



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

" ESTUDIO DE HONGOS ENDORRIZOSFERICOS
CON CAPACIDAD DE ANTIBIOSIS Y
MICOPARASITISMO A *Phytophthora infestans*
(*Mont*) *De Bary*, AISLADOS DE LA
ENDORRIZOSFERA DE *Solanum spp.*"

289539

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

INGENIERO AGRICOLA

P R E S E N T A :

CARLOS ALBERTO ESPINOSA RAMOS

ASESOR: EDVINO JOSAFATH VEGA ROJAS

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEX. 2001



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

UNIDAD DE ESTUDIOS
DE LA FES CUAUTITLÁN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Estudio de hongos endorricoféricos con capacidad de antibiosis y

micoparasitismo a *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary. Aislados de la
Endorricosfera de *Solanum* spp.

que presenta el pasante: Espinosa Ramos Carlos Alberto

con número de cuenta: 9460852-2 para obtener el título de:

Ingeniero Agrícola

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 13 de Noviembre de 2000

PRESIDENTE Ing. Miguel Bayardo Parra

VOCAL M. en C. Edvino Josafat Vega Rojas

SECRETARIO Biol. Marcos Espadas Reséndiz

PRIMER SUPLENTE M. en C. Yazmín Cuervo Usan

SEGUNDO SUPLENTE Dra. Rosa Navarrete Maya

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. RONALD FERRERA-CERRATOS; Coordinador del área de Microbiología; Especialidad de Edafología del COLEGIO DE POSTGRADUADOS EN CIENCIAS AGRÍCOLAS, por la atención y facilidades así como la asesoría prestada para la elaboración del presente trabajo.

Al M. en C. ALEJANDRO ALARCÓN, por todo el tiempo, paciencia materiales prestados para la elaboración de este trabajo.

A la M. en C. MARIA ENCARNACIÓN LARA HERNANDEZ, por su amistad, ayuda y consejos.

AL Dr. EDVINO J. VEGA ROJAS, por sus asesorías, así como de su tiempo, orientación y sabios consejos que me ayudaron a formarme profesionalmente.

A los SINODALES, por sus acertadas asesorías, apoyo en la revisión del presente trabajo

A TODAS LAS PERSONAS, que de una u otra forma contribuyeron a la realización de este trabajo

DEDICATORIAS

A DIOS, por darme la vida y permitirme llegar a una de mis metas anheladas..... GRACIAS SEÑOR.

A la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO, por permitirme continuar con mis estudios universitarios.

A MIS PADRES: JOSE LUIS ESPINOSA ROJAS y MARIA CECILIA RAMOS DE ESPINOSA, con el amor, admiración y respeto de siempre, por impulsar y dirigir mis pasos, así como la confianza y el apoyo que siempre me han brindado.

A MIS ABUELITOS Y TIA: REFUGIO RAMOS Y AGUSTINA CELEDONIO (q.e.d), con admiración y respeto, y por todo el amor y sabios consejos que me dan.

A MIS HERMANOS: LUIS MANUEL, ROBERTO, por el cariño que nos a unido, gracias por su apoyo, y estímulos para seguir adelante.

A MARIA DE LOS ANGELES MEDRANO MORENO, por su incondicional apoyo, y que esta vida que iniciamos juntos sea para siempre.

EL CAMINO A TRAVES DEL CUAL SE BUSCA LA VERDAD NO ESTA PAVIMENTADO CON CERTEZAS, SINO CON INCERTIDUMBRES, TAMPOCO CON CONOCIMIENTOS, SINO CON PREGUNTAS QUE SUCITAN MAS Y MÁS PREGUNTAS. POR ELLO ES IMPORTANTE QUE QUIEN BUSCA LA VERDAD SEPA PREGUNTAR Y SEPA ORAR PARA NO SUCUMBIR A LA ANGUSTIA DE LA INCERTIDUMBRE.

DECIA WITTGENSTEIN QUE DIOS ES EL SENTIDO DE LA VIDA Y QUE ORAR ES PENSAR EN EL SENTIDO DE LA VIDA. YO AGREGARIA QUE BUSCAR LA VERDAD YA SEA CIENTIFICA, FILOSOFICA O TEOLOGICA ES, SIN DUDA PENSAR EN EL SENTIDO DE LA VIDA Y POR CONSECUENCIA TAMBIEN UNA FORMA DE ORAR

CARLOS ALBERTO.

CONTENIDO

PÁGINA

Índice de Cuadros	
Índice de Figuras	
Resumen	
I. Introducción	1
II. Revisión de Literatura	4
2.1 El cultivo de la papa	4
2.1.1 Origen y Distribución	4
2.1.2 Descripción Botánica	5
2.1.3 Composición Química	6
2.1.4 Requerimientos Agroclimáticos para su Desarrollo	8
2.1.5 Importancia Económica	10
2.1.5.1 Producción Nacional	10
2.1.5.2 Producción Internacional	14
2.2 <i>Phytophthora infestans</i> (Mont) De Bary	16
2.2.1 Historia y Origen	16
2.2.2 Ciclo de la Enfermedad	17
2.2.3 Síntomas	20
2.2.4 Tipos de Control	21
2.3 La Rizosfera	23
2.3.1 Efecto Rizosférico	27
2.3.2 La Rizosfera y los Patógenos	28
2.4 Interacciones Rizosféricas	30
2.4.1 Simbiosis Micorrizica	30
2.4.2 Micoparasitismo	40
2.4.3 Antibiosis	42
III. Objetivos	47
IV. Hipótesis	48
V. Materiales y Métodos	49
5.1 Muestreo	49
5.2 Aislamiento de Hongos Endorrizosféricos	50
5.3 Porcentaje de Colonización de Hongos Micorrizicos	
5.4 Evaluación de Colonización Micorrizica Nativa	51
5.5 Conteo de Esporas Micorrizicas	53
5.6 Purificación de Hongos Endorrizosféricos	54
5.7 Procedimiento para la conservación de Cepas Obtenidas	54
5.8 Velocidad de Crecimiento de Hongos Endorrizosféricos	54
5.9 Prueba de Antibiosis	55
5.10 Prueba de Micoparasitismo	55
VI. Resultados y Discusión	56
6.1 Porcentaje de Segmentos de Raíz con Hongos Endorrizosféricos	56
6.2 Aislamiento de Hongos Endorrizosféricos	57
6.3 Porcentaje de Colonización de Hongos Micorrizicos	59
6.4 Cuantificación de Esporas Micorrizicas	60
6.5 Prueba de Velocidad de Crecimiento de los Hongos Endorrizosféricos	62
6.6 Prueba de Antibiosis	67
6.7 Prueba de Micoparasitismo	71
VII. Conclusiones	75
VIII. Literatura Citada	76
IX. Apéndice	87

INDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1. Clasificación Taxonómica de <i>Solanum tuberosum</i> L.	6
2. Principales Aminoácidos de <i>Solanum tuberosum</i> L.	7
3. Superficie sembrada a nivel nacional ciclo 90/96	10
4. Superficie cosechada a nivel nacional ciclo 90/96	11
5. Producción de papa a nivel nacional	12
6. Rendimientos de papa a nivel nacional	13
7. Principales Países productores de papa	15
8. Principales Países con altos rendimientos en papa	16
9. Carbohidratos identificados en los exudados radicales de plantas	24
10. Factores de crecimiento identificados en los exudados de diferentes plantas	25
11. Ácidos orgánicos identificados en los exudados radicales de plantas	26
12. Nucléotidos, flavonas y enzimas identificados en los exudados radicales	26
13. Efecto Rizosférico	27
14. Exudados Radicales que afectan a diferentes tipos de patógenos	29
15. Principales Tipos de Micorrizas	31
16. Clasificación Taxonómica de Hongos Micorrízicos	33
17. Porcentaje de Segmentos obtenidos de Hongos Endorrizosféricos	55
18. Número de Cepas Obtenidas de Hongos Endorrizosféricos	56
19. Porcentaje de Colonización de Hongos Endorrizosféricos	57
20. Cuantificación de Esporas Micorrízicas	59

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. Ciclo de <i>Phytophthora infestans</i> (Mont) DeBary	20
2. Diferentes Regiones que forman Rizosfera	23
3. La Endomicorriza-arbuscular.	32
4. Arbúsculos de Hongos Endorrizosféricos	34
5. Micoparasitismo Necrotrofico	42
6. Antibiosis de <i>Solanum edinense-4</i> en <i>Phytophthora infestans</i> (Mont) De Bary	46
7. Localización de la Zona de Muestreo	49
8. Métodos mas usados para el Estudio de Hongos Endorrizosféricos	51
9. Método para evaluar la Colonización de Hongos Micorrizicos	52
10. Método para evaluar Esporas Micorrizicas	53
11. Hongos Endorrizosféricos con Crecimiento Rápido	62
12. Hongos Endorrizosféricos con Crecimiento Mediano	63
13. Hongos Endorrizosféricos con Crecimiento Lento	64
14. Hongos Endorrizosféricos con Crecimiento Muy Lento	65
15. Velocidad de Crecimiento en Hongos Endorrizosféricos	66
16. Porcentaje de Antibiosis de Hongos Endorrizosféricos contra <i>Phytophthora infestans</i> (Mont) De Bary	67
17. Antibiosis de cepa obtenida de <i>Solanum stoloniferum-6</i> hacia <i>Phytophthora infestans</i> (Mont) De Bary.	69
18. Antibiosis de Hongos Endorrizosféricos obtenidos de la cepa de <i>Solanum tuberosum</i> var. Norteña.	69
19. Antibiosis de cepa obtenida de <i>Solanum</i> Sp.2 (presumiblemente <i>stoloniferum</i>)	70
20. Micoparasitismo de Hongos Endorrizosféricos aislados de <i>Solanum</i> spp. Contra a <i>Phytophthora infestans</i> (Mont) De Bary.	71
21. Micoparasitismo de Hongos Endorrizosféricos aislados de <i>S. stoloniferum</i> 3 contra <i>Phytophthora infestans</i> (Mont) De Bary.	72
22. Micoparasitismo del tipo Necrotrofico aislados de <i>Solanum tuberosum</i> var. Norteña sobre <i>Phytophthora infestans</i> (Mont) De Bary	73

Resumen

La papa es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, ocupa el cuarto lugar en importancia económica (FAO, 1994) una de las principales enfermedades que afectan a este cultivo es *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary. Actualmente se gastan aproximadamente cuatro billones de dólares en todo el mundo para su control (PICTIPAPA, 1997).

En la presente investigación se realizó un estudio de la endorrizosfera de *Solanum* spp. a través de un muestreo en tres variedades comerciales, y cinco especies silvestres. Todas las muestras de raíz y de suelo se trajeron de Metepec (Toluca) Edo. de México. Posteriormente, se establecieron las raíces en dos medios de cultivo PDA y Centeno. En PDA se obtuvo el mayor número de cepas tanto de variedades comerciales como de silvestres, excepto *Solanum* sp. 2 (Presumiblemente *stoloniferum*), especie silvestre que mostró buen porcentaje de hongos endorrizosféricos en ambos medios Centeno y PDA con 24 % y 76% respectivamente. Inicialmente se obtuvieron 50 cepas pero al realizar su purificación, algunas se contaminaron de tal forma que no se pudieron recuperar. Para finalmente contar con 35 cepas en total, las que se establecieron en tubos de ensaye, para su conservación en refrigeración a 4°C.

Previo a realizar las pruebas de antibiosis y micoparasitismo, fue necesario determinar la velocidad de crecimiento de las 35 cepas, esto con el fin de correlacionar el día exacto para enfrentarlo contra *P. infestans*. Se establecieron cuatro categorías de acuerdo al número de días que tardó cada cepa en llenar la caja de petri. El 7.8% de las cepas totales tuvo un crecimiento rápido, 31.5% presentó crecimiento mediano, 36.8% crecimiento lento y por último 23.6% correspondió al crecimiento muy lento. Los resultados de las pruebas de antibiosis y micoparasitismo, fueron los siguientes el 65.71% de las cepas presentaron micoparasitismo de tipo necrotrófico, y 34.28% fenómenos de antibiosis.

De las cepas con capacidad antibiótica, el 16% inhibió el crecimiento de *P. infestans* entre 93.7 - 91.3%; El 33.3% con antibiosis de 89.1- 80.4%; El 25% con 76.6 - 72.8%, y el

restante 25% tuvo un porcentaje de antibiosis entre 63.0 - 62.5%. Por otra parte, el 69.56% de las cepas micoparasíticas presentó necrotrofia y el restante 30.43% no mostró efectos contra *P. infestans*. De acuerdo con los resultados obtenidos se puede establecer que los hongos aislados pueden ser utilizados para el control de *P. infestans*

Se evaluó el porcentaje de colonización micorrízica, obteniendo en general un porcentaje bajo tanto en las variedades comerciales como en las silvestres, excepto *S. edinnense* con 63.38% que resultó ser la única de todas las especies en estudio con un porcentaje de colonización micorrízica alta, contra 7.31% de colonización total en la variedad Rosita. Similares resultados se encontraron en el conteo de esporas para la variedad Rosita que resultó ser la más alta en general con 631 esporas, mientras que en las especies silvestres el conteo de esporas fue mas alto en *S. stoloniferum* con 337 esporas.

I. INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los productos agrícolas más importantes para el consumo humano, por su calidad nutritiva y su amplio rango de adaptabilidad, el cultivo ocupa el cuarto lugar en importancia dentro de la alimentación humana (FAO, 1994). En México se cultiva principalmente en los estados de Puebla, México, Sinaloa, Chihuahua, Coahuila, Michoacán, Jalisco, Veracruz, y Tlaxcala (SAGAR, 1996).

Actualmente los productores enfrentan diversas limitantes en el desarrollo del cultivo, uno de ellos es la enfermedad conocida como "Tizón tardío," cuyo agente causal es *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary. Una medida tradicional para el control del tizón tardío ha sido el uso de fungicidas. El primer producto químico empleado fue el caldo bórdeles un fungicida de contacto, actualmente se realizan 20 aplicaciones de fungicidas en todo el mundo, de esta forma los agricultores invierten cuantiosos recursos en el control de *P. infestans*, además de provocar un daño al ambiente (Montaldo, 1984).

El manejo integrado de las enfermedades incluye una serie de prácticas agrícolas las cuales en conjunto son capaces de disminuir el daño por los patógenos en los cultivos. Dentro de estas medidas está el control biológico, en el que se ha documentado sobre el uso de hongos con características antibióticas y micoparasíticas, hacia diferentes patógenos. El patógeno daña hojas y tallos, el inoculo producido cae al suelo donde ataca los tubérculos a través de la producción de zoosporas (Agrios, 1995) causando la pudrición de la papa como ocurre en la mayoría de las zonas del mundo.

Zhengjia y Xiangdong (1991) fueron los primero en estudiar la interacción de hongos fitopatógenos y especies de hongos micorrízicos, muchos de los informes indican una interacción entre los hongos endorrizosféricos y los fitopatógenos coinciden con los mecanismos por los cuales los hongos endomicorrízicos deben influir a los patógenos (Reid, 1990). Los que incluyen: a) Competencia por los sitios de infección en la raíz, b) Competencia por nutrimentos esenciales de la rizosfera y superficie de la raíz (rizodeposición), c) Alteración de la morfología, fisiología química de la raíz, d) Producción de compuestos tóxicos inhibitorios (Marx, 1973).

Bochow (1990) mencionó que las interacciones bióticas entre los microorganismos existentes en el suelo y patógenos de las plantas, así como las interrelaciones de los microorganismos del suelo y las plantas como uno de los factores más importantes de control, distribución y parasitismo de los fitopatógenos que infectan la raíz en el ecosistema suelo, en suelos cultivados, los antagonistas se estimulan por los exudados radicales o por raíces y residuos de planta durante su descomposición en el suelo, produciéndose la curación de las plantas debido a una rotación de cultivos

Phukan y Baruah (1990) aislaron 11 géneros de hongos del suelo de la superficie de tubérculos de cultivares de papa susceptibles al tizón tardío. En el cv. Kufri-Jyoti encontraron a *Penicillium sp.*, *Rhizoctonia sp.* y *Trichoderma sp.* Comprobaron que estos hongos inhibían el crecimiento del tizón tardío, aunque con *Aspergillus*, *Fusarium*, y *Mucor* crecían, también colonias de *P. infestans*, mientras que *Trichoderma sp.* fue más abundante en tubérculos resistentes que en los susceptibles.

Linderman (1994) señaló que debido a que los hongos micorrizicos arbusculares son los mayores componentes de la rizosfera ya que modifican la biología y la química de la rizosfera alterando con ello el ciclo de nutrimentos, por lo que se puede pensar que afectan la incidencia y severidad de las enfermedades con origen en el suelo. Los mecanismos mediante los cuales las micorrizas proporcionan protección son poco conocidos, algunos autores citan como posibles causas de inhibición de patógenos. La competencia por espacio y sitio de infección (Smith, 1988), la competencia por nutrimentos (Linderman, 1994), la generación de cambios morfológicos en la raíz (Guzman-Plazola y Ferrera-Cerrato, 1990) los cambios químicos en los que se involucra la antibiosis natural con algunos compuestos antifúngicos (Schreiner y Koide, 1993) como isoflavonoides (Sequeira *et al.*, 1991), fitoalexinas (Morandi *et al.*, 1984), arginina y quitinasa antifungal (Cruz, 1992). La alteración de exudados radicales (Smith, 1988) y el alivio de estrés abiótico por disponibilidad de P, N, Mo, Co, B, y Zn, principalmente (Smith, 1988; Ames *et al.*, 1983; Molina *et al.*, 1993) y agua (Molina *et al.*, 1993).

Torres-Barragán *et al.*, (1996) evaluaron en campo el efecto de *Glomus* sp. Zac-19 sobre la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.), y el rendimiento de cebolla, encontrando que el hongo micorrízico retardó la epidemia por dos semanas, proporcionando una protección a las plantas durante 11 semanas después del trasplante, la micorriza también incrementó el rendimiento en un 22%, a pesar de la presencia del patógeno.

Por lo anterior, es necesario generar alternativas de control que permitan un óptimo desarrollo del cultivo a un menor costo, esto puede realizarse a través del control biológico, el cual en los países menos desarrollados se realiza por medio de prácticas culturales debido a que algunos tipos de control no requieren de altas inversiones de capital y equipo.

Dentro de este contexto los organismos antagónicos y micoparasíticos al desarrollo de ciertos patógenos, pueden resultar una medida eficaz para el control de enfermedades en plantas. Sin embargo, uno de los principales problemas para efectuar este tipo de control es la dificultad de generar la tecnología para su aplicación práctica a nivel comercial.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 El Cultivo de la Papa

2.1.2 Origen y Distribución.

El centro de origen de las papas cultivadas se encuentra en las elevaciones de los Andes de Bolivia y de Perú. La domesticación confirmada se remonta a 2000 años a. C. Después de la conquista de Perú y Chile, la papa fue introducida a Europa por los españoles a mediados del siglo XVI, surgieron clones mejor adaptados a climas de día largo, tubérculos más grandes, estolones cortos, hojas más grandes y menor cantidad de flores, característicos de *Solanum tuberosum* L. que los diferencian de su progenitor cultivado más primitivo *Solanum andigena* (Casseres, 1986; Robinson, 1987).

El cultivo de papa se incrementó rápidamente en Europa durante el siglo XIX y se volvió particularmente importante en áreas cultivadas con trigo y centeno donde tenían problemas de rendimiento. Todas las papas cultivadas del mundo se derivaron de este material europeo aproximadamente el 95 por ciento de la producción comercial actual de papa se realiza en regiones templadas, a pesar del hecho de que la papa tiene un origen tropical (Robinson, 1987).

Actualmente, la producción de papa es cosmopolita, se considera el cuarto cultivo alimenticio, después del trigo, arroz, maíz. FAO (1994) menciona 95 países productores de papa, de los cuales los diez principales son: Países Independientes de la Ex U.R.S.S, China, Polonia, Estados Unidos, India, República Federal Alemana, Holanda, Reino Unido, Francia y España, estos concentran el 74.8% de la superficie de este cultivo y el 74.96% de la producción mundial.

2.1.2. Descripción Botánica

La planta es suculenta, herbácea, y anual en su parte aérea, y perenne por sus tubérculos (tallos subterráneos), los cuales se desarrollan al final de los estolones y nacen del tallo principal. Posee uno o varios tallos, según el número de yemas que hayan brotado del tubérculo. Los tallos son de sección angular y en las axilas de las hojas se forman ramificaciones secundarias (Montaldo, 1984).

De acuerdo con Valades (1993) las principales partes de la planta de papa son las siguientes:

La raíz se desarrolla principalmente en verticilo, en los nudos del tallo principal su crecimiento es primero vertical dentro de la capa de suelo arable, luego horizontal de 25 a 50 cm y a veces cuando el suelo lo permite nuevamente vertical hasta 90 cm. La planta de papa posee un sistema radical fibroso muy ramificado. Los tallos son de dos tipos: 1) aéreos, que son angulosos de color verde semierectos y/o rastreros y, 2) subterráneos, que están compuestos por rizomas, llamados también estolones y por tubérculos (parte comestible). Cabe mencionar que cada tallo aéreo origina de dos a tres tubérculos, estos pueden ser ovoides o cilíndricos, de color blanco, amarillo, rosa, rojo o violeta

Las hojas son alternas, igual que los estolones, las primeras hojas tienen aspecto de simples, vienen después las hojas compuestas imparipinadas con 3-4 pares de folíolos laterales y un folíolo terminal. Entre los folíolos laterales hay folíolos pequeños de segundo orden. La inflorescencia es de forma cimosa, las flores son hermafroditas, tetracíclicas, pentámeras, el cáliz es gimosépalo lobulado, la corola es rotacea pentalobulada del color blanco al púrpura, con cinco estambres. Cada estambre posee dos anteras de color amarillo pálido, amarillo más fuerte o anaranjado, que producen polen a través de un tubo terminal mientras que el gineceo presenta un ovario bilocular. El fruto es una baya de 2 mm de diámetro color verde a verde amarillento o verde azulado, cada fruto contiene aproximadamente 200 semillas.

El tubérculo de la papa es un tallo subterráneo ensanchado, en la superficie posee yemas axilares en grupos de 3-5 protegidas por yemas escamosas. A esta estructura por lo general se le menciona como semilla, utilizada para el establecimiento de cultivos.

La papa pertenece a la familia *Solanaceae* y su nombre científico es *Solanum tuberosum* L.(cuadro 1) dentro del género *Solanum*, existen alrededor de 2000 especies, muchas de las cuales no tuberizan y/o se encuentran en estado silvestre la mayor parte de ellas, pero pueden ser utilizadas en el mejoramiento de la papa al permitir incluir distintos genes de resistencia a enfermedades como es el caso de *Solanum demissum* que posee resistencia al mildiu (Pearson, 1982).

Cuadro 1. Clasificación Taxonómica de *Solanum tuberosum* L.

REINO	Vegetal
DIVISION	Tracheophyta
CLASE	Angiospermeae
SUBCLASE	Dycotyledoneae
ORDEN	Sonales
FAMILIA	Solanaccae
GENERO	<i>Solanum</i>
ESPECIE	<i>tuberosum</i>

2.1.3 Composición Química

La papa esta compuesta principalmente por agua que representa las tres cuartas partes de su peso total, la fecha de siembra y humedad hacen variar los sólidos totales de las papas, ya que un retraso en la fecha de cosecha y bajos niveles de humedad provocan valores altos de sólidos totales y viceversa. En cuanto al almidón constituye del 65-80 por ciento de un tubérculo, es calóricamente el componente nutricional más importante. Esta formado principalmente por amilosa y amilopectina en la proporción de 1:3 y de los constituyentes menores solamente el fósforo ha demostrado estar combinado químicamente con el almidón.

De la cantidad de nitrógeno, aproximadamente de un medio a un tercio es nitrógeno proteico, lo cual representa el 2.1 % en peso fresco y 10.4% del total de sólidos totales de la papa. En el cuadro 2, se muestran los principales aminoácidos que componen a la papa. El contenido promedio de grasa en la papa está alrededor de 0.10% en peso fresco, con intervalo aproximadamente de 0.02% a 0.2%. Algunos ácidos grasos presentes en la papa son: palmítico, oléico, linoléico. De las seis vitaminas incluidas en las recomendaciones nutrimentales para el ser humano, la papa ofrece cantidades sustanciales de cuatro de ellas y son: ácido ascórbico ó vitamina C, tres vitaminas del complejo B, Niacina, Tiamina, y Rivo flavina (Pearson, 1982).

El contenido de azúcares puede variar desde pequeñas cantidades hasta un 10% del peso seco, donde el principal constituyente es el almidón y este se transforma en azúcares cuando es almacenada a temperaturas bajas, Sacarosa, Glucosa, Fructuosa, están normalmente presentes en el tubérculo en la misma proporción. Contiene cantidades considerables de Potasio, es una buena fuente de Hierro, Magnesio, Azufre, Zinc, Cloro, Sodio, Boro, Bromo, y pequeñas cantidades de Fósforo en forma de ácido fítico (Pearson, 1982).

Cuadro 2. Principales Aminoácidos de *Solanum tuberosum* L-100 g.

Isoleusina	3.46 g
Treonina	2.48 g
Leusina	4.21 g
Triptofano	0.57 g
Metionina	0.92 g
Fenilalanina	2.79 g
Valina	4.22 g
Lisina	3.66 g

2.1.4 Requerimientos Agroclimáticos para su Desarrollo

La papa es una planta C3 en la cual la temperatura es un factor importante, la emergencia se acelera con altas temperaturas, pero su óptimo es de 22°C, el alargamiento del tallo cesa a los 6°C siendo su óptima a los 18°C. La iniciación de la tuberización no esta determinada por la temperatura aunque su óptimo es de 20°C, bajas temperaturas inducen tuberización, altas temperaturas 27-32°C disminuyen el incremento en peso de tubérculos y favorecen la ocurrencia de crecimiento secundario (Moreno, 1985).

Los países que obtienen más altos rendimientos son aquellos con clima templado entre los 15-20°C, la papa reacciona al termoperiodo ya que se han encontrado máximos rendimientos a temperaturas altas durante el día (30°C) y bajas durante la noche (17°C). La temperatura del suelo influye claramente en la producción de tubérculos siendo la óptima entre 15-18°C (Burton, 1989).

La respuesta al fotoperíodo aunque diversa por la gran influencia varietal genéricamente se manifiesta el óptimo desarrollo del tubérculo cuando los días van acortándose (Génova, 1983). En Europa se han encontrado que días largos retardan la tuberización y días cortos aceleran este proceso (Sobrino, y Sobrino 1992).

Con relación a los requerimientos hídricos, Génova (1983) encontró que para obtener máximos rendimientos se requiere de láminas de agua de 75 a 77 cm totales y una humedad residual en el suelo de 37% en etapa vegetativa y de 56.5% en etapa de tuberización, deficiencias de agua provocan malformaciones de tubérculo y pérdidas en la producción. La papa puede crecer en casi todo tipo de suelo, excepto en los muy húmedos.

Las condiciones óptimas de suelo son: pH entre 5.5-7, con buena granulacion, profundidad de al menos 35 cm, con buena aireación, baja cantidad de sales, materia orgánica mayor de 2%, suelos francos, además, se menciona que suelos de cenizas volcánicas y andosoles son de alta productividad para este cultivo cuando se agrega materia orgánica (Pearson, 1982).

En México, de los factores no controlables que limitan la producción de papa destacan las heladas; En temporal, los periodos de sequía, en etapas críticas del desarrollo del cultivo, granizadas y altas temperaturas que ocasionan desórdenes fisiológicos y afectan la calidad del tubérculo (Rocha *et al.*, 1990).

Génova (1983) describe cuatro etapas en el cultivo de la papa:

- 1.- Emergencia a tuberización, caracterizada por un rápido crecimiento
- 2.- Estado de transición corto, inicio de la tuberización donde continua el crecimiento máximo
- 3.- Etapa de crecimiento del tubérculo, el crecimiento se mantiene constante y bajos porcentajes de humedad son retenidos por la planta
- 4.- Senescencia del follaje y maduración del tubérculo.

2.1.5 Importancia Económica de la Papa

2.1.5.1 Producción a Nivel Nacional

La papa se cultiva en gran parte del territorio nacional, tan sólo para el año de 1996 se produjo en 23 estados, distribuidos en las diferentes zonas del país: Noroeste, Noreste, Norte-centro, Centro, Pacífico-centro, Pacífico-sur, y Golfo-centro. De ese total de entidades, cinco concentran el 52% de la superficie total cosechada y el 54% del total de la producción, estos son por orden de importancia: Sinaloa, México, Puebla, Guanajuato y Nuevo León.

Revisando los datos (Cuadro 3) en la década actual, en lo que se refiere a la superficie sembrada podemos encontrar que se ha reducido de manera significativa ya que pasó de 82 645 ha⁻¹ en 1990 a 63 558 ha⁻¹ en 1996 lo que representa una diferencia de 23%. Viendo estos mismos datos pero ahora a través de la tasa de crecimiento, se puede igualmente observar que esta fue en el ámbito nacional negativa con un 3.85%. Esta misma tendencia negativa, pero con diferentes porcentajes está presente en casi todas las principales entidades productoras con excepción de Guanajuato y Nuevo León, en donde la tasa de crecimiento fue de 9 y 7.8% respectivamente.

Cuadro 3. Superficie sembrada de papa a nivel nacional
Ciclo 1990-1996 ha⁻¹

Entidad	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	T/ C
Total	82 615	75 376	74 769	67 819	61 551	65 254	63 558	-3.85%
Sinaloa	11 353	9 915	11 808	10 523	9 041	8 848	9 091	-3.32%
México	12 769	11 377	8 584	7 357	5 348	6 485	7 442	-6.98%
Puebla	18 625	14 206	11 401	9 804	9 939	9 192	6 949	-10.47%
Guanajuato	3 636	3 616	4 486	3 131	3 512	3 399	5 599	9.00%
Nuevo León	2 634	2 606	3 258	3 258	4 340	4 445	3 867	7.80%
Otros	33 558	33 656	35 232	33 746	29 371	32 885	30 630	-1.45%

Nota: T/C= Tasa de Crecimiento. Fuente: ASERCA con datos de SAGAR (1998).

El sector otros, que agrupa a las 17 entidades restantes, también mostró una tasa de crecimiento negativa, lo que indica la imposibilidad de generar nuevas áreas de cultivo, manteniéndose de esta forma la mayor superficie y producción concentrada en las áreas tradicionales. Los datos preliminares de 1997, señalan que la superficie sembrada es de 65 368 hectáreas, lo que representa un incremento del 2% comparado con el año anterior. La superficie cosechada (Cuadro 4) al ser un indicador que guarda una relación que es directamente proporcional al comportamiento de las áreas sembradas, mostró también un movimiento de reducción. Por ejemplo, se pasó de las 81 245 ha⁻¹ contabilizadas para 1990 a 62 686 ha⁻¹ en 1996, lo que implica una diferencia del 22%. Por otro lado la tasa de crecimiento también fue negativa al ubicarse a escala nacional en 3.81%.

De las cinco principales entidades productoras sólo Guanajuato y Nuevo León mostraron una tasa de crecimiento positivo de 8.80 y 7.92% respectivamente. Lo que es interesante resaltar en este caso, es que la diferencia existente entre la superficie sembrada y la cosechada que implicaría el nivel de áreas siniestradas, es menor al que se ha podido observar en otras hortalizas, de tal forma que la siniestralidad se ubicó en el año de 1993 en el cultivo de la papa cuando apenas representó el 3.5% de la superficie sembrada. En 1997 la superficie cosechada de acuerdo a cifras preliminares se estima en 61 294 ha⁻¹ lo que representó una reducción de 2% con respecto al año anterior.

Cuadro 4. Superficie cosechada de papa a nivel nacional
Ciclo 1990- 1996 ha⁻¹

Entidad	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	T/C
Total	81 245	74 598	72 121	67 108	61 159	64 516	62 686	-3.81%
Sinaloa	11 328	9 915	11 274	10 523	9 036	8 848	9 091	-3.29%
México	12 757	11 365	8 522	7 357	5 254	6 435	7 422	-6.97%
Puebla	18 695	14 206	11 391	9 804	9 913	9 137	6 879	-10.53%
Guanajuato	3 564	3 566	4 479	3 607	3 512	3 399	5 445	8.80%
Nuevo León	2 621	2 591	3 258	3 258	4 340	4 445	3 867	7.92%
Otros	32 280	32 955	33 197	32 559	29 104	32 252	29 982	-1.19%

Nota:T/C=Tasa de Crecimiento. Fuente: ASERCA con datos de SAGAR (1998).

La producción (Cuadro 5) en lo que va de la década (excepto los años de 1993-1994) ha tenido como característica una cierta estabilidad ya que las fluctuaciones se han ubicado en un rango mayor a 1 200 000 t sin llegar a las 1 300 000 t. Sin embargo, pese a dicha estabilidad la tasa de crecimiento anual en el ámbito nacional fue negativa (-0.04%), a nivel estatal las entidades que tuvieron tasas de crecimiento negativas fueron Sinaloa, Estado de México y Puebla, mientras que Guanajuato y Nuevo León incrementaron positivamente sus superficies. Dos fueron los factores que influyeron para que la producción mostrara la estabilidad señalada y la apenas perceptible tasa de crecimiento negativa. Por un lado tenemos, que el comportamiento del rendimiento a nivel nacional en lo que va de la década influyó de manera positiva, ya que fue el único indicador que mostró un importante crecimiento al pasar de 15 826 t ha⁻¹ en 1990 a 20 457 t ha⁻¹ en 1996 es decir, que durante el lapso señalado el rendimiento creció en 29% (Cuadro 6).

Cuadro 5. Producción de papa a nivel nacional
1990-1996 Miles de toneladas.

Entidad	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	T/C
Total	1 285.75	1 211.10	1 212.91	1 133.66	1 167.18	1 269.07	1 282.36	-0.04%
Sinaloa	260.15	191.91	160.07	169.13	204.73	197.83	213.22	-3.01%
México	188.83	163.50	130.37	128.09	85.03	125.38	146.01	-3.78%
Puebla	176.38	150.66	137.73	111.44	99.67	110.89	76.72	-9.42%
Guanajuato	83.37	78.89	114.33	68.70	104.00	80.02	145.09	12.34%
Nuevo León	80.30	91.03	120.47	102.81	149.93	142.23	126.64	9.62%
Otros	496.69	535.09	549.91	533.46	523.79	612.69	574.65	2.62%

Nota: T/C=Tasa de Crecimiento. Fuente: ASERCA con datos de SAGAR (1998)

Cuadro 6. Rendimiento de papa a nivel nacional
1990-1996 t ha⁻¹

Entidad	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	T/C
Total	15.826	16.235	16.818	16.893	19.084	19.980	20.457	4.88
Sinaloa	22.965	19.356	14.199	16.072	22.657	22.359	23.454	0.35
México	14.083	14.387	15.229	17.411	16.185	19.485	19.674	5.48
Puebla	9.435	10.606	12.091	11.367	10.055	12.136	11.154	3.04
Guanajuato	23.393	22.123	25.528	22.197	29.614	23.544	26.648	2.32
Nuevo León	30.357	35.135	36.978	31.559	34.547	32.000	32.234	0.93

Nota:T/C=Tasa de Crecimiento. FUENTE: ASERCA con datos de SAGAR (1998).

Por su parte, la tasa de crecimiento anual a nivel nacional fue de 4.88% ello como resultado de las tasas positivas que se registraron en casi todos los principales estados productores, así como en el rubro de "otros". Por otro lado, la reducción de las superficies sembradas y cosechadas (señaladas anteriormente) fue el factor que contribuyó en contra para que la producción no alcanzara tasa de crecimiento positiva para 1997. De acuerdo a cifras preliminares la producción se puede ubicar en 1 230 947 t lo que significaría una reducción del 45% con respecto al año anterior.

Los mecanismos de comercialización de la papa en el país, toman marcadas diferencias las cuales están en función de: las diversas regiones productoras, el grado de organización de los productores, tamaño de las unidades productivas, así como por la infraestructura de almacenaje y refrigeración con que se cuenta.

2.1.5.2. Producción Internacional

Pese a que la papa es un producto originario de América, la principal zona productora no es el continente americano, de acuerdo con informes de la ONU para la agricultura y la alimentación (FAO), la principal región productora de papa es disputada por Asia y Europa, que en 1997 produjeron 29.1 y 28.7% respectivamente, mientras América aportó 13.2% solamente. En los últimos cuatro años la producción mundial de papa (Cuadro 7) ha registrado un constante incremento pasando de 270.7 millones de toneladas en 1994 a 302.5 millones de toneladas en 1997, lo que representó un alza de 11.7% y un nivel promedio de producción de 290.37 millones de toneladas, aproximadamente 41% de la producción mundial de papa se concentra en Países Independientes de la Ex U.R.S.S, Polonia, Estados Unidos, India, y Ucrania.

Las Repúblicas Independientes de la Ex U.R.S.S producen alrededor del 13.1% de la producción total mundial de la papa con 37.9 millones de toneladas al año. Estas Repúblicas han registrado un incremento importante en su oferta, gracias a las mejoras en el cultivo de la hortaliza, lo que le ha permitido incrementar los rendimientos e incluso disminuir su superficie destinada a este cultivo.

Cuadro 7. Principales Países Productores de Papa
Millones de toneladas.

País	1994	1995	1996	*1997	**1998
Rusia	33.83	39.90	38.53	40.00	37.42
Polonia	23.06	24.89	27.22	27.22	25.05
E.U.	21.19	20.12	22.62	21.50	21.31
India	17.39	17.94	18.50	18.50	17.94
Ucrania	16.10	14.73	18.41	19.00	16.40
Otros	159.15	167.70	180.73	176.28	169.22
Mundial	270.72	285.28	306.01	302.50	287.34

Fuente: ASERCA con datos de la FAO (1998).

*Preliminar **Proyectado

En 1997 la producción de papa rusa se ubicó en su máximo nivel de los últimos cinco años al totalizar 40 millones de toneladas, 18.2% superior a la de 1994. Polonia es otro de los países que ha observado un incremento relevante en la producción de papa, aún cuando la

superficie cosechada se haya contraído de manera notoria. Polonia produce 25.5 millones de toneladas de papa al año lo que representa el 8.8% del total mundial, para 1997 su participación se ubicó en 9% con un incremento en su producción del 18%. Los otros dos países productores de papa son India y Ucrania los cuales aportan 6.2% y 5.8% respectivamente del total mundial. La producción hindú ha crecido moderadamente pasando de 17.4 millones de toneladas en 1994 a 18.5 millones en 1997. La producción de papa estadounidense se ha mantenido sin variación en los últimos cuatro años como consecuencia de la estabilidad en la superficie cosechada. Estados Unidos produce 21.4 millones de toneladas de papa al año lo que representa el 7.4% del total mundial, gracias a los altos rendimientos de papa que Estados Unidos obtiene (el doble del promedio mundial) le permite mantenerse en el tercer lugar como productor mundial de la hortaliza, ya que la superficie cosechada apenas representa 16.7% de la destinada por Rusia y poco más del 40% de Polonia.

La estabilidad en la superficie destinada al cultivo, así como en los rendimientos (cuadro 8) no ha permitido un repunte en la producción mientras que las condiciones adversas en las zonas productoras de papa en Ucrania, aunado a la falta de mejoras en el cultivo en gran medida resultado de las dificultades financieras que este país registra después del desmantelamiento del bloque socialista, han sido los factores que han frenado el incremento en su producción de papa.

Cuadro 8. Principales países con altos rendimientos en papa.
t ha⁻¹

País	1994	1995	1996	1997*	1998**
Rusia	10.13	11.70	11.78	12.12	12.06
Polonia	13.56	16.38	20.31	20.13	20.10
E.U.	37.84	35.93	39.00	39.09	38.75
India	16.56	16.46	16.52	16.52	16.51
Ucrania	10.52	9.63	11.88	11.88	11.78
Otros	16.12	16.25	17.05	17.10	17.04
Mundial	15.00	15.48	16.58	16.60	16.60

Fuente: ASERCA con datos de FAO (1998).

*preliminar **proyectado.

2.2 *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary

2.2.1 Historia y Origen

Fernández (1981) cita que la diseminación del cultivo de la papa se inició en el siglo XVI por marinos españoles. Sin embargo, en Europa no se encontró aceptación general hasta mediados del siglo XVIII principalmente en Irlanda, donde la población empobrecida por la guerra venció la aversión que tenían hacia la papa como alimento. En 1830 apareció simultáneamente en Europa y América del Norte la enfermedad conocida como tizón tardío o chahuistle de la papa, y a mediados de la década de los cuarenta la enfermedad se incrementó en extensión y severidad, causó la hambruna de Irlanda de 1845-1846 la cual ocasionó la muerte de cientos de miles de personas y la emigración de 1.5 millones de irlandeses a los Estados Unidos de América (Fry, 1988). La enfermedad fue vista por primera vez en la India en 1883 en Sudamérica en 1912 y en Sudáfrica en 1922, algunos de los brotes de tizón tardío se manifestaron después de grandes importaciones de tubérculos de Europa hacia Kenia en 1914 (Fry, 1988).

A raíz del desastre de Irlanda se iniciaron los estudios sobre la enfermedad para determinar al agente causal y así lograr su control. De Bary en 1876, demostró que el hongo *P. infestans* era el causante de la enfermedad y no el producto de ella (Niederhauser, 1989).

Más tarde se especuló acerca de cómo sobrevive el hongo de un ciclo al siguiente. De Bary sugirió que el patógeno sobrevivía como micelio en los tubérculos abandonados en el campo y al año siguiente, cuando las condiciones ambientales eran favorables en presencia del hospedero se desarrollaban y causaban la enfermedad. Posteriormente, el mismo De Bary en relación con observaciones de hongos filogenéticos afines a *P. infestans*, supuso que podrían sobrevivir en forma de oosporas (De Bruny, 1979). Smith en 1875 fue el primero en reportar oosporas. Sin embargo, el análisis de sus esquemas indicó que las estructuras observadas correspondían a otro hongo. Smorawski (1890) descubrió oogonios con anteridios paráginos en tubérculos de papa enfermos (Smoot, *et al.*, 1958).

Galindo y Gallegly (1960) rastrearon las hifas gametangiales de 184 oosporas producto de 27 apareamientos para determinar si la conducta del apareamiento se controlaba por factores de compatibilidad o por factores gobernantes de la morfología sexual, descubrieron que los aislamientos obtenidos son bisexuales, esto quiere decir que una cepa actuó como gametangio masculino en algunas combinaciones y como femenino en otras.

Otras cepas formaron ambos gametangios y los niveles de masculinidad y feminidad se encontraron en ambos tipos de apareamiento A1 y A2, como conclusión reportaron que la reproducción sexual de *Phytophthora infestans* se controla por factores de compatibilidad y proponen que estos tipos de apareamiento de acuerdo a Smoot *et al.*, 1988 sean llamados "tipos de compatibilidad".

Niederhauser (1989) mencionó que el origen de *Phytophthora infestans* estaba en México, para lo cual pone a consideración dos aspectos básicos:

1.- De acuerdo con la teoría de Vavilov, la existencia en un lugar de una población de plantas nativas resistentes a un patógeno, sugiere que tal región es el lugar de origen del patógeno.

2.- El descubrimiento del estado sexual del hongo, dependiendo de la interacción de los dos grupos de compatibilidad A1 y A2 y la presencia del grupo A2 sólo en México a principios de la década de los ochenta, sugiere también a México como lugar de origen del hongo y agrega "México no sólo es reconocido como fuente principal de germoplasma de papa para la resistencia al tizón tardío, sino también como fuente única del patógeno y los mecanismos asexuales y sexuales para su variabilidad".

2.2.2 Ciclo de la Enfermedad

Hay dos ciclos epidemiológicos que tenemos que considerar en el manejo del tizón tardío, ciclo sexual y el ciclo asexual (Figura 1). El ciclo sexual ocurre una vez al año y el ciclo asexual ocurre aproximadamente cada siete días durante el tiempo favorable para el hongo (Internet, 1994).

Ciclo Sexual

Donde existen las dos cepas de compatibilidad de *Phytophthora infestans* el A1 y A2, existe también el potencial de producir oosporas, las esporas de reposo del hongo. La oospora con su pared gruesa es resistente a desecación y al ataque por otros microorganismos, puede sobrevivir varios años en el suelo cuando las condiciones son adecuadas. La meiosis ocurre, la oospora germina para producir un esporangio a la punta del tubo germinativo (a veces el esporangio). El esporangio contiene 2-8 zoosporas biflageladas que salen nadando cuando hay suficiente agua por una abertura en el esporangio (Internet, 1994).

Las zoosporas se enquistan en la superficie del hospedante y luego germinan y penetran directamente a los tejidos del hospedante con el tubo germinativo. El tubo germinativo se ramifica entre las células vegetales formando un micelio intercelular. Cuando se encuentran hifas de los dos tipos de acoplamiento se diferencian en un anteridio y un oogonio. Después de la fusión de los núcleos se forma la oospora (Internet, 1994).

Ciclo Asexual

En la ausencia de oosporas, el hongo puede sobrevivir sólo en tejidos del hospedante, por consecuencia, la sobrevivencia entre estaciones ocurre en tubérculos infectados: papas no cosechadas, papas almacenadas, o pilas de papas desechadas de la cosecha anterior. Los brotes de tubérculos infectados emergen con lesiones que producen el inóculo inicial, los esporangios (esporas asexuales), y la alta humedad relativa (mayor de 90%) favorece la poca producción de los esporangioforos y los esporangios, que son esparcidos por el viento y por el salpique de lluvia (Internet, 1994).

Cuando las hojas están húmedas, los esporangios pueden germinar a temperaturas mayores de 15°C favorecen la germinación directa, cada esporangio forma un tubo germinativo que puede penetrar la cutícula de la planta directamente. Temperaturas menores de 15°C estimulan la formación de zoosporas que salen nadando por una abertura del esporangio, consecuentemente temperaturas frescas aumentan el potencial de inóculo, y las epidemias

del tizón tardío avanzan rápido en condiciones frescas con rocío o neblina, después de algunos minutos las zoosporas se enquistan en la superficie de la hoja todavía bañadas por las gotas de agua.

Luego cada espora enquistada produce un tubo germinativo que penetra la cutícula directamente, dependiendo de la temperatura, todo el proceso de infección, desde la deposición del esporangio en una gota de agua sobre la superficie del hospedante hasta la penetración toma de 6-24 horas (Internet, 1994). El tubo germinativo se ramifica y forma hifas intercelulares en los tejidos vivos, cuando los tejidos infectados mueren las hifas se siguen ramificando en los tejidos vivos alrededor de los tejidos necróticos, aumentando el tamaño de la lesión. La expansión de la lesión se detiene a temperatura mayores de 33°C y cuando la humedad relativa esta muy baja las lesiones vuelven a crecer cuando las condiciones favorables vuelven nuevamente.

Las lesiones quedan latentes (microscópicas) por algunos 6-7 días antes de que la siguiente generación de esporangioforos, sosteniendo los esporangios, emergen de los estomas en hojas y tallos. Una lesión puede producir hasta mil esporangios por día por un periodo de dos semanas, consecuentemente, en condiciones frescas y húmedas la alta producción de inoculo y el tiempo corto entre generaciones producen epidemias explosivas. La difusión de la enfermedad en campo es tan explosiva como el aumento de la enfermedad en tiempo, el salpique de agua pueden dispersar esporangios sólo unos pocos metros, pero el viento pueden llevar los esporangios kilómetros. En las regiones con alta producción de papa, la repetición rápida de generaciones puede dispersar inoculo rápidamente en una sola temporada (Internet, 1994).

El movimiento del inoculo a través de océanos, desiertos y cordilleras se transporta por los mismos seres humanos. Los esporangios producidos en el follaje pueden caerse al suelo y entrar en las rajaduras con el flujo de las lluvias, luego ellos pueden infectar los tubérculos donde el hongo puede sobrevivir hasta la siguiente temporada (Internet, 1994).

A menudo se encuentra presente un halo de color verde claro amarillo en la parte externa de la zona necrótica de la hoja. Calderoni (1978) reporto que las plantas de papa pueden ser atacadas en cualquier edad pero es raro que las plantas jóvenes resulten afectadas, se supone que la receptividad del hospedante aumenta con la edad siendo el momento más crítico cuando la planta ha tuberizado sin alcanzar su mayor desarrollo.

En el campo las plantas severamente afectadas emiten un olor característico que se debe a la rápida descomposición del tejido foliar y es muy similar al que después de una aplicación de herbicida o al que se percibe después de una helada. Para identificar positivamente al agente causal del tizón tardío se requiere confirmar la presencia de esporangios y esporangioforos en las lesiones, los que se pueden observar en campo cuando hay condiciones favorables de humedad, los cultivares susceptibles a *Phytophthora infestans* presentan áreas irregulares ligeramente hundidas en la parte externa de los tubérculos afectados, donde la cáscara toma una coloración castaño, caoba o rojiza dentro del tubérculo, extendiéndose aproximadamente hasta una profundidad de 15 mm dependiendo de la variación de la temperatura, tiempo transcurrido después de la infección y el cultivar, se presenta una pudrición granular seca de color canela castaño (Thurston y Schulzt, 1980).

Por su parte Christiansen (1967) observó que cuando el aporque es reducido, los esporangios y zoosporas de *Phytophthora infestans* penetran con mayor facilidad produciendo en el tubérculo lesiones de un color oscuro a negro si existe humedad constante se inicia la pudrición del tubérculo, también por acción de otros agentes secundarios como bacterias, y hongos saprófitos llegando hasta el centro del tubérculo.

2.2.4 Tipos de Control

Control Químico

La enfermedad del tizón tardío en el cultivo de la papa ha sido controlada mediante diversas medidas, siendo la más importante la utilización de variedades resistentes (Robinson, 1976) otra medida alternativa de control del tizón ha sido el uso de fungicidas, el primer producto empleado fue el caldo bórdeles, un fungicida de contacto.

Actualmente se realizan hasta 20 aplicaciones durante todo el desarrollo del cultivo en la mayor parte donde se cultiva la papa en el mundo, así los productores invierten cuantiosos recursos para el control de dicho patógeno, además de provocar un daño al ambiente (Montaldo, 1984) el manejo integrado de las enfermedades incluye una serie de prácticas agrícolas las cuales en conjunto son capaces de disminuir el daño por los patógenos en el cultivo.

Control Biológico

Odum (1972) expresó que conforme se ha elevado el costo (en energía y dinero) en el control físico y químico, aumenta la resistencia de plagas a los plaguicidas y conforme crece la amenaza de las sustancias químicas tóxicas que contaminan los alimentos, agua, y el aire.

Actualmente se ha retomado el utilizar alternativas naturales para no dañar más al propio ecosistema, uno de ellos es el control biológico. Barnett y Binder (1973) mencionan las propiedades antagónicas de los géneros *Gliocadium*, *Cephalosporium*, *Trichoderma*, entre otros, como micoparasitos de hongos fitopatógenos mencionando que el micoparasitismo podría ser de dos formas basado en el modo de parasitar: 1) El Necrotrofico (destrutivo) y 2) El Biotrofico (balanceado) donde el parásito es capaz de obtener nutrimentos de las células vivas del hospedante, una interrelación que normalmente existe en la naturaleza.

Bochow (1989) mencionó las interacciones bióticas entre microorganismos residentes del suelo y patógenos de plantas, así como las interrelaciones de microorganismos del suelo y las plantas como uno de los factores más importantes de control, distribución, y parasitismo de los fitopatógenos que infectan a la raíz en el ecosistema suelo. En suelos cultivados los antagonistas se estimulan por los exudados radicales o por raíces y residuos de plantas durante su descomposición en el suelo originando una protección contra los patógenos del suelo en plantas también puede ser debido a una rotación de cultivos.

Otras técnicas de manejo incluyen medidas como la fertilización del suelo, uso de químicos que pueden cambiar el balance natural entre antagonistas y patógenos de raíces provocando que estos últimos desplacen a los antagonistas.

2.3 La Rizosfera

Lorenz Hilther, introdujo en 1904 el término Rizosfera, para describir la porción del suelo inmediata a las raíces, que es directamente influida por sustancias provenientes de éstas en la solución del suelo en la rizosfera de las plantas se llevan a cabo importantes procesos que definen el desarrollo y la producción de las plantas, mediante el flujo de compuestos producto de la fotosíntesis, que son exudados de la raíz haciendo de este un sitio ideal para la proliferación de una gran variedad de microorganismos que tienen diferentes funciones relacionadas con las plantas (Ferrera-Cerrato, 1989). Actualmente se reconocen las siguientes zonas: 1) Ectorrizosfera, zona alrededor de la raíz; 2) Rizoplano, zona de superficie de la raíz y 3) Endorrizosfera, que involucra la epidermis y las células corticales de la raíz; (Campell y Greaves, 1990; Ferrera-Cerrato, 1989; Hunt, 1990; Lynch, 1990) (figura 2).

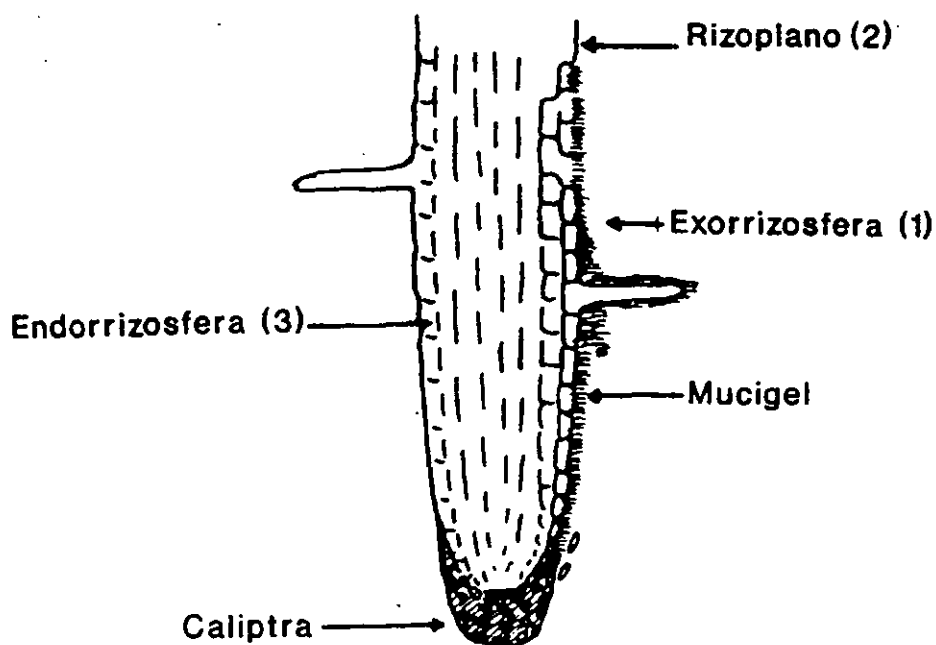


Figura 2. Diferentes regiones que forman la rizosfera (Ferrera-Cerrato, 1989)

Para poder estudiar estos exudados radicales que provienen de la planta, es necesario recurrir a sistemas estériles que nos permitan determinar si en realidad estos compuestos provienen de la raíz, dado que se puede confundir por el hecho de que también pueden provenir de los microorganismos, o son producto de la misma interacción. En esta zona existe una gran diversidad de fenómenos, uno de ellos es el que se produce al existir una gran diversidad de sustancias orgánicas que al interaccionar unas con otras influyen de manera positiva o negativa en los microorganismos que ahí habitan generalmente los tipos de exudados, que frecuentemente se encuentran son: carbohidratos del tipo de los monosacáridos, disacáridos, trisacáridos u oligosacáridos (Cuadro 9).

Cuadro 9. Carbohidratos identificados en los exudados de diferentes plantas (Rovira, 1965).

Sustancia	Planta
Glucosa	Chícharo, trigo, soya, cebada, avena, mostaza, pino
Fructosa	Chícharo, avena, sorgo, mostaza
Sacarosa	Frijol
Xilosa	Sorgo, mostaza, trigo, pino blanco
Maltosa	Mostaza, frijol
Rhamnosa	Trigo
Arabinosa	Pino blanco, trigo
Rafinosa	Pino blanco, trigo
Oligosacáridos	Avena, trigo

Rovira (1965) determinó algunos factores de crecimiento que son de gran importancia en el crecimiento y desarrollo tanto de hongos, como bacterias, actinomicetes, y algas, en diversas plantas como lo muestra el Cuadro 10.

Cuadro 10. Factores de crecimiento identificados en los exudados radicales de diferentes plantas (Rovira, 1965).

Factores de Crecimiento	Planta
Biotina	Lino, arroz, frijol, trébol, maíz, chícharo, alfalfa, tomate, algodón
Tiamina	Lino, arroz, frijol, maíz, chícharo, algodón
Factor "M"	Pino, chícharo, tomate
Niacina	Trébol, alfalfa, tomate
Colina	Algodón
Inositol	Algodón
Piridoxina	Algodón
Acido p-aminobenzoico	Algodón
Acido N-metil-nicotinico	Rábano

La variación del pH, también puede afectar a los microorganismos de la rizosfera y de acuerdo a estas variaciones, podemos encontrar a los alcalófilos que se adaptan a pH mayores de 7 así como los acidófilos que se adaptan y crecen a pH menor de 7. Para poder promover una mayor población basta con inducir cambios de pH en un suelo para así favorecer algunos grupos microbianos por ejemplo se ha demostrado que el pH alcalino favorecen el desarrollo de los actinomicetes (Alexander, 1980).

En el Cuadro 11 podemos observar que existe una gama de compuestos que pueden inducir cambios de pH en la raíz, algunos como los ácidos orgánicos que forman parte del ciclo de Krebs, y los ácidos acéticos, cítrico y málico.

Cuadro 11. Ácidos orgánicos identificados en los exudados radicales de diferentes plantas que inducen a cambios de pH en la zona de la raíz (Rovira, 1965).

Ácido	Planta
Tartárico	Sorgo, mostaza, trigo
Oxálico	Sorgo, mostaza, trigo
Cítrico	Mostaza, trigo
Acético	Trigo
Propiónico	Trigo
Butírico	Trigo
Valérico	Trigo
Succínico	Trigo
Fumárico	Trigo
Glicólico	Trigo

Algunos otros compuestos importantes son los nucleótidos, flavonas y enzimas, que se muestran en el Cuadro 12.

Cuadro 12. Nucleótidos, flavonas y enzimas, identificadas en los exudados radicales de diferentes plantas (Rovira, 1965).

Sustancias	Planta
Adenina	Chícharo, trigo
Guanina	Chícharo, trigo
Uridina, Citosinina	Chícharo, trigo
Compuestos que absorben la luz ultravioleta.	Chícharo, avena
Fosfatasa	Maíz
Invertasa	Trigo, maíz, chícharo
Amilasa	Trigo, maíz, chícharo
Proteasa	Trigo, maíz, chícharo

2.3.1 Efecto Rizosférico

La estimulación de los microorganismos en la rizosfera se conoce con el nombre de "efecto rizosférico" (Cuadro 13) y se cuantifica desde el punto de vista de la relación R/S, es decir, la relación existente entre el número de microorganismos que viven en el suelo rizosférico (R) y de los que viven en el suelo libre de raíces correspondientes (S).

El efecto rizosférico refuerza en proporción la actividad vegetativa de las plantas, ya que comienza a manifestarse justo después de la germinación, alcanza el máximo durante la floración, fructificación, declinando con la senescencia y la madurez (Barea y Azcón-Aguilar, 1982; Bruehl, 1987).

El efecto rizosférico (Cuadro 13) es un proceso dinámico iniciado por la exudación radical y otras liberaciones de nutrimentos orgánicos, lo que es influido por factores del hospedante como especie, edad, y estado de desarrollo. Factores del suelo como fertilidad, nivel de humedad y propiedades físicas. Factores medioambientales, como luz, temperatura, prácticas de cultivo, incluidas las aplicaciones al follaje de químicos e interacciones microbianas del suelo (Linderman, 1988).

Cuadro 13. Efecto Rizosférico

FACTORES	COMPONENTES	
Especies de planta	Células desprendidas	Microflora/fauna
Edad de la planta	Exudados	Microartropodos
Tipo de suelo	Azúcares	Bacterias
Textura del suelo	Aminoácidos	Actinomicetes
Temperatura	Ácidos orgánicos	Hongos
Espacio poroso	Factores de crecimiento	Nemátodos
Fertilidad	Enzimas	Protozoarios
Luz	Otros componentes	
Efecto foliar		
Actividad microbiana		

FUENTE: Lynch, 1990.

La liberación de compuestos por las raíces es un fenómeno que comprende la difusión a lo largo de un gradiente de potencial electroquímico llamado exudación o por secreción, proceso metabólico que implica gasto de energía. Los exudados son compuestos de bajo peso molecular que salen de todas las células en los espacios intercelulares vía las uniones celulares o directamente a través de las paredes de las células epidérmicas al suelo, las secreciones son componentes de bajo peso molecular y también mucílagos de alto peso molecular. Existe también otro tipo de componentes orgánicos liberados por las raíces que son producidos de las células muertas (García, 1987).

La composición de estos componentes orgánicos es variada e incluye: Azúcares, aminoácidos, péptidos, enzimas, vitaminas, ácidos nucleicos, celulosa, lignina, mucílagos, hormonas, lisatos, gases, flavonas, sustancias del tipo las saponinas, glucósidos, ácido cianhídrico y una multitud de otros componentes (Foster, 1986. Los sitios de mayor exudación son la zona de crecimiento radicular (1 a 3 cm del ápice) y los extremos de las raíces laterales y pelos radiculares (Barea y Azcon-Aguilar, 1983).

2.3.2 La Rizosfera en los Patógenos

Como todo grupo microbiano, los patógenos tienen diferentes respuestas ante los exudados radicales unos son estimulados y otros son inhibidos, además de haber compuestos atrayentes para algunos grupos en particular (Cuadro 14). Los principales efectos entre huéspedes-poblaciones microbianas del suelo y patógenos pueden ser de la siguiente manera: Huésped-microorganismos del suelo: exudados del huésped y células desprendidas tienen influencia directamente sobre la actividad de los saprofitos del suelo, incluyendo microorganismos que inhiben a los patógenos. Así también los microorganismos del suelo huésped: microorganismos del suelo no patógenos desfavorables afectan el crecimiento de las plantas y dan como resultado la predisposición de éstas a la enfermedad o a efectos favorables para el huésped por aumentar la disponibilidad de nutrientes y su absorción (Barea y Azcon-Aguilar, 1982).

La interacción del tipo Huésped-patógeno, tiene un efecto similar encontrado para los microorganismos del suelo, estos exudados radicales estimulan o inhiben a los patógenos de la planta directa o indirectamente. Para el Patógeno-huésped, la patogénesis ocurre con cualquiera de las posibilidades con o sin el parasitismo. Los Patógenos-microorganismos del suelo, pueden inhibir al patógeno los microorganismos competitivos o pueden originar relaciones sinérgicas entre los patógenos primarios y parásitos facultativos durante el proceso de infección del hospedante.

En los Microorganismos del suelo-patógenos, estos saprófitos del suelo pueden imponer alguna forma de antagonismo sobre el patógeno, dando las bases naturales del control biológico, en algunas ocasiones el patógeno es estimulado por factores de crecimiento sintetizados por los saprófitos

Como se mencionó anteriormente, dentro de las diversas interacciones que se pueden suscitar en la rizosfera los efectos en estas poblaciones pueden influir positiva o negativamente, como se muestra en el Cuadro 14. Allison (1973), determinó el efecto de los exudados producidos por las plantas, y su efecto en diversos hongos.

Cuadro 14. Exudados radicales que afectan a diferentes tipos de hongos patógenos Allison, 1973.

Factor	Planta	Hongo
Estimulador del crecimiento del micelio	Lechuga, rábano	<i>Pellicularia filamentosa</i>
Estimulador del crecimiento del micelio	Fresa	<i>Rhizoctonia sp.</i>
Inhibidor en el crecimiento del micelio	Avena	<i>Byssochlamys nivea</i>
Inhibidor en el crecimiento del micelio	Papa, Datura sp.	<i>Spongospora subterranea</i>
Inhibidor en el crecimiento del micelio	Tomate	<i>Colletotrichum sp.</i>
Inhibidor de la germinación de esporas	Plátano	<i>Fusarium oxysporum</i>
Atrayente de zoosporas	Fresa	<i>Phytophthora fragariae</i>
Atrayentes de las zoosporas	Aguacate	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
Estimulador de la patogenicidad	Chícharo	<i>Fusarium oxisporum f.pisi</i>
Estimulador de la germinación de microsclerocias	Tomate, trigo	<i>Verticillium albo-atrum</i>

La Endorrizósfera

Como se mencionó anteriormente la rizosfera es una estructura continua, que incluye a la población microbiana que penetra en el córtex de la raíz (Old y Nicholson, 1978). La colonización del córtex comienza en la caliptra de la raíz y en los mucilagos de la pared primaria de las células epidérmicas, mas tarde, el córtex entero es colonizado y también las partes maduras de la raíz a través de agujeros que los microorganismos hacen en la pared de las células epidérmicas o a través de heridas ocasionales. Tal invasión microbiana puede afectar a toda la corteza de una raíz viva (Barea y Azcón-Aguilar, 1983).

Gran parte del córtex es invadido por saprófitos, es decir, por aquellos microorganismos que viven a expensas del tejido muerto que se desprende de la raíz. Además de los saprófitos, existe otro tipo de microorganismos que habitan la endorrizósfera: Los simbióticos que benefician a la planta hospedera, y a los patógenos que perjudican al hospedero (Foster *et al.*, 1983). Dentro de las relaciones con los microorganismos benéficos para la planta se encuentran las endomicorrizas que colonizan el córtex de la raíz, las cuales mejoran la asimilación de nutrientes a través de la raíz y protegen a ésta de parásitos y de las condiciones adversas del suelo.

2.4 Las Interacciones Rizosféricas

2.4.1 Simbiosis micorrízica

En 1879 Antón de Bary introdujo el concepto simbiosis (literalmente viviendo juntos) para significar la vida común de parásito y hospedante, en el curso del tiempo el significado de simbiosis fue usado particularmente por los biólogos para describir las asociaciones mutuamente benéficas entre organismos disímiles (Harley y Smith, 1983). Cuando se establece la simbiosis entre las raíces de las plantas y grupos específicos de hongos del suelo, se genera el fenómeno llamado micorriza, son varias las formas de expresión de esta simbiosis pero se reconoce en ellas un papel trascendental en la nutrición vegetal, los principales tipos de micorriza son la micorriza arbuscular y la ectomicorriza (Cuadro 15). La ectomicorriza tiene importancia forestal y la endomicorriza arbuscular importancia agrícola y frutícola (Ferrera-Cerrato, 1987).

Cuadro 15. Principales Tipos de Micorrizas

Características	Tipo de Micorriza	
	Arbuscular	Ectomicorriza
Hongos septados	-	+
Manto fúngico presente	+	-
Red de Harting Presente	-	+
Haustorias dicotómicos	+	-
Vesículas en las células o tejidos	+ (-)	-
Acloroficeas	- (+)	-
Grupos taxonómicos de Hospedante	Pteridofitas, Gymnospermas	Angiospermas

La Endomicorriza-Arbuscular

Los hongos endomicorrízicos forman parte integral de más del 90% de las plantas superiores (González-Chávez, 1995) las cuales influyen en diversos aspectos de su fisiología: nutrición vegetal (Sieverding, 1991) aprovechamiento del agua (Nelson, 1987) producción de fitohormonas (Allen *et al.*, 1982) resistencia a enfermedades radicales (Perrin, 1990) y tolerancia al estrés hídrico (González-Chávez, 1993) mediante la asociación resultado de la colonización de sus raíces (Gianinazzi *et al.*, 1990) esta asociación es de carácter mutualista y benéfico para ambos (Ocampo, 1980).

En este tipo de asociación simbiótica, los organismos se benefician mutuamente, los hongos los que absorben elementos minerales del suelo y los transfieren a la planta hospedante, por su parte, la planta suministra al hongo fuentes de carbono provenientes del producto de fotosíntesis, además de proporcionarle un nicho ecológico protegido de los fenómenos de antagonismo microbiano que se presentan en la rizosfera (Safir, 1980; Le tacón, 1985; Azcón y Barea, 1980).

Los hongos endomicorrízicos se presentan desde los trópicos hasta el ártico. Sin embargo, en los trópicos la endomicorriza arbuscular es predominante (Jaen y Ferrera-Cerrato, 1989) las variaciones existentes de presencia y distribución de estos hongos está relacionado con la planta hospedante (Mc Graw y Kormanik, 1982).

Este sistema raíz-hongo puede presentarse en diversas áreas ecológicas como: áreas cultivadas y vírgenes, bosques, pantanos (González-Chávez, 1993), pero no en comunidades de plantas acuáticas, o en lugares donde existen árboles, los cuales son ectomicorrizados y no permiten crecer a otras plantas (Jaen y Ferrera-Cerrato, 1989).

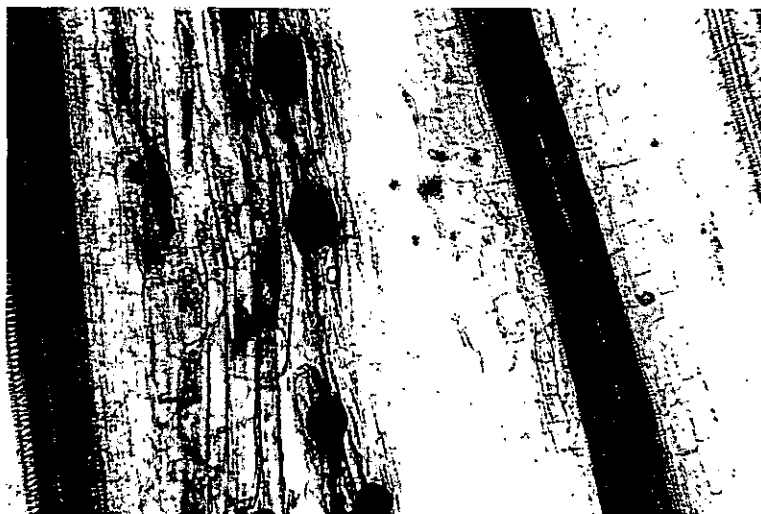


Figura 3. Arbúsculos y Vesículas de la Endomicorriza-Arbuscular

La simbiosis endomicorrízica-arbúscular es formada por un grupo de hongos de la clase de los Zigomicetos (Mosse *et al.*, 1981). Janos (1980) reportó cuatro géneros de hongos de la familia Endogonaceae, que tenían especies formadoras de micorriza: *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora* y *Sclerocystis*, además de los géneros: *Entrophospora* y *Scuttilospora*. Pirozynski y Dalpé (1989) describieron una nueva familia, la *Glomaceae*, conteniendo dos géneros: *Glomus* y *Sclerocystis*.

Morton y Benny (1990) enmendaron a la familia *Glomaceae* y eligieron un nuevo orden: *Glomales* y dos nuevas familias: *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae*, dando a conocer la siguiente clasificación taxonómica (Cuadro 16).

Cuadro 16. Clasificación taxonómica de los hongos endomicorrizicos Morton y Benny, 1990).

	Reino: Fungi	
	División: Eumycota	
	Subdiv.: Zygomycotina	
	Clase: Zygomycetes	
	Orden: Glomales	
SUB ORDEN	FAMILIA	GENERO
	Glomaceae	Glomus
Glomineae		Sclerocystis
	Acaulosporaceae	Acaulospora
		Entrophospora
Gigasporineaceae	Gigasporaceae	Gigasporaceae
		Scutellispora

Morfología

Durante su complejo ciclo de vida en contacto con la raíz, el hongo simbionte da origen a diferentes estructuras (figura 6). Hifas extramatriciales, hifas intracelulares, abultamientos globales u oval terminales llamados vesículas, estructuras intracelulares con una forma semejante a pequeños árboles, llamados arbúsculos y amontonamientos irregulares cuando las finas ramificaciones de los arbúsculos no son muy visibles (Bonfante-Fasolo, 1984).

Precolonización

La formación de las endomicorrizas tiene su origen a partir de las hifas, que proceden de propágulos de hongos presentes del suelo, estos pueden estar constituidos por esporas, por fragmentos de raíces micorrizadas preexistentes, o por una planta micorrizada que crece cerca.

Parece ser que la red de micelio de hongos arbusculares en el suelo es una importante fuente de inóculo, esta idea se fortalece por el hecho de que las hifas pueden mantener su capacidad infectiva después de separarse de las raíces aún en condiciones de sequía, sin embargo, las alteraciones de los suelos rompen las redes de micelio y reducen la infectividad (Barea, 1991).

Las esporas son estructuras de resistencia germinan cuando las condiciones del suelo son favorables fundamentalmente respecto a la humedad y temperatura. La germinación parece ser un proceso endógeno, éste ocurre con una posibilidad de 100% de éxito aun en ausencia de plantas o de cualquier microorganismo si existen condiciones fisicoquímicas adecuadas (Azcon-Aguilar *et al.*, 1986. A pesar de esto algunos investigadores han detectado sustancias de tipo flavonoide formadas por raíces de alfalfa colonizadas por *Glomus* sp. que promueven la germinación (Phillips y Tsai, 1990). El desarrollo de las hifas y la ramificación del micelio o casos en los que el ritmo de germinación se ve incrementado por la presencia de microorganismos (Azcon-Aguilar *et al.*, 1986).



Figura 4. Arbúsculos de Hongos Micorrizicos

Colonización

Las hifas procedentes de cualquier propágulo no parece ser atraídas por la raíz, pero cuando una de ellas alcanzan la rizosfera sufren un determinado estímulo, se ramifican y una de las ramas entra en interacción con la superficie de las células epidérmicas de la corteza o más raramente con un pelo radical (Azcon-Aguilar *et al.*, 1986).

Generalmente forma un apresorio del cual emerge una estructura que posteriormente será la hifa sustentora, esta penetra en una célula de la epidermis o pasa por espacios intercelulares para colonizar intracelularmente las de segunda o tercera capa, se acepta que la penetración es mecánica pero parece probable que también haya fenómenos enzimáticos de tipo lítico. En la zona más extensa del parénquima cortical el hongo forma unas estructuras intracelulares en forma de lazadas u ovillos que pueden estar implicados en el intercambio de nutrimentos, pero cuya función concreta no está totalmente determinada (Bonfante-Fasolo, 1984).

En la zona media de la corteza las hifas suelen crecer longitudinalmente en los espacios intercelulares donde forman a través de su ramificación una unidad de colonización, mientras que en la zona interna penetran intracelularmente y forman los arbúsculos por ramificación dicotómica repetida (Barea, 1991). Es característico que la hifa de penetración y todas sus ramificaciones queden rodeadas por el plasmalema de la célula hospedante que se invagina y crece alrededor del hongo sin que se produzcan en ningún momento la perforación del mismo.

Después del desarrollo de los arbúsculos se forman las vesículas que aparecen a lo largo de toda la raíz entre las células corticales o en el interior de las mismas unidas a las hifas internas y generalmente en posición terminal, tiene la función de almacenamiento de reserva tipo lipídico (Jabaji-Hare *et al.*, 1984). Su abundancia en el interior de la raíz depende en primer lugar del hongo causante de la colonización, ya que hay algunos que no son capaces de producirlas, segundo la edad fisiológica de la simbiosis.

A medida que avanza la colonización se desarrollan las hifas externas del hongo en el suelo formando una red tridimensional de micelio externo o extrarradical capaz de explorar un volumen de suelo adicional al que no podrían llegar las raíces por si solas incrementando de esta forma la capacidad de captación de nutrientes por la planta (Barea, 1991). Durante el proceso de formación de la micorriza en la cual la planta acepta la colonización sin una reacción de rechazo significativa, se da un diálogo molecular continuo entre la planta y el hongo, ejercido a través del cambio de señales de reconocimiento y aceptación (Arines *et al.*, 1993).

Actualmente se reconoce al arbusculo como una estructura altamente especializada de gran actividad metabólica adaptada al intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta por lo que se le considera el órgano responsable de esta función en la simbiosis (Gianinazzi-Pearson, 1991). Cuando el hongo se desarrolla en el interior de una raíz su metabolismo se altera en lo relacionado con la síntesis de la pared celular de tal modo que daña la pared gruesa fibrilar y quitinosa propia de las hifas extrarradicales quedando reducida a nivel de los arbusculos a una capa no quitinosa muy simple delgada y amorfa, estas alteraciones condicionan un incremento en la plasticidad del hongo facilitando el intercambio de nutrientes y el crecimiento continuo del mismo.

Además de estos cambios y teniendo en cuenta que el hospedante disminuye sus depósitos de material precursor de su propia pared en torno a las ramas finas del arbusculo, se facilita la comunicación de los dos simbioses, el material precursor de la pared que se encuentra en la base del tronco del arbusculo queda conectado con la pared primaria del hospedante esta capa se va haciendo más delgada hasta desaparecer a nivel de las ramificaciones más finas del arbusculo (Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988).

En resumen, entre ambos simbioses queda constituido un sistema formado por el plasmalema del hospedero entre las paredes celulares del hongo y el huésped quedan minimizados (Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988). Se reconoce que el hospedante interviene en la morfogénesis del hongo, concretamente a nivel de la síntesis de quitinasa, esta enzima producida por los hongos controla el crecimiento y la ramificación de los mismos, mientras que si la produce la planta puede controlar el ataque de hongos patógenos.

En endomicorrizas, la actividad quitinasa es de origen tanto fúngico como vegetal (Bonfante-Fasolo, 1987) siendo lógico relacionar su presencia con los fenómenos de ramificación y pérdida de estructura fibrilar de la pared característica del arbusculo.

Dado que los sistemas enzimáticos de tipo ATPasa ligados a membranas están presentes tanto en el hospedante como en el hongo, por lo que podemos suponer que existe un aporte energético que garantiza un intercambio de nutrimentos entre ambos simbios, en contraste con lo habitual en las relaciones parasíticas en donde la transferencia de nutrimentos es unidireccional hacia el parásito (Smith y Smith, 1990). La vida media de un arbusculo es de 4-10 días (Alexander *et al.*, 1989, citado por Jaizme, 1992).

Cuando degeneran los nutrimentos presentes en sus ramificaciones pueden ser reabsorbidos por el hongo o pasar al espacio apoplástico quedando a disposición de la célula hospedante. A pesar de que un principio se consideraba que la transferencia de nutrimentos ocurría fundamentalmente mediante la degeneración del arbusculo, se calculó posteriormente que este proceso solo justifica el 1% del flujo de entrada de nutrimentos a través del hongo (Coper, 1984).

Por consiguiente, la transferencia de metabolitos debe tener lugar a través de las membranas intactas y estrechamente asociadas de ambos simbios cuando el adulto es maduro e incluso en formación, el mecanismo de transferencia tiene un componente activo que se acepta está ligado a la actividad ATPasa antes aludida (Jaizme, 1992).

Efecto de las Endomicorrizas sobre la Fisiología de las plantas

Se ha puesto de manifiesto el efecto positivo que las endomicorrizas promueven en la estimulación del ritmo de crecimiento de la planta, lo que se traduce en una mejoría en la nutrición de la planta hospedante, además de este efecto relativo a la nutrición mineral como consecuencia de la simbiosis se produce diversos cambios fisiológicos que en mayor o menor grado contribuyen a la estimulación del crecimiento (Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988) el crecimiento de las plantas en gran parte está regulado por el suministro de nutrimentos al sistema radical y por el ritmo de absorción de las células de la raíz.

La velocidad del suministro esta determinada a su vez por la concentración del nutrimento en la solución del suelo y por la velocidad de desplazamiento del nutrimento a través de la solución del suelo por flujo de masas o por difusión (Barea, 1991). Las endomicorrizas desarrollan una extensa red de hifas extramatriciales que circundan la raíz y tienen la capacidad de absorber nutrimentos y transportarlos a las células corticales modificando las propiedades de absorción de nutrimentos del sistema radical, el micelio externo de la endomicorriza ayuda a explorar el microhabitat del suelo más allá del área agotada de nutrimentos donde las raicillas o pelos radicales no pueden desarrollarse (Koide, 1993).

Es evidente que la endomicorriza tiene mayor habilidad exploratoria que la raíz y supera limitaciones sobre al adquisición de iones que lentamente se difunde en la solución del suelo a la rizosfera. En resumen el volumen del desarrollo hifal y la actividad de estas hifas son bastante importantes (Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988). Actualmente se acepta que las micorrizas captan fosfato, además de otros nutrimentos minerales de modo más eficiente que las raíces por sí solas, esta absorción por parte de los hongos micorrízicos son más efectivas en suelos con bajo contenido de fósforo asimilable (Azcon-Aguilar y Barea, 1997). El mecanismo de absorción de Fósforo (P) y otros nutrimentos en las plantas micorrizadas es de naturaleza física debido al incremento del área de contacto de las raíces con suelo lo que confiere una mayor capacidad para explorar y explotar los recursos del substrato (Barea, 1991).

Se considera que las endomicorrizas incrementan la concentración y/o el contenido de nitrógeno (N) en las plantas, este efecto puede ser indirecto por la estimulación de la fijación de N_2 (leguminosas) o directo al incrementar la captación de compuestos nitrogenados posiblemente amonio a partir de suelo (Barea *et al.*, 1989). Barea (1991) resalta los beneficios en la nutrición fosfatada que la planta tiene como consecuencia, una mejoría en el proceso de captación de nitrógeno, debido a los elevados requerimientos de ATP que conlleva el proceso de fijación de N_2 .

2.4.2 Micoparasitismo

En general, los hongos se pueden comportar como saprófitos ó parásitos. Los saprófitos colonizan principalmente plantas y animales muertos, así como también pueden absorber sustancias orgánicas solubles que liberan organismos vivos y muertos. Los hongos parásitos se alimentan de plantas y animales vivos, incluso de otros hongos (Deverall, 1974), estos tipos de comportamiento reflejan su capacidad de lucha contra otros hongos del mismo hábitat (Boosalis, 1964).

Por la capacidad que muestran algunos hongos para parásitar a otros se les ha denominado micoparasitismo o hiperparasitismo (Barnett (b), 1963; Boosalis, 1964). El hiperparasitismo se clasifica principalmente en dos grandes grupos: El Necrotrófico, también llamado destructivo y el Biotrófico, que es aquel donde se mantiene una relación de equilibrio con el hospedante, esta clasificación esta basada de acuerdo al modo de hiperparasitar y su efecto en el hospedante (Barnett y Brinder, 1973).

Los micoparásitos de tipo necrotrófico (figura 5) se caracterizan por destruir a los hongos susceptibles que crecen junto a él, y no necesitan de las sustancias del otro organismo para poder sobrevivir, por lo que también se le considera un parásito oportunista, estos micoparasitos necrotróficos tienden a comportarse mas como saprófitos que como parásitos, excepto casos especiales donde predomina este último comportamiento mencionado (Ferrera-Cerrato, 1976).

Chaturvedi y Diwivedi (1985), determinaron que *Fusarium oxysporum*, se mostro como parásito necrotrófico en *Aspergillus luchuensis*, al observar que las hifas y conidios de *A. luchuensis* se reducían considerablemente. En trabajos realizados en *Rhizoctonia solani* con *F. oxysporum* también se muestra como micoparasito al provocarle un típico parasitismo hifal (Grupta *et al.*, 1979). Ferrera-Cerrato (1976) encontró una gran diversidad en el modo de parasitismo en una especie del grupo de basidiomicetos no identificado, en la que la hifa del micoparasitismo crece a un lado de la hifa del huésped mostrando un enrollamiento de haustorias con enrollamientos masivos sobre las esclerocias de *M. phaseolina* formando a la vez estructuras de penetración a lo largo de la hifa huésped mostrando una tendencia del hongo hacia las estructuras reproductoras.

Debido aparentemente a la presencia de un compuesto termohábil o difusible dado que las esporas tratadas con calor perdieron la susceptibilidad en cambio las tratadas con luz ultravioleta fueron siempre susceptibles al parasitismo. En trabajos realizados mas recientemente; Vaishnav (1992) usó cuatro hongos para determinar el efecto del micoparasitismo contra el tizón de la caña de azúcar, estos fueron *Gibberella fujikuroi*; *Aspergillus flavus*; *A. niger* y *Penicillium spp.* fueron vistos parasitando después de 10-15 días de establecidos *in vitro*. *G. fujikuroi* fue la especie que más dominó con 96% de invasión en el tizón de la caña de azúcar. Para utilizar los micoparásitos necrotróficos en el control biológico de hongos patógenos, estos dependen de factores como: la densidad de población del hospedante, temperatura, pH, y la humedad (Baker, 1987).

Como mencionamos anteriormente, los micoparásitos biotróficos obtienen nutrimentos de las células vivas del hospedante, es por ello que se dificulta el desarrollarlos en medios sintéticos, debido a que requieren obligatoriamente tomar nutrimentos del hospedante (Barnett (a), 1963). Estos micoparásitos biotróficos pueden ser de tres tipos: internos, por contacto, y micoparásitos haustoriales. Los Internos, se desarrollan y reproducen dentro de las células del hongo hospedante (Mulling y Barsdale, 1965).

Para los micoparásitos por contacto, su característica principal, es la de que solo tocan la superficie de la pared del hospedante, y al parecer tienen la capacidad de aumentar la permeabilidad de la membrana, facilitando el aporte de sustancias para el parásito (Boosalis, 1964).

En los micoparásitos haustoriales, estos se inician cuando los exudados del hospedero promueven la germinación de las esporas del parásito, al entrar en contacto comienza el fenómeno infectivo, formando un apresorio, seguido de una invasión con una pequeña prolongación de la hifa digitiforme que penetra en las células hospedante con ramificaciones posteriores que dan lugar a una estructura absorbente llamada haustorio (Barnett, 1973).

En general, este tipo de micoparasitismo es complejo dado que es necesario cultivar los parásitos de este tipo en presencia del hospedante, por lo que es difícil realizar algún trabajo de control biológico con este tipo de micoparásitos en patógenos.

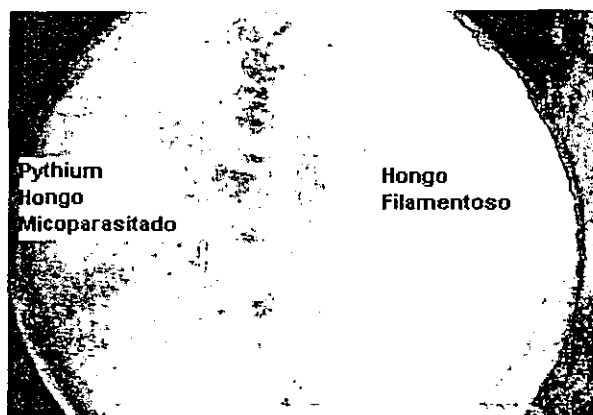


Figura 5. Micoparasitismo necrotrófico, observado en hongo filamentoso, sobre *Pythium* spp.

2.4.3 Antibiosis

La antibiosis, esta considerada como una categoría del antagonismo, esta ocurre cuando una población microbiana produce antibióticos o sustancias tóxicas que en bajas concentraciones suprimen el desarrollo de otras poblaciones microbianas. Así también existen sustancias con un amplio espectro, que no solo limitan el crecimiento en hongos, sino que lo pueden hacer en plantas y animales (Vacura, 1986), en general los antibióticos, están considerados como compuestos de bajo peso molecular originados por los microorganismos (Favel, 1988).

Este mecanismo común de antibiosis se puede aprovechar en el control de patógenos, obteniendo una selección de organismos para estudiar su efecto sobre éstos y alternativamente conducir a estos organismos a una resistencia lo más rápida posible en contra de patógenos. Ejemplo de ello lo es el desarrollo actual de múltiples antibióticos de resistencia derivados de mutaciones espontáneas, que anteriormente no era posible que se diera, en la actualidad se reconoce esta antibiosis sobre trabajos realizados en bacterias y hongos (Hachler *et al.*, 1991; Cohen *et al.*, 1993). Por lo que ha sido necesario, investigar las bases moleculares de los antibióticos obtenidos de microorganismos resistentes, para el control de patógenos, esta resistencia como primera etapa puede ser estudiada *in vitro* antes de ser probada en campo, esto con la finalidad de poder prevenir el romper este tipo de control en campo.

Estos mismos genes de resistencia pueden ser transferidos sobre patógenos del suelo, por lo que es necesario entender la resistencia conferida por mutaciones, así como de los genes de autoresistencia de organismos que los sintetizan. La importancia de la autorresistencia es ilustrada en el control biológico con *Agrobacterium radiobacter*, que controla eficazmente la agalla de la corona causada por *A. tumefansis* a través de la acción del antibiótico. Agrocin-84 sobre *A. tumefansis* colocado en la agalla de la corona de *A. radiobacter*-plantas tratadas (Ponagopulus *et al.*, 1979). Al transferir un plasmido pAgK84, junto con genes de resistencia a partir de un organismo biocontrolador sobre patógenos, originado un alargamiento en el periodo de resistencia (Vicedo *et al.*, 1993; Stockwell *et al.*, 1996).

Torres-Barragán *et al.*, (1996) evaluaron en campo el efecto de *Glomus* sp. Zac-19, sobre la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) así como el rendimiento de cebolla, encontrando que retardó la epidemia por dos semanas, proporcionando una protección a las plantas durante 11 semanas después del trasplante. La micorriza también incrementó el rendimiento en un 22% a pesar de la presencia del patógeno.

Fokkema y Kohl (1995) mencionan que la temperatura óptima para determinar el potencial de antibiosis de *Ucladium atrum*, contra *Botrytis spp.* oscila entre 27°C y 30°C alcanzando un porcentaje de germinación del conidio en 50%, aunque *U. atrum* sea más termofílico que *Botrytis spp.*

Reddy (1998) establece en el manejo de *Meloidogyne incognita*, la agregación de la endomicorriza *Glomus mosseae* en varias mezclas, de estas la que dio mejores resultados fue la mezcla de *Glomus mosseae* con *Azadirachta indica*, reduciendo significativamente las poblaciones de *M. incognita* en el suelo, así como también redujo el agallamiento en la raíz del tomate incrementando el diámetro del tomate, la fecundidad misma, y rendimiento.

Rudawska *et al.*, (1991) utilizaron a *Trichoderma viride* y *T. harzianum*, para la producción de antibióticos volátiles y no volátiles para determinar como inhibe a *Phytophthora cinnamomi*, el resultado de esta prueba observa que morfológicamente existen cambios en *P. cinnamomi* uno de los mayores efectos producto de esta inhibición es la degradación total del micelio de este patógeno

Watanabe (1994) reporta que *Gliocadium spp.* es un hongo antagonista efectivo contra *Rhizoctonia solani* establecido en el cultivo de la col. *Gliocadium spp.* fue cultivado por dos semanas en medio de trigo, se mezcló con suelo, incubado a 25°C por una semana, dando excelentes resultados para el control de *Rhizoctonia solani*.

Benhamou y Chet (1993) establecen a *T. harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, observando a nivel de microscopio, que la inhibición del patógeno en crecimiento ocurre antes del contacto por medio de una sutil manta, originada por células de *R. solani*. El uso de un complejo de *Ricinus cummunis*, demuestra que existen residuos ricos en galactosa, uniéndose hifas de *Trichoderma* a células de *R. solani*, son seguidos por una serie de eventos degradadores en el hospedante por la producción de quitinasa del antagonista, desorganiza la estructura de la pared celular de *R. solani*, apareciendo eventos que internamente promueven desbalances osmóticos.

Manzali *et al.*, (1993) al realizar un estudio con *Trichoderma spp.* contra *Rhizoctonia solani* Kuhn *in vitro*, las propiedades antagonistas se observaron a nivel macro-microscopio, después de cuatro contactos establecidos entre las cepas, observando que existió un buen control de *R. solani*, al ocurrir una lisis formando barreras, y crecimiento de hifas de *Trichoderma* en este patógeno.

Holmes *et al.*, (1994) reporta que un posible mecanismo de biocontrol que incide directamente en la supresión de la población patógena de *Phytophthora nicotinae* var. parasítica, entre *P. nicotinae* var. *nicotinae* es la misma competencia por nutrimentos. A manera de conclusión este autor indica que *P. nicotinae* var. *nicotinae* resulta eficaz para el control del Damping-off en la etapa de preemergencia de la planta de tabaco.

Singh *et al.*, (1997) aisló tres hongos antagonistas, dos de *Trichoderma spp.* y uno de *E. nigra* se establecieron para determinar su efecto en *F. oxysporum f. sp. ciceris*. *T. harzianum* mostró micoparasitismo; *T. viride* y *E. nigrum* ambos mostraron antibiosis en la prueba *in vitro* posteriormente se establecieron en el suelo esterilizado y no esterilizado inoculado con *T. harzianum* y *F. oxysporum* en una proporción de 80% y 60% respectivamente. Como resultado menciona que *T. harzianum* incrementa la presencia de hongos antagonistas teniendo un amplio crecimiento en el suelo inoculado.

Alzum *et al.*, (1997) determina las propiedades antagonistas de *Fusarium sp* (AF-976) contra *F. oxysporum*; *F. culmorum*; *P. debaryanum*, seguido por *F. gobbosum*; *Bipolaris sorokiniana* y *A. tenuis*, dando buenos resultados y con altas posibilidades para la protección de hortalizas cultivadas.

Lara (1998) menciona que los hongos micoparásitos, más hongos antibióticos en la propagación de clavel cv. Tropea, influyen en el porcentaje de enraizamiento independientemente del sustrato empleado. Así también repercuten en la sanidad de las plantas de clavel. La micorriza *Glomus sp.*Zac-19, que al transplantarse en el suelo infestado con *Fusarium spp.* Respondió positivamente proporcionando menor incidencia y severidad, su efecto también se vio reflejado en la precocidad y rendimiento.

Algunos autores citan como posibles causas de inhibición de patógenos: La competencia por espacios y sitios de infección (Smith,1988), la competencia por nutrientes (Linderman, 1994), la generación de cambios morfológicos en la raíz (Guzmán-Plazola y Ferrera-Cerrato, 1990) los cambios químicos en los que se involucra la antibiosis natural con algunos compuestos antifúngicos (Schreiner y Koide, 1993) como los isoflavonoides (Siqueira *et al.*, 1991) fitoalexinas (Morandi *et al.*,1984) arginina y quitinasa antifungal (Cruz, 1992) la alteración de exudados radicales (Smith, 1988) y el alivio del estrés abiótico por disponibilidad de P, N, Mo, Co, B, y Zn, principalmente (Smith, 1988; Ames *et al.*, 1983; Molina *et al.*, 1993) y agua (Molina *et al.*, 1993).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Muestreo

Se tomaron muestras de raíces con suelo de ocho especies de papa, cinco pertenecientes a especies silvestres y tres que correspondieron a variedades comerciales: Alpha, Norteña y Rosita, se colectaron dos plantas por cada una de las variedades y de las especies silvestres de papa: *Solanum stoloniferum*, *Solanum demissum*, *Solanum edinense*, *Solanum* sp.1 (presumiblemente *edinnense*), *Solanum* sp. 2 (presumiblemente *stoloniferum*). De estas dos últimas especies mencionadas se trajeron un ejemplar mas y se colocaron en prensa botánica para su identificación en el departamento de Botánica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán área de Ingeniería Agrícola - UNAM.

Las muestras de variedades comerciales se trajeron de Metepec (Toluca), Edo. de México, dentro de las instalaciones de PICTIPAPA A.C, organismo financiador del proyecto. Las especies silvestres se colectaron de las faldas del volcán Nevado de Toluca, carretera #134 Metepec - Valle de Bravo (figura 7) las muestras se guardaron en bolsas de plástico y se llevaron al laboratorio de micorrizas perteneciente al Área de Microbiología del Colegio de Postgraduados. El muestreo se realizó en agosto considerando que las plantas estaban en floración

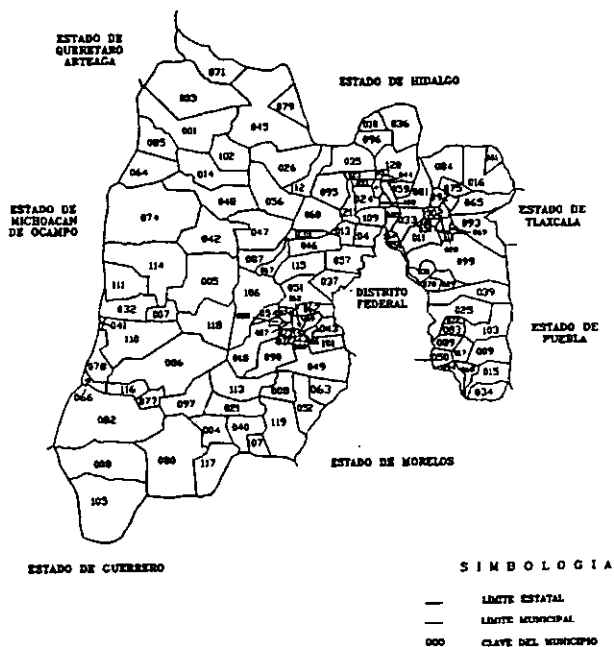


Figura 7. Localización de la zona de muestreo.

5.2 Aislamiento de Hongos Endorizosféricos

Las raíces de las plantas que se muestrearon, se lavaron con abundante agua para eliminar los residuos del suelo, con tijeras se cortaron segmentos de 1-1.5 cm de longitud y se seleccionaron 30 segmentos procurando obtener una muestra representativa de las raíces de las plantas en estudio. La desinfección superficial de los segmentos de raíz; se realizó para eliminar bacterias y hongos que pudieran estar en la superficie de la raíz, dado que los hongos de interés en el presente estudio se encuentran dentro de la raíz.

Los segmentos fueron colocados en etanol al 70% durante un minuto, posteriormente, se lavaron con agua destilada estéril y se pasaron a una solución de cloramina-T al 1% durante un minuto, finalmente se le dieron seis enjuagues con agua destilada estéril para eliminar el exceso de desinfectantes. Todos estos pasos se realizaron en condiciones de campana de flujo laminar,

enseguida, se colocaron los 25 segmentos de raíz de cada variedad y de cada especie silvestre de papa, en cajas de petri que contenían medio de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar; Merk) (apéndice 1) y otros en medio de Centeno (apéndice, 2). A cada medio de cultivo se le agregó $70 \mu\text{g}$ de estreptomicina mL^{-1} de medio de cultivo, más rosa de bengala, para inhibir el desarrollo de bacterias. Se colocaron cinco segmentos de raíz por cada caja de petri ulteriormente, las cajas fueron incubadas a 28°C y se vigiló la aparición y desarrollo de los hongos.

5.3 Porcentaje de Colonización de Hongos Endorrizoféricos

El porcentaje se obtuvo tomando en cuenta el número de segmentos de raíz colocados en los medios de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar. Merk) (apéndice 1) y Centeno (apéndice 2), contando el número de segmentos a partir de los cuales se desarrollaron los hongos y se determinó el porcentaje de ellos en base a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Hongos Endorrizoféricos} = \frac{\# \text{ de segmentos con hongo.}}{25 \text{ segmentos totales}} \times 100.$$

5.4 Evaluación de la Colonización Micorrizica Nativa

Las raíces muestreadas se lavaron con agua, se colocaron en cápsulas de plástico para clarear con KOH por 24 h y se eliminó enjuagando con agua destilada, durante tres minutos se dejaron en agua oxigenada al 10% para después decantar, se enjuagaron con agua y posteriormente se expuso a una solución de HCl al 10% el cual se eliminó sin lavar las raíces, para después continuar con la tinción con azul de algodón al 0.05% en lactoglicerol (apéndice 3) (Phillips y Hayman, 1970). Los segmentos radicales ya teñidos, se colocaron en laminillas acomodados paralelamente unos de otros, aproximadamente 25 - 30 segmentos de 1 cm por cada laminilla, agregamos una gota de azul-lactoglicerol para luego colocar el cubreobjetos, quedando la preparación lista para su observación al microscopio (Figura 8).

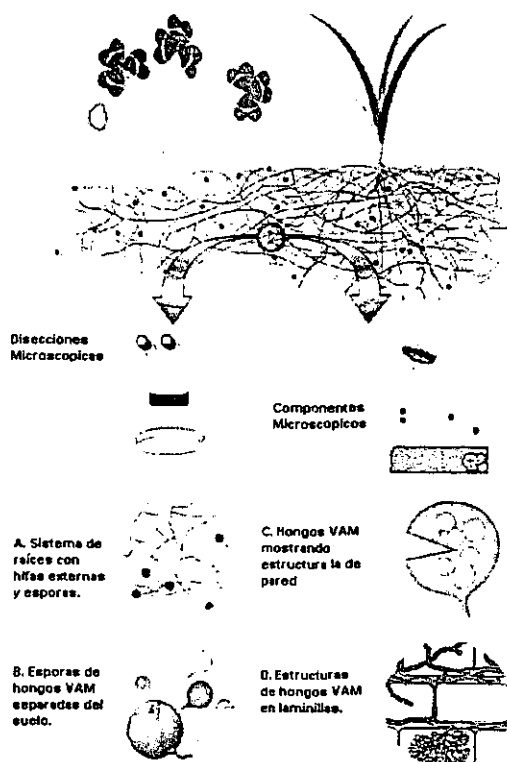


Figura 8. Métodos más usados para el estudio de Hongos Micorrizicos (Brundrett *et al.*, 1996).

Se observó principalmente la presencia de estructuras fúngicas (hifas, arbusculos, vesículas y en su caso esporas intrarradicales) a objetivo 100x. realizando tres pasajes equidistantes por cada laminilla, se contabiliza realizando observaciones en el campo óptico la frecuencia de estructuras fúngicas en cada segmento (figura 9) independientemente de la intensidad de micorrización. El porcentaje de colonización endomicorrízica total se realizó con base a la siguiente ecuación:

segmentos colonizados

$$\text{Porcentaje de colonización total} = \frac{\text{# segmentos colonizados}}{\text{# segmentos totales}} \times 100$$

MÉTODO PARA REALIZAR OBSERVACIONES AL MICROSCOPIO DE ESTRUCTURAS MICORRÍZICAS.

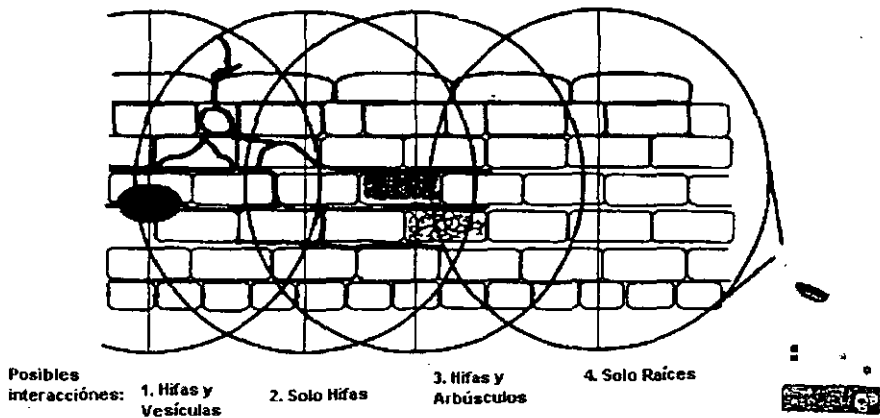


Figura 9. Método para evaluar la Colonización de Hongos Micorrízicos (Brundrett *et al.*, 1996).

5.5 Conteo de Esporas Micorrízicas

Usando 50 g de suelo, vaciamos el suelo ya pesado en dos litros de agua agitamos por 15 minutos, se deja reposar 20 min, vaciamos la suspensión de suelo en tamices de 30 μ m, 150 μ m, 325 μ m. Este procedimiento se repite diez veces más, al termino, la fracción de cada tamiz se vierte en un vaso de precipitado de 20 ml, con la ayuda de una piseta bajamos la fracción, agregando agua solo en caso de ser necesario para cubrir la fracción, se tapan los vasos de precipitados con papel aluminio, y se conservan en el refrigerador a una temperatura de 4 C° para su posterior uso (Gendermann *et al.*, 1963). Para la observación de esporas, se utiliza un microscopio estereoscópico de 6x, la fracción obtenida se coloca en una caja de Petri-cuadrículada de (1cm x 1cm), se vacía distribuyendo la fracción lo mejor posible, en el conteo de esporas es necesario utilizar un contador mecánico.

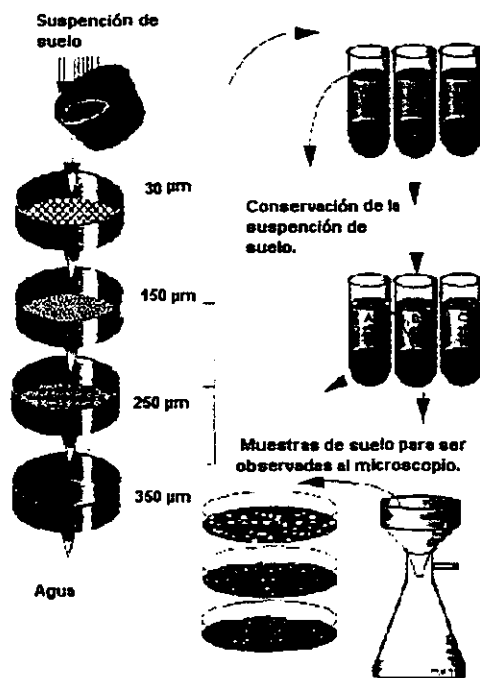


Figura 10. Método usado para el conteo de Esporas Micorrízicas (Brundrett *et al.*, 1996).

5.6 Purificación de los Hongos Endorizosféricos.

Los hongos aislados fueron resembrados aproximadamente durante un mes, en medio PDA (papa-dextrosa-agar.Merk) (apéndice 1) sin estreptomycina, ni rosa de bengala, hasta obtener cultivos puros y posteriormente emplearlos para las pruebas de antibiosis, micoparasitismo, e identificación de los mismos.

5.7 Procedimiento para conservación de cepas obtenidas

Las cepas puras, se siembran en medio de PDA (papa-dextrosa-agar, Merk) (apéndice 1) en tubos de ensaye inclinados, tomando con un sacabocados de medio centímetro de diámetro un disco de agar con micelio activo, para depositarlo en los tubos de ensaye por triplicado, dos en PDA (papa-dextrosa-agar. Merk) (apéndice 1) y uno en agua, cada tubo fue sellado con parafilm e identificado con su clave, medio de cultivo establecido, y fecha de establecimiento. Posteriormente, se incubaron a 28°C hasta que la cepa presentó buen desarrollo y de este modo se procedió a su almacenamiento en refrigeración a 4-5° C. Los tubos de ensaye con agua destilada estéril también se conservaron en refrigeración para uso posterior.

5.8 Velocidad de Crecimiento de los Hongos Endorizosféricos

En cada una de las cepas obtenidas, por duplicado, se midió la velocidad de crecimiento, se colocó un disco de micelio activo del hongo endorizosférico en el centro de la caja de Petri con medio PDA (papa-dextrosa-agar, Merk) (apéndice 1) y se incubaron a 28 C°. Se observó el desarrollo de las colonias diariamente y se estableció una clasificación de acuerdo al tiempo (días) que tardaron en llenar la caja de petri, para poder correlacionar el día exacto y así establecer las pruebas de antibiosis y micoparasitismo contra *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary.

5.9 Prueba de Antibiosis

Para poder determinar el porcentaje de antibiosis, en los hongos endorrizosféricos frente al patógeno, se tomó un disco de agar con micelio activo de *P. infestans*, se colocó en un extremo de la caja de Petri que contenía 25 mL de medio PDA (papa-dextrosa-agar. Merk) (apéndice 1). En el otro extremo de la caja se inoculó con uno de los hongos endorrizosféricos. Las cajas inoculadas se incubaron a 28°C y se hicieron observaciones diarias. La antibiosis fue detectada al observar un halo de inhibición del hongo a probar frente a *P. infestans*.

5.10 Prueba de Micoparasitismo

Para observar con mayor detalle la forma de micoparasitismo de los hongos endorrizosféricos frente a *Phytophthora infestans*, se usó la técnica de Ridell modificada por Ferrera-Cerrato (1976). En este caso, sobre un portaobjetos estéril se colocó un disco de agar de un centímetro de diámetro y se inoculó en un extremo con el patógeno y en el lado opuesto el aislado fúngico. Sobre la preparación se colocó un cubreobjetos estéril y la preparación se colocó sobre un soporte de vidrio dentro de una caja de Petri, previamente esterilizados. A cada sistema de microcultivo se le adicionó glicerol al 10% para mantener húmeda la cámara.

Se incubaron en una hielera de 50 L manteniendo la temperatura en 18 °C para darle condiciones adecuadas de temperatura principalmente al desarrollo de *P. infestans* por cinco días, al término se sacaron de la hielera las cajas de Petri para beneficiar el crecimiento de los hongos endorrizosféricos a una temperatura entre 20-25 °C. Los cubreobjetos procedentes de los microcultivos se colocaron en portaobjetos limpios, se les agregó una gota de azul de algodón- lactofenol y se sellaron con esmalte de uñas, esto con el fin de conservar mejor las preparaciones y observarlas al microscopio.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Porcentaje de Segmentos de Raíz con Hongos Endorrizosféricos

El uso del medio PDA (papa-dextrosa-agar) (Apéndice 1) permitió la mayor obtención de hongos endorrizosféricos (Cuadro 16). En la variedad Alpha se obtuvo el mas alto porcentaje de aislamiento 66.6%, seguida de la variedad Norteña con 38.8%, y por ultimo la variedad Rosita 22.2% de los hongos totales aislados en las variedades comerciales.

En contraste utilizando el medio de centeno (Apéndice 2) no se obtuvieron cepas de estas tres variedades comerciales. En el caso de las especies silvestres, se obtuvieron cepas en ambos medios PDA (Apéndice 1) y Centeno (Apéndice 2) *Solanum stoloniferum* presento el 48%, de las cepas totales obtenidas en el medio PDA (Apéndice 1) sin embargo, fue segunda cuando se aisló en el medio de centeno 8%; *Solanum edinense* y *Solanum* sp.2 (presumiblemente *stoloniferum*), presentaron ambas un porcentaje de 24% en el medio de PDA (Apéndice 1), mientras que en el medio de Centeno (Apéndice 2), *Solanum* sp.2 (presumiblemente *stoloniferum*), tuvo el mayor porcentaje de cepas obtenidas (76%) incluso mayor que la variedad Alpha en PDA (Apéndice 1) con 66.6%.

Solanum demissum al igual que *S.* sp.2 (presumiblemente *stoloniferum*) son las dos únicas que presentan buen porcentaje de cepas obtenidas en ambos medios 16% en PDA (Apéndice 1) y 12% en Centeno (Apéndice 2) Por ultimo *Solanum* sp.1 (presumiblemente *edinense*) es la que presenta, bajo porcentaje de todas las especies en estudio 4%, en medio de Centeno y PDA no se obtuvieron cepas.

Cuadro 17. Porcentaje de segmentos de raíz, con presencia de hongos Endorrizosféricos en *Solanum* spp. obtenidos a partir de su aislamiento en dos medios de cultivo.

Especie de <i>Solanum</i>	Medio de Centeno	Medio de PDA
Comerciales		
<i>S. tuberosum</i> var. Alpha		
<i>S. tuberosum</i> var. Rosita	0.0	66.6
<i>S. tuberosum</i> var. Norteña	0.0	22.2
	0.0	38.8
Silvestres		
<i>Solanum stoloniferum</i>	8.0	48.0
<i>Solanum edinense</i>	0.0	24.0
<i>Solanum demissum</i>	12.0	16.0
<i>Solanum</i> sp. 1	4.0	0.0
<i>Solanum</i> sp. 2	76.0	24.0

6.2 Aislamiento de Hongos Endorrizosféricos de *Solanum* spp.

El número de cepas obtenidas de hongos aislados de la endorrizosféra de *Solanum* spp. inicialmente fue de 53 (Cuadro 17), durante el proceso de purificación se perdieron algunas, para finalmente contar con 35 cepas en total, observando en cada una de éstas características muy diferentes en cuanto a color, textura, velocidad de crecimiento y forma de crecimiento. De las variedades comerciales: doce son de la variedad Alpha, diez de la variedad Norteña, cinco de la variedad Rosita. En las especies silvestres: nueve son de *Solanum stoloniferum*, siete de *Solanum edinense*, dos de *Solanum demissum*, dos de *Solanum* sp.1 (presumiblemente *edinense*), y tres de *Solanum* sp.2 (presumiblemente *stoloniferum*).

Haciendo una comparación entre variedades comerciales y las especies silvestres, de acuerdo al número de cepas purificadas totales, determinamos que en la variedad Norteña obtuvimos la mas alta colonización de hongos endorrizosféricos con 22.8 %, con respecto a la variedad Rosita que es la de menor porcentaje de colonización con 8.57%, y en las especies silvestres *Solanum stoloniferum* con 20 % es la especie con la mayor colonización de hongos endorrizosféricos; *S. demissum* y *S. sp.1*(presumiblemente *edinensse*), ambas presentaron el 2.85% siendo el porcentaje mas bajo de colonización dentro de las especies silvestres. En general las variedades comerciales mostraron el mayor porcentaje de colonización de hongos endorrizosféricos con el 51.42%, y las especies silvestres el 48.57% de la colonización total (Cuadro 17).

Cuadro 18. Número de Cepas de Hongos Endorrizosféricos obtenidas de especies de *Solanum* spp.

Especies de <i>Solanum</i> sp. Variedades	Cepas obtenidas Iniciales	Cepas purificadas Totales
<i>S. tuberosum</i> var. Alpha	12	7
<i>S. tuberosum</i> var.Norteña	10	8
<i>S. tuberosum</i> var.Rosita	5	3
Silvestres		
<i>S. stoloniferum</i>	9	7
<i>S. demissum</i>	2	1
<i>S. edinensse</i>	7	5
<i>Solanum</i> sp.1	2	1
<i>Solanum</i> sp.2	3	3
Totales	53	35

6.3 Porcentaje de Colonización de Hongos Micorrízicos -Arbusculares

El porcentaje de colonización en general fue bajo, tanto en las especies silvestres como en las variedades comerciales en esta última el efecto fue mas marcado. La colonización en las variedades comerciales se observo en Rosita con 7.31% seguida de la variedad Norteña con 1.95% y por ultimo la variedad Alpha con 0.8% (Cuadro 18)

Cuadro 19. Porcentaje de colonización de hongos micorrizicos (total, arbusculos, y vesículas), especies silvestres y variedades comerciales de *Solanum spp*

<i>Solanum spp.</i>	Total	Arbusculos	Vesículas
Comerciales			
<i>S. tuberosum</i> var. Alpha	0.8	0.0	0.0
<i>S. tuberosum</i> var. Norteña	1.95	0.0	0.0
<i>S. tuberosum</i> var. Rosita	7.31	0.0	0.0
Silvestres			
<i>Solanum stoloniferum</i>	51.63	7.4	3.1
<i>Solanum demissum</i>	45.43	4.0	0.0
<i>Solanum edinense</i>	63.38	1.4	0.0
<i>Solanum</i> sp.1	6.0	1.5	0.0
<i>Solanum</i> sp.2	44.12	1.7	0.0

Estos porcentajes tan bajos los atribuimos principalmente a factores como: la aplicación de fertilizantes, plaguicidas, y la misma rotación de cultivos sin olvidar los factores medioambientales que son determinantes para el desarrollo, actividad y supervivencia de los hongos micorrizicos (Gianninazi, 1982).

En trabajos realizados por Jaen (1989), concluye que practicas como la alta fertilización N P K, afectan seriamente la colonización micorrizica, por lo que es difícil encontrar abundantes micorrizas en los suelos fertilizados intensamente.

En contraste con lo anterior, las especies silvestres presentaron una variación en el porcentaje de colonización, la mas alta se obtuvo en *S. edinensse* 63.38% comparada con *S. demissum* 45.43% y *S. sp.2* (presumiblemente *stoloniferum*) con 44.12%. El valor mas bajo se presentó en *S. sp.1* (presumiblemente *edinensse*) con 6% de colonización micorrízica total, lo mencionado anteriormente comprueba que en los ambientes no perturbados existe un mayor equilibrio en el ecosistema, permitiendo un desarrollo adecuado de la micorriza, por lo que, esto contribuye de manera importante en la protección, nutrición de la planta misma.

6.4 Cuantificación de Esporas de Hongos Micorrízicos

En la cuantificación de esporas, obtuvimos un menor número de esporas (Cuadro 19), tanto en las especies silvestres, como las variedades comerciales. De estas últimas la variedad Rosita fue la mayor con 631 esporas, comparada con Alpha que fue la menor con 304 esporas totales. De las especies silvestres, existe una variación similar entre estas cinco especies en estudio; *S. stoloniferum* fue la mas alta con 337 esporas, con respecto a *Solanum sp.1* con 200 esporas, siendo la mas baja en cuanto al número de esporas obtenidas dentro de las especies silvestres.

Todo lo anterior, se relaciona con los resultados obtenidos en la evaluación del porcentaje de micorrización, si tomamos en cuenta que, la formación de los hongos endorrizosféricos tiene su origen a partir de las hifas que proceden de los propágulos del hongo presentes en el suelo, estos pueden estar constituidos por esporas, fragmentos de raíces micorrizadas preexistentes, o por una planta micorrizada que crece cerca, las esporas son estructuras de resistencia, que pueden verse limitadas en su desarrollo por las mismas condiciones del suelo, niveles de fertilidad, uso de fungicidas que se utilizaban para el control de enfermedades en el cultivo de la papa.

Parece ser que la red de micelio de hongos endorrizosféricos en el suelo es una importante fuente de inoculo. Esta idea se fortalece por el hecho de que, las hifas pueden mantener su capacidad infectiva, después de separarse de las raíces aún en condiciones de sequia, sin

embargo, las alteraciones de los suelos rompen las redes de micelio y reducen la infectividad (Barea, 1991).

Las esporas de resistencia germinan cuando las condiciones del suelo son favorables fundamentalmente a la humedad y la temperatura, la germinación parece ser un proceso endógeno ocurre, con una posibilidad de un 100% de éxito, aún en ausencia de plantas o de cualquier microorganismo, si existen las condiciones fisicoquímicas adecuadas (Azcon-Aguilar *et al.*, 1986). Las esporas de hongos Endorrizosféricos son inhibidas en su germinación bajo condiciones de estrés hídrico con la subsecuente colonización deficiente de las raíces (Reid y Bowen, 1990).

Cuadro 20. Cuantificación de Esporas obtenidas de Hongos Endorrizosféricos

Especies de <i>Solanum</i>	Número total de Esporas
Comerciales	
<i>S. tuberosum</i> var. Alpha	304
<i>S. tuberosum</i> var. Norteña	393
<i>S. tuberosum</i> var. Rosita	631
Silvestres	
<i>Solanum stoloniferum</i>	337
<i>Solanum demissum</i>	252
<i>Solanum edinense</i>	328
<i>Solanum</i> sp.1	200
<i>Solanum</i> sp.2	280

6.5 Velocidad de Crecimiento de los Hongos Endorrizosféricos

Se determinó la velocidad de crecimiento de las 35 cepas aisladas de la Endorrizosfera de *Solanum spp.* Las figuras 11, 12, 13, y 14 muestran el crecimiento de estas y su respectiva clasificación de acuerdo al tiempo (días) que tardó en llenar la caja de petri, mediante la medición del diámetro de cada colonia fungica.

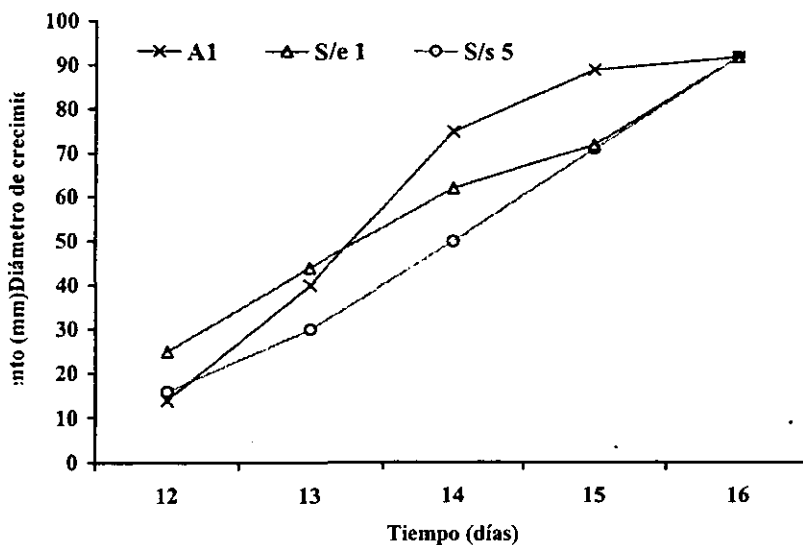


Figura 11. Cepas de hongos endorrizosféricos caracterizados con base a su rápido crecimiento Donde: A = *Solanum tuberosum* var. Alpha, S/e = *Solanum edinense*, S/s = *Solanum stoloniferum*

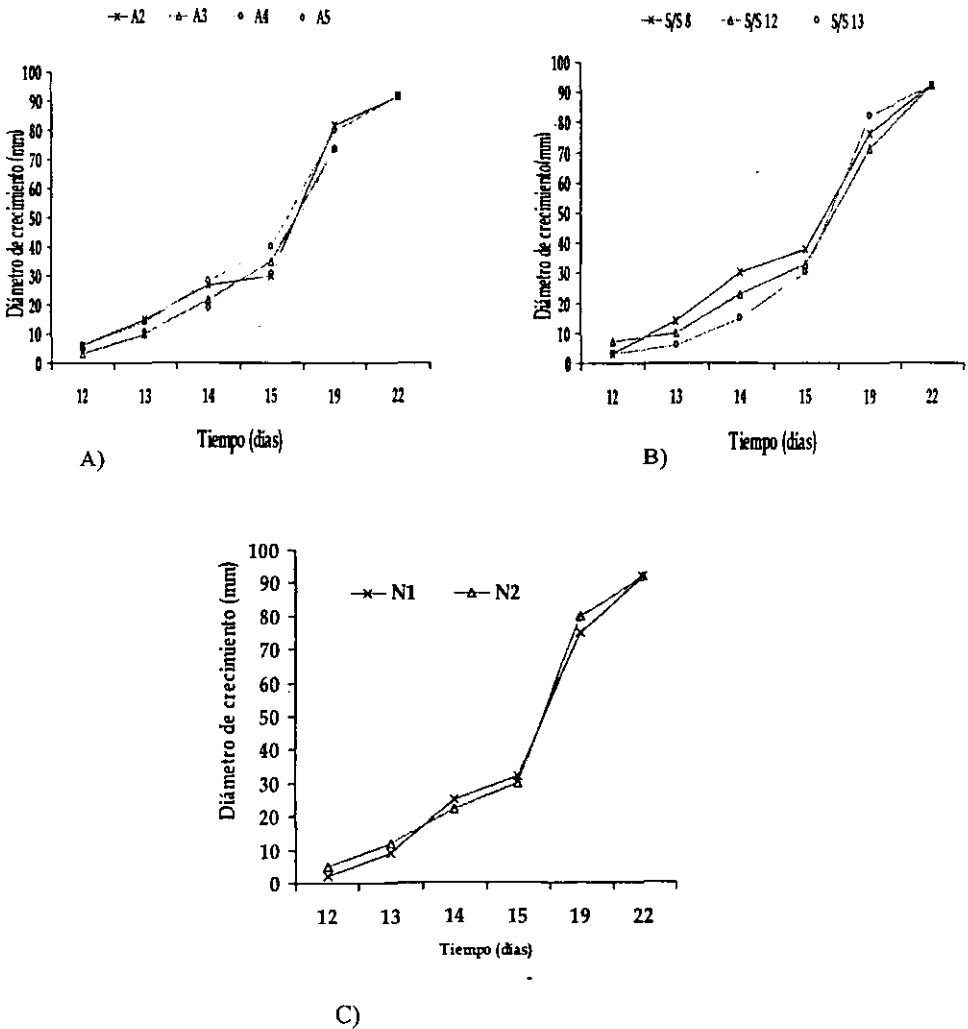


Figura 12. Cepas de hongos endorrizoféricos caracterizados con base a su mediano crecimiento. Donde: A = *Solanum tuberosum* var. Alpha, S/s = *Solanum stoloniferum*, N = *Solanum tuberosum* var. Norteña

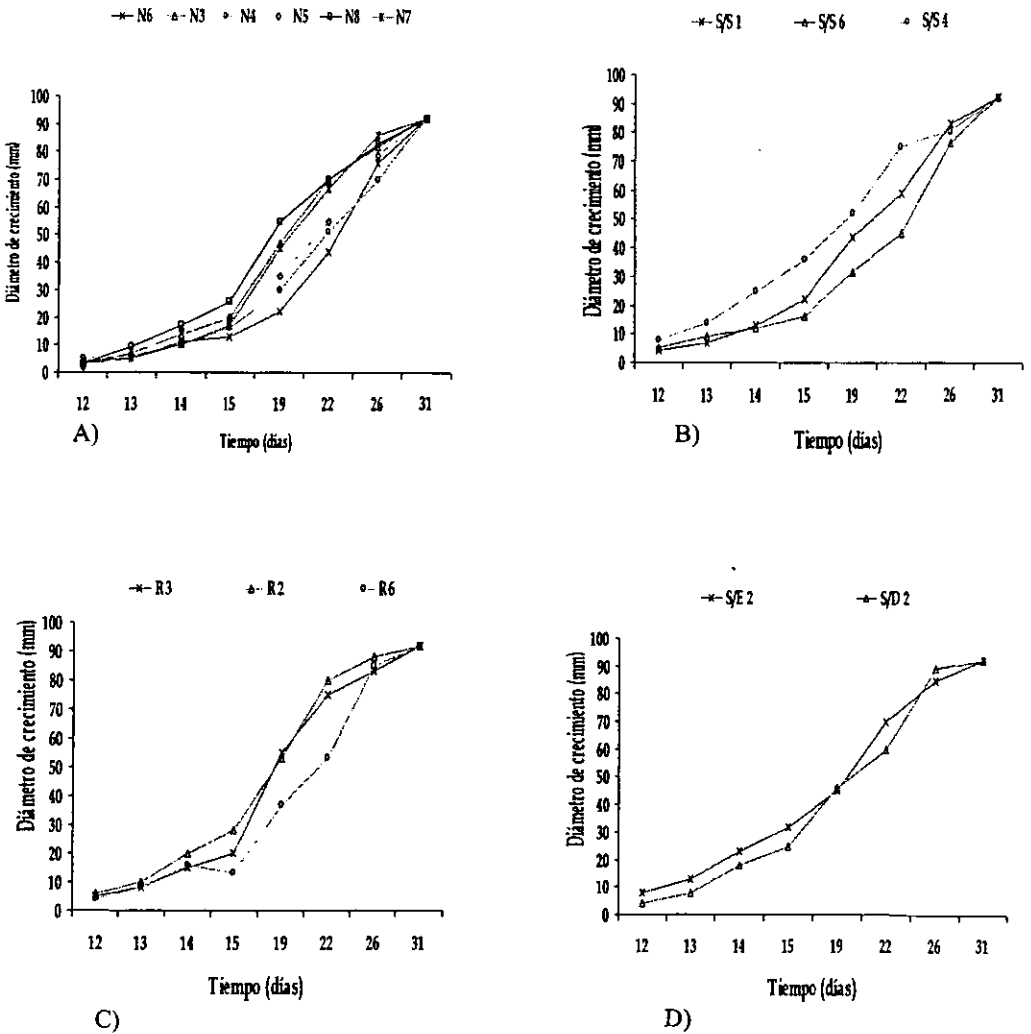


Figura 13. Cepas de hongos endorhizosféricos caracterizados con base a su lento crecimiento Donde: N = *S. tuberosum* var. Norteña, R = *S. tuberosum* var. Rosita, S/s = *S. stoloniferum*, S/e = *S. edinense*, S/d = *S. demissum*.

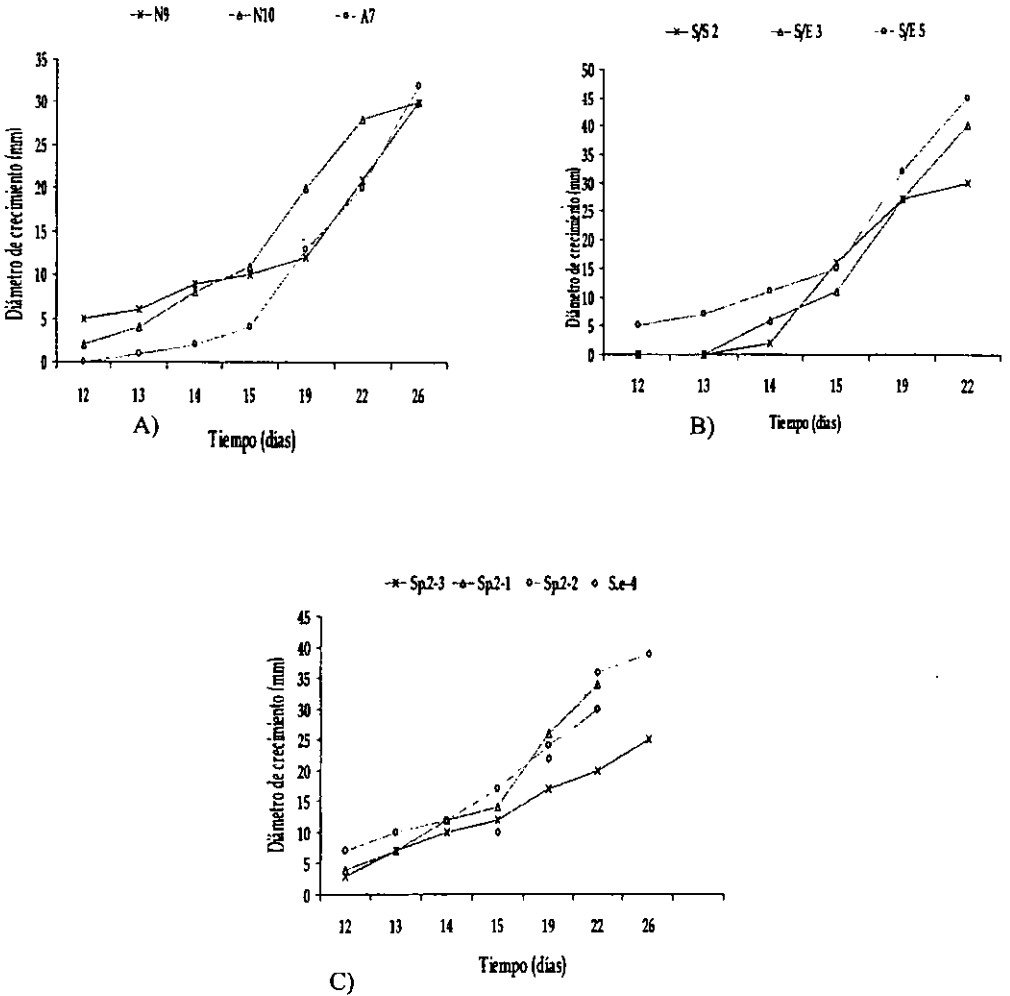


Figura 14. Cepas de hongos endorrizosféricos caracterizados con base a su muy lento crecimiento; Donde: N = *Solanum tuberosum* var. Norteña, S/s = *Solanum stoloniferum*, S/e = *Solanum edinense*, S. sp.2 = *Solanum* sp.2 (presumiblemente *stoloniferum*)

En general, los hongos endorizosféricos se clasificaron en cuatro categorías de acuerdo al número (días) que tardaron en llenar la caja de petri:

El 7.8% presentó velocidad de crecimiento rápido (figura 11); El 31.5% fueron de crecimiento mediano (figura 12); Con 36.8% de crecimiento lento (figura 13); Por ultimo 23.6% con crecimiento muy lento (figura 14). Estas cuatro categorías de velocidad de crecimiento nos permitieron determinar el día mas adecuado, para establecer las pruebas de antibiosis y micoparasitismo, la siguiente gráfica (figura 15), nos muestra con mas claridad el total de cepas obtenidas, y su comportamiento en la prueba de antibiosis.

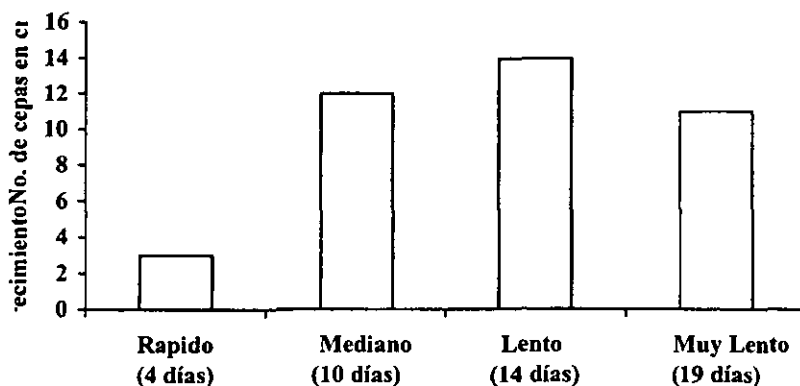


Figura 15. Cinética de Crecimiento en Hongos Endorizosféricos

6.6. Resultados de la prueba de Antibiosis

Solo doce hongos endorrizosféricos presentaron antibiosis, de los cuales seis provienen principalmente de dos variedades comerciales: Alpha y Norteña, el porcentaje de antibiosis frente a *P. infestans* en promedio fue de 70.38% (figura 16).

Las restantes seis cepas de hongos endorrizosféricos, corresponden a las especies silvestres, se observó que no existió antibiosis sólo en algunas cepas, como sucedió en las variedades comerciales, si no todo lo contrario, existe al menos una cepa que proviene de las especies silvestres en estudio, con un porcentaje de inhibición promedio de 86.32%.

En general, el tipo de crecimiento en los hongos endorrizosféricos es variable, predominando los de lento crecimiento, y los de muy lento crecimiento, en esta última categoría es donde se encuentran las cepas con los porcentajes mas altos de antibiosis obtenidos frente a *P. infestans*.

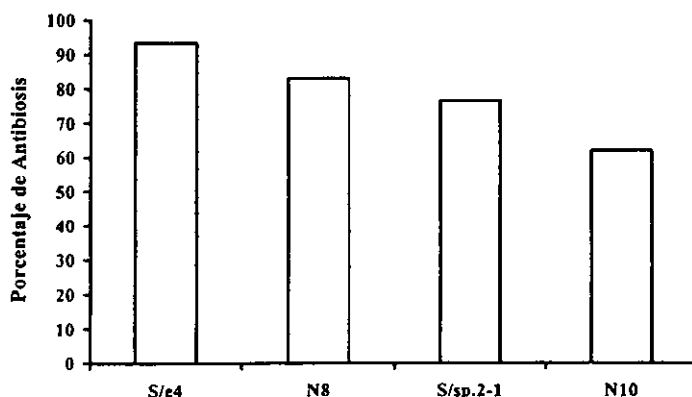


Figura 16. Porcentaje de Antibiosis de Hongos Endorrizosféricos contra *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary. Donde: S. sp.2/1 = *Solanum* sp.2 (presumiblemente *stoloniferum*); S/e = *Solanum edinennse*; N = *S. tuberosum* var. Norteña.

Se cree que en la endorrizósfera, la principal causa de que algunos patógenos no se puedan establecer en las raíces de las plantas, son los hongos endorrizosféricos, algunos de los principales factores que inciden en el control natural de patógenos es la competencia por los carbohidratos solubles producidos por la planta como fuente de C, así como también la competencia por sitios de infección, estos factores se han descrito como mecanismos de control sobre los patógenos. Davies y Menge (1980), mencionan en trabajos sobre cítricos que *Phytophthora parasiticam* - hongos endorrizosféricos ocupan los mismos tejidos radicales que tratan de ocupar los hongos patógenos y nematodos fitoparásitos, por lo que concluyen, que los hongos endorrizosféricos tienen un papel importante en el control natural de enfermedades de habito radical y aéreo.

Morandi y Baylet (1984). describen en sus trabajos, que los hongos endorrizosféricos provocan un incremento en la síntesis de isoflavonoides que inhiben la movilidad por ejemplo en nematodos. Desde el punto de vista bioquímico, en las raíces se detecta un incremento en la concentración de proteínas y aminoácidos, especialmente arginina, probablemente esto es debido a un bloqueo en el ciclo de la ornitina por el hongo endomicorrizico. Este tiene un efecto inhibitor, sobre la producción de estructuras reproductivas en patógenos como ocurre en la inhibición de clamidosporas de *Thielaviopsis basicola*. Otra consecuencia, posiblemente sea el incremento de polisacáridos insolubles y de la producción de lignina. Dehne y Schonbeck (1979) asociaron la mayor tolerancia a la fusariosis vascular en tomate causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici en plantas micorrizadas con un incremento en la síntesis de lignina y el consecuente engrosamiento del cilindro vascular que frena el desarrollo del patógeno. En las siguientes figuras 17, 18, 19, mostramos la antibiosis observada en los hongos endorrizosféricos obtenidos frente a *P. infestans*.

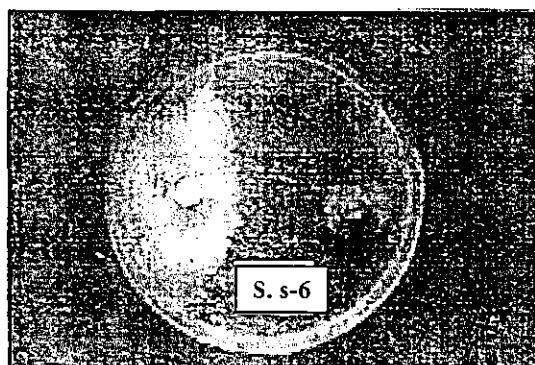


Figura 17. Antibiosis de cepa obtenida de *Solanum stoloniferum*-6 hacia *Phytophthora infestans* (Mont)De Bary.

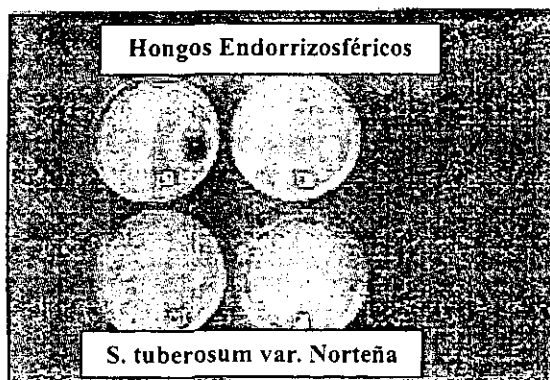


Figura 18. Antibiosis de Hongos Endorrizosféricos obtenidos de la cepa de *Solanum tuberosum* var. Norteña.

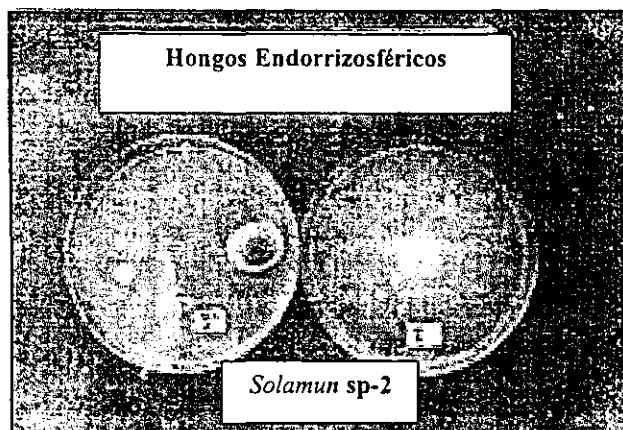


Figura 19. Antibiosis de cepa obtenida de *Solanum* sp. 2 (presumiblemente *stoloniferum*).

En trabajos realizados por Devaki (1992) establece a *T. harzianum* contra *Pythium* spp. en tabaco, observa al microscopio que el antagonista segrega un antibiotico no-volatil, así como una autoflorencia natural en la región de interacción, indicando la muerte de *Pythium* spp., particularmente debida a la actividad litica de Beta (1-3)-glucanasa liberada por el antagonista, detectada en la pared celular de *Pythium* spp.

Díaz (1991) resalta la importancia que tiene actualmente *Trichoderma* spp. en el control de la pudrición de vegetales en postcosecha, principalmente contra *Botrytis cinerea*, en fresa, manzanas, uvas, así como también lo es *Rhizoctonia solani* en el control de patógenos en cítricos

Sutton (1993) también reporta que *Gliocadium roseum*, *Penicillium* spp., y *Trichoderma viride*, suprimen el número de conidioforos de *Botrytis cinerea* en un 97-100%. así como la esporulación en un 58, 64, 48% respectivamente, esta prueba se realizo a nivel de invernadero en el cultivo de fresa.

6.7. Resultados de la prueba de Micoparasitismo

El porcentaje de hongos endorrizosféricos que presentaron micoparasitismo contra *P. Infestans*, fue del 65.71%, contra 34.28% obtenido en la prueba de antibiosis. El tipo de micoparasitismo que se determino fue necrotrófico, obteniendo un mayor número cepas micoparasitas provenientes de las especies silvestres con 57.14%, con respecto a las cepas obtenidas en variedades comerciales 42.8%, sobre *P. infestans* (figura 20), estos hongos endorrizosféricos, en general tienen un crecimiento mediano, a muy lento, siendo en la primera categoría donde los hongos endorrizosféricos muestran un mayor efecto de micoparasitismo necrotrófico sobre *P. infestans*.

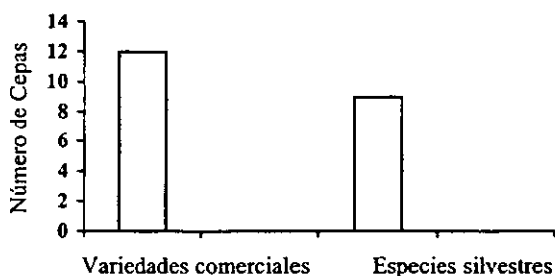


Figura 20. Micoparasitismo de Hongos Endorrizosféricos aislados de *Solanum* spp. contra *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary.

A continuación, describimos los efectos de los hongos endorrizosféricos observados al microscopio contra *P. infestans*.

- A) Hongo *Solanum* – sp. 8. Creció al lado de la hifa huésped, presentó un fuerte enrollamiento, además existió una vacuolización del citoplasma, el ataque se originó a partir de conidioforos.

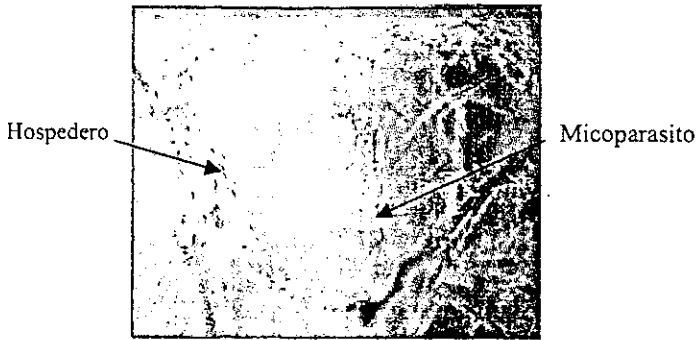


Figura 21. Micoparasitismo de Hongos Endorrizosféricos aislados de S/s 3 sobre *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary.

- B) Hongo *Solanum* sp.1-1 (presumiblemente *edinense*), presentó un ataque franco a Zoosporangios, así como una granulación, y lisis citoplasmática.
- C) Hongo *Solanum* – sp. 3. Existió una fuerte vacuolización de las hifas, granulación, resaltando el hecho de que no hay formación de zoosporangios.
- D) Hongo *Solanum* – e. 1. Presentó abundante destrucción de zoosporangios, no hay invasión en el interior de la hifa.
- E) Hongo *Solanum* sp. 2 -1. Presentó un fuerte micoparasitismo, el ataque de éste es por medio de clavijas de penetración, con una alta producción de gránulos en el citoplasma.

F) Hongo N7. Presentó micoparasitismo, con un crecimiento a la par de las hifas, con formación de masas hifales de micoparasitismo sobre el hospedante, con una alta destrucción de hifas y zoosporangios.

G) Hongo N1. Se observó una alta destrucción de hifas, así como una destrucción masiva de zoosporangios, vacuolización de hifas, con crecimiento masivo de hifas del micoparasito sobre el patógeno.

Dicha prueba de micoparasitismo *in vitro*, demuestra los resultados obtenidos, sin embargo el efecto que los hongos endorizosféricos puedan tener sobre las estructuras reproductivas de patógenos es un aspecto que debería ser estudiado más a fondo en el cultivo de la papa, ya que nos daría una mayor claridad sobre la efectividad de estos hongos en el control biológico de *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary.



Figura 22. Micoparasitismo del tipo necrotrofico de aislados de *S. tuberosum* var. Norteña sobre *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary.

Uno de los aspectos que nos revelaría mas sobre la relación hospedante-parásito en los hongos endorrizosféricos, sería estudiar como influyen los diferentes nutrientes en los medios de cultivo utilizados. Ferrera-Cerrato (1977) encontró que concentraciones altas de glucosa y bajas de extracto de levadura en el medio estimulaban el micoparasitismo hacia los basidiomicetos

Whipps (1987) reporta que en diferentes medios de cultivo, el modo de micoparasitismo varía en los antagonistas *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *Gliocadium roseum*, *Coniothyrium minitans*, *Pythium oligandrum*, sobre los fitopatógenos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Phomopsis sclerotioides*, *Sclerotinia sclerotiorum*, y *Botrytis cinerea*.

Quizá los mejores micoparásitos que se conocen son los hongos del genero *Trichoderma*, los cuales se han sugerido como agentes de biocontrol de muchos patógenos del suelo, además es uno de los pocos productos presentes comercialmente con el fin de combatir enfermedades en las plantas (Chet- Henis, 1985). Dentro de los hongos del género *Trichoderma*, el que ha sido más ampliamente estudiado es *Trichoderma viride* parasita a 14 diferentes hongos, de los géneros *Alternaria*, *Cunningamella*, *Rhizopus*, *Rhizoctonia*, *Mucor*, *Macrophomia*.

VII. CONCLUSIONES

1. - El conocimiento de las interacciones microbianas es clave para entender los procesos dinámicos que caracterizan la formación de la rizosfera y su efecto en el crecimiento y desarrollo sanitario de las plantas.
2. - La identificación de los hongos endorrizosféricos no se llevó a cabo, debido a que esta solo cumplió la primera parte de tres trabajos que componen el proyecto original.
3. - Los resultados de ambas pruebas *in vitro* nos indican que los hongos endorrizosféricos pueden ser una buena alternativa para el control de *Phytophthora infestans* (Mot) De Bary.
4. - El análisis estadístico se realizó en el programa (SAS), pero al no encontrar diferencias significativas determinamos no incluirlas dentro de los resultados obtenidos.

VII. LITERATURA CITADA

- Abbot, L. K., and A. O. Robson. 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agric. Ecosystems and environment* 35: 121-150p.
- Agrios, G. N. 1995. *Fitopatología*. Ed. Limusa. México. 838p.
- Agrios, G.N. 1991. *Fitopatología*. Ed. Limusa. México. 253p.
- Allen, M. F., T. S. Moore and Christensen 1982. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. II Altered levels of gibberellin like substances and abscisic acid in the host plant. *Canadian J. B.* 60: 468-471p.
- Allison, F. E. 1973. Soil organic matter and its role *In: Crop production*. Elsevier Scientific-Publishing Company. Nueva York, Estados Unidos de América 45-50p.
- Ames, R. N., Reid, P. P., and Porter, L. K. 1983. N uptake and transport of nitrogen from two ¹⁵N-labelled source by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytopath.* 95:381-386p.
- Alexander, M. 1980. Introducción a la Microbiología del suelo. Traducción al español de AGT Editor, Mexico.D.F. 62-90 p.
- Alzum, M., and Shilnikova, V. K. 1997. Antagonistic properties of *Fusarium* spp. (AF-976). *Abstarc.* 2:104-113p.
- Arines, J., Palma, J.M., and Vilariño, A. 1993. Comparison of protein patterns in non-mycorrhizal and vesicular-arbuscular mycorrhizal root of red clover. *New Phytopath.* 123- 763-768.
- Azcón-Aguilar, C., and Barea, J. M. 1997. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture significance and potentials *ciencia. Hort.* 68- 1-24p.
- Azcón-Aguilar, C., and Barea, J. M., Azcón, R., and Díaz-Rodríguez, R. M. 1986. Assessment of field situations for the feasibility of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation using a forage legume as test plant. *Agric. Ecosyst. Environ.* 15-241-252p.
- Azcón-Aguilar, C., Barea, M.J. 1985. Effect of soil microorganism on formation of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 84: 536-537p.
- Baker, R. 1987. My Coparasitism: Ecology and Physiology. *Can. Journal Plant Pathol.* 9: 370-379p.

Barea, J. M., and El Atrach, F., Azcón, R. 1989. Mycorrhiza and phosphate interactions as affecting plant development, N²-fixation, N-transfer and N-uptake from soil in legumes grass mixture by using a ¹⁵N dilution technique. *Soil Biol. Biochem.* 21- 581-589p.

Barea, J. M., and Azcón-Aguilar, C. 1983. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plant. *In: Advances In Agronomy.* Ed. N. C. Brady. Academic Press. New York. 1-54p.

Barea, J. M. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. *Adv. Soil Sci.* 15-1-1-40p.

Barea, J. M y Azcon-Aguilar, C. 1982. La Rizosfera: Interacciones Microbio-planta. *An. Edaf. y Agrobiol.* XLI: 1517-1532p.

Barnett, H. L. 1963. Mycoparasitism. *Mycologia* 56: 1-19p (a).

Barnett, H. L., and Binder, F. I. 1973. The fungal host-parasite relationship. *Ann. Rev. Phytol.* 11: 273-229p.

Barnett, H. L. 1963. The Nature of Mycoparasitism by fungi. *Ann. Rev. Microbiol.* 17: 1-14p.

Barnett, H. L., and Lilly, V. G. 1962. A destructive mycoparasite *Gliocadium roseum*. *Mycologia.* 54: 72-77p.

Berry, C. R., and Barnett, H. L. 1957. Mode of parasitism and host range of *Pitocephalis virginiana*. *Mycologia.* 49: 374-386p.

Benhamou, N., and Chet, I. 1993. Hypal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: Ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process. *Abstrac. Phytopath.* 83: 10, 1062-1071p.

Bonfante-Fasolo, P. 1987. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. Fungus-plant interactions on the cellular level. *Symbiosis.* 3-249-268p.

Bonfante-Fasolo, P. 1984. Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. *In: VA mycorrhiza* CRS Press, Boca Ratón, Fl. 6: 29p.

Boosalis, M. G. 1964. Hyperparasitism. *Ann. Rev. Phytopath.* 2: 263-276p.

Bochow, H. 1990. Possibilities of protecting plant roots against phytopathogens by biological means (biological control). *In: Interrelationships between microorganisms and plant in soil.* V. Vancura and F. Kunc (Eds.) *Developments in soil Science.* Prague 18: 357-370p.

Box, J. E., y L. C. Hammond. 1990. Rhizosphere dynamics. *In*: J. E. Box y L. C. Hammond. (Eds). AAAS. Selected symposium 113. Westview Press Boulder, Colorado, Estados Unidos de América 25 – 36 p.

Brown, M. S., and Bethelenfalvay, G. J. 1988. The Glicine-Glomus-Rhizobium symbiosis. VI Photosynthesis in nodulated, mycorrhizal or N-and fertilized soybean plants. *Plant Physiol.* 85: 120-123p.

Bruehl, G.W. 1987. Soilborne Plant Pathogens. Mcmillan Publishing Company. New York. 22-36p.

Brundrett, M.N Bougher, B. Dell, T. Grone and N. Malaje Zuk. 1996. Working mycorrhizas in forestry and agriculture. ACIAR (Australian Center International Agricultural Research). Monograph 32. Camberra, Australia. 373p.

Bruny De, C.J. 1979. Introducción a la Micología. II Edición Universitaria de Buenos Aires, Argentina. 157-161p.

Burton, W.G 1966. Origin and spread of the potato. *In*: The potato II Ed., H. Veenman & Zonen, N.V. Wageningen Holland 9-26p.

Burton, W. G. 1989. The potato. Logman scientific and Technical Singapore. 76-100p.

CAEVAMEX-CIAMEC-INIA-SAGAR. 1980. Informe de las actividades del programa de papa, folleto III, 10 –12 p.

Calderoni, A.V. 1978. Enfermedades de la Papa y su control. Hemisferio Sur. Buenos Aires. 19-21p.

Campell, R., y M. P. Greaves. 1990. Anatomy and community structure of the rhizosphere. *In*: J. M. Lynch. (Ed). The Rhizosphere, John Wiley and Sons, Nueva York, Estados Unidos de América. 11/34p.

Caron, M., and Fortin, A.1986. Effect of phophorus concentration and Glomus intradices on *Fusarium* crown and root of tomatoes. *Phytopath.* 76: 942- 946p.

Casseres, H.E. 1986. Papa, Yuca, Camote. FAO. Santiago de Chile. 1-13p.

Cohen, S. P., Hachler, H., and Levy, S. B.1993. Genetic and functional analysis of the multiple antibiotic resistance locus in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 175: 1484-1492p.

Coper, K. M. 1984. Physiology of VA Micorrhizal associations *In*: VA mycorrhiza. C. L. Powell and D. J. Bagyaraj, (eds). CRC Press. Boca Raton. Fl. 155-186p.

- Christiansen, G.J. 1967. El Cultivo de la Papa en Perú. Edición Jurídica. Lima. 351p.
- Cruz, U. B. 1992. Micorrizas: Un caso de simbiosis entre plantas y hongos UNAM Colegio de Ciencias y Humanidades; Plantel Sur. 80p.
- Cundliffe, E. 1989. How antibiotic-producing organisms avoid suicide. *Annu. Rev. Microbiol.* 43: 207-233p.
- Chaturvedi, A.P. y Dwivedi, R.S. 1985. My Coparasitic Behaviour of *Fusarium Oxysporum* S. Dhal Towards *Aspergillus Luchensis*. *Invi. Plant. And Soil.* 84: 419-422p.
- Chet, I., and Henis, Y. 1985. *Trichoderma* as biocontrol agent against soilborne root pathogens. In: Ecology and management of soilborne plant pathogens. Ed. : C. A. P. *et al.*, St. Paul, Minnesota: American Phytothological. Society. 110-112p.
- Davies, J. 1994. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science* 264:375-382p.
- Davis, R. M., and Menge, A. J. 1980. Influence of *Glomus fasciculatum* and soil phosphorus on *Phytophthora* rot of citrus. *Phytopath.* 70: 447-452p.
- Deacon, J. W. 1980. Introduction to modern mycology. Basic Microbiology, Ed. Blackwell Scientific Publication, 17: 163-167p.
- Devaki, N. S. 1992. Antagonistic activities of *Trichoderma harzianum* against *Pythium aphanidermatum* and *P. myriotylum* on tobacco. *Abstrac. Phytopath.* 136: 1, 82-87p.
- Dehne, H. W., and Schonbeck, F. 1979. Investigations on the influence of endotrophic mycorrhiza on plant diseases. II. Phenol metabolism and lignification. *Phytopath.* 69: 210p.
- Deverall. B.J. 1974 Fungal Parasitism. Comelot. Press Ltd. Southampton. London. 1-37p.
- Díaz, B. M., and Vila, A. R. 1991. *Trichoderma* spp.: An antagonist of fungi causing postharvest decay in crops. *Abstrac. Phytopath.* 28: 225, 57-59p.
- Estrada, R. N. 1998. Los múltiples viajes y migraciones de la papa latinoamericana. *Revista Latinoamericana de la papa. ALAP.* Vol.1, No 1, 7-8p.
- Favel, D.R. 1988. Role of Antibiosis in the Biocontrol of Plant Diseases. *Ann. Rev. Phytopath.* 8: 371-402p.

- Fernández, E. J. 1981. Efecto de la densidad de siembra sobre la resistencia de campo al Tizón tardío de la papa, y rendimiento en cuatro variedades de papa. Tesis de Licenciatura UAAAN, 15-26p.
- Ferrera-Cerrato., R. 1977. Hiperparasitismo de *Trichoderma viride* (Fungi Hyphomycetes), sobre hongos fitopatógenos y saprófitos. Rev. Latinoamericana Microbiología. 18:78-81p.
- Ferrera-Cerrato, R. 1989. Rizosfera In: Ferrera-Cerrato, R. Ed. Ecología de la raíz. Sociedad Mexicana de Fitopatología, Montecillo, México. 21p.
- Ferrera-Cerrato, R. 1987. Papel de la micorriza en las leguminosas de importancia agrícola y forestal. Memorias 1er. Congreso Nacional de Fijación Biológica de Nitrógeno, Xalapa, Veracruz, México. 15p.
- Flores, C. R. 1969. Taxonomía, distribución y potencial de los cinco tuberíferos silvestres de México. INIA-SAGAR; Folleto # 20; México 1-30p.
- Fry, W. E. 1988. Analysis of genetic diversity in *Phytophthora infestans*, (Anónimo), 1-39p.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 1994. Comercio. Colección FAO: Estadística 48: 113.
- Foster, R. C., Rovira, A. D y Cock, T.W. 1983. Ultrastructure of the Root-Soil Interface. The American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota. 1-11p.
- Fokkema, N. J., and Kohl, J., 1995. Effect of temperature on the antagonistic potential of *Ucladium atrum* against *Botrytis* spp. European Journal of Plant Pathol. 101:627-637p.
- Galindo, A. J., and Gallegly, M. E. 1960. The nature of sexuality in the *Phytophthora infestans*. Phytopathology. Vol. 50. 123-128p.
- García, C.M. 1987. Ecología de las raíces. Rev. Mexicana. Fitología. 5:128-136p.
- Genderman, J.W. and Nicolson, T.H. 1963. Spores of Mycorrhizal endogone especies extracted from soil be wet sieving and decanting. Trans. Brit Micol. Soc. 46: 235-244p.
- Génova, B. L. 1983. Respuesta de la papa a niveles de humedad del suelo en dos etapas fenológicas y a la fertilización nitrogenada. Tesis de M en C. Colegio de Postgraduados. Montecillo. Edo de México. 29-38p.
- Gianinazzi, S. A. Trauvelot y V. Gianinazzi-Pearson. 1990. Role and use of mycorrhizas in horticultural crop production. Adv. Hort. Sci. 4: 25-30p.

Gianinazzi-Pearson, V. 1991. Development et expression del association endomycorrhizienne chez le blé. In. Mise en evidence d un effect variétal. Am. Amélior plantes 30- 67-68.

González-Chavés R. 1995. Interacción de la simbiosis endomicorrizica y la fijación biológica de nitrógeno In: Ferrera-Cerrato, R., y J. Pérez- Moreno, (Eds). Agromicrobiología elemento útil en la agricultura sustentable. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo. Edo. de México. 116-183p.

González-Chávez R. y Ferrera-Cerrato 1993. Manejo de la endomicorriza vesicular-arbuscular en cinco portainjertos de cítricos In: Pérez-Moreno J., y Ferrera-Cerrato R. Eds. Avances de investigación, sección de Microbiología. PROEDAF-IRENAT. Colegio de Postgraduados. 77-90p.

Grupta, R. C., Upadhyay, R. S. and Bharat Rai. 1979. Hyphal parasitism and Chlamidospore, Formation by *Fusarium oxysporum* on *R. solani*. Mycopathology 67: 147-151p.

Gúzman-Plazola, R. A. y R. Ferrera-Cerrato. 1990. Endomicorriza vesicular-arbuscular en las leguminosas. Centro de Edafología. Colegio de Postgraduados, Montecillo. Edo. de México 25 – 40p.

Hawkes, J. G. 1982. History of the potato. In: The potato crop. II Ed. Chapman & Hall. N. York. USA. Cap I, 1-63p.

Harley, J. L y S.E. Smith 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press. Londres, Reino Unido 34 – 40 p.

Hachler, H., Cohen, S. P. and Levy, S. B. 1991. MarA, a regulated locus which controls expression of chrosomal multiple antibiotic resistance in *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 173: 5532-5538p.

Holmes, K. A., and Benson, D. M. 1994. Evaluation of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* for biocontrol of *P. parasitica* on *Catharanthus roseus*. Abstrac phytoptho. 78: 2, 193-199p.

Horton, E. D. 1988. Las papas en los países en desarrollo; Revista Latinoamericana de la papa. ALAP. Vol. 1; No 1; 9-17p.

Hunt, P.G.1990. Microbial responses in the rhizosphere of agricultural plants in the rhizosphere dynamics. J. E. Box y L. C. Hammond (Eds). AAAS selected Symposium 113. Westview Press. Boulder, Colorado, Estados Unidos de América. 116-135p.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Jabaji-Hare, S., Deschene, A., and Kendrick, B. 1984. Lipid content and composition of vesicles of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *Micología*. 76-1024-1030p.

Jaizme, V. M. C. 1992. Potencialidad de las M V-A, en los cultivos tropicales de Interés en las Islas Canarias. Tesis Doctoral. Fac. de Biología. Universidad de la Laguna. España. 189p.

Jaen, C. D. 1989. Ecología y aplicación de los hongos endomicorrízicos VA, en la producción agrícola. *In: Ferrera-Cerrato R. Ed. Ecología de la raíz. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Colegio de Postgraduados. Montecillo. Edo. de México.*22-56p.

Jaen, C. D., y Ferrera-Cerrato R. 1989. Aplicación tecnológica de los hongos endomicorrízicos en la producción de capulín (*Prunus serotina*, var. Capuli) *In: XII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Montecillos. Edo de México.* 154p.

Janos. P. D. 1980. Vesicular-arbuscular mycorrhizae effect lowland tropical rain forest. *Plant growth. Ecology* 61: 151-162p.

Jones, D.A., Ryder, M. H., Clare, B. G., Farrand, S.K., and Kerr, A. 1988. Construction of a Tra-deletion mutant of pAgK84 to safeguard the biological control of crown gall. *Mol. Gen. Genet.* 212: 207-214p.

Lara, H., M. 1998. Estrategias de manejo para el control de *Fusarium* spp. durante la propagación y producción de clavel en condiciones de invernadero. Tesis de M. en C. Colegio de Postgraduados. Montecillo. México.12-29p.

Linderman, R. G. 1994. Role of the mycorrhizae in biocontrol. *In: Mycorrhizae and plant health. Pflieger, R. and R. G. Linderman (Eds.) Academic Press.* 1-17p.

Linderman, R. G. 1988. Mycorrhizal Interaction with the Rhizosphere Microflora: The micorrhizal effect. *The American Phytopatho. Society, St. Paul, Minnesota.* 1 – 11p.

Lynch, J. M. 1990. Introduction: Some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil. *In: J. M. Lynch. (Ed). The Rhizosphere, J. Wiley and Sons, Nueva York, Estados Unidos de América.* 1-10p.

Manzali, D., Nipot, P., Pisi, A., Filippini, G., 1993. Scanning electron microscopy study of *in vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. strains against *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Abstrac Phytopatho* 32: 1, 1-6p.

Mc Graw, A. C., y P. Kormanik. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. *In: The Phytopathological Society. Minnesota* 2: 25-37p.

Marx, D.H. 1973. Mycorrhizae and feeder root diseases in ectomycorrhizae. G. C. Marks and T. T. Kozlowski: (eds.) Ectomycorrhizae their ecology and physiology. Academic Press, Nueva York, Estados Unidos de América 351 – 282 p.

McKay, H. H. 1970. Cultural basis for maintaining *Polyporus cinnabarinus* and *Polyporus sanguineis* as two distinct species. Mycologia 51: 465-473p.

Morandi, D., Bailey, J. A, and K. Gianinazzi-Pearson. 1984. Isoflavonoid accumulation in soybean roots infected with VAM fungi. Physiol. Plant Pathol. 24: 357-364p.

Molina, R. O' Dell, and T. Luoma. Amaranthus, M., Castellano, M. and K., Rusell. 1993. Biology, ecology, and social aspects of wild edible mushrooms in the forest of the pacific northwest. A preface to managing comercial harvest. United States Departament of Agriculture. Forest Service 42 p.

Montaldo, A. 1984. Cultivo y mejoramiento de la papa. Inst. Interamericano de Cooperación para la Agricultura, San José de Costa Rica 706 p.

Moreno, U. 1985. Enviromental effects on growth and development of potato plants. In: Li, P. H. (Ed.). Potato physiology Academic. Press, Inc. 482-485 p.

Morandi, D., and Baylet, J. A. 1984. Isoflavonoid accumulation in soil bean roots infected with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Physol. Plant Path. 24:357-364 p.

Morton, J. B., y G. L. Benny. 1990. Revised clasification of vesicular mycorrhizal fungi. (Zigomicetes). A new order Glomales, two news suborder *Glominae* and *Gigasporinae*, and two news families: *Acaulosporaceae* and *Gigasporaceae*, with mendution of glomaceae. Micotoxon. 37: 471-491p.

Mosse, B., and D. P. Stribley, and F. Le Tacon. 1981. Ecology of micorrhizal and micorrhizal fungi. In: M. Alexander. Advances in Microbiology Ecology. Plenum Press. 137-210 p.

Mosse, B. 1981. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Ann. Rev. Of Phytopatho. 11: 171-176 p.

Mulling, J.T., and Barsdale, A.M. 1965. Parasitism of the Chytrid Dictionar phadioica. Mycol. 57: 352-359 p.

Nelson, S. D. 1987. Rooting and subsequent growth of woody ornamental softwood cutting treated with endomicorrhizal inoculum. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 112: 263-266 p.

Niederhauser, S. J. 1989. El tizón tardío de la papa. México el lugar de origen y la solución. Conferencia Magistral. Memorias III Congreso Nacional de Papa. Toluca, Edo de México. 89-99 p.

Nikaido, H. 1994. Prevention of drug access to bacterial targets: Permeability barriers and active efflux. *Science* 264: 382-388p.

Ocampo, J. A., Martín, J., Hayman, S. 1980. Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. II. Crop Rotations and residual effects of Non-Host plants. *New Phytol.* 87: 333-343p.

Ocampo, J. A. 1980. Micorrizas V-A. Características generales. *In: Anales de Edafología y Agrobiología.* 39-1-2: 351-365p.

Ocampo, J. A., and Hayman, R. B.. 1980. Estudio de los factores ecológicos que afectan a las poblaciones microbianas en la Rizosfera. *Anal. Edaf. Agrobiol.*36: 1281-1297p.

Odum, E. P. 1972. *Ecología Nueva.* Ed. Interamericana. México. 639p.

Old, K. K. and Nicholson, T. H. 1978. The Root cortex as part of a Microbial continuum en: *Microbial Ecology.* (Eds.): Loutit, M. And Miles, J. A. R. Springer-Verlag, New York. 291-294p.

Panagopoulos, C. G., Psadillas, P. G., and Alivitzos, A. S. 1979. Evidence of a breakdown in the effectiveness of biological control of the crown gall. *In: Soilborne plant pathogens.* B. Schippers and W. (Eds). Gams. New York: Academic Press. 569-578p.

Pearson D. B. 1982. *Papas.* Edit. Trillas. México. SEP. 58p.

Perrin, R. 1990. Interactions between mycorrhizae and diseases caused by soilborne fungi. *Soil use and Management* 6: 189-195p.

Phukan, S; and Nand C. K. Baruah. 1990. Effect of certain soil factors on the viability of *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary. *Indian J. Ecol.* 17: 73-75p.

Phillips, D. A., and Tsai, S. M. 1990. Flavonoids as plant signals to rhizosphere microbes. 8th. NACOM. Abstrac. Wyoming. USA. 238p.

Phillips, J. G., and Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing and staining vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans. Brit. Mycologi. Soc.* 55:158-160p.

PICTIPAPA., Tríptico. 1997, International Cooperative Program for Potato late Blight Research.

Pirozynski, K. A., and Y. Dalpé. 1989. Geological history of the Glomaceae with particular reference to mycorrhizal symbiosis. *Symbiosis* 7: 1-36p.

Karling, J. S. 1942. Parasitism among the chytrids. *Am. J. Bot.* 29: 24-34 p.

Koide, R. T. 1993. Physiology of the mycorrhizal plant. *In: Adv. Plant. Pathol.* Vol. 9. Academic Press. England. 33-54p.

Reid, C. P. 1990. Mycorrhizas. *In: J. M. Lynch (Eds.) The Rhizosphere.* Jhon Wile & Sons. England. 281-316p.

Reddy, P., P. 1998. Management of *Meloidogyne incognita* on tomato by integrating endomycorrhiza, *Glomus mosseae* with oil cakes under nurse and field conditions. *Abstrac Phytopatho.* 1: 53-57p.

Revista Claridades Agropecuarias/Mayo 1998. José María Ibarán, No 84, 5to piso, col. San José Insurgentes, México. 3-15p.

Robinson, R. A. 1987. Host management in crop pathosystem. Macmillan Pub. Co. 263p.

Rocha, R., R., K. F. Byerly. 1990 Manejo integrado de la palomilla de la papa. *P. opercuella* (Zeller), en el Bajío. México. SAGAR. INIFAP.CIFAP-Gto. 52p.

Rovira, A.D. 1965. Plant roots exudates and their influence upon soil microorganisms. *In: K. F. Baker and W. C. Synder (Eds). Ecology of borne plant pathogens.* University of California Press, Berkeley. California. USA 54 -70 p.

Rotwell, F. M. 1984. Aggregation of surface maine by interaction between VAM fungi and lignin degradation products of lespedaza plant and soil 80: 99-104p.

Rosendhal, C. N., and Rosendhal, S. 1990. The role of vesicular-arbuscular mycorrhizal in controlling damping-off and growth reduction in cucumber caused by *Phthium ultimum*. *Symbiosis* 9: 363-366p.

Rudawska, M, Przybyl, K., and Bojorczyk, K. 1991. Antagonism of *Trichoderma* spp. against *Phytophthora cinnamomi* Rands causing root rot of Ericaceae cuttings. *Abstrac.* 36: 81-95p.

SAGAR. 1994. Anuario estadístico de la producción agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. Tomo I. México 394-401p.

SAGAR. 1996. Anuario estadístico de la producción agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. Tomo I. México 300-304p.

Sequeira, J. O; Safir, G. R, and M. G. Nair. 1991. VA mycorrhizae and mycorrhizae stimulating isoflavanoid compounds reduce plant herbicide injury. *Plant and Soil* 134: 233-242p.

Schreiner, R. P, and R. T. Koide. 1993. Antifungal compounds from the roots of mycotrophic and non-mycotrophic plant species. *New Phytol.* 123: 99-105p.

Singh, R. S., and Daljeet-Singh. 1997. Effect of fungal antagonists on the growth of chickpea plants and wilt caused by *Fusarium* *New Phytol.* 32 – 45p.

Shigo, A. L. 1960. Parasitism of *Olpidiospsis incrasata* on members of saprolengniaceae. *In: Host range and effect of lighth, temperature and stage of host on infectivity. Mycologia.* 52: 584-598p.

Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular management in tropical agrosistem technical cooperation. Federal Republic Germany. Eschborn. 271p.

Smith, G. S. 1988. The role the posphorus nutrition in the interactions of vesicular-arbuscular micorrhizal fungi with soilborne nematodes and fungi. Symposium: Interactions of micorrhizal fungi. *Phytopatho. Society* 78: 371-374.

Smith, S. E., and Smith, F. A. 1990. Estructure and function of the interfaces in biotrophic symbiosis as they relate to nutrient transport. *New Phytopatho.* 118-463-469p.

Smith, S. E., and Gianinazzi-Pearson, V. 1988. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 39-221-224p.

Safir, S. E. 1980. Mycorrhizas of autotropic higer plants. *Biol. Rev.* 55: 475-510p.

Sobrinho, I. , y E. Sobrinho. 1992. Tratado de horticultura herbácea. Tomo II. Ed. Aedos. España. 280-327p.

Sutton, J. C. 1993. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. *Abstrac. Phytopatho.* 83: 6, 695-621p.

Torres-Barragan, A., Zavaleta – Mejía, E. 1996. The use of arbuscular – micorrhizae to control onion witw rot (*Sclerotium cepivarum* Berk.) uder field conditions. *Mycorrhizas* 6: 253 – 257 p.

Valadez, F. B. 1993. Estudio botánico de las Solanaceas sp. En el valle de México. Ed. Trillas. México. 23-43p.

Vaishnav, M. U., Sabalpara, A. N., Khandar, R. R. 1992. Mycoparasitism on sugarcane smut (*Ustilago scitaminea* Syd.). *Abstrac Phytopatho.* 22: 2, 142-145p.

Watanabe, N. 1994. Biological control effect of *Gliocadium* spp. against soilborne plant pathogens. *Abstrac Phytopatho.* 99: 59-66p.

Weindling, R. 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopatho.*22:837-845p.

Zhengjia, H, and G. Xiangdong. 1991. Pretransplant inoculation with VA mycorrhizal fungi and *Fusarium* blight of cotton soil. *Biol. Biochem.* 23: 201-203.

IX. APÉNDICE

APÉNDICE I

PAPA-DEXTROSA-AGAR (P D A) (Merk, 1999)

Composición

Infusión de Papa (de 200 g. de papa)	4 g.
Glucosa	20 g.
Agar- Agar	5 g.

Disolver 39 g. de medio PDA, en un matras con 500 ml de agua destilada, y se coloca en autoclave por 18 minutos a 18 lbs (Merck, 1999).

APÉNDICE II

Medio de Centeno Basado en Centeno

1.- Extracto de Centeno

1.- Pesar 600 g de Centeno

2.- Vaciar los 600 g de centeno, en un litro de agua al 2 % con cloro (dejar por 10 minutos)

3.- Después, se vuelve a lavar sólo con agua, hasta que desaparezca el olor del cloro

4.- Se deja reposar por dos días en agua, y se tapa con papel aluminio el recipiente

5.- Se vuelve a lavar las semillas dos veces mas (germinadas)

6.- Licuar dos veces en un litro de agua

7.- Vaciar la mezcla en dos matraces (de un litro), se tapan con papel aluminio

8.- Incubar durante tres horas a 50 ° C

9.- Colar con manta de cielo

10.- Aforar el concentrado hasta un litro

11.- Almacenar en frascos de 100 ml cada uno y mantener en congelación (stocks) de 4-5° C

2.- Preparación del medio de cultivo

Se toman 100 ml de concentrado de Centeno, 15 g de agar y 20 g de azúcar, disuolver en un litro de agua en matraces de 500 ml y se esteriliza el medio en autoclave por 18 minutos, a 18 lbs. de presión. (Caten, 1968).

APÉNDICE III

AZUL DE ALGODÓN-LACTOGLICEROL

Fenol	20 g
Ácido láctico	20 ml
Glicerina	40 ml
Agua destilada	20 ml

A los 80 ml de la solución de lactoglicerol, se le adiciona 0.05 g. de colorante azul de algodón, se filtra antes de usarse, y por ultimo se coloca en un frasco oscuro.