

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA
MAESTRIA EN PROTECCION VEGETAL



DIRECCION ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

ENFERMEDADES DEL GLADIOLO (*Gladiolus grandiflorus* Hort.) EN LAS PRINCIPALES REGIONES FLORICOLAS DE MEXICO

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

EN PROTECCION VEGETAL

P R E S E N T A:

JESUS GONZALEZ LOPEZ



CHAPINGO, MEXICO.

JULIO 1995

DX63717
-102686

ESTA TESIS FUE REALIZADA BAJO LA DIRECCION DEL COMITE ASESOR
INDICADO, HA SIDO APROBADA POR EL MISMO Y ACEPTADA COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

EN

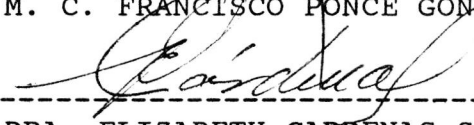
PROTECCION VEGETAL

PRESIDENTE



M. C. FRANCISCO PONCE GONZALEZ

ASESOR



DRA. ELIZABETH CARDENAS SORIANO

ASESOR



DR. HECTOR LOZOYA SALDAÑA

CHAPINGO, MEXICO, JULIO DE 1995

27891

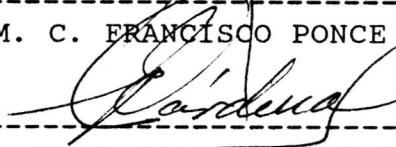
EL JURADO DEL EXAMEN DE GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS EN
PROTECCION VEGETAL, ESTUVO CONSTITUIDO POR:

PRESIDENTE



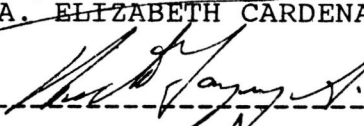
M. C. FRANCISCO PONCE GONZALEZ

ASESOR



DRA. ELIZABETH CARDENAS SORIANO

ASESOR



DR. HECTOR LOZOYA SALDAÑA

REPRESENTANTE DE LA
COORDINACION DE POSGRADO
EN PROTECCION VEGETAL



M. C. CECILIO MENDOZA ZAMORA

REPRESENTANTE DE LA
COORDINACION GENERAL DE
ESTUDIOS DE POSGRADO DE
U. A. Ch.



M. C. JUAN FERNANDO SOLIS AGUILAR

CADA UNO DE LOS CUALES REVISO Y APROBO LA TESIS PRESENTADA

CHAPINGO, MEXICO, JULIO DE 1995

AGRADECIENTOS

A la Univeridad Autónoma Chapingo y en especial al Dpto. de Parasitología Agrícola donde realice los estudios de Licenciatura y por brindarme nuevamente las facilidades para la realización de los estudios de posgrado.

A la D. G. E. T. a. y al C. B. T. A. 107 por los apoyos recibidos para los presentes estudios.

Al Programa de Fitopatología del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Posgraduados, por las facilidades brindadas en sus laboratorios, y al apoyo de sus investigadores.

A la Dra. Elizabeth Cárdenas, al M. C. Francisco Ponce González y al Dr. Hector Lozoya, por su ayuda en la dirección del presente trabajo y facilidades dadas para su elaboración;

Al Dr. Leopoldo Fucikovsky por sus sabios consejos y apoyos para el presente.

Al Dr. Margarito Ortiz Catón compañero y amigo y a su distinguida esposa, mi agradecimiento por su apoyo y motivación para mi formación profesional.

A los M. C. Cecilio Mendoza y Juan Fernando Solis amigos y colaboradores del presente trabajo, mi gratitud y reconocimiento.

Al compañero y amigo Javier Ponce S. por su amistad y apoyo brindado en nuestra formación de posgrado, le deseo éxito en su trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres

Sra. Efigenia López Esqueda

Sr. Jesús González Sánchez +

A mis hermanos Francisco, Ernesto,
Eduardo, Cruz, Gonzalo, Mirna y Octavio
por su apoyo y cariño fraternal.

A mi esposa Alejandra e hijas
Indhira Marcela y Alejandra
razón de mi vivir.

Al distinguido amigo
Gilberto Andrade G. +
D. E. P

CONTENIDO

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS-----	I
RESUMEN-----	III
1.-INTRODUCCION Y OBJETIVOS-----	1
2.-REVISION DE LITERATURA-----	4
2.1. Enfermedades causadas por hongos-----	4
2.1.1. <u>Fusarium oxysporum</u> f. sp. <u>gladioli</u> -(Massey) Snyder & Hansen-----	4
2.1.1.1.-Distribución e importancia-----	4
2.1.1.2.-Características del hongo-----	6
2.1.1.3.-Razas fisiológicas-----	8
2.1.1.4.-Síntomas y daños-----	8
2.1.1.5.-Control-----	10
2.1.2.- <u>Stromatinia gladioli</u> (Drayt.) Whetz-----	11
2.1.2.1.-Distribución-----	11
2.1.2.2.-Epidemiología-----	12
2.1.2.3.-Características del hongo-----	13
2.1.2.4.-Síntomas y daños-----	14
2.1.2.5.-Control-----	16
2.1.3.- <u>Curvularia trifolii</u> (Kauffm) Boedinjn f. sp. <u>gladioli</u> Parmelee et Lutrell-----	17
2.1.3.1.-Distribución-----	17
2.1.3.2.-Características del hongo-----	17
2.1.3.3.-Razas fisiológicas-----	18
2.1.3.4.-Síntomas y daños-----	19
2.1.4.- <u>Septoria gladioli</u> Pass.-----	19
2.1.4.1.-Distribución-----	19
2.1.4.2.-Epidemiología-----	20
2.1.4.3.-Síntomas y daños-----	21
2.1.5.- <u>Botrytis</u> sp.-----	22
2.1.5.1.-Distribución-----	22
2.1.5.2.-Características del hongo-----	23
2.1.5.3.-Síntomas y daños-----	23
2.1.5.4.-Control-----	24
2.1.6.- <u>Penicillium gladioli</u> Mc Cull. et Thom.-----	25
2.1.6.1.-Distribución e importancia-----	25
2.1.6.2.-Características del hongo-----	25
2.1.6.3.-Síntomas y daños-----	26
2.1.7.- <u>Uromyces transversalis</u> (Thom) Winter-----	27
2.1.8.- <u>Rhizoctonia</u> spp.-----	27
2.2. Enfermedades causadas por virus-----	28
2.2.1.-Virus mosaico amarillo del frijol-----	29

2.2.1.1.-Importancia y distribución-----	29
2.2.1.2.-Características del virus-----	30
2.2.1.3.-Síntomas y daños-----	31
2.2.2.-Virus mosaico del pepino-----	32
2.2.2.1.-Importancia y distribución-----	32
2.2.2.2.-Características del virus-----	32
2.2.2.3.-Síntomas y daños-----	34
2.2.2.4.-Control-----	34
2.2.3.-Virus de la marchitez manchada del tomate---	34
2.2.3.1.-Importancia y distribución-----	34
2.2.3.2.-Características del virus-----	36
2.2.3.3.-Síntomas y daños-----	36
2.2.4.-Virus de la mancha anular del tomate-----	37
2.2.4.1.-Importancia y distribución-----	37
2.2.4.2.-Síntomas y daños-----	37
2.2.5.-Otras enfermedades-----	38
2.3.-Enfermedades causadas por bacterias-----	38
2.3.1.- <u>Pseudomonas marginata</u> (Mc Cull.) Stapp-----	38
2.3.1.1.-Importancia y distribución-----	38
2.3.1.2.-Características de la bacteria-----	39
2.3.1.3.-Síntomas y daños-----	40
2.3.1.4.-Control-----	40
2.3.2.- <u>Xanthomonas campestris</u> pv. <u>gummisudans</u> (Mc Cull.) Dye-----	41
2.3.3.- <u>Agrobacterium tumefaciens</u> (S. & Town) Conn--	41
3.-MATERIALES Y METODOS-----	42
3.1. Localización del área de muestreo-----	42
3.2. Toma de muestras-----	42
3.3. Observaciones y toma de datos en el campo-----	43
3.4. Observaciones en laboratorio-----	43
3.5. Aislamientos de hongos y bacterias-----	44
3.6. Purificación de aislamientos e incremento del inóculo-----	45
3.7. Pruebas de patogenicidad-----	45
3.7.1. Hongos-----	45
3.7.1.1. Inoculación-----	45
3.7.1.2. Reaislamiento-----	46
3.7.2. Bacterias-----	47
3.7.2.1. Inoculación-----	47
3.8. Identificación de hongos-----	48
3.9. Caracterización de virus-----	49
3.9.1. Técnica de ELISA-----	49
3.9.2. Inclusiones virales-----	50
3.9.3. Microscopía electrónica-----	51
3.9.3.1. Preparaciones a partir de tiras	

epidérmicas-----	51
3.9.4. Amplitud de hospedantes-----	51
3.9.4.1. Condiciones de crecimiento de las plantas-----	51
3.9.4.2. Plantas utilizadas-----	52
3.9.4.3. Inoculación mecánica-----	52
4.-RESULTADOS Y DISCUSION-----	53
4.1. Enfermedades fungosas del cormo-----	53
4.1.1. Pudrición café-----	53
4.1.2. Pudrición seca-----	57
4.1.3. Pudrición del cormo-----	59
4.1.4. Pudrición verde-----	61
4.1.5. Moho gris o podredumbre parda-----	63
4.2. Enfermedades fungosas del follaje-----	63
4.2.1. Pudrición del cuello o pudrición seca-----	63
4.2.2. Tizón o moho gris-----	66
4.2.3. Mancha foliar-----	70
4.3. Enfermedades de etiología viral-----	71
4.3.1. Virus mosaico amarillo del frijol-----	71
4.3.2. Virus mosaico del pepino-----	74
4.3.3. Virus de la marchitez manchada del tomate---	76
5.-CONCLUSIONES-----	79
6.-BIBLIOGRAFIA-----	80
7.-APENDICE-----	90

INDICE DE FIGURAS

A.- Cormos dañados por <u>Fusarium oxysporum</u> f. sp. <u>gladioli</u> ----	69
B.- Micro y macroconidios de <u>F. oxysporum</u> f. sp. <u>gladioli</u> ----	69
C.- Clamidosporas de <u>F. oxysporum</u> f. sp. <u>gladioli</u> .-----	69
D.- Síntomas en follaje observados en campo de <u>F. oxysporum</u> f. <u>sp.gladioli</u> -----	69
E.- Desarrollo de esclerocios de <u>Stromatinia gladioli</u> .-----	69
F.- Microconidios de <u>Stromatinia gladioli</u> en medio de cultivo después de 25 días.--	69
G.- Síntomas en campo de <u>Stromatinia gladioli</u> -----	69
H.- Conidios de <u>Curvularia trifolii</u> f. sp. <u>gladioli</u> .-----	69
I.- Cormos dañados por <u>Penicillium gladioli</u> .-----	69
J.- Conidióforos y conidios de <u>Penicillium gladioli</u> .-----	73
K.- Síntomas reproducidos de <u>Botrytis gladiolorum</u> -----	73
L.- Daños por <u>Botrytis gladiolorum</u> en espigas florales-----	73
M- Daños por <u>B. gladiolorum</u> en puntas de hojas-----	73
N.- Características morfológicas de <u>B. gladiolorum</u> -----	73
P.- Hojas de gladiolo con daños por <u>Septoria</u> -----	73
Q.- Plantas de gladiolo con síntomas del virus mosaico amarillo delfrijol.-----	73
R.-Inclusiones virales del virus mosaico amarillo del frijol en hojas de gladiolo-----	73
S.-Síntomas del virus mosaico del pepino en gladiolo-----	73

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.-Enfermedades encontradas en cormos almacenados,
cormos en el campo, follaje y flores en las
principales regiones gladioleras de México en
1993 y 1994-----78

Cuadro 2.-Amplitud de hospedantes y síntomas presentados por
el virus mosaico amarillo del frijol y el virus
mosaico del pepino en 1993 y 1994-----78

RESUMEN

En los años de 1993 y 1994, se realizaron visitas periódicas a las regiones florícolas de Villa Guerrero, Edo. de Méx., Atlixco, Pue. y Cuautla, Mor., para muestrear cultivos de gladiolo de diferentes edades en el campo y a bodegas de cormos. En el campo se colectó tejido con pudriciones de raíz, cormo y corona; follaje e inflorescencias con tizón, mosaicos, moteados, estriados, arrugamientos y deformaciones. También se tomaron plantas completas con enanismo, amarillamientos y necrosis; en almacén se obtuvieron cormos con pudriciones blandas, duras y secas.

Del material infectado por hongos, se realizaron las pruebas de patogenicidad bajo condiciones de invernadero, inoculando cinco plantas o cormos según la procedencia del patógeno, dejando dos testigos para cada prueba. Una vez reproducidos los síntomas se realizaron reaislamientos para comparar las características del patógeno con las obtenidas en el aislamiento original y con las del medio del cultivo.

Después de verificar la patogenicidad de los aislamientos, se identificaron los agentes causales con claves, monografías y reportes en la literatura.

Para caracterizar los virus se utilizó la técnica de ELISA, observación de inclusiones virales, microscopía electrónica y amplitud de hospedantes.

La enfermedades fungosas encontradas en los cormos fueron la pudrición café causada por Fusarium oxysporum f. sp. gladioli, siendo la enfermedad más común en las tres regiones en estudio; la pudrición seca cuyo agente causal es Stromatinia gladioli, pudrición verde causada por Penicillium gladioli y la pudrición del cormo por Curvularia trifolli f. sp. gladioli, le siguieron en importancia respectivamente.

En el cultivo se encontró a S. gladioli atacando la parte basal de las hojas y Botrytis gladiolorum sobre hojas y flores, ambas fueron más abundantes en la época de lluvias en la región de Villa Guerrero, Edo. de México. En las otras regiones se presentaron estos patógenos pero en forma muy aislada, siendo más común Stromatinia gladioli. La mancha foliar causada por Septoria sp. sólo fue observada sobre tres plantas juntas en Villa Guerrero.

Los virus encontrados fueron el del mosaico amarillo del frijol (VMAF), presentándose en un 90% de las plantas con síntomas de mosaicos y moteados y el virus mosaico del pepino (VMP) con un 50% de incidencia con síntomas de estriados en las hojas; ambos virus fueron muy comunes en todas las zonas muestreadas, durante todas las épocas del año. En Cuautla, Mor. se caracterizó al VMP sobre espigas florales de la variedad Spic & span, dándole aspecto de atigrado de las flores. El virus de la marchitez manchada del tomate (VMMT) sólo se pudo detectar mediante la técnica de ELISA, siendo el resultado poco satisfactorio.

1.- INTRODUCCION Y OBJETIVOS

El gladiolo (Gladiolus grandiflorus Hort.) es originario de Sudáfrica y se encuentra ampliamente distribuido en diversos países incluyendo México. Los cultivares modernos de gladiolo ofrecen una diversidad de colores, formas y tamaños; se utiliza como planta de paisaje en el jardín, como especímenes para exhibición y como flor para corte (Palacios, 1992)

Según Tayama (1991) México ocupa el quinto lugar a nivel mundial en superficie cultivada en la producción de flores después de Japón, Italia, Holanda y de Estados Unidos; cultivándose aproximadamente 4250 Ha. representando el 7.1% de la superficie mundial. El gladiolo en nuestro país, se encuentra entre las tres ornamentales más cultivadas después del crisantemo y clavel.

En 1990, la SARH reporta que se cultivaron 1492 Ha. con gladiolo, siendo los principales estados productores: Puebla, Michoacán, Morelos, Guerrero, Veracruz, Edo. de México y Tlaxcala; cultivándose cerca de 30 variedades de diversos colores, siendo los principales los blancos, salmones, rojos y morados (Anónimo, 1992a). Para 1991, esta misma dependencia señala la producción de flores en peso, donde el gladiolo representó el primer lugar, produciéndose cerca de 20,000 toneladas por año (Anónimo, 1992b).

Según datos de la National Market Trend/USDA/CDFA, citados por Anónimo (1991), en 1990 los E.E.U.U. importó cerca de 5 millones de tallos de gladiolo, de los cuales México exportó 2,554,000, lo que representa un 51.57% del total de las importaciones de esta ornamental.

Dentro de las limitantes para el cultivo y su exportación, se encuentran las plagas, maleza y enfermedades; estas últimas son las más importantes en los cormos, cormillos y en flor cortada tanto en condiciones de campo como a nivel de almacén. Estos problemas se intensifican más por la forma de propagación de ésta ornamental, que es a través de cormos o cormillos lo que favorece la diseminación de los patógenos, por lo que su manejo debe ser cuidadoso, para evitar transmitir enfermedades importantes de tipo viroso, fungosas y bacteriano (Palacios, 1992).

La falta de un buen manejo de las enfermedades por desconocer los patógenos presentes en el cultivo, repercute en los elevados costos de producción y el abandono de plantaciones por parte de algunos productores.

Dado a la importancia que representan las enfermedades del gladiolo en el campo y almacén, y a la falta de estudios taxónomicos específicos de cada uno de ellos en las diversas regiones florícolas del país, se planteó el presente trabajo con los siguientes objetivo:

1.-Identificar las principales enfermedades fungosas, virosas y bacterianas que atacan al cultivo del gladiolo a nivel de campo y en almacén.

2.-Conocer la distribución de los diversas enfermedades del gladiolo en las principales regiones florícolas de México.

2.- REVISION DE LITERATURA

2.1.-ENFERMEDADES CAUSADAS POR HONGOS

A nivel mundial se reportan varias enfermedades que atacan al gladiolo, siendo las más importantes las causadas por los hongos: Fusarium oxysporum f. sp. gladioli, Stromatinia gladioli, Botrytis gladiolorum, Curvularia trifolii f. sp. gladioli, Septoria gladioli, Penicillium spp. (Jaimes, 1977; Gary, 1988; Leyva 1992). D'Aullerio et al., en 1983 cita a Sclerotinia draytonii, Uromyces transversalis, Urocystis gladioli y Aspergillus niger.

2.1.1-Fusarium oxysporum f. sp. gladioli (Massey) Snyder & Hansen

2.1.1.1.-Distribución e importancia

Massey (1926) indica que la pudrición por Fusarium oxysporum f. sp. gladioli, observada a inicio de 1912, constituye una de las enfermedades más importantes de los cormos en los Estados Unidos, en donde afecta cerca del 75% de los lotes cultivados; los daños aumentan aún más durante el almacenamiento de los cormos cuando hay incrementos de temperatura y de humedad.

Milholland (1969) reporta a Fusarium oxysporum f. sp. gladioli en el sureste de Carolina del Norte, donde causó pérdidas por 400 a 500 dólares por acre por ciclo en el período de 1957 a 1962.

Woltz et al. (1978) al inocular cormos con doce aislamientos de varias especies de Fusarium, encontró que las especies de F. roseum "culmorum", F. roseum "sambusinum" y F. solani, redujeron significativamente los rendimientos en producción de flores y de cormos, mientras que F. moniliforme y F. oxysporum no afectaron al ser inoculados.

Varias especies de Fusarium tales como F. oxysporum f. sp. gladioli, F. moniliforme var. subglutinans, F. heterosporum, y F. sporotrichella son consignadas junto con Penicillium atacando a raíces y cormos almacenados (Georgieva y Peikova, 1978).

García y Alfaro (1985) manifiestan que de 121 aislamientos de Fusarium en cormos de gladiolo, 100 fueron de F. oxysporum, 11 de F. roseum, 10 de F. solani. Al probar la capacidad patógena (Cp) de estas especies, encontraron que la mayoría de las cepas de F. oxysporum fueron altamente patogénicas y sólo una cepa de F. roseum presentó esta características, mientras que las cepas de F. solani mostraron no ser patógenas.

En Taiwan, Fusarium oxysporum f. sp gladioli, es el principal problema asociado con el material de siembra y se le ha encontrado en raíces, cormos y escamas, así como en el suelo a profundidades de 20 y 30 cm. (Hsieh, 1986).

En México, al daño por Fusarium oxysporum se le conoce como pudrición café, marchitez o fusariosis del gladiolo y según Jaimes (1977), este patógeno ocasiona daños que van desde un 40

a un 60% durante el almacenamiento, y en condiciones favorables puede llegar hasta 100%. Torres (1988) y Leyva (1992) reportan a este patógeno como el más importante del gladiolo afectando el 60 a 80% de los cormos en algunos lugares de la República.

2.1.1.2.-Características del hongo

En medio de cultivo este hongo produce abundantes microconidios generalmente unicelulares; los macroconidios son muy variados en cuanto al tamaño y número de septas, predominando los de tres con un tamaño de 25-41 x 3.5-4.8 μ ; estos son gradualmente atenuados hacia ambas terminaciones, cilíndricos en la parte central, algunas veces pedicelados y usualmente curvados en toda su longitud. Las clamidosporas son globosas de paredes lisas o rugosas, intercalares o terminales y usualmente presentes en conidios. Los esporodoquios con 2 mm. de diámetro formándose de los 7 a 14 días, siendo generalmente de color salmón (Massey, 1926).

Carrera (1947) al describir la morfología de este hongo, señala que los macroconidios son poco numerosos en relación a los microconidios; los primeros son pedicelados con tres a cuatro septas, pero puede haber hasta siete, los cuales son muy escasos, las medidas para los de tres septas son de 18.9-42 x 4.2-4.6 μ ; en cuanto a los microconidios, estos son abundantes, elípticos-cilíndricos, con extremidades redondeadas, con una o sin ninguna septa, prevaleciendo los últimos; las clamidosporas, pueden ser terminales e intercalares, solitarias o apareadas, redondeadas-

globosas, con superficie lisa y a veces presentes en conidios.

Booth (1971), ubica a F. oxysporum dentro de la sección "elegans" reportando que en medio de cultivo esta especie tiene una tasa de crecimiento mayor de 2.5 cm. de diámetro después de cuatro días, dando una coloración pálido, salmón, rosa o violeta, siendo su micelio estriado, suave algodonoso y a veces rugoso, sobre todo en cultivos viejos; los microconidios son abundantes uni o bicelulares de forma oval, elipsoidal o alantoide, cuyo tamaño varía de 5-12 x 2.2-3.5 μ ; estos nacen sobre fiálides laterales simples derivadas de la hifa o bien sobre fiálides derivadas de conidióforos laterales cortos. Los macroconidios son curvados, falcados, de paredes delgadas, de 3 a 7 septas, siendo más comunes las de 3 cuyas medidas son 27-46 x 3-5 μ , son fusoides-subulados y ocasionalmente fusoides-falcados; las clamidosporas son abundantes, terminales o intercalares y ocasionalmente en pares o bien en cadenas, sus paredes pueden ser lisas o rugosas.

Existe cierta similitud entre F. oxysporum y F. solani en cuanto a una evolución paralela, pero estos son fácilmente separados después de pocos días de crecidos examinando sus microconidióforos, los cuales en la primera especie son cortos derivados de fiálides que nacen sobre hifas laterales o sobre los ápices de ramas laterales cortas; en cuanto a F. solani, sus microconidióforos son más vistosos, bien desarrollados sobre una larga y delicada fiálide con un collar apical bien marcado (Booth, 1975).

Según las claves de Snyder & Hansen citadas por Romero (1994), al describir a Fusarium oxysporum menciona que sus microconidios son pequeños y elípticos mientras que los macroconidios son finos, alargados, puntiagudos y de pared delgada, señalando además la presencia de clamidosporas; en cuanto a la pigmentación que presenta este hongo en medio de cultivo es de ocre-rosa, rosa o bien púrpura o violeta.

2.1.1.3.-Razas fisiológicas

Estudios sobre razas fisiológicas de F. oxysporum f. sp. gladioli fueron realizados por Roebroek y Mes en 1992, quienes utilizaron gladiolos de floración precoz y gladiolos con floración normal, encontrando la existencia de dos razas; raza 1 que fue patogénica para ambas y la raza 2 que atacó únicamente a las variedades precoces.

2.1.1.4.-Síntomas y daños

Massey (1926) al describir los daños por F. oxysporum var. gladioli indica que las lesiones en los cormos al momento de la cosecha, aparecen como pequeñas pudriciones húmedas, irregulares, circulares y alargadas, generalmente sobre los lados de la parte media basal. Estas en un principio son rojizas y pequeñas, se tornan café-negruzcas cuando dañan al cormo completamente. Los daños más característicos de esta enfermedad es la presencia de cordoncillos concéntricos en las lesiones las cuales son hundidas debido al rápido secado y contracción de los tejidos.

Las especies de Fusarium y de Stromatinia gladioli, pueden causar los mismos síntomas en cormos infectados y así llega a los campos de cultivo donde sobreviven por largos períodos en ausencia del cultivo del gladiolo (Young, 1954a).

En Argentina, F. oxysporum f. sp. gladioli se reporta como una nueva enfermedad, cuyos síntomas cuando se cosechan los cormos, son lesiones en forma de manchas de aspecto acuoso, que luego se tornan castaño rojizo en la mitad inferior del mismo. Tales manchas se van ensanchando y adquieren mayor tamaño durante el estibado, tomando diferentes formas de color castaño oscuro, pudiendo ser coalescentes, deprimidas, abarcando buena parte de la superficie del cormo; cuando las condiciones son favorables, se desarrolla abundante micelio y esporodoquios de color anaranjado hasta que llega a momificarse (Carrera, 1947).

García y Alfaro (1985) mencionan que los síntomas en follaje son un amarillamiento de la hoja que comienza por los extremos hasta acabar desecándose; otro tipo de síntoma muy común en este órgano es el "asta de toro", sobre todo en los primeros estadios de su desarrollo curvandose la hoja tomando el aspecto de cuerno. Estos mismos autores reportan los síntomas en cormos de cuatro formas:

a).- Decoloración y obscurecimiento de los haces vasculares donde exteriormente aparecen pequeñas manchas de color marrón bien delimitadas.

b).- Podredumbre marrón.- Este síntoma se nota en cualquier lugar del cormo, pero principalmente cerca de la base en la zona central. No se presenta la decoloración vascular del apartado anterior.

c).-Podredumbre basal seca.- Se da sólo en la base del cormo, alrededor de la zona de las raíces y el tejido afectado es muy delgado, tomando una coloración marrón claro, poco visible al principio pero después toma un color marrón oscuro o negro, quedando el área afectada deprimida.

d).-Cormos momificados.- Esto es frecuente en el almacén, donde los cormos se recubren de micelio blanco y su textura es esponjosa y dura.

2.1.1.5.-Control

Magie (1971), en búsqueda de alternativas para el control de F. oxysporum f. sp. gladioli, encontró que al someter los cormos en agua caliente a 57.5°C durante 30 min. provocaba la muerte de éste, pero no a 56°C lo que representa una alternativa para el control; así mismo observó que el benomyl fue más efectivo que el thiabendazol para el control de esta enfermedad.

Tratamientos con agua caliente a 57.2°C durante 30 min. fueron probados contra este hongo dando un buen control, pero redujeron drásticamente la germinación de los cormos; los cormillos fueron más tolerantes (Hsieh, 1986).

El benomyl continua siendo muy efectivo para el control de F. oxysporum f. sp. gladioli, sin embargo el uso constante y repetido de este fungicida así como el thiabendazol en algunas cepas han logrado crear resistencia en California y en Florida (Magie y Wilfret, 1974).

Magie (1980) logró proteger cormos frescos de gladiolo de F. oxysporum f. sp. gladioli con inoculaciones de F. moniliforme "Subglutinans" cepa M-685, teniendo mejores efectos que el Benomil y el Captan. Datos similares son reportados por Roebroek y Mes en (1992) sobre el mismo patógeno, en donde los cormos fueron sumergidos a una suspensión de esporas de un aislamiento de Fusarium no patogénico e incubados bajo condiciones de humedad a 20°C.

2.1.2.- Stromatinia gladioli (Drayt.) Whetz.

2.1.2.1.-Distribución

La pudrición seca del gladiolo cuyo agente causal ha sido renombrado por diferentes nombres científicos tales como Sclerotium gladioli Massey; Sclerotinia gladioli (Massey) Drayton; y Stromatinia gladioli (Drayton) Whetzel, constituye otro de los hongos que atacan al gladiolo con una distribución mundial. De todos los nombres, Stromatinia gladioli es el último taxonomicamente aceptado.

La pudrición seca del gladiolo causada por Sclerotium

gladioli se presenta en todas las regiones donde se desarrolle este cultivo causando grandes pérdidas especialmente en años con altas precipitaciones (Massey, 1928). Por otra parte, Haasis (1954) considera a S. gladioli como un serio problema en el Este de Carolina del Norte, donde causa graves daños en el campo como en almacén.

Drayton (1934a) descubre la fase sexual de Sclerotium gladioli desconocida por Massey en 1928, proponiendo que este hongo debe ser considerado dentro de Sclerotinia, mencionando que S. gladioli es el responsable de la pudrición seca del gladiolo.

Reportes sobre S. gladioli son hechos por Gould (1958) en los Estados de Michigan, Oeste de Washington, Oregon, New Jersey, Wisconsin, California, New York, Florida y Carolina del Norte, así como en otras regiones de los Estados Unidos de Norteamérica. Darvas (1985) señala esta enfermedad por primera vez en gladiolo en el Sur de Africa, causando fuertes pérdidas.

2.1.2.2.-Epidemiología

Según Beute (1971) S. gladioli se encuentra ampliamente distribuida y es de las principales enfermedades de este cultivo, donde causa pudriciones secas en cormos, cuello, tallo y raíces; este patógeno una vez establecido, puede sobrevivir en forma indefinida.

Fuertes pérdidas ocasionadas por S. gladioli son reportadas

en terrenos que tenían 12 años después de haberse cultivado gladiolo, mencionando que la enfermedad puede reaparecer después de largas rotaciones sin cultivar a esta ornamental (Labruyere, 1975).

Según Jeves y Coley-Smith (1977) un alto porcentaje de esclerocios de S. gladioli pueden sobrevivir enterrados por más de 5 años en el campo, presentando además un alto grado de resistencia a la disecación y sirviendo como fuente de infección para el gladiolo. Los esclerocios producidos en medios de cultivo, requieren de un período de entierro en el suelo antes de comensar la infección.

Las pudriciones de raíces por S. gladioli se incrementan severamente a temperaturas del suelo entre 16 y 24°C; con temperaturas mayores de 28°C se inhibe el desarrollo de este patógeno creciendo vigorosamente las plantas en suelos infectados (Beute, 1971).

En México, S. gladioli es de las enfermedades más importantes encontrándose en todas las zonas gladioleras del país, pudiendo atacar a otros miembros de la familia iridiaceae donde causa amarillamiento, decaimiento de hojas y pudrición del cuello (Leyva, 1992).

2.1.2.3.-Características del hongo

En cuanto a la morfología, este hongo es fácil de aislarse

de tejidos infectados, con rápido crecimiento en diversos medios y condiciones de cultivo donde produce esclerocios después de 10 a 14 días de aislado; estos son de color negro, consistiendo de una pared bien definida, compacta y delgada que rodea a una médula de células parenquimatósas; con respecto al tamaño, estos son muy variados dependiendo del medio y de la edad del cultivo, en promedio son de 191 x 164 μ (Massey, 1928).

S. gladioli produce únicamente microconidios en medios de cultivo después de 25 a 40 días de haberse sembrado, estos son esféricos con un diámetro promedio de 2.5 μ , desarrollándose sobre conidióforos ramificados y agrupados en verticilios. El micelio es de aspecto sedoso, septado, inter e intracelular y en medio de cultivo crece muy rápido cubriendo la caja de petri en 7 días, de color blanco con puntas miceliales aéreas y al envejecerse se torna de color barroso (Massey, 1928).

Drayton (1934b) reporta que los esporodoquios de S. gladioli al inicio aparecen como pequeñas gotas lechosas y más tarde llegan a ser opacas de consistencia cerosa; los conidióforos son aristados, ramificados y verticilados donde se desarrollan numerosos microconidios en cadena de aspecto globoso, hialinos y con un sólo núcleo, embebidos en una matriz mucilaginosa.

2.1.2.4.-Síntomas y daños

Massey (1928) indica que todas las partes tiernas basales del gladiolo pueden ser infectadas por S. gladioli, esta se nota

en una pudrición del tallo a nivel del suelo hasta dos o más pulgadas de profundidad así como en las hoja envainadoras en donde se observan pequeños esclerocios negros; esta pudrición se manifiesta en un amarillamiento prematuro del follaje, seguido por un secamiento y muerte de la planta.

Los síntomas externos reportados por Drayton (1934a) para S. gladioli, son la muerte prematura de la planta debido a la invasión y decaimiento de los órganos subterráneos, incluyendo la porción basal de las hojas envainadoras.

Gould (1958) al describir a esta enfermedad consigna que en infecciones de plantas jóvenes se observa un achaparramiento, amarillamiento y muerte de la planta ya sea sólo o en grupos; las plantas mayores no mueren totalmente, pero la base de los tallos y de las hojas se pudren dando una coloración café o negra. Un moho blanco grisáceo puede desarrollarse sobre las hojas envainadoras, así como una desintegración de las mismas, donde se observan pequeños esclerocios de color negro del hongo; estas estructuras también se observan sobre lesiones de cormos y raíces.

Gary (1988) manifiesta que S. gladioli es evidente por la presencia del tejido café amarillento encima del cormo con un olor penetrante y mohoso; en el tejido enfermo es común encontrar pequeños esclerocios negros entre la base de las hojas.

Los cormos en almacén afectados por la pudrición seca

causada por S. gladioli se pueden caracterizar por un secamiento de las escamas que rodean al cormo, siendo estas muy quebradizas y de color obscuro anormal, este obscurecimiento se manifiesta sobre los cormos en pequeñas lesiones, que al coalescer lo cubren y momifican totalmente (Massey, 1928).

Según Drayton (1934a) los cormos y cormelos dañados por S. gladioli, presentan lesiones características así como necrosis vascular y momificación; en todas las partes antes mencionadas es común encontrar pequeños esclerocios, los cuales sirven como órganos de resistencia. Sobre los cormos se ven primero pequeñas lesiones café rojizas, más tarde se agranda la pudrición tomando un color de café a negro con la superficie seca (Gould, 1958).

García y Alfaro (1985) mencionan que S. gladioli ocasiona manchas hundidas en los cormos; estas son de color marrón rojizo al principio, y después se torna negro sobre todo en la zona de inserción de las escamas; sobre estas manchas se observan los microesclerocios negros del hongo.

2.1.2.5.-Control

Haasis (1954) encontró que al sumergir los cormos de gladiolo recién cosechados en Ceresan-M a una concentración de una libra en 100 galones de agua por cinco minutos, se eliminó el desarrollo de lesiones de la pudrición seca en los cormos, no apareciendo daños subsecuentes en el crecimiento de las plantas ni en los cormos.

**2.1.3.-Curvularia trifolii (Kauffm.) Boedijn f. sp. gladioli
Parmelee et Lutrell.**

2.1.3.1.-Distribución

Young en 1954a, reporta a Curvularia lunata en el Edo. de Oregon el cual fue introducido a través de cormos dañados, y menciona que este hongo ha prevalecido durante varios años en los Estados del Sureste de la Unión Americana.

Bald y Brian en 1954 coinciden con Young (1954a) mencionando que C. lunata es la enfermedad más importante en Florida, Alabama, California y San Diego cuando se presentan condiciones de alta temperatura y de humedad. Wu (1980) reporta a C. trifolii f. sp gladioli causando manchas foliares en campos de Taiwan, el cual penetra por los estomas o bien directamente, formando apresorios.

En México a C. trifolii se le conoce como mancha foliar y pudrición de tallo, y según Leyva (1992) este hongo daña a plantas en el campo y a cormos en almacén causando pérdidas hasta de un 75%; pero sin embargo es menos importante que Fusarium y que Stromatinia.

2.1.3.2.- Características del hongo

Parmelee (1956) logró determinar en base a la biología y morfología del hongo así como al tamaño de los conidios y a la

presencia del hilum que es C. trifolii f. sp. gladioli y no a C. lunata como la especie que ataca al gladiolo; en la primera el tamaño de los conidios va desde 21-38.6 x 9-17.2 μ , teniendo una relación l/a de 2.3 a 2.9 μ con el hilum sobresaliente, mientras que en la segunda el tamaño de los conidios va desde 17-35 x 8-16.4 μ y la relación l/a es de 1.8 a 2.8 μ y el hilum es insertado y no sobresale.

Parmelee (1954) señala que la fase perfecta de este hongo, es muy similar a los de la familia dematiaceae, pero no menciona géneros, cuya fase es un peritecio o un pseudoperitecio, ya que se han observado sobre las escamas del cormo pequeñas estructuras superficiales, negras, globosas y errupentes, las cuales al colocarse en cámara húmeda a 10°C producen grupos de conidióforos.

2.1.3.3.-Razas fisiológicas

La forma especial se determinó a partir de seis aislamientos del hongo obtenidos del gladiolo, los cuales fueron inoculados sobre Gladiolus y Trifolium repens, incubandose en cámara húmeda por dos días; en menos de una semana todas las plantas de gladiolo mostraron manchas foliares severas, mientras que el T. repens no dio muestras de susceptibilidad (Parmele, 1956). Este autor reporta que el tamaño de los conidios en PDA para C. trifolii f. sp. gladioli aislada de la variedad Spic & span es de 22.9-32.9 x 10.7-14.3 μ con una relación l/a de 2.2 μ .

2.1.3.4.-Síntomas y daños

Parmele (1954) reporta por primera vez a Curvularia sp. en Canadá, atacando cormos que manifiestan pequeñas lesiones ligeramente hundidas de color oscuro, con más intensidad en los bordes que en el centro.

García y Alfaro (1985) señalan que sobre las escamas del cormo se ven manchas y rayas alargadas cuyo color va del marrón claro a oscuro; estas manchas corresponden a lesiones de forma irregular y de color negruzco sobre la superficie de dicho órgano. Las yemas, sobre todo las de la parte baja del cormo, suelen aparecer bordeadas por una mancha de color oscuro.

Los síntomas de C. trifolii f. sp. gladioli, aparecen como manchas hundidas negras cafesosas en la punta de los cormos, las hojas algunas veces muestran manchas café necrosadas. Para el control recomiendan asperciones con captan u otro fungicidas aplicados contra Botrytis y el tratamiento con agua caliente a 56°C para los cormos (Kelling y Niebisch, 1986).

C. trifolii ataca a las hojas y cormos jóvenes así como a flores del gladiolo, siendo muy destructiva cuando se presentan climas cálidos y húmedos (Gary, 1988).

2.1.4.-Septoria gladioli Pass.

2.1.4.1.-Distribución

Existen otros hongos que causan problemas en el gladiolo, tal es el caso de Septoria gladioli que fue descrito por Passerini en 1878 en Italia según Stone (1958), causando daños en hojas y cormos; posteriormente se detectó en Holanda, U.S.A., Alemania, Canadá, Inglaterra y Dinamarca.

Misra (1978) indica que S. gladioli es la enfermedad más común y devastadora del follaje en la región de Pradesh en gladiolo, cuando las condiciones de humedad y de temperatura son adecuadas. Así mismo Hawker en 1944, considera que S. gladioli es una enfermedad importante de los cormos en Inglaterra y la más común en los cormos importados.

2.1.4.2.-Epidemiología

Linber (1947) hace énfasis sobre lo raro de encontrar picnidios maduros de S. gladioli sobre los cormos de gladiolo e indica que Massey (1916), quien fue el primero en relacionar a este hongo con la pudrición dura de los cormos y con la mancha foliar, falló en encontrar dichas estructuras sobre este órgano; así mismo señala que Moore (1925), únicamente en solo tres ocasiones observó los picnidios en cormos durante doce años de trabajo, tiempo en el cual una gran cantidad de cormos afectados con esta enfermedad fueron examinados.

Massey (1916) citado por Hawker (1944), reporta que la infección de cormos limpios tiene lugar en suelos donde la enfermedad se ha presentado anteriormente.

Según Stone (1958) el hongo sobrevive en el almacén sobre cormos infectados, pudiéndose dispersar la enfermedad de tres maneras: a).- de cormos viejos a cormos nuevos, o bien la infección de cormos madres a cormelos; b).-infecciones de cormos o cormelos del inóculo del suelo; c) por propagaciones secundarias por medio de esporas de infecciones foliares primarias a cormelos.

En 1947 al examinar 150 embarques de cormos de gladiolo, el 6.6% de estos estaban infectados con lesiones típicas de la pudrición dura, donde se encontraron gran cantidad de picnidios en diferente estado de desarrollo; su hipótesis fue que posiblemente los factores ambientales del empaque y del embarque tales como falta de luz, acumulación de humedad y los productos de la respiración de los cormos, favorecían la producción de picnidios (Limber, 1947).

2.1.4.3.-Síntomas y daños

En las hojas de plantas jóvenes dañadas por S. gladioli, se encuentran pequeñas manchas húmedas, circulares, anguladas o irregulares, que van cambiando gradualmente de color verde al café rojizo hasta llegar a un café grisáceo con un borde oscuro. Sobre las manchas se desarrollan pequeños picnidios de color negro, y bajo condiciones húmedas las esporas son liberadas sobre una masa muscilaginosa de color anaranjado (Stone, 1958).

Síntomas de manchas foliares, circulares y de color café a

café púrpura son atribuidos a S. gladioli, el cual ataca especialmente follaje de plantulas, así como plantas desarrolladas de cormos y en algunos casos sobre plantas originadas de cormos. En cormos almacenados es el causante de la pudrición dura (Misra, 1978).

Sobre cormos S. gladioli se manifiesta principalmente en la mitad inferior con manchas húmedas de color marrón rojizo que conforme aumentan de tamaño se hunden y oscurecen quedando perfectamente delimitadas las zonas sanas y enfermas. Con ataques muy fuertes, el cormo se momifica y deforma pudiendo apreciarse sobre las zonas afectadas, picnidios de color negro, visibles a simple vista (García y Alfaro, 1985).

2.1.5.-Botrytis sp.

2.1.5.1.-Distribución

McClellan et al. (1949) señalan que el tizón o moho gris del gladiolo causado por Botrytis, fue descrito por Moore en 1939 y por Hawker en 1944 en Inglaterra; en Holanda lo reportó Timmerman en 1941, y en Canadá Drayton en 1944. Esta misma enfermedad se encuentra en los Estados Unidos causando serios problemas en plantaciones comerciales de gladiolo en Florida, California, Oregon y Washington. También indica que este hongo es el causante de pudriciones de cormos en almacén, manchas en hojas y flores y pudrición de cuello en la planta.

McWhorter (1939) consigna una cepa de B. cinerea causando pudriciones blandas en follaje de gladiolo en Oregon, aunque señala otras especies de Botrytis más destructivas.

En México se reporta a B. gladiolorum atacando cormos almacenados y hojas, así como en flores donde causa pérdidas hasta de un 50% en condiciones de campo y transporte. Las condiciones para que se desarrolle esta enfermedad son: alta humedad relativa y temperaturas entre 10 y 18°C (Leyva, 1992).

2.1.5.2.-Características del hongo

Botrytis presenta conidióforos largos, delgados, ramificados, puntas de las ramas hinchadas de color café claro, donde se producen conidios unicelulares, ovales, hialinos o de color gris, en masa sobre esterigmas cortos. Los esclerocios son de color negro e irregulares (Romero, 1994).

Según McClellan et al. (1949) B. gladioli fue descrita por Klebahn en 1930 y B. gladiolorum por Timmermans en 1942, diferenciándose ambas especies por la forma de sus conidios; en la primera son largos y angostos con un promedio de 10.4 x 4.7 μ ; mientras que en la segunda especie, los conidios son ovoides a subglobosos con un promedio de 15 x 10 μ .

2.1.5.3.-Síntomas y daños

Bald (1953) menciona que la pudrición del cuello causada por

B. gladiolorum, es por el inóculo llevado en los cormos o de las esporas que se encuentran en el aire, atacando principalmente a las hojas basales envolventes que al avanzar causan una pudrición completa de los tejidos foliares subterráneos que se encuentran unidos al cormo, provocando un amarillamiento y muerte de las hojas. También se le ha encontrado rodeando al tallo floral.

La pudrición del cuello consiste de lesiones persistentes agresivas similares a las lesiones que se presentan en las hojas, donde se producen cerca de un millón de esporas durante 24 a 48 hr. con tiempo favorable como las constantes humedades relativas altas y temperaturas de 12.7 a 18.3°C (Bald, 1953).

B. gladiolorum en cormos aparece con mucha frecuencia en los alrededores de la yema apical, penetra hacia la parte central del cormo ocasionando una podredumbre parda. El tejido afectado es esponjoso y blando, con un aspecto gris y pulverulento, típico de las fructificaciones de este hongo, ahí se observan esclerocios irregulares de color negro (García y Alfaro, 1985).

2.1.5.4.-Control

Magie (1969) señala que B. cinerea se previno con mayor éxito con termil y thiabendazol en polvo, que con asperciones de botran y de captan; cuando la infección estuvo presente fue fácilmente controlada con tutane.

2.1.6.-Penicillium gladioli Mc Cull. et Thom.

2.1.6.1.-Distribución e importancia

Raper y Thom (1949) mencionan que Penicillium gladioli es comúnmente encontrado causando pudriciones y decaimiento en cormos almacenados de gladiolo provocando grandes pérdidas; ocasionalmente se ha aislado del suelo.

La presencia de P. gladioli en los cormos es muy común, aunque este hongo no repercute desfavorablemente ni en la producción floral ni en el estado sanitario del nuevo cormo, pues es un patógeno débil por no causar daños serios en pruebas de patogenicidad (García y Alfaro, 1985). Sin embargo Romero (1994), señala que P. gladioli comúnmente se encuentra en cormo de gladiolo en almacén causando fuertes pérdidas por pudrición.

Torres (1988) y Leyva (1992) reportan a esta enfermedad en México, conocida como pudrición del cormo por ser este órgano el único atacado bajo condiciones de almacén, necesitando de heridas para poder penetrar.

2.1.6.2.-Características del hongo

Emmons (1935) al referirse a P. gladioli señala que la fase perfecta de este hongo no ha sido encontrada en medios de cultivo, donde es común encontrar abundantes esclerocios los cuales permanecen estériles.

P. gladioli presenta conidióforos largos, septados, penicilados, consistiendo de una o dos ramas adicionadas a un eje principal, de paredes ásperas, generalmente son independientes, pero a menudo están agregados en fascículos bien definidos, terminando en una métula la cual da origen a las fiálides y estas a su vez a los conidios los cuales son subglobosos a elípticos lisos, hialinos, con un tamaño de 2.8 a 3.6 μ por 2.5 a 3.0 μ de largo por ancho respectivamente, formando largas cadenas, siendo fácilmente separables al madurar (Raper y Thom, 1949 y Romero, 1994).

Según Raper y Thom (1949) P. gladioli en medio de "Czapek" a 25°C produce abundantes esclerocios, los cuales aparecen después del quinto o sexto día desarrollándose en zonas concéntricas con pocos e inconspicuos conidióforos, mientras que a 15°C o menos, la producción de esclerocios disminuye, pero produce abundante micelio sobre todo entre 14 y 15°C; en medio de malta agar a 24°C, produce colonias delgadas, suaves, con abundantes esclerocios y con pocas estructuras conidiales.

2.1.6.3.-Síntomas y daños

Los cormos afectados por P. gladioli presentan sitios de infección de color pardo, hundidos y claramente delimitados en la parte externa; el tejido interior de la zona infectada adquiere una coloración parda que posteriormente evoluciona a blanca con textura esponjosa (García y Alfaro, 1985).

2.1.7.-Uromyces transversalis (Thum.) Winter.

Garibaldi y Aloj (1980) reportan a la roya del gladiolo cuyo agente causal es Uromyces transversalis causando severas epidemias en el Centro y Sureste de Italia; la enfermedad es fácilmente reconocida por ser una típica roya, con pústulas alargadas con tamaño de 3 mm., uredosporas de color anaranjado en ambos lados de la hoja y en pocas semanas se producen las teliosporas dando una coloración negra a las pústulas. Según estos autores, las uredosporas germinan entre 5 y 25°C con un óptimo de 15 a 20°C; la infección de las plantas fue más severa entre 10 y 20°C cuando las plantas permanecieron húmedas por un mínimo de 12 hr.; el período de incubación varió de 22 a 23 días a 10°C y de 8 a 10 días a 25°C; todas las variedades probadas fueron susceptibles a la roya; el mejor control de esta enfermedad fue dado por el oxycarboxin a 0.5 g/l y por el benodanil a 1 g/l, aplicados cada semana.

En Brasil reportan a U. transversalis, como una nueva enfermedad atacando a gladiolo en varias regiones productoras (Pitta et al. 1983). En Italia, este patógeno también es reportado por Aloj et al. (1982) quien señala que las uredosporas germinan entre 5 y 25°C, siendo mas agresiva la infección entre 10 y 20°C. En México, no existen reportes de esta enfermedad.

2.1.8 Rhizoctonia spp.

Según Creager (1945) Rhizoctonia, constituye otro de los

problemas fungosos del cultivo del gladiolo, atacando la parte basal de las hojas a una profundidad aproximada de una pulgada bajo la superficie del suelo y causa pérdidas desde un 25%, hasta totales en algunas variedades, sobre todo si las distancias entre surcos esta muy cerca. Según este autor, los primeros síntomas son lesiones blandas y húmedas que más tarde se tornan café a necróticas. Eventualmente la base de las hojas infectadas se rompen por la desintegración del tejido parenquimatoso succulento que se encuentra entre las nervaduras. En el follaje se manifiesta marchitez y finalmente la muerte de las porciones enteras de la planta, la cual se caracteriza por causar un hinchamiento en la base del cormo y retarda el crecimiento.

2.2.-ENFERMEDADES CAUSADAS POR VIRUS

Existen varios trabajos sobre enfermedades virosas en gladiolo. Según Beute (1970) las infecciones de virus en gladiolo incrementan la mortalidad de las plantas o bien reducen el rendimiento; además aumentan la susceptibilidad a enfermedades del follaje y a patógenos del suelo, tal es el caso del virus mosaico del pepino (VMP) y del virus de la mancha anular del tomate (VMATom) cuyas infecciones incrementaron la incidencia y la severidad de F. oxysporum y S. gladioli en pudriciones de los cormos, así como de C. trifolii f. sp. gladioli en manchas foliares. Este mismo autor en 1973 menciona que la susceptibilidad a enfermedades del follaje se debe a un incremento de exudados de sustancias electrolíticas y de

carbohidratos en el área foliar.

Beute et al. (1970) al inspeccionar cerca de 20,000 plantas de 49 plantaciones de gladiolo en Carolina del Norte, encontraron que había entre 20.9% hasta un 27.2% de plantaciones infectadas con virus, de los cuáles VMP, VMATom, VMAF (virus del mosaico amarillo del frijol) y VMATab, (virus de la mancha anular del tabaco) fueron los más frecuentes con 47, 45, 23 y 16% de plantas infectadas respectivamente.

En Italia, se logró caracterizar mediante plantas indicadoras, serología y microscopía electrónica en 35 variedades de cormos de gladiolo importados al VMAF, VMP, y VMA (Virus del mosaico arabigo), en una proporción del 90, 35 y 5% respectivamente (Bellardi y Pisi, 1985).

2.2.1.- Virus mosaico amarillo del frijol (VMAF)

2.2.1.1.-Importancia y distribución

El VMAF pertenece al grupo de los potyvirus que constituye el más grande y el de mayor importancia económica de los 25 grupos reconocidos por el Comité Internacional para la Taxonomía de Virus (Hollings y Brunt, 1981). Al respecto Heinis en 1954 menciona que el VMAF por lo regular siempre está presente en todas las plantas de gladiolo que presentan síntomas virosos. También Bos (1970) señala que el VMAF tiene una amplia distribución geográfica sobre leguminosas, además de que una gran

cantidad de variedades de gladiolo pueden ser infectadas.

Zettler y Albo (1977) consignan al VMAF como una de las enfermedades más comunes en Florida y en Oregon, infectando más del 80% de los gladiolos.

Alper y Loebenstein (1981) reportan al VMAF afectando a los miembros de las iridiaceas como el gladiolo, cultivo en el cuál algunas variedades son totalmente afectadas.

En inspecciones realizadas sobre gladiolos de los E.U. A. y Holanda, se encontró que el 92% de los gladiolos examinados estaban infectados por el VMAF (Nagel et al. 1983).

2.2.1.2.-Características del virus

El VMAF según Bos (1970), es una partícula flexible, elongada cuyo tamaño es de 750-900 x 15 nm. Srivastava et al. (1984) al purificar al VMAF encontró partículas flexibles de 950 nm de largo por 12 nm de ancho.

Bos (1970) señala que una forma rápida para el diagnóstico del VMAF es mediante la presencia de cuerpos de inclusiones vistas al microscopio compuesto, mismas que son abundantes y de forma típica. Al respecto Cárdenas (1986) menciona que el VMAF forma inclusiones citoplasmáticas amorfas y granulosas de tamaño variable siendo a veces grandes. Hollings y Brunt (1981) y Srivastava et al. (1984) manifiestan que el VMAF desarrollan

inclusiones intracelulares citoplasmáticas de forma laminar, granular, espiraladas o bien amorfas en células de la epidermis.

El VMAF se transmite por varias especies de áfidos de manera no persistente y experimentalmente por inoculación de savia en forma mecánica; en algunas casos es transmitido por semillas (Bos 1970) y (Hollings y Brunt 1981).

Bos (1970) indica que el VMAF en Phaseolus vulgaris induce lesiones locales cloróticas o necróticas e infección sistémica; en Pisum sativum moteados, mosaicos, amarillamientos brillantes y en ocasiones necrosis en tallos; en Chenopodium amaranticolor sobre hojas inoculadas, aparece como lesiones locales cloróticas, malformación de hojas y amarillamiento sistémico entre nervaduras; en C. quinoa lesiones locales cloróticas.

2.2.1.3.-Síntomas y daños

El VMAF se caracteriza en gladiolo por la presencia de mosaicos tenues y moteados ligeros a oscuros (Beute et al. 1970 y Srivastava et al. 1984). Sin embargo Bos en (1970) señala que este virus se distingue por estriados blancos o infecciones latente sin manifestar síntomas. Zetler y Albo (1977) coincide con todos los síntomas anteriores tales como estriado, mosaicos moteados y espiga con punta de lápiz, siendo más evidentes en las hojas envolventes; los síntomas foliares fueron generalmente inconspicuos.

2.2.2.-Virus del mosaico del pepino (VMP)

2.2.2.1.-Importancia y distribución

El VMP se encuentra ampliamente distribuido a nivel mundial, con un amplio rango de hospedantes en las que incluye cerca de 40 familias de monocotiledóneas y dicotiledóneas (Francki et al. 1979). En Corea, el VMP y VMAF fueron las enfermedades más comúnmente observadas en gladiolo afectando al 43.3% de las plantas causando síntomas de mosaicos (Lee et al. 1984).

Según Francki et al. (1979) el VMP es transmitido por más de 60 especies de áfidos en todos sus instáres de manera no persistente, dentro de los que sobresalen Aphis gossypii y Myzus persicae; además es fácilmente transmitido mecánicamente.

En Israel, el VMP y el VMAF son los virus más abundantes en los campos de gladiolo; el áfido que más predomina es Macrosiphum euphorbia, relacionado con la transmisión del VMP al igual que Aphis gossypii, ambos eficientes transmisores del virus de gladiolo a gladiolo, pero no de otras fuentes de inóculo (Aly et al. 1987).

2.2.2.2.-Características del virus

Al microscopio electrónico, el VMP presenta partículas isométricas de 28-30 nm. de diámetro de tres tipos: el ARN1 y ARN2 se encuentran en cápsides diferentes, mientras que el ARN3

y el ARN4 se detectan en la misma partícula. Todas ellas presentan propiedades de sedimentación semejantes (Francki et al. 1979).

El VMP presenta inclusiones densas con bordes angulosos y su área central a veces clara (Cárdenas, 1986).

Stein et al. (1979) encontró que el VMP es fácilmente detectable por ELISA en varias partes de la planta del gladiolo, especialmente en cormos y cormelos; el VMAF también se detectó mediante esta prueba en hojas y pétalos, pero no en cormos, esto debido a la presencia de algunas sustancias en este órgano que interfieren la prueba.

Stein et al. (1988) opina que es necesario detectar los virus en cormos de gladiolo antes de la plantación, sobre todo el VMP que es fácilmente detectado a través de ELISA, dando mayor seguridad en el diagnóstico desde un 20 al 80% que en muestras foliares. El VMAF, no fue detectado en cormos ni en cormillos, pero si en hojas.

El VMP se logró identificar a través de plantas indicadoras, insectos vectores (Myzus persicae), purificación, serología y a través del microscopio electrónico (Lee et al. 1984).

Dentro de las plantas indicadoras para el VMP, se reporta a Pisum satium que manifiesta un moteado y lesiones sistémicas o bien una necrosis, Phaseolus vulgaris que puede o no presentar

infección sistémica, Chenopodium amaranticolor, donde se observan lesiones locales (Alvizo y Lozoya, 1987).

2.2.2.3.-Síntomas y daño

McWhorter (1957) indica que los síntomas del VMP en gladiolo son fácilmente observados en variedades de color por el contraste que dan las flores presentando un manchado blanco, arrugamiento y deformación; en follaje se tiene un estriado clorótico y manchado. Heinis (1954) reporta al VMP con un amplio rango de síntomas, siendo el más característico el moteado clorótico así como la presencia de pequeños enrejados entre dos nervaduras de las hojas externas y un estriado blanco sobre las espigas florales, aunque a veces las puede producir sanas.

2.2.2.4.-Control

Aly et al. (1987) reportan que la virosis causada por VMP y el VMAF se logró controlar eficientemente en el campo a base de asperpciones de aceite combinado con el uso de malla ordinaria. De esa misma manera Lilien-Kipnis et al. (1992) mencionan que la producción de plantas libres del VMAF y del VMP es posible a través de cultivos de tejidos.

2.2.3.-Virus de la marchitez manchada del tomate (VMMT)

2.2.3.1.-Importancia y distribución

Según Ie (1970) el virus de la marchitez manchada del

tomate, fue descrita por Samuel, Bald y Pittman (1930), Klinkowski & Uschdraweit (1952) y revisada por Best (1968); haciendo mención que la distribución geográfica de este virus es en todas las regiones subtropicales del mundo.

En el Sur de Australia Lee et al. (1979) reportan por primera vez al VMMT sobre gladiolo. Figueroa y Cárdenas (1994) encontraron al VMMT en gladiolo causando síntomas de mosaico en los Estados de México, Puebla, y Morelos con una incidencia del 55, 35 y 30% respectivamente. Por su parte Pinto (1994) reporta al VMMT causando síntomas de mosaicos en flores y hojas así como achaparramiento de las plantas en las regiones de Tenancingo, Edo. de México, con una incidencia del 80% y en Atlixco, Pue. con un 15% durante los meses de abril a mayo.

El VMMT ataca cerca de 166 especies de 34 familias, siendo las especies de diagnóstico: Petunia híbrida, Nicotiana tabacum cv Samsun, N. clevelandii, N. glutinosa, Cucumis sativus y Tropaeolum majus (Ie, 1970). Francki y Hata (1981) señalan que VMMT tiene como hospedantes a 157 dicotiledóneas y 6 monocotiledóneas de 29 y 5 familias respectivamente.

Ie (1970) menciona que la transmisión del VMMT es por vectores tales como Thrips tabaci, Frankliniella schultzei, F. occidentalis y F. fusca, los cuales adquieren al virus únicamente en estado de larva y es transmitido sólo por los adultos.

2.2.3.2.-Características del virus

En cuanto a propiedades físicas y químicas, es uno de los virus más inestables, el punto de inactivación termica es de 40 a 46°C, la longevidad in vitro a temperatura de laboratorio es de 2 a 5 h. y su punto final de dilución es de 2×10^{-2} y 2×10^{-3} , a pH abajo de 5 pierde rápido su infectividad, pudiéndose mantener mejor a pH cerca de 7.0 (Ie, 1970)

Lee et al. (1979) logró identificar al VMNT mediante plantas indicadoras y con microscopía electrónica observando partículas esféricas de 80 nm. de diámetro, tamaño similar a lo reportado por Ie (1970); dicho virus afectó más del 50% de las plantaciones comerciales de gladiolo.

2.2.3.3.-Síntomas y daños

Lee et al. (1979) consignan al VMNT en gladiolo causando una degeneración clorótica y achaparramiento de plantas, pero nunca mosaicos; los síntomas fueron más prominente en hojas jóvenes donde se observaron severos moteados cloróticos, manchado y a menudo una clorosis completa. Las espigas fueron más cortas, débiles y distorsionadas; así mismo se encontró en las mismas plantaciones al VMAF y al VMP causando mosaicos; en algunas plantas, el VMAF causó los mismos síntomas que el VMNT siendo indistinguibles uno de otro.

Los síntomas, que señalan Francki y Hata (1981) para el VMNT

son muy amplios y variados dentro del mismo hospedante dependiendo de la edad, estado nutricional, así como de las condiciones del medio ambiente. En cuanto a los vectores del virus, así como a la forma de adquirirse, el autor coincide con lo reportado por Ie en 1970.

2.2.4.-Virus de la mancha anular del tomate (VMATom)

2.2.4.1.-Importancia y distribución

Bozarth y Corbett (1958) indican que el virus de la mancha anular del tomate (VMATom), es la enfermedad más común en las áreas gladioleras de Florida. El virus de la mancha anular (no específica) se manifiesta con círculos cloróticos de 3 mm de diámetro con el centro verde oscuro sobre todo en las hojas centrales del gladiolo (Heinis, 1954).

2.2.4.2.-Síntomas y daños

Los síntomas descritos para el VMATom son: flores en forma de punta, mucho más cortas que las normales, distorsión del follaje y un poco desarrollo de la planta (Bazarth y Corbett, 1958).

Bellardi et al. (1988) lograron aislar al virus de la mancha anular del tabaco (VMATab) de plantas de gladiolo con síntomas de espigas florales cortas y ocasionalmente mosaicos, manchas anulares y estriados necróticos sobre hojas.

2.2.5.-Otras enfermedades

El amarillamiento del aster occidental, es reportado sobre gladiolo por Heinis en 1954 cuyos síntomas son: botones florales con pétalos verdes, las flores no abren y las hojas se tornan café-amarillentas.

Bertaccini y Marani (1984) señalan que en algunos cultivos de gladiolo se encontraron plantas con espigas florales retorcidas, estos materiales al observarse al microscopio electrónico, se encontró organismos tipo micoplasmas (MLOs) en los tubos cribosos o en el citoplasma de células parenquimatosas del floema.

Bertaccini et al. (1992) mencionan que las enfermedades causadas por micoplasmas representan un serio problema para la producción de algunas variedades de gladiolo en Italia, produciendo síntomas de amarillamientos, proliferación de yemas axilares, virescencia, retorcimiento y malformación de la espiga floral y en algunos cormos almacenados, induce a la producción de 2 a 3 yemas. La presencia de micoplasmas en el floema de gladiolos ha sido determinada con el microscopio electrónico.

2.3.- ENFERMEDADES CAUSADAS POR BACTERIAS

2.3.1.-Pseudomonas marginata (Mc Cull.) Stapp

2.3.1.1.-Importancia y distribución

Las bacterias constituyen otro grupo de patógenos que

afectan cormos y follaje del gladiolo, tal es el caso de la "podredumbre del cuello", "roña", "sarna" o "tizón de la hoja" causada por Pseudomonas gladioli Severini 1913, sinónimo de P. marginata (Mc Cull, 1921) Stapp 1928.

Esta enfermedad se reporta en Argentina por Muntañola (1948) atacando cormos provenientes de Holanda. En sudáfrica P. marginata, es señalada por Boelema en 1980 causando pudrición del cuello y manchas foliares.

Según Young (1954b) P. marginata es una de las enfermedades más comunes del gladiolo en Oregon, aunque no afecta mucho la producción de cormos; según este autor, los daños por gusanos de alambre y otros insectos en el suelo favorece la infección.

2.3.1.2.-Caracteísticas de la bacteria

Bradbury (1986) señala que P. marginata pertenece al grupo de las pseudomonas no fluorescentes, que usualmente producen un pigmento amarillento en el medio de crecimiento; dentro de las características morfológicas y bioquímicas para esta bacteria se tiene, que presentan un penacho de flagelos en uno de sus polos, presenta oxidasa positiva, reduce nitratos, levana positiva, dihidrolasa de arginina negativa, crece a 41°C pero no a 4°C; dentro de los daños que ocasiona al cultivo del gladiolo, se menciona la pudrición en las bases de los tallos y sobre los cormos.

2.3.1.3.-Síntomas y daños

Los síntomas en follaje causados por P. marginata son manchas de color brillante o pardo rojizo que alcanzan hasta 2 mm. de diámetro, con el centro deprimido y los borde ligeramente elevados; en los cormos, sobre las túnicas que lo envuelven se nota una especie de agujeros o rasgaduras longitudinales con los bordes oscuros; cuando el daño es muy severo, se notan callos más o menos circulares y hundidos con los márgenes bien delimitados y algo sobresalientes; estos callos pueden desprenderse fácilmente dejando al descubierto el tejido sano (Muntañola, 1948).

El- Goorani et al. (1974) al estudiar la interacción entre P. marginata y el nematodo agallador Meloidogine javanica en cormos de gladiolo, encontró que cuando el nematodo estaba presente incrementaba la severidad del daño de la bacteria hasta en un 25%; según este autor, la función del nematodo es favorecer la entrada o bien alterar la fisiología del cormo.

2.3.1.4.- Control

Estudios sobre el control de esta enfermedad utilizando soluciones de bicloruro de mercurio, semesan y formaldehído fueron realizados por Miles (1933), quien consideró la enfermedad más común del gladiolo en esa época.

Forsberg (1955) logró reducir el daño de P. marginata con

aplicaciones de insecticidas al suelo lo que le hizo pensar que este patógeno era transmitido por algún insecto del suelo; así mismo, encontró cierta relación entre el ácaro de los cormos Rhizoglyphus echinopus y la incidencia de esta bacteria, ya que este ácaro se detectó en todos los cormos dañados, mientras que en los sanos no estuvo presente. Este mismo autor en 1970 logró controlar esta bacteria indirectamente tratando los cormos con benomil el cuál redujo las poblaciones del ácaro de los cormos que transmite esta enfermedad.

2.3.2.-Xanthomonas campestris pv. gummisudans (McCulloch) Dye

Bradbury (1986) reporta a X. campestris pv. gummisudans en gladiolo, donde causa manchas foliares más o menos rectangulares, de color verde oscuro que después se tornan cafés, dando un aspecto de chamuscado al follaje y retardando el desarrollo de la planta. Esta bacteria se encuentra en Sudáfrica, Australia, Finlandia, Holanda, Canadá y en Estados Unidos de Norte América.

2.3.3.-Agrobacterium tumefaciens

Graves et al. (1988) demostraron a través de microscopio electrónico que Agrobacterium tumefaciens es capaz de atacar células superficiales de gladiolo teniendo gran afinidad por los tejidos envolventes.

3.-MATERIALES Y METODOS

3.1.-LOCALIZACION DEL AREA DEL MUESTREO

Para la realización del presente trabajo se colectaron diversas variedades de gladiolo cultivadas en las principales zonas gladioleras del país: Atlixco, Pue., Villa Guerrero, Edo de México y Cuautla Mor.; donde a través de visitas periódicas a productores en sus cultivos y sus bodegas de cormos se hicieron muestreos.

3.2.-TOMA DE MUESTRAS

Se realizaron recorridos quincenales en las zonas antes mencionadas, en diferentes épocas de los años 1993 y 1994, siendo más constantes en las temporadas de lluvias; el método de muestreo utilizado para la localización de las enfermedades fue dirigido en las bodegas bajo diferentes condiciones de almacenamiento y en lotes comerciales de plantas de diferentes edades. En el caso de cormos en almacén, se seleccionaron aquellos que presentaron síntomas de pudriciones blandas, duras, secas, o con otro tipo de alteraciones fisiológicas. Para las plantas en el campo se consideraron: pudriciones para raíces, cormos y corona; tizones, mosaicos, moteados, estriados, arrugamientos y deformaciones para hojas y espigas florales; y para la planta completa la reducción del crecimiento, amarillamientos y muerte.

Las plantas seleccionadas o sus partes que mostraron síntomas, se cortaron y se colocaron en bolsas de polietileno para transportarse al laboratorio de Nosología Vegetal del Dpto. de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma de Chapingo donde fueron procesadas.

3.3.-OBSERVACIONES Y TOMA DE DATOS EN EL CAMPO

Al momento de la colecta de plantas enfermas, se anotó su sintomatología, edad o ciclo del cultivo, etapa de desarrollo y variedad, así como la distribución de las plantas enfermas en el campo de cultivo.

3.4.-OBSERVACIONES EN LABORATORIO

El material colectado se observó al microscopio estereoscópico, para detectar la presencia de patógenos o exudados bacterianos, así como para seleccionar el material del cual se harían los aislamientos.

Al detectarse esporulación, se efectuaron cortes histológicos con navaja de afeitar para hacer preparaciones permanentes de las estructuras encontradas asociadas con el síntoma y poder comparar estas estructuras con las aisladas y con las obtenidas en las pruebas de patogenicidad.

En los casos donde no se localizaron estructuras fungosas sobre las lesiones, pero que aparentaban ser ocasionadas por

hongos, se pusieron trocitos del tejido enfermo en cámara húmeda para inducir el crecimiento o esporulación de donde posteriormente se hicieron aislamientos y preparaciones permanentes.

3.5.-AISLAMIENTO DE HONGOS Y BACTERIAS

Para el aislamiento se utilizaron cormos, raíces, coronas, hojas y espigas florales que mostraban síntomas de alguna enfermedad fungosa y/o bacteriana de las cuales se tomaron cinco o más órganos con síntomas similares; en el laboratorio se seleccionó el material y se procedió a realizar el aislamiento de la siguiente manera: se cortaron fracciones pequeñas de los órganos antes mencionados que tuvieran una parte dañada y otra sana, se desinfectaron superficialmente por uno a tres minutos con hipoclorito de sodio al 1%, después se pasaron a agua destilada estéril para eliminar el exceso de hipoclorito y posteriormente se pusieron en papel filtro para absorber el exceso de agua, finalmente se sembraron en medios de cultivos: papa-dextrosa-agar (PDA), jugo V8-agar (V8-A) o jugo de tomate agar (T-A) y B. de King (BK), según fuera el caso. Los cultivos se mantuvieron a temperatura y luz del ambiente del laboratorio.

En el caso del aislamiento a partir de lesiones de cormos, raíces y corona, antes del tratamiento con hipoclorito se lavaron con agua de la llave para eliminar las partículas de suelo y después se siguió el procedimiento ya descrito.

3.6.-PURIFICACION DE AISLAMIENTOS E INCREMENTO DEL INOCULO

De las siembras realizadas en medio de cultivo, al observarse un crecimiento similar del patógeno en los diversos trocitos sembrados, se procedio a purificarlos y a compararlos con las preparaciones permanentes hechas directamente del tejido siendo sembrados nuevamente en PDA en varias cajas de petri para incrementar el inóculo.

3.7.-PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

3.7.1.-Hongos

Para verificar que cada uno de los hongos aislados fuera el agente causal de las lesiones de las cuales se aisló, se procedió a probar su patogenicidad en condiciones de invernadero, sobre las variedades de gladiolo de las cuales se aisló el hongo. El suelo usado para la siembra fue previamente fumigado con Bromuro de Metilo.

3.7.1.1.-Inoculación

Para cada hongo se utilizaron cinco cormos o plantas según la procedencia del aislamiento, procurando utilizar materiales de la variedad de la cual se aisló, dejando dos cormos o plantas como testigos . En el caso de los cormos, estos se lavaron con agua de la llave y posteriormente se desinfectaron con hipoclorito de sodio durante tres minutos. Para las enfermedades

foliares, de raíz y corona, se inocularon plantas de un mes de nacidas.

El método de inoculación dependió del origen del aislamiento, si éste se aisló de cormos, estos una vez desinfectados se le hicieron pequeñas heridas con una aguja de disección y posteriormente fueron sumergidos en una suspensión previamente preparada con el inóculo equivalente a lo de tres cajas de petri aforado a 200 ml. con agua destilada estéril; posteriormente se colocaron en bolsas de polietileno de 1/2 Kg. con algodón humedecido con agua destilada siendo estas selladas.

Para hongos del follaje, se preparó el inóculo procedente de tres cajas de petri y se aforó a 250 ml. con agua destilada estéril a la cual se le agregó un poco de carborundum; ésta suspensión fue aplicada manualmente con la ayuda de una gasa sobre todas las partes aéreas. Para algunos hongos como Botrytis, también se probó la inoculación en forma directa colocando tejido enfermo sobre tejido sano dejándolo en contacto por 5 días. Una vez inoculadas las plantas, se cubrieron con una bolsa de polietileno transparente y se regaron cada tercer día para mantener una alta humedad relativa; estas bolsas permanecieron de seis a quince días hasta observar la aparición de síntomas.

3.7.1.2.-Reaislamiento

Cuando se noto la reproducción de síntomas de cada una de las enfermedades, se procedió a reaislar el patógeno de plantas

que mostraron los daños causados por los hongos inoculados.

Después que se logró el reaislamiento, se compararon las características del crecimiento en el medio de cultivo y las características morfológicas del hongo con las obtenidas en el aislamiento original y, en su caso, con las encontradas directamente en las lesiones ocasionadas en las plantas.

Para el caso de las enfermedades en los cormos una vez aparecidos los síntomas, fueron sembrados sobre suelo esterilizado en vasos de plástico para ver si germinaban y observar los síntomas en el follaje y comparar con lo reportado en la literatura.

3.7.2.-Bacterias

Las bacterias obtenidas una vez purificadas, se sembraron en medio B. de King para ver si eran fluorescentes y después se les hizo la prueba de hipersensibilidad en tabaco así como la pudrición en papa.

3.7.2.1.-Inoculación

Las bacterias que resultaron positivas en la pudrición de papa y/o en la reacción de hipersensibilidad en tabaco, se inocularon sobre cormos previamente lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio a los cuales se les hicieron pequeñas heridas con un aguja de disección, donde se colocó la bacteria

con una asa bacteriana; estos cormos se pusieron en cámara húmeda en cajas de petri. De las mismas bacterias se preparó una suspensión de 3×10^8 a 10^8 células/ ml en agua destilada estéril misma que fue inyectada con una aguja hipodérmica sobre hojas de cinco plantas de gladiolo con un mes de nacidas; a cada planta se le infiltró 5 ml. de la suspensión, posteriormente se protegieron con una bolsa de polietileno transparente y se conservaron bajo condiciones de invernadero hasta la aparición de síntomas.

3.8.-IDENTIFICACION DE HONGOS

Después de verificar la patogenicidad de los diferentes aislamientos, se procedió a la identificación de los agentes causales, la cual se realizó a través de observaciones al microscopio en las diferentes fases de desarrollo de los hongos, por la sintomatología que manifestaron en el hospedadante, comparación morfológica de estructuras fructíferas y tamaño de esporas, uso de claves, monografías y reportes en la literatura. Posteriormente, de los tejidos afectados se hicieron siembras del patógeno en medios artificiales de los cuales se realizaron preparaciones sobre portaobjetos y se procedió a la observación, comparación y a la medición de los conidios u otras estructuras si era requerido, utilizando un microscopio compuesto previamente calibrado; además se consideró la coloración del hongo y la del medio de cultivo.

3.9.-CARACTERIZACION DE VIRUS

Las plantas que aparentemente mostraron síntomas de virus, fueron procesadas para algunas pruebas de caracterización de acuerdo a la literatura, mediante la técnica de ELISA, observación de inclusiones virales, microscopía electrónica y amplitud de hospedantes.

3.9.1.-Tecnica de ELISA

Para la caracterización de virus mediante la técnica de ELISA, se utilizó la metodología reportada por Teliz y Mora en 1986 (APENDICE 1) estableciéndose esta prueba para el virus mosaico del pepino (VMP), virus del mosaico amarillo del frijol (VMAF), virus de la marchitez manchada del tomate(VMMT), virus de la mancha anular del tabaco (VMA Tab), virus de la mancha anular del tomate (VMA Tom) y virus mosaico del tabaco (VMT). La gama globulina, el conjugado gama globulina-enzima, así como otras sustancias, reactivos y materiales que se utilizaron, fueron proporcionados por el Laboratorio de Usos Múltiples del Dpto. de Fitotecnia de la U. A. Ch. En esta prueba se evaluaron tanto para el cubrimiento como para el conjugado las siguientes diluciones; 1:200, 1:100 y 1:50 para todos los virus en estudio. Para el VMP y para el VMAF se utilizaron "juegos de Agdia" con placas de 96 pozos ya sensibilizadas usandose como enzima a la peroxidasa en lugar de la fosfatasa alcalina. Para algunas reacciones se midió la absorbancia por medio del espectrofotómetro a 405 nm.

Como la literatura señala que algunos virus se transmiten o están presentes en los cormos, de las plantas que resulten positivas, se macerarán sus cormos, y se les aplicara la misma técnica que para el follaje.

3.9.2.-Inclusiones virales

Para determinar si los virus en estudio formaban inclusiones intracelulares, se utilizó hojas de plantas con los mismos síntomas antes mencionados y se les hizo la técnica que a continuación se describe:

1.-Del envés de una hoja enferma se tomaron tiras de epidermis con unas pinzas de punta fina.

2.-Las tiras de epidermis desprendidas se colocaron en portaobjetos ya listos con una gota de colorante Rodamina o Pironina B - Verde de metilo (APENDICE 2), o bien Azul de Bromofenol-mercurio (APENDICE 3).

3.-Se dejaron en el colorante durante 30 minutos y después se lavo con agua destilada para el caso del primer colorante y con agua de la llave para el segundo.

4.-Finalmente, se pusieron unas gotas de glicerina sobre las tiras y se colocó el cubreobjeto, quedando lista para la observación al microscopio compuesto.

3.9.3.-Microscopía electrónica.

3.9.3.1.-Preparaciones a partir de tiras epidérmicas.

De hojas enfermas de gladiolo se tomaron tiras de epidermis, así como pequeños trocitos de tejido los cuales con unas pinzas se colocaron en una gota de ácido fosfotúngstico al 1% con pH 6.9 y en acetato de uranilo al 2%, retirándose en ambos casos el tejido; posteriormente se colocó una rejilla de cobre cubierta con una membrana de formvar al 0.2% sobre la solución, se sacaron inmediatamente y se colocaron en caja de petri para su secado quedando lista para observarla.

3.9.4.-Amplitud de hospedantes.

3.9.4.1.-Condiciones de crecimiento de las plantas.

Esta parte del experimento se realizó en el invernadero de Virología del Programa de Fitopatología del Colegio de Posgraduados en Chapingo, Méx., todas las plantas utilizadas fueron cultivadas en vasos de poliuretano utilizándose suelo fumigado con bromuro de metilo, regándose diariamente y cada 7 días se fertilizó con una solución nutritiva compuesta por N:P:K: (250:250:250: gr.) diluida en 20 litros de agua. Se realizaron aplicaciones ocasionales de insecticidas para el control de insectos.

3.9.4.2.-Plantas utilizadas.

Dado que en pruebas preliminares a través de la técnica de ELISA, se encontró la predominancia de tres virus principalmente, así como la mezcla de ellos, se procedió a utilizar plantas indicadoras para estos virus, pertenecientes a las siguientes familias:

Solanaceae: Nicotiana tabacum var. Samsun, N. rustica,
N. glutinosa, Capsicum annuum, Datura stramonium,
D. metel, Nicandra physaloides y Lycopersicum
esculentum

Chenopodiaceae: Chenopodium amaranticolor y Ch. quinoa

Leguminoceae: Pisum sativum, Phaseolus lunatus, P. cocineus, P. vulgaris var. Flor de mayo y Criollo y Vicia faba.

Cucurbitaceae: Cucumis sativus y Citrullus vulgaris.

3.9.4.3.- Inoculación mecánica.

Se tomó tejido proveniente de las muestras de gladiolo enfermo colectadas en el campo y se maceró en una solución amortiguadora de fosfato 0.1 M, con pH 7.0 en un mortero estéril. La savia obtenida se frotó con un aplicador de algodón en las hojas más tiernas de cada una de las plantas, previamente espolvoreado con carborundum de 400 a 600 mallas; posteriormente a las hojas inoculadas, se les dió una ligera lavada.

4.-RESULTADOS Y DISCUSION

4.1.-ENFERMEDADES FUNGOSAS DEL CORMO

4.1.1.-Pudrición café

En las bodegas muestreadas se colectaron cormos de las diversas variedades comerciales, así como una muestra de cormos importados de las variedades Victor Borques, White friends, Spic and span, Maravilla y Prosperity con síntomas de lesiones irregulares de tamaño variable, a veces coalescentes o deprimidas de color anaranjado, café rojizo o negro dándole un aspecto de momificado hasta dañar el cormo completo (Fig. A); los cormos en ocasiones se cubrían por un micelio blanco con textura esponjosa. Los síntomas descritos fueron comunes en todos los cormos colectados de las regiones muestreadas durante los años de 1993 y 1994, los síntomas coinciden con los descritos por Massey (1926), Carrera (1947) y García y Alfaro (1985), todos ellos consideran que el agente causal es el género Fusarium.

En los cormos dañados al ponerse a esporular en cámara húmeda, crecieron tres micelios distintos pero muy parecidos, uno de ellos de color blanco algodonoso del cual se realizaron preparaciones donde se pudo observar el micelio septado, con una gran cantidad de microconidios uni y bicelulares sobre fiálides en conidióforos cortos tal como lo señala Booth (1975), y en menor escala los macroconidios generalmente con tres septas, aunque se encontraron algunos con cuatro, cinco y seis; así mismo

se encontró la presencia de clamidosporas intercalares, terminales y en cadena con paredes lisas o rugosas sobre todo en esporulaciones viejas; todas estas características son similares a las descritas por Carrera (1947) y por Booth (1971) para el género Fusarium oxysporum.

En los cultivos en PDA, salieron principalmente dos tipos de micelio de aspecto algodonosos, variando en su coloración, uno de color salmón y el otro de color blanco; al transferirse sobre otras cajas de petri del mismo medio, la tasa de crecimiento de ambos después de cuatro días, fue mayor de 2.5 cm. de diámetro.

El micelio de color salmón al ser transferido, cambió su tonalidad al color violeta así como la del medio de cultivo, siendo este más intenso en el reverso de la caja; esta coloración coincide con lo señalado por Booth (1971), Booth (1975) y Snyder y Hansen citado por Romero (1994) para Fusarium oxysporum.

Al observarse al microscopio compuesto, se encontró una gran cantidad de microconidios ovalados o fusiformes, derivados de fiálides simples o de microconidióforos cortos así como macroconidios falcados de paredes delgadas (Fig. B), presencia de clamidosporas intercalares o terminales de paredes lisas o rugosas (Fig. C), tal como lo señala Booth (1975). Después de 25 a 30 días, conforme se iba envejeciendo el hongo sobre el medio de cultivo, la abundancia de las clamidosporas y macroconidios se incrementó, disminuyendo los microconidios, finalmente predominaron las clamidosporas.

Del micelio de color blanco después de varias transferencias en PDA, fue tomando una coloración de color rosa a violeta. Al observarse al microscopio compuesto, se pudo notar la presencia de microconidios, macroconidios y clamidosporas, siendo estos muy diferentes en forma y tamaño a los mencionados anteriormente; en cuanto a los microconidióforos y a las fiálides, estos fueron alargados, coincidiendo estas características con lo reportado por Booth (1975) para F. solani.

También se logró aislar a otra especie de Fusarium con las características siguientes: clamidosporas ausentes, macro y microconidios presentes, estos últimos muy abundantes formando cadenas; en base a estas características, posiblemente se trate de F. moniliforme ya que coincide con lo reportado por Snyder y Hansen citados por Romero (1994).

Con los aislamientos obtenidos se hicieron inoculaciones sobre cormos de la variedad Maravilla; después de 15 días en promedio, se manifestaron los primeros síntomas para el aislamiento de color salmón que coincidió con F. oxysporum, mediante el desarrollo de pequeñas manchas café necrosadas y la presencia del micelio blanco algodonoso; después de los 30 hasta los 45 días, se pudo observar abundante micelio y esporodoquios de color blanco tendiendo al anaranjado, y un momificado casi total del cormo, tal como lo indica García y Alfaro (1985).

De los aislamientos del micelio color blanco, no hubo manifestación agresiva, ya que el hongo después de los 40 días

causó daño, siendo este muy insignificante comparado con el anterior, estos resultados coinciden con lo reportado por García y Alfaro (1985) quienes reportan a F. solani como no patógeno. Con F. moniliforme no existió ningún tipo de daño por lo que no se puede considerar como patógeno de los cormos del gladiolo y pudo ser un saprófito.

Los reaislamientos en PDA de los cormos dañados, exhibieron un crecimiento igual al del aislamiento original antes descrito, encontrando que existe una gran variación en cuanto al tamaño y número de septas de los macroconidios generalmente, pero estos son atenuados en ambas terminaciones, pedicelados y curvados; las clamidosporas fueron más abundantes, apareadas y de paredes más gruesas en medios de cultivos viejos, donde los microconidios tienden a reducirse.

De los reaislamientos hechos en PDA se realizaron mediciones de 100 macroconidios de 3 septas, encontrando una gran variación en tamaño, siendo estos de 22.5-37.3 μ x 4.1-4.5 μ ; esta variabilidad en longitud también es reportada por Massey (1926) y por carrera (1947) para F. oxysporum f. sp gladioli; las mediciones obtenidas, coinciden con las citadas por los autores antes mencionados.

Los cormos que manifestaron síntomas, antes de que se momificaran totalmente fueron sembrados sobre macetas en suelo esterilizado; estos germinaron y después de 30 días, empezaron a manifestar los síntomas de amarillamientos de hojas, curvándose

la planta hasta tomar el aspecto de cuerno o de "asta de toro" tal como lo señala García y Alfaro (1985).

En base a los síntomas observados y reproducidos en los cormos, a las características morfológicas del hongo tales como tamaño de macroconidios, presencia de clamidosporas intercalares, terminales, apareadas, de paredes lisas y/o rugosas, microconidióforos cortos, coloración de las colonias y los síntomas en follaje observados (Fig. D) y reproducidos, permiten asegurar que el patógeno causante de esta enfermedad es Fusarium oxysporum f. sp. gladioli, constituyendo el principal problema de los cormos almacenados en todas las regiones gladioleras muestreadas.

4.1.2.- Pudrición seca del gladiolo

Otro de los problemas comunmente encontrados fue sobre las escamas que envuelven a los cormos y cormillos almacenados, donde se observó un secamiento de estas, haciendolas muy quebradizas, así como la presencia de pequeñas manchas de color negro cafésoso y en muy raras ocasiones se pudo observar la presencia de pequeños esclerocios negros; estas manchas se manifiestan en el cormo como pequeñas lesiones café rojizas, que al desarrollarse provocan deformaciones sobre éste, los cuales toman un color negro dándole un aspecto momificado; estos síntomas coinciden con lo reportado por Massey (1928), Drayton (1934a) y Gould (1958).

Pequeños trozos de cormos dañados, así como esclerocios

obtenidos de estas lesiones se sembraron en PDA, donde se obtuvo al inicio micelio blanco, septado, de aspecto muy fino y sedoso, con crecimiento radial muy rápido cubriendo la caja petri en menos de 10 días; después de este período se empezó a notar la desaparición del micelio y el desarrollo de los esclerocios mediante la presencia de pequeñas estructuras blancas (Fig. E) de aspecto más o menos globoso, las cuales se fueron haciendo más oscuras, hasta quedar completamente negros; en cultivos con 25 ó más días de sembrados se encontraron microconidios (Fig. F); todas estas características coinciden con lo reportado por Massey (1928) para Stromatinia gladioli.

Al realizar inoculaciones sobre cormos de la variedad Maravilla, se notó un desarrollo micelial invadiendo completamente a este órgano, causándole una pudrición total. Al reaislar nuevamente al patógeno, se pudo obtener el mismo hongo con las características antes mencionadas.

En base a los síntomas observados en los cormos de almacén, y a las características morfológicas de crecimiento, desarrollo de esclerocios, y de microconidios en cultivos viejos, así como a los síntomas reproducidos del hongo sobre cormos, se puede deducir que el agente causal de la pudrición seca del gladiolo es Stromatinia gladioli, ya que coincide con lo reportado por Massey (1928), Drayton (1934a) y Gould (1958).

Esta enfermedad predominó más en la región de Villa Guerrero, Edo. de México, manifestándose en el período de lluvias

por la alta humedad relativa.

4.1.3.-Pudrición del cormo

Durante los muestreos de cormos en las diversas bodegas de las diferentes regiones gladioleras que se visitaron, se encontraron sobre la superficie del cormo pequeñas lesiones irregulares, hundidas, algunas alargadas, otras a manera de meniscos o de mayor tamaño, todas de color obscuro, siendo más intenso este color en los bordes. Estas características coinciden con algunos de los síntomas mencionados por Parmelee (1954) para Curvularia sp., y por García y Alfaro (1985) para C. trifolii, aunque hay otras citas de Bald y Brian (1954) que mencionan a C. lunata.

Al poner pedazos de tejido enfermo en cámara húmeda, se observó la presencia de conidióforos simples de color obscuro, llevando sobre el ápice sus conidios del mismo color, de 3 a 4 células, estas típicamente inclinadas con una de las células centrales ensanchada tal como lo señala Barnett y Hunter (1987) para el género Curvularia.

Los aislamientos de tejido enfermo en PDA mostraron un micelio oscuro el cual produjo conidios oscuros de 3 a 4 células, siendo más abundante los primeros; en estos conidios se detectó la presencia del hilum sobresaliente.

Con los aislamientos obtenidos se hicieron inoculaciones

sobre cormos previamente punzados y fueron colocados en cámara húmeda. Después de 15 días se empezó a manifestar la presencia de un micelio oscuro sobre pequeñas lesiones ligeramente hundidas en los cormos; dichas lesiones fueron haciéndose más grande y negras con el paso del tiempo hasta cubrir gran parte del cormo.

De los reaislamientos hechos en PDA los cuales coincidieron con los aislamientos originales, se realizaron mediciones de conidios en el microscopio compuesto previamente calibrado, donde se encontraron tamaños desde $21.3 \times 9.6 \mu$, hasta $36 \times 16.8 \mu$, con un tamaño promedio de $27.7 \times 12.57 \mu$ con una relación l/a de 2.21 μ , coincidiendo esta relación con los datos indicados por Parmelee (1956) de conidios obtenidos en PDA de la variedad Spic & Span para C. trifolii f. sp. gladioli

En base a los síntomas observados y reproducidos en cormos tal como lo indica Parmelee (1954), y a las características de los conidios como la presencia del hilum sobresaliente (Fig. H), tamaño y relación largo por ancho semejante a lo encontrado por Paemelee (1956), permiten asegurar que el causante de esta enfermedad en los cormos es Curvularia trifolii f. sp. gladioli.

Los cormos con los síntomas descritos fueron muy escasos durante todas las épocas del año de 1993 y de 1994, lo que nos hace suponer que esta enfermedad no es de mucha importancia en México; sin embargo no se coincide con lo señalado por Leyva (1992), quien estimó daños del 75%.

4.1.4.-Pudrición verde

De todas las bodegas muestreadas así como en lotes de cormos importados, fue muy común encontrar sobre todo en la parte media basal del cormos la presencia de moho polvoriento de color verde, (Fig. I), así como lesiones de color pardo, un poco hundidas donde se notó al ponerlos en cámara húmeda, un micelio blanquecino sobre dichas lesiones. Características similares fueron encontradas en la parte exterior del cormo, asociadas con otro tipo de pudriciones causadas por Fusarium oxysporum.

En los cormos enfermos se identificaron conidióforos largos ramificados con una o dos ramas derivadas de un eje principal, un poco rugosos; dichas ramas terminando en una fiálide de donde se derivaban una gran cantidad de conidios subglobosos, lisos, hialinos formando largas cadenas, los cuales son fácilmente desprendibles, dichas características coinciden con las reportadas por Raper y Thom (1949) y Romero (1994) para el género Penicillium.

Al realizar aislamientos en PDA de trocitos de cormo con lesiones, estos mostraron un micelio de color verde, y al microscopio estereoscópico se observaron los conidióforos y gran cantidad de esclerocios dispuestos en forma concéntrica tal como lo señala Raper y Thom (1949) para Penicillium en medio de Czapek.

Con los aislamientos obtenidos se hicieron inoculaciones

sobre cormos previamente punzados de la variedad Maravilla, los cuales fueron conservados en bolsas de plástico, manteniéndolos con humedad alta. Después de 7 días se manifestaron pequeñas lesiones de color pardo claro, al inicio con la presencia de un polvillo verde oscuro, después adquirieron un color parduzco necrozado, invadiendo todo el cormo.

Los reaislamientos en PDA exhibieron un crecimiento igual al del aislamiento original ya descrito, con la presencia de conidióforos largos en fascículos, penicilados, ramificados (Fig. J), con paredes rugosas y con una producción abundante de esclerocios a temperatura ambiente; al transferirse el hongo sobre malta agar a temperatura de laboratorio, produjo colonias delgadas, suaves y con pocas estructuras conidiales tal como lo señala Raper y Thom (1949), para P. gladioli.

Aunque no se pudieron realizar todas las pruebas necesarias para la determinación de la especie tales como el crecimiento en medio de "Czapek" por falta de reactivos y la medición de conidios por ser muy pequeños, se puede decir que la pudrición verde del cormo es causada por Penicillium gladioli, ya que coincide en gran parte con los síntomas reportados por García y Alfaro (1985) y con las características morfológicas reportadas por Raper y Thom (1949).

La presencia de este patógeno es muy común en todas las bodegas de cormos, inclusive en los cormos importados cuando existe alta humedad relativa o descuido por parte de los

productores en sus bodegas; su daño no es muy agresivo.

4.1.5 Moho gris o Podredumbre parda

La pudrición de los cormos causada por Botrytis no fue encontrada en las áreas muestreadas, sin embargo de los aislamientos hechos del follaje, se pudo obtener el hongo con el cual se inocularon cormos de la variedad Maravilla, se encontró resultados satisfactorios después de 21 días, lograndose reproducir los síntomas reportados por García y Alfaro en 1985, el síntoma fue una podredumbre parda sobre las partes punzadas e inoculadas, donde se observó el desarrollo de un moho de aspecto gris y pulverulento, producto de sus fructificaciones; en la parte interna del cormo, se encontró el tejido esponjoso y necrosado.

4.2.-ENFERMEDADES FUNGOSAS DEL FOLLAJE

4.2.1.- Pudrición del cuello o pudrición seca del gladiolo

De las plantaciones de gladiolo muestreadas en las diversas regiones, se colectaron plantas de las diferentes variedades y edades con achaparramiento y amarillamiento de la planta, con la base de los tallos y de las hojas envainadoras desintegradas dando una coloración café o negra, así mismo se encontró muerte prematura de plantas ya sea sola o en grupos.

Aunque Massey (1926), Goul (1958) y Gary (1988), reportan

estos síntomas generalmente en cultivos para producción de flor, también se encontró en plantas destinadas para el crecimiento de los cormillos en Villa Gro., Edo. de México durante el mes de enero de 1995, donde pequeños lotes estaban totalmente destruidos. Los síntomas descritos fueron más comunes en plantas para flor, observándose en todas las variedades comerciales siendo mayor la incidencia de la enfermedad durante los meses de julio y agosto de 1993 y 1994 que son los meses más lluviosos, aunque no es nada raro encontrarlo en otras épocas del año en lugares con mucha humedad. En la región de Atlixco, Pue. y Cuautla, Mor., solo se encontró en pequeñas áreas mal drenadas. Las plantas enfermas son fácil de desprenderse dejando el corno enterrado.

En las plantas enfermas fue muy comun encontrar entre la base de las hojas un moho blanco sedoso, grisáceo, septado; además una gran cantidad de pequeños esclerocios de color blanco, café y negro (Fig G); estas estructuras también fueron observadas sobre los cormos de las plantas dañadas; todas estas características concuerdan con la descripción que hace Massey (1926), Drayton (1934a) y Gould (1958) para el género Stromatinia.

Los aislamientos de los esclerocios en PDA después de cuatro días, mostraron un micelio blanco, aspecto sedoso, con puntas miceliales aéreas (Fig, E), septado, con un crecimiento rápido de tipo radial al principio, cubriendo y saturando la caja de petri en un lapso de 7 a 9 días bajo condiciones de laboratorio,

donde produjo una gran cantidad de esclerocios después de los 14 días de aislado tal como lo señala Massey (1926); dichos esclerocios al inicio fueron blancos, después cafés y finalmente negros de tamaño variable a simple vista.

En los cultivos del hongo en PDA después de 25 días, se observaron abundantes esclerocios de color negro, así como un micelio muy tenue y escaso, el cual al mirarse al microscopio compuesto se pudo detectar pequeños microconidios en cadena (Fig. F) de forma esférica sobre conidióforos ramificados tal como lo describe Massey (1926) para Sclerotium gladioli.

Con los aislamientos realizados se hicieron inoculaciones sobre la base de plantas pequeñas, así como a cormos mantenidos en cámara húmeda. Después de 13 días se notó sobre los cormos un micelio blanco cubriéndolo totalmente, con características muy similares a las descritas anteriormente; estos cormos se sembraron sobre macetas con suelo estéril y al germinar salieron plantas con el tallo y hojas muy débiles, después de un mes de nacidas, se manifestaron síntomas de amarillamiento y secamiento del follaje. En las plantas inoculadas, los síntomas se manifestaron después de los 30 días como un amarillamiento del follaje el cual al jalarsse con la mano, fue fácilmente desprendido del cormo, síntoma muy comun en el campo. La presencia de esclerocios fue muy escasa comparada con los encontrados en el campo, quizás por las condiciones ambientales que prevalecen en los invernaderos de la U.A.Ch.

Los reaislamientos en PDA exhibieron un crecimiento muy similar al del aislamiento original ya descrito anteriormente. Los aislamientos del hongo en PDA fueron incubados a 28°C para confirmar lo reportado por Beute (1971), el cual señala que este hongo inhibe su crecimiento después de los 28°C, encontrando que a esta temperatura el crecimiento micelial fue mas rápido comparado con el testigo, pero no hubo formación de esclerocios, mientras que en el testigo su crecimiento fue más lento y después de los 14 días se formaron dichas estructuras.

De acuerdo a las características del micelio, a la presencia de esclerocios y microconidios después de los 25 días, y a los síntomas observados y reproducidos en el cultivo del gladiolo, permiten asegurar que el patógeno causante de la pudrición seca y pudrición del cuello de este cultivo es Stromatinia gladioli (Drayt.) Whetz.

4.2.2.- Tizón o moho gris de la gladiola

En la región de Villa Guerrero, Edo. de México, durante los meses de agosto, septiembre y octubre de 1994, época en la que existió mucha humedad relativa en el ambiente, así como una temperatura más fría, se colectaron algunas plantas de las variedades Maravilla, Blanca espuma y Lupita con síntomas en el follaje, así como en las hojas basales envolventes y en las flores (Fig. L), que fueron pequeños puntos café grisáceos, estos al avanzar provocaban lesiones café claras mas o menos ovales o alargadas, ligeramente blandas; esta pudrición en condiciones

húmedas se desarrolló rápidamente, provocando un amarillamiento, doblamiento de la espiga floral y muerte del follaje, haciéndose evidente el hongo por la presencia de un moho gris polvoso (Fig. K).

La incidencia estimada sobre plantas enfermas con los síntomas antes descritos en plantaciones bajo control fue de un 20-25 % sobre follaje y en hojas envainadoras; en flores fue menos del 1%. En cultivos abandonados se pudo apreciar casi un 90% en todos los órganos antes mencionados.

Otro de los daños no reportados por los autores anteriores con los síntomas ya descritos, fue la presencia de manchas alargadas de color café rojizo sobre las puntas de las hojas de todas las variedades antes mencionadas, con esporulaciones del hongo con aspecto polvoso (Fig. M), así como pequeños esclerocios de forma irregular de color negro típico del género Botrytis como lo señala Garcia y Alfaro (1985) y Gary (1988).

El hongo fue aislado en PDA de manchas foliares, hojas envainadoras y de flores de la variedad Maravilla, donde hubo poca esporulación de un color grisáceo, y se pudo observar la formación de esclerocios después de diez días.

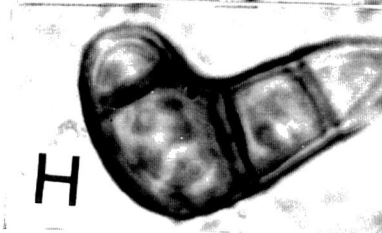
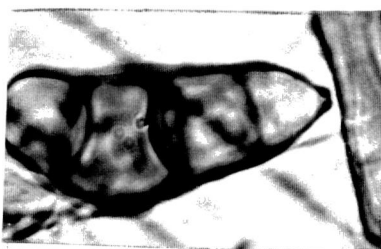
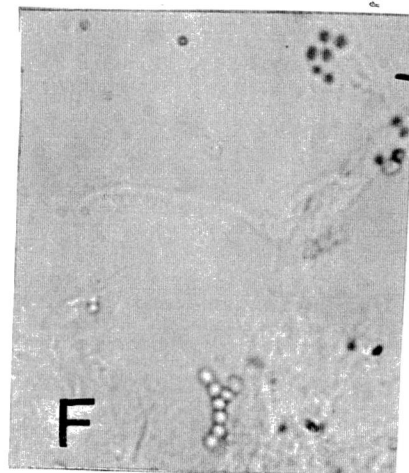
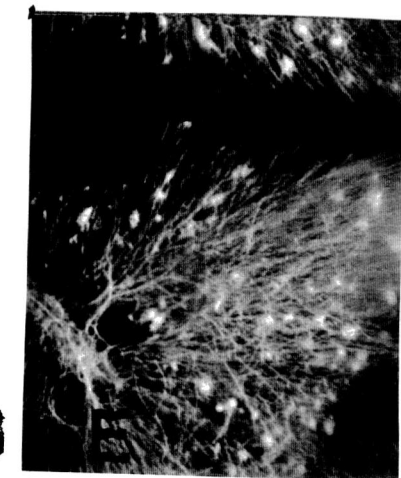
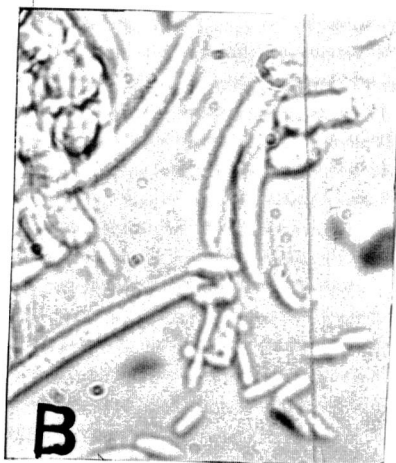
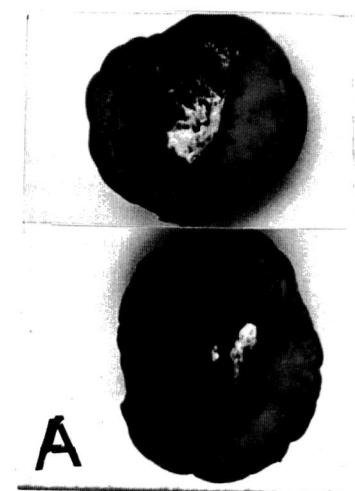
Las pruebas de patogenicidad fueron realizadas sobre la variedad Maravilla, donde se logró reproducir los síntomas característicos ya descritos sobre el follaje. De las inoculaciones realizadas a través del contacto de tejido enfermo

con plantas sanas, también se lograron reproducir dichos síntomas.

Los reaislamientos mostraron características morfológicas similares a las de los aislamientos originales y a las del hongo obtenido directamente de las lesiones del follaje como: conidióforos septados, grandes, gruesos, de color café oscuro, con el ápice de las ramas hinchado del cual salen las esterigmas que producen a los conidios en racimo; estos son lisos, unicelulares, de color café claro, ovoides a subglobosos (Fig. N).

El tamaño en una muestra de 100 conidios medidos fue de $9.6 \times 7.2 \mu$ el más chico, hasta $16.8 \times 14.4 \mu$ el mayor, con promedio de $13.2 \times 10.8 \mu$; estos valores se aproximan a los reportados por McClellan et al. (1949) quien reporta un tamaño promedio de $15 \times 10 \mu$ para Botrytis gladiolorum; en base a estas medidas se descarta a B. gladioli cuyas conidios según este mismo autor son largos y angostos con un tamaño promedio de $10.4 \times 4.7 \mu$, así como a B. cinerea cuyo tamaño promedio de sus conidios es de $13 \times 7.4 \mu$ según Mendoza (1987).

Las características morfológicas de este hongo (Fig. N) y la sintomatología observada en el campo coinciden con las reportadas por Bald (1953), Gary (1988) y por McClellan et al. (1949) para Botrytis gladiolorum, por lo que se puede concluir que este hongo es el causante del tizón o moho gris de la gladiola en Villa Guerrero, Edo. de México.



F. oxysporum f. sp. *gladioli*: A) Cormos dañados, B) Macro y microconidios, C) Clamidosporas, D) Síntomas en campo; *S. gladioli*: E) Desarrollo de esclerocios, F) Microconidios, G) Síntomas en campo; *C. trifolii* f. sp. *gladioli* H) Conidios; *P. gladioli* I) Síntomas en cormo.

4.2.3.-Mancha foliar

En uno de los muestreos realizados en la región de Villa Gro., Edo. de México, en el mes de julio de 1994, se encontraron 3 plantas de gladiolo, donde se pudo observar sobre el follaje una serie de manchas alargadas, anguladas rodeada por un borde café rojizo, con el centro café claro (Fig. P), fácilmente destruible; sobre las manchas se pudo observar la presencia de pequeñas picnidios de color negro, así mismo se encontró anexo a los síntomas antes mencionados y en forma un poco independiente unas manchas de color blanco, donde no se observó ningún tipo de estructuras fructíferas.

De las manchas café rojizas se trató de hacer aislamientos en medio de PDA obteniendo resultados negativos, al tratar de hacer cortes al microscopio de disección de los picnidios, no se encontraron estructuras; no se pudo continuar la investigación de este patógeno por la falta de material fresco en el laboratorio y por la escases de follaje con síntomas en el campo.

En base a las observaciones del material y a la presencia de picnidios podría suponerse que se trata del género Septoria ya que coincide con lo reportado por Stone (1958). Este patógeno no representa un problema grave en el follaje para la región de Villa Guerrero, donde fue localizado, quedando pendiente para estudios posteriores la confirmación del patógeno.

4.3.- ENFERMEDADES DE ETIOLOGIA VIRAL

4.3.1.-Virus mosaico amarillo del frijol (VMAF)

En las áreas muestreadas se colectaron plantas completas de gladiolo de las variedades Lupita, Blanca espuma, Maravilla y Spik & span, con síntomas de mosaicos, moteados, estriados, moteado tipo calicó (Fig. Q), algunas con achaparramientos y con espigas florales cortas, comunes en las diversas regiones muestreadas y en todas las variedades mencionadas durante todas las épocas del año de 1993 y 1994, con una incidencia del 25 hasta el 80%.

Las plantas colectadas, se probaron con 6 antisueros de virus diferentes mediante la técnica de ELISA, y se encontró una reacción positiva con el antisuero del VMAF en un 90% de las plantas procesadas. Estas pruebas fueron repetidas con todas las colectas realizadas durante los años de 1994-1995, encontrándose aproximadamente el mismo porcentaje de incidencia.

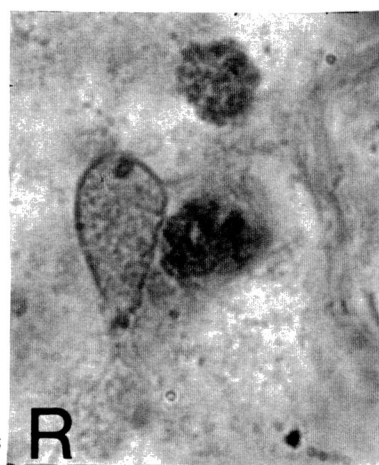
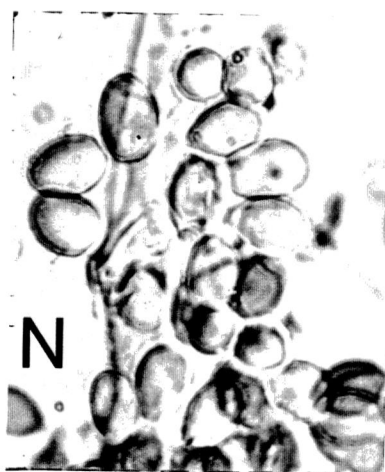
Cormos de las plantas que resultaron positivas con el VMAF fueron procesados mediante la misma técnica encontrando resultados negativos en todas las pruebas corridas, coincidiendo con los resultados obtenidos por Stein et al. (1979) y por Stein et al. (1988) por lo que es difícil caracterizar a este virus a través de este órgano, ya que según estos autores existen dentro del cormo ciertas sustancias que interfieren en la prueba.

La observación al microscopio compuesto de epidérmis de plantas con reacción positiva al VMAF por (ELISA), se pudo detectar la presencia de inclusiones virales amorfas y granulosa tal como lo reporta Hollings y Brunt (1981), Srivastava et al. (1984) y Cárdenas (1986) para el VMAF (Fig. R).

En observaciones al microscopio electrónico se pudo detectar diversas partículas filamentosas, flexibles cuya forma lo mencionan Hollings y Brunt (1981) y Srivastava et al. (1984). para el VMAF.

En cuanto al rango de hospedantes, se encontraron resultados positivos en los siguientes plantas: Pisum sativum con mosaicos y moteados; en Phaseolus vulgaris se manifestó una infección sistémica; en P. lunatus lesiones sistémicas y moteado y en Chenopodium amaranticolor se presentaron lesiones locales; los resultado obtenidos coinciden con lo reportado por Bos (1970) y por Hollings y Brunt (1981) para el VMAF.

En base a los síntomas observados que coinciden con los reportes de Beute et al. (1970), Zettler y Alvo (1977) y Srivastava et al. (1984) y a los resultados obtenidos mediante la técnica de ELISA, inclusiones virales, microscopía electrónica y rango de hospedantes, se puede concluir que el virus del mosaico amarillo del frijol (VMAF) se encuentra en todas las regiones gladioleras muestreadas, con alta incidencia durante todas las épocas del año ya que el 90% de las plantas procesadas en ELISA dió resultados positivos. Este virus se encontró sólo,



P. gladioli: J) Conidióforos; *B. gladiolorum*: K) Síntoma reproducido, L) Daños en flores, M) Puntas de hojas dañadas, N) Conidióforo y conidios; *Septoria* sp. P) Daño en hojas; VMAF: Q) Síntomas en follaje, R) Inclusiones virales; VMP: S) Síntomas en follaje

así como mezclado con otros virus, por lo que los síntomas pueden ser variables, siendo más comunes los moteados claros y oscuros, moteados tipo calicó y los mosaicos.

4.3.2.-Virus mosaico del pepino (VMP)

De las regiones muestreadas durante los años de 1993 y 1994, se encontraron plantas con síntomas de ahaparramiento y estriado clorótico generalmente, aunque también se detectaron estos síntomas mezclados con mosaicos, moteados, presencia de pequeños cuadros entre dos nervaduras en el follaje, y en pocas ocasiones el arrugamientos y deformación de flores, sobre todas las variedades comerciales cultivadas. Así mismo, en la región de Cuautla, Mor., durante los meses de octubre y noviembre de 1994, se encontraron plantas de la variedad Spic & Span con síntomas de mosaicos y estriados en el follaje produciendo sus espigas florales con una virescencia dando el aspecto de atigrado de las flores.

Las plantas con los síntomas antes mencionados, fueron probadas mediante la técnica de ELISA usando los mismos antisueros que en el caso anterior, encontrando un 50% de resultados positivos para el VMP; así mismo se encontró este virus mezclado en la mayoría de las pruebas con el VMAF y con el VMMT.

A los cormos de las plantas que dieron resultados positivos para el VMP, se les hizo también técnica de ELISA, obteniendo los

misimos resultados en la mayoría de las pruebas, esto coincide con los reportes hechos por Stein et al. (1979) y por Stein et al. (1988) quienes mencionan que el virus mosaico del pepino (VMP) es fácilmente detectado en cormos mediante esta técnica.

De las plantas que resultaron positivas para el VMP en la prueba de ELISA, se hicieron preparaciones con tiras de epidérmis para observarse al microscopio compuesto y poder determinar la presencia de inclusiones virales; estas se encontraron en muy raras ocasiones, siendo muy densas, con bordes angulados, aparentando un rombo, tal como lo reporta Cárdenas (1986). No se pudo encontrar las partículas del VMP al microscopio electrónico.

En cuanto a la amplitud de hospedantes, se encontraron reacciones positivas para el VMP en Pisum sativum con moteado y mosaico sistémico; en Phaseolus vulgaris con infecciones sistémicas; Nicotiana tabacum y N. glutinosa con moteados muy tenues y manchas anulares, y en Chenopodium amaranticolor se presentaron lesiones locales; Franck et al. (1979) y Alvizo y Lozoya (1987), mencionan los mismos síntomas para el VMP. Las primeras reacciones se empezaron a manifestar después de los 18 días de la inoculación, quizás por la presencia de bajas temperaturas durante los meses de noviembre y diciembre de 1994, época en la que se realizaron estas pruebas.

En base a los síntomas observados en el campo (Fig. S) similares a a los reportados por Heinis (1954) y McWhorter

(1957), a las pruebas de ELISA, presencia de inclusiones y amplitud de hospedantes, se puede decir que el virus mosaico del pepino (VMP) se encuentra en todas las regiones gladioleras del presente estudio, siendo el síntoma más común los estriados. Su incidencia fue menor que el VMAF.

4.3.3.-Virus de la marchitez manchada del tomate (VMMT)

De las regiones en estudio y en las mismas épocas, se colectaron plantas con moteados cloróticos bien definidos, así como clorosis, achaparramientos y una mezcla de mosaicos, moteados y estriados, siendo todos estos síntomas más comunes en Villa Guerrero, Edo. de México y en menor escala en Atlixco, Pue.

Al ser procesadas estas plantas para determinar la presencia de virus mediante la técnica de ELISA, se logró obtener resultados positivos, pero poco convincentes para el virus de la marchitez manchada del tomate, la coloración obtenida después de agregar el p-nitrofenil fosfato en cada uno de los pozos fue muy tenue, esto quizás a la poca concentración del virus en los tejidos enfermos, a la inestabilidad de la partícula, o bien a fallas de los antisueros usados. Cabe mencionar que se procesaron una gran cantidad de plantas con síntomas de mosaicos bien definidos y no se lograron resultados positivos satisfactorios como lo señala Figueroa y Cárdenas (1994), así como Pinto en el mismo año para el VMMT.

En cuanto a las inclusiones virales del VMMT, estas se

lograron observar pero muy escasas y no muy bien definidas; la partícula no se logró observar en el microscopio electrónico, tampoco hubo resultados positivos al usar plantas diferenciales.

En base a los resultados obtenidos, se puede deducir que el virus de la marchitez manchada del tomate durante los meses de julio a noviembre de 1994, en las regiones muestreadas se encontró de manera escasa o dudosa. Los síntomas de mosaicos reportados por Figueroa y Cárdenas (1994) y Pinto (1994) para el VMMT en gladiolo no reaccionaron en forma positiva para este virus, pero si para el VMAF.

Cuadro 1. Enfermedades encontradas en gladiolo en las principales regiones florícolas de México en 1993 y 1994.

Patógeno	Cormos almacén	Cormos campo	Follaje	Flor
<u>F. oxysporum</u> f. sp. <u>gladioli</u>	*	*		
<u>Stromatinia gladioli</u>	*	*	*	
<u>C. trifolii</u> f. sp <u>gladioli</u>	*			
<u>Penicillium gladioli</u>	*			
<u>Botrytis gladiolorum</u>			*	*
<u>Septoria</u> sp.			*	
VMAF			*	*
VMP		*	*	*
VMMT			*	

Cuadro 2. Amplitud de hospedantes y síntomas presentados del VMAF y del VMP encontrados en gladiolo en 1994.

Hospedante	VMAF	VMP
<u>Pisum sativum</u>	M y MO	MO y MS
<u>Phaseolus vulgaris</u>	IS	IS
<u>P. lunatus</u>	LS y MO	
<u>C. amaranticolor</u>	LL	LL
<u>Nicotiana tabacum</u>	MOT y LL	
<u>N. glutinosa</u>	MOT y LL	

M=Mosaico, MS=Mosaico sistémico, MO=Moteado, IS=Infección sistémica, LS=Lesión sistémica, LL=Lesión local, MOT=Moteado tenue.

5.-CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en la presente investigación, se concluye lo siguiente:

- 1.-En los cormos almacenados de las diversas regiones muestreadas, el principal patógeno es Fusarium oxysporum f. sp. gladioli, después Stromatinia gladioli, Curvularia trifolii f. sp. gladioli y Penicillium gladioli.
- 2.-En las tres regiones bajo estudio se encontró en el cultivo a F. oxysporum f. sp. gladioli durante todas las épocas del año; Stromatinia gladioli y Botrytis gladiolorum en el período de lluvias, siendo más común en la región de Villa Guerrero, Edo. de México. Septoria sp. sólo se encontró en tres plantas en la región antes mencionada.
- 3.-Los virus encontrados fueron: mosaico amarillo del frijol en un 90% de las plantas con síntomas de mosaicos y moteados y el virus mosaico del pepino en un 50%, en plantas con síntomas de estriados, así como en cormos de plantas infectadas. El virus de la marchitez manchada del tomate sólo se pudo determinar mediante ELISA, siendo poco convincente el resultado.
- 4.-En cormos y follaje se aislaron tres tipos de bacterias, mismas que no cumplieron con los postulados de Koch, razón por la cual no se continuo con la investigación.

6.-BIBLIOGRAFIA

- Aloj, B.; Albano, V. and Garibaldi, A. 1982. Research on some epidemiological aspects of the gladiolus rust Uromyces transversalis Review of Plant Pathology. 61:491.
- Alper, M. and G. Loebenstein. 1981. Bean yellow mosaic virus in bulbous iris in Israel. Plant disease. 65:694-695
- Alvizo Villasana, H. F. y Lozoya, H. 1987. Virus de cucurbitaceas. En: Temas de virología II. Ed. por Alvizo, V. H. F. y Rodríguez, M. R.. Sociedad Mexicana de Fitopatología. México.
- Aly, R.; Stein, A.; Levy, S.; Raccah, B. and Loebenstein, G. 1987. Spread and control of cucumer mosaic virus in gladiolus. Review of Plant Pathology. 66:207.
- Anónimo. 1991. Estadísticas de importaciones de flores realizadas por E. U. A. por tipo de flor y país. Floricultura Intensiva # 2. México. pp. 29-32.
- Anónimo. 1992a. Anuario Estadístico de la Producción agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. 1990. Tomo 1. Subsecretaría de Planeación. Dirección General de Estadística. pp. 138-140.
- Anónimo. 1992b. Estrategia Nacional de mediano plazo (1992-1999) de desarrollo y promoción de exportaciones de flores. Dirección General de Política Agrícola. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México. pp. 35.
- Bald, J. G. 1953. Neck rot phase of the Botrytis disease of gladiolus. Phytopathology. 43:167-171.

- Bald, J. G. and Brian, B. M. 1954. Curvularia disease of gladiolus in California. Plant Disease Reporter. 38:796.
- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. 1987. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. MacMillan Publishing Company. United State of America. pp. 218.
- Bellardi, M. G.; Vicchi, C. and Gelli, C. 1988. Stunting of gladiolus flower spike associated with tobacco streak virus. Review of Plant Pathology. 67:374.
- Bellardi, M. G. and Pisi, A. 1985. Survey of gladiolus viruses in Italy. Review of Plant Pathology. 64:498.
- Bertaccini, A. and Marani, F. 1984. Mycoplasma-like organisms in Gladiolus sp. plants with malformed and virescent flowers. Review of Plant Pathology. 63:16.
- Bertaccini, A.; M. G. Bellardi; M. Vibio; I. M. Lee and R. E. Davis. 1992. Detection of micoplasmalike organisms in gladiolus using microscopy and DNA-PROBES. Acta Horticulturæ. 325:703-707.
- Beute, M. K.; R. D. Milholland and G. V. Gooding, jr. 1970. A survey of viruses in field-grown gladiolus in North Carolina. Plant Disease Report. 54:125-127.
- Beute, M. K. 1970. Effect of virus infection on susceptibility to certain fungus disease and yield of gladiolus. Phytopathology. 60:1809-1813.
- Beute, M. K. 1971. Factors affecting stromatinia root rot of gladiolus. Phytopathology. 61:1329-1331.
- Beute, M. K. 1973. Increased leaf exudation enhances Curvularia leaf spot. Severity in virus-infected gladiolus. Phitopathology. 63:1204-1205.

- Boelema, B. H. 1980. Pseudomonas marginata on gladiolus in the Transvaal. Review of Plant Pathology. 59:569.
- Bos, L. 1970. Bean yellow mosaic virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of plant viruses # 40.
- Booth, C. 1971. The genus fusarium. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England. pp. 195.
- Booth, C. 1975. The present status of Fusarium taxonomy. Ann. Rev. Phytopathol. 13:83-93.
- Bozarth, R. F. and M. K. Corbett. 1958. Tomato ringspot virus associated with stunt or stub head disease of gladiolus in Florida. Plant Disease Report. 42:217-221.
- Bradbury, J. F. 1986. Guide to Plant Pathogenic Bacteria. CAB International Mycological Institute. pp. 110-111 y 198-222.
- Cárdenas, S. E. 1986. Diagnostico de virus mediante inclusiones virales. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Mexico. pp. 71.
- Carrera, J. M. C. 1947. Estudio de una nueva enfermedad del gladiolo en la República de Argentina. Folleto. Ministerio de Agricultura de la Nación. Instituto de Sanidad Vegetal. Buenos Aires, Argentina. pp. 8
- Creager, D. B. 1945. Rhizoctonia neck rot of gladiolus. Phytopathology. 35:230-232.
- Darvas, J. M. 1985. The occurrence of Stromatinia gladioli in South Africa. Review of Plant Pathology. 64:256.
- D'Aullerio, A. Z. and Valle, E. D. 1986. The main fungal disease of gladioli. Review Plant Pathology. 65:138.
- Drayton, F. L. 1934a. The gladiolus dry rot caused by Sclerotinia gladioli (Massey) N. Comb. Phytopathology. 24:397-404.

- Drayton, F. L. 1934b. The sexual mechanism of Sclerotinia gladioli. Mycologia. 26:46-17.
- El-Goorani, M. A.; Abo-El-Dahab, M. K. and F. F. Mehیار. 1974. Interaction between root knot nematode and Pseudomonas marginata on gladiolus corms. Phitopathological Notes. 64: 271-272.
- Emmons, C. W. 1935. The ascocarps in species of Penicillium. Mycologia. 27:129-149.
- Figueroa-González, R. y M. Cárdenas-Alonso. 1994. Caracterización de aislamientos del Virus de la marchitez y manchado del tomate en ornamentales. Memorias del Congreso Nal. de Horticultura Ornamental. Chapingo, Edo. de México. p. 22.
- Forsberg, J. L. 1955. The use of insecticides as corm and soil treatments for control of bacterial scab of gladiolus. Plant Disease Report. 39:106-114.
- Forsberg, J. L. 1970. A comparison of the effects of thiram and benomyl used as gladiolus corm treatmrnts. Plant Disease Report. 54:289-290.
- Francki, R. I. B; Mossop, D. W. and Hatta, T. 1979. Cucumer mosaic virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of plant viruses # 213.
- Francki, R. I. B. and T. Hatta. 1981. Tomato spotted wilt virus in: Handbook of plant virus infection and comparative diagnosis. Ed. por E. Kurstak. International Comparative Virology Organization. Montreal, Canada. pp 492- 511.
- García, J. J. y Alfaro, G. A. 1985. Inspección fitosanitaria del bulbo de gladiolo: Estudio básico. Boletín del Servicio Contra Plagas e Inspección Fitopatológica # 3. Ministro de

- Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España. 71 pp.
- Gary, J. W. 1988. Gladiolos. En: Introducción a la Floricultura. por Roy, A. Larson. Editor. A. G. T. Mex. pp. 147-161.
- Garibaldi, A. and B. Aloj. 1980. Observations on biology and control of Uromyces transversalis (Thum) Winter on gladiolus in Southern Italy. Acta Horticulturae. 109:409-413
- Georgieva, M. and Peikova, E. 1978. Fusarium and penicillium rots of stored gladiolus bulbs and their control. Review of Plant Pathology. 57:61.
- Gould, J. C. 1958. The dry rot disease of gladiolus. Plant Disease Reporter. 42:1011-1024.
- Graves, A. E., Goldman, S. L., Banks, S. W. and Graves, A. C. F. 1988. Scanning electron microscope studies of Agrobacterium tumefaciens attachment to Zea mays, Gladiolus sp. and Triticum aestivum. Review of Plant Pathology. 67:406
- Haasis, F. A. 1954. Control of dry rot of gladiolus corms in storage with fungicides applied after harvest. Plant Disease Report. 38:518-520.
- Hawker, E. L. 1944. Diseases of the gladiolus I. Control of hard rot due to Septoria gladioli, by fungicidal treatment of corms. Ann. Appl. Biol. 31:204-210.
- Heinis, J. L. 1954. Gladiolus virus survey in Oregon in 1954. Plant Disease Report. 38:733-735.
- Hollings, M. and A. A. Brunt. 1981. Potyviruses in: Handbook of plant virus infection and comparative diagnosis. Ed. por E. Kurstak. International Comparative Virology Organization. Montreal, Canada. pp 732-799.
- Hsieh, S. P. Y. 1986. Ecology and control of gladiolus fusarium

- wilt. Review of Plant Pathology. 65:198.
- Ie. T. S. 1970. Tomato Spotted Wilt Virus. C. M. I./A. A. B. Descriptions of Plant Viruses # 39.
- Jaimes Salgado, F. 1977. Control de la pudrición del bulbo de la gladiola causado por Fusarium oxisporum f. sp. gladioli. Tesis de Ing. Agronomo. Parasitologia. U. A. CH. Chapingo, Mex. pp. 41
- Jeves, T. M. and J. R. Coley-Smith. 1977. Persistence and spread of Stromatinia gladioli, the cause of dry-rot disease of gladiolus. Review of Plant Pathology. 56:802.
- Kelling, K. and Niebisch, R. M. 1986. Evidence of Curvularia disease on gladiolus planting material. Review of Plant Pathology. 65:376.
- Labruyere, R. E. 1975. Reports # 2605. Mycology and bacteriology. Review of Plant Pathology. 54:487-488.
- Lee, T. C. ; R. I. B. Fracki and T. Hatta. 1979. A serious disease of gladioli in Australia caused by tomato spott wilt virus. Plant disease Reporter. 63:345-348.
- Lee, S. H.; Kim, J. S. and Choi, Y. M. 1984. Bean yellow mosaic virus and cucumer mosaic virus causing mosaic disease on gladiolus in Korea. Review of Plant Pathology. 63:224.
- Leyva Mir, S. G. 1992. Enfermedades del gladiolo (Gladiolus sp.) en: Memorias del II curso de acreditación tecnica en el manejo y certificación fitosanitaria de ornamentales. Del 2 al 7 de Nov. de 1992. Metepec, Edo. de México. pp. 61-73
- Lilien-Kipnis, H.; A. Stein and S. Levy. 1992. The course of bean yellow mosaic virus elimination from Gladiolus by meristem tip culture. Acta Horticulturae. 325:709-715.

- Limber, D. P. 1947. The observed frequency of mature pycnidia of Septoria gladioli on gladiolus corms. Phytopathology. 37: 190-191.
- Magie, R. O. 1969. Control de Botrytis cinerea disease on cut flowers of gladiolus by sublimation of fungicides. Review of Plant Pathology. 50:415.
- Magie, R. O. 1971. Effectiveness of treatments with hot water plus benzimidazoles and ethephon in controlling fusarium disease of gladiolus. Plant Disease Report. 55:82-85.
- Magie, R. O. and G. J. Wilfret. 1974. Tolerance of Fusarium oxysporum f. sp. gladioli to benzimidazole fungicides. Plant Disease Report. 58:256-259.
- Magie, R. O. 1980. Biological control of fusarium disease of gladiolus. Acta Horticulturae. 109:415-420.
- Massey, L. M. 1926. Fusarium rot of gladiolus corms. Phytopathology. 16:509-523.
- Massey, L. M. 1928. Dry rot of gladiolus corms. Phytopathology. 18:519-529.
- McClellan, W. D.; K. F. Baker and C. J. Gould. 1949. Occurrence of the botrytis disease of gladiolus in the United State in relation to temperature and humidity. Phytopathology. 39:260-271.
- McWhorter, F. P. 1939. Botrytis on gladiolus leaves in Oregon. U. S. Dept. Agr., Plant Disease Report. 23:347.
- McWhorter, F. P. 1957. A localized occurrence of cucumber mosaic virus in gladiolus. Plant Disease Report. 41:141-142.
- Mendoza Zamora, C. 1987. Principales enfermedades fungosas y control químico de la cenicilla de la fresa (Fragaria

- chiloensis duchesne var. ananasa) en Villa Gro., Edo. de México. Tesis Profesional de Maestro en Ciencias en Protección Vegetal. U. A. Ch. Chapingo, Edo. de México. pp. 126
- Miles, L. E. 1933. Control of gladiolus scab. Phytopathology. 23:802-813.
- Milholland, R. D. 1969. Effect of soil fumigation on disease control and yield of gladiolus in southeastern North Carolina. Plant Disease Report. 53:132-136.
- Misra, R. L. 1973. Relative susceptibility of gladiolus varieties to leaf spot disease of septoria. Progressive Horticulture. 5:13-16
- Muntañola, M. 1948. La podredumbre del cuello de la gladiola. Folleto. Ministerio de agricultura de la nación. Instituto de Sanidad Vegetal. Buenos Aires, Argentina. pp. 1-16
- Nagel, J. F.; W. Zettler and E. Hiebert. 1983. Strains of bean yellow mosaic virus compared to clover yellow vein virus in relación to gladiolus production in Florida. Phytopathology. 3:449-454.
- Palacios Alvarez, S. 1992. Manejo del gladiolo en: Memorias del II curso de acreditación técnica en el manejo y certificación fitosanitaria de ornamentales, del 2 al 7 de Nov. de 1992. Metepec, Edo de México. pp. 52-60.
- Parmelee, J. A. 1954. Curvularia on gladiolus in Canada. Plant Disease Report. 38:515-517.
- Parmelee, J. A. 1956. The identification of the curvularia parasite of gladiolus. Mycologia. 48:558-567
- Pinto, C. B. 1994. Virosis de la gladiola Gladiolus spp. en

- México, Morelos, Puebla y Michoacan. Memorias del Congreso Nal. de Horticultura Ornamental. Chapingo, Edo. de México. p. 55.
- Pitta, G. P. B.; Figueiredo, M. B.; Cardoso, R.; and Hennen, J. F. 1983. Rust (Uromyces transversalis), a new disease of gladiolus in Brazil. Review of Plant Pathology. 62:98.
- Raper, K. B. and C. Thom. 1949. A manual of the penicillia. The Williams & Wilkins Company. Baltimore. 875 pp.
- Roebroeck, E. J. A. and J. J. Mes. 1992. Classification of isolates of Fusarium oxysporum f. sp. gladioli on the basis of pathogenicity and vegetative compactibility. Acta Horticulturae. 325:743.
- Romero C. S. 1994. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. México. 347 pp.
- Srivastava, K. M.; Raizada, R. K. and Singh, B. P. 1984. Bean yellow mosaic virus on Gladiolus psittacinus in India. Review of Plant Pathology. 63:320.
- Stein, A.; G. Loevenstein and R. Koenig. 1979. Detection of cucumber mosaic virus and Yellow mosaic virus in gladiolus by ELISA. Plant disease reporter. 63:185-188.
- Stein, A.; S. Levy and G. Loebenstein. 1988. Detection of viruses in gladioli corms. Acta Horticulturae. 234:275-281.
- Stone, M. O. 1958. Some observation on Septoria gladioli. Trans. Brit. Micol. Soc. 41:505-518.
- Tayama, H. K. 1991. Producción global de flor fresca para corte, comercio internacional y demandas mundiales de consumo: una panorámica y prospectiva hacia el siglo XXI. Apuntes mimeografiados. Universidad Popular Autónoma del Estado de

- Puebla. Puebla, México. pp. 12.
- Torres Marin, F. 1988. Fungicidas y etherel para el control de patógenos en cormos de gladiola. Tesis Profesional. Dpto de Fitotecnia. U.A.Ch. Chapingo, Edo de México. pp. 79.
- Woltz, S. S.; R. O. Magie; Constance, S.; P. E. Nelson; and T. A. Tousson. 1978. Gladiolus disease response to prestorage corm inoculation with fusarium especies. Plant Disease Report. 62:134-137.
- Wu, W. S. 1980. Botrytis and Curvularia disease of gladiolus. Review of Plant Pathology. 59:226.
- Young, A. R. 1954a. Dissemination of plant pathogens on nursery and ornamental plants. Plant Disease Reporter. 38:417-420.
- Young, A. R. 1954b. Fungicide-insecticide mixture in pre-planting corm treatments for control of bacterial scab of gladiolus. Plant Disease Reporter. 38:55-56.
- Zettler, F. W. and M. M.M. Albo. 1977. Bean yellow mosaic virus infection of gladiolus in Florida. Plant disease reporter. 61:243-247.

7.-APENDICE

APENDICE 1

TECNICA DE ELISA

1.-Agregar 100 ul. de gama globulina purificada en solam de cubrimiento a cada pozo de la placa. Incubar a 37°C por 4-6 hr. o toda la noche a 6°C . (Los Anticuerpos se adherirán a las paredes del pozo) .

2. Lavar la placa con PBST usando una pizeta. Esperar 3 minutos, vaciar y sacudir fuertemente sobre una toalla de papel en una mesa. Repetir el lavado tres veces. Vaciar y sacudir. (Se eliminará el exceso, pero los anticuerpos quedarán adheridos a las paredes del pozo).

3. Macerar la planta por probar en una dilución de 1:10 ó 1:20 (p/v) en solam de extracción. Durante el procedimiento, el solam y las muestras vegetales deben mantenerse frías, colocándose en una charola con hielos.

Agregar 100 ul. de savia de cada planta prueba a pozos duplicados. Incubar a 6°C toda la noche ó a 37°C por 4-6 hr. (Las partículas virales se adherirán a los anticuerpos, si es que son afines).

4. Lavar la placa tres veces como en el paso 2.

5. Agregar 100 ul. del conjugado gama globulina-enzima a cada

pozo. (El conjugado se adherirá al compuesto virus-anticuerpo

pegado a las paredes del pozo y se formará un sandwich anticuerpo- virus- conjugado anticuerpo enzima).

6. Lavar la placa tres veces como en el paso dos.

7. Agregar 150 ul. (200 ul. para placas con fondo redondo) de sustrato fresco a cada pozo (0.6 a 1.0 mg/ml de p-nitrofenil fosfato en solam de sustrato). Incubar a temperatura de laboratorio por 30-60 minutos o más hasta que se observe color amarillo en algunos pozos.

8. Parar la reacción agregando 50 ul. de NaOH 3M a cada pozo.

9. Evaluar resultados

- a) por observación visual (sensible a 0.1 OD 405 de coloraciones de fondo).
- b) Medir absorvancia a 405 nm.

10. Registrar resultados

- a) En hoja de resultados
- b) Fotográficamente

APENDICE 2

Rodamina o Pironina B - Verde de metilo

0.15 gr.-----Verde de metilo

0.25 gr.-----Pironina B

100 ml.-----Buffer de acetato de sodio

pH 4.7 (1.65 gr. de acetato de sodio + 10 ml. de HCl en 1000 de
agua destilada.

APENDICE 3

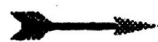
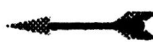
Azul de bromofenol-mercurio

10 gr.-----HgCl₂

100 mg.-----Azul de bromofenol

100 ml-----Agua destilada

**IMPRESOS
"SAGITARIO"**

 **TESIS** 
URGENTES

ALDAMA # 131
TEXCOCO, EDO. DE MEX.

TEL. 497-79