

TRATAMIENTO DE ESTACAS CON AGUA CALIENTE PARA  
EL CONTROL DE LA BACTERIOSIS CBB (CASAVA BLIGHT  
BACTERIUM ) EN DOS VARIEDADES DE YUCA (MANIHOT  
SCULENTA ).

P o r :

CESAR A. SERPA ROMERO

PEDRO R. ESPINOSA BENAVIDES



T E S I S

Presentada como requisito parcial para optar al título

de :

INGENIERO AGRONOMO

Presidente de Tesis :

ROBERTO BAYONA LAZARO, I. A.

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DEL MAGDALENA

FACULTAD DE AGRONOMIA

SANTA MARTA

1976

Tes. 190. Agro.  
~~5376~~  
IA 00143

DONACION

BIBLIOTECA

II

" El Presidente de Tesis y el Consejo Examinador de grado, no serán responsables de las ideas emitidas por los candidatos ".

DEDICAO :

Mis padres

Mis hermanos

Mis familiares

CESAR



DEDICO A :

Mis padres

Mis hermanos

Mis familiares

PEDRO

## AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros agradecimientos :

Al I. A. Roberto Bayona L., Presidente de Tesis por la dirección de este trabajo.

Al I. A. M. S. Luis Cabrales, Director del Laboratorio de Fitopatología y asesor del presente trabajo por su valiosa orientación y espíritu colaborador.

Al Instituto Colombiano Agropecuario (I. C. A.) y a los prácticos de su programa de Fitopatología Rafael Uribe y Juan Ceballos.

Al señor Luis Rivera, Práctico del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad, por su gran ayuda.

A las señoritas : Nurys, Patricia, Socorro y Daisy, por su desinteresada colaboración.

Los Autores



## C ONTENIDO

Cap.		Pág.
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION DE LITERATURA	8
	2.1. Antecedentes de la enfermedad y características.	8
	2.2. Condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad.	10
	2.3. Establecimiento del patógeno en el hospedante.	13
	2.4. Medidas sobre control.	14
3	MATERIALES Y METODOS	17
	3.1. Obtención del patógeno	17
	3.2. Prueba de patogenicidad.	19
	3.3. Preparación del inóculo. Inoculación. Tratamiento con agua caliente. Siembra.	21
	3.4. Tomas de muestras en el lote de ensayo.	25
	3.5. Evaluación de síntomas.	26
	3.6. Registros de humedad relativa y precipitación	26
4	RESULTADOS	28
	4.1. Obtención del patógeno.	28
	4.2. Prueba de patogenicidad.	28

Cap.		Pág.
	4.3. Preparación del inóculo. Inoculación. Tratamiento con agua caliente y siembra.	30
	4.4. Toma de muestras en el lote del ensayo.	30
	4.5. Evaluación de síntomas.	32
	4.6. Registros de humedad relativa y precipitación.	32
5.	DISCUSION.	37
	5.1. Obtención del patógeno.	37
	5.2. Prueba de patogenicidad.	38
	5.3. Preparación del inóculo. Inoculación. Tratamiento con agua caliente y siembra.	39-40
	5.4. Toma de muestras en el lote del ensayo.	40
	5.5. Evaluación de síntomas	41
	5.6. Registros de humedad relativa y precipitación.	42
6.	CONCLUSIONES.	44
7.	RESUMEN	45
	SUMMARY	47
8.	BIBLIOGRAFIA	49
	APENDICE	

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Plantas de yuca con síntomas de la enfermedad.	5
Figura 2. Síntomas presentados en hojas de yuca por el CBB.	6
Figura 3. Corte transversal de tallos afectados por la bacteria (izquierda) y sano (derecha).	7
Figura 4. Crecimiento bacteriano (CBB) en medio de cultivo específico que contiene trifenil-tetrazolium.	33
Figura 5. Aspecto del lote del ensayo dos meses después de verificados los tratamientos.	34
Figura 6. Pequeñas porciones de tallos de yuca puestas a crecer después de los tratamientos con agua caliente.	35
Figura 7. Pequeñas porciones de tallos de yuca puestas a crecer después de los tratamientos con agua caliente.	36
Tabla 1. Tratamientos utilizados en el ensayo.	24
Tabla 2. Porcentajes de germinación en cangles tratados con agua caliente.	30
Tabla 3. Evaluación de síntomas para cada uno de los tratamientos.	32



## A P E N D I C E

Tabla 4. Precipitación media diaria (mm) comprendida entre  
Diciembre 1975 y Mayo de 1.976.

Tabla 5. Humedad relativa media diaria ( %) comprendida entre  
Diciembre de 1.975 a Mayo de 1.976.

## 1. INTRODUCCION

El cultivo de la yuca es hoy en día uno de los más importantes a nivel comercial, puesto que su raíz ha permitido al hombre considerarlo como uno de los cultivos que, por su gran capacidad de producción y alto poder energético, puede ayudarlo a disminuir la escasez de alimento que se registra actualmente a nivel mundial y el que además favorecería su economía, por la utilización de su "fruto" en la extracción de almidones, harinas, lacas, alcoholes, dextrinas, gomas, pegantes, pinturas etc.

En Colombia actualmente el cultivo de la yuca es muy importante como fuente de alimentación y como complemento industrial, presentando además perspectivas para la exportación. En 1975 la producción nacional de yuca fue estimada en 1.540.000 toneladas, con un valor aproximado de 2.772.000 pesos.

Las enfermedades bacterianas, fungosas, virosas y las causadas por nemátodos, con frecuencia se encuentran afectando este cultivo, causando de acuerdo a su intensidad de ataque, pérdidas económicas considerables en mayor o menor grado.

Entre las enfermedades citadas, las más comunes e importantes son las bacterianas, destacándose entre ellas el añublo bacteria-

no de la yuca, enfermedad que fué descrita por primera vez por Bondar (2) en el Brasil, en el año de 1.912 y desde entonces se ha encontrado en Colombia, Venezuela (11), y se ha observado en otros países de América del Sur.

Esta enfermedad bacteriana es considerada actualmente en Colombia, una de las más limitantes en áreas afectadas, ocasionando, a veces, pérdidas totales durante la estación lluviosa (8); siendo registrada con mayor intensidad en la Costa Atlántica y los departamentos del Valle del Cauca, Meta, Caldas, Cauca y otros.

Investigaciones realizadas por el Centro Internacional de Agricultura Tropical C.I.A.T. (4) con el fin de determinar el rendimiento de una variedad susceptible al añublo bacteriano de la yuca, con o sin la enfermedad, demostraron que la producción se redujo a un 46%. La producción nacional de yuca en el año 1.975 fué de 1.540.000 toneladas (15), si se hace una relación con el dato anterior, respecto a las pérdidas producidas por esta enfermedad equivaldría a 708.400 toneladas.

Los cálculos anteriores dan una idea de la importancia económica que tiene esta enfermedad y de la necesidad inmediata de encontrar algún método de control. Al respecto, se han ensayado diferentes métodos, donde el genético ha merecido atención especial;

no obstante, este método no ha dado los mejores resultados si se considera que por el año de 1.966 (17) en el Brasil una variedad de yuca blanca que había mostrado ser tolerante hasta ese momento, manifestó ser susceptible a la enfermedad.

Por los problemas presentados en el control genético, se ha pensado en el ensayo de otros métodos, entre los que se cuentan la utilización de tratamientos físicos sobre la estaca de yuca. Si a la efectividad que pudiera presentar el tratamiento físico sobre la bacteria se añadiera su acción indirecta contra otros posibles agentes patógenos y aún de insectos, por la misma forma de propagación más importante del cultivo, se ve la importancia que representaría la obtención de un control dirigido a la semilla.

Entre los métodos de control dirigido a la "semilla", los más utilizados han sido el micro-ondas, rayos ultravioletas y agua y vapor caliente, de éstos el más práctico y fácil de utilizar, a nuestro modo de ver, es el uso de agua caliente. Por lo establecido y puesto que la bacteriosis de la yuca es un problema de importancia en los cultivos establecidos en la zona bananera fue la razón para plantear el presente trabajo con el siguiente objetivo:

Probar el efecto que pudiera tener el tratamiento de estacas de yuca afectadas por el CBB, mediante la utilización de dos trata-

**mientos técnicos y cuatro tiempos de exposición a dichas temperaturas.**



Fig. 1. Plantas de yuca con síntomas típicos de la enfermedad.





Fig. 2. Síntomas presentados en hojas de yuca por el  
CBB.



Fig. 3. Corte transversal de tallos afectados por la bacteria (izquierda) y sano (derecha).



## 2. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes de la enfermedad y características.

Bondar en el año 1.912, citado por Castaño (2) hizo en el Brasil la primera descripción de una enfermedad bacteriana en yuca sobre ( Manihotis palmata ), caracterizada por una pudrición interna en los tallos y un marchitamiento del follaje.

Lozano (11), anota que la enfermedad fué por primera vez encontrada en el Brasil en 1.912, sin embargo, desde entonces fué reportada en Colombia y Venezuela, también fué observada en otros países de América y Africa Tropical.

Bondar, 1.915; Bondar, 1.942, Burl Jolden 1.942; (citados por Lozano (11), anotan que esta enfermedad se encontró inicialmente en especies y variedades del género Manihotis.

Bradbury (1) consideró probable que tres bacterias diferentes pueden causar enfermedades en yuca: Xanthomonas manihotis (ARTHAUD BERTHERT). Xanthomonas casava (WICHE-DOWJON) y Pseudomonas solanacearum (E. F. SMITH).

Costa 1.940; IITA, 1.972; Lozano, 1972; Pereira y Zagato 1.9

62, citados por Lozano (10), encontraron que el añublo bacteriano de la yuca (CBB) es la más importante de las enfermedades encontradas en este cultivo y reconocieron además que esta enfermedad es uno de los factores más limitantes de la producción en áreas infectadas, donde en estaciones húmedas causa pérdidas económicas totales.

Pereira y Zagato (17) encontraron que una variedad de yuca blanca en el Brasil, había mostrado ser resistente al CBB, por el año de 1.966 manifestó susceptibilidad al añublo bacterial; ellos también aislaron el patógeno de plantas de yuca enfermas y estudiaron su etiología, encontrando que correspondía a la bacteria descrita por (Arthaud-Berthet) como Xanthomonas manihotis.

En ensayos realizados por el programa de fitopatología del Instituto Colombiano Agropecuario (5), se encontró que al aislar el patógeno no mostró diferencia en patogenicidad, pero se logró establecer dos grupos (Biotipos) por estudios serológicos y bioquímicos.

Castaño (2) encontró desde 1.969 varios cultivos de yuca de la Costa Atlántica, con frecuente pardeamiento en el interior de los tallos de las plantas, a veces con exudación de la tez mucoso hacia el exterior, un marchitamiento y caídas de hojas aún verdes o acompañado únicamente de un amarillamiento o secamiento progresivo de las hojas hasta desprenderse de las ramas.

Investigaciones realizadas en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (4) para determinar el rendimiento (raíces frescas) de una variedad susceptible al añublo bacteriano, con y sin la enfermedad, demostraron que la producción se redujo en 46 % (de 25 a 17 Ton. Ha.), por el uso de material infectado para propagación.

En el mismo centro experimental se realizaron estudios de rendimientos en plantas inoculadas con una suspensión bacteriana de  $1.3 \times 10$  células por mililitro. Se observó tres meses después de la siembra que el rendimiento bajó de 14.4 a 7.6 % en variedades resistentes después de 7 meses; de 27.5 a 22.5 % en las tolerantes y de 57 a 34.2 % en las susceptibles.

El mismo autor (10) afirmó que al aislar el patógeno en diferentes áreas de Colombia, Brasil y Venezuela sus características en las colonias fueron similares.

## 2.2. Condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad.

Druman e Hipólito, 1940-41; citados por Lozano (11) tuvieron en cuenta que la incidencia de la enfermedad aumentaba en la estación lluviosa.

Estudios realizados por el Centro Internacional de Agricultura

Tropical y el Instituto Agronómico de Campina, Brasil (8), consideraron que tanto la estructura de madera del corte y la producción de polisacaridos por el CBB juegan un papel muy importante en la prevención de la trasmisión del calor de los tratamientos por todos los tejidos del corte.

Lozano, Lozano y Zequeira (9), concluyeron que la bacteria normalmente penetra al huesped por los estomas o a través de aperturas o heridas epidermales.

En el Centro Internacional de Agricultura Tropical, ( 5 ); se realizó un estudio para ver la posibilidad de diseminación del CBB aplicado al suelo, y sobre raíces heridas con una suspensión alta del CBB ( $5 \times 10^8$  a  $10^9$  células X mililitro). Después de obtener una alta infección se observó que a medida que trascurría el desarrollo de las plantas, la infección se iba haciendo menor. Además, se observó que en suelos altamente infestados ocurre infección por salpicaduras del agua, pero solo sobre las hojas bajas que están más cerca del suelo.

Posteriormente en el mismo centro se estudió la supervivencia y distribución del CBB en diferentes suelos y diferentes plantaciones de yuca encontrándose que el CBB parece comportarse mejor en suelos estériles (28 días). El pH óptimo para el desarrollo de CBB fué de 6, a 6,5. En suelos con alto contenido de materia orgánica sobrevi -

vió por un período más largo. Además, estudios sobre dispersión demostraron que el patógeno no se disemina a distancias mayores de 10 m. Se encontró que existe una alta correlación entre el agua lluvia acumulada y el número de plantas enfermas por períodos sucesivos de 7 días.

Lozano y Zequeira, (9) concluyeron que el uso de herramientas contaminadas es probablemente un importante medio de diseminación de la bacteria; especialmente considerando la extensión cortada.

Maraite y Meyer, (14) consideraron que la reciente epidemia y marchitez podrían ser debidas a condiciones que la harían favorables, y los varios grados de enfermedad estarán en función del cultivo, lluvia y fertilidad del suelo.

Lozano, (10); manifiesta que durante los períodos secos la enfermedad puede retardar la aparición de síntomas, por la poca contaminación de bacteria en los exudados de goma, sin embargo, la enfermedad queda viable en la planta y aparece en los primeros períodos de lluvia. También considerará que las lluvias y el agua venteada son los más importantes medios de diseminación en áreas localizadas.

Maraite y Meyer, (14); dicen que al aislar la bacteria en medio de trifetil tetrazolium (TZC), después de seis días, las colonias lisas y redondeadas, de color rojo claro y de filos angostos presentaron

ocho milimetro de diámetro.

### 2.3. Establecimiento del patógeno en el hospedante.

Pereira y Zagato, (17) opinaron que las manchas foliares observadas en el campo, en su gran mayoría, deben ser ocasionadas por inoculaciones producidas por insectos vectores que diseminan la enfermedad, también verificaron la localización del CBB inicialmente en las hojas extendiéndose al peciolo y posteriormente a los tallos.

El centro Internacional de Agricultura Tropical y el Instituto Agronómico de Campinas Brasil (8), encontraron que al someter a temperaturas de 65°C por espacio de 60 minutos, los cortes de tallo de yuca maduros y viejos, el patógeno siguió actuando y mostró características similares a las encontradas en los cortes sintratar.

El Centro Internacional de Agricultura Tropical, ( 4 ); encontró que la traslocación del agente causal del añublo bacterial de la yuca, usando un mutante resistente, ocurre a través de los tejidos de xilema, y su movimiento parece estar relacionado con la susceptibilidad del cultivo y el contenido del agua en el suelo. También observaron que el patógeno invade el tejido vascular, necrosando y desintegrando el tejido parenquimatoso de la hoja y tallos jóvenes.

El mismo Centro Experimental realizó estudios sobre la supervivencia del añublo bacteriano en desechos de yuca y demostraron que esta especie bacteriana puede sobrevivir más de 7 meses en tallos necrosados almacenados a 24°C con una humedad relativa de 27 a 80 %.

En el Centro Internacional de Agricultura Tropical, (5) encontraron que el organismo invade y destruye primero el mesofilo esponjoso; y una vez que penetran al sistema vascular las células bacterianas se mueven rápidamente en forma sistémica a lo largo de la planta.

Lozano, (12) afirma que la bacteria puede sobrevivir por periodos largos en los haces vasculares de material vegetativo infectado - que externamente no presenta síntomas de la enfermedad y es el principal medio diseminante entre un área o un país y otro.

#### 2.4. Medidas de Control.

Lozano, (11) anota que el control por el uso de variedades resistente a la bacteria fué sugerido por Gonzalez, 1948; y han sido citados por Carneiro, 1940; Druman y Goncalvez, 1953; Pereira y Zagatto, 1967, numerosos cultivares resistentes.

Prada Zagatto y Lozano , 1972; citados por el Centro Internacional de Agricultura Tropical, (15) sugirieron tratamientos físicos tales como la exposición al aire caliente, micro-ondas y rayos ultra-

violetas induciendo que podrían ser métodos efectivos para la inactivación de bacterias en el material de plantas infectadas.

En estudios llevados a cabo por el programa de fitopatología del Instituto Colombiano Agropecuario, (6), no observaron infección alguna en semilla vegetativa lignificada cuando se sembró en el suelo artificialmente infestado.

El Centro Internacional de Agricultura Tropical y el Instituto Agronómico de Campinas Brasil, (8) al realizar tratamientos en canchales de yuca con agua caliente y micro-ondas dieron a conocer que éstos pueden ser lesivos tanto al huésped como al patógeno, durante periodos relativamente cortos de exposición.

Lozano y Zequeira, (10) en estudios sobre resistencia al CBB en algunas variedades de yuca en invernaderos, revelaron que existen tres posibles tipos de resistencia en diferentes cultivares como son: un tipo aparentemente de penetración limitada, otro tipo de invasión y establecimiento, sistémico limitado y el tercer tipo aparentemente basado en una respuesta hipersensitiva del huésped.

Lozano (11) dice que se puede retardar la dispersión de la enfermedad por poda de la porción mayor del punto donde ocurre la infección en las plantas; sin embargo, el buen éxito de este método depende de la susceptibilidad del cultivo y el intervalo entre la infección i-



nicial y la poda.

Lozano, (12) dice que una vez que la enfermedad aparece en una plantación, no es posible controlarla totalmente. Su dispersión puede retardarse arrancando las plantas enfermas, amontonando y quemando todo el material de yuca, despues de la cosecha, arando el terreno y/o rotando con cualquier otro cultivo con un período no inferior a seis meses.

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Obtención del Patógeno.

El aislamiento de la bacteria se hizo de plantas infectadas en el campo, de la siguiente manera:

- 1.) Se tomaron trocitos de hojas, con los síntomas característicos de la enfermedad;
- 2.) Se lavaron con agua destilada estéril;
- 3.) Luego de una solución de Hipoclorito de Sodio al 17 % durante un minuto;
- 4.) Inmediatamente despues se lavaron con agua destilada estéril para quitar el exceso de Hipoclorito de Sodio.

Desinfestados los trocitos de hojas se llevaron a un mortero, donde se maceraron con agua destilada esteril con el objeto de obtener una suspensión de la bacteria. Más tarde se realizaron diluciones de esta suspensión, mediante el siguiente método:

- 1) Se tomaron 4 cajas petri y en cada una se depositó una gota de agua destilada esteril;
- 2) Con una aguja en asa se tomó, de la suspensión bacteriana preparada, una asada y se depositó sobre la caja petri que contenía la primera gota dándole movimientos circulares con el fin de homogeni-

zarla;

3.) De esta caja se tomó una segunda asada y se depositó en la que contenía la segunda gota, en forma similar a los pasos anteriores se procedió con las que contenían la tercera y cuarta gota;

4) De cada una de las diluciones que se encontraban en las cajas petri se hicieron trazos en cajas que contenían respectivamente el medio de cultivo sugerido por Kelman (7) para este tipo de aislamiento, (10 g de Agar, 10 g de peptona, 10 g de glucosa, 0.005 % de trifenil tetrazolium, todo disuelto en 1.000 c.c. de agua destilada esteril.

El medio agar, destroza, pectona fue esterilizado a 15 libras de presión y 250°F (121°C) durante 15 minutos; mientras que el Tri-fenil-Tetrazolium debido a la carencia de filtros Zeitz en el laboratorio, se esterilizó de la siguiente manera: se sometieron a 15 libras de presión durante 15 minutos el recipiente y el agua destilada donde se iba a preparar el TzC una vez esterilizado se le adicionaba un gramo de TzC en caliente y se dejaba en el autoclave a temperatura de 100 °C durante 5 minutos, inmediatamente después con una pipeta previamente esterilizada se median 100 centímetros cúbicos de TzC y se le adicionaron al medio líquido Agar-Destroza-Pectona.

Los medios donde se hicieron las siembras de las suspensiones bacterianas, se sometieron a una incubadora a 28°C y se hacían obser-

vaciones diarias.

### 3.2. Prueba de Patogenicidad.

Las colonias bacterianas obtenidas de los trocitos de hojas de yuca mediante el método anteriormente expuesto, se purificaron mediante trazos sucesivos en cajas con medio selectivo, hasta obtener un crecimiento bacteriano totalmente puro, figura (4).

Aislada la bacteria, se procedió a su multiplicación en la incubadora a 28°C durante 48 horas. Pasado el período de incubación se hizo la inoculación de la bacteria en cangles de yuca con 10 días de germinación, en dos variedades susceptibles (Var. 10-70 y H-34) usando una suspensión bacteriana que contenía  $10^9$  celula/mililitro (10).

Los métodos de inoculación utilizados fueron los siguientes :

1.- Por Inyección. Se inocularon cuatro plantas en el pecíolo y nervaduras de las hojas, inyectándoles 3 c.c. de la suspensión bacteriana por medio de una jeringa hipodérmica.

2.- Por Aspersión. Se asperjaron mediante un atomizador cuatro plantas en la zona del follaje y tallo, después de hacer pequeñas heridas a las hojas con carborundum.

3.- Por incisiones en el tallo. Se inocularon cuatro plantas a las que previamente se les habían hecho incisiones en la



Fig. 4. Crecimiento bacteriano (CBB) en medio de cultivo específico que contiene trifluorotetrazolium.



zona proxima a los brotes y luego con un aplicador de algodón se depositó la suspensión bacteriana.

Las observaciones a las plantas se hacían diariamente, debido a que el umbráculo no disponía de un aparato que controlara la humedad relativa, las materas se mantenían siempre regadas y cubiertas con una capa de papel periódico que permanecía húmedo.

Además se llevó a cabo una prueba adicional que consistió en sembrar en materas seis cangles provenientes de plantas muy afectadas por la enfermedad, a fin de verificar a que número determinado de días se manifestaba la enfermedad.

### 3.3. Preparación del inóculo/inoculación. Tratamiento con agua caliente y siembra.

Comprobada la presencia real de la bacteria, mediante los síntomas presentados en las plantas de prueba, se procedió a obtener la cantidad de colonias bacterianas necesarias para la inoculación de los cangles a sembrar en el ensayo.

La inoculación se llevó a cabo de la siguiente manera :

1) De los crecimientos bacterianos que se tenían en reserva en una nevera a temperatura de más o menos 8°C, se hicieron trazos en 100 cajas petrí que contenían el medio específico y se llevaron a una

incubadora durante 48 horas a 28°C;

2) Obtenida esta población de bacterias, se hicieron raspes de cada una de las cajas con crecimiento y se llevaron éstos a un recipiente que contenía un determinado volumen de agua destilada estéril;

3) Esta suspensión se agitó por espacio de dos minutos y se procedió a realizar el conteo de número de célula bacteriana por mililitro mediante el método de técnica de dilución en platos citado por Pelczar (16), para ajustar el número requerido de células bacterianas capaz de producir infección citado por Lozano (10).

Antes de la inoculación se seleccionaron las cangles que reúnan las condiciones para una buena germinación y se procedió a inocularlos de la siguiente manera :

1) Se le hicieron cinco inscripciones en forma de "X" en la zona próxima a las yemas, tratando de no herirlas.

2) Una vez realizado este paso, se procedió a sumergir los cangles en la suspensión bacteriana durante 15 minutos.

3) Luego se colocaron en un sitio fresco donde se humedecían con la suspensión bacteriana se esperaron 24 horas con el fin de permitir el establecimiento del patógeno en los cangles.

4) Transcurrido este tiempo se procedió a realizar los tratamientos con agua caliente, para lo cual se tuvieron en cuenta las temperatu

ras y tiempos utilizados por el CIAT (5) en su ensayo sobre inactivación de virus, micoplasma y enfermedades bacterianas.

Los tratamientos se llevaron a cabo como a continuación se explica :

1) Se utilizó un equipo baño de maría con capacidad para 12 cangels; este equipo dispone de un bombillo indicador capaz de mantener la temperatura del agua constante y un termómetro que ajusta los grados de temperatura que se desean. Para determinar los tiempos se disponía de un cronómetro con timbre, el cual daba la señal inmediatamente pasaba el tiempo de cada uno de los tratamientos.

2) Se depositaba agua en el baño de maría, se ponía a funcionar y con el selector se calibraba la temperatura deseada.

3) Una vez fijados los grados de temperatura en el baño de maría, se sumergían los cangels durante el tiempo requerido para cada tratamiento.

Los tiempos y temperaturas utilizados en el ensayo se muestran en la tabla 1.

Se sembró a una distancia de 0,50 m entre plantas y 1 m. entre hileras con el fin de mantener una buena humedad ambiental en el cultivo. Se utilizó el diseño de block al azar con 10 tratamientos y 3 repeticiones.



Tabla 1.-

Tratamientos utilizados en el ensayo.

V A R I E D A D E S																			
INOCULADAS				SIN INOCULAR				INOCULADAS				SIN INOCULAR							
Temp.	Tiempos			Temp.	Tiempos			Temp.	Tiempos			Temp.	Tiempos						
°C	Minutos			°C	Minutos			°C	Minutos			°C	Minutos						
52	20	15	5	2	52	20	15	5	2	52	20	15	5	2	52	20	15	5	2
56	20	15	5	2	56	20	15	5	2	56	20	15	5	2	56	20	15	5	2

Antes de realizar la siembra se hizo una aplicación de urea incorporándola al suelo, con el fin de favorecer el buen desarrollo de las plantas y por ende el del patógeno. Las labores de deshierba se hacia de acuerdo a como lo exigiera el lote del ensayo, tratándo siempre de evitar desmalezar a raíz del suelo para evitar las pérdidas de humedad; únicamente se hicieron riego para la germinación de los cangles, de ahí en adelante se dejó a espensa de las condiciones del campo.

#### 3.4. Tomas de muestras en el lote del ensayo.

Después de diez días de la siembra se tomaron muestras de plantas a fin de verificar la presencia de la bacteria en los cangles, tratados.

Las muestras fueron llevadas al laboratorio de la Universidad Tecnológica del Magdalena, de éstas se tomaron pequeños trozos de tallos, los que se lavaron en agua destilada esteril, durante un minuto se pasaron por una solución al 17 % de Hipoclorito de Sodio e inmediatamente se lavó el exceso de Hipoclorito de Sodio con agua destilada esteril. Desinfestados los trocitos del tallo se depositaron en el interior de cajas petri que contenían el medio Agar-Dextroza-Peptona más TZC y se pusieron a crecer por espacio de 48 horas en una incubadora de 28°C.

### 3.5. Evaluación de síntomas.

Para determinar la capacidad infectiva de la bacteria se llevaron a cabo observaciones consecutivas en el lote del ensayo, la evaluación se realizó de acuerdo a la escala (0-4) utilizada por Castaño (2) y que se especifica así:

- |          |   |
|----------|---|
| Grado 0  | Planta aparentemente libre de infección.  |
| Grado 1  | Muy tolerante. Poca infección, cogollos practica - mente normales. Muy pocas hojas afectadas.   |
| Grado 2  | Tolerante. Leve infección en plantas jóvenes y es- casa alteración de los cogollos pero con recupera- ción notoria en plantas adultas.  |
| Grado 3  | Susceptible. Infección destacada acompañada d e alteración de los cogollos durante todo el ciclo ve- getativo de las plantas.   |
| Grado 4. | Muy susceptibles. Planta con fuertes exudaciones y presencia de cogollos deformados a manera de escobajos durante el ciclo vegetativo, marchitamien- to y secamiento drástico de la hoja. |

### 3.6. Registros de humedad relativa y precipita- ción.

Debido a la importancia que Lozano (9) hace con respecto a la humedad relativa y precipitación como factores importantes en el

desarrollo de la enfermedad, se tomaron los registros durante el tiempo del ensayo es decir, desde la siembra hasta las últimas evaluaciones (aproximadamente cuatro meses).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Obtención del Patógeno.

Las colonias obtenidas sobre el medio Agar-Dextroza-Peptona-TZC, presentaron una coloración rojiza (Fig. 4) que corresponde al color característico del CBB en este medio específico de cultivo, los crecimientos fueron abundantes, convexos elevados y de consistencia mucilaginosa. A las 24 horas de haberse hecho la siembra de la bacteria en mención se observaron los primeros crecimientos, los cuales se presentaron con mayor intensidad a las 48 horas de incubada.

Se observó además, en una forma muy leve un crecimiento cremoso, el que desapareció a medida que se hacía trazos en nuevas cajas petri para purificar la bacteria.

### 4.2. Prueba de patogenicidad.

Las plantas inoculadas presentaron síntomas a los doce y veinticinco días después de haber sido inoculadas, y estos fueron similares a los que presentaban las plantas de donde se aisló el patógeno. Los métodos de inoculación utilizados en la prueba de patogenicidad presentaron los siguientes resultados:

1. De las plantas inoculadas por inyección solamente dos presentaron síntomas de enfermedad, caracterizándose por unas goticas gomosas en el sitio donde se hicieron las punciones acompañadas de una flacidez y manchas oscuras en algunas de las hojas del follaje.

2. El segundo método utilizado (por aspersion) fue el que mostró mayor capacidad de infestación y se manifestaron síntomas en tres de las cuatro plantas inoculadas, en éstas los síntomas aparecieron en forma generalizada en el follaje y se acentuaban a medida que transcurían los días.

3. En el método de insiciones en el tallo, se observó que los síntomas se manifestaron más que todo en las insiciones hechas para la inoculación, en donde se observaba a manera de un exudado; además se notó una flacidez en el follaje. Cabe anotar que para este método los síntomas se manifestaron días después que aparecieron éstas en las otras plantas inoculadas por los dos métodos anteriores.

En cuanto a la prueba adicional se notó que ambas variedades mostraron ser susceptibles y manifestaron la enfermedad a los cinco días de ser observadas, lo que demuestra la agresividad del patógeno una vez que se encuentra establecido en el hospedante.

Los testigos tratados sin inóculo no presentaron síntomas y su desarrollo fue normal.

#### 4.3. Preparación del inóculo. Inoculación.

Tratamiento con agua caliente y siembra.

La suspensión obtenida a partir de los crecimientos bacterianos extraídos de 100 cajas petri disueltos en cinco litros de agua destilada dió una coloración rojiza, la que contenía  $10.5^9$  a  $11^9$  células bacterianas por mililitro; las insiciones hechas a los cangles para permitir la entrada del patógeno no afectó la germinación. Se observó que en los cangles tratados con agua caliente, la germinación disminuyó con respecto a los testigos. (Tabla 2)

Se observó además que la variedad 10-70 fué mas tolerante a los tratamientos con agua caliente, puesto que los % de germinación fueron mayor que en la variedad H-34, (Tabla 2).

#### 4.4. Toma de muestras en el lote del ensayo.

A las 48 horas de incuvas las muestras se observó un halo rojizo en cada una de las trocitos, siendo este halo más acentuado en las muestras correspondientes a los testigos; (Fig.6) en las muestras de plantas tomadas de cangles inoculados artificialmente tratados y sembrados no presentaron crecimiento. (figura 7)

El método de inoculación por aspersion fue el que mejor mani-

Tabla 2.- Porcentajes de germinación en cangles tratados con agua caliente.

		Temp. °C	Tiempos de	exposición (Minutos )			Testigo
			2	5	15	20	
Var. 10 - 70	Inoculadas	52	96.0*	94.0	95.0	86.6	98.0
		56	95.0	93.0	92.0	83.0	
	Sin Inocular	52	94.0	90.0	85.0	85.0	96.0
		56	90.0	80.0	84.0	82.0	
Var. H- 34	Inoculadas	52	89.0	88.0	85.0	78.0	94.6
		56	86.0	85.0	80.0	84.0	
	Sin Inocular	52	86.0	84.0	86.6	80.0	95.0
		56	86.0	85.0	85.0	80.0	

\* Porcentaje de germinación. Promedio de 3 replicaciones con 10 plantas cada una.



festó los síntomas en las plantas de prueba.

#### 4.5. Evaluación de síntomas.

Una vez germinado el cultivo se iniciaron las observaciones sin que se notara hasta el tiempo estipulado para el ensayo (4 meses) ningún síntoma capaz de identificarse con los síntomas inducidos por el CBB, agente causal de la bacteriosis de la yuca. (Tabla 3)

#### 4.6. Registros de humedad relativa y precipitación.

Los registros de humedad relativa y precipitación fueron suministrados por la Granja Caribia del Instituto Colombiano Agropecuario y se describen en las tablas 4 y 5 (Apendice), como se puede observar tanto la humedad relativa como la precipitación fueron bastante bajos.

En la figura 5 se aprecia el lote del ensayo dos meses después de verificado los tratamientos.- En la figura 6 se observan las pequeñas porciones de tallos puestas a crecer después de los tratamientos con agua caliente.- En la figura 7 se observan porciones de tallo las que no manifestaron síntomas de la enfermedad.

Tabla 3.-

Evaluación de síntomas para cada uno de los tratamientos.

	Temp. ° C	Evaluación de síntomas para cada uno de los tratamientos (promedio de diez observac. Tiempo de Tratamiento.					Testigo
		2	5	15	20		
Var. 10 - 70	Inoculadas	52	0 *	0	0	0	0
		56	0	0	0	0	0
	Sin Inocular	52	0	0	0	0	0
		56	0	0	0	0	0
Var H - 34	Inoculadas	52	0	0	0	0	0
		56	0	0	0	0	0
	Sin Inocular	52	0	0	0	0	0
		56	0	0	0	0	0

\* Grado de infección. Promedio de 3 replicaciones con 10 plantas cada uno.

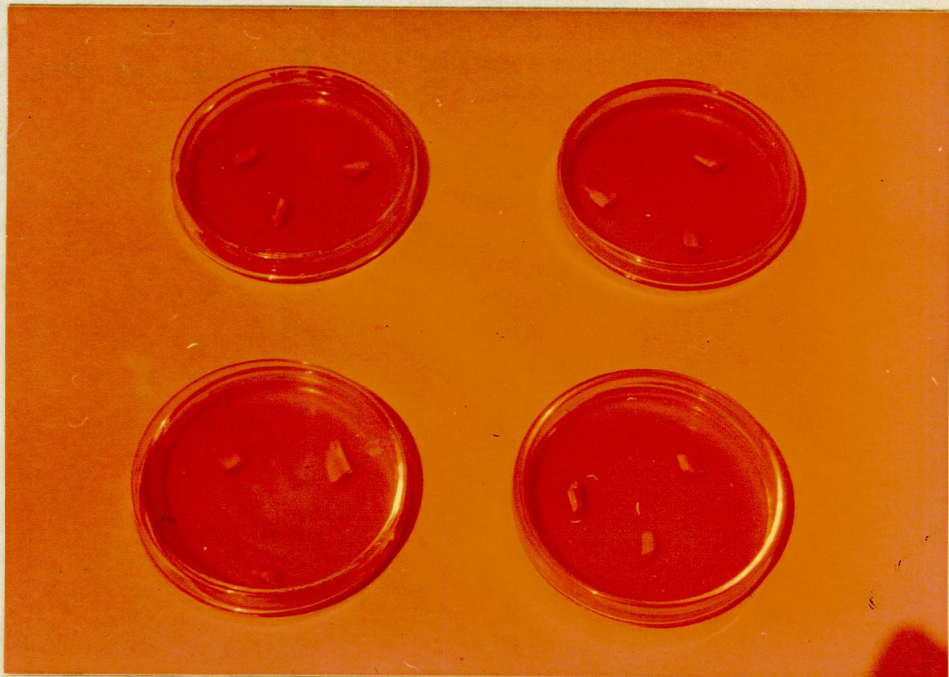


**Fig. 5. Aspecto del lote del ensayo dos meses despues de verificados los tratamientos.**



**Fig. 6.** Pequeñas porciones de tallos de yuca puestas a crecer después de los tratamientos con agua caliente.





**Fig. 7. Pequeñas porciones de tallos de yuca puestas a crecer después de los tratamientos con agua caliente.**

## 5. DISCUSION

### 5.1. Obtención del Patógeno.

Las colonias obtenidas sobre el medio Agar Nutritivo TZC presentaron características morfológicas similares a las obtenidas por Lozano (9) sobre el mismo medio. Esto demuestra que es bastante probable que los crecimientos obtenidos, corresponde a la especie estudiada por Lozano, ya que el anota que los aislamientos en diferentes áreas de Colombia, Brasil y Venezuela mostraron idénticas características de colonias.

La presencia en el ensayo de dos diferentes tipos de coloración en las colonias aisladas, uno púrpura y otro cremoso, corrobora lo que Castaño (2), cuando él acusa en sus aislamientos la presencia de dos tipos de colonias de coloración púrpura y cremosa en el mismo medio ( AGAR NUTRITIVO-TZC ) y dice además que los aislamientos color púrpura mucoide brillantes corresponden a los síntomas asociados con la mancha o quemazón de una porción de la hoja, y las colonias cremosas las relaciona con obstrucción vascular de los tallos y fuerte exudación vascular de látex contaminado. Este tipo de colonias posiblemente desaparecieron por la poca capacidad competitiva de estas colonias con relación a las colonias púrpuras, las que se encontraban en mayor cantidad de superficie por centímetro

cuadrado. La escasa presencia de las colonias cremosas en el medio de cultivo se debió seguramente a que como dice Castaño (2) estas se encuentran en los haces vasculares del tallo, y las muestras para el aislamiento de patógeno en este trabajo se tomaron de porciones del follaje.

### 5.2. Prueba de patogenicidad.

Los síntomas encontrados en las plantas inoculadas demostraron la patogenicidad del CBB, lo cual concuerda con Castaño (2) quien señala que la bacteria aislada al estado puro e inoculada en cangres de yuca sanos, reprodujo exactamente los síntomas que, en forma natural, suelen presentar las plantas enfermas en el campo.

El número de días transcurridos entre la inoculación y la aparición de los síntomas correspondió aproximadamente a los mismos encontrados por Pereira y Zagatto (17) y Lozano (10) en sus estudios sobre prueba de patogenicidad con el mismo agente causal (CBB). Los síntomas expuestos por estos autores son similares a los encontrados en este ensayo, cuyas características son: lesiones acuosas de las hojas y exudación de goma en diversos puntos.

En todos los métodos de inoculación el patógeno mostró gran poder infectante siempre y cuando se mantuvieran las plantas de prueba en condiciones de humedad relativa alta. Se hace mención de este fac

tor por la importancia que reviste en la infectividad, ya que las pruebas de patogenicidad llevadas a cabo en ausencia de alta humedad relativa no mostraron síntomas.

Cabe anotar que las plantas inoculadas por insiciones en el tallo, en la zona próxima a las yemas, manifestaron síntomas en el follaje días después que las plantas inoculadas por los otros métodos, debido posiblemente a que la adaptación del patógeno en el sitio de la inoculación le es físicamente más desfavorable, que si se colocara el patógeno en la zona del follaje. Además, el paso del patógeno del sitio de inoculación al follaje retarda la aparición de los síntomas.

En cuanto a este método de inoculación cabe anotar que en estudios realizados por Lozano (10) bajo condiciones de invernadero, los síntomas se manifestaron en el follaje a los 20 días, mientras que en ensayos hechos por Pereira y Zagato (17) éstos se manifestaron únicamente en el sitio de inoculación.

De los métodos de inoculación utilizados, el que mejor resultados dió fue el de aspersión al follaje, debido posiblemente a que como dice Lozano (10), el CBB se multiplica dentro de la cavidad estomática, invadiendo los tejidos esponjosos del mesofilo.

### 5.3. Preparación del inóculo. Inoculación.



### Tratamiento con agua caliente y siembra.

Debido a la escasez de literatura con respecto a la inoculación hecha a los cangles de yuca antes de la siembra ésta se hizo en una forma convencional, creyendose que éste fué un factor desfavorable en los resultados obtenidos en la prueba de campo, que la bacteria inoculada por este medio no manifestó los síntomas de la enfermedad en las hojas.

Las incisiones hechas en la zona próxima a las yemas no afectaron la germinación, pues las observaciones indican que su porcentaje fue muy parecido a las plantas testigos.

Los porcentajes de germinación obtenidos, después de tratadas las plantas con agua caliente al compararlos con los testigos, se observó que en los cangles tratados el porcentaje disminuyó en algunos tratamientos; sin embargo estos no estuvieron por debajo del 80 %. La variedad de yuca H-34 mostró ser más susceptible a los tratamientos con agua caliente que la variedad 10-70, debido quizás a que la variedad 10-70 posee una mayor resistencia en los tejidos de la corteza y por lo tanto esto sirve de defensa a las yemas, por la no fácil penetración del calor.

#### 5.4. Toma de muestras en el lote del ensayo.

Al presentarse un crecimiento de color rojizo al rede-

dor de los trocitos de tallo tomados de plantas enfermas del campo y tratadas, demostró claramente que el patógeno aún subsistía en el interior de los cangres de las variedades tratadas. Lo que confirma un ensayo llevado a cabo entre el Centro Internacional de Agricultura Tropical y el Instituto Agronómico de Campina, Brasil (8), quienes además sugirieron que el tratamiento no fué efectivo para el control de ciertos patógenos en material de siembra.

No se presentaron crecimientos en las muestras tomadas de plantas inoculadas con la suspensión bacteriana debido posiblemente a diferentes factores que no permitieron el establecimiento del patógeno, en los que se cuentan, la acción del agua caliente directamente en los sitios donde se encontraba el patógeno, ejerciendo sobre este una acción inhibitoria o efectuando simplemente un lavado de esta. Otro de los posibles factores que incidieron en la ausencia de crecimientos en las muestras de plantas inoculadas pudo ser el tiempo empleado en la inoculación, el cual debido a la escasez de información con respecto a este método de inoculación se fijó en un tiempo arbitrario el que quizás no fué el requerido para la adaptación y penetración del patógeno en los cangres de yuca.

#### 5.5. Evaluación de Síntomas.

La presencia del patógeno en las muestras tomadas de

las plantas de yuca después de tratadas, indica la ineficacia de este control en las variedades utilizadas, sin embargo, la enfermedad no mostró síntomas en el follaje, si no que permaneció en el interior de los cangles, lo que es confirmado por Lozano (10) cuando dice que la bacteria puede sobrevivir por períodos largos en los haces vasculares de material vegetativo procedente de plantas enfermas.

Lozano (8) cita que en estudios realizados por el CIAT y el I. A. de Campina, Brasil, consideraron que los tratamientos de agua caliente a la semilla vegetativa fueron negativos, debido a que tanto la estructura de la madera del cangle y la producción de polizacaridos por el CBB juegan un papel importante en la prevención de la transmisión del calor por todos los tejidos del corte.

El sitio donde se llevó a cabo el ensayo, se encontraba practicamente aislado. Si se considera el lote de yuca más cercano a éste, se encontraba a unos 30 m y en dirección contraria a la del viento, lo que no permitía reinfección de las plantas del ensayo por parte de los lotes de yuca adyacentes, esto puede dar una idea del por qué la no presencia de los síntomas de la enfermedad en las hojas, a lo cual se le suma las condiciones ambientales adversas de la zona en el tiempo en que se llevó a cabo el ensayo.

#### 5.6. Registros de humedad relativa y precipitación.

En los ensayos de inoculación que se han llevado a cabo para probar la patogenicidad del CBB, se ha requerido mantener siempre las plantas inoculadas a una humedad relativa por encima del 80 % a fin de que se manifiesten los síntomas. Esto destaca la importancia que tiene la humedad relativa en la buena ejecución de cualquier ensayo, con respecto a este patógeno. En la Tabla 5 del apéndice al analizar los datos allí consignados se nota que el porcentaje de humedad relativa fue totalmente desfavorable para el desarrollo de la enfermedad en el campo, lo que tal vez, no permitió que se observaran síntomas en el follaje, sino que estos se quedaron enmascarados en el interior de los cangiles.

En cuanto a la precipitación Lozano (10) dice que durante los períodos secos la enfermedad puede retardar por la poca contaminación de bacteria en los exudados de goma, sin embargo ésta queda viable en la planta y aparece en los primeros períodos de lluvia.

Analizando los resultados que se observan en las tablas 4 y 5 del apéndice pone en claro que la humedad relativa y la precipitación son los factores que más han influido en la no presencia de la enfermedad en el follaje. Esto permite anotar que la insidencia de la enfermedad está en relación directa con respecto a la humedad relativa y precipitación.

## 6. CONCLUSIONES

1. El método de inoculación que mejor resultado dió en la prueba de patogenicidad fué el de aspersión al follaje.
2. Los tratamientos de agua caliente fueron ineficaces para el control del CBB en las variedades de yuca 10 - 70 y H-34.
3. Los grados de temperatura y tiempos utilizados en el ensayo afectaron muy poco la germinación de las variedades utilizadas.
4. Las condiciones ambientales, como la humedad relativa y precipitación juegan un papel importante en la aparición de síntomas en el follaje.

## 7. RESUMEN

Los cultivos de yuca de la zona bananera, están siendo afectados por una bacteriosis cuyo daño causa pérdidas económicas considerables en este cultivo, lo que ha obligado a la búsqueda de medidas de control eficaces y económicas al agricultor, hecho por el cual se pensó en el presente ensayo en noviembre de 1.975.

El objetivo de este estudio, se basó en probar el efecto que pudiera tener el tratamiento de estacas de yuca afectadas por el CBB (Casava Blight Bacterium), mediante la utilización de dos tratamientos térmicos y cuatro tiempos de exposición a dichas temperaturas.

El ensayo se realizó en coordinación entre la Universidad Tecnológica del Magdalena, Facultad de Agronomía y la Granja Experimental Caribia del Instituto Colombiano Agropecuario (Sevilla - Magdalena). El tiempo aproximado del trabajo fué de 11 meses.

Se inició el ensayo con el aislamiento del patógeno de hojas de plantas enfermas y luego se llevó a cabo la prueba de patogenicidad. Comprobada la patogenicidad de la bacteria se procedió al corte de cañales de yuca de dos variedades (10 - 70 y H-34), los que se tomaron de plantas enfermas y sanas, a éstos últimos se inoculó la bacteria aislada mediante frotos con un aplicador de algodón humede

cido en la suspensión bacteriana. Antes de realizar la siembra se trataron los cangles, sumergiéndolos en agua caliente en dos temperaturas (52°C y 56 ° C) y cuatro tiempos (2, 5, 10, 20 minutos).

Las evaluaciones se hacían en las hojas inmediatamente después de germinado el cultivo y se valoraban de acuerdo a una escala ya establecida, que iba de 0 a 4 grados de infectividad. Días después de la germinación se tomaron trocitos de tallos y se depositaron en cajas petri que contenían un medio de cultivo (Agar-nutritivo-TZC), en donde creció el patógeno, lo que demostró la ineficacia en los tratamientos. La humedad relativa y precipitación mostraron jugar un papel importante en el desarrollo de la enfermedad.



## S U M M A R Y

The casava plant, in the Zona Bananera, (Magdalena Valley). Had being affected by bacteriar which had conduced the cassava grower to great economic ruins, that had canalized the res earch of methods to protect the plant. Only for that wo startea on the present study the objetive was main by hased show what kud of tre atement could have the plant affected by the Cassava Blight Bac- terium taking two thermic treatement and four time the same temperature exposition.

We began by putting appart leaves of cassava plant that were showing such affection on then we started on the pathogenicity probe. When it was concludec we put apart stem of two cassava variety (10 -70 and H-34 ) which wer non-affected- and affected. The first one was inoculated by smear, with a infected cotton aply er. But before the stem wer inmersed in hot water with two dif- ferent temperatures (52°C - 56°C) during four times (2' 5' 10" and 20 minutes ) after the normal grow we took sample of the lea- ves to gwe a volue based in a stablishea parameter that went fron 0 grade to 4 infectivity grades.

Day before of the germination plan stem samples were placed in petri dishes conteming a cultive medium (nutritive Agar TZC)



wher the Cassava Blight Bacterium growed and showed out pretty low or none results of the method.

The relative humidity and the rain precipitation ware the main factors in such bacteria affection.

## BIBLIOGRAFIA

1. BRADBURY, J. F., "Bacterial Disease of Cassava" PANS 21:44 marzo 1.975.
2. CASTAÑO, J. J. "Marchitez Bacterial de la yuca (Manihot Utilisima p o h c ") Revista de la Facultad Nacional de Agronomía. Medellín 27 (1) 43-55. 1.972.
3. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Informe anual 1.972. Cali, 1.972 216 p.
4. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL Informe anual 1.973. Cali, 1.973. 284 p.
5. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Informe anual 1.974. 286 p.
6. COLOMBIA INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. Programa de Fitopatología del I.C.A. 1.971 (Informe anual).
7. KELMAN, A "The Relationship of Pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium". Phitopathology 44: 693 - 695. 1.954.
8. LOZANO, J.C. Proyecto cooperativo entre el Centro Internacional de Agricultura Tropical y el Instituto Agropecuario de Campinas, Brasil. Cali Ciat 1.971 52 p.

9. LOZANO, J.C. and L. SEQUEIRA. "Bacterial blight of Cassava in Colombia: I. Etiology". Phitopathology 64: 83 - 88. 1974.
10. \_\_\_\_\_. "Bacterial blight of Cassava in Colombia: Epidemiology y control" Phitopatology 64: 83-88. 1.974.
11. \_\_\_\_\_. "Bacterial Blight of Cassava" PANS 21 : 38-43 1975.
12. LOZANO, J.C. Añublo Bacterial de la yuca Cali, Centro Internacional de Agricultura Tropical, enero 1.975-12 p.(serie ES. N.8 ).
13. \_\_\_\_\_. R. H. Booth enfermedades dela yuca. Cali, Centro Internacional de Agricultrua Tropical. Septiembre 1975. 47 p. ( Serie DS - 5 ).
14. MARAITE, H. And J.A. Meyer. "Xanthomonas manihotis (Arthuud - Berthet ) Starr, causal Agent of Bacterial Wilt Bligh and leaf apots of cassava in Zaire". PANS 24 : 27 - 37 1.975.
15. MINISTERIO DE AGRICULTURA PROGRAMAS AGRICOLAS 1976 - 217 p.
16. PELCZAR, M. J. , Jr. Manual de micro biología New York, Mc Craw-Hill, 1.957 315 p.
17. PEREIRA, A. L.G. Zagatto. "Etiología de Nancha angularna folha da manbioca (Manihot Utilissima) arq. Inst. Biol. Sao Paulo, 34: 153 - 160 1.967.

A P E N D I C E

TABLA 4. Precipitación MEDIA DIARIA (m.m) Comprendida entre Diciembre 1975 a Mayo de 1.976.

MES	DIAS																														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
DICIEMBRE	0,2	0,0	0,1	1,0	1,0	1,0	0,3	2,8	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ENERO	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
FEBRERO	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MARZO	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ABRIL	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	11,7	0,0	0,4	0,0	0,0	0,3	0,0
MAYO	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,6	0,0	0,0	0,0	0,5	5,0	0,0	8,0	1,5	0,0	0,0	9,0	0,0	0,0

TABLA 5. HUMEDAD RELATIVA MEDIA DIARIA (%) COMPRENDIDA ENTRE DICIEMBRE 1. 1975  
A MAYO 1. 1976.

MES	DÍAS																														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
DICIEMBRE	23.4	24.6	24.6	22.9	22.9	23.0	22.2	25.3	23.7	25.5	26.0	25.7	24.5	25.2	24.1	21.8	24.1	24.9	25.8	25.0	24.2	23.9	25.3	23.9	25.6	25.3	26.2	26.0	24.0	24.3	24.1
ENERO	24.0	24.4	24.1	25.0	24.6	25.2	25.2	24.4	24.8	25.2	24.8	24.8	25.0	24.9	25.6	24.8	24.3	24.2	24.8	25.2	24.9	24.8	25.0	25.3	25.6	24.0	25.6	25.2	23.6	24.0	24.6
FEBRERO	25.5	24.3	25.5	26.0	25.3	24.2	24.0	25.6	25.5	25.6	24.9	24.9	26.0	25.0	25.2	23.0	24.8	25.5	24.5	25.8	25.8	25.0	24.8	25.6	23.6	23.9	24.9	25.3	25.6		
MARZO	25.3	26.6	26.9	23.9	24.7	24.8	24.6	24.9	27.2	25.0	24.3	24.3	25.2	24.8	25.0	25.6	24.3	25.4	23.8	24.8	25.6	24.9	24.2	24.6	25.6	25.6	25.0	23.0	25.2	25.2	23.2
ABRIL	24.4	24.3	23.6	24.3	24.8	23.5	25.8	25.0	23.4	24.2	25.2	24.8	25.8	24.0	25.6	25.8	25.6	24.6	25.0	26.4	24.2	25.8	24.8	24.8	23.9	24.0	25.6	25.0	25.3	25.3	
MAYO	22.8	25.8	24.6	25.4	25.6	25.6	26.0	25.4	25.6	25.7	25.0	25.9	25.2	25.0	23.2	22.4	23.2	24.3	25.1	26.2	25.5	24.3	25.7	25.0	24.3	25.5	25.2	23.8	23.8	23.8	23.4