

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA

✓ **PUDRICION DE LA RAIZ Y BASE DEL TALLO
DEL CHICHARO || (Pisum sativum L.) EN
XALTEPA, CHAPINGO, EDO. DE MEXICO.**

Alejandro / Romero García

T E S I S

Presentada como requisito parcial
para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS
Especialista en Protección Vegetal



DIRECCION ACADÉMICA
CHAPINGO, MEX

Chapingo, Edo. de México. 1989.



Esta Tesis fué realizada bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y por el Jurado Examinador, y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de: MAESTRO EN CIENCIAS, ESPECIALISTA EN PROTECCION VEGETAL.

Consejo Particular:

Consejero: Dr. Sebastián Romero C.

Aesor: M.C. S. Gerardo Leyva Mir.

Jurado Examinador:

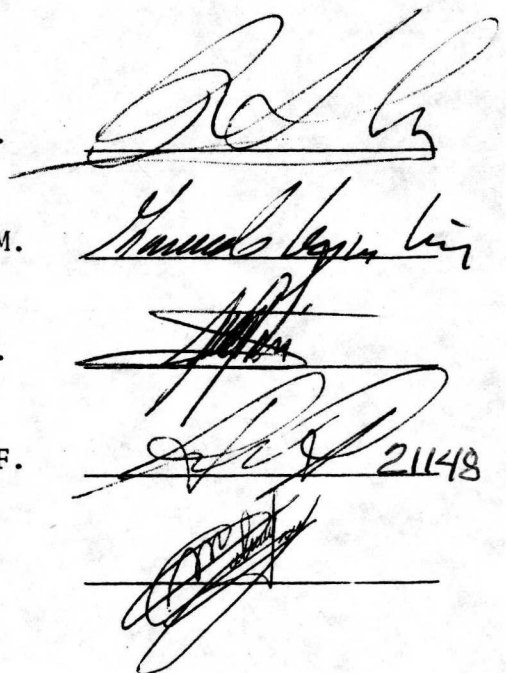
Presidente: Dr. Sebastián Romero C.

Secretario: M.C. S. Gerardo Leyva M.

Vocal : M.C. Juan Fdo. Solís A.

Suplente : M.C. Calixto Carrillo F.

Suplente : M.C. Manuel Colunga G.



Handwritten signatures of the members of the Jury and the Council. The signatures are written in black ink on a white background. The first signature is for Dr. Sebastián Romero C., the second for M.C. S. Gerardo Leyva M., the third for M.C. Juan Fdo. Solís A., the fourth for M.C. Calixto Carrillo F., and the fifth for M.C. Manuel Colunga G. The number 21148 is written next to the fourth signature.

DEDICATORIA

A mi pequeño hijo, Alejandro Sebastián; fuente de esfuerzo y superación.

A mi esposa, Graciela, como un pequeño tributo a sus desvelos y por alentarme en todo momento.

A mi mamá y mi papá; no acabaría nunca de agradecerles lo que hicieron por nosotros.

A mis hermanos, Marcos y David; llenaron de jovialidad momentos difíciles.

A la Sra. Madeline M. de Huerta, de parte de su nieto Alex S., Chela y en mi nombre por sus bondades.

A Chapingo.

AGRADECIMIENTOS

Al pueblo de México, que a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología financió mis estudios de postgrado.

A mi profesor Consejero, Dr. Sebastián Romero C., por su acertada dirección del trabajo, revisión, sugerencias y corrección del manuscrito y su inagotable paciencia.

Al MC. S. Gerardo Leyva M. por su asesoría y revisión del manuscrito.

Al MC. Juan Fernando Solís A. por su revisión y sugerencias.

A los MC. Calixto Carrillo F. y Manuel Colunga por su revisión al escrito y su ayuda.

A mis compañeros de generación Ingenieros Alejandro Michel, José Juan Piña y Guillermo González por su invaluable ayuda con el ensayo de campo.

A mi hermano David por su paciente ayuda.

A mi prima Estela por su desinteresada colaboración

A mis profesores del Dpto. de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo por las enseñanzas recibidas.

A mi Alma Mater por recibirme nuevamente en su seno.

A la Sra. Aracely Valle Reynaga por su disposición y excelente labor mecanográfica.

Al Jefe del Campo Experimental de la UACH y sus colaboradores por las facilidades prestadas.

Al Ing. Nicolás Bravo por su colaboración.

A aquellas personas que hicieron posible la culminación de este trabajo y cuya omisión no fué intencional.

C O N T E N I D O

	Pág.
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	
RESUMEN	1
INTRODUCCION.....	4
REVISION DE LITERATURA.....	7
MATERIALES Y METODOS	24
1. Lugar donde se realizó el trabajo	24
2. Aislamientos.....	24
3. Pruebas de patogenicidad.....	25
3.1. Preparación del inóculo y método de inoculación.....	25
3.2. Reaislamientos.....	26
4. Identificación de los hongos aislados.....	26
5. Supervivencia de los patógenos en el campo..	27
6. Control químico y biológico a nivel campo...	27
7. Toma y análisis de datos.....	28
RESULTADOS Y DISCUSION.....	30
1. Aislamientos.....	30
2. Pruebas de patogenicidad.....	31
2.1. Reaislamientos.....	33
3. Identificación de los hongos reaislados.....	34
4. Supervivencia de los patógenos en el campo...	34
5. Control químico y biológico.....	36
5.1. Efecto de los tratamientos con base en en el número de plantas enfermas.....	37
5.2. Efecto de los tratamientos con base en el número de vainas sanas.....	41
5.3. Aislamientos de microorganismos presen- tes en plantas de chícharo con pudri- ción de raíz y base del tallo.....	47

	Pág.
5.4. Aislamiento de microorganismos presentes en plantas de chícharo con pudrición de raiz y base del tallo.....	47
CONCLUSIONES	48
LITERATURA CITADA.....	49
APENDICE.....	53

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Pág.
CUADRO 1. Control de la pudrición de la raíz y base del tallo mediante la aplicación de fungicidas, bagazo de caña de azúcar y bagazo de café al momento de la siembra Chapingo, Méx., 1988	39
CUADRO 2. Comparación de medias del número de plantas enfermas por tratamiento, mediante la prueba de Tukey	39
CUADRO 3. Análisis de varianza del Cuadro 1.	54
CUADRO 4. Número de vainas sanas por tratamiento en el ensayo de control químico y biológico de la pudrición de raíz y base del tallo del chícharo. Chapingo, Méx. 1988.....	42
CUADRO 5. Comparación de medias del número de vainas sanas por tratamiento mediante la prueba de Tukey	42
CUADRO 6. Análisis de varianza para el número de vainas sanas por tratamiento (Cuadro 4.)	54
FIGURA 1. Hongos aislados de plantas de chícharo con pudrición de raíz y base del tallo: 1. <u>Rhizoctonia solani</u> ; 2. <u>Fusarium solani</u> f. sp. <u>pisi</u> ; 3. <u>Fusarium roseum</u> ; 4. <u>Fusarium moniliforme</u> y 5. <u>Pythium ultimum</u>	35
FIGURA 2. Daños por pudrición de raíz y base del tallo del chícharo, y efecto de algunos tratamientos: 1. Daños en 1987; - 2. Terrazán mas Benlate; 3. Benlate y 4. Testigo	44

RESUMEN

En el verano de 1987, el chícharo (Pisum sativum L.) var. Early Perfection, sembrado en el Lote X-19 del Campo Experimental "Xaltepa", Universidad Autónoma Chapingo, fué atacado severamente por una enfermedad, cuyos síntomas característicos eran una pudrición de la raíz y base del tallo, amarillamiento y eventual muerte de plantas, con pérdidas visulamente estimadas en 60%. Los primeros estudios de laboratorio indicaron que la enfermedad era de naturaleza fungosa y que bien podía recomendarse la aplicación de un fungicida para proteger a las plantas que se veían sanas. Sin embargo, como "Xaltepa" se utiliza para investigaciones diversas, pruebas de rendimiento, adaptación y otras características genéticas, su sanidad es básica. Por tal razón, se planeó el presente trabajo, que incluyó la identificación del agente causal de la pudrición de la raíz y base del tallo del chícharo, así como la prueba de algunos productos para su control.

De plantas enfermas se aislaron principalmente dos hongos, cuya patogenicidad fué verificada mediante la siembra de semilla sana en suelo inoculado con estos hongos, solos o asociados.

Las características morfológicas de los hongos patógenos permitió su identificación, resultando las siguientes especies:

Fusarium solani f. sp. pisi y Rhizoctonia solani. Y, con base en estos resultados, se probaron dos fungicidas y otros tantos

materiales orgánicos, que la literatura recomienda como efectivos o promisorios. Estos fueron: Benomyl (Benlate), Terrazán (PCNB micronizado), Bagazo de caña de azúcar y Bagazo de café, estos últimos a dos diferentes dosis. El diseño utilizado para esta prueba fue el de "Bloques completamente al azar", con 7 tratamientos y un testigo, y cuatro repeticiones. De acuerdo a los resultados, el tratamiento que mejor controló a la enfermedad fué la mezcla de Terrazán y Benlate (282 plantas enfermas de un total de 800 plantas), seguido por el Benlate (543 plantas enfermas) y el Terrazán (591 plantas enfermas) solos, pero con diferencia significativa entre el primero (la mezcla) y los segundos, Esta acción conjunta e individual era de esperarse porque el Benlate es efectivo contra Fusarium spp. y Rhizoctonia solani,

Con respecto al Bagazo de caña de azúcar y Bagazo de café su efecto fué relativamente pobre (666 y 586 plantas enfermas, respectivamente) tal vez porque fueron aplicadas al momento de la siembra y no 7 días antes, como lo recomiendan algunos autores, para activar a la producción de antibióticos por la microflora del suelo; pero también pudo deberse a la escasez de microflora antagónica en el suelo utilizado, que es de textura areno-limosa.

Durante el tiempo que duró el Experimento de control se muestreó varias veces para corroborar la presencia de Fusarium solani f. sp. pisi y Rhizoctonia solani, encontrándose no sólo a estos dos organismo sino también a otros más, particularmente F. roseum, F. moniliforme y Pythium ultimum, que sugieren, para el futuro, la realización de un trabajo de control integrado, incluyendo fun-

gicidas para hongos imperfectos y ficomicetos, materiales orgánicos diversos y organismos antagónicos, como Chaetomium spp., Bacillus spp., Trichoderma spp. y otros más que se tengan disponibles.

I N T R O D U C C I O N

El chícharo (*Pisum sativum* L.) es una planta anual, trepadora y herbácea de la familia Leguminosae. Aparentemente es originaria de Europa, o al menos ya era conocida desde épocas remotas por los griegos y romanos (Halfacre y Barden, 1984).

El cultivo del chícharo tiene mucha importancia dentro de las hortalizas desde los puntos de vista alimenticio, comercial e industrial, y su demanda es elevada en los centros de consumo durante todo el año. En México, se cultiva a nivel nacional, pero los estados más productores son México, Puebla, Hidalgo y Guanajuato.

Según Bravo (1987), en la sección X-19 del lote "Xaltepa" del campo experimental de la U.A.CH., se han realizado ensayos de rendimiento y otras pruebas con el cultivo de chícharo de la variedad "Early Perfection".

Sin embargo, desde el año de 1985, se ha visto mermada la producción de manera significativa, debido a la pérdida de plantas por amarillamiento, pudriciones de raíz y cuello, y achaparramiento, ocasionadas por diferentes factores abióticos y bióticos. Dentro de estos últimos el chícharo es susceptible al ataque de varios organismos fitopatógenos: hongos, bacterias, virus y nemátodos. Por el número de especies y agresividad, los hongos son al parecer los más importantes, destacando: Ascochyta pisi, Ascochyta pinodella, Ascochyta pinodes, Fusarium oxysporum f. sp. nisi,

Aphanomyces euteiches, Pythium spp., Erysiphe polygoni,
Septoria pisi, Colletotrichum pisi, Uromyces sp., Fusarium
solani f. sp. pisii y Rhizoctonia solani.

A mediados de 1987, se trajeron al laboratorio de Micología del Departamento de Parasitología Agrícola de la U.A.CH., procedentes del lote experimental "Xaltepa", Chapingo, plantas de chícharo, de una edad aproximada de 3.5 meses, con una pudrición café rojiza de las raíces y base del tallo. El follaje de algunas plantas estaba completamente muerto y de un color café claro, mientras que el de otras se veía verde amarillento, excepto las hojas bajas que ya se habían secado (Fig. 2). En el campo visualmente se estimó que la pérdida de plantas ascendía a un 60%.

En el laboratorio, se sembraron trocitos de tallo y raíces enfermos en medio de cultivo PDA, obteniéndose principalmente dos hongos, uno de ellos que al madurar produjo conidios en forma de canoa y septados, así como conidios unicelulares y clamidosporas: y el otro que no produjo conidios, sino solamente un micelio grueso de color café claro, septado, con ramificación aproximadamente en ángulo recto y, característicamente, las ramas secundarias constreñidas en el punto de unión con las ramas primarias - (Fig. 1).

Con base en la literatura, todo esto mostraba la posibilidad de que los hongos aislados fueran los causantes de la enfermedad

y que, en el más simple de los casos, podía recomendarse algún tratamiento con fungicidas para salvar las plantas aparentemente sanas, pero en virtud de que el campo experimental se usa continuamente para diferentes tipos de investigación, lo más seguro es que se encuentre infestado con éstos y otros patógenos similares, de tal manera que es urgente aplicar medidas efectivas y económicas para evitar daños en el futuro como los infligidos al chícharo. Por tal motivo, se planeó llevar a cabo el presente trabajo con los objetivos siguientes:

1. Investigar exhaustivamente las causas de la pudrición de la raíz y base del tallo del chícharo, y
2. Probar diferentes tipos de materiales (fungicidas y compuestos orgánicos) para el control de los organismos responsables de la enfermedad y de otros similares que se encuentren presentes en el suelo del lote mencionado.

REVISION DE LITERATURA

Los hongos son los organismo más comunes de las enfermedades a las que el chícharo es susceptible, encontrándose involucrados en la mayor parte de unas 20 enfermedades de esta leguminosa (Haglund, 1985).

Las enfermedades fungosas que se presentan con mayor frecuencia son las siguientes:

1. Tizón o antracnosis por tres especies de Ascochyta:

Ascochyta pisi Libert.

Ascochyta pinodella Jones.

Ascochyta pinodes (Berkeley & Bloxam) Jones (Mycosphaerella pinodes (Berkeley & Bloxam) Bestergren.

Este tizón es considerado de mucha importancia económica (Kay, 1979). Libert descubrió la primera especie en Francia y la describió en 1830. El tizón se presenta en todas las partes del mundo donde se siembra chícharo (Chupp & Sherf, 1960).

Las tres especies de Ascochyta difieren en algunos aspectos. Sin embargo, las diferencias en el campo, no son lo suficientemente características para determinar su identidad específica basándose sólo en la sintomatología. Por ello se hace necesaria la observación de los cuerpos fructíferos bajo el microscopio para hacer la distinción final.

A. pisi causa lesiones principalmente en el follaje y en las vainas, rara vez daña las raíces. Las manchas foliares son grandes, café claro, consistencia ligeramente papelosa y centro pardo o gris donde es muy notable la presencia de unos puntitos negros, los picnidios. Las hojas muy atacadas mueren en un tiempo relativamente corto. Si la infección ocurre en vainas jóvenes, se forman lesiones hundidas, que pueden penetrar la pared y provocar manchas cafés en los granos.

Las otras dos especies ocasionan lesiones oscuras con márgenes púrpuras y tienen un efecto más severo en la planta. A. pinodella es un patógeno casi exclusivo de las raíces, mientras que A. pinodes ataca todas las partes de la planta por igual. En etapas tempranas la base del tallo muestra una coloración café o negra, exactamente al nivel del suelo. Las plantas de variedades susceptibles sufren la pudrición de esa parte en un tiempo relativamente corto, y entonces mueren. Las manchas que ocasionan ambos hongos en las vainas son similares, excepto que las provocadas por A. pinodes son más cafés y las de A. pinodella un poco más negras y, algunas con depresiones.

Cuando se siembran semillas infectadas, éstas no germinan o, si germinan, el ápice, o tallo de las plántulas es invadido rápidamente y entonces mueren. El complejo Ascochyta es transmitido por semilla y sobrevive en el suelo de una estación a otra, debido a que entre otras cosas, producen cla-

midosporas en el tejido vegetal e invernan en el rastrojo (Chupp y Sherf, 1960).

2. Marchitez por Fusarium

Fusarium oxysporum f. sp. pisi (Lindford) Snyder & Hansen ,
raza 1.

Bisby encontró por primera vez esta marchitez durante 1918 en Minnesota, pero Lindford fué quien la describió en 1928 en Winsconsin.

Este hongo produce daños muy severos solamente en chícharo. Los primeros síntomas aéreos generales de la marchitez son achaparramiento y amarillamiento del follaje; después la planta puede marchitarse total o parcialmente. La formación de vainas es nula o si llegan a formarse producen semillas pequeñas y arrugadas. Las plantas son susceptibles en cualquier estado de desarrollo, aunque la marchitez generalmente aparece durante la floración por la destrucción de las raíces. Antes de que se manifiesten los primeros síntomas, a primera vista las plantas se ven normales, pero la parte más baja del tallo presenta grietas y si se cortan transversal o longitudinalmente, en los vasos del xilema se observa una coloración amarilla o anaranjada que al final se torna oscura.

Esta enfermedad generalmente aparece en manchones en el campo y la raza 1 se disemina por semilla o suelo infestado (Chupp y Sherf, 1960).

3. Pudrición de raíces por Aphanomyces

Aphanomyces euteiches Dreschler.

Por las epifitias que ha ocasionado en Estados Unidos, Europa y Australia, A. euteiches es quizá el patógeno más destructivo que ataca al chícharo. En ataques tempranos, toda la parcela puede perder su valor comercial, ya que no sólo destruye guías individuales, sino también reduce la calidad de los granos, afectando su forma y tamaño, maduración y contenido de azúcar.

Las plantas que son infectadas cuando jóvenes no se desarrollan normalmente, tienen un color amarillento y mueren prematuramente, en tanto que las plantas adultas casi no muestran síntomas en el follaje y, por lo general, fructifican normalmente.

Por lo general, la primera infección tiene lugar en una de las raicecillas, manifestándose en forma de una lesión de aspecto acuoso y color gris, la cual después cambia a un color amarillento o rosado, y finalmente casi negro. No se presenta depresión en el área infectada, ya que el hongo sólo invade los tejidos corticales, lo cual puede corroborarse cuando se arranca una planta enferma; en este caso la planta conserva únicamente el cilindro central de la raíz, la corteza se queda en el suelo.

Las raíces que son invadidas tardíamente son capaces de soportar la enfermedad y hacer que la planta produzca algunas

vainas; sin embargo, dichas vainas sólo tienen una o dos semillas, frecuentemente tan grandes que requieren de un periodo largo por madurar y, además, son de baja calidad.

4. Ahogamiento, pudrición de semilla, y raíces por Pythium.

Pythium spp.

Las especies de Pythium causan diferentes tipos de enfermedades: ahogamiento de plántulas, pudrición de semillas (ahogamiento preemergente), pudrición de raíces de árboles forestales, y pudrición de frutos suaves y succulentos. En chícharo, el ahogamiento de plántulas se parece mucho a la pudrición causada por Aphanomyces euteiches, pero el causante puede distinguirse fácilmente por sus fructificaciones (esporangios y oosporas), que tienen características morfológicas muy diferentes. Además, Pythium spp. tienen un rango de hospedantes muy amplio, en tanto que A. euteiches se limita a dos o tres hospedantes, lo que obviamente facilita su control (Walker, 1957 y Agrios, 1978).

5. Cenicilla

Erisiphe polygoni De Candolle.

Según numerosos reportes esta especie ataca por lo menos a unas 357 especies de plantas, entre las cuales se encuentra el chícharo, el frijol, el tomate, la col, la coliflor, el pepino, el melón y el haba. Sin embargo, dado que está compuesta de razas fisiológicas, cada una de éstas ataca solamente a plantas filogenéticamente muy emparentadas.

La cenicilla se caracteriza por un polvillo blanco, que aparece sobre las hojas, tallos y vainas. Esta apariencia polvosa se debe a que el hongo crece (se nutre por medio dehaustorios) y fructifica superficialmente, produciendo numerosos conidios ovales a en forma de barril, hialinos, que en conjunto semejan arena blanca. En lugares de clima extremoso, al acercarse el invierno, el micelio forma otras estructuras mucho más grandes que los conidios, cuyo color cambia con el tiempo, pasando del blanco al amarillo, después café y finalmente negro, son los cleistotecios o estructuras invernantes del hongo. En la primavera, los cleistotecios se desintegran y dejan en libertad a las ascas, que son las productoras del inóculo primario, las ascosporas. En contraste, en lugares de clima benigno, durante todo el año hay producción de conidios.

Las plantas atacadas por la cenicilla no crecen normalmente porque las áreas foliares donde se desarrollan las manchas eventualmente mueren y dejan de producir alimento. Sólo en el caso de epifitias las plantas mueren. En las vainas, el hongo puede profundizar y llegar hasta los granos, siendo éste uno de los casos en que se da transmisión por semilla de una cenicilla.

En 1987, en Xaltepa, Chapingo, el ataque de cenicilla fué tardío, pero debido a la intensidad con que se presentó, el desastre por pudrición de raíz fué más espectacular.

6. Antracnosis

Colletotrichum pisi Patouillard.

Este hongo se colectó por primera vez en Ecuador y se describió en 1891. Rara vez causa, mucho daño, excepto cuando completa el daño iniciado por Ascochyta u otro organismo virulento, o encuentra condiciones favorables para su desarrollo (humedad alta y temperatura fresca), como en Coatepec de Harinas, Edo. de México.

Los síntomas son lesiones cafés y hundidas en hojas, tallos y vainas. En estados tempranos recuerdan a las causadas por Ascochyta, pero después pueden distinguirse por sus fructificaciones color naranja ornamentadas con setas negras. El hongo penetra hasta la semilla.

7. Pudriciones de semilla, plántula y raíz.

Rhizoctonia solani Kühn

Fusarium solani (Mart.) Sacc. f. sp. pisi (Jones) Snyd. & Hans.

Rhizoctonia solani es una de las causas de pudriciones de semilla y plántulas, aunque por lo general, se le ha considerado de menor importancia. Sin embargo, puede llegar a ser de serio peligro cuando las condiciones ambientales le favorecen. Aunque Rhizoctonia es problema para el chícharo a 18°C de temperatura del suelo, lo es aún más en ambiente tibio (21-25°C). En esas condiciones se presenta la pudrición del tallo de las plantas que emergen (Kraft y Harman, 1985).

Los síntomas que aparecen en el hipocótilo y epicótilo de las plántulas son lesiones de apariencia húmeda, café rojizas o cafés. El punto de crecimiento de una plántula puede morir después de emerger. La parte final del brote puede ser afectado, y entonces puede surgir un segundo brote del nudo basal cerca de la semilla. Esto puede continuar y el patógeno mata o varios brotes por "ahogamiento".

En general, si el brote primario muere, la planta nunca se recupera lo suficiente como para producir un rendimiento normal. En plantas grandes las lesiones café rojizas y hundidas, aparecen en el epicótilo, causando algunas veces un enanismo severo.

Otro patógeno que ocasiona pudrición de raíz es Fusarium solani (Mart.) Sacc. f. sp. pisi (Jones)Snyd. & Hans, el cual fué descrito como un serio patógeno del chícharo en Minnesota en 1918 y en Winsconsin en 1923. La enfermedad fué descrita en Europa más o menos en el mismo tiempo. Esta pudrición por Fusarium es una enfermedad muy grave en varios estados de los E.U.A. /

La pudrición de raíz por Fusarium solani f. sp. pisi es diferente a la marchitez y aparece junto con otras enfermedades de la raíz.

Se han publicado pocos datos acerca de las pérdidas provocadas por este patógeno; sin embargo, Kraft (1985), reporta que en

Washington han encontrado pérdidas hasta del 30% en suelos infestados con F. solani f. sp. pisi.

Este hongo generalmente infecta el punto de unión del área cotiledonar, hipocótilo y epicótilo. Los síntomas iniciales en las raíces primarias y secundarias se manifiestan en forma de unas líneas café rojizas que más tarde coalescen. El color externo de la raíz se torna café rojizo oscuro, especialmente en la zona del cuello y de la raíz. Puede observarse una zona de color rojizo en el sistema vascular de la raíz primaria, principalmente cerca del área de unión del cotiledón, pero no desarrolla arriba de la línea del suelo. Las plantas severamente infectadas se ponen pardas, amarillentas con necrosis de las hojas bajas y achaparradas (Kraft, 1985).

Además de los patógenos ya mencionados existen otros, que están involucrados en un complejo que causa la pudrición de semillas, raíces y plántulas de chícharo, aunque la importancia relativa de cada patógeno varía con las condiciones ambientales (Burke y Kraft, 1974). Entre éstos últimos se mencionan a Aphanomyces euteiches Dresch. y Pythium ultimum Trow, (Muehlbauer y Kraft, 1978).

Este hecho es bien conocido por los cultivadores de chícharo en algunas regiones de Estados Unidos, ya que en muchas localidades donde se ha sembrado esta leguminosa repetidamente en el mismo terreno, tarde o temprano, empieza a perder vigor hasta que finalmente es incapaz de producir (Jones, 1923). Dicho fenómeno

es similar al que está ocurriendo en el lote "Xaltepa" del campo experimental de la U.A.CH., como lo ha señalado Bravo (comunicación personal, 1987), quien dice que, como el suelo no es propicio para el chícharo, se siembran otros cultivos por varios años antes de sembrar chícharos nuevamente. Algo parecido se hacen en Europa y Asia aunque es más común en Estados Unidos debido a que la industria enlatadora ha estimulado la producción de esta planta hortícola (Jones, 1923).

Jones (1923), menciona que en 1918, se le asignó la tarea de determinar a los agentes causales que provocaban la pudrición de raíces y porciones basales de los tallos de las plantas de chícharo en las regiones productoras de Estados Unidos. Como resultado de sus investigaciones, Jones encontró cuatro hongos parásitos como factores principales de la enfermedad. Los hongos en cuestión fueron: dos especies de Fusarium, Aphanomyces sp. y Pythium debaryanum. La especie que señaló como causante directo de la enfermedad fué Fusarium martii App. & Wr. var. pisi.

Durante el verano de 1922, Stone, encontró un serio problema que era particularmente prevalente en el condado de Prince Edward, Canadá. Se trataba de una pudrición de raíces y tizón del chícharo. En muchos casos, se presentaban manchones de plantas enfermas en los campos, pero en otros, sembradíos enteros enfermaban sin producir. De los hongos aislados, el responsable resultó ser Fusarium sp., aunque este autor menciona que otros hongos pudieran estar asociados con la enfermedad.

En 1923, van Hall, citado por Snyder (1935), denominó como "enfermedad de San Juan" a un problema que encontró en chícharo en el suroeste de Holanda, mismo que ocurrió a fines de junio, muy próximo al día de San Juan (24 de Junio). De plantas enfermas obtuvo aislamientos de una especie de Fusarium, con la que hizo pruebas de patogenicidad, utilizando chícharos que cultivó en medio líquido. Al resultar patógeno, este hongo fue nombrado Fusarium vasinfectum v. pisi n. var. sin descripción, y reportado en este entonces como la causa más común de la "enfermedad de San Juan". Sin embargo, Went en 1934 compiló todas las publicaciones concernientes a la enfermedad en Europa, y en su reporte menciona varias especies de Fusarium, a saber: F. redolens Wr.; F. falcatum, después F. herbarum (Cda.) Fr. v. avenaceum (Fr.) Wr.; F. viticola, después F. herbarum v. viticola (Thüm.) Wr.; F. martii, después F. solani v. Martii y F. oxysporum Schlecht. (Snyder, 1935).

Snyder (1935), menciona que Went aisló varias especies de Fusarium en un trabajo hecho en 1934, y que las especies más virulentas fueron: F. solani v. striatum (Sherb.) Wr., F. solani v. martii, y F. oxysporum. En ningún caso encontró F. vasinfectum v. pisi, aunque algunos aislamientos se hicieron de plantas provenientes de la misma región en la cual van Hall previamente había trabajado. La conclusión a la que llegó Went fue que varias especies de Fusarium pueden causar la "enfermedad de San Juan".

En cambio, Snyder, mediante inoculaciones demostró en 1935, que la pudrición de raíz del chícharo, causada por F. solani

v. Martii f. 2, por sintomatología y etiología, es idéntica a la pudrición de raíz por Fusarium en América. En tal caso, el hongo F. solani v. striatum, reportado como patógeno del chícharo en Holanda, pasó a ser sinónimo de F. solani v. Martii f. 2.

Por otra parte, Peltier, citado por Matz (1917), publicó un artículo acerca de las especies patógenas de Rhizoctonia en América, y señala que en ese tiempo se reconocían dos especies de Rhizoctonia verdaderamente parásitas: la forma más común, Rhizoctonia solani Kühn (= Corticium vagum B. & C.), ampliamente distribuida y que ataca a un gran número de hospedantes, y R. crocorum (Pers.) D.C., con una distribución limitada a alfalfa y tubérculo de papa. Una tercera especie, Corticium ochroleucum (Noak) Burt, se encuentra en árboles frutales pomáceos.

Duggar en 1915 muestra suficientes evidencias acerca de que la especie de Rhizoctonia más común en América es R. solani Kühn, cuya fase perfecta ha sido clasificada como Corticium vagum B. & C. (Matz, 1917).

Kraft y Harman (1985), consignan que Rhizoctonia solani Kühn puede causar pudrición de semillas y plántulas de chícharo aunque por lo general la consideran de menor importancia. Sin embargo, puede ser muy peligrosa en condiciones ambientales adecuadas para su desarrollo.

Aunque R. solani se describió primero como un problema del chícharo a una temperatura del suelo de 18°C, es aún más severa en

condiciones más cálidas (21-25°C), y ocasiona pudrición en el tallo de los chícharos que emergen; y es particularmente severa cuando la humedad y el contenido de materia orgánica en la superficie del suelo son altos, y los chícharos se siembran directamente en los surcos de campos con reducida, o labranza cero (Kraft y Harman, 1985).

Mac Coy y Kraft (1984), probaron que Rhizoctonia solani Kühn (= Thanatephorus cucumeris (Frank) Donk), es la causa de la pudrición del cotiledón, del tizón del ápice y pudrición del epicótilo del chícharo.

Flentje y Hagedorn (1964) y Shehata et al. (1981), reportan a R. solani como agente causal de un atinzonamiento del ápice de plántulas, pudrición de semillas y pudrición del tallo del chícharo. En mayo de 1963 ocurrió en Wisconsin una epifitía severa, con temperatura ambiental de 28-32°C por cinco días consecutivos. Los meristemos apicales de las plántulas tenían apariencia de haber sido quemados, y uno o dos brotes secundarios de las plántulas se encontraron con los ápices quemados. Algunos síntomas concuerdan con los descritos por Richards y por Walker y Snyder según mencionan Flentje y Hagedorn (1964).

Por otra parte, Yang y Hagedorn (1968), encontraron que algunas variantes de Fusarium solani f. sp. phaseoli, obtenidas por irradiaciones ultravioletas, fueron más virulentas en chícharo que en frijol. Estas observaciones tienen implicaciones interesantes, pues, si dichos cambios ocurren en la naturaleza, entonces po-

drían aparecer nuevas formas del patógeno. Resultados similares obtuvo Clarkson (1978), al inocular con una cepa de Fusarium, aislada de chícharo, a otras plantas como trébol, alfalfa, etc., y menciona que si eso ocurre en el campo, las formas especiales (f. sp.) de Fusarium solani son cuestionables, debido a que los aislamientos probados no mostraron la especificidad de hospedante característica de las formas especiales verdaderas.

En cuanto a supervivencia, Rhizoctonia solani, permanece en el suelo por largos períodos de tiempo y puede atacar a las plántulas cuando las condiciones son favorables. Asimismo, este hongo puede sobrevivir como saprófito en el suelo por tiempo indefinido; no obstante, para causar infección los esclerocios o frangmentos de hifas deben germinar o empezar a crecer, ya que sólo las hifas resultantes al desarrollarse a través del suelo por varios milímetros forman un cojín de infección en la superficie del hospedante y penetran. Las plántulas por lo general son menos susceptibles con la edad. Reportes más recientes indican que R. solani puede ser transmitido por semillas y que puede introducirse a áreas nuevas de esta manera.

Este patógeno prefiere áreas altamente oxigenadas en la superficie del suelo, por lo que las partes de la planta que están cerca o en la superficie del suelo son las que tienen más posibilidades de ser atacadas.

Este hongo es más agresivo bajo condiciones templadas (24-30°C), y causan pérdidas económicas por muerte de plántulas cuando los

para patogenicidad, son fundamentales para el desarrollo de las enfermedades de esta leguminosa (Haglund, 1985). Las variedades cultivadas de chícharo difieren en sus reacciones a los distintos patógenos; asimismo, las diferentes razas o patotipos de los patógenos del chícharo difieren en su capacidad de ataque a una variedad dada.

Conociendo todo ésto, se han realizado numerosos trabajos tendientes al control de la pudrición del tallo, plántulas y semillas del chícharo. Esas investigaciones tratan varios tópicos, como son el control químico, biológico y cultural.

En 1968, Adams, Lewis y Papavizas, controlaron la pudrición de raíces por Fusarium en invernadero usando el bagazo de café que queda como residuo en la manufactura del café instantáneo.

Kommedahl y Windels (1978), señalan que existen varios trabajos que tratan de la aplicación de organismos a la semilla o al suelo que se quiere sembrar. Dichos organismos son en su mayoría, bacterias y hongos. Ellos probaron 100 organismos entre hongos y bacterias, mismo que aislaron de raíces y semillas de chícharo. Estos fueron probados como antagonicos de Fusarium solani y Rhizoctonia solani. Comprobaron que 37 de 41 hongos y 22 de 59 bacterias fueron antagonicos a uno, o a ambos patógenos.

El uso de diferentes clases de residuos de plantas y animales con medio para controlar poblaciones de Fusarium, fué llevado a cabo por Zakaria y Lockwood (1980), empleando paja de trigo, ce-

bada, maíz y soya. También pulpa de remolacha azucarera, harina de alfalfa, harina de lino, harina de semilla de algodón y harina de soya; además conchas de congrejo. Encontraron que las harinas de lino, semilla de algodón y de soya, redujeron la población de clamidosporas de Fusarium.

En la India, Maheswari et al. (1981), investigaron el efecto de varias prácticas culturales sobre la incidencia de la pudrición de raíz del chícharo. Los resultados muestran que el máximo rendimiento de grano y la mínima incidencia de la enfermedad se observó en la última fecha de siembra que fué del 1 al 15 de noviembre, cuando los riegos se dieron a intervalos de 21 días y la dosis de fósforo se aplicó a 60 kg/ha.

Por otro lado, Shehata et al. (1981), encontraron que tres variedades, cuatro líneas y una línea PI mostraron resistencia parcial, mientras que McCoy y Kraft (1984), localizaron una línea de mejoramiento (B77-634-4), dos líneas PI (189171, 197990) y a la variedad Dark Skin Perfection como "resistentes" a la pudrición de tallo por Rhizoctonia solani.

Para el caso de tratamiento de semillas, Windels (1981), demostró que los conidios de Penicillium oxalicum aplicados a la semilla son activos y la red de micelio resultante funciona como protector de la semilla, pero aparentemente los conidios sobre la superficie de la raíz en el suelo son los dominantes.

En 1982, Köller et al., llevaron a cabo una investigación cuyo

objetivo fué proteger al chícharo contra F. solani f. sp. pisi inhibiendo la cutinasa con insecticidas y fungicidas organofosforados. Los resultados obtenidos muestran que todos los productos probados evitaron la infección bajo condiciones controladas en bioensayos. Esto sólo resultó en tallos con la cutícula intacta, pues, los tallos con heridas fueron infectados. En otro trabajo, Mac Coy (1984), menciona que el fungicida Cloroneb protege adecuadamente a los cotiledones, epicótilo e hipocótilo del chícharo 'Dark Skin Perfection', no permitiendo su colonización por Rhizoctonia solani.

No se han reportado variedades de chícharo con altos niveles de resistencia pero varias introducciones de plantas (PI) y algunas líneas de mejoramiento tienen ciertos niveles de resistencia a R. solani. El tratamiento de la semilla con fungicidas, protege a ésta pero no al epicótilo (Kraft y Harman, 1985).

Actualmente no se cuenta con variedades resistentes a F. solani f. sp. pisi, aunque las variedades 'Wando' y 'Harol' que ya se cultivan un poco, son reportadas como tolerantes. No obstante, se espera obtener algunas variedades comerciales con resistencia aceptable en los próximos seis años.

La rotación de cultivos por cinco años consecutivos es otra alternativa de solución porque reduce significativamente la densidad del inóculo. Además la trilla adecuada del cultivo, en forma tal de evitar la compactación del suelo ayuda mucho a solucionar el problema que ocasiona F. solani f. sp. pisi.

MATERIALES Y METODOS

1. Lugares donde se realizó el trabajo.

Una parte del presente trabajo se llevó a cabo en 1987 en el laboratorio de Micología e invernaderos del Departamento de Parasitología Agrícola, y la otra, en el lote "Xaltepa" del Campo Experimental, ambos de la Universidad Autónoma Chapingo.

2. Aislamientos

De plantas enfermas de chícharo, provenientes del lote "Xaltepa" del Campo Experimental, se cortaron trocitos de las raíces y base del tallo que mostraban pudrición y se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 4% durante un minuto; después de ese tiempo, los trocitos se secaron con una toalla de papel y se transfirieron a cajas de Petri con papa-dextrosa-agar (PDA).

También se hicieron algunos aislamientos de semillas de plantas cosechadas en el mismo campo experimental. Para ello, las semillas se lavaron con agua destilada estéril y se colocaron posteriormente en cajas de Petri con PDA.

En ambos casos, dichas cajas se conservaron bajo condiciones de laboratorio a una temperatura que osciló entre los 18 y 22°C.

3. Pruebas de patogenicidad.

Para determinar el agente causal de cualquier enfermedad, es necesario el cumplimiento de los postulados de Koch. Por esta causa, después de los aislamientos se procedió a inocular los organismos aislados en plantas sanas para saber cual(es) reproducía(n) los síntomas típicos de la enfermedad. El procedimiento fue el siguiente:

3.1. Preparación del inóculo y método de inoculación.

El medio de cultivo empleado para la preparación del inóculo fué papa-dextrosa-agar (PDA), dispensado en cajas de Petri. En éstas se transifrieron discos de agar con cada uno de los organismos aislados y se dejaron crecer 10 días bajo condiciones de laboratorio. Después, se extrajo el contenido de las cajas con abundante crecimiento y/o esporulación y se molió en una licuadora por tres minutos a velocidad media, añadiendo, en tres ocasiones, agua destilada hasta completar 150 ml. Enseguida, la suspensión obtenida (organismo y medio de cultivo) se filtró a través de una manta de cielo para separar las partículas gruesas de agar. Por último, la suspensión resultante de tres cajas/organismo se aforó a 600 ml con agua destilad estéril. Para comprobar la presencia de conidios o fragmentos de micelio, se depositaron pequeñas gotas en portaobjetos y se hicieron observaciones al microscopio compuesto.

Las inoculaciones se hicieron al suelo previamente esterilizado con bromuro de metilo durante 24hr (Tuite, 1969), y

para el testigo se empleó agua destilada solamente, después de lo cual en cada caso se mezcló el inóculo. Al final se humedeció con agua corriente. El suelo así preparado se puso en macetas y se procedió a sembrar con semillas de chícharo de la misma variedad que resultó susceptible en el campo. También se sembró un testigo sin inocular. Por último, las macetas se colocaron en el invernadero a una temperatura media aproximada de 22°C, de acuerdo a lo recomendado por Clarkson (1978).

Debido a que se obtuvieron consistentemente dos hongos, uno de micelio pardo que no formó conidios, y el otro de micelio grisáceo que formó conidios, las inoculaciones se planearon como se indica a continuación:

Hongo de micelio pardo sin conidios.....	3 macetas
Hongo de micelio grisáceo con conidios.....	3 macetas
Hongo de micelio grisáceo+hongo de micelio pardo.	3 macetas
Testigo sin inocular.....	3 macetas

3.2. Reaislamientos

Los reaislamientos se hicieron de las plantas que resultaron infectadas, siguiendo la misma técnica descrita para los aislamientos. El medio de cultivo empleado también fue solamente PDA.

4. Identificación de los hongos crecieron en PDA, se tomaron pedacitos de agar con el hongo y se colocaron en portaobjetos, a

los que se les había puesto una gota de lactofenol azul. En seguida se les puso un cubreobjetos y se procedió a observarlos al microscopio compuesto para medir conidios y otras estructuras que permitieron su identificación.

5. Supervivencia de los patógenos en el campo.

Para llevar a cabo esta prueba, se tomaron muestras de suelo en el lote infestado "Xaltepa" del Campo Experimental de la U.A.CH. Esto se hizo durante todo un año, cada mes, a partir de septiembre de 1987 y hasta agosto de 1988. En cada ocasión se obtuvieron cinco muestras, las que posteriormente se mezclaron lo más uniformemente posible y dicho suelo se puso en tres macetas limpias y desinfestadas con hipoclorito de sodio al 4%. En cada maceta se sembraron semillas de chícharo lavadas y desinfestadas con hipoclorito de sodio al 4%.

6. Ensayo de control químico y biológico a nivel campo.

Para tratar de dar una solución rápida y de la mejor manera posible, se planeó un ensayo en el lote donde se presentó la enfermedad, incluyendo dos fungicidas comerciales, y como tratamientos de control biológico dos tipos de bagazos, uno de caña de azúcar y el otro de café.

Los tratamientos fueron los siguientes:

1. Terrazán. 10 g/surco de 5 m
2. Benomyl 2 g/surco de 5 m
3. Terrzán + Benomyl 5g+1g/surco de 5 m
4. Bagazo de café 1 kg/surco de 5 m

5. Bagazo de cafe 2 kg/surco de 5 m
6. Bagazo de caña de azúcar 1 kg/surco de 5 m
7. Bagazo de caña de azúcar 2 kg/surco de 5 m
8. Testigo sin tratamiento

Se utilizó un diseño experimental de bloque completos al azar con ocho tratamientos y cuatro repeticiones. Cada parcela experimental constó de cuatro surcos de 5 m de largo por 90 cm de ancho (total 18 m^2).

Para la aplicación de los tratamientos se requirió de un riego previo. Después se esparció en banda a lo largo del fondo del surco cada fungicida, o bagazo, tras lo cual se colocaron 100 semillas de chícharo por surco (400 semillas/parcela), y finalmente se tapó la semilla con tierra.

Durante el ciclo de cultivo sólo se practicaron escardas manuales a fin de no interferir la acción de los productos adicionados al suelo, ni causar heridas en las raíces, que sirvieran de entrada a algunos patógenos. Tampoco se asperjaron insecticidas o fungicidas al follaje porque la invasión de insectos e incidencia de hongos foliares fué muy baja.

7. Toma y análisis de datos.

Desde la emergencia de las plantas se llevó a cabo un registro de la población, el cual se dió por terminado a los 90 días, fecha en que las vainas habían llegado a su madurez comercial. Entonces, los datos, consistentes en números de plan-

tas muertas, enfermas y sanas, ademas del número de vainas producidas por estas últimas, se procesaron en computadora para conocer estadísticamente cuál había sido el efecto real de los diferentes tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Aislamientos

De 20 trocitos de raíces y base del tallo de plantas de chícharo enfermas, sembrados en medio de cultivo PDA, se desarrollaron colonias fungosas, algunas entremezcladas con bacterias. Las colonias podían distinguirse fácilmente por su color, del cual predominaron dos tipos, un azul grisáceo y el otro café claro. Al microscopio pudo observarse que en la primera colonia había macroconidios septados, (con septas transversales solamente), falcados, gruesos y con los extremos redondeados, hialinos; además había microconidios unicelulares, ovales y abundantes clamidosporas. La otra colonia creció rápidamente, pero el micelio no produjo conidios; sin embargo, debe hacerse notar que el micelio café al madurar estaba compuesto por hifas gruesas, septadas y ramificadas aproximadamente en ángulo recto, típicamente hinchadas en la base pero con una constricción en el punto de unión. Con estas características, se pudo concluir que se trataba de dos especies diferentes de hongos, la primera, del Orden Moniliales, familia Moniliaceae, o Tuberculariaceae y género Fusarium, y la segunda del grupo Mycelia Sterilia, género Rhizoctonia (Barnett y Hunter, 1972) (Fig. 1)

De acuerdo a Kraft y Harman (1985) y a Snyder (1935), la presencia de estos patógenos en el cuello y raíces podridos de plantas enfermas de chícharo es lógica, debido a que tales organismos son capaces de provocar la pudrición de esas par-

tes de las plantas (Fig. 2)

De las semillas, también se aislaron los mismos hongos, lo que quiere decir que, los patógenos mencionados pueden ser transmitidos por semilla.

2. Pruebas de patogenicidad.

Las plantas que se desarrollaron en el suelo inoculado con los dos hongos, empezaron a mostrar síntomas a partir del décimo día en algunos casos. Algunas plántulas en suelo inoculado con el micelio café, empezaron a mostrar síntomas en el hipocótilo y epicótilo. Las lesiones eran café rojizas y en unas plántulas el meristemo apical aparecía podrido. Las plantas que lograron escapar de una infección temprana, mostraron lesiones café rojizas en las raíces, cuello y pudriciones en la base del tallo, observándose como un estrangulamiento. Otro síntoma fué un achaparramiento notable.

Las plantas que crecieron en el suelo inoculado con el otro hongo, empezaron a mostrar síntomas en las raíces primarias y secundarias; éstos consistieron en franjas rojizas. El color externo de las raíces era café muy oscuro, casi negro, al igual que el del cuello y base del tallo. En la parte aérea, las plantas severamente atacadas mostraron follaje amarillento a grisáceo y muerte regresiva.

En ambos casos, las plantas que llegaban a producir fruto, lo hacían escasamente. Tres a ocho vainas pequeñas, algunas con dos a cinco semillas pequeñas, y otras vanas.

Las plantas en suelo inoculado con ambos hongos, mostraron en general síntomas similares y a veces mezclados. En ningún caso quedaron plantas sanas.

Estos síntomas coinciden con los descritos por Snyder (1935); Clarkson (1978); y por Jones (1923), para Fusarium solani (Mart.) Sacc. f. sp. pisi (Jones) Snyder y Hansen (1959). Así mismo, Kraft (1985) y Maheshwari et al. (1981), señalan que este patógeno es un serio problema en las áreas productoras de E.U.A. y de la India, respectivamente.

De la misma manera, los otros síntomas son similares a los descritos por McCoy y Kraft (1984); Shehata et al. (1981); y Flentje y Hagedorn (1964), para Rhizoctonia solani Kühn, causante de pudriciones de raíces de plántulas y de semillas.

Por otra parte, los síntomas reproducidos son distintos a los ocasionados por otros patógenos como Pseudomonas syringae pv pisi, que provoca una pudrición en las partes subterráneas con manchas brillantes y acuosas compuestas de células bacterianas, que se ponen oscuras y finalmente necróticas (Reiling, 1985), o bien con Fusarium oxysporum Schlech. emend. Snyd. y Hans. f. sp. pisi (van Hall) Snyd. y Hans. (1959), que causa una marchitez del chícharo, caracterizada por achaparramiento y clorosis del follaje, grietas en las raíces y coloración café rojiza en los vasos del xilema.

También difieren de los síntomas producidos por Aphanomyces euteiches Drechs., ya que éste causa, en las raíces, lesiones de aspecto acuoso, grises, rosadas y finalmente casi negras, las cuales sólo afectan a los tejidos de la corteza. Esto último puede corroborarse arrancando una planta enferma; en este caso, todo lo que se obtiene del sistema radical es el cilindro central, porque, obviamente la corteza podrida pierde cohesión con el tejido xilemático, se desprende fácilmente de él y queda en el suelo. Otra forma de cerciorarse de que las raíces han sido atacadas por A. euteiches es la observación del tejido dañado al microscopio. Si éste ha sido el patógeno, podrán descubrirse numerosas esporas, típicas del hongo: oosporas de paredes gruesas, formadas en oogonios globosos, previamente fertilizados por anteridios ramificados.

2.1. Reaislamientos

Debido a que todas las plantas inoculadas mostraron síntomas, se tomaron dos al azar de cada tratamiento (total ocho) para hacer reaislamientos con la técnica descrita en materiales y métodos. El resultado fué que de los 16 trocitos de raíces y base del tallo, se recuperaron los mismos tipos de hongos inoculados, a juzgar por los micelios, uno grisáceo y otro café, y por las fructificaciones del primero: macroconidios producidos es esporodoquio, curvados, en forma de canoa; y por la ausencia de fructificaciones del segundo, pero con micelio grueso y ramificación hifal aproximadamente en ángulo recto, y constricciones en su base. (Fig. 1).

3. Identificación de los hongos reaislados

De acuerdo a las claves de hongos imperfectos de Barnett y Hunter (1972), los hongos reaislados pertenecen, uno al Orden Moniliales, familia Moniliaceae y género Fusarium y el otro, al grupo Mycelia Sterilia y género Rhizoctonia, o sea que los hongos inoculados reprodujeron los síntomas típicos de la enfermedad y fueron recuperados mediante aislamientos en PDA, tal y como sucedió con los aislamientos originales.

4. Supervivencia de los patógenos en el campo.

De los aislamientos que se hicieron de plantas que crecieron en suelo infestado del Campo Experimental de la U.A.CH., se obtuvieron consistentemente ambos patógenos F. solani f. sp. pisi y Rhizoctonia solani. Aún cuando la duración del muestreo fué de un año, cada mes se obtenían estos hongos.

Estos resultados concuerdan con los reportados por Kraft (1985), que menciona a las clamidosporas como las estructuras de supervivencia de F. solani f. sp. pisi en suelo infestado naturalmente. También señala que se necesita una rotación de cultivos en la cual no se siembre chícharo por lo menos durante cinco años para aminorar la incidencia. De ahí se puede deducir la presencia de este hongo durante todo el año en que se hicieron los aislamientos.

De manera similar, R. solani se aisló durante todo el año, condición que reportan Papavizas y Davey (1961) y Kraft y Harman (1985). Estos autores mencionan que Rhizoctonia es un hongo habitante del suelo que sobrevive por largos períodos, llevando

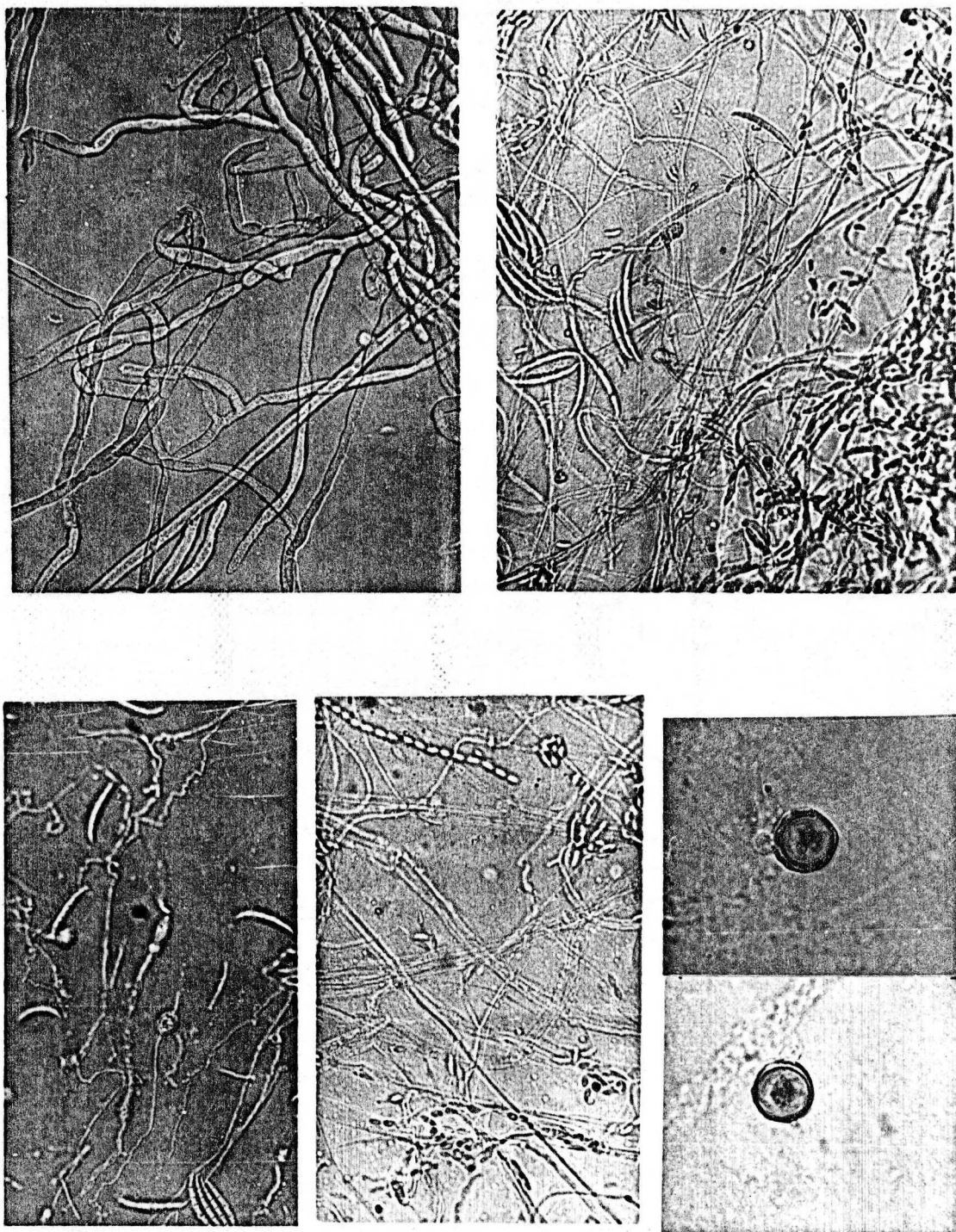


Figura 1. Hongos aislados de plantas de chícharo con pudrición de raíz y base del tallo; 1. Rhizoctonia solani, 2. Fusarium solani f. sp. pisi; 3. Fusarium roseum; 4. Fusarium moniliforme y 5. Pythium ultimum.

una actividad saprofítica en ausencia del hospedante, compitiendo por la materia orgánica del suelo y así puede permanecer indefinidamente. Esas condiciones aportan pruebas suficientes para explicar la presencia continua de R. solani durante el año en que se llevó a cabo este ensayo.

Por otro lado, anteriormente se mencionó que en las pruebas de patogenicidad se aislaron ambos hongos de las plantas que crecieron en suelo no inoculado. Esto significa que esos patógenos se transmiten por semilla, lo que está de acuerdo con lo consignado por Kraft y Harman (1985), quienes hacen referencia a reportes recientes que indican que R. solani puede transmitirse por semilla y ser introducido a nuevas áreas. Aunque no mencionan directamente a F. solani f. sp. pisi, sí se detalla que F. oxysporum f. sp. pisi tiene un amplio rango de formas de transmitirse, incluso por semilla, por lo que puede asumirse que este fenómeno ocurrió en este caso con F. solani (Haglund, 1985), que, al igual que F. oxysporum, produce clamidosporas.

5. Control químico y biológico

Considerando la efectividad de algunos métodos de control para F. solani en chícharo y frijol (Kommedahl y Windels, 1978; Zakaria y Lockwood, 1980; Maheshwari et al. 1981; van Assche y Uyttebroeck, 1981; Windels, 1981; Köller et al., 1982), y considerando la severidad de la enfermedad, se ensayaron algunos productos en el campo.

5.1, Efecto de los tratamientos con base en el número de plantas enfermas.

Los resultados, tomando en cuenta el número de plantas enfermas para cada tratamiento, tomados a los 90 días después de iniciado el ensayo, pueden verse en el Cuadro 1. Los números por repetición indican las plantas enfermas de un total de 200, lo que dá un total de 800 plantas por tratamiento.

El análisis de varianza efectuado a esta variable (Cuadro 3, Apéndice) muestra que hubo una diferencia altamente significativa entre tratamientos, a un nivel de significancia (α) del 0.05.

Una vez comprobada la diferencia entre tratamientos, se procedió a realizar la prueba de Tukey para medias debido a que se cuenta con una escala fuerte (Infante y Zárate, 1985), mediante la ecuación:

$$w = q(a, fe) \bar{S}_y$$

w = valor crítico de Tukey

donde:

$$\bar{S}_y = \sqrt{CME/n}$$

CME: cuadrado medio del error

n: número de repeticiones

q : valor de la tabla del rango estudentizado

a : número de tratamientos

fe: grados de libertad del error

En este caso $w = 249,595$, y es utilizado como valor de comparación entre las medias de los tratamientos. La comparación se muestra en el Cuadro 2,

El Cuadro 1, presenta al Terrazán mas Benlate como el mejor de los tratamientos (282 plantas enfermas contra 591 y 543 correspondientes al Benlate y Terrazán solos, respectivamente). Según la literatura, el Terrazán (PCNB o Pentacloroni-trobenceno) es un fungicida de contacto que se aplica a la semilla o en el surco para proteger contra Rhizoctonia solani (Sharvelle, 1961; Mc Cain, 1967). También, el Benlate o Benomyl aplicado al suelo es efectivo contra R. solani, con la ventaja de que puede ser absorbido por las raíces y su efecto protector es más duradero (Maude, 1977). Además, como el Benlate controla satisfactoriamente varias especies de Fusarium, los resultados confirman que el terreno donde se llevó a cabo el experimento estaba igualmente infestado por R. solani que por F. solani f. sp. pisi, y que su acción conjunta fué aditiva. No se logró un porcentaje de control más alto porque seguramente se hizo una sola aplicación y las raíces al crecer quedaron desprotegidas, mientras los hongos invadían al suelo una vez que los fungicidas perdían su poder germicida después de los 15 a 30 días de ser aplicados.

Algunos autores (Harper, 1968; Natti y Crosier, 1971), han logrado incrementar el porcentaje de emergencia con Captán, fungicida que es efectivo contra especies de Pythium y otros Phycomycetes, que bajo condiciones de alta humedad pueden cau-

Cuadro 1. Control de la pudrición de la raíz y base del tallo mediante la aplicación de fungicidas, bagazo de caña de azúcar y bagazo de café al momento de la siembra. Chapingo, Méx., 1988.

TRATAMIENTOS	Repeticiones*				TOTAL
	I	II	III	IV	
1. Terrazán	125	161	130	127	543
2. Benlate	133	148	170	140	591
3. Terrazán + Benlate	36	80	115	51	282
4. Bagazo de café 1kg/s	127	150	144	165	586
5. Bagazo de café 2kg/s	162	133	174	156	625
6. Bagazo de caña 1kg/s	107	150	128	160	545
7. Bagazo de caña 2kg/s	185	179	170	132	666
8. Testigo	162	179	147	144	632

* Cada repetición consta de 200 plantas, total por tratamiento: 800.

Cuadro 2. Comparación de medias del número de plantas enfermas por tratamiento, mediante la prueba de Tukey.

TRATAMIENTOS	Medias	
Terrazán + Benlate	282	a*
1. Terrazán	543	b
6. Bagazo de caña 1kg/s	545	b
4. Bagazo de café 1kg/s	586	b c
2. Benlate	591	c
5. Bagazo de café 2 kg/s	625	c d
8. Testigo	632	d
7. Bagazo de caña 2 kg/s	666	d

* Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales a un nivel de significancia = 0.05.

sar ahogamiento pre o postemergente, Maude (1977) añade, que aparentemente los hipocótilos y las bases de los tallos bajo tierra, pueden protegerse efectivamente de la invasión de R. solani con aplicaciones al suelo, aunque es más eficaz la aplicación de los fungicidas sistémicos a la semilla. También señala que no se ha demostrado si los compuestos actúan como protectores externos inhibiendo el crecimiento del hongo en el suelo o si la presencia de los fungicidas en el sistema vascular de las plántulas y plantas adultas sea el motivo que impide la penetración fungosa a los tejidos del hipocótilo y base del tallo.

En cuanto a los bagazos, Zakaria y Lockwood(1980), afirman que algunos residuos vegetales, como el del café y caña de azúcar, reducen las poblaciones de varias especies de Fusarium, mientras que otros, como la cebada, no tienen esa capacidad. R. solani es fuertemente afectada por las concentraciones altas de CO₂ que resultan de la descomposición de los bagazos, mientras que la celulosa presente en éstos incrementa el nivel de fungistasis en el suelo provocando una reducción en la pudrición de raíces por Fusarium (Adams et al., 1968).

La eficiencia relativa de los tratamientos de Benlate (591 plantas enfermas de 800), y los bagazos de café y caña de azúcar a dosis de 2kg/surco (625 y 666 plantas enfermas, respectivamente, de un total de 800 en cada caso), puede deberse a una mala aplicación, a las condiciones de humedad del suelo u otras causas no controlables.

5.2. Efecto de los tratamientos con base en el número de vainas sanas.

De la misma manera que en las plantas enfermas, los resultados del número de vainas presentes para cada tratamiento tomados a los 90 días después de iniciado el experimento, pueden verse en el Cuadro 4. Cada repetición constaba al momento de la siembra de 200 semillas y ésto da un total de 800 plantas por tratamiento (contando las cuatro repeticiones y 100% de germinabilidad de las semillas).

El análisis de varianza calculado para esta variable se muestra en el Cuadro 6 (Apéndice). En éste se observa que hubo una diferencia altamente significativa entre tratamientos, a un nivel de significancia de 0.05.

Por presentar diferencias entre tratamientos, se llevó a cabo la prueba de Tukey para medias, de la misma manera que se hizo para la otra variable.

Esta vez se obtuvo una $w = 249.595$, valor crítico de Tukey para comparación entre medias de los tratamientos. Dicha comparación se muestra en el Cuadro 5.

Al igual que para la variable número de plantas sanas, el tratamiento con el cual se obtuvo mayor rendimiento, por la mayor cantidad de vainas sanas, fué el de Terrazán mas Benlate, porque con éste el número de plantas fué mayor, con porte más alto, vigoroso y productivo (Fig. 2).

Cuadro 4. Número de vainas sanas por tratamiento en el ensayo de control químico y biológico de la pudrición de raíz y base del cuello de chícharo. Chapingo, Méx. 1988.

TRATAMIENTOS	Repeticiones*				Total
	I	II	III	IV	
1. Terrazán	498	258	355	432	1543
2. Benlate	556	424	396	582	1958
3. Terrazán + Benlate	812	480	930	814	3036
4. Bagazo de café 1 kg/s	216	244	534	592	1586
5. Bagazo de café 2 kg/s	324	654	254	468	1700
6. Bagazo de caña 1 kg/s	506	300	128	410	1344
7. Bagazo de caña 2 kg/s	130	163	386	580	1259
8. Testigo	247	266	360	456	1329

* Cada repetición consta de 200 plantas; total por tratamiento: 800.

Cuadro 5. Comparación de medias del número de vainas sanas por tratamiento mediante la prueba de Tukey.

TRATAMIENTOS	Medias	
3. Terrazán + Benlate	3036	a*
2. Benlate	1958	b
5. Bagazo de café 2 kg/s	1700	c
4. Bagazo de café 1 kg/s	1586	c d
1. Terrazán	1543	c d e
6. Bagazo de caña 1 kg/s	1344	d e f
8. Testigo	1329	e f
7. Bagazo de caña 2 kg/s	1259	f

* Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales a un nivel de significancia de 0.05.

En este ensayo el Benlate aparece como el segundo mejor tratamiento, debido a que su naturaleza sistémica le permitió proteger a las plantas por un tiempo más prolongado contra F. solani y R. solani.

Los tratamientos de bagazo de café en ambas dosis se comportaron estadísticamente iguales, aunque en este caso el rendimiento fué casi el 50% menor que el tratamiento más eficiente (Benlate mas Terrazán). No obstante, en determinados casos pudiera utilizarse como alternativa, particularmente para productores de escasos recursos, lo que les permitiría un ingreso moderado en vez de perder la producción.

La celulosa presente en los residuos de café reduce la pudriciones causadas por Fusarium solani (Adams et al., 1968); sin embargo, su efecto es muy variable, porque depende de la microflora presente en el suelo. Para este experimento se utilizó un terreno areno limoso donde la microflora no es abundante y, por lo tanto, el resultado regular que se obtuvo parece lógico y sugiere que en plantaciones comerciales podría mejorarse adicionando algunos hongos, bacterias y actinomicetes productores de antibióticos.

Los resultados obtenidos con el Terrazán solo pueden calificarse de pobres, y su explicación puede ser la siguiente: este fungicida no es sistémico y es específico contra Rhizoctonia spp., así que su duración en el suelo fué corta y después de

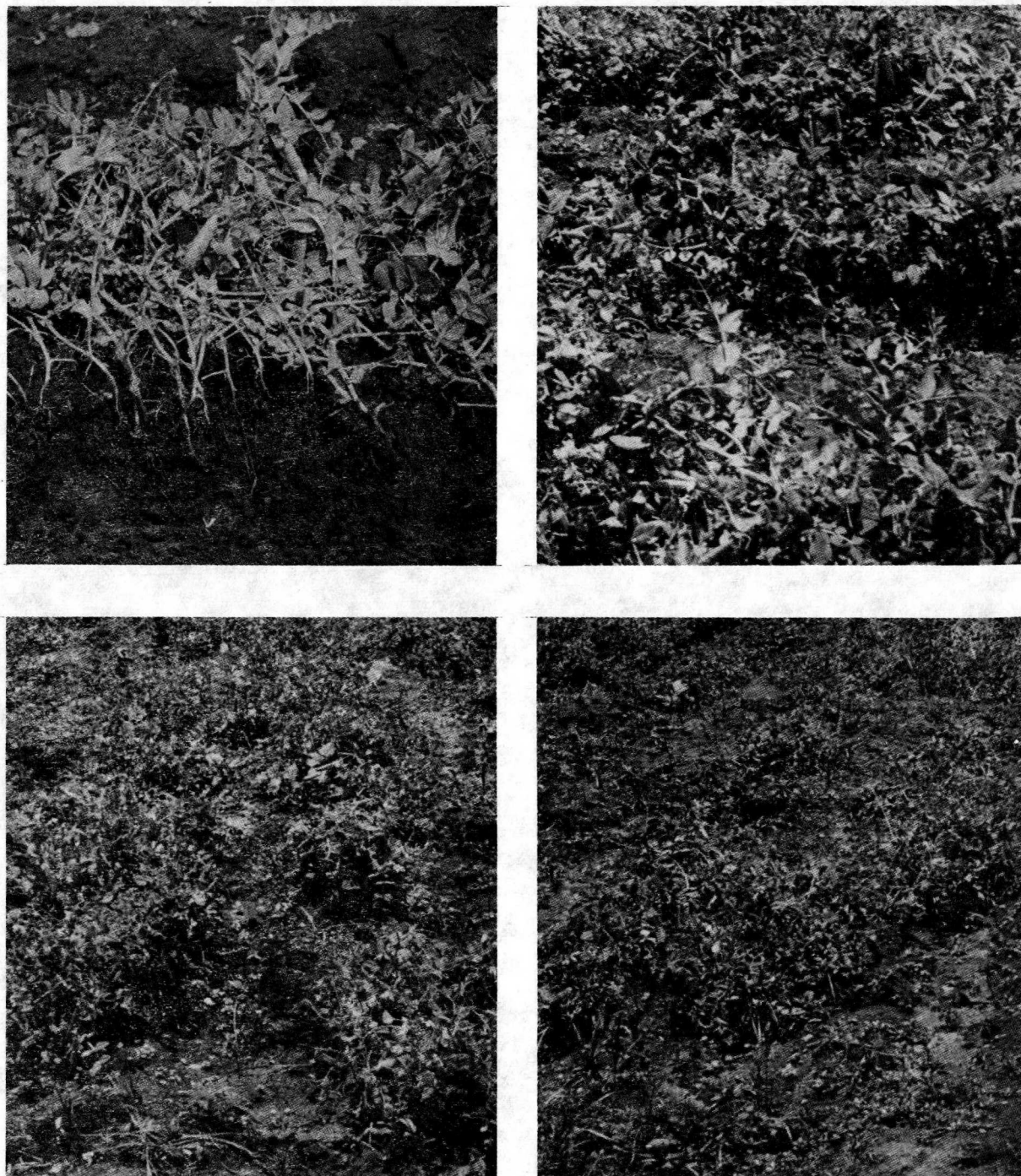


Figura 2. Daños por pudrición de la raíz y base del tallo del chícharo, y efecto de algunos tratamientos: 1. Daños en 1987; 2. Terrazán mas Benlate; 3 Benlate y 4. Testigo.

haberse quitado competidor a solani f. sp. pisi, éste tuvo oportunidad de aumentar su población y causar mucho daño. También puede observarse que el tratamiento bagazo de caña de azúcar no funcionó, incluso el rendimiento fué menor que el del testigo. En este caso se puede advocar nuevamente a la microflora del suelo. Seguramente, éste carece de la población antagónica apropiada y como el bagazo de caña es rico en sacarosa y glucosa, sustratos que aprovechan muy bien varios hongos, entre ellos, R. solani y F. solani f.sp. pisi, los resultados tuvieron que ser negativos (Lilly y Barnett, 1950).

El aspecto que mostraban las plantas de los diferentes tratamientos mencionados puede observarse en las Figuras 2B, C y D. En ella, se puede notar que las plantas del tratamiento Benlate mas Terrazán crecieron más vigorosas y produjeron mayor número de vainas que en los otros tratamientos.

A pesar de los resultados obtenidos en este experimento con bagazo de café y bagazo de caña de azúcar, que pueden calificarse de medianamente satisfactorios, su contribución al control biológico de microorganismos fitopatógenos del suelo es muy importante. En México. Olivas y Romero (1972), demostraron que el bagazo de caña de azúcar ayuda a controlar la pudrición seca de la raíz del frijol, causada por F. solani f. sp. phaseoli y, Núñez y Romero (1980), lograron resultados satisfactorios con bagazo de café en contra de F. roseum,

causante principal de la dormilona del clavel en Villa Guerrero, Edo. de México; asimismo, Sequeira (1962), reporta que logró eliminar del suelo a F. oxysporum f. sp. cubense con la incorporación de sacarosa, glucosa, o bagazo de caña de azúcar. En consecuencia, un gran número de materiales orgánicos son buenos sustratos para el crecimiento, esporulación y producción de antibióticos de microorganismos del suelo, pero no todos ellos son igualmente efectivos contra una determinada especie, lo que implica un estudio previo de la microflora, selección de los microorganismos más productores de antibióticos y pruebas in vitro, contra los organismos patógenos prevalentes en el suelo donde se desee establecer un cultivo determinado. A nivel práctico esto no es fácil, pero deben redoblarse esfuerzos para evitar contaminación, salvaguardando la ecología, y ofrecer al agricultor medidas de control fáciles de aplicar y, sobretodo, económicas.

Otra consideración que deriva de este Experimento se relaciona con la época de aplicación de los materiales orgánicos. Adams et al. (1968), reportan que el mayor decremento de pudrición de raíz ocurrió en el tratamiento bagazo de café aplicado siete días antes de la siembra. Su interpretación fué en el sentido de que, la utilización del sustrato por los microorganismos del suelo, permitió el crecimiento de los que son capaces de alimentarse de celulosa y producir antibióticos, como Chaetomium spp. y Bacillus spp., de tal manera que al germinar la semilla, la densidad de inóculo de Fusarium sp. había decrecido sensiblemente.

Obviamente, en el presente trabajo, en el que la aplicación del bagazo se hizo al momento de la siembra, para cuando la serie de eventos anteriores tuvo lugar, un gran número de clamidosporas y macroconidios ya había germinado e infectado las raíces de varias plantas. Por lo tanto, éste es otro aspecto digno de tomarse en cuenta para futuros trabajos, enfocados al control biológico de microorganismos fitopatógenos.

5.3. Aislamientos de microorganismos presentes en plantas de chícharo con pudrición de raíz y base del tallo.

Finalmente, como a través del Experimento se hicieron aislamientos para corroborar la presencia de F. solani f. sp. pisi y R. solani en plantas enfermas; y no sólo aparecieron estos hongos, sino además F. roseum, F. moniliforme, Pythium ultimum (Fig. 1) utilizando PDA y Jugo de tomate-Agar, será conveniente para resolver satisfactoriamente el problema de desinfestación del Campo Experimental "Xaltepa" de Chapingo, Méx. llevar a cabo un trabajo de control integrado, incluyendo un mayor número de materiales orgánicos, solos o en mezcla, algunos organismos antagónicos y fungicidas (Munnecke, 1972), tales como Captán y Arasán, que no son caros y sí efectivos contra varias especies de Phycomycetes. Adicionalmente, habrán de buscarse variedades tolerantes y probar diferentes fórmulas de fertilización, cuyo efecto varía de acuerdo a su relación N:P:K (Walker, 1957).

CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo permiten concluir que:

1. Los microorganismos responsables de la pudrición de las raíces y base del tallo del chícharo, recientemente observada en el lote "Xaltepa" del campo Experimental de la U.A.CH. son Fusarium solani (Mart.) Sacc. f. sp. pisi (Jones) Snyder y Hans. y Rhizoctonia solani Kühn.
2. F. solani f. sp. pisi y R. solani sobreviven en el suelo saprofíticamente por lo menos de un ciclo de cultivo al siguiente.
3. El tratamiento que permitió menos pudrición de raíz y base del tallo fué Terrazán mas Benlate (64% plantas sanas).
4. Con los bagazos de café y caña se obtuvo un control relativamente bajo (32 y 30%, respectivamente) tal vez porque se incorporaron al momento de la siembra y no por lo menos siete días antes.
5. El Lote X-19 del Campo Experimental "Xaltepa" no sólo está infestado por F. solani f. sp. pisi y R. solani sino también por F. roseum, F. moniliiforme y Pythium ultimum.

LITERATURA CITADA

- ADAMS, P.B., J.A. LEWIS and G.C. PAPAIVIZAS. 1968. Survival of root-infecting fungi in soil. IV. The nature of fungistasis in natural and cellulose-amended soil on chlamydospores of Fusarium solani f. sp. phaseoli. Phytopathology 58(3):378-383.
- ADAMS, P.B., G.C. PAPAIVIZAS and J.A. LEWIS. 1968. Survival of root-infecting fungi in soil. III. The effect of cellulose amendment on chlamydospore germination of Fusarium solani f. sp. phaseoli in soil. Phytopathology 58(3):373-377.
- ADAMS, P.B., J.A. LEWIS and G.C. PAPAIVIZAS. 1968. Survival of root-infecting fungi in soil. IX. Mechanism of control of Fusarium rootrot of bean with spent coffee grounds. Phytopathology 58(12):1603-1608.
- AGRIOS, G.N. 1978. Plant Pathology. Academic Press, Inc. N.Y.
- BARNETT, H.L. and B.B. HUNTER. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Co. Minneapolis, Minnesota.
- BRAVO, N. 1987. Comunicación personal. Dpto. de Suelos, U.A.CH Chapingo, Méx.
- BURKE, D.W. and J.M. KRAFT. 1974. Responses of beans and peas to root pathogens accumulating during monoculture of each crop species. Phytopathology 64(4):546-549.
- CLARKSON, J.D.S. 1978. Pathogenicity of Fusarium spp. associated with foot-rots of peas and beans. Plant Pathology 27:110-117.
- COOK, R.J. and N.T. FLENTJE. 1967. Chlamydospore germination and germling survival of Fusarium solani f. sp. pisi, in soil as affected by soil water and pea seed exudation. Phytopathology. 57(2):178-182.
- CHUPP, C. and A.F. SHERF. 1960. Vegetable diseases and their control. The Ronald Press Co. N.Y.
- FLENTJE, N.T. and D.J. HAGEDORN. 1964. Rhizoctonia tip blight and stem rot of pea. Phytopathology 54 (7):788-791.
- HAGLUND, W.A. 1985. Fusarium wilts. In.: Compendium of pea diseases. D.J. HAGEDORN, ed. American Phytopathological Soc. St. Paul Minnesota.
- HALFACRE, R.G. y J.A. BARDEN. 1984. Horticultura. AGT. Editor S.A. México. 1a. edición.

- HARPER, F.R. 1968. Control of root rot in garden peas with a soil fungicide. *Plant Disease Reptr.* 52:565.
- INFANTE, S. Y ZARATE, G. 1984. Métodos estadísticos. Un enfoque interdisciplinario. Ed. Trillas, México. 1a. Edición.
- JONES, F.R. 1923. Stem and root rot of peas in United States caused by species of Fusarium. *Jour. Agric. Res.* 26(10):459-476.
- KAY, D.E. 1979. Legumbres alimenticias. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 1a. ed.
- KOLLER, W., C.R. ALLAN and P.E. KOLATTUKUDY. 1982. Protection of Pisum sativum from Fusarium solani f. sp. pisi by inhibition of cutinase with organophosphorus pesticides. *Phytopathology* 72(II):1425-1430.
- KOMMEDAHL, T. and C.E. WINDELS. 1978. Evaluation of biological seed treatment for controlling root disease of pea. *Phytopathology* 68(7):1087-1095.
- KRAFT, J.M. 1985. Fusarium root rot. In: Compendium of pea diseases. D.J. Hagedorn, ed. American Phytopathological Soc. St. Paul, Minnesota pp 30-31.
- KRAFT, J.M. and G.E. HARMAN. 1985. Rhizoctonia solani seedling rot In: Compendium of pea diseases, D.J. Hagedorn, ed. American Phytopathological Soc. St. Paul Minnesota.
- LILLY, V.G. and H.L. BARNETT. 1951. Physiology of the Fungi. Mc Graw-Hill Book Co. Inc. New York, Toronto, London.
- Mc CAIN, A.H. 1967. Chemicals for plant disease control. Agricultural Extension, University of California, Berkeley, Cal.
- Mc COY, R.J. and J.M. KRAFT. 1984. Comparison of techniques and inoculum sources in evaluating peas (Pisum sativum) for resistance to stem rot caused by Rhizoctonia solani. *Plant Disease* 68(1):53-55.
- Mc COY, R.J. and J.M. KRAFT. 1984. Resistance in Pisum sativum to epicotyl rot caused by Rhizoctonia solani. *Plant disease* 68(6):491-493.
- MAHESHWARI, S.K., J.S. GUPTA and J.S. JHOOTY. 1981. Effect of various cultural practices on the incidence of the wilt and root rot of pea. *Indian J. Agric. Res.* 15(3):149-151.
- MATZ, J. 1917. A Rhizoctonia of the fig. *Phytopathology* 7:110-118.
- MAUDE, R.B. 1977. Results in practice. III Vegetable crops. In Systemic fungicides. R.W. Marsh, ed. Longman Ltd. London and New York pp 259-273.

- MUEHLBAUER, F.J. and J.M. KRAFT. 1978. Effect of the pea seed genotype on preemergence damping-off and resistance to Fusarium and Pythium root rot. *Crop Science* 18(2):321-323.
- MUNNECKE, D.E. 1972. Factors affecting the efficacy of fungicides in soil. *Ann. Rev. Phytopath.* 62(10):375-398.
- NATTI, J.J. and D.C. CROSIER. 1971. Seed and soil treatments for control of bean root rots. *Pl.Dis.Reptr.* 55-483.
- NÚÑEZ C., R.D. y S. ROMERO C. 1980. Estudio sobre control biológico de Fusarium roseum (L.K.) Snyder & Hansen, causante principal de la "dormilona del clavel" en Villa Guerrero Edo. de México. *Agrociencia* No. 39. Colegio de Postgraduados, Chapingo, Méx.
- OLIVAS E., E. y S. ROMERO C. 1972. Estudio sobre el control biológico de Fusarium solani f. sp. phaseoli. *Agrociencia* No. 9. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Méx.
- PAPAVIZAS, G.C. and C.B. DAVEY. 1961. Saprophytic behavior of Rhizoctonia in soil. *Phytopathology* 51(10):693-766.
- PAPAVIZAS, G.C. and C.B. DAVEY. 1962. Activity of Rhizoctonia in soil as affected by carbon dioxide. *Phytopathology* 52(8): 759-766.
- PAPAVIZAS, G.C., J.A. LEWIS and P.B. ADAMS. 1968. Survival of root-infecting fungi in soil. II. Influence of amendment and soil carbon-to-nitrogen balance of Fusarium root rot of beans. *Phytopathology* 58(3):365-372.
- REILING, T. P. 1985. Bacterial blight. In: *Compendium of pea diseases*. D.J. Hagedorn, ed. American Phytopathological Soc. St. Paul, Minnesota. U.S.A.
- SEQUEIRA, I. 1962. Influence of organic amendments on survival of Fusarium oxysporum f. sp. cubense in the soil. *Phytopathology* 52:976-982.
- SHARVELLE, E.G. 1961. *Modern fungicides*. Burgess Pub. Co. Minneapolis, Minnesota. U.S.A.
- SHEHATA, M.A., D.W. DAVIS and N.A. ANDERSON. 1981. Screening peas for resistance to stem rot caused by Rhizoctonia solani. *Plant disease* 65(5):417-419.
- SNYDER, W.C. 1935. St. John's disease of pea in Europe. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde and Infektionskrankheiten. Abt. II* 91: 449-459. Reimpreso R-983, Univ. Autónoma Chapingo.
- SNYDER, W.C. and H.N. HANSEN. 1959. The taxonomy of the genus Fusarium. Translated from: C.M. Messiaen. *Revue de Patologie et d'Entomologie Agricole de France*. I. XXXVIII. 253-266.

- STONE, R.E. 1923. Root rot and blight of canning peas. *Phytopathology* 13(6):293.
- TUITE, J. 1969. Plant pathological methods. Fungi and bacteria. Burgess Pub. Co., Minneapolis, Minnesota U.S.A.
- VAN ASSCHE, C. and P. UYTTEBROECK. 1981. The influence of domestic waste compost on plant diseases. *Acta Horticulturae* No. 126, 169-178.
- WALKER, J.C. 1957. Plant Pathology McGraw-Hill Book Co. New York, Toronto, London.
- WINDELS, C.E. 1981. Growth of Penicillium oxalicum as a biological seed treatment on pea seed in soil. *Phytopathology* 71(9):929-933.
- YANG, S.M. and D.J. HAGEDORN. 1968. Cultural and pathogenicity studies of induced variants of bean and pea root rot Fusarium species. *Phytopathology* 58(5):639-643.
- ZAKARIA, M.A. and J.L. LOCKWOOD. 1980. Reduction in Fusarium populations in soil by oilseed meal amendments. *Phytopathology* 70(3):240-243.

A P E N D I C E

Cuadro 3. Análisis de varianza del Cuadro 1.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.c.	F.t.
Tratamientos	7	25016.87	3573.8386	8.268	2.023**
Bloques	3	1981.62	660.54		
Error	21	9076.38	432.2085		
Total	31	36074.87			

Nivel de significancia = 0.05

F_{21}^7

Cuadro 6. Análisis de varianza para el número de vainas sanas por tratamiento (Cuadro 4).

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	Ft.
Tratamientos	7	586239.95	83748.564	3.823	2.488**
Bloques	3	156905.08	52301.693		
Error	21	459993.19	21904.438		
Total	31	1203138.20			

Nivel de significancia = 0.05

MEDIOS DE CULTIVO

1. Papa-Dextrosa-Agar (PDA)

1.1. Ingredientes

Papas peladas y partidas	200 g
Dextrosa.....	20 g
Agar.....	20 g

1.2. Preparación:

Se cuecen las papas peladas y partidas en 500 ml de agua destilada por una hora (15 min. en autoclave). Simultáneamente se disuelve el agar en 500 ml de agua destilada. Después de cocidas las papas se cuela el líquido a través de tela de gasa (tela quesera) y se agrega el agar; enseguida se añade la dextrosa, se completa a 1000 ml con agua destilada y se agita para obtener una mezcla homogénea. La esterilización se puede llevar a cabo en autoclave, o una olla express 15 lb de presión por 20 min.

2. Jugo de tomate-Agar (JTA)

2.1. Ingredientes:

Jugo de tomate.....	.70 ml
Carbonato de calcio.....	0.7 g
Agar.....	20 g
Agua destilada.....	1000 ml

2.2. Preparación

Se mezcla el jugo de tomate con el carbonato de cal-

cio y se deja reaccionar por 5 min; después de este tiempo se centrifuga la mezcla a 3000 rpm por 3 min. El sobrenadante se añade el aguar licuado (a fuego lento, o en autoclave por 5 min) en un matraz con 500 ml de agua destilada, se completa a 1000 ml con agua destilada y se esteriliza en autoclave u olla express a 15 lb por 20 min.