



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

**"MICROORGANISMOS QUE PRESENTAN ANTAGONISMO EN LA
RIZOSFERA DE SUELOS AGRICOLAS PARA EL CULTIVO DE
PAPA"**



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

TESIS MANCOMUNADA

Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P r e s e n t a n

MARIA MAGDALENA PATIÑO

ARTURO GERARDO ARIAS CONTRERAS



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

Pág.

R E S U M E N

1

CAPITULO I.- ANTECEDENTES

a) Historia y origen del cultivo de papa

3

b) Necesidades de alimentación

5

c) Problemas con el tizón tardío

6

CAPITULO II.- OBJETIVO

9

CAPITULO III.- GENERALIDADES

a) Taxonomía de la papa y variedades comunes

11

b) Condiciones para su cultivo

14

c) Importancia del cultivo

18

CAPITULO IV.- LOCALIZACION DE ZONAS PRODUCTORAS

a) Producción a nivel nacional

20

b) Localización de las zonas de estudio

24

c) Condiciones ambientales de las zonas de estudio

24

	Pág.
CAPITULO V.- <u>ENFERMEDADES MAS FRECUENTES QUE SE PRESENTAN EN EL CULTIVO</u>	
a) Enfermedades causadas por bacterias	28
b) Enfermedades causadas por hongos	29
c) Enfermedades causadas por virus	31
d) Enfermedades causadas por insectos	32
CAPITULO VI.- <u>EL TIZON TARDIO DE LA PAPA</u>	
a) Etiología	36
b) Sintomatología	37
c) Ciclo biológico	39
d) Condiciones predisponentes	43
e) Control de la enfermedad	46
CAPITULO VII.- <u>ANTAGONISMO</u>	51
CAPITULO VIII.- <u>METODOS Y PARTE EXPERIMENTAL</u>	
a) Materiales	57
b) Medios de cultivo	58
c) Colección de muestras	63
d) Análisis fisicoquímico del suelo	65
e) Aislamiento de Phytophthora infestans	66

	Pág.
f) Aislamiento de microorganismos de la rizosfera	67
g) Selección de cepas que presentan antagonismo	68
h) Ventajas y desventajas de los métodos empleados	70
CAPITULO IX.- <u>RESULTADOS</u>	73
CAPITULO X.- <u>CONCLUSIONES</u>	100
CAPITULO XI.- <u>BIBLIOGRAFIA</u>	107

RESUMEN

El presente estudio fue realizado en suelos donde se cultiva papa; situados en el Valle de Toluca, Edo. de México, en los campos experimentales del CIDAGEM (Centro de Investigaciones para el Desarrollo Agrícola y Ganadero del Estado de México); y en una Hacienda denominada "La Puerta".

De ambos sitios se aislaron 203 cepas de microorganismos de los cuales 32 fueron hongos, 95 bacterias y 76 actinomicetos.

Igualmente se aisló el hongo Phytophthora infestans de plantas que se encontraban infectadas.

Posteriormente se procedió a probar si las cepas aisladas presentaban antagonismo contra el hongo.

De las cepas probadas sólo 8 mostraron ser antagonistas al hongo, de ellas 7 son actinomicetos y 1 hongo, de las bacterias probadas ninguna presentó antagonismo al hongo.

Finalmente se procedió a realizar la identificación de cada uno de los microorganismos que presentaron antagonismo al hongo.

C A P I T U L O I

A N T E C E D E N T E S

a) HISTORIA Y ORIGEN DEL CULTIVO DE PAPA

La papa es originaria del Cuzco, Perú y región del Lago Titicaca, siendo los indígenas del altiplano peruano-boliviano quienes convirtieron esta planta en cultivable muchos años antes del advenimiento de los Incas. La cerámica que alcanzó gran desarrollo entre los Incas, ofrece testimonio fehaciente de que la papa era muy conocida y estimada, ya que en los numerosos jarros y ollas de la papa es el motivo predominante, estas vasijas han sido halladas en estratos cuyo nivel corresponde a la segunda centuria de la era cristiana. Por otra parte se ha encontrado Chuna o Chuña, (pasta de papa sometida a la acción de las heladas, machacada y secada que aún se usa en el altiplano) en perfecto estado de conservación, en algunos templos y tumbas. Estos hallazgos prueban irrefutablemente que las tribus indígenas de la región andina y sus alrededores cultivaban y consumían la papa en grandes cantidades.

La primera mención escrita sobre la papa en la historia de la conquista se debe a Juan de Castellaños (1536), quien vivió dicho tubérculo con ocasión de llevar a cabo una expedición militar por el Valle del Río Magdalena (Colombia).

El famoso cronista Pedro Cieza De León halló la planta en

Popayán (Colombia), Quito (Ecuador) y en el altiplano del Perú. En su crónica del Perú (1536), describe el tubérculo y da cuenta de haber visto preparar el Chuna. Este es mencionado por muchos cronistas del siglo XVI y principios del XVII.

No está dilucidado con exactitud en que fecha se produjo la primera introducción de la papa en el Viejo Continente. Es muy posible que haya sido transportada en calidad de aprovisionamiento de los navfos y que de España fuese llevada a Italia, Bélgica, Alemania y otros países.

Al principio la papa fue considerada en Europa como una mera curiosidad botánica encontrando fuerte resistencia cuando se trató de extender su cultivo, surgiendo una serie de prejuicios contra ella considerándola agente de diversos males imaginarios.

Puede decirse que al principio de su introducción en Europa la papa no pudo competir favorablemente con los cultivos ya conocidos, con excepción de aquellos países que tenían una vida mísera y hallaron en el alimenticio y facilmente cultivable tubérculo la solución relativa al problema de la alimentación.

En países más ricos fue ocupando lugar de primera fila, - hasta que por selección y esmero en los cultivos, se llegó a producir tubérculos de succulencia suficiente.

b) NECESIDADES DE ALIMENTACION.

Actualmente la papa se encuentra difundida en todas partes del mundo, en Europa es un alimento insustituible en la - dieta diaria de todas las clases sociales.

La dietética actual no podría consentir su supresión. En la Europa central y Sudoriental es un artículo de primera necesidad y básico en la alimentación popular.

La papa es un alimento con alto contenido calórico y protéico, ocupa el primer lugar de producción de calorías - por unidad de superficie cosechada, y ocupa el segundo lugar después de la Soya en la producción protéica por unidad de superficie y es una excelente fuente de vitamina C y del grupo vitamínico B. (16)

Las dos terceras partes de la producción mundial corresponden a la URSS y otros países como Alemania y Polonia, la mitad se destina para consumo animal.

En México y Sudamérica se cultiva para consumo humano.

c) PROBLEMAS CON TIZON TARDIO

El "Tizón tardío" es una de las enfermedades más destructivas de la papa. Se le llama así debido a que generalmente no ataca a las plantas inicialmente, sino hasta que se encuentran en floración o posteriormente. Un período de -- tiempo cálido seguido de tiempo fresco y húmedo es particularmente favorable para la enfermedad. En esas condiciones la enfermedad se extiende con rapidez y puede destruir todas las plantas de un campo en unos cuantos días.

Las plantas enfermas en descomposición despiden un olor -- mohoso característico que es muy pronunciado cuando la infección es muy extendida.

Esta enfermedad se considera originaria de México. Phytophthora infestans (Mont de Bary) está presente de forma -- perenne en el Valle de Toluca, siendo probable que haya existido allí por cientos de años.

La enfermedad fue introducida en Europa y Estados Unidos -- entre 1830 y 1840.

Se recuerdan como catastróficas las epifitias ocurridas en Gran Bretaña e Irlanda en 1845; Irlanda sufrió hambre diez -- mando su población.

Durante la primera Guerra Mundial en 1917 se destruyó la tercera parte de los cultivos de papa en Alemania. En la región Sudeste de Argentina la principal en producción, - ocasionó daños de consideración en muchos cultivos en el período de 1972-1973, en el que ocurrieron abundantes llu vias. (39)

C A P I T U L O I I

O B J E T I V O

Hay ocasiones en que en un mismo cultivo se encuentran plantas infectadas y plantas no infectadas por la enfermedad.

Esto nos llevó a pensar que tal vez en las plantas no infectadas o en el suelo cercano a las raíces existía alguna sustancia producida por algún microorganismo capaz de inhibir el desarrollo de Phytophthora infestans.

OBJETIVO.- Aislamiento en la rizosfera de un cultivo de papa, de microorganismos antagónicos para llevar a cabo un control biológico.

a) Aislamiento de los microorganismos de la rizosfera:

- 1) Hongos
- 2) Actinomicetos
- 3) Bacterias

b) Aislamiento del hongo fitopatógeno

c) Selección de cepas que presentan antagonismo

d) Identificación de las cepas que presentan antagonismo

CAPITULO III

GENERALIDADES

a) TAXONOMIA DE LA PAPA Y VARIEDADES COMUNES

Reino	Vegetal
División	Fanerógamas
Subdivisión	Angiospermas
Clase	Dicotiledóneas
Orden	Tubifloras
Familia	Solanáceas
Género	Solanum
Especie	tuberosum

La papa se clasifica como una Dicotiledónea anual. Sin embargo puede persistir en el campo vegetativamente como tubérculo de una estación a otra. Pertenece a la familia de las Solanáceas una de las más vastas y útiles a la humanidad, ya que comprende especies importantes como el tomate, la belladona, el pimiento, el tabaco, la berenjena, la petunia y el estramonio.

Botánicamente la papa cultivada en Norteamérica y Europa es Solanum tuberosum.

La especie silvestre más cercana es Solanum andigenum, algunos botánicos la consideran como subespecie de S. tuberosum.

La papa es una planta herbácea de porte variable entre 40 y 70 cms., según variedad, clima y suelo. (16)

El tallo aéreo es anguloso, erecto cuando joven, verdoso, a veces puede tener coloraciones rojizo-violáceas, a causa del pigmento antocianina, las hojas son compuestas, pecioladas y están formadas por folíolos u hojuelas que alternan con otras más pequeñas llamadas folíolos intermedios. Flores regulares de color blanco, rosado o violáceo. Según las variedades los frutos son pequeñas bayas globosas parecidas a los tomates, primero de color verde y después violáceo; contienen numerosas y diminutas semillas blancas y aplastadas.

Las raíces son numerosas finas y largas; penetran profundamente en el suelo, pero tienen débil poder de penetración, razón por la cual requieren suelo mullido.

Los tallos subterráneos llamados estolones son blanquecinos, más gruesos que las raíces y forman en su extremidad los tubérculos, que son depósitos de sustancias amiláceas y constituyen la parte aprovechable de la planta, están provistos de yemas u ojos, cuyo número y distribución varían con la variedad. En una de las extremidades del tubérculo los ojos están más espesos; es el vértice o coro-

na; en el lado opuesto se encuentra una depresión redondeada que es la cicatriz dejada por la ruptura del tubérculo con el estolón.

Se conocen unas 20 especies de papas cultivadas; anteriormente se creía que la única especie cultivada era Solanum Tuberosum, ahora se sabe que en Sudamérica se cultivan - otras 19 especies, la principal de las cuales es Solanum andigenum, difiere fundamentalmente de S. Tuberosum en cuanto a sus requerimientos fotoperiódicos.

S. Tuberosum está comprendida entre las de día largo y S. andigenum pertenece a las de día corto. (30)

El número de variedades de papa es enorme, su clasificación es difícil y poco precisa. Con relación al uso que se hace de su producto principal se dividen en alimenticias e industriales. Las primeras se denominan de huerta, de gran cultivo y de forraje. Las segundas se utilizan para fabricar almidón y en destilería.

Las papas llamadas universales sirven para todos los usos indicados.

Por la época de maduración pueden dividirse en papas tem-

pranas, papas de media estación y papas tardías. Las primeras se siembran en diciembre y enero, y se recolectan de mediados de abril hasta julio; las segundas se siembran en marzo y se cosechan en septiembre; las terceras se siembran en julio o agosto y se cosechan en noviembre.

Las papas se clasifican por la duración de su desarrollo - en: Precosísimas (70 a 80 días), precoses (90 a 100 días), medianamente precoses (de más de 140 días).

b) CONDICIONES PARA EL CULTIVO

1. CLIMA.- El clima más conveniente es el de tipo fresco, donde la planta no tenga que soportar los exce sos de temperatura ni la carencia de h med id y donde esté asegurada en el suelo una provisión de agua suficiente durante todo el desarrollo.

Se puede cultivar casi en todas partes excepto en zonas tropicales cálidas, sin embargo, las principales zonas productoras son templadas.

Las temperaturas de germinación, floración y ma duración son respectivamente: 7, 14 y 17° C.

En climas excesivamente cálidos, las papas degeneran dando tubérculos pequeños y poco numerosos. Cuando la temperatura desciende de 0° C, puede morir la planta, que apenas resiste una temperatura mínima inferior de 2° C. (8)

La escasez de lluvia reduce o anula la cosecha; pero un exceso de humedad, es asimismo nocivo y puede destruir totalmente las plantas, empezando por favorecer el desarrollo de las enfermedades. (30)

La cantidad de agua óptima que necesita la planta, puede ser afectada por el tipo de suelo, así como por el fertilizante aplicado, la temperatura del aire, viento y prácticas culturales.

2. SUELO.- El rendimiento, la forma y apariencia de los tubérculos depende en gran parte de la textura y naturaleza del suelo. Debe ser preferiblemente suelto, siliceoarcilloso, con suficiente cantidad de materia orgánica y con p^H de 5 a 6.5.

La papa se desarrolla mal en suelos arcillosos y húmedos, en los cuales la calidad del tubérculo deja mucho que desear; en los suelos secos, el rendimiento del cultivo es bajo. Un p^H inferior a 5 resulta nefasto.

La oportuna elección del terreno tiene una -- gran importancia, pues caracteres fisicoquímicos del mismo influyen sobre el rendimiento y afectan la calidad de los tubérculos. (8)

3. ABONOS.- El estiércol debe constituir la base del abono en cantidad variable de 20,000 a 30,000 Kg. /ha. según la riqueza y fertilidad del suelo. Una cantidad exagerada de estiércol no aumenta el rendimiento y puede retardar la maduración.

Cuando no puede emplearse estiércol ordinario debe recurrirse a los abonos verdes, a la composta, etc., según las disponibilidades de uno y otro abono orgánico.

La papa requiere en primer lugar de abonos potásicos y fosfatados, por la influencia en la cali

dad y producción del producto también necesita nitrógeno el cual absorbe en cantidad considerable, y debe ser administrado durante todo el ciclo en proporciones adecuadas.

Siempre es conveniente que actúen conjuntamente y en la relación adecuada para cada caso - los abonos fosfatados, potásicos y nitrogenados.

Está demostrado que los abonos que contienen - azufre contribuyen a dar calidad a los tubérculos (sulfato amónico, superfosfato, sulfato potásico).

4. ROTACIONES.- Es necesario adoptar un sistema rotativo de cosechas que tienda a incrementar el humus del suelo. El tiempo que ha de durar la rotación variará con los cultivos que mejor se -- adapten a la región y según se trate de gran - cultivo o de cultivo hortícola.

Hay lugares por ejemplo, que colocan la papa - en la cabeza de alternativa el primer año, seguida de tomates, berenjenas o judías verdes,-

y obteniéndose el mismo año otra vez papa de - segunda cosecha, más coles o coliflores.

El segundo año comienza con cereal (como forraje), guisantes o papa temprana, seguida de judías verdes o maíz para grano.

Con lo anterior, es posible obtener los mejores resultados por hectárea.

c) IMPORTANCIA DEL CULTIVO

En México a diferencia de otros países la importancia del cultivo es relativa, pues se consume poco, debido a la falta de conocimiento de la gente para considerar a la papa como un alimento con alto contenido calórico y protéico, ya que ocupa el primer lugar en producción de calorías diarias por unidad de superficie cosechada, y ocupa el segundo lugar (después de la soya), en producción protéica por unidad de superficie.

La papa es mejor que los cereales en producción diaria de calorías y proteínas por unidad de superficie y como una excelente fuente de vitamina C y del grupo vitamínico B.

C A P I T U L O I V

LOCALIZACION DE ZONAS PRODUCTORAS

a) PRODUCCION

La superficie que actualmente se cultiva en México, es de 55,000 ha.; un 50% se siembre con variedades importadas, un 43% con variedades criollas y un 7% con variedades mejoradas en el país. (8)

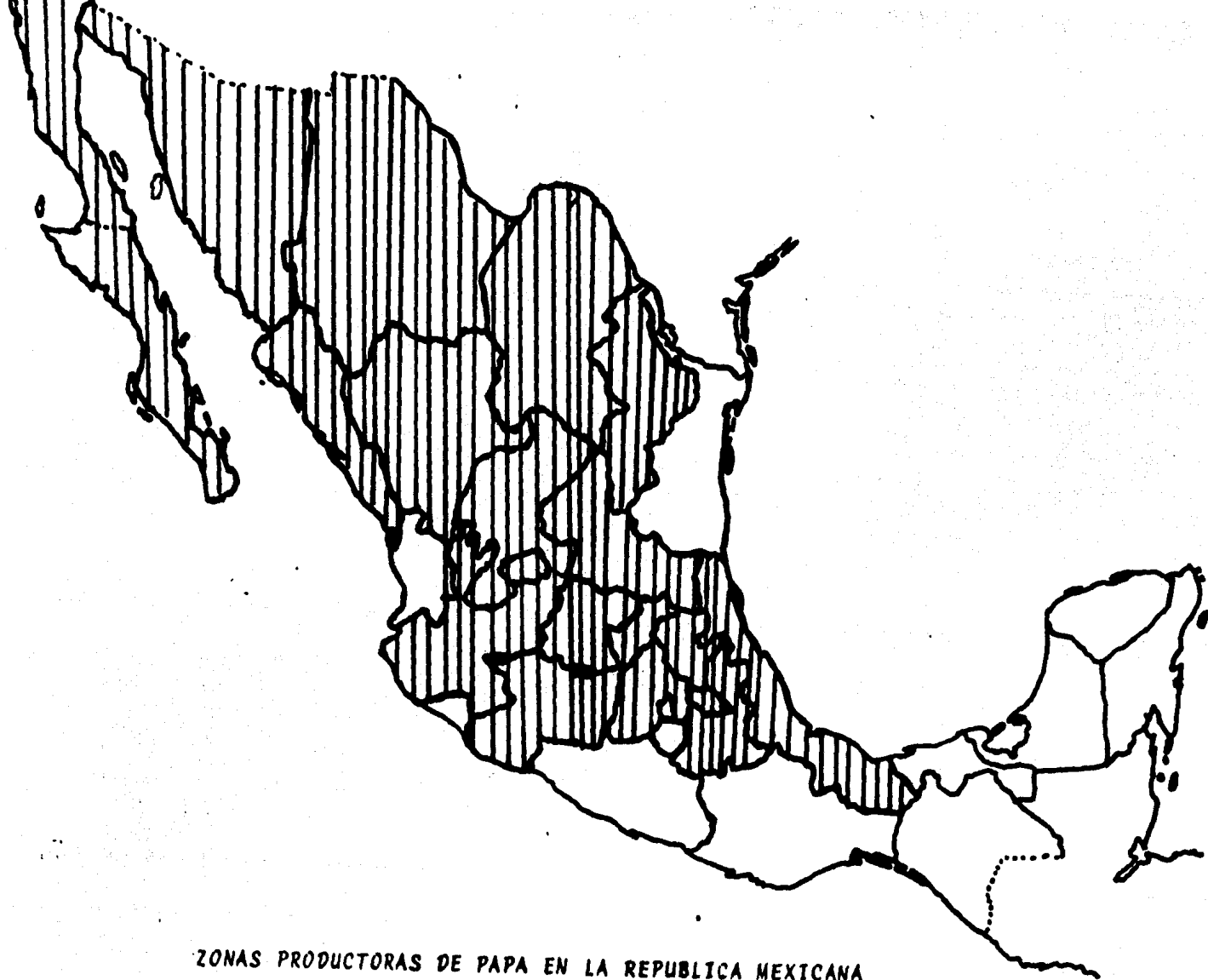
Los estados de la República Mexicana donde se cultiva papa son: México, Coahuila, Nuevo León, Michoacán, Zacatecas, Chihuahua, Sinaloa, Sonora, Aguascalientes, Baja California Norte y Sur, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tlaxcala y Veracruz.

En el Estado de México, el Valle de Toluca es la zona de producción autosuficiente y surtidora más importante del país, debido a sus condiciones ecológicas.

En la siguiente tabla se muestran unos datos estimativos de rendimiento en Kg./ha. de cultivo de papa en diferentes regiones, realizado por la SARH, en 1971.

ZONAS ESTADISTICAS Y ENTIDADES	SUPERFICIE HECTAREAS COSECHADAS	RENDIMIENTO KG/HECTAREA
<u>NORTE</u>		
Coahuila	163	20,000
Chihuahua	2,566	7,126
Durango	500	13,400
Nuevo León	1,500	20,000
San Luis Potosí	300	11,500
Zacatecas	599	16,756
<u>GOLFO</u>		
Veracruz	7,700	7,900
Yucatán	4	6,000
<u>PACIFICO NORTE</u>		
Baja California	1,150	20,453
Nayarit	480	4,459
Sinaloa	2,178	18,500
Sonora	588	18,469
<u>PACIFICO SUR</u>		
Chiapas	880	4,473
Guerrero	55	7,187
Oaxaca	483	5,155
<u>CENTRO</u>		
Aguascalientes	430	17,325

ZONAS ESTADISTICAS Y ENTIDADES	SUPERFICIE HECTAREAS COSECHADAS	RENDIMIENTO KG/HECTAREA
Distrito Federal	40	15,050
Guanajuato	3,400	18,471
Hidalgo	1,300	18,000
Jalisco	1,500	15,000
México	3,600	9,972
Michoacán	4,161	14,247
Morelos	18	14,000
Puebla	8,500	4,647
Querétaro	120	20,000
Tlaxcala	1,250	6,644



ZONAS PRODUCTORAS DE PAPA EN LA REPUBLICA MEXICANA

b) LOCALIZACION DE LAS ZONAS DE ESTUDIO

Las muestras fueron obtenidas en el Valle de Toluca.

El sitio número 1 está localizado en los campos experimentales del CIDAGEM, (Centro de Investigaciones para el Desarrollo Agrícola y Ganadero del Estado de México). El cual se encuentra situado en el Municipio de San Sebastian Metepec, que se encuentra a 19°16' latitud norte y 99°35' altitud oeste; su altura sobre el nivel del mar es de 2640m. (8)

El sitio número 2 está localizado en el Municipio de Zinacantepec en una hacienda denominada "La Puerta". Este campos es utilizado por agricultores particulares.

c) CONDICIONES AMBIENTALES DE LAS ZONAS DE ESTUDIOS

1. CLIMA.- El Municipio de San Sebastian Metepec tiene el clima más húmedo de los templados con cociente P/T (Precipitación-Temperatura) mayor de 55.

Tiene una temperatura media anual de 12.8°C -

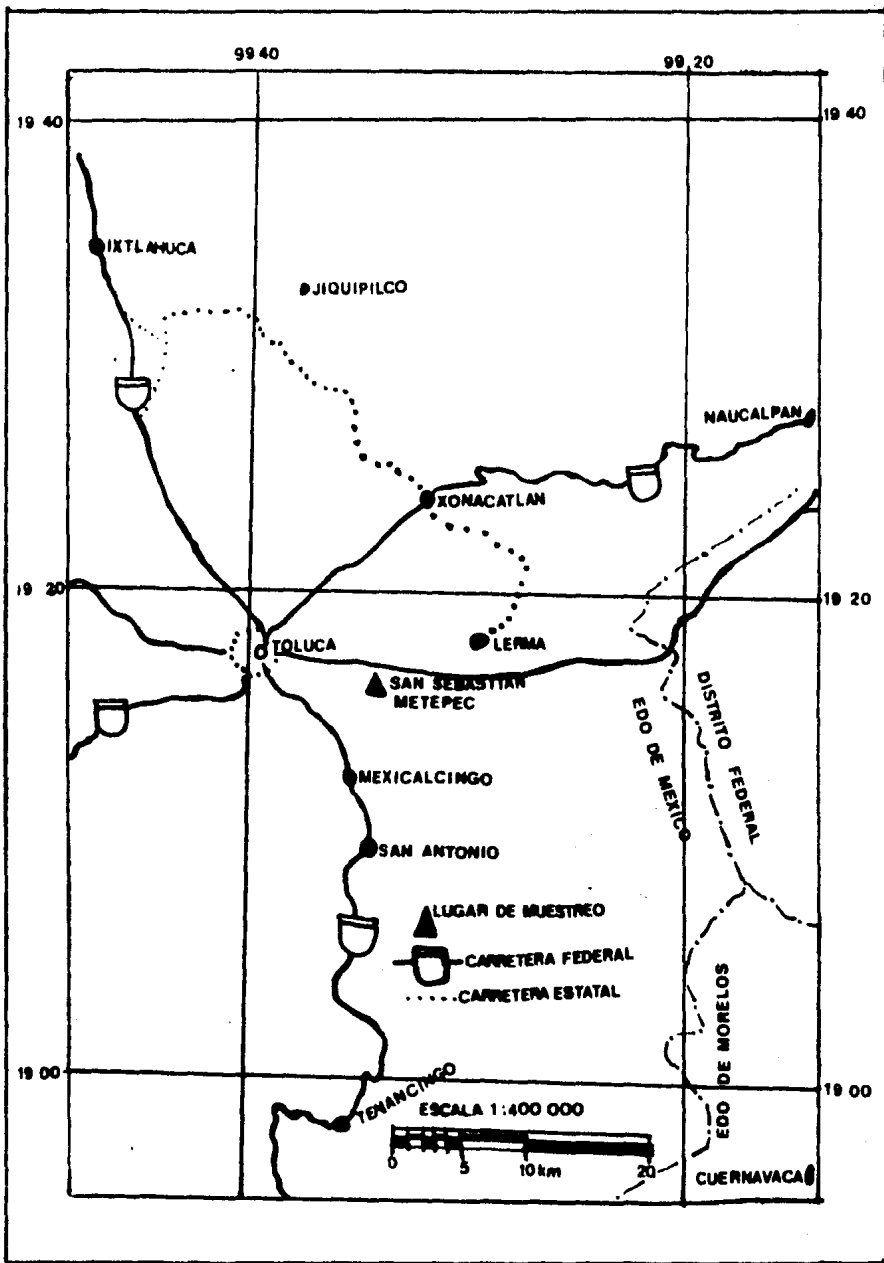
(En el mes más frío la temperatura media está entre -3 y 18°C y en el mes más caliente es mayor de 6.5°C), y una Precipitación Media Anual de 868.2 mm. El período lluvioso es de junio a septiembre con precipitaciones de -- 151.4 mm. (8)

2. VEGETACION.- La vegetación presente en el sitio de estudio es agrícola.

La producción agrícola en el Estado de México ocupa el segundo lugar después de la Industria. Además de la papa, los principales productos son: Maíz, alfalfa, frijol, haba, jitomate, trigo y cebada. (8)

3. ANTECEDENTES GEOLOGICOS.- El piso del Valle de México está formado por rocas sedimentarias resistentes, constituidas por materiales de acarreo. (8)

4. SUELOS.- El suelo de los sitios de estudio es en gran parte derivado de las cenizas volcánicas. Su color es negro, pardo rojizo o amarillento, son ricos en materia orgánica, poseen un alto poder fijador de Fósforo y son muy fértiles. (8)



LOCALIZACION DEL LUGAR DE MUESTRO. (8)

C A P I T U L O V

ENFERMEDADES MAS FRECUENTES QUE SE PRESENTAN EN EL CULTIVO

La papa está expuesta a ser dañada por más insectos y enfermedades que cualquier otro de los cultivos importantes. La mayor parte de ellos, si no todos, pueden ocasionar grandes perjuicios si no se les detiene o controla. El cultivador de papa debe constantemente estar alerta para descubrir insectos y enfermedades durante los periodos de ataque, de modo que puedan ser controlados antes de que tengan oportunidad de ocasionar un perjuicio extenso. (7)

a) ENFERMEDADES CAUSADAS POR BACTERIAS

En la planta de papa se ha observado el ataque de una cantidad relativamente pequeña de diferentes bacterias que producen enfermedades, pero los daños que producen son de consideración. Debido a que las bacterias se encuentran en los más diversos ambientes, éstas enfermedades no son exclusivas de la planta, sino que también afectan a los tubérculos una vez cosechados, ya sea en los montones de papa recubiertos de chala de maíz, y que se dejan en el campo un tiempo prolongado hasta su comercialización, o durante el transporte, cuando se deben recorrer grandes distancias hasta los mercados de comercialización bajo condiciones muy desfavorables y durante su conservación en los depósitos mal ventilados y con elevadas temperaturas.

A continuación se mencionan algunas enfermedades causadas por bacterias.

<u>ENFERMEDAD</u>	<u>AGENTE CAUSAL</u>
Marchitamiento y podredumbre de los tubérculos	Bacteria del Género <u>Erwinia</u> .
Podredumbre blanda y húmeda de los tubérculos	<u>Erwinia carotovora</u> vw. <u>carotovora</u> , <u>Bacillus subtilis</u> , <u>B. polymyxa</u> , -- <u>Pseudomonas</u> .
Podredumbre anular	<u>Corynebacterium sepedonicum</u> .
Podredumbre parda	<u>Pseudomonas solanacearum</u> .
Sarna común	<u>Streptomyces scabies</u> .

b) ENFERMEDADES CAUSADAS POR HONGOS

La planta de papa es atacada por un gran número de hongos, muchos de los cuales sólo producen daños menores; en cambio otros, de gran agresividad y poder de dispersión, causan daños muy graves.

A continuación se mencionan algunas enfermedades ocasionadas por hongos.

ENFERMEDADESAGENTE CAUSAL

Sarna polvorienta

Spongospora subterranea.

Tizón temprano

Alternaria solani.

Fusariosis

Nectria Haematococca Berk
y Br.

Podredumbre seca

Fusarium solani var. Caerul
leum.

Rizoctonia o Sarna negra

Rhizoctonia solani KühnPodredumbre del tallo y
de los tubérculosSclerotium rolfsii.

Podredumbre rosada

Phytophthora erithroseptica
Pethrile.

Roya de la papa

Puccinia pittieriana.

Gangrena

Phoma exigua Desm. var. -
foveata.

Verticilosis

Verticillium.

Tizón tardío

Phytophthora infestans.c) ENFERMEDADES CAUSADAS POR VIRUS

La especie Solanum tuberosum es huésped de numerosos virus, algunos de los cuales poseen difusión mundial y otros están confinados a determinados países.

Las enfermedades causadas por virus son de gran importancia económica porque reducen los rendimientos y disminuyen la calidad de la papa.

A continuación se mencionan algunas enfermedades ocasionadas por virus.

<u>ENFERMEDAD</u>	<u>AGENTE CAUSAL</u>
Mosaico latente	Potato virus X
Mosaico severo	Potato virus Y
Mosaico rugoso	Potato X+Y

Mosaico auculea	Potato virus F
Calico	Virus mosaico de la alfalfa
Enrollado de las hojas	Potato Leaf Roll
Enanismo amarillo	Potato Yellow Dwarf virus
Marchitamiento apical	Tomato Spotted wilt
Tubérculo puntiagudo	Potato Spindle Tuber

d) ENFERMEDADES OCASIONADAS POR INSECTOS

Los insectos ocasionan graves daños al cultivo, debido a que algunos son portadores de virus y otros se introducen a los tubérculos y de ésta forma dañan al cultivo.

Entre los insectos que causan daños a los cultivos están: Pulga conchuela de la papa, Conchuela de colorado de la papa, Saltón de la hoja de la papa, Gusanos de alambre, Gallinas ciegas.

Los nemátodos igualmente causan grandes pérdidas.

Corresponde señalar que existen numerosas enfermedades de carácter Fisiogénico; entre ellas podrían señalarse la - falta de determinados elementos nutritivos considerados - fundamentales para un normal desarrollo y producción, o - la presencia de condiciones climáticas adversas, como los anegamientos, que producen asfixias radiculares.

Entre las enfermedades fisiogénicas que se conocen se encuentran las siguientes:

- Corazón negro.- Alteración del parénquima amiláceo de la papa, que se torna oscuro, particularmente en la - parte central, y que puede cubrir una superficie irregular en dicho tejido.
Se produce por falta de oxígeno con temperaturas altas o bajas durante un período prolongado.
- Mancha ferruginosa.- Consiste en la aparición de manchas, que varían del castaño claro al oscuro, dispersas en el parénquima amiláceo.
- Mancha negra, necrosis de los tejidos.- Se presenta en el parénquima amiláceo de los tubérculos, muy cerca de la corteza, adquieren un color negro.

- Daños por heladas.- Las plantas afectadas, hecho que ocurre cuando la temperatura es inferior a 0°C, presentan brotes necrosados y a veces la destrucción de la planta.

Cuando la helada no es severa sólo se produce la muerte del brote apical y la aparición de manchas castaño oscuro en la lámina de las hojas, ubicadas en cualquier lugar y con forma irregular.

- Deficiencias nutricionales.- La planta de la papa, como todos los vegetales necesita extraer los nutrientes disueltos en el agua absorbidos por las raíces, para utilizarlos como constituyentes y reguladores del metabolismo.

Los principales elementos son: Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Calcio, Magnesio y Azufre.

La falta parcial de uno o más elementos ocasiona trastornos funcionales, y la carencia total de alguno puede impedir o frustrar el crecimiento del cultivo.

Otras alteraciones son: La Escaldadura, el Verdeado, Lenticelosis, Piel de sapo, Flacidez, Arrugamiento, Rajaduras, Cuello de botella, Tubérculos secundarios, Enrollamiento de las hojas debido a inundaciones, Daños por herbicidas. (7)

C A P I T U L O V I

EL TIZON TARDIO DE LA PAPA

a) ETIOLOGIA

El Tizón Tardío de la papa es una enfermedad causada por - Phytophthora infestans, cuya distribución puede considerarse universal, siendo una de las especies fungosas que causa los mayores perjuicios a la papa y otras apreciadas Solanáceas como el tomate y la berenjena.

El hongo fue descrito por Montagne en 1845 como Botrytis infestans, luego por algún tiempo fue clasificado dentro del Género Peronospora, hasta que en 1875 De Bary propuso el nuevo Género Phytophthora (Del griego Phytón = planta, y Phteiros = destructor).

No hay coincidencias permanentes entre las epifitias que sufren los cultivos de papa y tomate. Se sabe que ambos fueron atacados simultáneamente en Europa en 1930.

En México se han realizado varias investigaciones de ésta enfermedad, ya que aparte de ser el probable centro de origen del hongo, cuenta con la existencia de especies silvestres de papa (Solanum denisum) con genes de resistencia y condiciones climáticas que favorecen el desarrollo del patógeno al máximo. (30)

b) SINTOMATOLOGIA

De ordinario los síntomas aparecen primero a lo largo de los márgenes de la hoja en forma de zonas irregulares de color verde oscuro. De los márgenes de las hojas la infección progresa hacia adentro hasta que cubre la hoja en tera.

Las áreas infectadas se secan y se vuelven de color café o negro y sobre ellas crece un moho de color blanquecino. Este moho blanquecino corresponde al signo de la enfermedad y resalta sobre el fondo castaño oscuro de la hoja, - constituye los zoosporangióforos y zoosporangios. Observados bajo lupa, forman una masa afieltrada de hifas y - fructificaciones. Un cultivo atacado desprende un olor - a heno fermentado. Las hojas inferiores son atacadas pri mero pero toda la planta incluso los tallos pueden enne-- greserse y morir. En el tallo se observan manchas alarga das del mismo color que las de las hojas pudiendo apare-- cer antes que en las hojas; el tallo toma una consisten-- cia vítrea y se quiebra fácilmente.

Los tubérculos de modo especial aquellos que se encuen-- tran cercanos a la superficie del suelo, pueden ser infec tados por esporas que las plantas infectadas han dejado - en el terreno.

También pueden ser infectados en la época de cosecha mediante el contacto con guías infectadas, a menos que las guías hayan sido protegidas con aspersiones o espolvoraciones, puede esperarse una reinfección de los tubérculos en el otoño.

En la superficie de los tubérculos infectados se forman zonas acuosas que varían en tamaño y que se vuelven hundidas o deprimidas durante el almacenamiento. El parénquima amiláceo adquiere un color castaño y por su semejanza al color chocolate el tubérculo afectado toma el nombre de "papa achocolatada".

Si la pudrición es seca, el tubérculo se mantiene entero, sin descomponerse y la enfermedad puede detenerse, pero cuando se producen infecciones secundarias con bacterias u hongos saprófitos que es lo más frecuente, el tubérculo toma una consistencia blanda, con evidentes pudriciones cremosas; los tejidos se rompen y exhalan un olor desagradable.

Cuando la infección de los tubérculos ocurrió con suficiente anticipación a la cosecha y la humedad y la temperatura favorecieron el ataque, los tubérculos comienzan a descomponerse en el terreno y al cosechar los restos de ellos --

aparecen podridos, blandos y dispersos en el suelo. (30)

c) CICLO BIOLÓGICO

Phytophthora infestans se caracteriza por su micelio cenocítico inter e intracelular muy ramificado hialino, que produce sobre hifas fértiles (zoosporangióforos) vesículas semejantes a limoncitos (zoosporangios) en cuyo interior se forman zoosporas o conidios asexuales que son responsables de producir la infección.

Al principio los zoosporangios se encuentran en la parte terminal del zoosporangióforo, pero debido al crecimiento indefinido de éste, pasan a ser laterales.

Los ensanchamientos que se producen en los esporóforos indican los lugares donde se ha producido la esporulación. Esta forma de esporangióforos es típica de Phytophthora infestans y sirve para diferenciarlo de hongos muy relacionados con él.

La producción de zoosporangios es óptima con 100% de humedad relativa. La temperatura para ello se halla entre 18° y 22°C. Las temperaturas para la esporulación en atmósfera saturada son de 3 y 23°C. (30)

Los esporangios son multinucleados, entre 7 y 30 núcleos, germinan ya sea liberando zoosporas o actuando directamente como conidios, para ello necesita hallarse en un medio apropiado como son pequeñas gotas de agua provenientes de rocfo, lluvias, etc.

Su reproducción puede ser sexual o asexual. La reproducción asexual puede ser por germinación indirecta, la cual se realiza liberando los zoosporangios, zoosporas biflageladas, y por germinación directa en la que se produce un tubo germinal. Esta última forma no ha sido comprobada experimentalmente, algunos autores consideran que debe ser rara, debido a que necesitan condiciones de temperatura que no son comunes en el cultivo.

En la germinación indirecta, las zoosporas después de su liberación están en constante movimiento, que van perdiendo gradualmente hasta quedar en completo reposo, treinta minutos después de alcanzar el reposo a 12°C, las zoosporas pierden su flagelo y emiten un tubo germinativo, que si se halla sobre una hoja o sobre un tubérculo, produce infección.

La reproducción sexual ha interesado a los fitopatólogos de todo el mundo, desde que De Bary efectuó los primeros trabajos sobre el hongo. El mismo autor buscó vanamente

durante 15 años las oosporas para completar su ciclo biológico.

Clinton (1910) fue quien observó oosporas con anteridio anfigeno, notando que ambos provenían de hifas distintas. Trabajos posteriores, demostraron que utilizando diferentes medios de cultivo, apareando cepas cosmopolitas de Estados Unidos, Canadá, Sudáfrica y Este de la India, con 4 cepas mexicanas se formaban numerosas oosporas, con 3 de éstas últimas. Destacaron que el hongo necesita líneas sexuales diferentes, y que ellas se encontraban en México.

Galindo (1958), utilizando una técnica especial, demostró que un aislamiento podía comportarse casi completamente masculino en unos casos y femenino en otros. La condición bisexual manifestada, indica que cada núcleo de Phytophthora infestans ha heredado potencialidad para la expresión de los 2 sexos.

La oospora madura dentro del oogonio, mide entre 24 y 56 micras, una vez fecundada germina por un tubo germinativo que finaliza en un esporangio.

La forma de reiniciar cada año la infección es motivo de diversas hipótesis; existe una gran interacción para que

se den las condiciones favorables y se debe tomar en consideración el estado fisiológico del tubérculo, el grado de infección y las condiciones del medio. El brote que no alcanza a emerger y que es necrosado a menos de 1 cm. de la superficie es el sustrato de donde nacen las hifas y de ellas emergen al exterior los zoosporangios, que son dispersados por el viento reiniciándose una nueva infección.

El ataque a los tubérculos los producen los zoosporangios que caen al suelo por arrastre de las lluvias y que al germinar liberan esporas que alcanzan al tubérculo y se introducen en él, ya sea por las lenticelas o directamente por presión sobre la corteza.

Los tubérculos pueden infectarse tardíamente y, en estos casos, la infección puede avanzar en los montones del campo. Si el tubérculo no se destruye, y se utiliza como semilla, se producen nuevas infecciones en el cultivo. (30)

d) CONDICIONES PREDISPONENTES

La producción de epifitias para esta enfermedad, se halla influenciada por las condiciones climáticas. La aparición de tallos y hojas enfermas son el comienzo de la infección.

La poca frecuencia de ataques en plantas jóvenes, conduce a la presunción de que la susceptibilidad aumenta con la edad de la misma.

La aparición de la enfermedad está asociada con tiempo húmedo (100% de humedad relativa), y con lluvias (Precipitación cuando menos de 0.1 mm. durante 24 hrs.), y temperaturas mínimas de 10°C.

Bajo estas condiciones el hongo puede acabar con el cultivo en 2 semanas. Siendo de mayor interés conocer con cierta precisión las condiciones predisponentes para una epifitias; se debe recurrir a la posibilidad de utilizar un sistema de alarma para su control.

Para controlar eficazmente el Tizón Tardío, se deben efectuar pulverizaciones con fungicidas en el momento oportuno.

Es por esto que se han propuesto diferentes sistemas de alarma para predecir la aparición del Tizón Tardío, las posibles reinfecciones y las epifitias.

Estos sistemas están basados en las condiciones climáticas favorables para el desarrollo del hongo.

De los sistemas existentes, el que ha dado mayor resultado, es el propuesto por Hyre (1955); toma como base de su sistema las lluvias y establece periodos críticos de la siguiente manera: Debe considerarse como día favorable para el desarrollo de la enfermedad, aquel en que la lluvia acumulada de los 10 días anteriores no sea menor de 30 mm. y la temperatura media móvil de 5 días anteriores no sea mayor de 25°C.

Cuando se cumplan 10 días consecutivos favorables en cuanto a lluvia y dentro de ellos 7 con la temperatura media móvil señalada, debe pronosticarse que la enfermedad se manifestará entre los 7 y 14 días, contados a partir del último día del período. Si dentro del lapso se producen mínimos de 7.2°C, disminuyen las posibilidades de infección.

Los registros meteorológicos de temperatura, humedad relativa y lluvias se obtienen de termohigrógrafos, colocados en casillas meteorológicas convenientemente distribuidas. Las hojas registran las variaciones de humedad relativa, temperatura y cambian semanalmente. Para las lluvias se emplean pluviómetros.

Ambos aparatos están sobre el cultivo de papa y se efectúan

2 observaciones semanalmente, para recoger los registros, cambiar fajos y verificar sanidad de los cultivos.

Si no existe un sistema de alarma, cuando el clima es húmedo o lluvioso con rocíos frecuentes y persistentes, lo mejor es tratar los cultivos a intervalos cortos y regulares, y en forma más espaciada si el clima es seco. (7)

e) CONTROL DE LA ENFERMEDAD

De la lista de fungicidas bastante numerosa que se encuentran en el comercio, destacan los Ditiocarbonatos de Manganeso (MANEB) y Zinc, y productos de coordinación de MANEB con iones metálicos de Zinc. Son también eficientes los productos a base de Trifenil Acetato de Estaño o de Trifenil Hidróxido de Estaño. (Ver cuadro de fungicidas más comunes).

Los productos químicos se expenden en forma de polvos, que se mezclan con determinada cantidad de agua, de manera que al pulverizar las plantas, éstas queden totalmente cubiertas por el líquido con el fungicida disuelto.

Otra forma igualmente eficaz para controlar la enfermedad, es la utilización de cultivos resistentes al hongo. En Mé-

xico se han desarrollado varios cultivos con éxito, esta resistencia llamada de campo permite que la planta se desarrolle totalmente oponiendo resistencia a todas las razas del hongo. El nivel de resistencia genético varfa, de ahí que muchas variedades en distintos países posean un comportamiento diferente.

Otros métodos para controlar o reducir los daños del Tizón Tardío comprenden:

- 1) Uso de semilla sána.
- 2) Desechar los tubérculos enfermos o tratar las pilas de desechos con herbicida.
- 3) Utilizar un lanzallamas o una sustancia química para destruir las gufas.
- 4) Retardar cuando sea posible la extracción de los tubérculos al menos 2 semanas después de haber destruído las gufas.
- 5) Asperjar los campos con 100 Galones de agua, uno o dos días antes de sacarlos, para ayudar a impedir que la enfermedad se disemine a los tubérculos.

En el Valle de Toluca, se siembra a fines de abril o prime-

ros días de mayo; sembrando en éstas fechas, las plantas jóvenes avanzan lo suficiente en su desarrollo para el -- tiempo en que las lluvias fuertes se presentan (julio), facilitando el control del Tizón Tardío.

Sembrando en junio la prevención del Tizón Tardío es algunas veces difícil o imposible, aún siguiendo un programa normal de aspersiones. (7)

FUNGICIDAS MAS USADOS PARA CONTROLAR EL TIZON TARDIO
(Phytophthora infestans)

DESIGNACION	FORMULA	D O S I S	CONCENTRACION (p.a.%)	NOMBRE COMERCIAL
Mancozeb	Producto de coordinación de iones Zn con etilen-bisditiocarbamato de manganeso.	160-200 g/100l de agua ó 1.5-3 Kg p.a./ha.	80 70	Dithane M-45 Triziman D
Maneb	Etilen-1,2-bis-ditio carbamato de manganeso.	140-180 g/100l de agua ó 1.5-2 Kg p.a./ha.	80 80 80 80 80	Maneb Ciba-Geigy Magistral M Maneb Duperial Manzate D Trimangol 80 Maneb 80 Tritumol
Metiram	Bisulfuro de polietilen thiuran activado por Zn.	80-200 g p.a./100l de agua ó 1.2-2 Kg p.a./ha.	80	Metiram p.m.
Propineb	Propileno-bis-ditio carbamato de Zn.	140-200 gp.a./100l de agua ó 1-2 Kg p.a./ha.	70	Antracol
Trifenil - acetato de estaño.	Trifenil acetato de estaño.	30 g p.a./100l de agua ó 250-600 g p.a./ha.	60 56	Brestan 60 Brestan 60

C A P I T U L O V I I

A N T A G O N I S M O

Un microorganismo se defiende de sus enemigos de diversos modos:

Puede producir metabolitos que alteren las condiciones de un medio, tales como pH, presión osmótica y tensión superficial, haciendo el ambiente desfavorable para el desarrollo de un microorganismo más exigente. Asimismo puede elaborar sustancias tóxicas específicas que afecten al metabolismo de otros microorganismos hasta el punto de que mueran o sean incapaces de reproducirse. Estas sustancias se denominan antibióticos, y el fenómeno recibe el nombre de Antibiosis o Antagonismo.

El fenómeno de Antibiosis o Antagonismo entre los microorganismos fue descubierto desde el siglo pasado. Sin embargo, durante muchas décadas no llamó la atención de los investigadores.

El interés para el estudio de las sustancias antibióticas se ha incrementado fuertemente sólo en los últimos años, después que quedaron demostradas las magníficas propiedades curativas de la Penicilina.

El éxito de la Penicilina condujo a la búsqueda de nuevos antibióticos, en principio, en los centros de investigación médica y en los laboratorios que se ocupaban del estudio de la Microbiología del suelo y posteriormente en la industria Farmacéutica.

El campo más estudiado de esta búsqueda ha sido el de los -- Streptomycetos. Se han reportado nuevos antibióticos prove-- nientes de Micromonospora, Microbiospora, ciertos hongos, etc.

a) ANTAGONISMO EN LA RIZOSFERA

La mayoría de microorganismos notoriamente productores de antibióticos habitan en el suelo. Se ha discutido mucho - sobre si tales microorganismos producen realmente antibió- ticos en su ambiente natural; de ser así, lo hacen en me-- dios localizados donde encuentran alimento adecuado, como en la rizosfera de ciertas plantas.

En la rizosfera la producción de antibióticos es alta, de- bido a la existencia de sustratos energéticos, que favore- cen la proliferación de microorganismos sintetizadores de estas sustancias. (11)

Los antibióticos pueden ejercer sobre la planta un efecto directo al ser absorbidos por las raíces y de esta manera, intervenir directamente modificando el equilibrio entre - los microorganismos rizosféricos. Además pueden actuar - protegiendo el vegetal contra la invasión de microorganis- mos patógenos.

El antagonismo puede ser de dos formas:

- 1) Competencia. - Debido a que en la rizosfera las fuentes nutricionales y energéticas son limitadas, el mecanismo de competencia juega un papel muy importante en la protección de las plantas contra los patógenos. Se ha demostrado que las bacterias de la rizosfera pueden limitar el crecimiento de hongos de la raíz de alfalfa, utilizando para su provecho la tiamina y los nutrimentos minerales.

- 2) Antibiosis. - La densidad absoluta de los microorganismos sintetizantes de antibióticos, es frecuentemente más elevada en la rizosfera que en el suelo no rizosférico. Estos microorganismos son, por lo regular Actinomicetos que ejercen una acción antagónica frente a las bacterias. (11)

En años recientes se han venido haciendo varias investigaciones con respecto al uso de microorganismos antagonistas para llevar a cabo un control biológico en plantas infectadas por patógenos.

Estos estudios indican que los microorganismos capaces de producir antibióticos pueden tener distintas necesidades, y que las condiciones del suelo favorables a la producción

de uno, pueden no servir para otros.

De los estudios realizados, los métodos que han proporcionado un gran avance en la observación de antagonismo en suelos, son los siguientes:

- 1) Tratamiento del suelo con vapor a 60°C por 30 min. para eliminar patógenos de las raíces, permitiendo que sólo quede una flora saprófita residual - antagonista del patógeno.

- 2) Añadir al suelo, una sustancia orgánica para estimular el desarrollo de una microflora antagonista efectiva. Por ejemplo: adicionar quitina (Mitchell and Alexander 1961), o restos vegetales de diferentes clases como soya, (Wienhold and Bowman 1968).

La quitina causa un incremento de la población microbiana del suelo especialmente bacterias, hongos y actinomicetos. Varios investigadores demostraron un incremento en el número de microorganismos sintetizadores de antibióticos en suelos adicionados de quitina. Esto acompañado de un decremento en la actividad saprofítica de hon

gos y reducción de severidad de la infección, su giere la posibilidad de producción de sustancias inhibidoras de los patógenos.

- 3) Adición de antagonistas seleccionados previamente, a suelos tratados y su establecimiento en la rizosfera, en la raíz de la plantula para poder checar la protección contra una subsecuente introducción de un patógeno, y ver si puede continuar dicha protección cuando las plantitas son - trasplantadas a suelos no tratados. (5, 34 y 35)

C A P I T U L O V I I I

METODOS Y PARTE EXPERIMENTAL

a) MATERIALES

Cajas de Petri

Pipetas de 1 ml.

Pipetas de 10 ml.

Tubos de cultivo de 16x150 mm.

Matraces Erlenmeyer de 250 ml.

Matraces Erlenmeyer de 1000 ml.

Vasos de precipitados de 250 ml.

Probetas de 1000 ml.

Potenciómetro

Agitador

Hidrómetro de Bouyoucus

Bureta

Tablas de Munsell

Placas de vidrio excavadas

Asa de siembra

Tripie

Telas de asbesto

Mecheros

Gradillas

b) MEDIOS DE CULTIVO

1) AGAR EXTRACTO DE SUELO. (Bunt y Rovira 1955)

Glucosa	1.0 gr.
Fosfato dipotásico	0.5 gr.
Agar	15.0 gr.
Extracto de suelo	100 ml.
Agua destilada	900 ml.

Esterilizar a 121°C, 15 Min.

2) MEDIO DE MARTIN (Rosa de Bengala Estreptomycin - agar). (24)

Glucosa	10.0 gr.
Peptona	5.0 gr.
Fosfato monopotásico	1.0 gr.
Sulfato de magnesio	0.5 gr.
Rosa de Bengala	1:30,000
Sulfato de Dihidro- Estreptomycin	30 mcg/ml.
Agar	20.0 gr.
Agua destilada	1000 ml.

La Estreptomycin se agrega en condiciones asépticas, después de la esterilización del medio de cultivo a 121°C, 20 Min.

3) MEDIO DE PAPA DEXTROSA AGAR. (29)

Infusión de papa	200 gr.
Dextrosa	20 gr.
Agar	15 gr.
p ^H	5.6 ± 0.2
Agua Destilada	1000 ml.
Esterilizar a 121°C, 15 min.	

4) AGAR EXTRACTO GLUCOSA Y TRIPTICASEINA. (10)

Peptona de Casefna	5.0 gr.
Extracto de Carne de Res	3.0 gr.
Dextrosa	1.0 gr.
Agar	15.0 gr.
Agua Destilada	1000 ml.
p ^H	7 ± 0.2
Esterilizar a 121°C, 15 min.	

5) MEDIO V8 NORMAL. (29)

Carbonato de calcio	4.5 gr.
Agar	20.0 gr.
Jugo V8	300 gr.
Agua Destilada	1000 ml.

Preparación:

Se mezcla el jugo V8 con el carbonato de calcio, -

se agita para que se incorpore al carbonato. Se centrifuga por 30 min., a 3000 r.p.m., luego se adiciona agua destilada hasta obtener 500 ml.

El agar se disuelve en 500 ml. de agua destilada, se hierve; y posteriormente se mezcla con el anterior preparado.

Se esteriliza en autoclave a 121°C, durante 45 Min.

6) CALDO DE SOYA Y TRIPTICASA. (10)

Triptona	17.0 gr.
Peptona de soya	3.0 gr.
Dextrosa	2.5 gr.
Cloruro de Sodio	5.0 gr.
Fosfato Dipotásico	2.5 gr.
p ^H	7 ± 1
Agua Destilada	1000 ml.

Esterilizar 121°C, 15 Min.

7) LECHE TORNASOLADA. (10)

Leche descremada	100 gr.
Tornasol	0.75 gr.
Agua Destilada	1000 ml.

p^H 7.0 - 7.2

8) AGAR SACAROSA NITRATO

Extracto de carne	3.0 gr.
Peptona	5.0 gr.
Nitrato de Potasio	1.0 gr.
Agar	12.0 gr.
Sacarosa	5.0 gr.
Agua Destilada	1000 ml.

9) AGAR NUTRITIVO. (10)

Extracto de carne	3.0 gr.
Peptona (casitona)	5.0 gr.
Agar	15.0 gr.
Agua Destilada	1000 ml.

10) AGAR GELATINA. (10)

Gelosa nutritiva	100 ml.
Gelatina	0.4 gr.
Agua Destilada	1000 ml.
Ajustar p^H 7.0 - 7.2	

11) AGAR GLUCOSA ASPARAGINA. (10)

Glucosa	10.0 gr.
Asparagina	0.5 gr.
KH_2PO_4	0.5 gr.
Agar	15.0 gr.

Agua Destilada	1000 ml.
----------------	----------

Ajustar p^H 6.8

12) AGAR DEXTROSA. (10)

Peptona	5.0 gr.
---------	---------

Glucosa	10.0 gr.
---------	----------

KH_2PO_4	1.0 gr.
------------	---------

Agar	15.0 gr.
------	----------

Agua Destilada	1000 ml.
----------------	----------

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	5.0 gr.
----------------------	---------

Ajustar p^H a neutralizar

13) CALDO DEXTROSA. (10)

Peptona	5.0 gr.
---------	---------

Glucosa	10.0 gr.
---------	----------

KH_2PO_4	1.0 gr.
------------	---------

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	5.0 gr.
----------------------	---------

Agua Destilada	1000 ml.
----------------	----------

Ajustar a neutralizar

14) AGAR ALMIDON. (10)

Peptona	5.0 gr.
---------	---------

Extracto de carne	3.0 gr.
-------------------	---------

Almidón soluble	10.0 gr.
Agar	15.0 gr.
Agua Destilada	1000 ml.

15) CALDO BASE ROJO DE FENOL. (10)

Extracto de carne	1.0 gr.
Peptona	10.0 gr.
Cloruro de sodio	5.0 gr.
Rojo Fenol	0.018 gr.

pH Final 7.4

Adicionar 1% del azúcar deseado.

c) COLECCION DE MUESTRAS

1. SUELOS.- De ambos sitios de estudio, CIDAGEM, y "La -- Puerta", se tomaron muestras de suelo de la -- capa arable (0 a 30 cm. de profundidad), procurando que fuera lo más cercano a las raíces de la papa.

Se tomaron 5 muestras, las cuales fueron colocadas en bolsas de polietileno para su posterior análisis.

La muestra número 1 (MI), se colectó en el --

campo experimental del CIDAGEM, se muestreó en un suelo donde había una variedad de papa resistente al Tizón Tardío. El cultivo se encontraba en buenas condiciones con pequeños brotes de la infección.

La muestra número 2 (IM1) se colectó igualmente en el campo experimental del CIDAGEM, se muestreó de una zona que presentaba la infección.

La muestra 3 (M2) se tomó en un lugar denominado "La Puerta". Dicho suelo estaba cultivado con una variedad de papa susceptible al Tizón Tardío. El cultivo presentaba bastantes brotes de la enfermedad.

La muestra número 4 (IM2) se colectó de "La Puerta", de plantas que presentaban la enfermedad.

La muestra número 5 (M3) se colectó en el campo experimental del CIDAGEM, durante la cosecha de papa, la cual fue tomada en varias partes:

- a) Zona tratada con fungicida.
- b) Zona sin fungicida.
- c) Zona con variedad de papa mejorada y con fungicida.

2. PLANTAS.- Igualmente de los sitios de estudio se obtuvieron plantas del cultivo de papa que presentaban la enfermedad, las cuales fueron colectadas con su raíz y con el suelo adherido a ésta, se guardaron en bolsas de polietileno para conservarlas en buenas condiciones hasta el momento de su utilización.

d) ANALISIS FISIOQUIMICO DEL SUELO.

- 1) Color.- Se determinó en seco y húmedo por comparación con las tablas Munsell, (1954). (28).
- 2) Textura.- Se determinó por el método de Bouyoucus (1936). (3).
- 3) pH.- Se realizó por el método potenciométrico,-

con una relación suelo-agua 1:2.5 Jackson (1964).

- 4) Materia orgánica.- Se determinó el contenido de materia orgánica por el método de Walkley y Black modificado por Walkley (1947).

e) AISLAMIENTO DE PHYTOPHTORA INFESTANS

El aislamiento de Phytophthora infestans se hizo de las lesiones de las hojas haciendo cortes pequeños del halo clorótico que rodeaba el tejido necrosado, los cuales se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio comercial, posteriormente se transfirieron a cajas de Petri que contenían medio de cultivo V8 e incubados por 10 días a 20°C. (30)

Las colonias del hongo aislado se sembraron en medio papa dextrosa para su conservación. Su identificación se logró por observación microscópica, así como por sus características macroscópicas.

La observación microscópica se hizo preparando un microcultivo, el cual fue teñido con azul de metileno. Asimismo, se realizó una preparación en fresco adicionando únicamente lugol.

f) AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS DE LA RIZOSFERA

Se realizó el aislamiento por el método de diluciones. Se hicieron de cada una de las muestras tomando parte de las raíces que contenían suelo firmemente adherido.

En todas las diluciones se empleó solución salina isotónica peptonada para evitar la plasmólisis de los microorganismos.

Para bacterias y actinomicetos se empleó el medio agar extracto de suelo, Bunt y Rovira (1955).

Para hongos el medio rosa de bengala estreptomycin agar, Martin (1949). (1 y 38).

Los medios inoculados se incubaron a 28°C. durante 5 días para hongos, y 8 días para actinomicetos y bacterias.

Los microorganismos aislados se resembraron en tubos con medio inclinado para probar posteriormente si presentaban antagonismo frente al hongo.

Las bacterias y hongos fueron resembrados en agar glucosa tripticasefna y papa dextrosa agar respectivamente.

g) SELECCION DE CEPAS QUE PRESENTAN ANTAGONISMO

La observación del antagonismo se realizó en placas conteniendo agar extracto glucosa y tripticasefna para bacterias y actinomicetos, y PDA para hongos.

Phytophthora infestans desarrolla perfectamente en ambos medios.

Se utilizaron una cepa de Ph. infestans proporcionada por el Colegio de Posgraduados de Chapingo y la cepa aislada en el laboratorio.

La suspensión de esporas se obtuvo por resiembra en medio líquido (caldo de soya y tripticasefna), e incubando por espacio de 5 días, o bien adicionando solución salina peptonada a un tubo conteniendo el medio de cultivo inclinado en el que hay abundante esporulación de hongo.

Los métodos empleados para probar la presencia de antagonismo fueron los siguientes:

1. Método de Difusión.

Este método se realizó colocando en la placa 1 ml. de la suspensión de Ph. infestans, se adicionó el medio,

se homogenizó y después de solidificado fue sembrado por picadura con las cepas de los microorganismos de prueba.

La respuesta microbiana se determina midiendo las zonas de inhibición presente en las placas de agar.

2. Método por estría cruzada.

En este método se siembran por estría los microorganismos de prueba en una placa conteniendo agar, se deja incubar por espacio de 5 días. Posteriormente, se siembra 1 ml. de la suspensión de esporas de Ph. infestans en forma transversal a la estría hecha anteriormente; se incuba por espacio de 5 días y al cabo de este tiempo se observan las zonas de inhibición. (12, 18 y 21).

3. Método por estría cruzada modificada.

En cajas de Petri conteniendo agar extracto glucosa - tripticasefina se siembran por estría bacterias y actinomicetos a probar. En cajas de Petri conteniendo papa dextrosa agar se sembraron por estría los hongos a probar.

Se incubaron por espacio de 5 días a 28°C. Cuando hubo desarrollo de los microorganismos se agregaron 10

ml. del medio de cultivo correspondiente en cada caso formando una capa que cubrfa la colonia ya desarrollada. Ya solidificado el medio se colocan en refrigeración durante 1 día, posteriormente se adicionó 1 ml. de suspensión de esporas de Ph. infestans procurando que cubriera la superficie uniformemente. Se incubaron las cajas a temperatura ambiente por espacio de 3 a 5 días, observándose en caso positivo, las zonas de inhibición.

Para bacterias el medio de agar extracto glucosa y -- tripticasefna que se adicionó en la superficie de la caja, contenfa Rosa de Bengala 1:30,000 y estreptomina para evitar que la colonia de bacteria se extendiera demasiado. Se empleó un control para observar el desarrollo de Ph. infestans en el medio con Rosa de Bengala.

h) VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS METODOS

1. Método de Difusión.

Es un método sencillo y rápido, pero con este método Ph. infestans desarrollaba más rápido que el microorganismo de prueba, por lo tanto no se podía observar si existfa inhibición o no.

2. Método de Estría Cruzada.

Este método resultó adecuado para nuestro trabajo.

3. Método de Estría Cruzada Modificado.

Con este método se obtuvieron mejores resultados, las zonas de inhibición se observaron claramente y los -- problemas de contaminación fueron mínimos.

Asimismo, al hacer la modificación para bacterias -- igualmente proporcionó buenos resultados.

C A P I T U L O I X

R E S U L T A D O S

R E S U L T A D O S

1. ANALISIS FISICOQUIMICO DEL SUELO.

a) COLOR:

En la muestra M1 el color en seco fue 10 YR 4/1, gris oscuro. En húmedo es 5 YR 2.5/2 negro.

En la muestra M2 el color en seco fue 2.5 Y 4/2, café grisáceo oscuro. En húmedo fue 5 YR 2.5/2, café rojizo oscuro.

En la muestra M3 el color en seco fue 10 YR 4/2, café grisáceo oscuro. En húmedo fue 10 YR 2/1, negro.

b) TEXTURA:

M1 - Franca

M2 - Migajón arenosa

M3 - Franca

c) p^H

El pH obtenido fue de 5.7, 5.8, 6.9, para las muestras M1, M2, M3 respectivamente.

d) MATERIA ORGANICA:

El porcentaje de materia orgánica fue de 1.39%, 2.33% y 1.05% para las muestras M1, M2 y M3 respectivamente.

TABLA 1 PROPIEDADES FISICO QUIMICAS

MUESTRA	C O L O R (SECO)	C O L O R (HUMEDO)	MAT. ORGANICA en %	pH DIL. 1;25	TEXTURA
M1	10 YR 4/1 Gris oscuro	5 YR 2.5/2 Negro	1.39	5.7	Franca
N2	2.5 Y 4/2 Grisáceo oscuro	5 YR 2.5/2 Café rojizo oscuro	2.33	5.8	Migajón arenosa
M3	10 YR 4/2 Café grisáceo oscuro	10 YR 2/1 Negro	1.05	6.95	Franca

2. AISLAMIENTO DE PHYTOPHTORA INFESTANS.

Se logró el aislamiento de Phytophthora infestans, dejando incubar más de 10 días. Macroscópicamente se observa un micelio algodonoso de color blanco, fuertemente adherido al medio. En su observación microscópica se observa un micelio hialino con zoosporangios semejantes a pequeños limones. (Figura 1)

3. AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS DE LA RIZOSFERA.

La cantidad de microorganismos aislados fue la siguiente:

	Hongos	5
De la muestra M1:	Actinomicetos	15
	Bacterias	30
	Hongos	7
De la muestra M2:	Actinomicetos	22
	Bacterias	23
	Hongos	
De la muestra M3:	Actinomicetos	39
	Bacterias	42

4. CEPAS QUE PRESENTARON ANTAGONISMO.

En la muestra M1 presentaron antagonismo al hongo 2 cepas denominadas como: M₁4 y M₁3.

En la muestra M2 presentaron antagonismo al hongo 2 cepas, las cuales fueron denominadas como: IM₂5 e - IM₂8.

En la muestra M3 presentaron antagonismo al hongo 4 cepas, que son: M₃8a, M₃10a, M₃11a y M₃25b.

Para observación de antagonismo referirse a figura II.

TABLA 2 CEPAS POSITIVAS EN LA MUESTRA M1

C E P A	ZONA DE INHIBICION CEPA 1 (mm)	ZONA DE INHIBICION CEPA 2 (mm)
M ₁ 3	52	48
M ₁ 4	30	28

78

CEPA 1. Cepa proporcionada en el departamento de fitopatología de la escuela de postgraduados de Chapingo.

CEPA 2. Cepa aislada en el laboratorio.

TABLA 3 CEPAS POSITIVAS EN LA MUESTRA M2

C E P A	ZONA DE INHIBICION CEPA 1 (mm)	ZONA DE INHIBICION CEPA 2 (mm)
IM ₂ 5	20	10
IM ₂ 8	80	70

TABLA 4 CEPAS POSITIVAS EN LA MUESTRA M3

C E P A	ZONA DE INHIBICION CEPA 1 (mm)	ZONA DE INHIBICION CEPA 2 (mm)
M ₃ 8a	72	60
M ₃ 10a	40	28
M ₃ 11a	30	25
M ₃ 25b	46	24

5. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DE LAS CEPAS ANTAGONICAS.

Ver tabla 5. (Observaciones realizadas en medio agar glicerol asparagina). (FIGURA III y IV).

6. IDENTIFICACION DE CEPAS ANTAGONICAS A PHYTOPHTORA IN FESTANS.

Cepa M₁₃

Caldo Dextrosa: Formación de película membranosa de color amarillo en la superficie.

Gelatina nutritiva: Crecimiento superficial de color blanco, licuefacción positiva.

Agar almidón: Colonia blanca de aspecto polvoso, - presenta hidrólisis.

Agar Dextrosa: Colonia blanca de aspecto polvoso.

Agar sacarosa nitrato: Reducción de nitratos negativa.

Agar asparagina: Colonia blanca de aspecto polvoso, - produce pigmento color uva en el medio.

Leche tornasolada: Acidificación del medio, peptonización positiva.

Cepa M₁4

Caldo Dextrosa: Formación de una película blanca en la superficie.

Gelatina nutritiva: Colonia blanca grisácea en la superficie del medio licuefacción negativa.

Agar almidón: Colonia blanca grisácea, hidrólisis positiva.

Agar Dextrosa: Colonia blanca grisácea, elevada, radiada en el centro.

Agar sacarosa nitrato: Reducción de nitratos negativa.

Agar asparagina: Colonia grisácea con pigmento color amarillo en el medio.

Leche Tornasolada: Precipitado violeta, coagulación ligera.

Cepa IM₂5

Caldo Dextrosa: Colonia blanca dentro del medio.

Gelatina nutritiva: Crecimiento superficial, colonias de color blanco. Licuefacción negativa.

Agar Dextrosa: Colonias blanco grisáceas pequeñas. No se observa ningún cambio en el medio de cultivo.

Agar almidón: Colonia grisácea con la periferia color blanca, hidrólisis positiva.

Agar sacarosa nitrato: Reducción de nitratos negativa.

Agar asparagina: Colonia gris verdosa de aspecto gisoso.

Leche tornasolada: Acidificación del medio, presencia de coagulación.

Cepa IM₂8

Caldo Dextrosa: Crecimiento en el fondo del tubo de aspecto floculado.

Gelatina nutritiva: Colonias pequeñas difundidas en todo el medio. Licuefacción positiva.

Agar Dextrosa: Colonia blanca de aspecto gisoso.

Agar almidón: Colonias pequeñas blancas rugosas, hidrólisis ligera.

Agar sacarosa nitrato: Reducción de nitrato negativa.

Agar asparagina: Colonia blanca de aspecto gisoso.

Leche tornasolada: Acidificación del medio presencia de coagulo.

Cepa M₃8a

Caldo Dextrosa: Crecimiento de una colonia blanca en la superficie, crecimiento en el fondo de aspecto membranoso ligeramente amarillo.

Gelatina nutritiva: Colonias blancas en la superficie, licuefacción positiva.

Agar Dextrosa: Colonia blanca de aspecto polvoso.

Agar almidón: Colonia de aspecto polvoso, hidrólisis positiva.

Agar asparagina: Colonia blanco grisácea con pigmento ligeramente amarillo.

Leche tornasolada: Acidificación del medio y coagulación completa.

Agar sacarosa nitrato: Reducción de nitratos positiva.

Cepa M₃10a

Caldo Dextrosa: Se observan colonias amarillo pálido.

Gelatina nutritiva: Se forma un anillo color blanco, licuefacción positiva.

Agar Dextrosa: Colonias blancas.

Agar almidón: Colonias blancas, hidrólisis positiva.

Agar sacarosa nitrato: Reducción de nitrato positiva.

Agar asparagina: Colonia color crema con pigmento ligeramente amarillo en el medio.

Leche tornasolada: Formación de coagulo en el fondo - acidificación ligera.

Cepa M₃11a

Caldo Dextrosa: Crecimiento de una colonia de aspecto polvoso ligeramente amarilla en la superficie.

Gelatina nutritiva: Formación de un anillo, licuefacción positiva.

Agar Dextrosa: Colonia blanca de aspecto polvoso, sin cambio.

.

Agar almidón: Crecimiento de una colonia blanca, hidrólisis positiva.

Agar sacarosa nitrato: Reducción de nitratos positiva.

Agar asparagina: Colonia blanca de aspecto gisoso.

Leche tornasolada: Formación de un precipitado, acidificación del medio.

NOTA: Para observación de reducción de azúcares dirigirse a la Tabla 6.

Cepa M₃25b

La identificación de esta cepa se realizó únicamente con las observaciones macroscópicas y microscópicas.

TABLA 5 OBSERVACIONES MACRO Y MICROSCOPICAS DE LOS MICROORGANISMOS

QUE PRESENTARON ANTAGONISMO

MUESTRA	MACROSCOPICAS	MICROSCOPICAS
M ₁ 3	Colonia blanca, produce pigmento color uva en el medio.	Micelio microsifonado filamentosos con esporas terminales e intermedias. (Gram +).
M ₁ 4	Colonia grisácea con pigmento color ambar en el medio.	Micelio microsifonado, esporas en formación de espiral. (Gram +).
IM ₂ 5	Colonia color gris verdosa.	Micelio filamentosos con esporas intermedias y terminales. (Gram +).
IM ₂ 8	Colonia color crema de aspecto polvoso.	Micelio artrosporados con esporas formando curvas. (Gram +).
M ₃ 8a	Colonia blanca de aspecto gisoso.	Micelio artrosporados con esporas formando curvas. (Gram +).
M ₃ 10a	Colonia adherida al medio de color crema.	Micelio microsifonado artrosporados con esporas agrupadas en forma lineal. (Gram +).
M ₃ 11a	Colonia seca de color crema adherida al medio.	Micelio artrosporados, esporas en formación lineal. (Gram +).
M ₃ 25b	Micelio color verde adherido al medio de aspecto polvoso, pigmento amarillo en el medio.	Micelio macrosifonado con esporas en formación de manita.

TABLA 6 REACCIONES BIOQUIMICAS DE LAS CEPAS QUE PRESENTARON ANTAGONISMO

LECTURA EFECTUADA A LAS 72 HRS.

CEPA	FRUCTUOSA	MANITOL	GLUCOSA	XILOSA	RAFINOSA	D GALACTOSA	L ARABINOSA	RAMNOSA	SACAROSA
M ₁ 3	+	-	+	-	-	* +	-	-	+
M ₁ 4	+	-	±	+	-	+	-	-	+
IM ₂ 5	-	-	+	-	-	-	-	-	+
IM ₂ 8	+	-	±	-	-	-	-	-	-
M ₃ 8a	-	-	±	-	-	-	-	-	+
M ₃ 10a	+	-	±	-	-	-	-	-	+
M ₃ 11a	-	-	+	-	-	-	-	-	+

88

* A las 48 Hrs. dio positiva. Posteriormente se invirtió.

+ = Produce fermentación

- = No produce fermentación

De acuerdo con los resultados obtenidos en cuanto a observaciones Macroscópicas, Microscópicas y pruebas bioquímicas, se logró la identificación de los microorganismos, basándose para actinomicetos en lo especificado en el manual de Bergey's y en la Chronica botánica de Waksman (4 y 37), y la de hongos de -- Alexopoulos y Webster. (2 y 39).

Debido a que existen cepas que pertenecen al mismo género, fueron agrupadas con mayor facilidad.

Las cepas M₁4, IM₂8, M₃8a, M₃10a y M₃11a quedaron clasificadas de la siguiente manera:

ORDEN: Actinomycetales
 FAMILIA: Streptomicetaceae
 GENERO: Streptomyces

Lo único que varía en estas cepas, de acuerdo con las reacciones bioquímicas obtenidas, es la especie.

Para las cepas M₁3, IM₂5, se logró la siguiente identificación:

ORDEN: Actinomycetales
 FAMILIA: Micromonosporaceae
 GENERO: Micromonospora

Igualmente lo que varía para estos microorganismos es la especie.

La cepa M₃25b, fue clasificada como sigue:

ORDEN: Eurotiales
 FAMILIA: Eurotiaceae
 GENERO: Penicillium

A continuación se menciona un cuadro de características generales, así como clasificación de microorganismos pertenecientes al orden de los Actinomycetales. (14)

ORDEN: ACTINOMYCETALES.

I. No forman micelio, pueden producir filamentos; células que pueden ser difteroides o cocoides; no forman esporas.

A) No ácido resistentes; anaerobios facultativos, algunos anaerobios o aerobios.

FAMILIA: Actinomycetacea
 GENERO I. Actinomyces
 GENERO II. Arachnia
 GENERO III. Bifidobacterium

GENERO IV. Bacterionema

GENERO V. Rothia

B) Acido resistentes

FAMILIA: Mycobacteriaceae

GENERO: Mycobacterium

II. Producen micelio verdadero.

A) Symbiontes en nódulo de plantas.

FAMILIA: Frankiaceae

GENERO I. Frankia

B) Saprófitos o parásitos facultativos.

1. Formadores de esporas dentro de esporangio.

FAMILIA: Actinoplanaceae

GENERO I. Actinoplanes

GENERO II. Spirillospora

GENERO III. Streptosporangium

GENERO IV. Amorphosporangium

GENERO V. Ampullariella

GENERO VI. Pilimelia

GENERO VII. Planomonospora

GENERO VIII. Planobispora

GENERO IX. Dactylosporangium

2. No formadores de esporas dentro de un esporangio.

A) Micelio filamentoso dividido transversalmente y al menos en dos planos longitudinales para formar masas de elementos cocoides móviles. Micelio aéreo usualmente ausente.

FAMILIA: Dermatophilaceae

GENERO I. Dermatophilus

GENERO II. Geodermatophilus

B) Micelio filamentoso comunmente fragmentado a dar elementos cocoides o elongados, que son usualmente no móviles. Sólo algunas veces son reportadas como móviles. Esporas aéreas son producidas ocasionalmente pero generalmente son ausentes, algunas especies son ácido resistentes.

FAMILIA: Nocardiaceae

GENERO I. Nocardia

GENERO II. Pseudonocardia

C) Micelio filamentoso que tiende a permanecer intacto, no se fragmenta, generalmente tienen

abundante micelio aereo y esporas largas, cor
tas, en forma lineal, espiral, curvas.

FAMILIA: Streptomycetaceae

GENERO I. Streptomyces

GENERO II. Streptoverticillium

GENERO III. Sporichthya

GENERO IV. Microellobiospora

D) Micelio filamentoso permanece intacto, esporas -
formadas singularmente en pares, o en curvas cor
tas en cada una de las hifas aereas o micelio ad
herido al sustrato.

FAMILIA: Micromonosporiaceae

GENERO I. Micromonospora

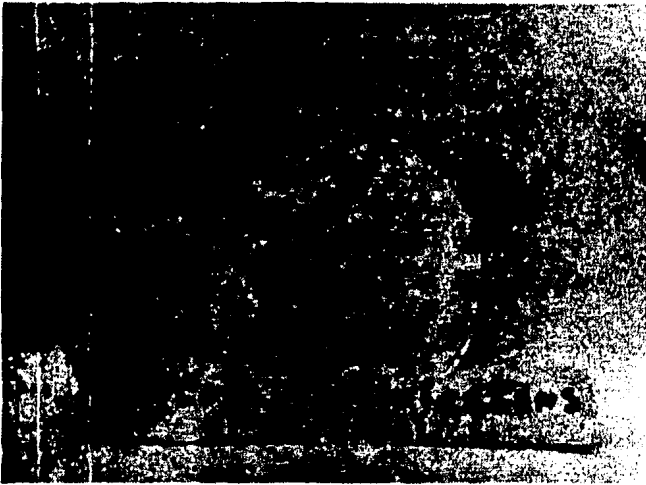


FIGURA 1. CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS Y MICROSCOPICAS
DE PHYTOPHTORA INFESTANS



FIGURA II. OBSERVACION DE ANTAGONISMO.

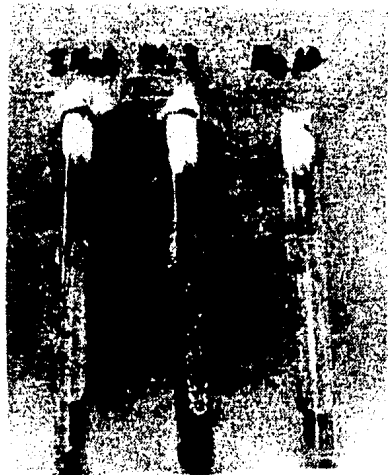


FIGURA III. CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS DE LAS CEPAS ANTAGONICAS.

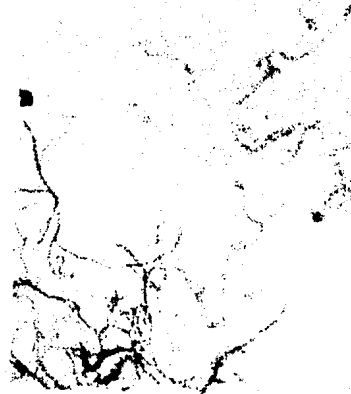
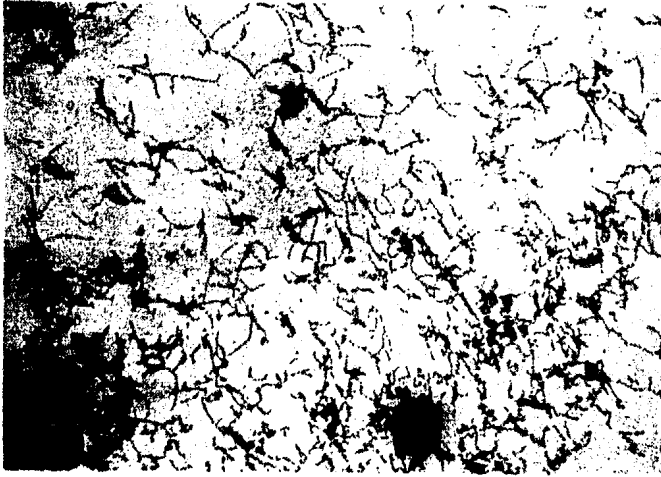


FIGURA IV. CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS DE LAS CEPAS
ANTAGONICAS.

CAPITULO X

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. En las propiedades físico-químicas del suelo no se observa gran variación de un suelo a otro, como podrá observarse las muestras M1 y M3 tienen la misma textura, mientras que la muestra M2 presenta una textura más fina.

El pH tiende a ser ácido en las muestras, a excepción de la muestra M3 en la que es más alto. Como se recordará, esta muestra fue tomada en tiempo de cosecha, en esta época hay una mayor acumulación de sales que provocan que el pH del suelo se incremente.

La concentración de materia orgánica es menor en las muestras M1 y M3, mientras que en la muestra M2 es más alto. El color varía de gris oscuro a negro y de café grisáceo a negro.

2. Para el aislamiento de Phytophthora infestans se presentaron algunos problemas. Se emplearon diferentes desinfectantes de las hojas; pero el método que se menciona es el que proporciona mejores resultados, asimismo, el tiempo de incubación fue mayor que el mencionado en la bibliografía. Ya aislado su conservación fue más fácil, para ello

se hicieron resiembras continuas en medio agar V8.

En la observación microscópica se observan perfectamente los zoosporangiforos y los zoosporangios semejantes a limoncitos.

3. Se aislaron 203 cepas de la rizosfera para probar su antagonismo, de éstas sólo menos del 4% presentaron antagonismo contra el hongo.

Al realizarse este trabajo se pensaba que cuando en un mismo cultivo existían plantas infectadas como plantas no infectadas, era que en estas últimas existía algún microorganismo capaz de inhibir la actividad del hongo. Pero como podrá observarse en los resultados obtenidos, esto no se cumple, ya que se obtuvieron cepas antagonicas tanto de sitios donde había plantas infectadas como de sitios donde había plantas no infectadas. La resistencia de algunas plantas puede deberse a otras causas como por ejemplo: a la producción de fitoalexinas que son sustancias que le proporcionan una resistencia a la planta contra la infección. (14 y 36)

Se han realizado algunos estudios con respecto a esto, -- inoculando plantas de papa con cepas no infectivas de Phy

tophtora infestans y se ha observado que producen sustancias que las protegen contra una infección subsecuente -- con una cepa infectiva de Phytophthora infestans.

De la muestra M3 se obtuvieron cepas tanto de zonas tratadas con fungicida como de zonas no tratadas, por lo cual se piensa que los fungicidas no influyen en la actividad microbiana a nivel de rizosfera, posiblemente afecten a un nivel más superficial.

Como se observa, la mayor cantidad de cepas antagónicas obtenidas, son actinomicetos, por lo que consideramos que sería conveniente aislar actinomicetos de suelos donde se encuentre en mayor proporción y no necesariamente de suelos de cultivo de papa y así, probar actividad antagónica al hongo. Y de esta forma las cepas que presenten una mayor actividad antagónica se prueben "In vivo". Lo cual se puede hacer inoculando plantas que han sido sembradas en suelo previamente esterilizado, con el microorganismo en cuestión y posteriormente cuando las plantas se encuentren en floración inocularlas con una cepa infectiva de Phytophthora infestans y observar si existe o no resistencia a la infección. (5, 25 y 26)

Esto sería como un control biológico antes de que se pre-

sente la infección, es decir, sería un método preventivo. Ahora bien, habría que observar si el microorganismo empleado para efectuar el control le ocasiona daños a la planta, en caso de que esto sucediera, podría pensarse hipotéticamente en proceder a aislar el principio activo del microorganismo que presenta antagonismo y de esta forma inocular plantas únicamente con el principio activo y ver los resultados que proporciona. (33)

4. La identificación de las cepas antagonicas se logró mediante observaciones en propiedades bioquímicas, características Macroscópicas y Microscópicas. Únicamente se llegó a la identificación a nivel de género de los microorganismos ya que para la identificación de la especie es necesario - realizar observaciones más completas y precisas.

Los microorganismos antagonicos están comprendidos en los siguientes géneros: Streptomyces, Micromonospora y Penicillium.

Podemos concluir que el efectuar un control biológico podría proporcionar buenos resultados que serían de gran ayuda, más ahora que se está luchando contra la contaminación ambiental, ya que como se conoce el empleo de fungicidas - afecta cada vez más a la ecología por ser productos no degradables. Para lo cual el primer paso está dado en la -

obtención de cepas que son capaces de impedir in vitro el desarrollo del hongo. El siguiente paso sería probar las cepas obtenidas en un cultivo de papa como se mencionó anteriormente.

Asimismo, las variedades mejoradas en México no han tenido la aceptación deseada, dado que en el tiempo de su creación la exigencia era producir variedades que resistieran al tizón tardío y que tuvieran una producción aceptable -- sobre todo para los agricultores de subsistencia, sin embargo, estas variedades no han superado en calidad alimenticia a las variedades criollas, por lo que los agricultores no las aceptan completamente. Las variedades mejoradas mexicanas no superan a las variedades mejoradas extranjeras, por lo que tampoco en los valles o las zonas de riego han sido aceptadas.

Tanto las variedades criollas como las mejoradas extranjeras son susceptibles al tizón tardío, por lo que en las partes altas las producciones son bajas, pues tratando de evadir las enfermedades, siembran antes de la época lluviosa, quedando los cultivos expuestos a otros problemas que no se pueden remediar como las heladas y las sequías principalmente, mismas que son las causas principales entre otras, de los bajos rendimientos y en ocasiones -

de pérdida total de la cosecha. Por otro lado, las variedades extranjeras sembradas durante el temporal o bajo condiciones de riego, requieren de grandes cantidades de fungicidas para controlar al tizón tardío, lo cual encarece el costo del cultivo y aumenta la contaminación ambiental.

Es por esto que se hace necesario recurrir a otros sistemas que así como ayuden al control de las enfermedades, no disminuyan las propiedades organolépticas del tubérculo.

CAPITULO XI

BIBLIOGRAFIA

1. Alexander, M., 1981. Introduction to soil Microbiology. John Wiley & Sons, Inc. New York and London, 242 págs.
2. Alexopoulos, C.J., and Mims, Ch. W., 1979. Introductory Micology. Third edition. John Wiley & Sons Inc. Pág. 168 - 176.
3. Bouyoucus, G. L., 1965. Directions of making mechanical analysis of soil by hidrometer method. Soil Sci: 42. p 25-30
4. Bredd, R.S., 1975. Bergey's. Manual of determinative Bacteriology 8a edition; Williams & Wilkins Co; Bal.
5. Broadbent, P., Baker, K. F., and Waterworth, I. 1971. Bacteria and Actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in australians soils. Aust. J. Biol. Sci: 24, 925-944.
6. Brown, M.E. 1973. Soil bacteriostasis limitation in growth of soil and rhizosphere bacteria. Can. J. Microb. 19:195-199.
7. Calderoni, A. V. 1978. Enfermedades de la papa y su control. Editorial hemisferio sur S. A. Argentina.
8. Cuervo, U. M., 1979. Relaciones de los suelos derivados de cenizas volcánicas y andosoles con Phytophthora infestans (Mont) De Bary y cultivo de papa. Tesis profesional. Ciencias. UNAM. México. 111 Pág.
9. Chambers, S. C., and Millington, J. R., 1974. Studies on fusarium species associated with a field planting of pathogen tested potatoes. Aust. J. Agric. Res. 25:293-297.

10. Difco Manual, 1966. Dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical laboratory procedures. Ninth Edition. Difco Laboratories, Detroit, Mich.
11. Espinoza, A. C., 1978. Estudio microbiológico de la rizosfera de algunas gramíneas silvestres del Estado de Veracruz. Tesis profesional. Fac. de Química. UNAM. México. 69 P.
12. Gauze, G. F., 1965. Conferencias de antibióticos. Editorial Nacional de Cuba. 313 Pág.
13. Golhaber, S. E., 1977. Biodegradación microbiana de la caprolactama. Tesis profesional. Fac. de Química. UNAM. México.
14. Griffin, D. H., 1981. Fungal physiology. John Wiley & Sons Inc. Pág. 307-308.
15. Hadar, Y. Chet, I., and Henis, Y., 1979. Biological control of Rhizoctonia solani. Damping off with wheat bran culture of Tricoderma harzianum. Phytopathology. 69:64-68.
16. Holman, R. M., and Robbins, W. W., 1961. Botanica general. Editorial Uteha, México. Págs. 128, 141, 142 y 182.
17. Hsu, S. C., and Lockwood, S. L., 1971. Response of fungal hyphae to soil fungistasis. Phytopathology. 61:1355-1362.
18. Hsu, S. C., and Lockwood, S. L., 1969. Mechanism of inhibition of fungi in agar by Streptomyces. Journal of General Microbiology. 57:149-158.

19. James, W. C., Callbeck, L. C., Hodgson, W. A., and Shih, C. S., 1971. Evaluation of a method used to estimate loss in field of potatoes -- caused by Late Blight. *Phytopathology*. 61:1471-1476.
20. Jones, D., and Watson, D., 1969. Parasitism and lysis by soil fungi of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.). *De Bary*, a phytopathogenic fungus. *Nature*. Vol. 224: 287-288.
21. Kavanagh, F., 1975. Microbial diffusion assay 11: Design and applications. *J. Pharm. Sci.* 64: 1224.
22. Kelley, W. D., and Rodriguez - Kabana, 1976. Competition between *Phytophthora cinnamomi* and *Thricoderma* spp in autoclaved soil. *Can. J. Microbiol.* 22: 1120-1127.
23. Ko, W. H., and Chow, F. K., 1978. Soil fungistasis: Role of volatile inhibitor in two soils. *Journal of General Microbiology*. 104: 75-78.
24. Martin, J.P., 1950. Use of acid, rose bengal and Streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.* 69: 215-233.
25. Merriman, P. R., Price, R. D., and Baker, K. F., 1974. The effect of inoculation of seed with antagonists of *Rhizoctonia solani* on the -- growth of wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 25: 213-218.
26. Merriman, P. R., Price, R. D., and Kollmorgen, J. F., 1974. Effect of seed inoculation with *Bacillus subtilis* and *Streptomyces griseus* on the growth of cereals and carrots. *Aust. J. Agric. Res.* 25: 219-226.

27. Mitchell, R., and Alexander, M., 1961. The micolytic phenomenon and Biological control of *Fusarium* in soil. *Nature*. 190: 109-110.
28. Munsell soil color chart, 1954. Edition Munsell color Co., Inc. Baltimore, Maryland, U.S.A.
29. Niederhauser, J. S., and Mills, W. R., 1953. Resistance of solanum - species to *Phytophthora infestans* in Mexico. *Phytopathology*. 43: 456-457.
30. Sarasola, A., y Roca de Sarasola M. A., 1975. *Fitopatología curso Moderno Tomo 11 Editorial Hemisferio Sur, Argentina*. Págs. 115-135.
31. Schüepp, H., and Frei, E., 1969. Soil fungistasis with respect to pH and profile. *Can. J. Microbiol.* 15: 1273-1279.
32. Selim, M.S.N.E.D., 1971. Search for antagonistic Actinomycetae in -- Libyan Soils. *Can. J. Microbiol.* 17: 731-735.
33. Smith, P. L., and Green, R. J., 1968. Isolation and characterization of a fungistatic principle produced by bacteria. *Canadian J. Microbiol.* 14: 1289-1296.
34. Sneh, B., Katan, J., and Henis, Y., 1971. Mode of inhibition of *Rhizoctonia solani* in chitin amended soil. *Phytopathology*. 61: 1113-1117.
35. Sneh, B., and Henis, Y., 1971. Production of antifungal substances - active against *Rhizoctonia solani* in chitin amended soil. *Phytopathology*. 62: 595-600.

36. Varus, J. L., Kuc, J., and Williams, E. D., 1970. Terpenoid accumulation as a Biochemical response of the potato tuber to *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*. 61: 174-177.
37. Waksman, S. A. *The Actinomycetes*, 1950. Chronica botanica Co. Mass. U.S.A.
38. Warcup, J. H., 1950. The soil plate method for isolation of fungi from soil. *Nature*. 166: 117-118.
39. Webster, J., 1979. *Introduction to fungi*. Cambridge University Press. Second edition. Pag. 169-177.