

Universidad Nacional Agraria
Facultad de Agronomía
Departamento de Protección Agrícola y Forestal

Trabajo de Diploma

**DETERMINACION DE LOS AGENTES
PATOGENOS CAUSALES DE LA PATA NEGRA
EN AJONJOLI (*Sesamum indicum* L.)**

AUTOR:

Br. Karla Maria Rojas Mairena
D.P.A.F. U.N.A.

ASESORES:

Ing. Msc. Carolina López
U.N.A.

Ing. Msc. Yanet Gutierrez
U.N.A.

Lic. Msc. Danilo Padilla
Programa CATIE – MIP / AF

Dr. David Monterroso
Programa CATIE - MIP / AF

Presentado al honorable tribunal examinador
como requisito para optar al grado de Ingeniero
Agrónomo.

Managua, Nicaragua, 2000

AGRADECIMIENTO

A MIS ASESORES :
Ing. Msc Yanet Gutierrez
Ing. Msc Carolina López
Lic. Msc Danilo Padilla
Dr. David Monterroso.

Por todo el apoyo técnico y humano que siempre me supieron brindar desde el inicio hasta la culminación del presente trabajo.

Especialmente a la ingeniera Yanet Gutierrez que siempre me brindó su apoyo y su asesoramiento incondicional.

A las distintas personas que laboran en la universidad que de una u otra manera me apoyaron desde el inicio del trabajo.

INDICE GENERAL

CONTENIDO	PAGINAS
DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTO	II
INDICE GENERAL	III
INDICE CUADROS	IV
INDICE GRAFICOS	V
INDICE ANEXOS	V
INDICE FOTOS	V
RESUMEN	VII
I.- INTRODUCCION	1
II.- REVISION BIBLIOGRAFICA	6
III.- OBJETIVOS	9
IV.- MATERIALES Y METODO	10
V.- RESULTADOS Y DISCUSION	17
VI.- CONCLUSIONES DE LA INVESTIGACION	38
VII.- RECOMENDACIONES	39
BIBLIOGRAFIA	40
ANEXOS	43

INDICE DE CUADROS

1- Tratamientos utilizados y momentos de inoculación en condiciones de invernadero	14
2- Presencia de síntomas de <i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) G. Goid.	20
3- Presencia de síntomas de síntomas de <i>Fusarium oxysporum fsp.</i>	21
4- Incidencia de síntomas de <i>Fusarium oxysporum fsp</i>	22
5- Incidencia de síntomas de <i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) G. Goid	23
6- Patogenos encontrados en plantas inoculadas con <i>Fusarium oxysporum fsp</i>	24
7- Frecuencia de aparición del patógeno en las plantas extraídas del invernadero inoculadas con <i>Fusarium oxysporum fsp.</i>	25
8- Patogenos encontrados en plantas inoculadas con <i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) G. Goid	26
9- Frecuencia de aparición del patógeno en las plantas extraídas del invernadero inoculadas con <i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) G. Goid	27
10- Patogenos encontrados en plantas testigo	28
11- Grosor promedio de las plantas de ajonjolí en invernadero	29
12- Altura promedio de las plantas de ajojoli en invernadero	32
13- Resultados promedios de la producción de granos	35
14- Resultados promedios de los pesos húmedos	36
15- Resultados promedios de los pesos secos	37

INDICE DE FIGURAS

1. -Resultados de grosor promedio de las plantas	31
2. -Resultados de las alturas promedios de las plantas	34

INDICE DE ANEXOS

1. - Fórmula de medios	43
2. - Pruebas bioquímicas	44
3. - Postulados de Koch	45
4. - Medio Bilay	46

INDICE DE FOTOS

1. -Planta de ajonjolí (<i>Sesamun indicum</i> L). variedad maporal con síntomas de pata negra en el campo.	47
2. -Daño en la base del tallo y presencia de estructuras fungosas asociadas a la pata negra.	47
3. -Método de inoculación en la base del tallo y evidencia de los primeros síntomas de <i>Macrophomina phaseolina</i> (tassi) G. Goid.	47
4. -Aislados de <i>Macrophomina phaseolina</i> (tassi) G. Goid. obtenido de plantas de ajonjolí <i>Sesamun indicum</i> L. con daños de pata negra.	48

5. –Aislados de *Fusarium oxysporum fsp.* obtenido de plantas de ajonjolí *Sesamun indicum* L. con daños de pata negra. 48
6. Plantas de ajonjolí (*Sesamun indicum* L) muerta por la inoculación de *Macrophomina phaseolina* (tassi) G. Goid a nivel de invernadero. 48
7. Planta de ajonjolí (*Sesamun indicum* L.) con síntomas de enanismo y estrangulamiento por inoculación con *Fusarium oxysporum fsp* a nivel de invernadero. 48

RESUMEN

El presente estudio se realizó de octubre 1997 a julio de 1999 con muestras de ajonjolí recolectadas en las fincas La Planta ubicada en el municipio de León, departamento de León, La Grecia del municipio de Chinandega, departamento de Chinandega y en el municipio de Tipitapa, departamento de Managua.

Los propósitos del estudio fueron determinar los agentes patógenos causales de la Pata Negra en el cultivo de ajonjolí (*Sesamun indicum* L), caracterizar los síntomas, demostrar la patogenicidad y describir los daños de los agentes causales de la enfermedad.

En las plantas colectadas se observaron síntomas característicos de la enfermedad conocida como Pata Negra, ya que la base de los tallos y las raíces mostraban coloraciones negras y rojizas, las hojas presentaban manchas cloróticas y marchitez, algunas plantas presentaban maduración temprana y muerte prematura.

Las muestras de material enfermo de ajonjolí fueron procesadas e identificados los patógenos en el laboratorio de micología de la Escuela de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional Agraria (U.N.A.), ubicada en el Km 12 ½ carretera Norte, Managua, Nicaragua.

Siguiendo los postulados de Koch se procedió a hacer cultivos en el laboratorio de las diferentes partes afectadas de las plantas traídas del campo y posteriormente se reprodujeron los síntomas en invernadero.

En las muestras se identificaron los hongos *Fusarium oxysporum* fsp. *Macrophomina phaseolina*(Tassi) G. Goid y la bacteria *Xanthomonas* sp.

Se sembraron 120 plantas en el invernadero de una misma variedad (Maporal), de las cuales 40 plantas se inocularon con *Fusarium oxysporum fsp*, 40 plantas se inocularon con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid y 40 plantas se dejaron como testigos.

Los síntomas observados en las plantas inoculadas (0,15,30,45 días después de la siembra) fueron: marchitez de las hojas, crecimiento lento y poco grosor del tallo, bases de los tallos y raíces con presencia de coloración negra y rojiza, presencia de deformaciones en algunos tallos y en algunos casos se observaron micelios de los hongos. Además se comprobó que en plantas adultas los síntomas fueron más severos.

Para describir los daños que causan los agentes patógenos de la enfermedad en invernadero, a las plantas se les midió algunas variables como : altura, grosor del tallo, producción de granos, y se observó en la base del tallo y en la raíz de cada planta la presencia del patógeno, las plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum fsp* fueron las que presentaron menor rendimiento en las variables que se les midió.

I.- INTRODUCCION

El ajonjolí es un cultivo originario de Africa. Su nombre científico es *Sesamum indicum* L. Pertenece a la familia de las Pedaliáceas , su género es Sesamum y la especie *indicum*.

Este cultivo es conocido a nivel mundial por el contenido de aceite en su semilla (50% de aceite), el cual compite con cualquier otro cultivo oleaginoso. La semilla además de ser utilizada para la extracción de aceite se utiliza también para elaboración de dulces y alimentos para humanos y animales, además de ser usada en la industria del pan (MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA, 1992).

En Nicaragua el cultivo fue introducido en 1939. Inició con tanto auge que en 1946 fue el segundo cultivo en el País. El auge del algodón en los '50 relegó el cultivo de ajonjolí a un segundo plano. Tradicionalmente el ajonjolí ha sido cultivado por pequeños y medianos productores que utilizaban una tecnología tradicional; ésta no ha tenido en el tiempo mejoras sustanciales que permitan elevar la eficacia del proceso productivo y el incremento de la producción. Un aspecto importante de la socioeconomía del ajonjolí es que beneficia a productores de pocos o medianos recursos: aún con precio injusto, es un amortiguador económico del mismo riesgo de producirlo (Flores, *et al.* 1998) .

La industria del aceite vegetal nicaragüense, ubicada en la región del Pacífico, con base en el auge algodonero de los años '50, ha evolucionado demandando otras fuentes de materia prima en semillas de diferentes especies oleaginosas.

Entre las alternativas de producción nacional estaban la soya (*Glycine max.*, L. Merr), el maní (*Arachis hipogaea* L.) y el ajonjolí (*Sesamum indicum* L.), las cuales sobresalieron como especies de gran importancia económica ante el decaimiento del algodón como principal abastecedor para la producción de aceite adecuado al consumo

humano. De los cultivos señalados, la soya y el maní, por sus particularidades, son manejados por productores con amplios recursos técnicos y financieros que facilitan ejecutar todas las labores que requieren. A diferencia de ellos, el ajonjolí se destaca como un rubro de la pequeña y mediana producción, centrándose su establecimiento principalmente en la época de postrera en la región de Occidente, hasta alcanzar el 80% de la producción en relación a los recursos disponibles.

Desde este punto de vista el ajonjolí se ha situado como especie promisoría, incorporándose a la agricultura con importante aporte a la industria referida, amplia adaptabilidad, fuerte aceptación en las economías campesinas a la par de los granos básicos, buen margen de rentabilidad al igual que facilidad en su manejo (Navarrete, 1997).

El ajonjolí representó para el ciclo 96/97 un área de 27,650 hectáreas, con un rendimiento global de 18,765 Toneladas y un rendimiento de 614.6 kilogramos por hectárea. Este rendimiento se incrementó en el ciclo 97/98 en un 20.2% en relación al ciclo anterior, registrándose un área de siembra de 38,289.64 hectáreas (Rojas, 1998).

En Nicaragua se reporta una serie de enfermedades que afectan el rendimiento de este cultivo oleaginoso. Inicialmente los estudios locales han colocado al ajonjolí como un cultivo con una reducida población de plagas y patógenos. Entre los insectos se mencionan *Nezara viridula* (L.), *Spodoptera* sp., *Trichoplusia ni.* (Hubn), *Estigmene acrea* (Drudy) y *Diabrotica* sp, como las más importantes, además de algunos miembros de las familias grillotalpidae y acrididae no identificados como plagas ocasionales. De igual manera dichos estudios han colocado *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid, *Cercospora sesami* (Zimm), *Fusarium* sp., *Sclerotium rolfsii* (Sacc), *Phytophthora* sp., *Cercospora sesami* (Zimm), *Alternaria* sp., como los agentes fungosos más destacados y *Xanthomonas campestris* pv. *sesami* como la bacteria que más afecta este cultivo.

Flores, *et al* 1998, reportan diversas enfermedades en el cultivo del ajonjolí:

a.- Pata Negra:

La Pata Negra es una enfermedad que se observa en el cultivo de ajonjolí desde la germinación hasta el inicio de la floración. Los productores la llaman así porque el pie del tallo se pone negro. En plantas con esta enfermedad la base del tallo se pudre y toma color negro.

Este síntoma es causado por diversos patógenos, entre los que destacan los siguientes géneros de hongos:

Macrophomina phaseolina (Tassi) G. Goid: los síntomas característicos son coloraciones negras en la base del tallo y la raíz, los cuales se pudren al final del ciclo de la enfermedad. A consecuencia de la enfermedad las plantulas se mueren. La planta adulta o madura presenta marchitez y muerte prematura.

Phytophthora sp.: se encuentra en cualquier estrato y parte de la planta. Provoca una coloración negra en el lugar afectado. En algunos casos provoca una aceleración de la madurez del cultivo, logrando la caída del grano; en otros marchitez y muerte de la planta.

Fusarium sp.: afecta la base del tallo y la raíz, provocando la muerte de las plantulas. Se observa una coloración negra en el lugar dañado por la enfermedad.

Sclerotium rolfsii Sacc: afecta raíz y base del tallo. Se puede ver el micelio en forma de abanico y sobre éste unas estructuras fructíferas café o negras. Las plantas se marchitan y mueren.

b.- Mancha circular zonada (causada por *Alternaria sp.*):

Manchas en hojas, tallos y vainas. Las manchas son circulares con contornos irregulares y blanquecinos con bordes violáceos y zonas interiores concéntricas con límites de color violáceo.

c.- **Mancha circular** (causada por *Cercospora sesami*, Zimm):

Manchas redondas con un centro amplio grisáceo y un borde morado.

d.- **Mancha angular** (causada por *Xanthomonas campestris pv. sesami*):

Manchas angulares que se pueden convertir en un tizón de color café claro. En el tallo y en las vainas las manchas son ovaladas y de color café rojizo.

La principal enfermedad del ajonjolí es la Pata Negra. Puede ocasionar pérdidas en el rendimiento de la cosecha desde un 38% hasta un 63%, estableciéndose como período crítico de ataque el comprendido entre los 40 y los 68 días después de la siembra (Rojas, 1998).

El escaso seguimiento fitopatológico dado a dichas afectaciones en este cultivo y la falta de información sobre los aspectos que interactúan en una enfermedad (ambiente, hospedero y patógeno), son una limitante para proponer alternativas de manejo con base en su epidemiología. En virtud de esto, se hace necesario un estudio para identificar exactamente cual o cuales son los agentes patógenos causales de la Pata Negra, que permita elaborar métodos de manejo de bajo costo para elevar la eficacia del proceso productivo y el incremento de la producción, ya que esta enfermedad ha elevado los costos de producción mermando los ingresos económicos de los pequeños y medianos productores.

II.-Revisión Bibliográfica

En Nicaragua, desde 1939 se introdujo el cultivo del ajonjolí, tradicionalmente ha sido cultivado por pequeños productores, que utilizan una tecnología poco desarrollada, concentrándose el 80% de la producción nacional en la II región y el 20% en el resto de las regiones (Midinra, 1985).

Desde que se introdujo el ajonjolí en Nicaragua, hace casi 60 años, el cultivo ha tenido altibajos, pero no ha desaparecido.

Inició con mucha expectativa, tanto que en 1946 fue el segundo cultivo en el país. El auge del algodón lo relegó a un segundo plano. Sin embargo los productores se negaron a perderlo así año tras año sembraron pequeñas parcelas, para suplir la demanda del mercado, y conservar la semilla (MIP-ajonjolí, 1998).

Se reportan una serie de enfermedades que ocasionan manchas en las hojas, tallos y cápsulas; además de las pudriciones radiculares y como consecuencia de ataques fuertes; se produce caída del follaje y la madurez prematura de las cápsulas que afecta el 50% de la producción, mermando los ingresos económicos de este rubro agrícola y la muerte prematura de las plantas (Lheman, 1991).

En el cultivo del ajonjolí se reporta un sin número de ataques de plagas y enfermedades; entre la más importante se destaca la enfermedad conocida como "Pata Negra" que es producida por varios agentes patógenos, entre los que se reportan *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. y *Fusarium oxysporum* fsp.

El género *Macrophomina* es bien representado por la especie *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid., la cual pertenece a la clase *Deuteromycetes*, al orden

Sphaeropsidales y la familia *Sphaeropsidaceae*. Este en lugares tropicales y subtropicales puede vivir a expensas del frijol, tomate, ajonjolí y muchas otras plantas cultivadas y silvestres. Causa ahogamiento, tizón del tallo y pudrición carbonosa de los tubérculos, o rizomas.

Cuando se siembra semilla infectada, al salir la plantula aparece una lesión negra y hundida cerca de la base del cotiledón, que se extiende hasta el tallo y primer par de hojas todavía no desenrolladas. En plantulas, por lo general las lesiones empiezan al nivel del suelo y avanzan hacia la raiz y tallo, para llegar con frecuencia hasta las ramas. El centro de las lesiones, al principio del color rojizo, con el tiempo cambian a color gris. Es en él donde se diferencian numerosos puntitos negros que corresponden a los esclerocios y, raramente, picnidios del hongo.

La sintomatología en ajonjolí es muy similar a la del frijol, pero sus resultados son más espectaculares. La pudrición en los tallos progresa rápidamente y pronto las plantas se marchitan y mueren. En los tejidos muertos se forman copiosamente esclerocios típicos de la especie. No es muy común observar la presencia de picnidios.

Macrophomina phaseolina (Tassi) G. Goid. sobrevive de una estación a otra en la semilla, tubérculos, residuos de raices y tallos infectados, de tal suerte que el inóculo siempre es abundante. Los esclerocios y esporas son diseminados con los cultivos enfermos, semillas y agua de lluvia o riego (Romero, 1988).

Fusarium oxysporum es la especie del género *Fusarium* más ampliamente distribuida y perjudicial a la agricultura. Este pertenece a la clase *Deuteromycetes*, al orden *Moniliales* y la familia *Moniliaceae*. El frijol, la papa, el algodón, el ajonjolí y el lino son solo algunos de los numerosos cultivos susceptibles a este hongo. Las plantas enfermas muestran clorosis, achaparramiento, coloración café del xilema y, lo más común

marchitez. *Fusarium oxysporum* es un habitante del suelo, por lo que una vez establecido en él permanece ahí indefinidamente (Romero, 1988).

Los primeros síntomas de la enfermedad se manifiestan en un ligero aclaramiento de las nervaduras de los folíolos jóvenes más externos. Cuando las plantas son infectadas en la etapa de plántula, es frecuente que se marchiten y mueran poco después de haber aparecido los primeros síntomas. Las plantas adultas en el campo pueden marchitarse y morir repentinamente en caso de que la infección sea severa y el clima sea favorable para el patógeno.

El patógeno inverna en el suelo en forma de micelio y en cualquiera de sus formas de esporas, pero lo hace con mayor frecuencia en forma de clamidosporas. Se propaga a cortas distancias a través del agua y equipo agrícola contaminado. Es frecuente que una vez que un área haya sido infectada por *Fusarium* se mantenga así por tiempo indefinido (Agrios, 1991).

En el cultivo del ajonjolí *Fusarium oxysporum* afecta la base del tallo y raíz en las plantas, provocando la muerte de plántulas y se observa una coloración negra en el lugar dañado por la enfermedad (Flores, *et al* 1998).

Las bacterias fitopatógenas ocasionan el desarrollo de casi tantos tipos de síntomas en las plantas que infectan como los que producen los hongos. Producen manchas y tizones foliales, pudriciones blandas de frutos, raíces y órganos almacenados, marchitamientos, crecimientos excesivos, sarnas, cánceres, etc. Cualquiera de estos tipos de síntomas puede ser producido por las bacterias patógenas de varios géneros.

Los tipos más comunes de enfermedades bacterianas de las plantas son aquellos que parecen como manchas de varios tamaños sobre las hojas, tallos, inflorescencias y

frutos. En las infecciones severas, las manchas pueden ser tan numerosas que destruyen la mayor parte de la superficie de la planta, de ahí que esta última se atizone, o las manchas pueden alargarse y coalescer, produciendo así grandes zonas de tejido vegetal muerto y plantas atizonadas.

La mayoría de las manchas bacterianas de las hojas, tallo, frutos y otros órganos son producidas por bacterias de los géneros *Xanthomonas* y *Pseudomonas*. El género de bacteria *Xanthomonas* pertenece al grupo varillas y coco aeróbicos, gram negativos y la familia *Rhizobaceae*. (Agrios, 1991).

En el cultivo del ajonjolí los síntomas causados por *Xanthomonas* son manchas angulares que se pueden convertir en un tizón de color café claro. En el tallo y en las vainas las manchas son ovaladas y de color café rojizo (MIP-ajonjolí, 1998).

III.- OBJETIVOS

3.1.- Objetivo general

Determinar la etiología de la enfermedad del ajonjolí conocida como Pata Negra.

3.2.- Objetivos específicos

- 1.- Caracterizar los síntomas producidos por la enfermedad del ajonjolí conocida como Pata Negra;
- 2.- Demostrar la patogenicidad de los agentes patógenos asociados a dicha enfermedad;
- 3.- Describir los daños causados por los agentes patógenos de la enfermedad en invernadero.

IV.- MATERIALES Y METODOS

4.1.- UBICACION DEL ESTUDIO

Recoleccion de muestras: se realizó con muestras de material enfermo de ajonjolí de las zonas productoras del Occidente del País: Chinandega -comarca La Grecia, León -finca La Planta y en la localidad de Tipitapa -Managua.

Fase de Laboratorio e Invernadero: se realizó en los laboratorios e invernaderos del Departamento de Proteccion Agricola y Forestal de la Universidad Nacional Agraria (U.N.A.), Managua, Nicaragua.

4.2.- DURACION Y FASES DEL ESTUDIO

4.2.1.- DURACION DEL ESTUDIO

Desde octubre 1997 a julio 1999.

4.2.2.- FASES DEL ESTUDIO

El estudio descriptivo se desarrolló en tres fases: RECOLECCION DE MUESTRAS ; FASE DE LABORATORIO; FASE DE INVERNADERO.

4.2.2.1.- Recoleccion de muestras: incluye la colecta de muestras de material enfermo de ajonjolí, que presentan los síntomas característicos de la enfermedad conocida como Pata Negra. La colecta se realizó en tres fincas diferentes.

La finca La Planta, ubicada en el Km. 13 carretera León - Poneloya, se caracteriza por poseer suelos franco-arcillosos y profundos, drenaje deficiente e irregular, temperatura que oscila entre 33° C y 35° C. La edad del cultivo a la fecha de recolección de las muestras era de 35 días de siembra, la variedad era Maporal. Esta finca se seleccionó a partir de la encuesta desarrollada en el estudio Epidemiología de la Pata Negra y sus efectos en la producción del cultivo de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) (Rojas, 1998).

Las otras dos fincas fueron escogidas mediante monitoreo en las zonas productoras que presentaban cultivos con síntomas de Pata Negra. En Chinandega se eligió la finca La Grecia, ubicada a 7 Km al Norte de la ciudad, con suelos francos, precipitaciones de 800 mm, temperatura que oscila entre 33° C y 35° C. La edad del cultivo a la fecha de recolección era de 40 días de siembra y la variedad era Maporal.

Por último se escogió el municipio de Tipitapa, departamento de Managua, ubicado a 19 Km de la capital, con suelos franco-arcillosos, drenaje deficiente, temperatura de 35° C. La edad del cultivo a la fecha de recolección era de 45 días y la variedad también era Maporal.

Se realizaron cuatro colectas de material enfermo. En la finca La Planta se hicieron dos colectas: el 25 de octubre y el 9 de noviembre 1997. En la finca La Grecia se realizó una colecta el 15 de noviembre 1998. En la localidad de Tipitapa se realizó una colecta el 25 de noviembre 1998. Las colectas se realizaron por la mañana. Se seleccionaron las plantas enfermas que presentaban los síntomas de la enfermedad, se colectaron rastrojos en diferentes puntos de los plantíos y se tomaron 10 plantas de la variedad Maporal por cada una de las colectas. Se extrajo toda la planta, se preservaron los rastrojos y las plantas envolviéndose cada muestra en papel periódico húmedo y luego empacándolas en bolsas de polietileno.

4.2.2.2.- **Fase de Laboratorio:** Esta es la fase primordial del estudio, la cual, incluye procesamiento, cultivo e identificación de las muestras de ajonjolí que se colectaron en la fase de campo. Las muestras de material enfermo fueron procesadas e identificadas en los Laboratorios de Micología y Microbiología del Departamento de Protección Vegetal y Forestal de la Universidad Nacional Agraria.

Primeramente se describieron los síntomas que presentaban las muestras colectadas, después se procedió a seleccionar las partes de la plantas y rastrojos que presentaban mayor cantidad de síntomas, ya sea que fuesen las raíces o las bases de los tallos, luego se procedió a hacer cortes verticales de las partes afectadas que se seleccionaron. Se hicieron trozos de aproximadamente un centímetro cuadrado y se colocaron en agua estéril por un minuto. Seguidamente se pasó cada trozo por el mechero y por último se realizó la siembra.

Por cada muestra de planta colectada se tomaron 10 muestras: 5 platos petrie para la base del tallo y 5 platos petrie para la raíz. Las muestras se pusieron en diferentes tipos de medios: Avena - Agar, Agar - agua, Agar nutritivo y Papa Dextrosa Agar acidificado (ver anexo 1) por tres días consecutivos. Luego se realizaron tres reaislamientos más, para llegar a obtener cultivos puros. Seguidamente se identificó cada hongo encontrado en los cultivos con la ayuda de las claves taxonómicas (Booth, 1971).

Para conservar las cepas de dichos hongos se procedió a preservarlos en tubos de ensayos en medio Papa Dextrosa Agar acidificado y aceite mineral esterilizado, para que no perdieran su virulencia y poder realizar con ellos las distintas inoculaciones en la fase de invernadero.

El medio artificial Papa Dextrosa Agar acidificado se usó para propiciar mayor crecimiento del micelio de los hongos, y el Agar nutritivo para lograr mayor crecimiento de bacteria.

Para la identificación de la bacteria obtenida en la mayoría de los aislamientos se utilizaron diferentes pruebas bioquímicas: KOH, Oxidasa, Catalasa (H_2O_2), realizadas en el laboratorio de microbiología del Departamento de Protección Agrícola y Forestal (ver anexo 2).

4.2.2.3.- **Fase de Invernadero:** incluye prueba de germinación de la semilla, esterilización del suelo, siembra e inoculación para comprobar los postulados de Koch (ver anexo 3).

Se realizaron pruebas de germinación a la semilla antes de sembrarla. La variedad que se utilizó para el presente trabajo fue Maporal sin ningún tipo de tratamiento, proveniente de la cosecha de Lorenzo Rojas, en León.

Con el solo propósito de ordenar los tratamientos en el invernadero se utilizó un Diseño Completo al Azar, con tres tratamientos y diez repeticiones por cada momento de inoculación. Testigo, Inoculaciones con *Fusarium oxysporum fsp* e Inoculaciones con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid.

El suelo que se utilizó era franco-arenoso, proveniente del municipio de Ticuantepe. Antes de su utilización fue esterilizado por medio del calor, a una temperatura de $100^{\circ} C$ durante 8 horas.

Se utilizaron tres bancos del invernadero con medidas de 302 x 126 x 84 cm. y 120 maceteras con capacidad de 4 libras. El banco de las plantas testigos estaba ubicado a favor del viento para evitar la contaminación, ya que el viento puede actuar como agente

diseminador del inóculo de las plantas infectadas. La temperatura en el invernadero durante el estudio osciló entre 30° y 33° C.

La siembra se realizó el 18 diciembre de 1998, poniéndose tres semillas por macetera. Luego se hizo un raleo a los 10 días, dejando sólo una planta por macetera, para un total de 120 plantas, de las cuales 40 serían testigos, 40 se inocularon con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid y 40 se inocularon con *Fusarium oxysporum* fsp.

Cuadro 1. TRATAMIENTOS UTILIZADOS Y MOMENTOS DE INOCULACION EN CONDICIONES DE INVERNADERO

Tratamientos	Nº plantas inoculadas	Momento de inoculación (dds)
TESTIGO	40	0, 15, 30, 45
<i>Macrophomina phaseolina</i>	40	0, 15, 30, 45
<i>Fusarium oxysporum</i> fsp.	40	0, 15, 30, 45

(dds.: días después de la siembra)

Las inoculaciones se realizaron cada quince días, partiendo desde el momento de siembra, inoculándose cada vez 10 plantas por cada tipo de hongo.

La inoculación se realizó siguiendo una metodología específica. Se inoculó cada planta con el hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid.; por cada planta se utilizaron seis discos del medio conteniendo el micelio del hongo cada disco tenía 5 mm de diámetro; la inoculación con *Fusarium oxysporum* fsp. se realizó utilizando 100 ml de medio bilay por planta, el cual contenía aproximadamente 9×10^6 de Propágulos (macro,microconidias y clamidosporas) (ver anexo 4).

Los medios que se utilizaron para inocular fueron preparados con 4 días de anticipación.

Durante el tiempo pasado en el invernadero, las plantas fueron mantenidas en ambiente encharcado para lograr éxito en las inoculaciones y en la presentación de síntomas.

4.3.- VARIABLES EVALUADAS

Para comparar los daños que la enfermedad Pata Negra ocasionó a las plantas de ajonjolí en la fase de invernadero, se midieron las siguientes variables: altura y grosor del tallo (en centímetros), producción de grano, peso seco, peso húmedo de planta y raíz (en gramos). Las variables grosor y altura fueron medidas cada 7 días a partir del momento de la siembra. Luego se procedió a sacar el promedio de las medidas por cada momento de inoculación.

Por ser un estudio de interés descriptivo no se realizó el análisis estadístico del ensayo.

4.4.- COMPROBACION DE LOS POSTULADOS DE KOCH: PRUEBA DE PATOGENICIDAD

Para comprobar los postulados de Koch, o prueba de patogenicidad de un organismo, es necesario que bajo condiciones controladas se aisle el organismo, se inocule y se reproduzca la sintomatología característica de la enfermedad en el campo. En el presente estudio se cumplió cada uno de los pasos del postulado: se colectaron en el campo muestras de material con síntomas de la enfermedad conocida como Pata Negra en el ajonjolí; se aislaron en cultivos puros e identificaron los agentes fitopatógenos en el

laboratorio; se procedió a reproducir en invernadero los síntomas mediante inoculación a plantas sanas de la misma variedad, simulando las condiciones ambientales (tipo de suelo, humedad y temperatura).

Cuando las plantas presentaron los primeros síntomas, se extrajeron al azar 5 de ellas por cada momento de inoculación. Luego se procedió a aislar los hongos inoculados y se comprobó que dichos síntomas fueron producto de la inoculación. De esta manera se comprobaron los postulados de Koch.

V.- RESULTADOS Y DISCUSION

5.1.- RESULTADOS DE CAMPO

Caracterización de los síntomas de las muestras obtenidas en el campo.

Los síntomas observados en las plantas en el campo fueron: clorosis y marchitez en las hojas, pocas raíces, coloración negra y rojiza en la parte basal de las plantas que avanza hacia arriba, presencia de pequeños cortes o rasgaduras en sentido vertical en la corteza de la parte basal que avanza hacia el sistema vascular, presencia de manchas pequeñas cloróticas y circulares en las hojas. Estos síntomas son similares con los descritos por Flores, *et al* 1998: Los síntomas característicos de la enfermedad del ajonjolí conocida como Pata Negra son: coloración negra y rojiza en la base del tallo y raíz los cuales se pudren al final del ciclo de la enfermedad; la planta adulta o en estado de plantula presenta marchitez y muerte prematura, (foto 1).

Las condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad son: alta humedad ambiental, encharcamiento, uso de semilla no certificada o tratada, posición equivocada del cultivo con respecto al viento. Estos son factores muy importantes que deben tomarse en consideración al momento de realizar una siembra para prevenir la aparición de la enfermedad conocida como Pata Negra en el ajonjolí. El momento de mayor susceptibilidad de la planta frente a la enfermedad es 40 días después de la siembra, o sea que a mayor edad de la planta corresponde una más rápida aparición de los síntomas.

5.2.- RESULTADOS DE LA FASE DE LABORATORIO

En el primer año de estudio, en las muestras recolectadas y procesadas en el laboratorio se identificaron los patógenos: *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid., *Fusarium oxysporum fsp.*, *Phytophthora sp.* y la bacteria *Pseudomonas sp.*, pero éstas se contaminaron con ácaros en la fase de laboratorio y se desecharon. Por esta razón se hizo necesaria la recolección y procesamiento de nuevas muestras, encontrándose en estas últimas los patógenos: *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid, *Fusarium oxysporum fsp.* y la bacteria *Xanthomonas sp.*

Esta es la fase primordial del presente estudio por que en esta fase se logra cumplir con el objetivo principal del estudio. Con las muestras colectadas se procedió al aislamiento, cultivo e identificación de los agentes patógenos causales de la enfermedad del ajonjolí conocida como Pata Negra, cumpliendo el objetivo general del estudio: determinar la etiología de la enfermedad del ajonjolí conocida como Pata Negra. Se observaron los distintos tipos de crecimientos, identificándose en el medio Papa Dextrosa Agar acidificado como el medio artificial en que se produjo el mayor crecimiento de micelio, y el Agar nutritivo como el medio artificial en que se produjo el mayor crecimiento de bacteria. Los hongos que se obtuvieron en las muestras recolectadas en el campo e invernadero fueron: *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid y *Fusarium oxysporum fsp.*, además de la bacteria *Xanthomonas sp.* Dentro de las estructuras que se identificaron en *Fusarium oxysporum fsp.* están microconidias y macroconidias finas, alargadas y puntiagudas, pared delgada, masa miceliar de pigmento púrpura o violeta, y clamidosporas. Dentro de las estructuras que se identificaron en *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. están micelios oscuros o grises, esclerosios pequeños y lisos, (fotos 2 y 3).

Con los resultados obtenidos en esta investigación se demuestra que la enfermedad en el cultivo de ajonjolí conocida como Pata Negra es producida por dos agentes

fitopatógenos: los hongos *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. y *Fusarium oxysporum fsp.*, confirmándose la hipótesis uno (H1): la Pata Negra es ocasionada por varios patógenos.

Macrophomina phaseolina (Tassi) G. Goid. es un hongo imperfecto que produce dos tipos de estructuras: esclerocios estructuras de resistencia o sobrevivencia y micelios. En tallos y raíces produce áreas podridas, pardas u oscuras, que pueden ser superficiales o bien extenderse hacia la parte central de la raíz. Es frecuente que los tejidos podridos se sequen formando hundimientos y que allí se encuentren esclerocios y micelios del hongo. Estos causan amarillamiento y muerte del follaje y, posteriormente, la muerte de la planta.

Fusarium oxysporum fsp. produce tres tipos de esporas asexuales: clamidosporas estructuras de sobrevivencia, microconidias, macroconidias. Este patógeno inverna en el suelo como clamidospora y puede sobrevivir en cualquier forma de sus esporas o en forma de su micelio, penetrando directamente en las plantas desde las puntas de las raíces o a través de heridas. El micelio se propaga en el interior de la planta, las hojas se marchitan y mueren, como consecuencia, se muere toda la planta.

Xanthomonas sp. es una bacteria gram negativa. Se encuentra ampliamente distribuida en muchos cultivos, se desplaza por medio de un flagelo polar; todas las especies son fitopatógenas. Los síntomas aparecen en forma de numerosas manchas pequeñas o unas cuantas grandes zonas angulares sobre las hojas, áreas negras sobre los tallos o en forma de pudriciones negras que se extienden desde la base de los tallos hacia arriba. Las hojas marchitas se desprenden dando como resultado la muerte de la planta (Agrios, 1991).

Es importante señalar que la enfermedad mancha angular (*Xanthomona campestris* p.v. *sesami*) causa efecto sobre tallos y ramas, este efecto sobre tallos y ramas es similar al que causa el hongo *Macrophomina phaseolina* (tassi) G. Goid., en la base del tallo. (Salvatierra, 1993)

5.2.1- COMPROBACION DE POSTULADOS DE KOCH

En los cuadros 2 y 3 se presenta la cantidad de plantas extraídas al azar, por cada uno de los momentos de inoculación realizados en las diferentes inoculaciones con los hongos *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. y *Fusarium oxysporum fsp.* En los mismos cuadros se observa también la cantidad de plantas que presentaron síntomas de enfermedad y la cantidad de plantas muertas por cada uno de los momentos de inoculación de los diferentes tratamientos.

Cuadro 2. PRESENCIA DE SINTOMAS DE *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid; En plantas de ajonjolí en invernadero.

UNA, Managua, Nicaragua, 1999

Momento de inoculación (dds)	Edad de la planta (dds)	Nº de plantas extraídas	Nº de plantas con síntomas
0	32	5	3
15	32	5	5
30	52	5	2
45	52	5	2

(dds.: días después de la siembra)

Cuadro 3. PRESENCIA DE SINTOMAS DE *Fusarium oxysporum fsp.* En plantas de ajonjolí en invernadero.

UNA, Managua, Nicaragua, 1999

Momentos de inoculación (dds)	Edad de la planta (dds)	Nº de plantas extraídas	Nº de plantas con síntomas	Muertas
0	32	5	5
15	32	5	3	2
30	52	5	4	1
45	52	5	2	1

(dds.: días después de la siembra)

5.3.- RESULTADOS DE LA FASE DE INVERNADERO

Se realizó una prueba de germinación a la semilla antes de sembrarla, obteniéndose un 99% de viabilidad.

Los síntomas que presentaron las plantas inoculadas en el invernadero fueron: clorosis en tallos y hojas; pocas raíces; la parte basal de la planta presentó una coloración rojiza oscura en las plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum fsp.* y una coloración oscura casi negro en las plantas inoculadas con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. que avanzaba hacia arriba; la corteza de la parte basal presentó pequeños cortes en sentido vertical del tallo que avanzan hacia el sistema vascular; algunos tallos presentaron deformaciones; las puntas de las hojas se presentaron secas y el grosor del tallo muy limitado; la altura de las plantas no presentó mucha variación, pero el crecimiento fué lento y las plantas no alcanzaron la altura que normalmente tienen en el campo. A demás se observaron pequeñas manchas necróticas tanto en tallos, hojas y capsulas, producto del ataque de la bacteria *Xanthomonas sp.*

Los síntomas se presentaron en tiempos diferentes: en algunas plantas iniciaron a partir del sexto día desde la inoculación; en otras se presentaron síntomas a los 13 días de la inoculación. Se observó que el resultado anterior dependía de la edad de la planta al momento de efectuarse la inoculación: entre mayor era la edad de la planta, más pronto se presentaban los síntomas, estos síntomas son similares a los descritos por Flores, *et al* 1998.

Se observó que la presencia de síntomas era más visible en las plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum fsp.*, en comparación a aquellas inoculadas con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid.

A las plantas se les creó un ambiente favorable en invernadero el cual consistía en crearle y mantenerlas en condiciones de humedad excesiva para lograr reproducir los síntomas esperados, y lograr reaislar nuevamente ambos agentes fitopatógenos, cumpliéndose de esta manera cada uno de los postulados de Koch.

5.3.1- RESULTADOS DE LOS SINTOMAS EN LA FASE DE INVERNADERO

Cuadro 4. Incidencia de la pata negra en plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum fsp.*

Momentos de inoculación (dds)	Aparición de síntomas (ddi)	Nº de plantas afectadas
0	28	5/10
	35	5/10
	42	7/10
	49	10/10
15	6	3/10
	13	7/10
	20	7/10
	27	8/10

(dds: días después de la siembra)

(ddi: días después de la inoculación)

Cuadro 5. Incidencia de la pata negra en plantas inoculadas con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid.

Momentos de inoculación (dds)	Aparición de síntomas (ddi)	Nº de plantas afectadas
0	27	5/10
	34	5/10
	41	6/10
15	13	6/10
	20	8/10
	27	9/10

(dds: días después de la siembra)

(ddi: días después de la inoculación)

En los cuadros 4 y 5 se presenta el período de incubación de *Fusarium oxysporum* fsp. y *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. en plantas de ajonjolí en invernadero, y la cantidad de plantas afectadas luego de las inoculaciones. El período de incubación es el tiempo entre la penetración del patógeno y la aparición de los primeros síntomas. En estos cuadros se reflejan únicamente los resultados de dos momentos de inoculación, al momento de siembra (0) y a los 15 días después de siembra, en este estudio el promedio de período de incubación en las plantas de ajonjolí inoculadas con ambos patógenos fue de 27 días después de inoculadas.

Los otros dos momentos de inoculación no se tomaron en cuenta debido a que algunas plantas presentaron síntomas antes de ser inoculadas con los diferentes patógenos. En estos casos es posible que se les haya trasladado inóculo de otras plantas al momento del aporque, o que en las semillas ya se encontrara el inóculo.

En estos cuadros podemos observar que a mayor edad de la planta estas eran más susceptibles a la enfermedad.

5.3.1.2 – PATOGENOS IDENTIFICADOS EN LOS DIFERENTES MOMENTOS DE INOCULACION DE LOS TRATAMIENTOS SE MUESTRAN EN LOS SIGUIENTES CUADROS

Cuadro 6. PATOGENOS ENCONTRADOS EN PLANTAS INOCULADAS CON *Fusarium oxysporum fsp* A NIVEL DE INVERNADERO

Momentos de inoculación (dds)	Tipo de organismos aislados	Número de aislamiento
0	<i>Xanthomonas sp. – Fusarium</i>	2
	<i>Fusarium oxysporum fsp.</i>	2
	Sin crecimiento	1
15	<i>Fusarium oxysporum fsp.</i>	2
	<i>Fusarium – Macrophomina</i>	1
	<i>Xanthomonas sp.</i>	2
30	<i>Xanthomonas sp.</i>	1
	<i>Xanthomonas sp. – Fusarium</i>	2
	<i>Fusarium oxysporum fsp.</i>	2
45	<i>Fusarium oxysporum fsp.</i>	4
	<i>Xanthomona sp.</i>	1

(dds: días después de la siembra)

En el cuadro 6 se presentan los diferentes tipos de organismos aislados encontrados al realizarse el reaislamiento en laboratorio de plantas extraídas al azar desde los diferentes momentos de inoculación con *Fusarium oxysporum fsp.*

Cuadro 7. FRECUENCIA DE APARICION DEL PATOGENO EN PLANTAS INOCULADAS CON *Fusarium oxysporum fsp.* EXTRAIDAS DEL INVERNADERO

Patógeno	Frecuencia (%)	Momentos de inoculacion (dds)
<i>Fusarium oxysporum fsp.</i>	50	0, 15, 30, 45
<i>Fusarium + Xanthomonas sp.</i>	20	0, 30
<i>Fusarium + Macrophomina</i>	5	15
<i>Xanthomonas sp.</i>	20	15, 30, 45
Sin crecimiento	5	0

(dds: días después de la siembra)

En el cuadro 7 se presenta la frecuencia de aparición de los patógenos en los diferentes momentos de inoculación realizados con el hongo *Fusarium oxysporum fsp.* en plantas de ajonjolí en condiciones de invernadero. Se extrajeron 5 plantas por cada momento de inoculación, para un total de 20 plantas. Se observa que la mayor frecuencia es la del hongo *Fusarium oxysporum fsp.*, con el cual se inocularon dichas plantas. El segundo mayor porcentaje es el de la combinación de *Fusarium oxysporum fsp.* con *Xanthomonas sp.* y *Xanthomonas sp.* por sí sola, la cual es una bacteria que sobrevive en semillas y desde allí se propaga e infecta toda la planta (Agrios, 1991).

Se puede observar con un menor porcentaje de frecuencia la combinación de *Fusarium oxysporum fsp* con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid.

Cuadro 8. PATOGENOS ENCONTRADOS EN PLANTAS INOCULADAS CON *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. A NIVEL DE INVERNADERO

Momento de inoculacion (dds)	Tipo de organismos aislados	Número de aislamiento
0	<i>Xanthomonas sp.</i> Sin crecimiento <i>Macrophomina phaseolina</i>	3 1 1
15	<i>Xanthomonas sp.</i> – <i>Macrophomina</i> <i>Macrophomina phaseolina</i>	3 2
30	<i>Xanthomonas sp.</i> <i>Macrophomina</i> – <i>Fusarium</i> <i>Macrophomina phaseolina</i>	2 2 1
45	<i>Xanthomonas sp.</i> <i>Macrophomina</i> – <i>Fusarium</i> <i>Macrophomina phaseolina</i> <i>Fusarium oxysporum fsp</i>	1 1 2 1

(dds: días después de la siembra)

En el cuadro 8 se presentan los diferentes tipos de organismos aislados encontrados al realizarse el reaislamiento en laboratorio de plantas extraídas al azar desde los diferentes momentos de inoculación con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid.

Cuadro 9. FRECUENCIA DE APARICION DEL PATOGENO *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid., DE PLANTAS EXTRAIDAS DEL INVERNADERO

Patógeno	Frecuencia (%)	Momentos de inoculación (dds)
<i>Macrophomina phaseolina</i>	30	0, 15, 30, 45
<i>Macrophomina - Xanthomonas sp.</i>	15	15
<i>Macrophomina + Fusarium</i>	15	30, 45
<i>Fusarium oxysporum fsp.</i>	5	45
<i>Xanthomonas sp.</i>	30	0, 30, 45
Sin crecimiento	5	0

(dds: días después de la siembra)

En el cuadro 9 se presenta la frecuencia de aparición de los diferentes momentos de inoculación realizados en las inoculaciones con el hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. en plantas de ajonjolí, en condiciones de invernadero. Se extrajeron 5 plantas por momento de inoculación, para un total de 20 plantas. Se observa que aparecen con mayor frecuencia el hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. con el cual se inoculó dichas plantas y la bacteria *Xanthomonas sp.* Se puede observar una menor frecuencia de aparición de la combinación de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. con *Xanthomonas sp.*, y *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. con *Fusarium oxysporum fsp.* Aún menos se observa la aparición de *Fusarium oxysporum fsp.*

Las bacterias fitopatógenas pueden sobrevivir en condiciones ambientales adversas y en ausencia de plantas hospederas en el campo. Una de las formas más eficientes de sobrevivencia de estos patógenos bacterianos es infestando las semillas desde dentro o desde afuera (Schuster y Coyne, 1974).

Cuadro 10. PATOGENOS ENCONTRADOS EN PLANTAS TESTIGOS A NIVEL DE INVERNADERO.

Nº de la planta extraída	Tipo de organismos aislados	Número de aislamiento	Frecuencia (%)
1,5,12,13,18,30	<i>Xantomonas sp.</i>	6	33.33
3,4,6,7,11,15,23,28,33,36	Sin crecimiento	10	55.55
29,40	<i>Fusarium oxysporum fsp.</i>	2	11.11

En cuadro 10 se presentan las diferentes plantas extraídas al azar conforme fueron apareciendo enfermas en el invernadero, las cuales servían como testigo. Dichas plantas no llevaban ningún tipo de tratamiento, para poder ser comparadas, Como se observa en el cuadro, a pesar de no ser plantas inoculadas, hubo aparición de síntomas y crecimiento de microorganismos, con lo cual se comprueba que tanto la bacteria *Xantomonas sp.* como el hongo *Fusarium oxysporum fsp.* sobreviven en semillas, como reporta (Agrios, 1991). Y no fue posible controlar su mínima diseminación en el invernadero.

En el porcentaje de frecuencia de aparición de los diferentes organismos por sí sólo o de la combinación de ambos existe mucha variación, en las plantas inoculadas con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid., en las plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum fsp.* y en las plantas que sirvieron como testigo. Estas diferencias se pueden dar por la exclusión y por las microcondiciones ambientales.

Además algunas plantas presentan cualidades inherentes a los patógenos que las hacen resistentes durante algunas etapas de su vida. A veces ocurre que el patógeno y el hospedero sean incompatibles entre sí. Puede ser también que la planta hospedera pueda defenderse por sí misma de los ataques del patógeno; según (Agrios, 1989).

La variedad utilizada en este ensayo era maporal, la cual la reporta Flores, *et al* 1998. Como tolerante a la enfermedad conocida como pata negra en el cultivo del ajonjolí, es una variedad de ciclo intermedio, susceptible al acame y de origen Venezolano.

5.4.- GROSOR PROMEDIO DE LAS PLANTAS

Cuadro 11. GROSOR PROMEDIO (cm) DE LAS PLANTAS DE AJONJOLI EN INVERNADERO.

UNA, Managua, Nicaragua, 1999

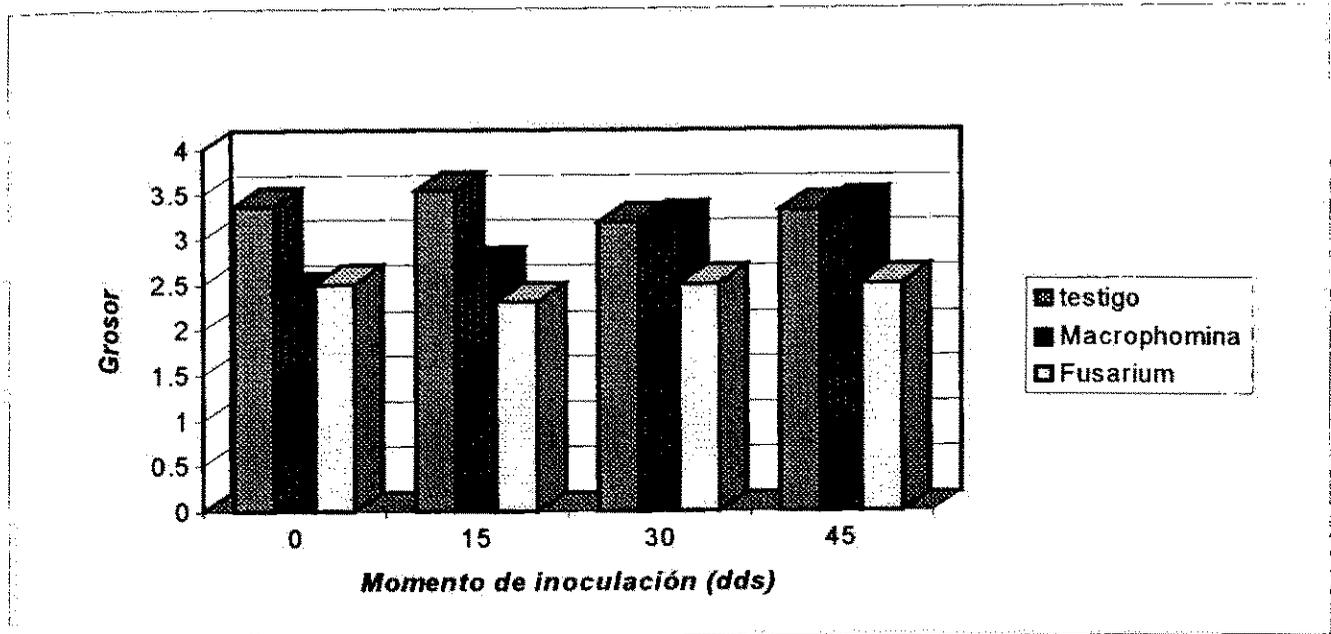
Tratamiento	Momento de inoculación (dds)	Número de semanas						
		1	2	3	4	5	6	7
Testigo		0.5	1.21	1.67	2.15	2.66	3.02	3.36
		0.5	1.48	2.05	2.61	3.11	3.42	3.53
		0.5	1.21	1.76	2.24	2.46	2.82	3.17
		0.5	1.30	1.83	2.42	2.76	3.04	3.31
<i>Fusarium oxysporum fsp.</i>	0	0.5	1.00	1.15	1.15	1.87	2.07	2.50
	15	0.5	1.00	1.50	2.00	2.00	2.00	2.30
	30	0.5	0.5	1.00	1.50	2.00	2.00	2.50
	45	0.5	0.5	1.00	1.00	1.50	2.00	2.50
<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) G. Goid.	0	0.5	0.5	0.9	1.58	2.16	2.41	2.41
	15	0.5	1.34	1.35	1.59	1.80	2.28	2.70
	30	0.5	1.77	2.14	2.41	2.78	3.10	3.20
	45	0.5	1.00	1.38	2.00	2.46	3.10	3.36

(dds.: días después de la siembra)

Resultados del grosor promedio de plantas testigos y plantas inoculadas con diferentes tipos de hongos. En el cuadro 11 se presenta el promedio por cada una de las semanas evaluadas en condiciones de invernadero. El menor grosor del tallo (cm.) se observó en las plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum fsp.*, en comparación con

aquellas inoculadas con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. y con las plantas testigo que alcanzaron mayor grosor. Sanchez , (1985) afirma que el grosor del tallo de ajonjolí es una característica varietal, pero entre las plantas de una misma variedad el grosor varía, por la influencia de factores ambientales, edafoclimaticos y/o por el ataque de plagas o enfermedades.

Todos estos resultados se podrán observar mejor en la figura 1.



(dds.: días después de la siembra)

Efecto de las inoculaciones de testigo, *Macrophomina* y *Fusarium* sobre el promedio del grosor de los tallos en plantas de ajonjolí.

Figura 1. RESULTADO DEL GROSOR PROMEDIO (cm) DE LAS PLANTAS AJONJOLI EN INVERNADERO. UNA, Managua, Nicaragua, 1999

5.5.- ALTURA PROMEDIO DE LAS PLANTAS

Cuadro 12. ALTURA PROMEDIO (cm) DE LAS PLANTAS DE AJONJOLI EN INVERNADERO. UNA, Managua, Nicaragua, 1999

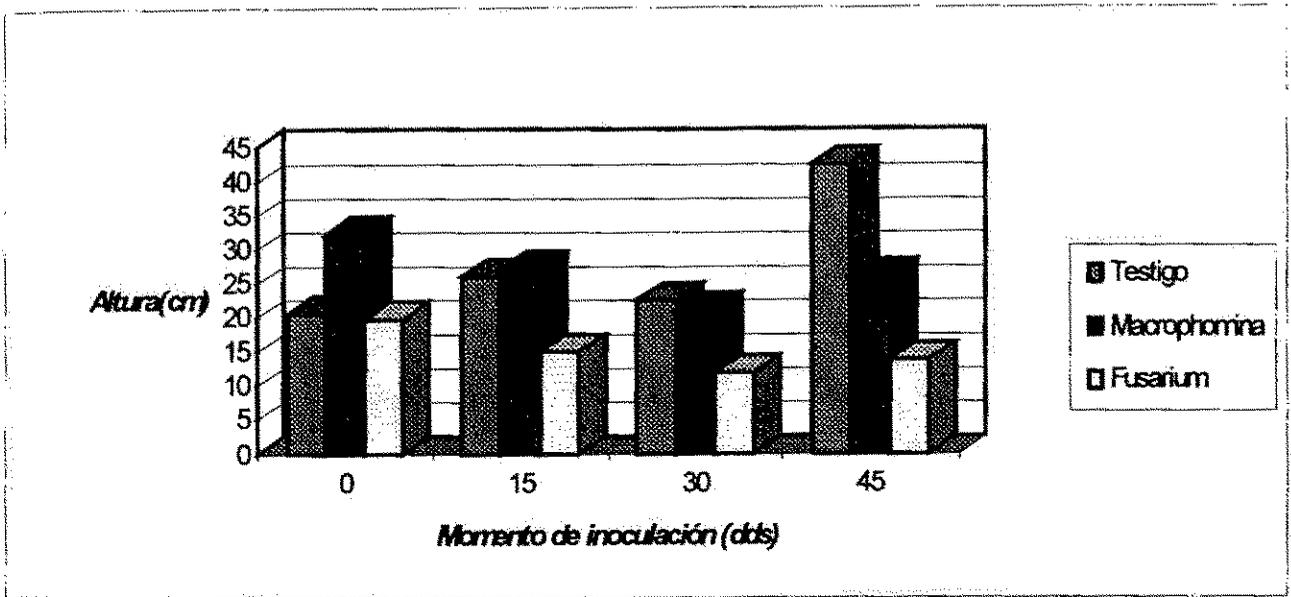
Tratamiento	Momento de inoculación (dds)	Número de semanas						
		1	2	3	4	5	6	7
Testigo		3.52	6.77	8.46	11.43	14.11	19.22	20.55
		3.52	5.50	10.86	12.98	18.90	24.33	26.00
		3.24	6.06	10.16	13.82	16.36	20.00	22.55
		4.19	10.54	19.81	24.89	26.92	39.50	42.40
<i>Fusarium oxysporum fsp.</i>	0	2.54	2.79	3.30	6.60	10.41	17.83	19.68
	15	2.54	2.79	3.42	6.09	8.89	13.69	14.98
	30	2.79	5.46	6.35	7.87	9.14	11.60	11.86
	45	2.54	4.57	6.98	8.25	11.43	12.70	13.79
<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) G. Goid.	0	2.54	3.81	6.60	10.03	21.15	26.13	32.15
	15	3.81	5.46	8.12	10.66	19.55	23.49	27.27
	30	2.54	2.54	5.84	8.00	13.71	18.54	20.98
	45	2.54	5.58	7.62	10.16	18.03	22.60	25.98

(dds.: días después de la siembra)

Cuadro 12. Resultados de la altura promedio de plantas testigos y de plantas inoculadas en los diferentes tipos de hongos. Se presenta el promedio por cada una de las semanas evaluadas en condiciones de invernadero. Como se observa, el promedio de la altura tuvo gran variabilidad, tanto en las plantas inoculadas como en las plantas testigo.

Como se observa las plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum fsp.*, presentaron menor altura en comparación a las plantas Testigos y las plantas inoculadas con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid.

Sanchez, (1982) afirma que el ajonjolí se adapta a varios periodos de luz, sin embargo existen algunas variedades que al sembrarse en otras regiones con períodos similares de luz, pero con un régimen de humedad o temperatura diferente frecuentemente presentan variaciones en el crecimiento del cultivo y así en su altura. Los resultados se podran observar mejor en la siguiente figura:



(dds: días después de la siembra)

Efecto de las inoculaciones de testigo, *Macrophomina* y *Fusarium* sobre el promedio de la altura en plantas de ajonjolí.

Figura 2. RESULTADO DE LA ALTURA PROMEDIO(cm) DE LAS PLANTAS DE AJONJOLI EN INVERNADERO. UNA, Managua, Nicaragua, 1999

5.6.- COSECHA

Cuadro 13. **PROMEDIO (gr) DE LA PRODUCCION DE GRANO EN PLANTAS DE AJONJOLI EN INVERNADERO.**

Tratamiento	Peso (gr)
Testigo	142
<i>Macrophomina phaseolina</i>	113
<i>Fusarium oxysporum fsp.</i>	85

En el cuadro 13 se presentan los promedios de la producción de grano (en gramos) de las plantas testigos y de las plantas inoculadas en condiciones de invernadero. Existen diferencias numéricas en el promedio de la producción de grano entre las plantas testigo y las plantas inoculadas. Dicha diferencia se puede asociar al efecto de la enfermedad sobre los componentes del rendimiento, ya que la enfermedad se encontró atacando hojas, tallos y, algunas veces, cápsulas. La reducción de la capacidad fotosintética y de la formación del grano en el cultivo son variables que influyen directamente sobre producción de grano (Salvatierra, 1993).

5.7.- PESO HUMEDO

PESO HUMEDO DE RAICES Y TALLOS (gr) DE PLANTAS DE AJONJOLI EN INVERNADERO

Cuadro 14. PROMEDIOS DE LOS PESOS HUMEDOS

Tratamiento	Raices	Tallo
Testigo	85	453
<i>Fusarium oxysporum fsp</i>	98	127
<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) G. Goid.	113	199

En el cuadro 14 se presentan los promedios del peso húmedo de las raíces y de los tallos de las plantas testigos y de las plantas inoculadas, en condiciones de invernadero. Se observa que los pesos húmedos de tallos y raíces varían entre las plantas testigo y las plantas inoculadas., el mayor peso en tallos se presenta en las plantas testigo, y en raíces el mayor peso se presenta en las plantas que fueron inoculadas con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid., presentaron menor peso en tallo las plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum fsp.* , las plantas con menor peso de raíces fueron las plantas que sirvieron como testigo.

5.8.- PESO SECO

PESO SECO DE RAICES Y TALLOS (gr) DE PLANTAS DE AJONJOLI EN INVERNADERO

Cuadro 15. PROMEDIOS DE LOS PESOS SECOS

Tratamiento	Raices	Tallo
Testigo	15	100
<i>Fusarium oxysporum fsp</i>	35	38
<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) G. Goid.	70	46

En el cuadro 15 se presentan los promedios de los pesos secos de raíces y tallos de las plantas testigos y de las plantas inoculadas, en condiciones de invernadero. Las plantas inoculadas con *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. presentaron raíces de mayor peso seco, y las testigos presentaron el mayor peso seco de los tallos, las plantas que presentaron menor peso de las raíces fueron las testigos, las plantas inoculadas con *fusarium oxysporum fsp* fueron las que presentaron menor peso seco de tallos.

Según (López, 1993) La producción de la biomasa de las plantas depende de su capacidad de producir sustancias orgánicas para su crecimiento y desarrollo; esta capacidad se puede ver afectada por el ataque de plagas como de enfermedades, sin embargo en el presente trabajo se observa que la producción de biomasa se vio afectada también en las plantas que servían como testigos.

VI.- CONCLUSIONES

1. Los patógenos asociados a la enfermedad conocida como Pata Negra en el cultivo de ajonjolí e identificados en el presente estudio fueron: *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. y *Fusarium oxysporum fsp.*
2. Los síntomas presentes a nivel de invernadero de la enfermedad Pata Negra en el cultivo de ajonjolí son: clorosis, manchas necróticas en hojas y tallos, coloración de café rojiza en las plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum fsp.* y una coloración oscura casi negra; pudrición, estrangulamiento de la base del tallo; deformación del tallo; marchitez y muerte prematura en las plantas inoculadas con *Macrophomina phaseolina* (tassi) G. Goid.
3. El momento de mayor susceptibilidad de las plantas hacia los patógenos es a partir de los 40 días después de la siembra a nivel de invernadero.
4. Los patógenos *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid., *Fusarium oxysporum fsp.* y *Xanthomonas sp.* posiblemente se transmiten por semilla.
5. Las variables (rendimiento, grosor, altura, peso seco, peso húmedo) resultaron ser menores en plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum*.

VII.- RECOMENDACIONES

1. Utilizar semillas sanas, certificadas y variedades resistentes a la enfermedad conocida como pata negra, en el cultivo del ajonjolí.
2. Evitar el encharcamiento del terreno como una forma de prevención a la enfermedad y para un mejor desarrollo vegetativo del cultivo.
3. Colocar el cultivo a favor del viento para evitar la propagación de la enfermedad.
4. Realizar estudios de inoculación combinadas de hongos y bacterias, para evaluar el grado de incidencia de la enfermedad pata negra en ajonjolí, sobre el cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

- AGRIOS, G.** 1989. Fitopatología. Limusa, México. 756 p.
- AGRIOS, G.** 1991. Fitopatología. Limusa, México. 530 p.
- BOOTH, C.** 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, England. 135 p
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA.** 1992. Guía de manejo integrado del cultivo de Ajonjolí. Proyecto Algodonero de Asistencia Técnica, Comisión Nacional del Algodón. León, Nicaragua. 17 p.
- FLORES, J. MONTERROSO, D. PADILLA, D. MENDOZA, R.** 1998. Enfermedades del Ajonjolí. En: Manual de manejo integrado de plagas en el cultivo de Ajonjolí. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Zamorano Academic Press. p. 100- 105
- FRENCH, E. R.; HEBERT, T. T.** 1980. Método de investigación fitopatológica. IICA. San José, Costa Rica. 290 p.
- JOFFE, A. Z.** 1963. *Mycologia* 55:271-282. (*S.N.T.)
- KLEMENT, Z; RUDOLPH, K.Y.; SAND, D. C.** 1990. Methods in fitobacteriology. Academy Kiado, Budapest. 110 p.

- LANE, F. 1970.** Description of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institute. England. 275 p.
- LHEMAN, D. 1991.** Manejo de enfermedades del ajonjolí y musáceas. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Managua, Nicaragua. p. irr.
- LÓPEZ, G. 1993** Efecto de rotación de cultivos y control de malezas sobre cenosis de maleza, crecimiento, desarrollo y rendimiento en soya (*Glycine max* L) y ajonjolí (*Sesamun indicum* L) Tesis (Ing. Agr.). Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria. Facultad de agronomía, Escuela de Producción Vegetal. 59 p.
- MEERMAN, F. 1985.** Manual de laboratorio para las prácticas de fitopatología. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Sanidad Vegetal. p. irr.
- MINISTERIO DE DESARROLLO AGROPECUARIO Y REFORMA AGRARIA DE NICARAGUA. 1985.** Guía técnica del ajonjolí. Managua, Nicaragua. p. irr.
- MONTERROSO, D. 1996.** Técnicas fitopatológicas de laboratorio para el diagnóstico de las enfermedades de las plantas. Proyecto CATIE/INTA - MIP (NORAD). Managua, Nicaragua. 80 p.
- NAVARRETE, A. 1997.** Perfil socioeconómico del cultivo del ajonjolí. Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. Managua, Nicaragua. 32 p

- ROJAS, L. 1998.** Epidemiología de la Pata Negra y sus efectos en la producción del cultivo de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) Tesis (Ing. Agr.) Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria. Facultad de Educación a Distancia y Desarrollo Rural. 60 p.
- ROMERO, C. S. 1988.** Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma de Chapingo. México, 347 p.
- SALVATIERRA, A. 1993.** Efecto de la densidad poblacional y fertilización sobre dos enfermedades foliares en cuatro variedades de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.). Tesis (Ing. Agr.) Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria. Facultad de Agronomía, Escuela de Sanidad Vegetal. 54 p.
- SÁNCHEZ, A. 1982.** Cultivos oleaginosos. Trillas, México. 32 p. (Manuales para Educación Agropecuaria. Area: Producción Vegetal.)
- SANCHEZ, R. R. 1985.** Producción de oleaginosas y textiles. 2da. (edc.) . Limusa, México. 54 p.
- SCHUSTER, M.; COYNE D. 1974.** Survival mechanisms of phytopathogenic bacteria. Review of Phytopatology (USA). 221 p.

ANEXOS

ANEXO I

Formulas de Medios

Papa Dextrosa Agar (P.D.A.) acidificado

Papa 400 gr.

Dextrosa 20 gr.

Agar 15 gr.

Agua 1000 ml.

Acido láctico 100 gotas

Agar Nutritivo

Peptona 5 gr.

Extracto de carne 3 gr.

Agar 15 gr.

Agua 1000 ml.

Agar Agua

Agar Técnico 40 gr.

Agua 1000 ml.

Agar Avena

Avena 20 gr.

Peptona 20 gr.

Dextrosa 20 gr.

Agar 15 gr.

Agua 1000 ml.

(Meerman , 1985)

ANEXO II

Pruebas Bioquímicas

Pruebas realizadas a las colonias de bacterias encontradas en los medios de crecimiento.

Para determinar *Pseudomonas sp.*:

prueba KOH - o +;

prueba de oxidasa;

prueba de catalasa;

crecimiento en medio tetrazolium.

Para determinar *Xanthomonas sp.*:

tinción de Gram;

prueba de catalasa;

hidrólisis de almidón;

crecimiento en medio de clara;

putrefacción en papa.

(Klement, *et al.* 1999)

ANEXO III

Postulados de Koch

1. El patógeno debe encontrarse asociado con la enfermedad en todas las plantas que se examinen.
2. El patógeno debe aislarse y desarrollarse en un cultivo puro en medios nutritivos y se deben describir sus características (parásito no obligado), o bien debe permitirse que se desarrolle sobre una planta hospedera susceptible sana (parásito obligado), registrándose su presencia y los efectos que produzca.
3. El patógeno que se desarrolle en un cultivo puro debe ser inoculado en plantas sanas de la misma variedad o especie en que apareció la enfermedad, y debe producir la misma enfermedad en las plantas inoculadas.
4. El patógeno debe aislarse una vez más en un cultivo puro y sus características deben corresponder a las anotadas en el segundo punto (Hebert y French, 1980).

ANEXO IV

Medio Bilay

El medio Bilay tiene el objetivo de elevar la producción de conidias. Este medio se cubre con papel de aluminio, ya que el hongo crece más con una menor intensidad de luz. Se debe mantener en movimiento constante en un agitador, como estimulante para la producción de conidias, durante tres días, a una temperatura de 25° C.

KH ₂ PO ₄	1 gr.
KNO ₃	1 gr.
MgSO ₄	0.5 gr.
KCl	0.5 gr.
Glucosa	0.2 gr.
Almidón	0.2 gr.
Sacarosa	0.2 gr.
Agua	1000 ml.

(Joffe, 1963)



Foto 1. Planta de ajonjolí (*Sesamun indicum* L.)
variedad maporal, (a la derecha)
con síntomas de pata negra



Foto 2. Daño en la base del tallo y
presencia de estructuras fungosas
asociadas a la pata negra



Foto 3. Método de inoculación
en la base del tallo
con evidencias de primeros síntomas.

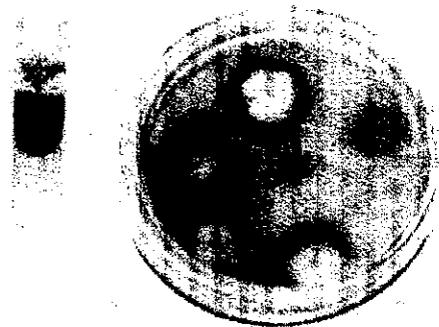


Foto 4. Aislado de *Macrophomina phaseoli* obtenido de plantas de ajonjolí (*Sesamun indicum L.*) con daños por pata negra.

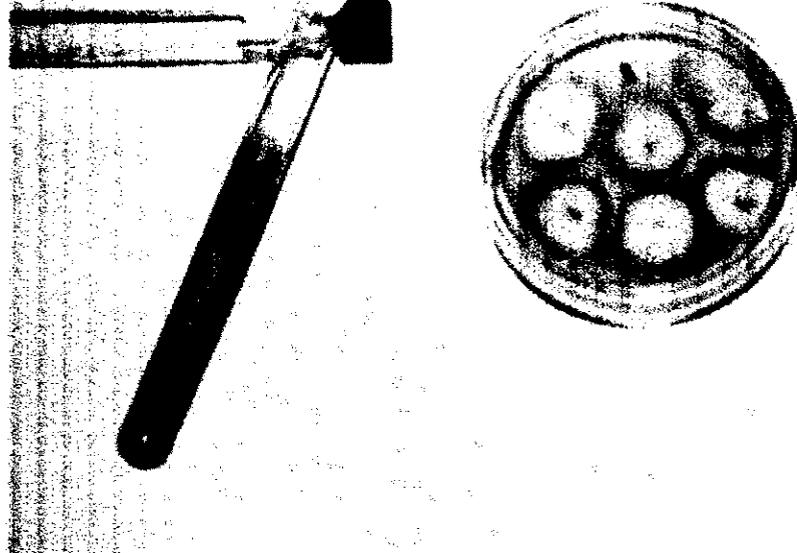


Foto 5. Aislado de *Fusarium oxysporum fsp.* obtenidos de plantas de ajonjolí (*Sesamun indicum L.*) con daños por pata negra.

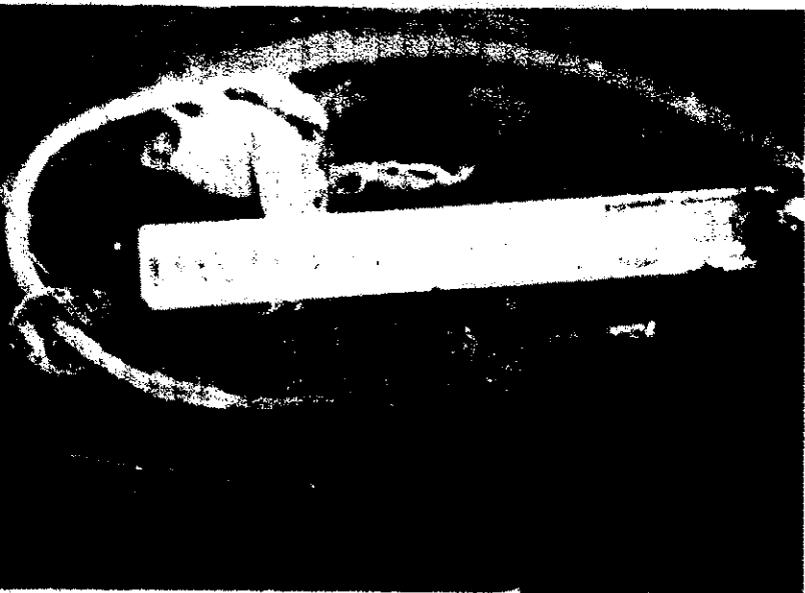


Foto 6. Planta de ajonjolí (*Sesamun indicum L.*) muerta por la inoculación con *Macrophomina phaseoli* a nivel de invernadero.

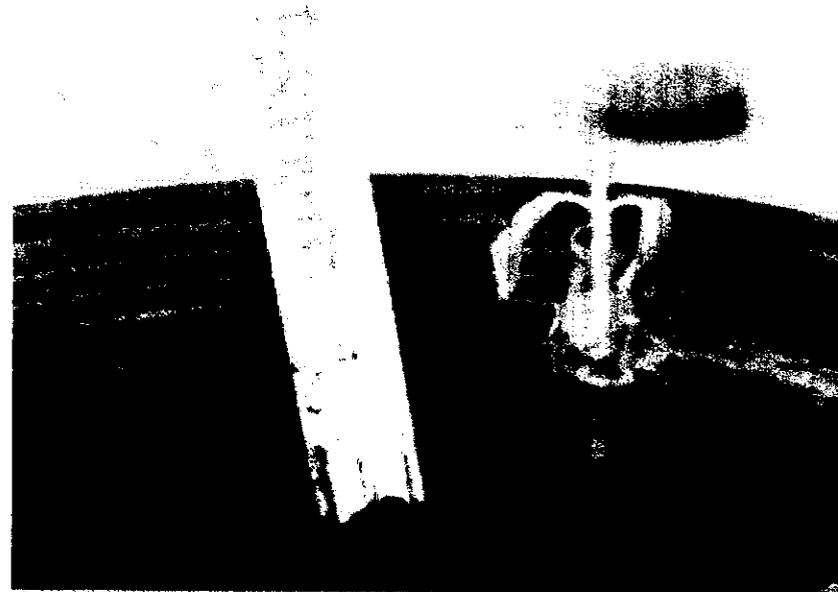


Foto 7. Planta de ajonjolí (*Sesamun indicum L.*) con síntomas de enanismo y estrangulamiento por la inoculación con *Fusarium oxysporum fsp.*