcing tulips, hyacinths, daffodils, Easter lilies and Dutch irises. Scientia Horticulture 2: 313-355.

Egel, D. S., and Harmon, P. 2001. Effects of nozzle type and spray pressure on control of Alternaria leaf blight of muskmelon with chlorothalonil. Plant Disease. 85:1081-1084.

Ferguson, L. M., and Shew, B. B. 2001. Wheat straw mulch and its impacts on three soilborne pathogens of peanut in microplots. Plant Disease. 85:661-667.

FIRA. 1994. Ornamentales, elementos de análisis de las cadenas productivas. FIRA. México. pp 25-35.

Herrera, T. y Ulloa, M. 1990. El Reino de los Hongos, Micología básica y aplicada. Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo de Cultura Económica. México, México. pp. 190-247.

Hofstein, R. 1998. commercial development of biofungicide. In: Hall. R.F. and Meen, J.J. (Eds). Biopesticides, use and delivery. Human press. New Jersey. USA. pp. 77-102.

Kim, K. and A.A. De Hertog. 1997. Tissue culture of ornamental flowering bulbs (Geophytes). Horticultural Reviews 18:72-79.

Lara-Lara, J.A. 1996. Diagnóstico de enfermedades en plantas de Tulipán (*Tulipa* sp) provenientes de bulbos importados de Holanda en Xochimilco, D.F.; México, Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 22-74.

León, G.H. 1978. Enfermedades de los cultivos en el estado de Sinaloa, SARHCIAPAN, Culiacán Sinaloa. 213p.

Mendoza, Z. C. 1990. Diagnostico de enfermedades fungosas. UACH. Departamento de Parasitología Agrícola Chapingo, México. pp. 35-39

Montes-Belmont, 1992. Identificación de hongos fitopatógenos. Instituto Politécnico Nacional. Oaxaca, México. pp. 34, 60, 76.

Moore, W.C. 1979. Diseases of Bulbs. Ministry of agriculture. Fisheries and London, England. pp. 11-33.

Morales, H.L. 2000. Rango de hospedantes de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary aislado de crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ram). 52 p.

Olsen, C.M. and Baker, K.F. 1968. Selective heat treatment of soil, and its effect on the inhibition of *Rhizoctonia solani* by *Bacillus subtilis*. Phytopatology 58: pp 79-87.

Palou, L., Smilanick, J. L., Usall, J., and Viñas, I. 2001. Control of post harvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate. Plant Disease 85:371- 376.

Perdomo-Roldan, F. 1996. Control biológico de *Fusarium roseum* (Lk) Snyder y Hansen, hongo que ataca la raíz de clavel *Dianthus caryophyllus* L. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 1-17.

Pusey, P.L. and Wilson, C.L. 1984. Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. Plant disease. 68:753-756.

Priyatmojo, A., Yotani, Y., Hattori, K., Kageyama, K., and Hyakumachi, M. 2001. Characterization of *Rhizoctonia* spp. causing root and stem rot of miniature rose. Plant Disease 85:1200-1205

Rosenstein, 2005. Diccionario de Especialidades Agroquímicas. Editorial PLM. México. pp 1000-1300.

Ruiz-Tapia, J.M. 1999. Manejo Integrado de la pudrición radical del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) por *Rhizoctonia solani* Kühn en Chapingo, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 23-35.

Smolinska, U. 2003. Isothiocyanates Produced by Brassicaceae Species as Inhibitors of *Fusarium oxysporum*. Research Institute of Vegetable Crops, Skierniewice, Poland. Plant Disease 87:407-412.

Stefanova, M., Sandoval, I., Fernández, A. 2002. Compatibilidad entre cepas de *Trichoderma* spp. y agentes biopesticidas, biofertilizantes y bioestimulantes. Informe técnico de investigación, INISAV. 8p.

Syngenta Agro. 2006. Hoja de información de seguridad de azoxystrobin. Syngenta. Santiago Chile. <http://www.syngenta.cl/prodyserv/Hoja/Amistar.pdf>

Téliz, D. 2000. El aguacate y su manejo integrado. Editorial Mundi-Prensa. México, México. pp. 183-197.

Tlapal-Bolaños, B. y Mendoza-Zamora, C. 2003. Manejo fitosanitario de ornamentales. Instituto de Fitosanidad, Colegio De Postgraduados. Montecillos, México. pp. 97-106.

Utkhede, R.S. and Rahe , J.E. 1993. Interactions of antagonist and pathogens in biological control of onion white rot. Phytophatology 73: pp 890-310.

Zavaleta-Mejía, E., Rojas-Martínez, R. I. 1986. Efecto de los volátiles producidos durante la descompocisión de residuos de crucíferas, incorporados al suelo, sobre *Meloidogyne* spp., Resúmenes de avances de investigación 1986. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 55 p.

CAPITULO II

DIAGNÓSTICO Y PATOGENICIDAD DE LOS AGENTES CAUSALES DE LAS PUDRICIONES DEL BULBO Y RAÍZ DEL TULIPÁN (*Tulipa* sp.).

RESUMEN

Se diagnosticaron los agentes causales de las enfermedades principales del tulipán, en 60 plantas con síntomas en bulbo y raíz de diferentes cultivares, en Texcoco, Edo. de México. Se aislaron a varios hongos de diferentes síntomas, se obtuvo la frecuencia de aislamiento, se purificaron cada uno de los hongos aislados, se identificaron y se obtuvieron cultivos monospóricos de: *Penicillium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia* sp., *Sclerotinia bulborum*, *Pythium* sp. y *Alternaria* sp., así mismo se realizaron los postulados de Koch, con los métodos de inoculación por inmersión diluciones a diferentes concentraciones de conidios, micelio en granos de trigo, esclerocios aplicados al suelo y zoosporas, respectivamente, más una mezcla de todos los hongos y un testigo sano. En los postulados de Koch se evaluaron: la frecuencia de reaislamiento, incidencia de la enfermedad, la altura de plantas y la longitud de raíz. Se diagnosticaron como los agentes causales de las enfermedades fungosas del bulbo y raíz del tulipán a: *Penicillium* sp., *Fusarium oxysporum*, y *Pythium* sp. El hongo que ocasionó la mayor enfermedad al ocasionar la altura de planta y longitud de raíces menores en las plantas de tulipán fue *F. oxysporum* con 13.2 cm. y 3.6 cm respectivamente. El hongo con el periodo de incubación más corto fue *Penicillium* sp, mostrando síntomas en ocho días. el hongo que se reaisló con la frecuencia mayor en invernadero fue *Penicillium* sp. (100%), le siguió *Fusarium oxysporum* (50%), *Pythium* sp. (50%).

DIAGNOSTIC AND PATOGENICITY OF ROOT AND BULB FUNGAL DISEASES IN TULIPS (*Tulipa* sp.).

ABSTRACT

Disease problems in tulips were determined, from bulb and root of 60 grown plant from of several tulip varieties in Texcoco, Mexico State. Once part plant with symptoms were isolated, isolation frequency, individual fungi purification to its next identification and monosporic isolates were obtained from: *Penicillium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia* sp., *Sclerotinia bulborum*, *Pythium* sp. and *Alternaria* sp., these isolates were increased and after Koch postulation were made, by single bulb inoculation and ten repetitions of each were also made, this inoculation was made by adjusted inoculation methods according to each fungi, a mixing with all fungi were added and a non treated mixing was include. Isolation frequency, disease incidence (borne plant percentage), single bulb damage percentage were tested. As root and bulb tulip disease causal agents were determined: *Penicillium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Pythium* sp., the biggest greenhouse disease incidence were made by *Penicillium* sp. (100%), second by *Fusarium oxysporum* with (50%), third *Pythium* sp. (50%). The worst height in tulip plants was made by *F. oxysporum* with 13.2 cm. The less root length in tulip plants was induced also by *F. oxysporum* with 3.6 cm. The shortest incubation period was induced by *Penicillium* sp, which showed symptoms at eight day.

1. INTRODUCCIÓN

El tulipán en México, tiene relativamente poca importancia, sin embargo a partir de 1992, la superficie establecida con este cultivo se ha venido incrementando (FIRA, 1994; Lara, 1996), especialmente durante los años del 2000-2003, desplazando a otros cultivos ornamentales como el crisantemo, principalmente en la región del municipio de Texcoco, y municipios aledaños del Edo. de México.

Este cultivo al igual que la mayoría de los cultivos ornamentales presenta problemas fitosanitarios diversos, tanto plagas, como enfermedades, estas últimas son uno de los factores limitantes principales de la producción del tulipán en México, debido principalmente a que el manejo del cultivo se viene realizando de formas diversas en lo que al aspecto fitosanitario se refiere, y debido a la falta de orientación que hubo al principio sobre dicho manejo, en muchas ocasiones se ha favorecido los brotes de enfermedades, tanto fungosas como bacterianas (Lara, 1996).

La importancia de los hongos como patógenos del tulipán no se pone en duda, ya que diversos autores han mencionado varias especies de hongos como causantes de pérdidas económicas importantes, a productores de tulipán, cuando no son prevenidos o atendidos a tiempo, por ejemplo *Fusarium oxysporum*, causa la pudrición seca del bulbo; *Sclerotium tuliparum*, que produce la pudrición gris rojiza del bulbo; *Sclerotinia bulborum*, ocasiona de la pudrición negra, entre otros (Moore, 1979; Bañón, *et al*, 1993; Agrios, 1996).

Por lo anterior es de suma relevancia considerar, que aún cuando en el mundo existen varios trabajos sobre diagnóstico de enfermedades del tulipán como los citados arriba, en México no existe uno que permita la identificación correcta, amplia y oportuna de los agentes causales de las enfermedades del tulipán, por tanto es de suma importancia realizar estudios que permitan conocer los agentes causales correctos de las enfermedades principales del bulbo y raíz del

tulipán, lo cual permitiría a los floricultores poner en marcha tácticas económicas y ecológicas adecuadas de manejo teniendo la certeza del fitopatógeno que se está combatiendo. Debido a lo anterior se realizó la presente investigación con los objetivos siguientes:

- Diagnosticar los agentes causales de la pudrición de raíz y bulbo del tulipán (*Tulipa* sp.), en Texcoco, Edo. de México.
- Conocer la sintomatología y patogenicidad que cada uno de los patógenos de la raíz y bulbo del tulipán ocasionan.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Muestreo de bulbos y plantas de tulipán

Se realizó un muestreo dirigido en 60 plantas de tulipán con síntomas aparentes de enfermedades de origen fungoso (Cuadro 1), este muestreo se efectuó en los predios de dos productores cooperantes de las localidades de San Pablo Ixayoc (A), de donde se obtuvieron 15 plantas, y San Diego (B), donde se obtuvieron 45 plantas, del municipio de Texcoco, Edo. de México, durante los meses de enero y febrero de 2004.

Las plantas con síntomas de enfermedades, se extrajeron completas de las plantaciones, posteriormente se colocaron en bolsas de poli papel y se mantuvieron en refrigeración durante dos días, hasta realizar el aislamiento de los probables patógenos en medios de cultivo, primero en Papa-Dextrosa-Agar (PDA) y dependiendo del tipo de crecimiento de las colonias formadas se reaislaron en Jugo de Tomate-Agar.

Cuadro 1. Síntomas que mostraron cada una de las variedades de Tulipán (*Tulipa* sp.) de donde se realizaron los aislamientos, provenientes de los dos predios en Texcoco, Edo. de México.

<i>Identificador</i>	<i>Cultivar</i>	<i>Síntoma</i>
1	Len Van Demark	Lesión coriácea en bulbos y achaparramiento en plantas
2	Len Van Demark	Lesión coriácea en bulbos y achaparramiento en plantas
3	Ille de France	Achaparramiento y escaso desarrollo en raíz
4	Irene	Pudrición seca en bulbos color café, con manchas, pudrición húmeda en follaje y bulbos, esclerocios negros de 2 a 4 mm
5	Avignon	Pudrición seca en bulbos color café, Escaso desarrollo en raíz, micelio verde superficial, galerías en bulbos
6	Banja Luka	Pudrición coriácea y café en bulbos, en otros pudrición húmeda
7	Happy Generation	Achaparramiento de plantas, ligera pudrición en raíz
8	Golden Apeldoorm	Pudrición de bulbos y raíz, plantas cloróticas, marchitez de plantas, aparición de brotes secundarios
9	Desconocida	Bulbos dañados con micelio verde y blanco.
10	Maureen	Achaparramiento de plantas, pudrición coriácea del bulbo, micelio verde y blanco
11	Golden Apeldoorm	Achaparramiento de plantas, pudrición coriácea del bulbo, micelio blanco
12	Ille de France	Achaparramiento de plantas, pudrición coriácea del bulbo, micelio blanco

2.1.1 Caracterización de síntomas

A cada uno de las plantas enfermas que se muestrearon, se evaluaron visualmente al momento de ser extraídas del suelo, se registraron literalmente y fotografiaron los síntomas y estructuras fungosas que presentaban, así mismo se realizó una clasificación en base al tipo de síntoma y cultivar antes de ser llevadas al laboratorio (Cuadro 1).

2.1.2 Aislamiento de los hongos

Esta actividad se realizó en el laboratorio de Hongos Fitopatógenos de Protección Vegetal de Parasitología Agrícola, de la Universidad Autónoma Chapingo. En cajas de Petri con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), se sembraron 25 muestras de cada uno de los síntomas de raíz, bulbo o base del tallo enfermos encontrados, por cada cultivar evaluado. Previamente, las muestras se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 1.5% por dos minutos, se enjuagaron en agua destilada esterilizada y se secaron con toallas sanitarias esterilizadas. Las cajas se incubaron a 24 ± 3 °C, durante 72 h.

2.1.2.1 Evaluación de las frecuencias de aislamiento

Una vez transcurrido este periodo, se evaluaron las frecuencias de aislamientos contabilizando cada uno de los crecimientos fungosos que se presentaron, de acuerdo a la morfología y color de sus crecimientos miceliales. En etapas posteriores se determinó cuáles eran los hongos a los que correspondía cada crecimiento fungoso.

2.1.3 Purificación de los hongos e incremento del inóculo

Cada una de las colonias reaisladas se dejaron crecer durante ocho días hasta llenar las cajas de Petri, luego que el micelio de los hongos llenó las cajas, se les agregaron 10 mL de agua destilada esterilizada con Tween 20 al 0.1% y con una aguja de disección se removió la superficie del micelio de los hongos para desprender los conidios y/o esporangiosporas según sea el caso. Los 10 mL de la suspensión resultante (solución madre), se vaciaron a un tubo de ensaye (Morales, 1996).

Posteriormente se adicionó 1 mL de la suspensión madre (previamente agitada) en un tubo de ensaye con 9 mL de agua destilada esterilizada, se mezcló vigorosamente y se tomó nuevamente 1 mL, el cual se pasó a otro tubo con 9 mL de agua destilada estéril y así sucesivamente hasta obtener una concentración baja (esporas y/o conidios dispersos). Tres gotas de la

suspensión con esporas y/o conidios dispersos se sembraron y se distribuyeron homogéneamente con un triángulo de vidrio en cajas de petri con medio PDA, las cuales se incubaron a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 a 36 h. Acto seguido los crecimientos miceliales (colonias) se separaron y se transfirieron a cajas con PDA; de esta forma se obtuvieron los cultivos puros, monoconidiales y monozoosporicos (Morales, 1996).

Cada aislamiento se incrementó masivamente en cinco cajas con PDA. Este proceso se realizó para cada uno de los hongos aislados a excepción de los hongos que no produjeron estructuras reproductivas, las cuales se purificaron por el método de punta de hifa. El método consiste en observar el crecimiento bajo el microscopio estereoscópico para identificar una hifa, y así transferirla a una caja petri con medio de cultivo PDA, para incubarse a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, y así observar nuevamente el crecimiento micelial. Al ocurrir lo anterior, se realizó una segunda purificación por punta de hifa, finalmente, las muestras se incrementaron en medio de cultivo, y se incubaron a la temperatura antes señalada para su incremento (Romero, 1993).

Una vez obtenido el inóculo puro, se procedió a lo siguiente: para *Fusarium* sp., se sembraron círculos de 3 mm de diámetro obtenidos con un saca bocados en cajas de Petri que contenían medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA); para *Alternaria* sp., *Sclerotinia* sp., y *Penicillium* sp., el procedimiento utilizado fue el mismo; para el hongo *Pythium* sp., se realizó un trabajo similar pero el medio de cultivo utilizado fue jugo de tomate-agar; *Rhizoctonia* sp., se incrementó usando como sustrato semillas de trigo esterilizadas en la olla de presión durante 15 min a una presión de 15 libras por pulgada cuadrada, y se repitió el procedimiento con el mismo sustrato durante tres veces, se dejaron reposar por 24 horas entre cada puesta en el autoclave, a estas semillas se les inóculo micelio de este hongo a través de círculos de PDA mas hongo de 3 mm de diámetro y se le agrego agua destilada estéril para facilitar su propagación. Los

hongos sembrados en los medios de cultivo, y el inóculo colocado sobre granos de trigo se colocaron durante 10 días en la incubadora a 27 ± 1 °C para facilitar su crecimiento (Priyatmojo, *et al*, 2001).

2.1.4. Identificación de los hongos aislados

Los organismos aislados se identificaron a nivel de género con la ayuda de un microscopio óptico por comparación visual y con la ayuda de claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998), y Waterhouse (1968). La información obtenida se corroboró con la literatura existente sobre dichos hongos en cuanto a sintomatología y características que presentaron y se relacionaron con los síntomas obtenidos en el punto 2.1.1.

2.2. Fase de invernadero (Postulados de Koch)

Posteriormente se realizaron los postulados de Koch, los cuales se llevaron a cabo en un invernadero propiedad del Ing. Gregorio Sánchez donde se realizaron los postulados, tres (el hongo que se desarrolle en un cultivo puro se debe inocular en plantas sanas de la misma variedad o especie en que apareció la enfermedad y debe inducir la misma enfermedad en las plantas inoculadas) y cuatro (el hongo se debe reaislar una vez más en un cultivo puro y sus características deben corresponder a las obtenidas en el postulado 2), para cada uno de los hongos aislados de los síntomas de enfermedades analizadas. De este modo se verificó que los organismos aislados efectivamente están ocasionando los problemas detectados en invernadero.

2.2.1. Preparación del inóculo

Después de incrementar el inóculo de cada uno de los hongos se realizó la obtención de los propágulos a utilizar en la inoculación de los bulbos, para lo cual se aplicó las metodologías siguientes:

En cajas petri con 20 mL⁻¹ de agua destilada esterilizada se colocaron 10 discos de medio de cultivo que contenían micelio de *Pythium* sp. El material se incubó a 31° C por 24 horas, los discos de micelio se retransfirieron a cajas petri con agua estéril nueva y se incubaron por 48 horas a 31° C, se desechó el agua de las cajas y se colocó agua estéril nueva se incubó a 31° C después de tres horas empezó la liberación de zoosporas (Ramírez y Romero,1980). Posteriormente se determinó la concentración de una solución madre de zoosporas por triplicado con la ayuda de un hemacitómetro, y se preparo una concentración al 5x10⁴ zoosporas • mL⁻¹ (Heungens, K., y Parke,J.L 2001).

Para *Rhizoctonia* sp. se colocaron 3 discos de micelio (de 5 mm de diámetro) y 100 mL de agua destilada estéril en matraces de 500 mL, llenos con granos de trigo esterilizado por 20 min a 121° C (15 libras por pulgadas cuadrada) por triplicado, posteriormente se incubaron durante 10 días en oscuridad a 25° C, luego se revolvieron homogéneamente para obtener una colonización uniforme de los granos. Una vez que los matraces se colonizaron totalmente se procedió a inocular dicho hongo al 2% (peso/peso) del grano de trigo colonizado por el hongo en relación al suelo (Priyatmojo, et al 2001).

Para el hongo *Fusarium oxysporum* el contenido de 10 cajas de PDA (cubiertas totalmente por el crecimiento del hongo), se le agrego agua destilada esterilizada y se trituró en una licuadora de uso domestico para luego aforar la suspensión a un litro. Esta suspensión se colocó en un tamiz para eliminar los trozos grandes y el resto del líquido se pasó a través de una triple malla de manta de cielo. Posteriormente se determinó la concentración de la solución madre de conidios con la ayuda de un hemacitómetro, y se ajustó una concentración a 3 x10⁵ conidios • mL⁻¹ de *F. oxysporum*. (Montes, 1992).

Para *Penicillium* sp., los conidios se obtuvieron a través de la sustracción de micelio y conidios con la ayuda de una aguja de disección previamente esterilizada, los conidios se colocaron en tubos de ensaye con agua destilada

esterilizada, y se ajustaron a una concentración de 1×10^6 conidios $\cdot \text{mL}^{-1}$ (Palou *et al*, 2001), auxiliándose con un hemacitómetro y microscopio óptico. Esta metodología se aplicó de manera similar para el hongo *Alternaria* sp., preparando el inóculo a una concentración de 1×10^4 conidios $\cdot \text{mL}^{-1}$ (Egel and Harmon, 2001).

El inóculo de *Sclerotinia bulborum* (esclerocios) se obtuvo de la maduración del micelio del hongo cultivado en PDA durante un mes, estos se cosecharon con la ayuda de agujas de disección y se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio al 2% durante dos minutos (Ferguson and Shew, 2001).

2.2.2. Inoculación de bulbos

Bulbos sanos de tulipán cultivar Ille de France se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio al 2% durante cinco minutos, posteriormente se les hicieron dos heridas en forma de cruz en los costados de los bulbos, los cuales se secaron a temperatura ambiente, y se inocularon de acuerdo a los procedimientos enumerados en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Métodos de inoculación utilizados en las pruebas de patogenicidad de los hongos aislados e inoculados en tulipán en invernadero.

Tratamiento	Método de inoculación
<i>Penicillium</i>	Inmersión de bulbos en una solución de 1×10^6 conidios por mL (Palou <i>et al</i> , 2001)
<i>Fusarium oxysporum</i>	Inmersión de bulbos en una solución de 5×10^3 conidios por mL
<i>Rhizoctonia</i> sp.	Inoculación al suelo con micelio crecido sobre granos de trigo al 2% (peso/peso).
<i>Pythium</i> sp.	Inmersión de bulbos en una solución de 5×10^3 zoosporas por mL
<i>Sclerotinia bulborum</i>	Inoculación con 8 esclerocios por kg de suelo, previamente desinfectados con hipoclorito de sodio al 0.5% durante 1 minuto, (Ferguson and Shew, 2001).
<i>Alternaria</i> sp.	Inmersión de bulbos en solución con 1×10^4 conidios por mL durante 1 minuto (Egel and Harmon, 2001).
Todos los hongos	Inmersión e inoculación al suelo de todos los hongos combinados
Testigo absoluto	Solo se desinfectaron los bulbos

2.2.3. Establecimiento del experimento en invernadero.

En invernadero la plantación de los bulbos se estableció en cajas de plástico de 50 cm de ancho por 75 cm de largo, estableciéndose 10 bulbos por caja (10 cm de distancia entre hileras y 8 cm de distancia entre bulbos) correspondientes a cada tratamiento. Los tulipanes se mantuvieron, bajo las condiciones de manejo de los agricultores de la zona, y en suelo previamente esterilizado con bromuro de metilo.

2.2.4. Reaislamiento de hongos

Una vez realizado el experimento en invernadero, de las partes de las plantas inoculadas que mostraron síntomas de enfermedades en bulbos y/o raíces, se realizó el reaislamiento de los hongos en medio de cultivo PDA (Postulado de Koch IV). Las cajas se incubaron a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ con luz blanca durante 72 horas. Para establecer el porcentaje de hongos reaislados en laboratorio, se colocaron secciones de los bulbos y porciones de raíz obtenidos de la prueba de patogenicidad en campo después de realizada la cosecha y se sembraron en medio de cultivo PDA, se pusieron 10 muestras de raíz de cada hongo y 10 de partes del bulbo, y posteriormente se hizo el conteo del número de colonias miceliales que correspondían con los hongos presentes en campo, por observación al microscopio de las estructuras que cada aislamiento produjo, y dicha variable se expresó en porcentaje (Cuadro 8).

2.2.4.2. Mediciones y observaciones en el experimento en invernadero.

Para conocer el periodo de incubación e incidencia de las enfermedades en el experimento se realizaron observaciones semanales en invernadero y así detectar el momento en el que las plantas mostraron síntomas de algún patógeno en específico, además se realizó un conteo final revisando la cantidad total de bulbos que mostraron síntomas visibles de cada hongo. Una vez que las plantas llegaron a la floración (punto de cosecha comercial), se extrajeron y se realizaron mediciones de altura de planta desde la superficie del suelo hasta la parte mas alta de la flor de cada una de las plantas, y la longitud de la raíz,

de cada una de las plantas, considerando el tamaño mostrado una vez extraído del suelo.

2.2.5. Diseño experimental y variables evaluadas

En invernadero, en la prueba de patogenicidad se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), considerando como unidad experimental a un bulbo inoculado de la variedad Ile de France, con 10 repeticiones. La información obtenida se sistematizó en hojas de cálculo de Excel®, y posteriormente se realizó un análisis de varianza y una prueba de medias de Tukey a un $\alpha=0.05$, para las variables altura de planta y longitud de raíz, del experimento en invernadero, con la ayuda del programa de cómputo estadístico SAS®.

Las variables consideradas según el orden cronológico fueron:

- 1. Caracterización de síntomas en invernadero**, en la etapa de muestreo.
- 2. La frecuencia de aislamiento** de cada uno de los posibles hongos patógenos obtenidos del muestreo en campo expresada en porcentaje de acuerdo a su desarrollo en medio de cultivo en laboratorio.
- 3. Identificación de hongos** en laboratorio.
- 4. El periodo de incubación de los hongos** (tiempo en días que transcurre desde la inoculación hasta la aparición de los síntomas en invernadero).
- 5. La longitud de raíz**, medida al momento de la cosecha y expresada en centímetros, en invernadero.
- 6. La altura de planta a cosecha**, medida al momento de la cosecha y expresada en centímetros, en invernadero.
- 7. La incidencia de la enfermedad**, de acuerdo al número de bulbos que mostraron síntomas visibles de los hongos causantes de enfermedades.
- 8. El porcentaje de hongos patógenos reaislados** en laboratorio en los postulados de Koch.

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Caracterización de síntomas de raíz y bulbo, e identificación de patógenos en laboratorio

3.1.1 Caracterización de síntomas

Los diferentes síntomas que se encontraron asociados a los patógenos fueron: lesión coriácea, escaso desarrollo de raíz y achaparramiento de plantas, los cuales se encontraron ligados con la frecuencia de aislamiento mayor a *F. oxysporum*, en los cultivares Len Van Demark, Ile de France, Maureen y Golden Apeldoorm (Cuadros 1,2 y 3), estos síntomas coinciden con los reportados por Bañón, *et al* (1993), para dicho hongo y por Baayen, *et al* (2000), para *F. oxysporum* f. sp. *tulipae* para *Tulipa gesneriana* en Holanda y Alemania.

Estos síntomas también se encontraron asociados al hongo *Penicillium* sp., para los mismos cultivares, aunque es importante mencionar que este patógeno fue encontrado en todos los cultivares con los diferentes síntomas, variando únicamente en su frecuencia de aislamiento; donde los porcentajes más altos fueron para los cultivares Golden Apeldoorm, Len Van Demark y Avignon. El síntoma más representativo para este hongo fue la pudrición seca y coriácea de bulbos y la aparición de micelio blanco y verde en su superficie (Cuadros 1,2 y 3), lo cual coincide con lo reportado por Moore (1979), además el mismo autor consideró a este hongo como fácilmente reconocible por la presencia del moho verde en la superficie de los bulbos.

Otro hongo que se encontró en los síntomas de pudrición seca de bulbos y achaparramiento de plantas fue *Rhizoctonia* sp., el cual fue aislado aunque con frecuencias menores (de 44, 33 y 4%, de los cultivares Ile de France, Maureen y Avignon respectivamente) (Cuadros 1,2 y 3), cabe mencionar que aun cuando los síntomas no correspondieron con los reportados por Bañón, *et al* (1993), el

hongo si fue encontrado en estos bulbos. Además de que Schneider, *et al*, (1999), señaló que los cultivares Len Van Demark y Apeldoorm son susceptibles a *Rhizoctonia solani*. Otro comentario importante es que Moore (1979), indicó que *R. tuliparum* presenta esclerocios pequeños en el suelo y bulbos, además que las plantas antes de morir se tornan de un color violáceo al ser atacadas por el hongo.

El patógeno *Pythium* sp., se encontró asociado a los síntomas de escaso desarrollo y pudrición de raíz, pudrición blanda de bulbos y micelio superficial blanco, lo cual coincidió con lo mencionado por Moore (1979). La presencia de este hongo en los bulbos del tulipán se presentó con una frecuencia mayor en los cultivares Ille de France y Maureen (Cuadro 3, 4 y 1).

Sclerotinia bulborum, se asoció a los síntomas de pudrición húmeda de follaje y bulbos, y la presencia de esclerocios negros de 2 a 4 mm, y se encontró únicamente en bulbos y follaje de plantas del cultivar Irene y con una frecuencia de aislamiento del 100% (Cuadros 3 y 1). Los síntomas encontrados coinciden con los mencionados por Moore (1979).

Se encontró también al hongo *Alternaria* sp., asociado con los síntomas achaparramiento de plantas, pudrición coriácea del bulbo y micelio blanco en el cultivar Golden Apeldoorm, con una frecuencia de aislamiento del 40% (Cuadro 3), aunque ninguno de los autores consultados lo considera como un patógeno de la raíz o de bulbos, ni del tulipán ni de otras bulbosas (Bañón, *et al*, 1993; Bent y Colombo, 2003; Moore, 1979; Lara, 1996).

3.1.2 Frecuencia de aislamiento

De las 45 plantas de tulipán con síntomas de amarillamiento, achaparramiento de plantas, pudrición húmeda y seca de bulbo y raíz, colectados en predios florícolas de San Diego, Texcoco Edo. de México se aislaron los hongos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* y *Pythium* sp., *Penicillium* sp. y

Sclerotinia bulborum con frecuencias de aislamiento que fueron desde 100% para los hongos *F. oxysporum* y *Penicillium* sp., del cultivar Len Van Demark, hasta 4% para *Rhizoctonia* sp, cultivar Avignon (Cuadro 3). Los síntomas específicos de donde se aisló cada hongo se reportan en Cuadro 3.

De las 15 muestras colectadas en San Pablo Ixayoc, Texcoco Edo. de México, se aislaron los hongos siguientes: *Penicillium* sp. *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., y *Alternaria* sp. Las frecuencias de aislamiento variaron desde 100% para *Penicillium* sp., hasta el 4% de *Fusarium oxysporum*, en el cultivar Golden Apeldoorm (Cuadro 4). Las frecuencias específicas obtenidas de cada hongo por cultivar y localidad se indican en Cuadros 3 y 4.

Las frecuencias totales de aislamiento de los hongos aislados en el laboratorio se agruparon contabilizando el total de los cultivares y se encontró a *Penicillium* sp., *F. oxysporum*, y *Pythium* sp., como los más frecuentes, y a los hongos *Rhizoctonia* sp., *Sclerotinia bulborum*, y *Alternaria* sp., como los menos frecuentes; las frecuencias promedio de los aislamientos se observan en el Cuadro 5, lo anterior coincide con Bañón, *et al* (1993) y Moore (1979), quienes consideraron como los patógenos más importantes de la raíz y bulbo del tulipán a *Penicillium cyclopium* y *P. corymbiferum*, *F. oxysporum* f. sp. *tulipae*, y *Pythium ultimum*.

3.1.3 Identificación de los patógenos en laboratorio.

Fusarium oxysporum mostró macroconidios de pared delgada y usualmente tres septas, de forma curva a casi rectos, la célula apical corta y ligeramente enganchada en algunos aislamientos (Figura 1c). Sus microconidios se formaron normalmente en cabezuelas falsas o monofiálides cortas en hifas; son normalmente no septados, ovales elípticos o reniformes y algunos cultivos los formaron en abundancia (Figura 1d). El crecimiento de su colonia fue micelio blanco algodonoso, o con tonalidades ligeramente rosadas y/o amarillentas

(Figura 1a), al crecer en medio de cultivo agua-agar se observó un crecimiento de color transparente al principio y rojizo al final dichas características coinciden con la descripción de Burgess, *et al* (1994) y Singleton *et al* (1992).

Rhizoctonia sp. se identificó al microscopio a través de la presencia de micelio septado, formando un ángulo de 90 °, entre las ramificaciones primarias y secundarias del micelio maduro (Figura 1f), lo que coincide con la descripción de Agrios (1996) y Singleton *et al* (1992), del mismo. Además sus colonias formaron crecimientos de color blanco claro al principio y café claro al final, del mismo modo las colonias tuvieron un patrón de crecimiento del micelio en anillos concéntricos (Figura 1d).

Pythium sp., presentó micelio cenocítico, colonias de color blanco, algodonosas, y de rápido crecimiento (Figura 1g), con esporangios terminales, con tubos germinales, de donde germinan las zoosporas. En los extremos de las hifas cortas se produjeron también oogonios esféricos y anteridios en forma de clava, lo que coincidió con lo reportado por Waterhouse (1968) y Singleton *et al* (1992), para dicho género (Figura 1i, 1j).

Penicillium sp., desarrolló colonias de color verdoso y/o azulado, de aspecto polvoso (Figura 2a). Mostró micelio septado que produjo conidios en conidióforos simples, ramificado en una o varias series a manera de pincel. Los conidios fueron hialinos o de colores brillantes, unicelulares, globosos u ovoides producidos en cadenas basipétalas, dichas características coinciden con lo señalado por Barnett y Hunter (1987) y Montes Belmont (1992).

Sclerotinia bulborum formó un micelio blanco y veloso, con esclerocios, blancos al principio, pero después se ennegrecieron y endurecieron superficialmente, su diámetro fluctuó de 4 a 12 mm, más aplanados y largos que esféricos (Figura 2d), tal como lo indicaron Singleton *et al* (1992) y Moore (1979).

Alternaria sp., presentó conidióforos oscuros, simples, cortos o elongados, conidios oscuros, con septos longitudinales o transversales; de forma variada, obclavados a elípticos, ovoides, frecuentemente ictioformes, formados acropetalmente en cadenas largas con 3 a 4 septas (Figura 2f), tal como lo señalaron Barnett y Hunter (1987).

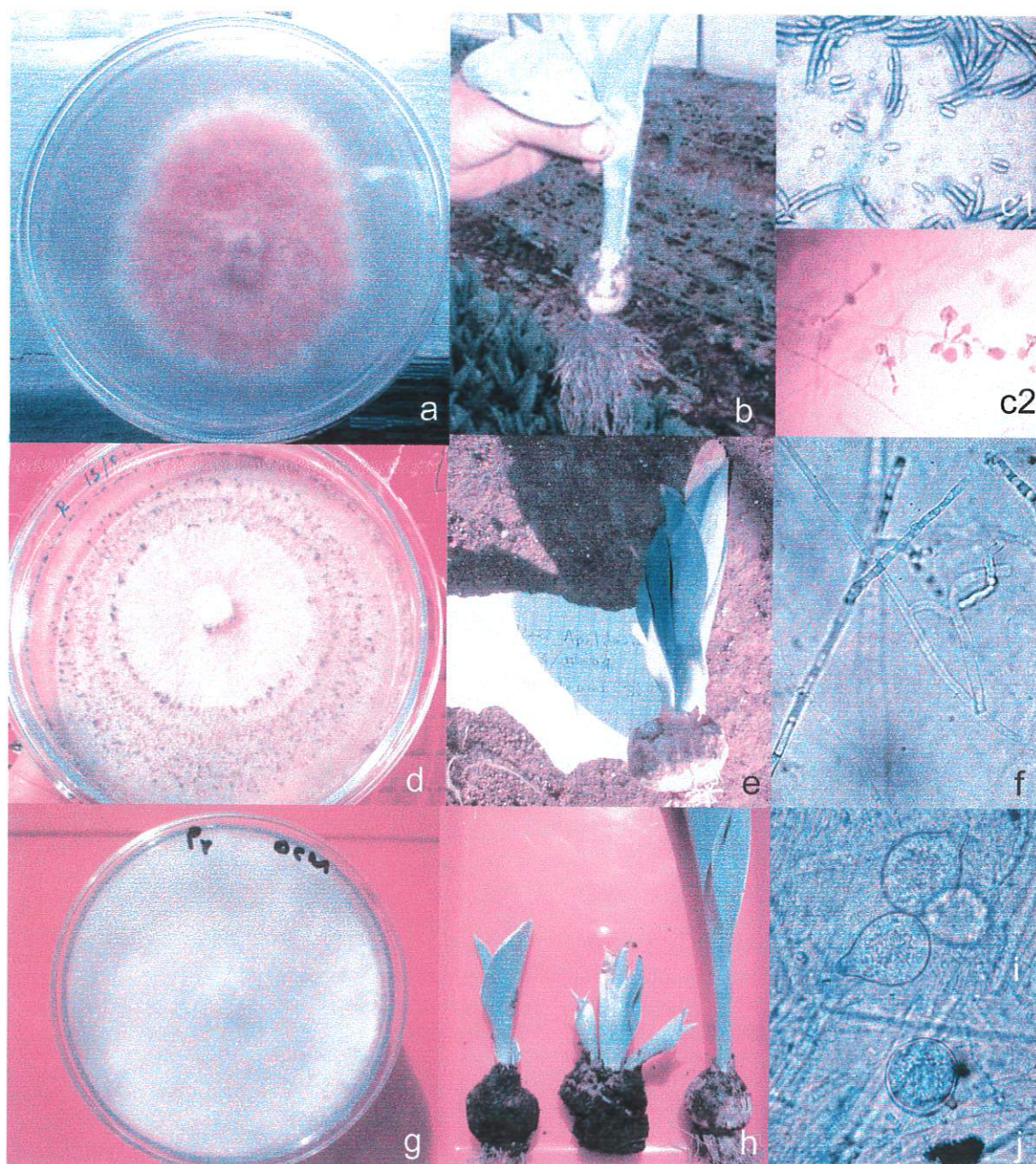


Figura 1. Características culturales, morfológicas y sintomatología inducida por *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia* sp., y *Pythium* sp. aislados del bulbo y raíz del tulipán (*Tulipa* sp.), en Texcoco, Edo. de México, **a.)** colonia de *Fusarium oxysporum*, **b.)** síntomas de *F. oxysporum*, micelio en bulbo y achaparramiento en planta, **c1.)** macroconidios de *F. oxysporum*, **c2.)** microconidios de *F. oxysporum*, **d.)** colonia de *Rhizoctonia* sp.; **e.)** síntomas de achaparramiento por *Rhizoctonia* sp. en planta, **f.)** micelio de *Rhizoctonia* sp.; **g.)** micelio algodonoso de *Pythium* sp.; **h.)** Síntomas de *Pythium* sp., achaparramiento, escaso desarrollo radicular y pudrición húmeda en bulbos, **i.)** oosporas de *Pythium* sp.; **j.)** oogonio de *Pythium* sp.

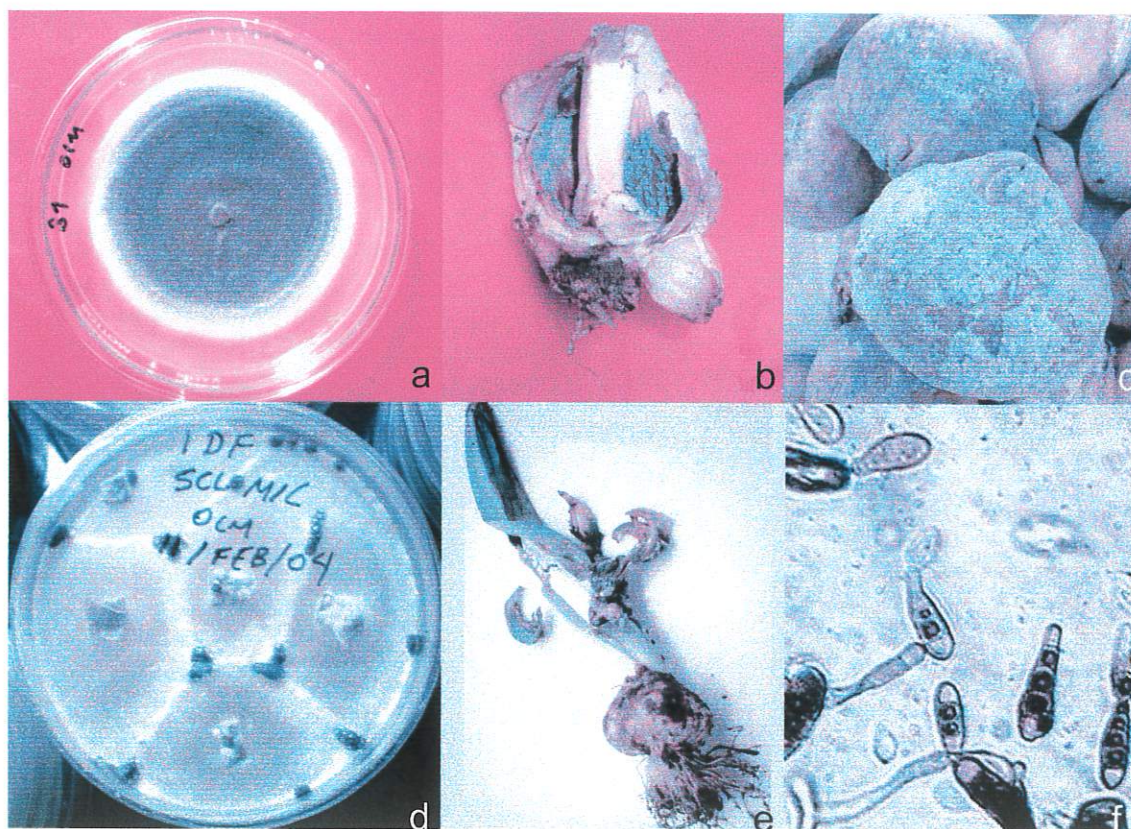


Figura 2. Características culturales, morfológicas y sintomatología inducida por los hongos aislados del bulbo y raíz del tulipán (*Tulipa* sp.), en Texcoco, Edo. de México, **a.)** colonia de *Penicillium* sp., **b.)** micelio y conidios de *Penicillium* sp. dentro de las escamas de los bulbos, **c.)** *Penicillium* sp. creciendo sobre bulbos, **d.)** colonia madura de *Sclerotinia bulborum* mostrando la formación de esclerocios, **e.)** pudrición húmeda en follaje y bulbos, formación de micelio y esclerocios de *S. bulborum* en tallo y bulbos, **f.)** conidios de *Alternaria* sp.

Cuadro 3. Frecuencia de aislamiento de hongos obtenidos de síntomas de pudrición de del bulbo y raíz de tulipán (*Tulipa sp.*)", en San Diego, Texcoco EDT. de México.

No.	Cultivar	Parte aislada	Síntoma	*Pe	*F	*R	*Py	*Sc
1	Len Van Demark	Bulbo	Lesión coriácea en bulbo	100 %	100 %	-	-	-
2	Len Van Demark	Raíz	Lesión coriácea en bulbo y achaparramiento de plantas	4%	24%	-	-	-
3	Ille de France	Bulbo	Achaparramiento y escaso desarrollo en raíz	36%	4%	-	-	-
4	Irene	Bulbo	Pudrición húmeda color café en bulbos, con manchas, pudrición húmeda en follaje, presencia de esclerocios oscuros y micelio	25%	12%	-	-	100 %
5	Avignon	Bulbo	Pudrición seca en bulbos, micelio verde superficial escaso desarrollo en raíz	72%	32%	4%	10%	-
6	Banja Luka	Bulbo	Pudrición coriácea y café en bulbos, en otros pudrición húmeda	20%	20%	-	-	-
7	Happy Generation	Bulbo	Achaparramiento de plantas, ligera pudrición en raíz	28%	-	-	8%	-
8	Golden Apeldoorm	Bulbo	Pudrición de bulbos y raíz, plantas cloróticas, marchitez, aparición de brotes secundarios	100%	-	-	-	-
9	Desconocida	Bulbo	Bulbos dañados con micelio verde y blanco.	70%	90%	-	-	-

*Pe= *Penicillium*, *F=*Fusarium*, *R=*Rhizoctonia*, *Al= *Alternaria*, *Py=*Pythium*, *Sc= *Sclerotinia bulborum*.

Cuadro 4. Frecuencia de aislamiento de hongos obtenidos de síntomas de pudrición de del bulbo y raíz de tulipán (*Tulipa* spp.)", en San Pablo Ixayoc, Texcoco Edo. de México.

No.	Cultivar	Parte aislada	Síntomas	*Pe	*F	*R	*Py	*Al
1	Maureen	Bulbo	Achaparramiento de plantas, pudrición coriácea del bulbo, micelio verde y blanco	14%	51%	33%	22%	-
2	Golden Apeldoorm	Bulbo	Achaparramiento de plantas, pudrición coriácea del bulbo, micelio blanco	100%	4%	-	-	40%
3	Ille de France	Bulbo	Achaparramiento de plantas, pudrición coriácea del bulbo, pudrición húmeda de bulbos, micelio blanco	16%	16%	44%	36%	-

*Pe= *Penicillium*, *F=*Fusarium*, *R=*Rhizoctonia*, *Al= *Alternaria*, *Py=*Pythium*.

Cuadro 5. Frecuencia promedio de hongos aislados de síntomas de pudriciones del bulbo y raíz en nueve variedades de tulipán (*Tulipa* sp.) en San Diego y San Pablo Ixayoc, Texcoco, Edo. De México.

Hongo aislado	Frecuencia de aislamiento (%)
<i>Penicillium</i> sp.	43.92
<i>F. oxysporum</i>	28.13
<i>Pythium</i> sp.	20.26
<i>Rhizoctonia tulipae</i>	6.10
<i>Sclerotinia bulborum</i>	7.14
<i>Alternaria</i> sp.	6.02

3.2. Experimento en invernadero

3.2.1. Periodo de incubación

Debido al número de bulbos utilizados y por considerar al primer bulbo con síntomas para determinar el periodo de incubación, no se realizaron pruebas de medias y solo se hicieron algunas comparaciones sin rigor estadístico. De este modo se encontró que *Penicillium* sp. y la mezcla con todos los hongos presentaron el periodo de incubación mas corto el cual fue de ocho días, el síntoma encontrado fue la presencia de micelio blanquecino y la esporulación verdosa. El resto de los hongos evaluados (*F. oxysporum*, *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp.) presentaron síntomas a los diez días de establecido el experimento. *Fusarium oxysporum* ocasionó manchas de color cafésoso sobre el bulbo y, *Pythium* sp., pudrición café de aspecto húmedo y *Rhizoctonia* sp manchas café sobre el bulbo. *Sclerotinia bulborum* y *Alternaria* sp no indujeron síntomas, (Cuadro 7).

3.2.2 Altura de plantas a la cosecha

Se observó que todos los tratamientos a excepción de *Alternaria* sp. y *Penicillium* sp., presentaron diferencias estadísticas con respecto al testigo ($\alpha=0.05$), siendo el testigo absoluto (sin inocular) el que presentó la mayor altura de plantas a cosecha y *F. oxysporum*, el que presentaron la altura menor a cosecha.

Esto coincidió con lo mencionado por Tlapal-Bolaños y Mendoza-Zamora (2003), quienes consideran a este patógeno como uno de los más importantes en la horticultura y floricultura. Así mismo Bañón, *et al* (1993), también consideran al hongo como uno de los problemas más importantes del tulipán, además mencionaron que uno de los síntomas más notables que ocasiona *F. oxysporum*, es el achaparramiento de plantas. Este tratamientos fue seguido de *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Sclerotinia bulborum*, y el tratamiento con todos los hongos, de menor a mayor altura respectivamente (Cuadro 6, Figura 3).

3.2.3 Longitud de raíz a cosecha

Sólo se presentaron diferencias estadísticas ($\alpha=0.05$), entre los tratamientos testigo absoluto (sin inocular) y el tratamiento 1 con *F. oxysporum*, siendo el testigo absoluto el que mostró la longitud de raíz mayor y *F. oxysporum* el que desarrollo la longitud de raíz menor. Estos daños coinciden con los reportados por Bañón, *et al* (1993), quien mencionó que uno de los síntomas del ataque de *F. oxysporum* al tulipán es el poco desarrollo radicular (Cuadro 6, y Figura 3). Cabe mencionar que aún cuando el resto de los hongos inoculados no presentaron diferencias estadísticas significativa con respecto al testigo en relación a la longitud de raíz en plantas de tulipán, las especies de cada uno de los géneros evaluados a excepción de *Alternaria* sp., han sido reportados por Rees (1992), como patógenos del tulipán.

Cuadro 6. Comportamiento de la altura de planta a cosecha y la longitud de raíz con respecto a los hongos inoculados en tulipán (*Tulipa* sp.), cultivar Ille de France bajo invernadero, en San Diego, Texcoco, Edo. de México.

	Tratamiento	Variables	
		Altura de planta (cm)	Longitud de raíz (cm)
1	<i>F. oxysporum</i>	13.40 d	3.60 b
2	Testigo	28.70 a	6.20 a
3	<i>Rhizoctonia tulipae</i>	18.40 dc	4.80 ab
4	<i>Sclerotinia bulborum</i>	19.40 bcd	4.70 ab
5	<i>Alternaria</i> sp.	26.60 ab	5.70 ab
6	<i>Pythium</i> sp.	18.75 dc	5.20 ab
7	Todos los hongos	19.70 bcd	4.20 ab
8	<i>Penicillium</i> sp.	22.00 abc	5.00 ab
	DMS	7.473	2.5121
	r^2	0.494285	0.192267
	CV	26.19265	36.80256

^z valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo a Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

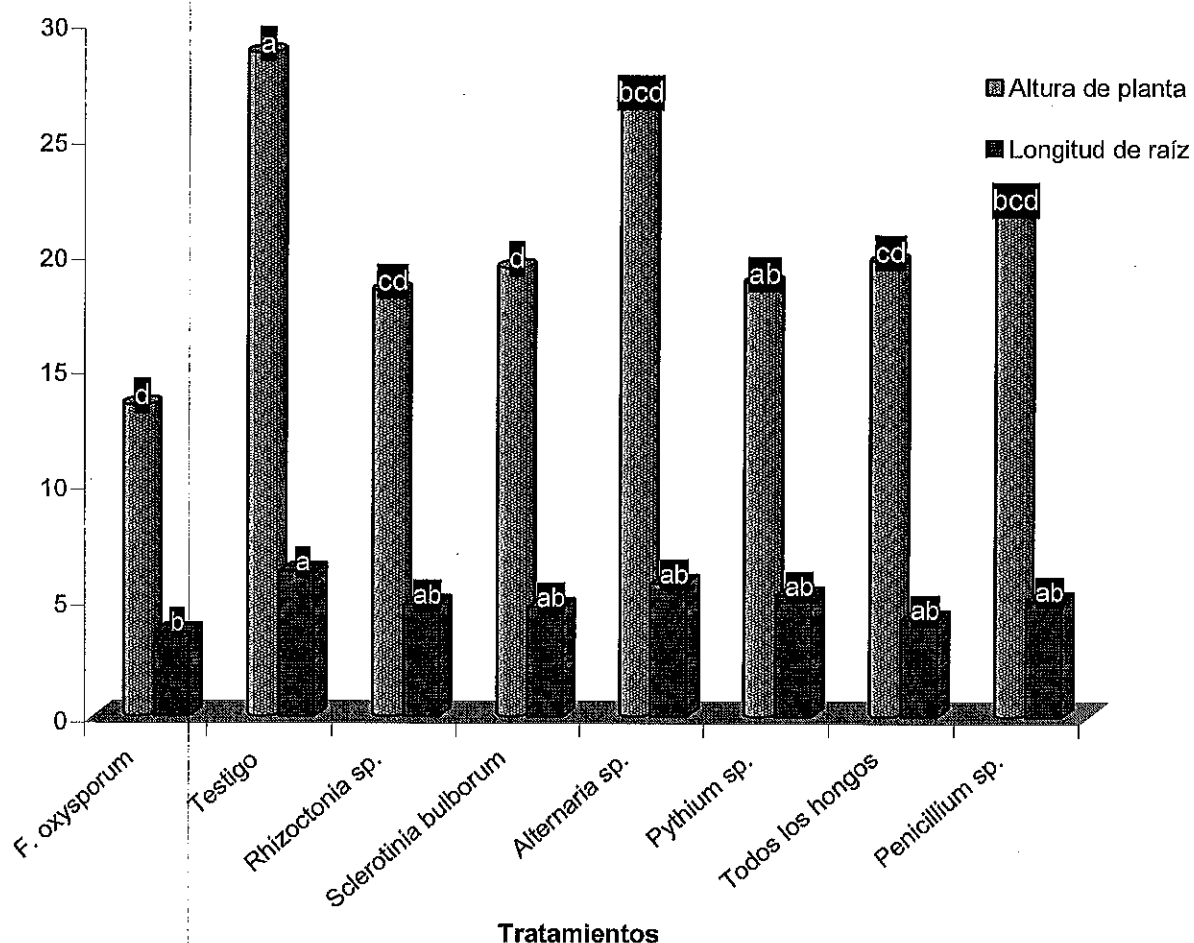


Figura 3. Altura de plantas a cosecha y longitud de raíz ocasionados por los diferentes hongos inoculados en plantas de Tulipán (*Tulipa* sp), cultivar Ille de France bajo invernadero en San Diego, Texcoco, Edo. de México.

3.2.4 Incidencia de la enfermedad

Los hongos inoculados *F. oxysporum*, *Rhizoctonia tulipae*, *Pythium* sp., presentaron síntomas de enfermedad en el 50% de los casos y en la mayoría de los bulbos enfermos los síntomas que se observaron fueron ligeros (Cuadro 7), esto se pudo deber a lo observado por Bañón *et al*, (1993), quien mencionó que el daño mayor ocasionadas por hongos en tulipán, se observa en plantas que provienen de bulbos ya enfermos desde antes de su plantación.

Penicillium sp. y la mezcla con todos los hongos causaron el 100% de enfermedad en las plantas inoculadas de tulipán, cultivar Ille de France (Cuadro

7), en el caso de *Penicillium* sp. Otra posible causa es que este es un hongo que puede ocasionar sus síntomas y daños, e infectar rápidamente tanto en el interior como en la superficie del bulbo (Figuras 2b y 2c) (Bañón *et al*, 1993; Moore, 1979). En el caso de la mezcla con todos los hongos, la infección por los diferentes hongos incrementaron probablemente la incidencia de síntomas en los bulbos como se indica en el cuadro 7.

Sclerotinia bulborum y *Alternaria* sp., no presentaron síntoma alguno que se pudiera deber a algún hongo (Cuadro 7).

Cuadro 7. Síntomas, incidencia y periodo de incubación de los diferentes hongos inoculados en bulbo y raíz de tulipán (*Tulipa* sp.), cultivar Ille de France, en San Diego, Texcoco, Edo. de México. Bajo invernadero.

Hongo aislado	Síntomas inducidos	Periodo de incubación	Incidencia
<i>Penicillium</i> sp.	Pudrición verde y blanca	8 días	100%
<i>F. oxysporum</i>	Pudrición seca, achaparramiento de plantas**, reducción de tamaño de raíz**	10 días	50%
<i>Rhizoctonia tulipae</i>	Pudrición verde y blanca, achaparramiento de plantas**	10 días	50%
<i>Pythium</i> sp.	Pudrición blanda, achaparramiento de plantas**	10 días	50%
<i>Alternaria</i> sp.	N.D.*	N. D.*	N.D.*
<i>Sclerotinia bulborum</i>	N.D.*	N. D.*	N.D.*
Mezcla con todos los hongos	Pudrición seca	8 días	100%
Testigo	Manchas cafés	N.D.*, **	10%

*N.D.=No disponible, **síntomas observados en la cosecha.

3.3 Reaislamiento de los hongos inoculados

F. oxysporum se reisoló de bulbos con síntomas de pudrición seca, reducción de tamaño de raíz y achaparramiento de plantas (Cuadros 7 y 8), por lo que se consideró como patógeno del tulipán, esto coincidió con lo observado por

Moore (1979), Rees (1992), Bañón *et al* (1993), y por Baayen *et al* (2000), quienes incluso mencionaron a *F. oxysporum* f. sp. *tulipae* como el responsable de la pudrición coriácea o seca de bulbos de tulipán en Holanda y Alemania.

Penicillium sp., se reaisló con una frecuencia de 100% y presentó los mismos síntomas observados originalmente (Cuadro 4 y 5). Esto coincide con lo mencionado por Moore (1979), y por Bañón *et al* (1993) para este hongo, donde lo reportaron como patógeno del tulipán. Debido a lo anterior se considero a *Penicillium* sp., como patógeno del tulipán, bajo las condiciones del experimento.

En el caso de *Rhizoctonia* sp., el hongo reaislado fue *Penicillium* sp., con una frecuencia de aislamiento de 10%. Aquí cabe la posibilidad de que el hongo *Rhizoctonia* sp., aislado en la fase de muestreo, se encontrara como saprófito, y no haya sido el causante de los síntomas que se observaron, ya que Agrios (1996) y Romero (1998), lo mencionan como habitante del suelo y como patógeno facultativo. Por lo que bajo las condiciones del experimento no se considera un patógeno del tulipán, ya que no indujo los síntomas típicos de donde se aisló. La presencia de *Penicillium* sp., a que el bulbo de tulipán que mostró los síntomas estuviera infectado internamente (Moore, 1979), y la desinfección que se hizo del material no lo desinfectara.

Para el hongo *Sclerotinia bulborum*, en el reaislamiento no se obtuvo el mismo organismo, de hecho no se observaron crecimientos de ningún otro hongo, aún cuando Moore (1979) lo considera como un patógeno del tulipán y cuando los síntomas que presentaron las plantas de las que se aisló originalmente, y las características morfológicas que presentó en medio de cultivo coinciden con las reportados por el mismo autor (Cuadro 4, Figura 1e). En este caso existe la posibilidad de que las condiciones de temperatura y humedad no hayan sido las adecuadas para el desarrollo del patógeno, otra cuestión importante que pudo haber ocurrido es que los esclerocios requirieran mayor tiempo para poder

madurar y germinar, como lo mencionó Agrios (1996) para algunas especies del género *Sclerotinia*. Sin embargo, aún cuando en el experimento no fue encontrado como patógeno, no se descarta la posibilidad de que ocasione infección en condiciones ambientales favorables para su desarrollo.

El hongo *Alternaria* sp. tampoco se reaislo de los bulbos que fueron inoculados (Cuadro 8), y dado que varios autores como Agrios (1996) y Romero (1998), lo consideran como un contaminante del medio, y por tanto no se consideró como un patógeno de la pudrición de bulbo y raíz en tulipán (*Tulipa* sp.).

De los bulbos inoculados con *Pythium* sp., se aisló con una frecuencia de aislamiento del 25% (Cuadro 8), lo cual coincide con lo reportado por Moore (1979) y Rees (1992), que consideran a este hongo como el causante de la pudrición blanda de los bulbos del tulipán, por lo que bajo las condiciones del experimento se consideró como patógeno de la pudrición blanda de bulbo y raíz del tulipán.

De la mezcla inoculada con todos los hongos, sólo se reaislaron a los hongos *F. oxysporum* y *Penicillium* sp., por lo que se comprobó su acción como patógenos del tulipán. El hongo *Pythium* sp., no se encontró en el reaislamiento obtenido (Cuadro 8).

En el caso del testigo sin inocular se obtuvo *Penicillium* sp, con frecuencia del 40% (Cuadro 8). En el caso de *Penicillium* sp., caben 2 dos posibilidades, la primera es que se haya presentado contaminación del tratamiento con el mismo hongo, dada su alta capacidad reproductiva y la segunda es que se encontrara en los bulbos aparentemente sanos en las escamas interiores sin mostrar síntomas, sin embargo al no ser inoculado en este tratamiento, en este caso no cumple el postulado (Agrios, 1996).

Cuadro 8. Hongos reaislados en laboratorio, provenientes de bulbos y raíces de tulipán inoculados con diferentes hongos de la prueba de patogenicidad realizada en campo.

Tratamiento	Hongo inoculado en campo	Frecuencias obtenidas y hongos reaislado
1	<i>F. oxysporum</i>	40% <i>F. oxysporum</i> 1
2	Testigo sin inocular	40% <i>Penicillium</i> sp.
3	<i>Rhizoctonia</i> sp.	10% <i>Penicillium</i> sp.
4	<i>F. oxysporum</i> 2	100% <i>F. oxysporum</i> 2
5	<i>Sclerotinia bulborum</i>	0%
6	<i>Alternaria</i> sp.	0%
7	<i>Pythium</i> sp.	25% <i>Pythium</i> sp.
8	Mezcla con todos los hongos	80 % <i>F. oxysporum</i> 2, 20% <i>Penicillium</i> sp.
9	<i>Penicillium</i> sp.	100 % <i>Penicillium</i> sp.

4. CONCLUSIONES.

1. Se determinó a: *Penicillium* sp., como el causante de la pudrición verdosa en bulbos, *Fusarium oxysporum* causante de la pudrición coriácea y *Pythium* sp. como el causante de la pudrición húmeda, todos en bulbo y raíz del tulipán (*Tulipa* sp.) con porcentajes de incidencias del 100%, 50%, y 50% respectivamente.
2. El hongo que ocasionó la altura menor (13.2 cm.) y la longitud menor de las raíces (3.6 cm) en las plantas de tulipán fue *F. oxysporum*.
4. *Penicillium* sp., indujo el periodo de incubación más corto, causando síntomas en ocho días.
5. *Penicillium* sp., y la mezcla de todos los hongos ocasionaron la incidencia del moho azul más alta (100%) en el invernadero.
6. En la variedad Ille de France se encontraron como patógenos del tulipán (*Tulipa* sp.), en San Diego, Texcoco, México y bajo invernadero a: *Penicillium* sp., *F. oxysporum*, y *Pythium* sp., causando los síntomas siguientes:
 - *Penicillium* sp., ocasionó los síntomas de pudrición seca de bulbos, más la aparición de micelio blanco al principio y azulosa al final en la superficie de los bulbos.
 - *F. oxysporum*, indujo los síntomas de achaparramiento de plantas, poco desarrollo de raíz, y pudrición seca o coriácea de bulbos.
 - *Pythium* sp., desarrollo los síntomas de pudrición húmeda de bulbos, pudrición húmeda de raíz, muerte de plantas y achaparramiento de plantas.

5. LITERATURA CITADA.

Abisambra, A. 2003. Plagas exóticas de la floricultura colombiana, *Pythium ultimum*. Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá, Colombia. pp. 30-41.

Agrios, G. 1996. Fitopatología. Editorial Limusa. México, D.F. pp. 448-452, 508-511, 513-516.

Baayen, R. P., O'Donnell, K., Bonants, P. J. M., Cigelnik, E., Kroon, L. P. N. M., Roebroek, E. J. A., and Waalwijk, C. 2000. Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. Phytopathology 90:891-900.

Barnett, H. L., Hunter, B. B. 1987. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess publishing company 4th ed. St. Paul Minnesota, United States of America. 382 p.

Burguees, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P., Backhouse, D. 1994. Laboratory manual for Fusarium research, 3rd. Edition. Departament of Crop Science, University of Sydney and Royal Botanic Garden. Sydney, Australia. pp. 74-79.

Centro Internacional de Bulbos de Flores . 1999. El Liliom como flor cortada en zonas subtrópicas. Centro Internacional de Bulbos de Flores. Hillegom, Holanda. pp. 17-20.

Bañón-Arias, S., Cifuentes-Romo, D., Fernández-Hernández, J.A., y González-Benavente-García, A. 1993. Gerbera, Liliom, Tulipán y Rosa. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. pp. 160-200.

Barnett, H. L. and Hunter, B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. APS Press. Fourth Edition. St. Paul Minnesota, United States of America. 218 p.

Bent, E., y Colombo, A. 2003. Tulipanes y bulbosas, elección y cuidados. Editorial de Vecchi. Barcelona, España. pp. 10-30.

Bowers, J. H. and Locke, J. C. 2000. Effect of Botanical Extracts on the Population Density of *Fusarium oxysporum* in Soil and Control of Fusarium Wilt in the Greenhouse. USDA. United States of America. Plant Disease 84:300-305.

Ferguson, L. M., and Shew, B. B. 2001. Wheat straw mulch and its impacts on three soilborne pathogens of peanut in microplots. Plant Disease. 85:661-667.

Herrera, T. y Ulloa, M. 1990. El Reino de los Hongos, Micología básica y aplicada. Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo de Cultura Económica. México, D.F. México. pp. 190-247.

Kim, K. and A.A. De Hertog. 1997. Tissue culture of ornamental flowering bulbs (Geophytes). Horticultural Reviews 18:72-79.

Lara-Lara, J.A. 1996. Diagnóstico de enfermedades en plantas de Tulipán (*Tulipa* sp) provenientes de bulbos importados de Holanda en Xochimilco, D.F.; México, Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. pp. 22-74.

Montes-Belmont, 1992. Identificación de hongos fitopatógenos. Instituto Politécnico Nacional. Oaxaca, México. pp. 34, 60, 76.

Moore, W.C. 1979. Diseases of Bulbs. Ministry of agriculture. Fisheries and London, England. pp. 11-33.

- Morales, H.L. 2000. Rango de hospedantes de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, aislado de crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ram). México. 52 p.
- Palou, L., Smilanick, J. L., Usall, J., and Viñas, I. 2001. Control of post harvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate. *Plant Disease* 85:371- 376.
- Perdomo-Roldan, F. 1996. Control biológico de *Fusarium roseum* (Lk) Snyder y Hansen, hongo que ataca la raíz de clavel *Dianthus caryophyllus* L. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. pp. 1-17.
- Priyatmojo, A., Yotani, Y., Hattori, K., Kageyama, K., and Hyakumachi, M. 2001. Characterization of *Rhizoctonia* spp. causing root and stem rot of miniature rose. *Plant Disease* 85:1200-1205
- Rees, A.A. 1992. Ornamental bulbs, corms and tubers. Ed. CAB International. pp. 178-186.
- Romero, C. S. 1998. Hongos fitopatógenos. Parasitología Agrícola Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 347 p.
- Ruiz-Tapia, J.M. 1999. Manejo Integrado de la pudrición radical del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) por *Rhizoctonia solani* Kühn en Chapingo, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. pp. 23-35.
- Smolinska, U. 2003. Isothiocyanates Produced by Brassicaceae Species as Inhibitors of *Fusarium oxysporum*. Research Institute of Vegetable Crops, Skierniewice, Poland. *Plant Disease* 87:407-412.

Singleton, L.L., Mihail, J.D., and Rush, C.M. (Eds.). 1992. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. APS Press, Minnesota, United States of America. 265 p.

Terrones-Ramírez, M. A. 1999. Identificación de enfermedades fungosas del papayo (*Carica papaya* L.) en el municipio de Juan R. Escudero, Guerrero. UACH, Departamento de Parasitología Agrícola. Texcoco, México. 38 p.

Tlapal-Bolaños, B. y Mendoza-Zamora, C. 2003. Manejo fitosanitario de ornamentales. Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. pp. 97-106.

Waterhouse, G. M. 1968. The genus *Pythium*. Ed. Pringsheim mycological papers 110. C.M.I. Kew Surrey, England.

CAPITULO III

EVALUACIÓN DEL PAQUETE DE MANEJO INTEGRADO DE LAS ENFERMEDADES DE RAIZ Y BULBO DEL TULIPÁN (*Tulipa gesneriana*) EN INVERNADERO (MIET).

RESUMEN

Bulbos sanos de tulipán se inocularon con los patógenos *Fusarium oxysporum*, *Pythium* sp., *Sclerotinia bulborum* y *Penicillium* en laboratorio. Estos bulbos inoculados se trataron con diferentes medios de control químico (azoxystrobin, prochloraz, propamocarb y una mezcla de quintoceno más thiram); biocontroladores (*Trichoderma virens* y *Bacillus subtilis*); y enmiendas al sustrato (residuos de brócoli y paja de avena) y mezclas de los anteriores, para evaluar sus efectos contra los patógenos inoculados. El diseño experimental en invernadero fue un diseño en bloques al azar, donde se consideró un bulbo de *Tulipa gesneriana* cv. Ille de France como unidad experimental, teniendo 12 repeticiones. Las variables consideradas fueron altura de planta, longitud de raíz e incidencia de las enfermedades. Como conclusión del experimento ninguna de las estrategias de manejo mostró diferencias significativas entre ellas ni con respecto al testigo inoculado de cada uno de los patógenos y sin tratamientos de manejo.

INTEGRATED ROOT AND BULB TULIP (*Tulipa gesneriana*) DISEASE MANAGEMENT IN GREENHOUSE.

ABSTRACT

Healthy tulip bulbs were inoculated with *Fusarium oxysporum*, *Pythium* sp., *Sclerotinia bulborum* and *Penicillium* in laboratory. This inoculated bulbs were treated in different management ways such as chemical control (azoxystrobin, prochloraz, propamocarb and quintoceno plus thiram comercial mixture) ; biocontrolers (*Trichoderma virens* y *Bacillus subtilis*); and soil amendment (broccoli debris and oat crop debris), and some mixture with their selves to test their effects against inoculated pathogens. Research was conducted on a complete randomized blocks (DBA in Spanish), where we had considered one tulip (*Tulipa gesneriana* cv. Ille de France) bulb as experimental unit, with 12 repetitions. Evaluated variables were plant height, root length and disease incidence. Considering results of these evaluations anyone of management strategies have showed statically differences among them selves nor inoculated treatment with each one of pathogens and no management treatment.

1. INTRODUCCIÓN.

El MIP es en la actualidad el enfoque técnico más aceptado para reducir el uso indiscriminado de plaguicidas en el manejo de plagas, enfermedades y malezas de los cultivos agrícolas. Esta estrategia tiene entre sus objetivos reducir el daño que ocasionan las plagas, disminuir los costos de protección de los cultivos y evitar los efectos colaterales indeseables causados por los plaguicidas (resurgimiento de las plagas y enfermedades, aparición de otras nuevas, resistencia a los plaguicidas y residuos de los plaguicidas) (Cisneros , *et al.*, 1995).

Para cumplir con sus objetivos y, como lo indican las múltiples definiciones existentes, los programas de MIP deben recurrir a las tácticas disponibles para el combate de organismos no deseados, procurando mantener las poblaciones de estos por debajo de los niveles que ocasionen daño económico, buscando ocasionar el perjuicio mínimo sobre el medio ambiente y la salud humana (Andrews y Quezada, 1989; Hilje, 1994).

Son muchos los métodos de combate, formados por un número variable de tácticas, que pueden ser empleados en un programa de MIP. Estos incluyen desde la utilización de medidas legales, como la erradicación y las cuarentenas, hasta la manipulación de los cultivos, las plagas y sus enemigos naturales (Andrews, 1989). Además de los métodos legales, en el MIP se incluyen el uso de enemigos naturales (combate biológico), el uso de cultivares resistentes o tolerantes a enfermedades e insectos, una serie amplia de prácticas agrícolas, y el uso de los combates mecánicos, físicos, autocidas y químicos.

En esta investigación dada la carencia de información generada en el México sobre el tema (Lara, 1996), se propuso evaluar diferentes tácticas de control para el manejo de enfermedades del tulipán que atacan a la raíz, y al bulbo, evaluando fungicidas, biocontroladores y uso de residuos de otros

cultivos que se han reportado como controladores eficientes de algunas de las enfermedades encontradas, pero en otros cultivos (Larson, 1988; Harman, 2000).

En base a lo anterior, se realizó la presente investigación con el objetivo siguiente:

3. Proponer y evaluar un paquete de Manejo Integrado para el manejo de las enfermedades de la raíz y bulbo del tulipán en Texcoco, México.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Localización.

El presente experimento se realizó dentro de uno de los invernaderos propiedad del Ing. Gregorio Sánchez, en la localidad de San Diego, Texcoco, Edo. de México. Ubicado a una altura aproximada de 2260 msnm. La temperatura media observada en el invernadero, verificada diariamente con termómetro de máximas y mínimas fue de 16.5 °C (mínima 4°C, máxima 29 °C).

2.2 Preparación del material vegetal

Se utilizaron bulbos de tulipán del cultivar Ile de France, seleccionados por su sanidad, estos bulbos se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 2% durante dos minutos. Posteriormente se dejaron secar a temperatura ambiente y a cada bulbo se le realizó dos incisiones en forma de cruz en su superficie de aproximadamente 2 mm de profundidad en caras opuestas con la ayuda de una navaja desinfectada con alcohol y calor.

2.3. Inoculación de los hongos fitopatógenos

Las inoculaciones (1 bulbo por tratamiento con 12 repeticiones), se realizaron a los bulbos previamente desinfectados, con los métodos descritos en el Cuadro 1. En total se inocularon 144 bulbos con los patógenos *Penicillium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Pythium* sp., *Sclerotinia bulborum* y su combinación (Cuadro 1). Posteriormente se separaron por patógeno en bolsas de polietileno (12 bulbos de tulipán), y se dejaron reposar durante 24 horas.

Cuadro 1. Hongos y tipos de inoculación usados para la infección de bulbos de tulipán (*Tulipa* sp.) var. Ille de France.

Patógeno inoculado	Método utilizado
<i>Penicillium</i>	Inmersión de bulbos en una solución de 1×10^6 conidios por mL (Palou <i>et al</i> , 2001), durante media hora.
<i>Fusarium oxysporum</i>	Inmersión de bulbos en una solución de 5×10^3 conidios por mL, durante media hora.
<i>Pythium</i> sp.	Inmersión de bulbos en una solución de 5×10^3 zoosporas por mL, durante media hora.
<i>Sclerotinia bulborum</i>	Inoculación con 8 esclerocios por kg de suelo (en el sustrato en el invernadero), previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 0.5% durante 1 minuto, (Ferguson and Shew, 2001).
Todos los hongos	Inmersión e inoculación al suelo de todos los hongos combinados a las concentraciones arriba indicadas

2.4 Aplicación de los tratamientos

Los tratamientos de manejo se aplicaron al momento de la siembra, los bulbos de tulipán se inocularon 24 h antes con los hongos correspondientes a cada tratamiento, los tratamientos de control evaluados se indican en el Cuadro 3 y los métodos de aplicación se explican a continuación en el cuadro 2.

Cuadro 2. Métodos de aplicación para los tratamientos de control evaluados en contra de *Penicillium* sp., *F. oxysporum*, *S. bulborum* y *Pythium* sp, en bulbos de tulipán (*Tulipa* sp.) var. Ille de France.

No. Trat*	Métodos de aplicación
1.	Primero se aplicó <i>Trichoderma virens</i> para el biocontrolador <i>Trichoderma virens</i> se disolvieron 200 mL de la formulación comercial T-22 por L de agua; para el biocontrolador <i>Bacillus subtilis</i> se disolvieron 2 g de i.a. por L de agua. En estas soluciones se colocaron los bulbos desinfectados y previamente inoculados, durante media hora y posteriormente se plantaron en el sustrato donde previamente se había aplicado el tratamiento correspondiente a los residuos de brócoli en fresco aplicados en una relación 2% peso/peso (brócoli/suelo/ maceta). La cobertura de paja de avena con 5 cm de espesor fue puesta inmediatamente después de la plantación.
2	Primeramente se realizó la preparación de la solución con 1 g de azoxystrobin por litro de agua, de la mezcla comercial de quintoceno+thiram se aplicaron 0.21 g de cada i.a. disueltos en un litro de agua; de procloraz se diluyeron 2.5 mL de i.a. por L de agua; de propamocarb-HCl; se aplicaron 1.44 g por L de agua. Los 12 bulbos correspondientes a este tratamiento se sumergieron en 2 L de esta solución durante media hora. Posteriormente se plantaron en el sustrato donde previamente se había aplicado el tratamiento correspondiente a los residuos de brócoli en fresco aplicados en una relación 2% peso/peso (brócoli/suelo/ maceta). La cobertura de paja de avena con 5 cm de espesor fue puesta inmediatamente después de la plantación.
3	Primeramente se realizó la preparación de la mezcla con 1 g de azoxystrobin por litro de agua, de la mezcla comercial de quintoceno+thiram se aplicaron 0.21 g de cada i.a. disueltos en un litro de agua; de procloraz se diluyeron 2.5 mL de i.a. por L de agua; de propamocarb-HCl; se aplicaron 1.44 g por L de agua. Los 12 bulbos correspondientes a este tratamiento se sumergieron en 2 L de esta solución durante media hora.
4	Bulbos desinfectados con hipoclorito y previamente inoculados fueron sembrados en el sustrato desinfectado y una cobertura de paja de avena con 5 cm de espesor fue colocada encima de los bulbos.
5	Se tomaron bulbos desinfectados con hipoclorito y previamente inoculados, estos fueron sembrados en el sustrato desinfectado y previamente preparado con el tratamiento correspondiente con residuos de brócoli en fresco aplicado en una relación 2% peso/peso de (brócoli/suelo por maceta).
6	Bulbos desinfectados y previamente inoculados fueron sumergidos durante media hora en una suspensión con 2 g de i.a. por L de agua de <i>Bacillus subtilis</i> y posteriormente sembrados en el sustrato.
7	Bulbos desinfectados y previamente inoculados fueron sumergidos durante media hora en una suspensión de 200 gr por 1L de agua con conidios de <i>Trichoderma virens</i> para el biocontrolador <i>Trichoderma virens</i> se disolvieron 200 mL de la formulación comercial T-22 por L de agua.
8	Los bulbos desinfectados y previamente inoculados fueron sumergidos en una solución de 1.44 g por L de agua de propamocarb-HCl durante media hora y posteriormente se sembraron en el sustrato.
9	Los bulbos desinfectados y previamente inoculados fueron sumergidos en una emulsión de procloraz con 2.5 mL de i.a. por L de agua durante media hora y posteriormente sembrados en el sustrato.
10	Los bulbos desinfectados y previamente inoculados fueron sumergidos en una solución de 1 g de azoxystrobin por litro de agua durante media hora y posteriormente sembrados en el sustrato.
12	Bulbos únicamente desinfectados con hipoclorito y previamente inoculados fueron sembrados en el sustrato desinfectado

*=Número de tratamiento

Cuadro 3. Tratamientos de manejo evaluados contra *Penicillium* sp., *F. oxysporum*, *S. bulborum* y *Pythium* sp, en bulbos de tulipán (*Tulipa* sp.) var. Ille de France.

Patógeno inoculado	Método utilizado	Identificación.	Tratamiento
<i>Penicillium</i>	Inmersión de bulbos en una solución de 1x10 ⁶ conidios por mL (Palou et al, 2001), durante media hora.	T1	Control orgánico (T4+T5+T6+T7)
		T2	Control orgánico + fungicidas (T8,T9,T10 y T11)
		T3	Todos los fungicidas (inmersión 30 min)
		T4	Paja de avena o cebada incorporada al sustrato
		T5	Residuos de brócoli incorporados al sustrato
		T6	<i>Bacillus subtilis</i> (BioRaiz)
		T7	<i>Trichoderma</i> (T22)
		T8	propamocarb-HCl , (inmersión 30 min, 24 h después de la inoculación)
		T9	procloraz CE (inmersión 30 min)
		T10	quintoceno 30% + thiram 30% PH (inmersión 30 min)
		T11	azoxystrobin 50% GS(inmersión 30 min)
		T12	Testigo absoluto
<i>F. oxysporum</i>	Inmersión de bulbos en una solución de 5x10 ³ conidios por mL, durante media hora.	T1	Control orgánico (T4+T5+T6+T7)
		T2	Control orgánico + fungicidas (T8,T9,T10 y T11)
		T3	Todos los fungicidas (inmersión 30 min)
		T4	Paja de avena o cebada incorporada al sustrato
		T5	Residuos de brócoli incorporados al sustrato
		T6	<i>Bacillus subtilis</i> (BioRaiz)
		T7	<i>Trichoderma</i> (T22)
		T8	propamocarb-HCl , (inmersión 30 min, 24 h después de la inoculación)
		T9	procloraz CE (inmersión 30 min)
		T10	quintoceno 30% + thiram 30% PH (inmersión 30 min)
		T11	azoxystrobin 50% GS(inmersión 30 min)
		T12	Testigo absoluto
<i>Pythium</i>	Inmersión de bulbos en una solución de 5x10 ³ zoosporas por mL, durante media hora.	T1	Control orgánico (T4+T5+T6+T7)
		T2	Control orgánico + fungicidas (T8,T9,T10 y T11)
		T3	Todos los fungicidas (inmersión 30 min)
		T4	Paja de avena o cebada incorporada al sustrato
		T5	Residuos de brócoli incorporados al sustrato
		T6	<i>Bacillus subtilis</i> (BioRaiz)
		T7	<i>Trichoderma</i> (T22)
		T8	propamocarb-HCl , (inmersión 30 min, 24 h después de la inoculación)
		T9	procloraz CE (inmersión 30 min)
		T10	quintoceno 30% + thiram 30% PH (inmersión 30 min)
		T11	azoxystrobin 50% GS(inmersión 30 min)
		T12	Testigo absoluto
<i>S. bulborum</i>	Inoculación con 8 esclerocios por kg de suelo (en el sustrato, en el invernadero), previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 0.5% durante 1 minuto, (Ferguson and Shew, 2001).	T1	Control orgánico (T4+T5+T6+T7)
		T2	Control orgánico + fungicidas (T8,T9,T10 y T11)
		T3	Todos los fungicidas (inmersión 30 min)
		T4	Paja de avena o cebada incorporada al sustrato
		T5	Residuos de brócoli incorporados al sustrato
		T6	<i>Bacillus subtilis</i> (BioRaiz)
		T7	<i>Trichoderma</i> (T22)
		T8	propamocarb-HCl , (inmersión 30 min, 24 h después de la inoculación)
		T9	procloraz CE (inmersión 30 min)
		T10	quintoceno 30% + thiram 30% PH (inmersión 30 min)
		T11	azoxystrobin 50% GS(inmersión 30 min)
		T12	Testigo absoluto

2.5 Establecimiento del experimento en invernadero.

Una vez realizada la inoculación de los patógenos y la aplicación de los tratamientos de control, se estableció el experimento el día 3 de enero de 2005, colocando los bulbos de tulipán en una mezcla de suelo y tezontle previamente esterilizado con bromuro de metilo colocada dentro de cajas de plástico de 25 cm de largo por 50 cm de ancho, con una profundidad de la mezcla de 20 cm. Se colocaron doce bulbos por caja.

Las plantas de tulipán fueron regadas 3 veces por semana asegurándose de mantener la humedad adecuada del cultivo. Esta fase de invernadero culminó el 15 de febrero del mismo año con la extracción y cosecha de los mismos.

2.6 Diseño experimental

Se utilizó un diseño en bloques al azar (DBA) con 12 repeticiones por tratamiento, la unidad experimental estuvo constituida por una planta de tulipán proveniente de bulbos del cultivar Ile de France.

2.7 Análisis estadístico

Para determinar cuales de las medidas de manejo fueron las mejores en controlar a los patógenos *Fusarium oxysporum*, *Pythium* sp, *Sclerotinia bulborum*, y *Penicillium* sp. inoculados en los bulbos de tulipán cultivar Ile de France se realizo un análisis de varianza y una comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$), para las variables evaluadas, utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) for Windows v8.12. Además se determinó la eficiencia de los tratamientos con la ayuda de la variable incidencia y con la formula de Abbott(1925).

2.8 Variables evaluadas.

Se evaluaron en cada tratamiento las variables siguientes:

Altura de planta. Se llevó acabo con una cinta métrica al momento de la cosecha. La variable se expresó en cm.

Longitud de raíz. Se llevó acabo con una cinta métrica al momento de la cosecha, midiendo de cada planta la raíz más larga y la mas corta y promediando. La variable se expresó en cm.

Incidencia de la enfermedad. Se consideró como el número de plantas que mostraron síntomas de cada una de las enfermedades con respecto al numero de plantas totales muestreadas. Dicha variable se midió semanalmente, hasta la cosecha de las plantas y se reportó en porcentaje

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1 Resultados de todos los patógenos en conjunto con respecto a los tratamientos de control.

3.1.1 Altura de planta

Los datos de la variable altura fueron similares estadísticamente entre los 12 tratamientos evaluados, ya que no se aprecian diferencias significativas (Cuadro 4), sin embargo, los tratamientos que mostraron una altura mayor fueron los bulbos tratados con Azoxystrobin con 45.21 cm, todos los fungicidas con 44.53 cm y el manejo orgánico con 44.28 cm. Este comportamiento quizás se pudo deber a que las condiciones ambientales (luz, temperatura y riego) no fueron óptimas para el desarrollo de los patógenos (Bashan *et al*, 1996), sin embargo la altura de planta mayor numéricamente se pudo deber a una sanidad original mejor de los bulbos usados en estos tratamientos, lo cual se pudo ver reflejado en esta variable

3.1.2 Longitud de raíz

El análisis de varianza para la variable longitud de raíz de las plantas con los diferentes tratamientos de control tampoco mostró diferencia estadística significativa entre los tratamientos, con respecto a todos los hongos (Cuadro 4). Una posible explicación es que el manejo que se les dio en campo no permitió el establecimiento y desarrollo de los patógenos, al existir una muy buena aireación y ocasionada por el tipo de sustrato utilizado para el desarrollo de la planta y el tipo de caja que tuvo a este sustrato. Otra posibilidad es que el tiempo que tuvieron los patógenos para establecerse fue insuficiente, ya que Moore (1979) mencionó que la mayoría de los patógenos que entran al bulbo del tulipán muestran síntomas al año siguiente de su entrada al bulbo.

La media de los de testigos enfermos no mostró diferencias estadísticas significativas con el resto de los tratamientos, e inclusive muestra el segundo mayor desarrollo en la longitud de raíz con 6.81 cm, esto también se pudo deber a que las condiciones para que el patógeno se desarrollará en las plantas del tulipán no fueron las adecuadas (Bashan *et al*, 1996).

3.1.3. Incidencia de las enfermedades.

Los datos de la variable incidencia de la enfermedad, evaluada a través de la presencia de síntomas, no fue sometido al análisis de varianza ni prueba de medias, debido a que no se presentaron los síntomas de las enfermedades en ninguna de las plantas muestreadas (ni el testigo inoculado y el sin manejo), esto se pudo deber a que las condiciones en cuanto a humedad y temperatura no fueron las adecuadas para desarrollar los patógenos (Bañón , *et al.*, 1993).

Cuadro 4. Análisis de las variables altura de planta y longitud de raíz, en Tulipán (*Tulipa* sp.) var. Ile de France, evaluando al conjunto de patógenos con respecto a los tratamientos de control.

	Tratamiento	Variables	
		Altura de planta (cm)	Longitud de raíz (cm.)
1	Control orgánico	44.287a	5.7717a
2	Control orgánico + fungicidas	43.675a	6.0550a
3	Todos los fungicidas	44.537a	6.6250a
4	Paja de avena o cebada incorporada	43.822a	6.2250a
5	Residuos de brócoli incorporados	42.730a	5.7817a
6	<i>Bacillus subtilis</i>	43.157a	6.6750a
7	<i>Trichoderma virens</i>	43.798a	6.9467a
8	propamocarb	43.675a	6.5167a
9	procloraz	43.993a	6.8483a
10	quintoceno 30% + thiram 30%	43.113a	7.2533a
11	azoxystrobin 50%	45.215a	6.4733a
12	Testigos enfermos	43.260a	6.8150a
	DMS	4.7932	1.7872
	r^2	0.111245	0.221262
	CV	5.594021	14.00850

3.2 Resultados individuales los patógenos inoculados con respecto al total de tratamientos de control.

Del mismo modo se evaluaron las variables altura de planta y longitud de raíz para cada uno de los hongos, y una comparación entre todos los hongos (Cuadro 5).

3.2.1 Altura de planta.

En cuanto a la variable altura observamos aquí diferencias estadísticas significativas entre varios de los patógenos inoculados, se observaron a los tratamientos inoculados con *Fusarium oxysporum* con la mayor altura de planta de con 45.88 cm y a *Sclerotinia bulborum* con 42.24 cm con la menor altura (Cuadro 5). Sin embargo el tratamiento testigo con los hongos inoculados y sin ningún control no presentó diferencia estadística significativa con respecto a *F. oxysporum*, por lo que se infirió que no hubo efecto alguno de los patógenos inoculados. Esto pudo deberse a que las condiciones en cuanto a humedad y temperatura no fueron las adecuadas para desarrollar los patógenos (Bañón, *et al.*, 1993).

3.2.2 Longitud de raíz.

Al analizarse la variable longitud de raíz comparando entre hongos inoculados, se observó diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes patógenos inoculados con respecto al testigo enfermo, considerando todos sus tratamientos sin embargo y de manera contradictoria el testigo enfermo presentó la longitud de raíz mayor con 7.63 cm (Cuadro 5). De igual modo lo anterior pudo deberse a que las condiciones en cuanto a humedad y temperatura no fueron las adecuadas para desarrollar los patógenos (Bañón, *et al.*, 1993), y a que el tiempo entre inoculación y control fue demasiado corto (Moore, 1979).

Cuadro 5. comportamiento de las variables altura de planta y longitud de raíz, en Tulipán (*Tulipa* sp), cultivar Ile de France, con respecto a cada uno de los hongos inoculados, considerando todos los tratamientos de control.

Tratamiento Inoculado		Variables	
		Altura de planta (cm)	Longitud de raíz (cm.)
1	<i>Fusarium oxysporum</i>	45.8825a	6.3958b
2	<i>Pythium</i> sp	44.8725ab	6.4942b
3	<i>Penicillium</i> sp.	43.475bcd	5.8583b
4	<i>Sclerotinia bulborum</i>	42.240cd	6.2350b
5	Testigo enfermo, todos hongos	44.00abc	7.6300a
	DMS	2.282	0.961
	r ²	0.40526	0.405260
	CV	4.36315	4.363153

3.3 Resultados individuales de cada patógeno con respecto a los tratamientos de control

3.3.1 *Fusarium oxysporum*

3.3.1.1 Altura de planta

En la evaluación de la variable altura de planta, para el patógeno *F. oxysporum*, con respecto a los tratamientos aplicados, evaluados con la prueba de medias de Tukey, con una confiabilidad de 95%, no se observaron diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos (Cuadros 6). Existen varias causas posibles para este resultado, la primera es que el manejo en cajas puestas por encima de la superficie del suelo favorecieron un buen desarrollo de las raíces del Tulipán (*Tulipa* sp), al permitir una mejor infiltración del agua y al favorecer la aireación de las mismas. Lo que permitió un buen desarrollo de plantas (Bañón *et al*, 1993; Bent y Colombo, 2003).

La segunda posibilidad es que los patógenos no hayan podido infectar a los bulbos inoculados, por haberse aplicado un método de inoculación inapropiado;

otra explicación nos la da Moore (1979), que menciona que para que los patógenos inoculados o infectados con patógenos tales como *Fusarium oxysporum*, es necesario que el patógeno permanezca dentro de la planta durante un año de vida del Tulipán y mostrara síntomas hasta el ciclo siguiente.

Cuadro 6. Comportamiento de las variables altura de planta y longitud de raíz de plantas de Tulipán (*Tulipa* sp), cultivar Ile de France, tratadas con productos biológicos, fungicidas y enmiendas orgánicas e inoculadas con *Fusarium oxysporum*.

		VARIABLE	
	TRATAMIENTO	Altura	Longitud de raíz
T1	Control orgánico)T4-T7	47.5 a ^z	6.9 a
T2	Control orgánico + fungicidas (T4+T5+T8 a T11)	45.5a	6.5 a
T3	Todos los fungicidas (inmersión 30 min) (T8 a T11)	47.5a	6.9 a
T4	Paja de avena o cebada incorporada al sustrato	48.7a	7.2 a
T5	Residuos de brócoli incorporados al sustrato	42.5a	6.5 a
T6	<i>Bacillus subtilis</i> (BioRaiz)	47.0a	7.3 a
T7	<i>Trichoderma virens</i>	44.0a	5.7 a
T8	propamocarb (inmersión 30 min)	46.7a	7.1 a
T9	procloraz CE (inmersión 30 min)	43.7a	5.2 a
T10	quintoceno 30% + thiram 30% PH(inmersión 30 min)	44.4a	5.9 a
T11	azoxystrobin 50% (inmersión 30 min)	46.6a	5.5 a
T12	Testigo enfermo	45.9a	6.1 a
		8.09	2.68
	DMS	0.100	0.14
	r ²	12.98	30.86
	CV		

3.3.1.2 Longitud de raíz

En cuanto a esta variable no se observaron diferencias estadísticas con respecto al testigo inoculado, sin embargo numéricamente el tratamiento con *Bacillus subtilis* presentó el mejor desarrollo de raíz con 7.3 cm (Cuadro 6), lo cual coincide con lo mencionado por Pusey y Wilson (1984), quienes observaron que esta bacteria además de controlar a *F. oxysporum*, promueve el desarrollo de las raíces de las plantas.

En el caso del tratamiento con *Trichoderma harzianum*, se observó numéricamente uno de los peores desarrollos de raíz con 5.7 cm, situación contraria a la mencionada por Harman (2000), quien reporta a este biocontrolador como un excelente promotor del desarrollo de raíces, esta diferencia se pudo deber a que el producto no tuviera la viabilidad correcta, ya que su mayor capacidad infectiva es durante los primeros 40 días después de formulado (Harman, 2000).

3.3.2 *Penicillium* sp.

3.3.2.1 Altura de planta

En este caso no se presentaron diferencias estadísticas de los diferentes tratamientos evaluados con respecto al testigo enfermo (Cuadro 7). Varios autores mencionan a este hongo como uno de los principales patógenos de almacén y sin embargo estos autores también mencionan que es un patógeno que requiere para su establecimiento de temperaturas cálidas y exceso de humedad ocasionado por una aireación deficiente (Larson, 1988; Lara, 1996), condiciones que no se presentaron durante el desarrollo del experimento y quizá debido a lo anterior el patógeno no mostró efectos en la altura de planta, aun cuando numéricamente se observa el menor desarrollo de planta en el testigo enfermo con 39.2 cm.

3.3.2.2 Longitud de raíz

Al realizarse la evaluación para *Penicillium* sp., por separado, con respecto a los tratamientos aplicados, evaluados con la prueba de medias de Tukey, con una confiabilidad de 95%, no se observa diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos con respecto al testigo enfermo (Cuadro 7). Numéricamente el tratamiento con menos desarrollo fue el testigo inoculado con 5.2 cm.

Bañón *et al* (1993), menciono que el principal daño de este hongo es en las escamas del bulbo y se incrementa al estar los bulbos almacenados (previo a la siembra), ya que la infección se ve favorecida por temperaturas cálidas y exceso de humedad lo cual ocasiona por una aireación deficiente, y en este experimento al no presentarse el almacenamiento de bulbos previo a la siembra en invernadero pudo no permitir el establecimiento de la enfermedad.

Cuadro 7. Comportamiento de las variables altura de planta y longitud de raíz de plantas de Tulipán (*Tulipa* sp), cultivar Ile de France, tratadas con productos biológicos, fungicidas y enmiendas orgánicas e inoculadas con *Penicillium* sp.

VARIABLE			
	TRATAMIENTO	Altura	Longitud de raíz
T1	Control orgánico)T4-T7	43.8 a ²	6.25 a
T2	Control orgánico + fungicidas (T4+T5+T8 a T11)	40.7 a	6.1 a
T3	Todos los fungicidas (inmersión 30 min) (T8 a T11)	44.1 a	5.8 a
T4	Paja de avena o cebada incorporada al sustrato	45.6 a	6.4 a
T5	Residuos de brócoli incorporados al sustrato	44.8 a	5.3 a
T6	<i>Bacillus subtilis</i> (BioRaiz)	43.6 a	6.2 a
T7		44.2 a	5.1 a
T8	<i>Trichoderma virens</i> propamocarb (inmersión 30 min)	44.3 a	6.0 a
T9	procloraz CE (inmersión 30 min)	45.3 a	6.2 a
T10	quintoceno 30% + thiram 30% PH(inmersión 30 min)	44.2 a	6.0 a
T11	azoxystrobin 50% (inmersión 30 min)	41.6 a	5.9 a
T12	Testigo enfermo	39.2 a	5.2 a
		8.12	2.23
	DMS	0.103	0.075
	r ²	13.75	28.04
	CV		

3.3.3 *Pythium* sp.

3.3.3.1 Altura de planta

En este caso no hubo diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos evaluados con respecto al testigo enfermo (Cuadro 8). Las causas posibles para este resultado, son entre otras la buena preparación, tanto del sustrato como del sistema de plantación, los cuales al favorecer la aireación correcta, infiltración, y disponibilidad del agua en el suelo, evitaron que aparecieran daños de este patógeno (Tlapal-Bolaños y Mendoza-Zamora, 2003). Otra cuestión importante es el tipo de inoculación a través de heridas en los bulbos (método utilizado), no permite que estos presenten síntomas durante el ciclo de cultivo subsecuente (Moore , 1979).

3.3.3.2 Longitud de raíz

No se observaron diferencias estadísticas significativas de los tratamientos evaluados con respecto al testigo enfermo (Cuadro 8). Esto se pudo deber a tipo de inoculación a través de heridas en los bulbos (método utilizado), no permite que estos presenten síntomas durante el ciclo de cultivo subsecuente (Moore, 1979), del mismo modo el manejo del cultivo no permitió el establecimiento del patógeno.

Cuadro 8. Comportamiento de las variables altura de planta y longitud de raíz de plantas de Tulipán (*Tulipa* sp), cultivar Ille de France, tratadas con productos biológicos, fungicidas y enmiendas orgánicas e inoculadas con *Pythium*.

		VARIABLE	
	TRATAMIENTO	Altura	Longitud de raíz
T1	Control orgánico)T4-T7	43.7 a ²	6.8 a
T2	Control orgánico + fungicidas (T4+T5+T8 a T11)	43.7 a	6.4 a
T3	Todos los fungicidas (inmersión 30 min) (T8 a T11)	41.5 a	5.6 a
T4	Paja de avena o cebada incorporada al sustrato	43.4 a	6.1 a
T5	Residuos de brócoli incorporados al sustrato	42.5 a	6.9 a
T6	<i>Bacillus subtilis</i> (BioRaiz)	43.7 a	6.7 a
T7		44.3 a	6.2 a
T8	<i>Trichoderma virens</i> propamocarb (inmersión 30 min)	43.2 a	7.4 a
T9	procloraz CE (inmersión 30 min)	38.6 a	6.5 a
T10	quintoceno 30% + thiram 30% PH(inmersión 30 min)	40.1 a	6.7 a
T11	azoxystrobin 50% GS(inmersión 30 min)	43.0 a	6.2 a
T12	Testigos enfermos a los que se inoculará cada uno de los hongos	38.8 a	6.3 a
	DMS	9.32	2.88
	r ²	0.11	0.09
	CV	10.14	32.67

3.3.4 *Sclerotinia bulborum*

3.3.4.1 Altura de planta

En el caso de *S. bulborum* no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos evaluados con respecto al testigo (Cuadro 9). Este patógeno en específico es muy dependiente de la humedad sobre el follaje y bulbos, así como de temperaturas frescas en el ambiente (Gould, 1979 citado por Lara, 1996), situaciones que no coincidieron durante el desarrollo del cultivo lo cual no permitió el desarrollo de la enfermedad

3.3.4.2 Longitud de raíz

En cuanto a la variable longitud de raíz los tratamientos no mostraron diferencias estadísticas significativas entre ellos ni respecto al testigo enfermo (Cuadro 9). Este patógeno en específico es muy dependiente de la humedad sobre el follaje y bulbos del tulipán ya sea en forma de rocío o con humedades relativas mayores al 80% (Gould, 1979 citado por Lara, 1996), situaciones que no se presentaron durante el desarrollo del cultivo lo cual no permitió el desarrollo de la enfermedad.

Cuadro 9. Comportamiento de las variables altura de planta y longitud de raíz de plantas de Tulipán (*Tulipa* sp), cultivar Ile de France, tratadas con productos biológicos, fungicidas y enmiendas orgánicas e inoculadas con *Sclerotinia bulborum*.

		VARIABLE	
	TRATAMIENTO	Altura	Longitud de raíz
T1	Control orgánico)T4-T7	43.7 a ²	5.4 a
T2	Control orgánico + fungicidas (T4+T5+T8 a T11)	43.7 a	7.5 a
T3	Todos los fungicidas (inmersión 30 min) (T8 a T11)	41.5 a	6.4 a
T4	Paja de avena o cebada incorporada al sustrato	43.5 a	6.7 a
T5	Residuos de brócoli incorporados al sustrato	43.7 a	7.3 a
T6	<i>Bacillus subtilis</i> (BioRaiz)	44.4 a	6.2 a
T7	<i>Trichoderma</i> (T22)	43.2 a	5.8 a
T8	propamocarb (inmersión 30 min)	43.1 a	7.0 a
T9	procloraz CE (inmersión 30 min)	38.6 a	5.6 a
T10	quintoceno 30% + thiram 30% PH(inmersión 30 min)	40.1 a	5.8 a
T11	azoxystrobin 50% (inmersión 30 min)	43.0 a	5.8 a
T12	Testigo enfermo	38.8 a	5.3 a
		9.32	3.09
	DMS	0.11	0.12
	r ²	16.25	36.47
	CV		

4. CONCLUSIONES.

1. *Penicillium* afectó marcadamente la longitud de la raíz del tulipan (*Tulipa* sp), cultivar Ille de France.
2. Ninguna de las estrategias de manejo mostró diferencias significativas entre ellas ni con respecto al testigo inoculado de cada uno de los patógenos y sin tratamientos de manejo.

5. LITERATURA CITADA.

Abbot, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economical Entomology*.18:265-267.

Agrios, G. 1996. *Fitopatología*. Editorial Limusa. México, México. pp. 448-452, 508-511, 513-516.

Andrews, K.L., Quezada, J.R. 1989. *Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura*. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras. 623 p.

Bashan, Y., Holguin G., y Ferrera-Cerrato R. 1996. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. II. Bacterias asociativas de la rizosfera. *Terra* 14(2): 195-210.

Burguees, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P., Backhouse, D. 1994. *Laboratory manual for Fusarium research*, 3rd. Edition. Departament of Crop Science, University of Sydney and Royal Botanics Garden, Australia. pp. 74-79.

Bañón-Arias, S., Cifuentes-Romo, D., Fernández-Hernández, J.A., y González-Benavente-García, A. 1993. *Gerbera, Lilium, Tulipán y Rosa*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. pp. 160-200.

Bent, E., y Colombo, A. 2003. *Tulipanes y bulbosas, elección y cuidados*. Editorial de Vecchi. Barcelona, España. pp. 10-30.

Bowers, J. H. and Locke, J. C. 2000. Effect of Botanical Extracts on the Population Density of *Fusarium oxysporum* in Soil and Control of Fusarium Wilt in the Greenhouse. *USDA. U.S.A. Plant Dis.* 84:300-305.

Centro Internacional de Bulbos de Flores . 1999. El Liliu como flor cortada en zonas subtrópicas. Centro Internacional de Bulbos de Flores. Holanda. pp. 17-20.

Cisneros, F.; Alcázar, J.; Palacios, M.; Ortiz, O. 1995. "Una estrategia para el desarrollo e implementación del Manejo Integrado de Plagas". Centro Internacional de la Papa (CIP) 21(3): 2-7.

Egel, D. S., and Harmon, P. 2001. Effects of nozzle type and spray pressure on control of *Alternaria* leaf blight of muskmelon with chlorothalonil. Plant Disease 85:1081-1084.

Ferguson, L. M., and Shew, B. B. 2001. Wheat straw mulch and its impacts on three soilborne pathogens of peanut in microplots. Plant Dis. 85:661-667.

Harman, G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol, changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease 84:377-392.

Kim, K. and A.A. De Hertog. 1997. Tissue culture of ornamental flowering bulbs (Geophytes). Horticultural Reviews. 18:72-79.

Lara-Lara, J.A. 1996. Diagnóstico de enfermedades en plantas de Tulipán (*Tulipa* sp) provenientes de bulbos importados de Holanda en Xochimilco, D.F.; México, Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 22-74.

Larson R. A. 1988. Introducción a la floricultura. Edit. AGT. México, D.F. pp. 254.

Montes-Belmont, 1992. Identificación de hongos fitopatógenos. Instituto Politécnico Nacional. Oaxaca, México. pp. 34, 60, 76.

Moore, W.C. 1979. Diseases of Bulbs. Ministry of agriculture. Fisheries and London. England. pp. 11-33.

Morales, H.L. 2000. Rango de hospedantes de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, aislado de crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ram). 52 pp.

Palou, L., Smilanick, J. L., Usall, J., and Viñas, I. 2001. Control of post harvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate. Plant Dis. 85:371- 376.

Perdomo-Roldan, F. 1996. Control biológico de *Fusarium roseum* (Lk) Snyder y Hansen, hongo que ataca la raíz de clavel *Dianthus caryophyllus* L. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 1-17.

Priyatmojo, A., Yotani, Y., Hattori, K., Kageyama, K., and Hyakumachi, M. 2001. Characterization of *Rhizoctonia* spp. causing root and stem rot of miniature rose. Plant Dis. 85:1200-1205

Pusey , P.L. and Wilson, C.L. 1984. Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis* plant diseases. 68: pp 753-756.

S. Orme and S. Kegley, 2004. *PAN Pesticide Database*, Pesticide Action Network, North America, San Francisco, CA., <http://www.pesticideinfo.org>

Ruiz-Tapia, J.M. 1999. Manejo Integrado de la pudrición radical del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) por *Rhizoctonia solani* Kühn en Chapingo, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 23-35.

Smolinska, U. 2003. Isothiocyanates Produced by Brassicaceae Species as Inhibitors of *Fusarium oxysporum*. Research Institute of Vegetable Crops, Skierniewice, Poland. Plant Disease. 87:407-412.

Tlapal-Bolaños, B. y Mendoza-Zamora, C. 2003. Manejo fitosanitario de ornamentales. Instituto de Fitosanidad, Colegio De Postgraduados. Montecillos, México. pp. 97-106.