

Fusarium tabacinum: AGENTE CAUSANTE DE UNA
PUDRICION DEL FRUTO DEL CARDAMOMO (Elettaria
cardamomum)

BIBLIOTECA
DE LA
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRICOLAS

Fusarium tabacinum: AGENTE CAUSANTE DE UNA
PUDRICION DEL FRUTO DEL CARDAMOMO (Elettaria
cardamomum)

MARIA DEL ROSARIO SAENZ GOMEZ

Trabajo de investigación presentado para optar el título
de Ingeniero Agrónomo en el grado académico de Licenciado
en Ciencias Agrícolas

Guatemala

1986

a mi padre

AGRADECIMIENTO

A las siguientes personas e instituciones:

Universidad del Valle de Guatemala

Asociación de Productores de Cardamomo

Biosystematics Research Institute, Ottawa, Canadá

Ing. Marco A. Arévalo

Dr. John Bissett

Ing. Oscar Bonilla

Ing. Adolfo Boppel

Rigoberto Castañeda

Lic. María José González

Rolando Mejía

Peter Rockstroh

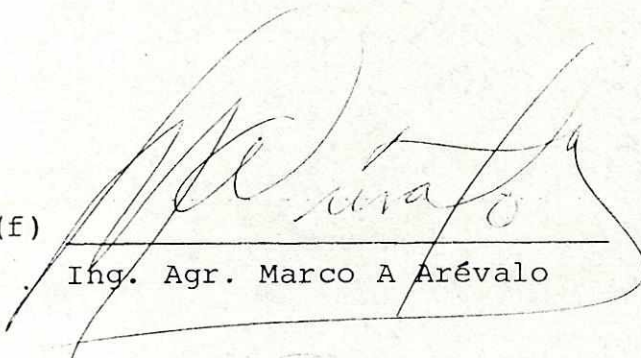
Margarita de Sáenz

Alfonso Sáenz

Ana Margarita Sáenz

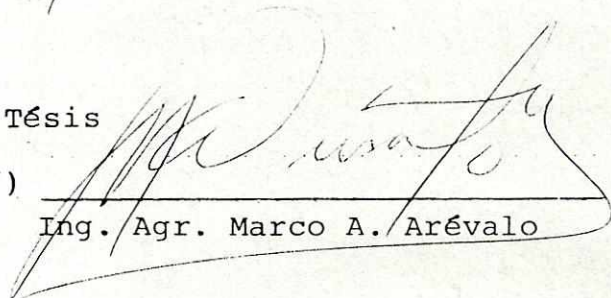
Vo. Bo.:

(f)

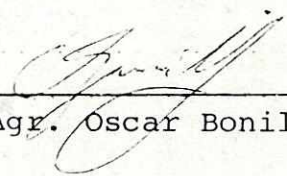

Ing. Agr. Marco A Arévalo

Comité de Tesis

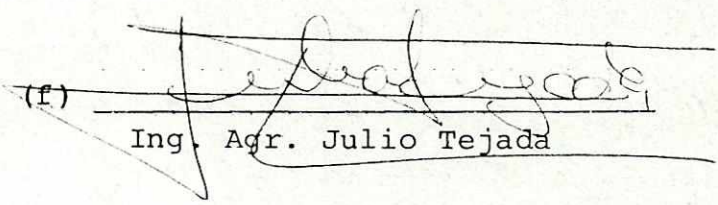
(f)


Ing. Agr. Marco A. Arévalo

(f)


Ing. Agr. Oscar Bonilla

(f)


Ing. Agr. Julio Tejada

Fecha de aprobación: 12 de nov. de 1986

CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
A. Cardamomo (<u>Elettaria cardamomum</u>)	3
1. Características botánicas	3
2. Floración	7
3. Cosecha	7
4. Ecología	8
5. Enfermedades	9
6. Plagas	11
7. Utilización	12
8. Mercado	12
9. Importancia económica	13
B. <u>Fusarium tabacinum</u>	15
1. Sistemática	15
2. Descripción	17
3. Ecología	21
4. Síntomas de enfermedades y pruebas de patogenicidad	22
III. MATERIALES Y METODOS	25
A. Primer postulado de Koch: Asociación	25
1. Recolección de material enfermo	25
2. Preparación de medios de cultivo	26
3. Selección de material enfermo	27

	Página
4. Desinfección de material enfermo	28
5. Siembra del material en los medios de cultivo	28
6. Incubación	28
7. Observación de hongos obtenidos	28
B. Segundo postulado de Koch: Aislamiento	29
1. Obtención de cultivos puros a partir de puntas de hifa o de esporas	29
C. Tercer postulado de Koch: Incubación	30
1. Preparación de material a inocular	30
2. Obtención del inóculo	30
3. Métodos de inoculación utilizados	31
4. Diseños experimentales	32
5. Pruebas estadísticas	37
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	38
A. Cultivos realizados y aislamiento del patógeno.	38
B. Inoculación y reaislamiento	43
1. Diseño de bloques completos al azar	43
2. Diseño de parcelas totalmente al azar	58
V. CONCLUSIONES	69
VI. LITERATURA CITADA	70

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Area cultivada, producción, rendimiento, cantidad exportada y precio de exportación del cardamomo en Guatemala del año 1972 al año 1986.	14
2	Distribución de cajas de Petri en el diseño de bloques completos al azar.	36
3	Distribución de cajas de Petri en el diseño de parcelas totalmente al azar.	36
4	Especies de hongos encontradas por cultivo en un total de 28 cultivos de frutos de cardamomo enfermos	39
5	Frecuencia y porcentaje de aparición de ocho especies de hongos en 28 cultivos examinados de frutos de cardamomo enfermos.	42
6	Número de frutos con síntomas de la enfermedad en el diseño de bloques completos al azar por caja de Petri a cuatro intervalos de tiempo de ser inoculados.	43
7	Promedio de frutos con síntomas del control y grupos experimentales a cuatro intervalos de tiempo después de inoculados en el diseño de bloques completos al azar.	44

8. Ecuación de la recta y coeficiente de regresión del control y los grupos experimentales de la Figura 3. 46
9. Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 48 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar. 48
10. Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 72 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar. 48
11. Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 108 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar. 49
12. Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 132 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar. 49
13. Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos

- grupos experimentales después de 28 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar. 51
- 14 Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 72 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar. 51
- 15 Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 108 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar. 52
- 16 Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 132 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar. 52
- 17 Especies de hongos encontrados por parcela (caja de Petri) al reaislar el patógeno de los frutos con presencia de síntomas de la enfermedad en el diseño de parcelas de bloques completos al azar. 53
- 18 Número de frutos con síntomas de la enfermedad en el diseño de parcelas totalmente al azar por caja de Petri a cuatro intervalos de tiempo después de inoculados. 60

- 19 Promedio de frutos con síntomas del control y grupos experimentales a cuatro intervalos de tiempo después de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar. 61
- 20 Ecuación de la recta y coeficiente de regresión del control y los grupos experimentales de la figura. 63
- 21 Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 48 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar. 64
- 22 Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 72 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar. 64
- 23 Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 108 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar. 65
- 24 Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 132 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar. 65

- 25 Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 48 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar. 66
- 26 Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 72 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar. 66
- 27 Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 108 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar. 67
- 28 Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 132 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar. 67

29. Especies de hongos encontrados por parcela (caja de Petri) al reaislar el patógeno de los frutos con presencia de síntomas de la enfermedad en el diseño de parcelas totalmente al azar.

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Cámara de inoculación con vaporizador	33
2	Caja plástica utilizada como cámara de inoculación. Los círculos representan las cajas de Petri y los números las posiciones para colocarlas. El primer y segundo número corresponden a las cajas en el primer y segundo nivel respectivamente.	35
3	Promedio de número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales a diferentes tiempos de inoculados en el diseño de bloques completos al azar.	45
4	Promedio del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales a diferentes tiempos después de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar.	62

RESUMEN

Se ha reportado en Guatemala una pudrición de los frutos de cardamomo que se inicia con la aparición de pequeñas manchas amarillo-verde (poco visibles) en cualquier área y edad del fruto. Las manchas crecen y el fruto pierde consistencia tornándose necrótico en la última fase. Los frutos enfermos aparecen al azar en las panículas. El objetivo de este trabajo es identificar el agente causante de esta enfermedad.

La metodología se basa en los postulados de Koch. Se realizaron cultivos en agar de agua y a los cinco días se encontraron ocho especies de hongos, predominando Fusarium tabacinum. Se obtuvieron cultivos puros de esta especie a partir de puntas de hifa y de esporas.

Se preparó un inóculo con una concentración de 1.2×10^4 conidias/ml. Un total de 192 frutos fueron distribuidos en 24 cajas de Petri (parcelas). Ocho parcelas se inocularon por punción de los frutos, ocho por frotación y ocho constituyeron el control. Cuatro parcelas de cada grupo experimental se evaluaron por un diseño de bloques completos al azar y las restantes por un diseño de parcelas totalmente al azar. Se efectuaron conteos de los frutos con presencia de síntomas de la pudrición a las 48, 72, 108 y 132 horas de haberse inoculado los frutos.

Los resultados se sometieron a análisis de varianza y a comparación de medias por el método de Duncan. En los dos diseños experimentales la inoculación por punción superó en número de frutos con síntomas a la inoculación por frotación y al control con un índice de confiabilidad del 95%. Al realizarse un reaislamiento de los frutos con presencia de síntomas se encontró Fusarium tabacinum en los frutos inoculados y otros hongos en los del control.

Se concluyó que Fusarium tabacinum es el agente causante de la pudrición del fruto en estudio y que al inocular conidias de F. tabacinum por punción se obtiene una producción de síntomas más rápidamente que por frotación.

I. INTRODUCCION

Las pudriciones de los frutos del cardamomo provocan una disminución en la cantidad y calidad de las cosechas. Se ha detectado en algunos puntos de la costa sur de Guatemala la presencia de una pudrición que se inicia por la aparición de pequeñas manchas amarillo-verde suave (poco visibles) en cualquier área y a cualquier edad del fruto. Más tarde, las manchas crecen y se tornan de color amarillo-pardo y el fruto pierde consistencia. En la última fase el fruto se necrosa. Los frutos enfermos aparecen al azar en las panículas. El daño económico no se ha estimado todavía pero ya se empiezan a tomar medidas de control utilizando fungicidas al sospecharse que se trata de un ataque de tipo micótico.

Identificar al agente causante de una enfermedad es básico cuando se desea encontrar información sobre el comportamiento de la enfermedad, medidas de control adecuadas y eficientes, etc. Al identificarlo se hace posible la consulta de publicaciones para conocer que medidas de control se utilizan para esa especie o especies relacionadas en otros cultivos, lo que sirve de base para desarrollar pruebas para crear un plan de manejo del problema. Por estas razones se decidió realizar un estudio con el objetivo de identificar al agente causante de esta enfermedad.

En base a la sintomatología se planteó la siguiente hipótesis: El agente causante de la pudrición del fruto descrita es un hongo.

II. REVISION DE LITERATURA

A continuación se hace una revisión literaria de los dos organismos involucrados en esta investigación.

A. CARDAMOMO (ELETTARIA CARDAMOMUM)

El cardamomo es un cultivo originario de India meridional introducido en Guatemala por el departamento de Alta Verapaz entre los años 1912 y 1920. Su cultivo se expandió por la costa sur-occidental del país, principalmente a los departamentos de Quetzaltenango, Sololá y Suchitepequez (17, 23). Actualmente se cultiva en gran escala en India, Sri Lanka y Guatemala (11,31).

1. Características Botánicas

a. Descripción

El cardamomo es una planta perenne, herbácea, de 2 a 6 m de altura (27,28). Posee rizomas subterráneos ramificados, algo leñosos, horizontales y con raíces en las capas superficiales. De los rizomas salen de 10 a 20 brotes foliares de 2 a 5 m de alto (27, 28, 30). Los brotes foliares están compuestos de láminas foliares lanceoladas, con nervaduras paralelas a lo largo de la lámina foliar y están colocadas de forma alterna (3, 27,28, 30). Son de 25-90 cm de largo y de 5-15 cm de ancho, de color verde oscuro (28). En el haz su textura es lisa y

el envés es algunas veces pubescente. Su peciolo es corto (27).

Las inflorescencias (panículas) salen del rizoma en la base de un brote foliar. Son de 60-90 cm de largo, erectas o decumbentes (27,28,29,30). Las flores son pequeñas y están arregladas en racimos siendo sus corolas tubulares (30). Son hermafroditas y zigomórficas (3,28,30). Están compuestas de tres sépalos y tres pétalos (3). Los pétalos son de color blanco a verde pálido (3,29) y miden 4 cm de largo y 1.7 cm de ancho aproximadamente (28). Tres estambres fusionados forman un lãbelo que es de color blanco con rayas violetas que radian del centro (3,4,28,29).

El fruto es una cápsula indehiscente, de color verde y fusiforme. La cápsula es trilocular, de forma globosa, variando en tamaño según la variedad. Contiene de 15-20 semillas pardo oscuro, angulosas, duras, de forma irregular y de unos tres mm de largo. Las semillas se encuentran dispuestas en tres celdas envueltas en una membrana incolora llamada arilo. Su sabor y olor es muy aromático y característico (3,28,29).

Las cápsulas, según Baruch, et al. y Bernhard, et al., citados por Samayoa y Suehand (30) contienen los siguientes constituyentes químicos: agua (20%), proteínas (10%), lípidos (2%), carbohidratos (42%) y cenizas (6%). Las

propiedades aromáticas de la semilla se derivan de su aceite volátil que constituye de un 2 hasta un 8% de su contenido de materia.

b. Sistemática

Cronquist (12) sitúa al cardamomo bajo los siguientes grupos taxonómicos:

Reino	Plantae
División	Magnoliopsida
Clase	Liliopsida
Subclase	Zingiberidae
Orden	Zingiberales
Familia	Zingiberaceae
Género	<u>Elettaria</u>
Especie	E. <u>cardamomum</u> Maton

Existe confusión con respecto a la diferenciación de variedades, razas y tipos de E. cardamomum. Las variedades y razas son interfértiles lo que aumenta la confusión (27,28). Existen dos variedades reconocidas botánicamente:

1. Var. major Thwaites

Es el cardamomo silvestre de Sri Lanka, se encuentra en bosques húmedos y es ocasionalmente cultivado. Se le conoce como variedad Ceylan. Es una planta robusta, de unos tres m de altura, con pseudotallos algo rosados,

hojas anchas y panículas erectas de 60 a 90 cm de largo. El fruto es de 2.5 a 5 cm de largo, ligeramente arqueado, amarillo-verde cuando madura y pardo oscuro cuando se seca. Sus semillas son más grandes y numerosas que la siguiente variedad pero no son tan aromáticas y consecuentemente son de menor valor comercial (27,28,30).

2. Var. cardamomum (sin. var. minor Watt; var. minuscula Burkill)

Esta variedad incluye la mayoría de las razas cultivadas. La altura de las plantas varía de 2.5 a 5 m. La panícula es larga con más flores que la anterior variedad y puede ser arqueada, erecta o decumbente. El fruto mide de uno a dos cm de largo. Las principales razas son Malabar y Mysore (27,28,30).

a. Malabar

Las plantas rara vez exceden los tres m de altura. Sus hojas son de 30 a 45 cm de largo y brotes foliares cortos. Las hojas son pubescentes en el envés y lisas en el haz. La planta y sus frutos son mayores que los de la raza Mysore. El hábito de crecimiento de las panículas es horizontal, siendo de 60-90 cm de largo. Los frutos son pequeños, globosos, redondeados u ovoides. Esta raza es susceptible a la enfermedad producida por el virus del mosaico del cardamomo (VMCAR) (27,28).

b. Mysore

Son plantas vigorosas y crecen más de tres m de altura, llegando hasta los seis m. El envés de las hojas, a diferencia de la raza Malabar, no es pubescente. Las panículas crecen erectas o arqueadas por lo que los frutos tienen menor riesgo de daño al entrar en contacto con el suelo y su cosecha es más fácil (27,28,30). Se considera más adecuada para elevaciones grandes que la variedad Malabar. Se comporta bien en un rango amplio de condiciones y no es muy susceptible a la sequía. Es adecuada para plantaciones extensivas. Muestra alguna resistencia al VMCAR (27).

2. Floración y Polinización

Se dice que las flores son autoestériles por eso es necesario intercalar diferentes clones (27). Las flores abren de la base de la panícula para la punta por un período largo de tiempo. Son polinizadas por abejas lo que hace posible la polinización cruzada (11,27). Los brotes florales requieren alrededor de 31 días desde su inicio hasta su abertura y el desarrollo de las cápsulas dura 110 días aproximadamente (27).

3. Cosecha

Los frutos se cosechan cuando están a tres cuartos de su madurez, es decir que aún estén de color verde y de

consistencia firme. Los frutos maduros tienden a abrirse mientras se secan y no dan el color deseado. Para evitar cosechar cápsulas inmaduras o muy maduras, la misma plantación es cosechada de cinco a seis veces al año a intervalos de 30 a 40 días (27,29).

4. Ecología

En estado silvestre crece en bosques tropicales lluviosos (18,20,22), entre 750 y 1,500 metros sobre el nivel del mar. En esos lugares el dosel ha sido disminuido en espesor por causas naturales o por el hombre. También habita las riberas de corrientes de agua. Se le puede encontrar en bosques en estado de pre-climax (27).

En cultivo se siembra entre 600 y 1,500 m.s.n.m. (17, 22). Su ambiente óptimo está en las zonas ecológicas comprendidas entre la tropical húmeda y subtropical muy húmeda (20). Requiere de temperaturas entre 10 y 35° C (28, 29) con un promedio anual de aproximadamente 22°C. La precipitación anual debe estar entre 1,500 y 1,700 mm (28, 29). La sombra debe ser moderada y debe ofrecer protección contra el viento (22,27). Se recomiendan suelos poco disturbados y buen drenaje. El suelo debe tener una buena proporción de humus (27,28,29).

El cardamomo es cultivado a veces junto con plantaciones de café en India y Guatemala o con plantaciones de

palmas areca en India (27).

5. Enfermedades

Entre las enfermedades que atacan al cultivo las más mencionadas en la literatura son:

a. Virus del mosaico del cardamomo

Según Flores, citado por Bonilla (6), esta enfermedad se detectó en Guatemala en 1975 en el municipio de El Palmar, departamento de Quetzaltenango. Las láminas y peciolo de las hojas infectadas presentan una clorosis con un mosaico de patrón definido. Deteriora rápidamente las plantaciones al hacer que las plantas pierdan vigor con lo que su producción en cantidad y calidad decrece (6,16). El virus es aparentemente transmitido por el áfido del banano (Pentalonia nigronervosa) (16,20).

b. Mancha foliar

La mancha foliar del cardamomo es una enfermedad a la que se le dió importancia en Guatemala en 1980. La enfermedad se inicia como una mancha amarilla de un mm de diámetro. En su estado avanzado es una mancha pardo claro con el centro oscuro y un halo clorótico que la rodea. El tejido en el área de la mancha se torna necrótico. No existe ningún patrón de distribución en la hoja. Se cree que es producida por una bacteria (9).

c. Pudrición del tronco de la mata (1,17), raíz y rizomas (9)

Se caracteriza por ablandamiento en los brotes foliares en la base bulbosa, donde se rompen y caen. Las panículas de los brotes foliares también se caen. Es causada por Pythium sp. (1,3,17,22).

d. Tizón Foliar

Según el Manual del Cultivo del Cardamomo del Instituto Técnico de Capacitación y Productividad citado por Castillo (9), se caracteriza por un manchado y necrosis de hojas y cápsulas. Se encuentra principalmente en lugares húmedos y fríos. Se cree que es producido por una bacteria.

e. Pudrición del fruto y hoja

Según Thankomma, et al. citado por Samayoa y Suehand (30), en India han sido identificadas varias especies de Phytophthora como causantes de esta enfermedad. Según Menon, et al., citado por el mismo autor, Phytophthora produce daños a las cápsulas juveniles al desprenderlas o al hacer lesiones que decoloran la pared del fruto y reducen así la calidad del producto. Las lesiones en las hojas aparecen como manchas acuosas en la lámina. Estas se extienden y forman parches de color pardo, necrosos y rodeados de un halo amarillo. En las etapas finales se cae

el parche.

f. Pudrición de los rizomas

Se ha aislado Cephalosporium sp., Phythium aphanidermatum (Edson) Fitzp. y Phythium vexans de Bary de rizomas podridos. (27). Posiblemente se trate de la enfermedad citada en el inciso c pues los síntomas son semejantes (9,28).

6. Plagas

Entre las plagas más importantes en Guatemala se citan las siguientes:

a. Nemátodos

Los géneros fitoparasíticos más importantes en el área sur del país son Meloidogyne spp., Helicotylenchus spp. y Criconemoides spp. por su distribución y altas poblaciones (5).

b. Afido

El áfido ya mencionado Pentalonia nigrovervosa como vector del VMCAR (16,20).

c. Picudo del cardamomo

La larva de Cholus subcaudatus (familia Curculionidae) perfora los rizomas y pseudotallos del cardamomo. El adulto perfora el fruto disminuyendo su calidad (4).

d. Zompopos

Esta plaga durante el invierno causa cierto daño a los frutos (19). Pertenecen al género Atta, familia Formicidae.

7. Utilización

Las semillas secas de cardamomo son utilizadas como una especie, un masticatorio y un insumo en farmacología principalmente (22,27,30). En India se usa como un masticatorio, para condimentar curries, pasteles, pan, etc. Grandes cantidades se importan en el Medio Oriente donde son usados en países árabes para condimentar café (27). Los árabes lo usan por su sabor, efecto refrescante y propiedades digestivas (29).

En Finlandia y Suecia se usa ampliamente en repostería (20,22). En Inglaterra y Estados Unidos lo usan en farmacia como estimulante y agente saborizante (27). En Japón y Francia se usa mezclado con el tabaco (22).

Su aceite volátil se extrae para ser usado en perfumería, en licores, en preparación de tintes y como estimulante (22,27).

8. Mercado

Según Gallegos citado por Samayoa y Suehand (30), el cardamomo se comercia en forma de cápsulas secas, semillas

o aceite extraído. En el mercado mundial, India es el exportador líder. Guatemala ha aumentado rápidamente sus exportaciones hasta ocupar el segundo lugar (22,30).

En Guatemala aproximadamente un tercio de lo cultivado está controlado por grandes productores-exportadores. En el país no hay un consumo significativo de cardamomo, casi todo lo producido es exportado (22).

Las mejores cápsulas son las limpias, sin romper, sin daño de plagas, grandes, sin ningún tipo de daño o imperfección y con un color verde claro (29). Las cápsulas pardas o con manchas son consideradas de baja calidad. Las cápsulas que aparecen manchadas cuando frescas permanecen iguales después del secado. Las cápsulas sin manchas y que retienen una coloración verde claro son consideradas de la mejor calidad y obtienen los mejores precios (30).

9. Importancia Económica

El cultivo del cardamomo tiene gran importancia en la vida económica del país como una fuente de divisas y de mano de obra (9). En el siguiente cuadro se muestran datos estadísticos de área cultivada, producción, rendimiento, cantidad exportada y precios de exportación con el fin de mostrar el comportamiento que ha tenido este cultivo en los últimos quince años.

Cuadro 1. Area cultivada, producción, rendimiento, cantidad exportada y precio de exportación del cardamomo en Guatemala del año 1972 al año 1986.

AÑO	Area Cultivada (Miles de Mz.)	Producción (miles qq) 1/	Rendimiento (qq./Mz.)	Exportación 2/ miles qq.	Precio medio de Exportación (Q./qq.)
1972	14.0	16.8	1.2	14.2	2,258.2
1973	15.0	30.0	2.0	26.4	4,622.3
1974	13.1	34.0	2.6	32.0	7,764.4
1975	13.5	40.5	3.0	37.0	10,068.0
1976	15.0	45.0	3.0	40.9	15,390.5
1977	26.9	80.7	3.0	79.6	27,092.0
1978	34.0	102.5	3.0	101.1	27,368.8
1979	25.3	75.9	3.0	74.9	49,217.7
1980	33.3	110.4	3.3	108.8	55,595.5
1981	34.1	110.9	3.3	97.5	34,314.9
1982	39.3	137.7	3.5	88.6	29,691.5
1983	42.9	170.5	4.0	170.4	59,414.0
1984	47.5	162.0	3.4	160.2	100,257.1
1985	47.5	162.0	3.4	144.4	60,690.7
1986	50.0	175.0	3.5	155.0 a/	62,000.0

1/ Producción cardamomo pergamino

2/ Exportación cardamomo oro y pergamino partida NAUCA 11:09 08 01 01 (NAUCA) 1:292 04 00 01)

a/ Cifra estimada por la Sección de Análisis de Mercados y Comercio Exterior, Banco de Guatemala.

FUENTE: Instituto Nacional de Estadística, encuestas directas a productores en las zonas de cultivo, Boletín Estadístico del Banco de Guatemala.

B. FUSARIUM TABACINUM

Fusarium tabacinum es la fase anamórfica del hongo Plectosphaerella cucumeris (Lindors) W, Gams (14,26). El género Fusarium es un hongo reportado en los trópicos americanos infectando cultivos pertenecientes a las familias Leguminosae, Gramineae, Rosaceae, Annonaceae, Solanaceae, Euphorbiaceae, Sterculiaceae, Musaceae, Rubiaceae, Cucurbitaceae y Myrtaceae. Sin embargo, muchas otras familias de plantas son atacadas por Fusarium, y en casi todo cultivo de especial valor económico alguna especie de Fusarium tarde o temprano es importante al producir una infección que limite su rendimiento (32).

Fusarium no sólo causa marchitez sistémica, sino también pudriciones, caída de frutos y hojas, proliferación de yemas, estimulación y colapso de tejidos, etc. También incluye un gran número de saprófitos (32).

Según el Dr. John Bisset (en litt.), Fusarium tabacinum es conocido como un hongo fitopatógeno y la literatura sobre este hongo es escasa. El Dr. Bisset no encontró ningún reporte de que este hongo ataque al cardamomo y opina de que este hongo es más común en los trópicos de lo que la literatura indica.

1. Sistemática

Alexopoulos y Mims sitúan a Fusarium tabacinum bajo

los siguientes taxones (2).

Reino	Myceteae (Fungi)
División	Amastigomycota
Subdivisión	Deuteromycotina
Form-Clase	Deuteromycetes
Form-Subclase	Hyphomycetidae
Form-Orden	Moniliales
Form-Familia	Tuberculariaceae
Form-Género	<u>Fusarium</u>
Form-Especie	F. <u>tabacinum</u> (Beyma) W. Gams

El form-género Fusarium es el más grande de los Tuberculariaceae y, taxonómicamente uno de los grupos de hongos más difíciles de clasificar.

Los miembros del form-género Fusarium forman típicamente dos tipos de conidias que son llamadas macroconidias y microconidias según su tamaño. Ambos tipos son producidos en fialides. Las macroconidias son largas, multi-septadas, en forma de canoa y nacen generalmente en esporodoquios. También pueden nacer separadamente y algunos miembros de este form-género aparentemente nunca forman esporodoquios, lo que hace la inclusión del form-género Fusarium algo arbitraria dentro de los Tuberculariaceae. Las microconidas usualmente son unicelulares y de forma esférica u ovalada. No está fuera de lo común encontrar

conidias que sean intermedias entre microconidias y macroconidias (2).

2. Descripción

Las colonias resultantes de una espora de Fusarium tabacinum alcanzan un promedio de doce mm de diámetro en cinco días a 25° C en agar de papa-dextrosa (26). En agar de malta alcanzan de 40 a 50 mm de diámetro en 10 días a 20° C (14). Las colonias son inicialmente blancas y después se tornan rosadas o beige en la parte inferior (26).

El micelio aéreo es corto y generalmente poco denso (27,30), de color blanco a amarillento o rosado (8, 14, 15, 26). Su apariencia es de lanosa a afelpada y frecuentemente forma borlas (8, 15). Cuando se forman esporas se torna mucoso (14, 15).

Las conidias crecen en células conidiógenas simples o en conidióforos ramificados cortos que salen de hifas individuales o de agregaciones de hifas pareciendo lazos. Los conidioforos se desarrollan en el micelio aéreo (26). Poseen pocas ramificaciones y la conidiogénesis aparentemente es fialídica (8, 14, 15, 26).

Según Garlach y Nirenberg (8), las fialides son muy variables en tamaño; si aparecen solitarias en el micelio aéreo son casi cilíndricas, algunas veces retorcidas irre-

gularmente, muy largas (40 μm) y delgadas (2.4-4.5 μm). Si están densamente agregadas son cortas (8.0-15.0 μm) y anchas (4.0-6.0 μm). Hay fialides que caen entre estos dos extremos. Pascoe, Nancharrow y Copes (26) afirman que las fialides son de cilíndricas a subuladas y miden 8.0-26.0 x 2.5-3.5 μm ; según Gams y Gerlach miden de 12 a 30 μm de largo y de 3.0 a 4.5 μm de ancho en la base y 2.0 μm en la punta. En la punta muestran una serie de constricciones que recuerdan anelóforos. Después de que la conidia se separa queda un collarete conspicuo, corto y poco ensanchado en la mayoría de los casos (14, 26). En cultivos viejos generalmente sólo una pequeña parte de las fialides están erguidas con las cabezas de las conidias separadas. La mayoría se ponen en contacto con el agar por la formación de una mucosa formando grandes masas de esporas (14).

La región apical de las fialides es irregular y tortuosa. Esta región es tan característica de *F. tabacinum* que hace casi cualquier aislamiento fácilmente identificable. A pesar de que el collarete y el canal citoplasmático estrecho indican que la conidiogénesis es fialídica, la naturaleza irregular de la región apical sugiere una conidiogénesis anelídica o simpodial. Se necesitan estudios más profundos para determinar la naturaleza exacta de la región apical, que aparentemente es el criterio taxonómico más útil para *F. tabacinum* (26).

Las conidias son hialinas, de elipsoides a cilíndricas y rectas o ligeramente curvas (8,26). Según Booth (8) y Pascoe, Nancarrow y Capes (26) tienen de ninguna a tres septas, sin embargo, Garlach y Nirenberg (15) critica a Booth diciendo que las conidias triseptadas no son representativas y que Gams y Gerlach (1968) nunca mencionaron su existencia. Si son unicelulares tienen frecuentemente una o más vacuolas y son de formas variadas. Si son uniseptadas son ligeramente curvas con una célula apical puntiaguda que generalmente se estrecha cónicamente (15). En general miden 6.2-14.0 x 1.5-3.0 um según Pascoe, Nancarrow y Copes (26), y de acuerdo con Booth miden 12.0-16.0 x 3.0-4.0 um. Antes de la germinación, las conidias se hinchan y parecen constriñirse a nivel de la septa (26).

La formación de las conidias depende en alto grado del sustrato nutritivo usado. Las siguientes características son de mucha importancia para su clasificación, reconocibles únicamente en un cultivo maduro y especialmente notorios en cultivos sobre agar de harina de avena o sustratos altos en celulosa: la mayoría de las esporas tienen septas mediales, apareciendo también esporas sin septas. Las dimensiones promedio de las conidas son 8.2-13.5 x 2.0-3.0 um con esporas extremas de 5.0-15.0 x 2.0-4.0 um. Si las observaciones se hacen en ácido láctico se obtienen valores menores que en agua (14).

También existen diferencias morfológicas dependiendo del huésped de que sea aislado el hongo. Los cultivos que provienen de papas infectadas tienen altas proporciones de conidias aseptadas. En aislamientos de tomates infectados generalmente las conidias son más largas que de aislamientos de papa y se producen conidias más largas en la superficie de hojas que en cultivos de agar de papadextrosa (26).

Los aislamientos difieren en el color de las colonias, cantidad de micelio aéreo, dimensiones de las fialidas y tendencia a producir hifas semejanado lazos (26).

F. tabacinum difiere de otras especies en que sus conidias carecen de la célula basal característica de las macroconidias de Fusarium, su tendencia a no producir esporodoquios y en sus inusuales fialides (26). Se puede decir que en general sólo producen un tipo de conidia (8).

Según Pascoe, Nancarrow y Copes (26), Booth afirma que F. tabacinum es una especie marginal o degenerada del género Fusarium. La naturaleza atípica de F. tabacinum y la clasificación incierta supergenérica de su estado teleomórfico, que no parece pertenecer a los Hypocreales, sugiere que F. tabacinum pueda pertenecer a otro género. Garlach y Nirenberg (15) sugiere que la especie más similar microscópicamente a F. tabacinum es F. dimerum var. dimerum.

F. tabacinum nunca forma esclerocios, ni clamidosporas (8, 15).

La mayoría de las razas forman peritecios en agar de papa-sucrosa. Las ascas se desarrollan de hifas ascogénicas pseudoparenquimatosas. Las ascas son clavadas con un pie corto y un ápice redondo, ligeramente grueso. Usualmente tienen ocho ascosporas y miden 55.0-65.0 x 6.0-9.0 um (8). Las ascosporas son hialinas, fusiformes, uniseptadas y de 12.0-15.5 x 3.0-3.5 um (26).

3. Ecología

F. tabacinum y Plectosphaerella cucumeris es un hongo bastante común en suelos labrados y en pastizales (8, 14,15). Algunas veces es "una" de las especies más frecuentemente reportada especialmente en las zonas templadas de Europa y Estados Unidos (15). Aparece asociado con material vegetal en descomposición (8,15). En la mayoría de los casos prefiere la capa superior del suelo y raras veces se le encuentra a profundidades mayores de 40 cms. Después de fertilizaciones con nitrógeno, fósforo y potasio se observó un leve aumento de su población (14).

Las observaciones de este hongo sobre partes de plantas encima de la superficie del suelo no son muy frecuentes. Se ha reportado en tallos de papa, de tomate, de melón, en tabaco, pepino, lechuga, Canna indica y Phlox drum-

mondii. Se ha aislado más frecuentemente de raíces a pesar de que no se reportan acumulaciones en la rizosfera de grama de las dunas (Ammophila arenaria), cebolla (Allium sativum), haba (Vicia faba), pensamientos (Viola tricolor), tabaco (Nicotiana tabacum), Linum usitatissimum, Sinapsis arvensis y Veronica hederaefolia. Se obtuvo un aislamiento de quistes de Heterodera rostochiensis.

4. Síntomas de enfermedades y pruebas de patogenicidad

A continuación se describen síntomas y pruebas de patogenicidad de Plectosphaerella cucumeris, el estado teleomórfico de Fusarium tabacinum (15):

En tallos verdes de papa aparecen franjas pardo-negro; se hicieron ensayos de inoculación pero no fueron significativos (14).

En semilleros de tabaco, tanto a nivel de campo como de invernadero, aparecen manchas foliares color verde oliva y de color café en los tallos. Bajo condiciones de alta humedad las plantas pueden morir. Estos síntomas son reproducibles en experimentos de inoculación (14).

En pepinos de invernadero los frutos jóvenes muestran un tono amarillento poco después del final de la floración de la punta hacia la base y después mueren. Síntomas similares se presentan también sin una infección micótica,

pero se puede inducir por una infección artificial (14).

Gams y Gerlach (14) dicen que Van Eek logró producir fuertes daños, en condiciones estériles in vitro y a nivel de macetas, en sus experimentos de infección de pensamientos. Las plantas que sobrevivieron mostraban una notable reducción de tamaño.

Gams y Gerlach (14) desarrollaron experimentos de infección en papa, pepino y trigo a nivel de invernadero; a las primeras dos especies se les inyectó una suspensión de esporas a los tallos y frutos jóvenes; a los pepinos también se le goteó la suspensión de esporas sobre heridas. En trigo la suspensión se asperjó sobre las hojas de plantas jóvenes y se mezcló con suelo esterilizado antes de la siembra. Además, se lavaron las raíces de los semilleros, se aplicó la suspensión de esporas por inmersión y luego se sembraron en tierra. Todas estas pruebas no tuvieron resultados positivos.

Aparte Gams y Domsch (1968) determinaron la influencia de un cultivo puro sobre raíces de arveja, lograron determinar que el peso seco se redujo a un 25% comparado con el control (14).

Gams y Gerlach concluyen diciendo que P. cucumeris en pocos casos es un patógeno. De acuerdo con Klebahn (1930), citado por los mismos autores, este hongo actúa

como patógeno únicamente en pepinos de invernadero ya que éstos requieren de alta humedad y temperatura (14).

Pascoe, Nancarrow y Copes (26) reportaron a Fusarium tabacimun como un patógeno en Australia por primera vez. Sólo se comprobó su patogenicidad en hojas, frutos y tallos de tomate. Ellos afirman que existe evidencia circunstancial de su patogenicidad en papa, coliflor (Brassica oleracea), balsamina (Impatiens balsamina) y chirivía (Pastinaca sativa).

Los síntomas producidos en tomate por Fusarium tabacinum son la aparición de manchas individuales pequeñas (1.0-4.0 mm) en las hojas. Inicialmente son oscuras y se tornan gris pardo con un margen oscuro. Frecuentemente causan arrugamiento y enrollamiento de los márgenes de la hoja. En varias plantas infectadas, al unirse las manchas se produce la muerte de las hojas y la enfermedad se disemina por los haces vasculares hacia los peciolo. Los síntomas en los tallos incluyen pequeñas lesiones que aparecen como depresiones longitudinales y descoloridas en la parte aérea. En el área del tallo abajo del suelo aparece un área levemente constriñida y parda (26).

Para la prueba de patogenicidad se asperjó una suspensión de esporas en agua destilada (5.5×10^6 esporas/ml) (26).

III. MATERIALES Y METODOS

La metodología utilizada se basa en los postulados de Koch que son en síntesis los siguientes:

1. El microorganismo debe estar siempre asociado a la enfermedad.
2. El microorganismo debe aislarse en cultivo puro y deben estudiarse sus características específicas.
3. Cuando el hospedante sano se inocula con el cultivo puro bajo condiciones favorables, deben producirse los síntomas de la enfermedad.
4. El microorganismo debe ser aislado del hospedante inoculado y debe mostrar las mismas características en cultivo que el que se aisló anteriormente (18).

A. Primer Postulado de Koch: Asociación

1. Recolección de material enfermo

El día 5 de agosto de 1986 se visitó la Finca Altamira, ubicada en el departamento de Suchitepéquez, propiedad del Ing. Adolfo Boppel para recolectar muestras. En base a color y área dañada del fruto se diferenciaron vi-

sualmente cuatro estadios con el propósito de facilitar la recolección. Los estadios diferenciados fueron los siguientes:

a. Estadio inicial

Una a dos pequeñas manchas amarillo-verdoso suave (poco visibles) en cualquier área y edad del fruto.

b. Estadio medio

Más de dos manchas amarillo-café, sin presentarse necrosis.

c. Estadio avanzado

Casi todo el fruto o en su totalidad manchado de amarillo-pardo, con algunos puntos necróticos.

d. Estadio necrótico

Casi todo el fruto o en su totalidad necrótico.

Las muestras se transportaron en varias cajas de Petri plásticas marcadas según el estadio de la enfermedad que contenían. Se utilizó una hielera para preservarlas en buenas condiciones durante el trayecto hacia el laboratorio de patología vegetal de la Universidad del Valle de Guatemala donde se realizaron los demás pasos de la investigación.

2. Preparación de medios de cultivo

Se preparó el medio de cultivo sintético agar de agua

(7) de la siguiente manera:

a. Se pesaron 20 gr de agar en polvo por litro de agua destilada. Se disolvió el agar en agua destilada ebuliendo con agitación constante. Se calentó la mezcla hasta obtenerse una solución clara.

b. Se esterilizó el agar de agua y 25 cajas de Petri por litro de agar por veinte minutos entre 15 y 18 atmósferas de presión en una autoclave eléctrica.

c. Se vertieron aproximadamente 40 ml de agar líquido en cada caja de Petri al lado de la llama de un mechero y alcohol. Esto se realizó dentro de una cámara estéril, previamente limpiada con una solución de Clorox comercial al 10% y luz ultravioleta.

d. Se dejó enfriar y endurecer el agar colocándose después en un refrigerador hasta antes de ser utilizado.

3. Selección del material enfermo

a. Los frutos de cardamomo fueron lavados con agua a presión.

b. Se cortaron trozos de los frutos de aproximadamente 16 mm con una hoja de afeitar esterilizada a la llama de un mechero y alcohol de aproximadamente 16 mm². Cada fruto se trabajó sobre un trozo de papel de

cera diferente para evitar contaminación. Se escogieron áreas al margen de las afectadas de 28 frutos entre estadio inicial y medio para evitar contaminación de agentes saprófitos y facilitar el aislamiento del patógeno (10,24).

4. Desinfección del material seleccionado

Se preparó una solución de Clorox al 10%, cada trozo de material fue sumergido durante dos minutos en la solución preparada y después lavado con agua destilada (7,13).

5. Siembra del material en los medios de cultivo.

A la llama de un mechero se abrieron las cajas de Petri con el medio de cultivo preparado y se colocaron los trozos de fruto desinfectados.

6. Incubación

La incubación se realizó a temperatura ambiente sobre una mesa del laboratorio.

7. Observación de los hongos obtenidos

Después de cinco días de incubación se abrieron las cajas con los cultivos para observar directamente al microscopio, con un aumento de 100X, los hongos que aparecieron. Se calculó el porcentaje de aparición con cada especie de hongos para determinar cual aparecía con mayor frecuencia.

B. Segundo Postulado de Koch: Aislamiento

1. Obtención de cultivos puros a partir de puntas de hifa o de esporas

a. Se escogieron dos cultivos procedentes de la primera fase del estudio, descrita anteriormente, que contuvieran el hongo que apareció con mayor frecuencia y que aparentemente fueran cultivos puros.

b. A partir de puntas de hifa

Se seleccionaron hifas que estuvieran separadas de las otras utilizando un microscopio compuesto con los objetivos 50 y 100X. Con una lanceta estéril se cortó la punta de una hifa y el agar conteniendo la punta cortada únicamente. Se transfirió el agar cortado a otra caja de Petri con agar de agua (13).

c. A partir de una espora

Con el microscopio compuesto con el aumento 100X, se enfocó una espora y se tocó con una lanceta estéril. Seguidamente se tocó otra caja Petri con agar de agua con la lanceta para depositar la espora allí.

d. Se incubaron por diez días los nuevos cultivos y los que estuvieran libres de contaminantes fueron seleccionados.

e. Tres cultivos conteniendo el mismo hongo fueron seleccionados y enviados en cajas Petri al Dr. John Bisset del Biosystematics Research Institute del Departamento de Agricultura de Canadá para su clasificación. Se guardó una muestra de cada cultivo antes de enviarlos.

C. Tercer Postulado de Koch: Incubación

1. Preparación del material a inocular

Se prepararon 24 cajas de Petri, cada una con un papel filtro No. 1 de 10 cm de diámetro y ocho pedazos pequeños de papel filtro No. 5 para dividir la caja en ocho compartimientos (Figura 1). Se esterilizaron las 24 cajas de Petri y toda la cristalería y agua a utilizar en esta fase en la autoclave mencionada con anterioridad por veinte minutos entre 15 y 18 atmósferas de presión.

Se escogieron 192 frutos sanos de cardamomo y se lavaron con agua a presión. Se esterilizaron con 400 ml de una solución al 10% de Clorox por tres minutos. Se lavaron tres veces con agitación fuerte con agua esterilizada en la autoclave. En cada uno de los compartimientos de las 24 cajas de Petri se colocó un fruto. Cada caja conteniendo ocho frutos fue asperjada tres veces con agua con un atomizador.

2. Obtención del inóculo

El inóculo fue obtenido de dos cultivos puros de Fusa-

rium tabacinum, obtenidos en la segunda fase (segundo postulado de Koch), de cuatro semanas de edad.

Se extrajeron las esporas de la caja de Petri de un área de 64 cm². Para ello se llenó la caja de Petri con agua y se frotó la superficie del medio de cultivo con un asa esterilizada a la llama de un mechero. Se transfirió la solución de esporas a un beaker. Por último se lavó la superficie del medio de cultivo con agua a presión recibiendo en el mismo beaker.

Se tomó una alícuota de la suspensión de esporas y se colocó en un hematocitómetro para su conteo al microscopio (13).

3. Métodos de inoculación utilizados

Las 24 cajas de Petri fueron divididas en tres grupos: un control y dos experimentales.

a. Grupo control

Ocho cajas de Petri fueron numeradas del uno al ocho. No se les aplicó ningún tratamiento.

b. Grupos experimentales

Se utilizaron dos métodos de inoculación:

1) Por punción

Ocho cajas de Petri fueron numeradas del nueve al dieciseis. Se colocó cada fruto dentro de la solución

de esporas, se recolocó en la caja Petri y se punzó con dieciseis alfileres (13) colocados en un borrador en un área de 16 mm^2 aproximadamente. Los alfileres fueron esterilizados a la llama de un mechero y alcohol.

2) Por frotación

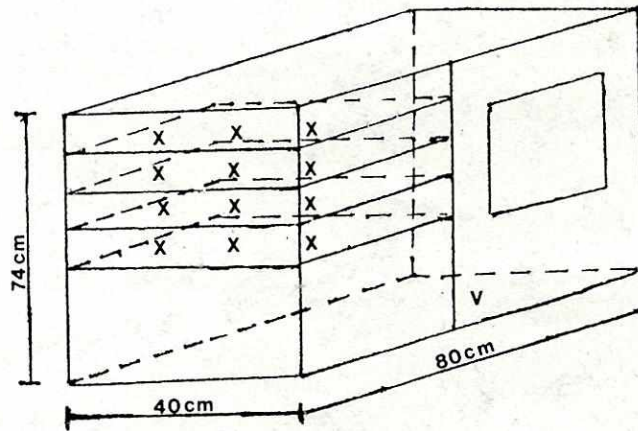
Ocho cajas de Petri fueron numeradas del diecisiete al veinticuatro. Se colocó un hisopo estéril en la suspensión de esporas y se frotó la superficie de cada fruto. (12).

4. Diseños experimentales utilizados para evaluar los tratamientos.

a. Bloques Completos al azar

Se construyó una cámara de inoculación con 4 gabinetes para colocar las cajas de Petri de armazón de madera y forrada de plástico transparente (Figura 1). En el interior se colocó un vaporizador de uso casero que fue encendido por 55 días a intervalos de dos horas por una hora por medio de un reloj eléctrico marcador de tiempo. En los gabinetes se encontraron dos gradientes verticales en el mismo sentido: La cantidad de vapor y la temperatura. La temperatura máxima alcanzada en los gabinetes, contando de el gabinete uno al cuatro fueron: 27.0, 27.0-26.0, 26.5-26.0 y 26.0 grados centígrados.

En cada gabinete se colocó una caja Petri (una parce-



X = posición de una caja de Petri
 V = posición del vaporizador

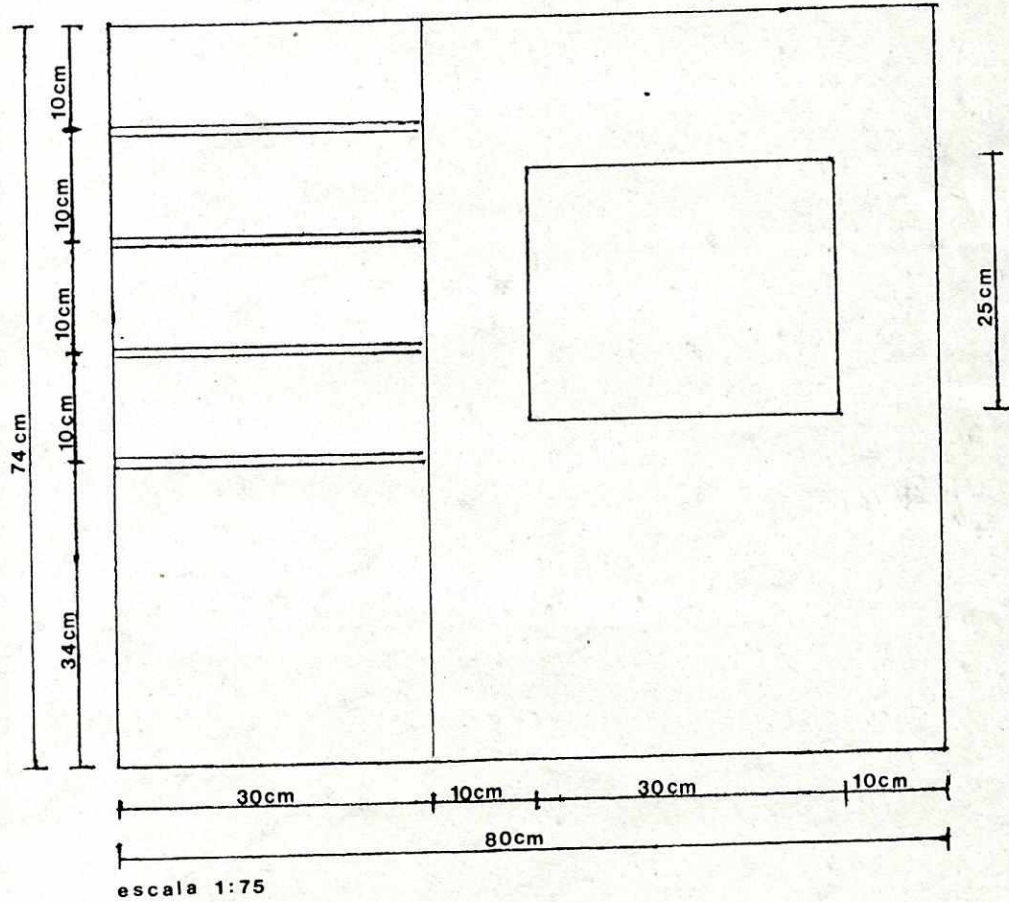


Figura 1. Cámara de inoculación con vaporizador

la) de cada uno de los tres grupos (control y experimentales) (tres cajas de Petri en total). Dentro de cada gabinete se designaron tres posiciones (Figura 2). Se asignó una caja de Petri a cada posición por medio de una lista de números aleatorios (23). El cuadro 2 muestra la forma en que quedó la distribución de cajas de Petri. Se hicieron conteos de frutos con presencia de síntomas a las 48, 72, 108 y 132 horas.

b. Parcelas totalmente al azar

En una caja plástica de 16 cms. de altura, 27 cm de ancho y 36 cm de longitud se colocaron seis esponjas en el fondo. La caja y esponjas fueron esterilizadas con una solución al 10% de Clorox por un día. La solución fue eliminada por medio de varios lavados con agua destilada.

Se designaron doce posiciones en la caja de inoculación (Figura 3) y por medio de una lista de números aleatorios se escogió la caja de Petri que correspondía a cada posición según el número con que estaba numerada (23). La forma en que quedaron distribuidas las cajas de Petri se muestra en el Cuadro No. 3. Los datos de infección fueron tomados en los mismos intervalos que el diseño anterior.

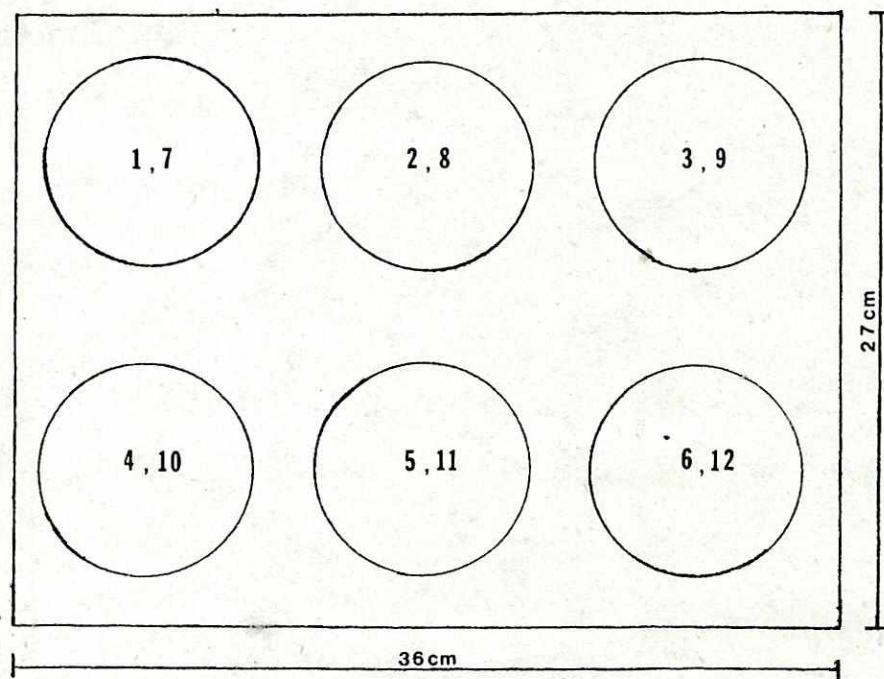


Figura 2. Caja plástica utilizada como cámara de inoculación. Los círculos representan las cajas de Petri y los números las posiciones para colocarlas. El primer y segundo número corresponden a las cajas en el primer y segundo nivel respectivamente.

Cuadro 2. Distribución de cajas de Petri en el diseño de bloques completos al azar.

BLOQUES	C O L U M N A S		
	I	II	III
1	8	16	24
2	23	7	15
3	14	20	6
4	22	4	12

Cuadro 3. Distribución de cajas de Petri en el diseño de parcelas totalmente al azar.

NIVEL*	FILAS	C O L U M N A S		
		I	II	III
1	1	18	9	10
	2	2	3	15
2	1	11	12	13
	2	1	19	17

* Se refiere a los niveles mencionados en la Figura 2.

5. Pruebas estadísticas

a. Análisis de varianza para bloques completos al azar y parcelas totalmente al azar por cada intervalo de tiempo de toma de datos.

b. Comparación de medias por cada intervalo de tiempo de toma de datos utilizando la prueba de Duncan.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

- A. Los resultados de los cultivos realizados con el fin de asociar un patógeno a la enfermedad y aislarlo se presentan a continuación.

Cuadro 4. Especies de hongos encontradas por cultivo en un total de 28 cultivos de frutos de cardamomo enfermos

Caja de Petri	<u>Fusarium tabacinum</u>	Posible <u>F. tabacinum</u>	Hongo A	Hongo B	Hongo C	<u>Penicillium</u>	Hongo D	Hongo E	Hongo F
1		x							
2	x								
3	x		x						
4*									
5	x								
6*	x								
7	x								
8	x								
9			x						
10			x	x					
11			x		x				
12									
13	x								
14						x	x		
15									
16	x								
17									
18	x					x			
19									
20			x	x					
21	x								
22	x								
23	x								
24	x		x						
25									
26	x								x
27	x								
28	x								

* sin estructuras reproductivas

El hongo que apareció con una mayor frecuencia en los cultivos de tejido enfermo fue Fusarium tabacinum (cuadros 4 y 5). Sin embargo, no apareció en todos los casos como se esperaba según lo establece el primer postulado de Koch. Al observarse detenidamente el cuadro 4 se encuentra que en un 82% de los casos en que aparecieron otros hongos no apareció F. tabacinum (sin incluir en el cálculo las cajas de Petri 1,4,6 y 15).

De acuerdo con el Dr. John Bissett (en litt.), F. tabacinum es un competidor pobre en medio de cultivo y por ello es probable que frecuentemente pase desapercibido en estudios y aislamientos patológicos. Esta observación explica el hecho de que F. tabacinum no aparezca en todos los cultivos ya que su desarrollo pudo ser inhibido por contaminantes.

En todos los cultivos se observó un crecimiento reducido de micelio y abundantes estructuras reproductivas. Esto coincide con la literatura revisada que indica que los medios pobres en carbohidratos y otros nutrientes son superiores para la observación y aislamiento de hongos pues induce al hongo a producir un micelio reducido y a entrar en su fase reproductiva o de esporulación limitando así mismo la producción de bacterias y otros contaminantes (12,19). La abundante esporulación también se puede explicar por el hecho de que los cultivos estuvieron

expuestos a la luz del día lo cual la induce (12).

Utilizando cajas plásticas para incubar los cultivos no se tuvo contaminación por ácaros como es común en las incubadoras eléctricas (12).

Cuadro 5. Frecuencia y porcentaje de aparición de ocho especies de hongos en 28 cultivos examinados de frutos de cardamomo enfermos

Espeçie	Frecuencia	Porcentaje
<u>Fusarium tabacinum</u>	15	48.39
Posible F. <u>tabacinum</u>	2	6.45
Hongo A	5	16.13
Hongo B	2	6.45
Hongo C	2	6.45
<u>Penicillium</u>	2	6.45
Hongo D	1	3.20
Hongo E	1	3.20
Hongo F	1	3.20
TOTAL	31	100.00

B. INOCULACION Y REAISLAMIENTO

1. Diseño de bloques completos al azar

Cuadro 6. Número de frutos con síntomas de la enfermedad en el diseño de bloques completos al azar por caja de Petri a cuatro intervalos de tiempo después de ser inoculados.

Tratamiento	No. Caja	HORAS			
		48	72	108	132
C O N T R O L	4	0	0	0	2
	6	0	0	0	0
	7	0	0	0	0
	8	0	1	1	6
P U N C I O N	12	2	4	7	8
	14	2	3	6	8
	15	3	6	8	8
	16	3	6	8	8
F R O T A C I O N	20	0	0	0	1
	22	0	0	2	2
	23	0	1	1	2
	24	0	1	2	2

Concentración de conidas: 1.2×10^4 /ml

Cuadro 7. Promedio de frutos con síntomas del control y grupos experimentales a cuatro intervalos de tiempo después de inoculados en el diseño de bloques completos al azar.

TRATAMIENTO	\bar{X}			
	48 hr	72 hr	108 hr	132hr
Control	0.00	0.25	0.25	2.00
Punción	2.50	4.75	7.25	8.00
Frotación	0.00	0.50	1.25	1.75

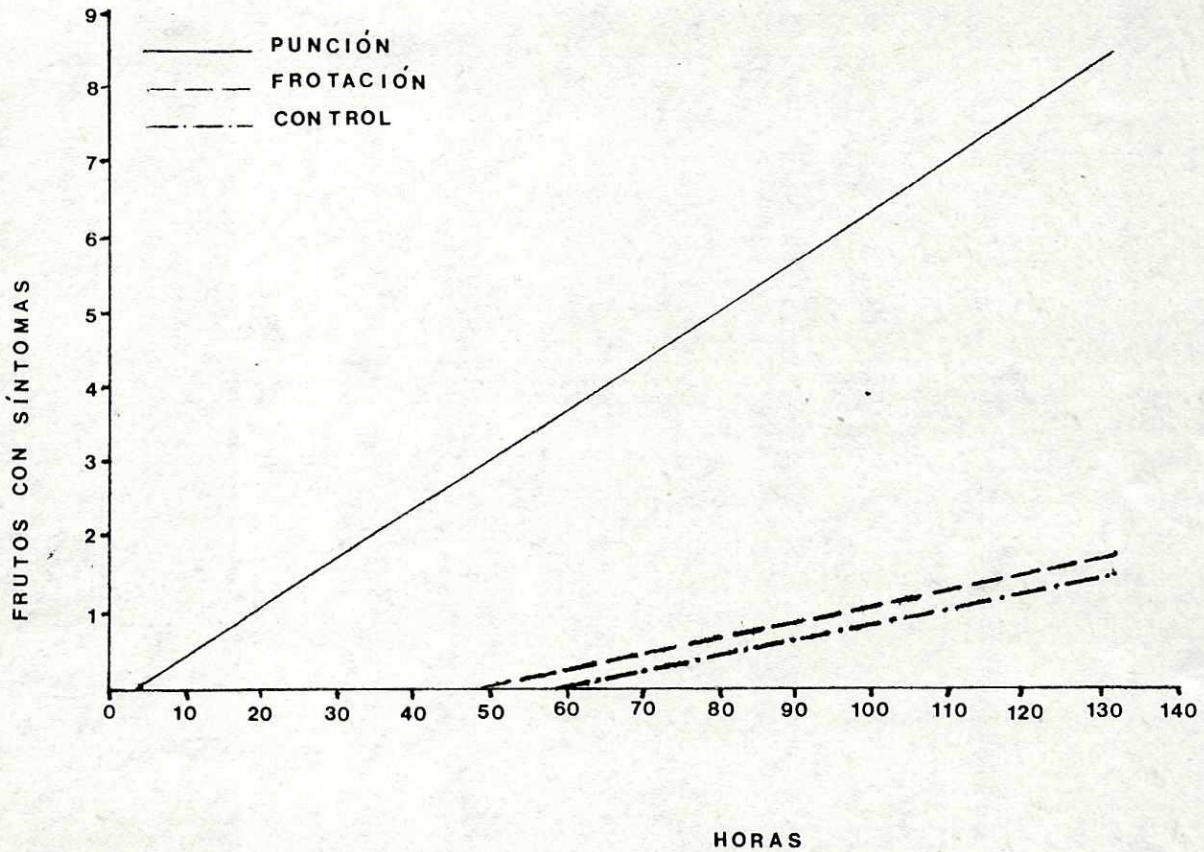


Figura 3. Promedio de número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales a diferentes tiempos de inoculados en el diseño de bloques completos al azar.

Cuadro 8. Ecuación de la recta y coeficiente de regresión del control y los grupos experimentales de la Figura 3.

TRATAMIENTO	ECUACION DE LA RECTA	COEFICIENTE DE REGRESION
Control	$Y = 0.01 x - 0.20$	0.92
Punción	$Y = 0.07 x - 2.06$	0.99
Frotación	$Y = 0.03 x - 1.48$	0.96

Al observar el cuadro 7 y la figura 3 se aprecia una marcada diferencia en la aparición de síntomas en los frutos de cardamomo entre los tres tratamientos siendo la inoculación por punción el que ocupa el primer lugar. Este hecho se observa claramente al comparar las pendientes de las rectas de cada tratamiento en el cuadro 8. Cada pendiente no es más que la primera derivada de las rectas o sea la velocidad con que aparecen frutos enfermos.

A pesar de que los resultados parecen indicar que *Fusarium tabacinum*, inoculado por punción, es capaz de producir los síntomas de la enfermedad en estudio es necesario efectuar un análisis de varianza que indique con un 95% de confiabilidad esta observación.

Cuadro 9. Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 48 horas de inoculados en el diseño de bloque completos al azar.

FUENTE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft 0.05
Bloque	3	0.34	0.11	1.00	4.76
Tratamiento	2	16.67	8.34	75.82	5.14
Error	6	0.66	0.11		
Total	11	17.67			

Cuadro 10. Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 72 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar.

FUENTE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft 0.05
Bloque	3	5.67	1.89	4.02	4.76
Tratamiento	2	51.17	25.58	54.42	5.14
Error	6	2.83	0.47		
Total	11	59.67			

Cuadro 11. Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 108 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar.

FUENTE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	Ft 0.05
Bloque	3	2.92	0.97	1.76	4.76
Tratamiento	2	114.67	57.34	104.25	5.14
Error	6	3.33	0.55		
Total	11	120.92			

Cuadro 12. Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 132 horas de inoculados en el diseño de bloque completos al azar.

FUENTE VARIACION	G.L.	S.G.	C.M.	Fc.	Ft 0.05
Bloque	3	8.25	2.75	1.00	4.76
Tratamiento	2	100.17	50.08	18.20	5.14
Error	6	16.50	2.75		
Total	11	124.92			

El diseño de bloques completos al azar fue seleccionado para evaluar las diferencias entre el control y los dos métodos de inoculación (frotación y punción) en la cámara de inoculación con el vaporizador y eliminar los efectos de los gradientes de humedad y temperatura. Sin embargo, al observar los cuadros de análisis de varianza a diferentes intervalos de tiempo se encuentra que en ningún caso se dió una diferencia entre bloques estadísticamente significativa con un grado de confiabilidad de 95% pues la "F" de Fischer de tablas siempre fue superior a la "F" calculada para bloques. Ello indica que realmente no era necesario utilizar este diseño sino que pudo haberse utilizado uno más sencillo como el de parcelas totalmente aleatorias.

En los cuatro grupos de observaciones (cuadros 9, 10, 11 y 12) existe una diferencia significativa entre los tratamientos, con el índice de confiabilidad previamente indicado. Esto significa que hay uno o (dos) tratamientos que produjeron una infección mayor que los otros. Para conocer cual tratamiento es el superior fue necesario hacer una comparación de medias por el método de Duncan (23).

Cuadro 13. Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 28 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar.

No.	TRATAMIENTO	\bar{X} *	SIGNIFICANCIA**
1	Punción	2.50	a
2	Frotación	0.00	b
3	Control	0.00	b

* Frutos con síntomas/No. cajas de Petri

** Grado de significancia del 95%

Cuadro 14. Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 72 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar.

No.	TRATAMIENTO	\bar{X}	SIGNIFICANCIA
1	Punción	4.75	a
2	Frotación	0.50	b
3	Control	0.25	b

Cuadro 15. Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 108 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar.

No.	TRATAMIENTO	\bar{X}^*	SIGNIFICANCIA **
1	Punción	7.25	a
2	Frotación	1.25	b
3	Control	0.25	b

* Frutos con síntomas /No. Cajas de Petri

** Grado de significancia del 95%

Cuadro 16. Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 132 horas de inoculados en el diseño de bloques completos al azar.

No.	TRATAMIENTO	\bar{X}^*	SIGNIFICANCIA
1	Punción	8.00	a
2	Control	2.00	b
3	Frotación	1.75	b

Cuadro 17. Especies de hongos encontrados por parcela (caja de Petri) al reaislar el patógeno de los frutos con presencia de síntomas de la enfermedad en el diseño de parcelas de bloques completos al azar.

TRATAMIENTO	CAJA DE PETRI	<u>Fusarium tabacinum</u>	Hongo A	Hongo B	<u>Penicillium</u>
CONTROL	4	X	X	X	
	8			X	
PUNCION	12	X			
	14	X			
	15	X			
	16	X			
FROTACION	20	X			
	22	X			
	23	X			
	24	X			

En las cuatro comparaciones de medias (cuadros 13, 14, 15 y 16) el tratamiento de inoculación por punción produjo una mayor cantidad de frutos con síntomas de la pudrición en estudio según el método de Duncan. Estos resultados sugieren dos hechos:

a. El método de inoculación por punción es más eficiente que el de frotación para infectar frutos de cardamomo en un menor tiempo con algún organismo, no necesariamente con Fusarium tabacinum. Es necesario reaislar F. tabacinum en cultivos puros de los frutos infectados para comprobar que este hongo fue el causante de la enfermedad.

No es posible aseverar que la inoculación por frotación sea inefectiva a través de los datos obtenidos. Únicamente se puede decir que es menos eficiente respecto al tiempo necesario para producir síntomas que el método de inoculación por punción lo cual resulta lógico. Al producirse una herida al fruto e introducirse esporas de un patógeno en ésta, la velocidad de infección debe ser mayor que si el hongo debe ingresar por sus propios medios. La inoculación por punción llegó a saturación (todos los frutos se enfermaron). En el caso de la inoculación por frotación no se puede saber si hubiera llegado al mismo punto pues el tiempo de toma de datos no fue suficiente. La

velocidad de aparición de frutos con síntomas era constante (figura 3), no iba en decremento. Al llegarse a una disminución de velocidad sería posible deducir que el número de frutos infectados está llegando a su máximo. Para comparar el número de frutos que pueden llegar a presentar la sintomatología deseada según el método de inoculación utilizado se deben comparar los máximos alcanzados por cada método. Sin embargo, para propósitos prácticos interesa reproducir los síntomas en el menor tiempo posible con lo que el método de inoculación por punción fue más útil para inocular *F. tabacinum* suponiendo que este patógeno se encontrara presente en el último paso de esta investigación (cuarto postulado de Koch).

b. Los frutos utilizados en la fase de inoculación no estaban infectados en una forma significativa por algún patógeno antes de iniciar el experimento. Si hubieran estado infectados el control tendría una media del número de frutos con los síntomas esperados no diferenciable estadísticamente de ningún tratamiento.

Los cultivos inoculados por punción procedentes de frutos con la sintomatología esperada contenían únicamente *Fusarium tabacinum* (cuadro 17). Esto comprueba que este hongo sea el agente causante de una pudrición del fruto del cardamomo. La aparición de otras especies de hongos en los

cultivos del grupo control y no así en el tratamiento de inoculación por punción (y en menor grado en el de inoculación por frotación) puede ser explicada de dos formas:

a. Al ser inoculado un fruto con una gran cantidad de esporas de *F. tabacinum* la infección es tan fuerte que el desarrollo de un hongo que había ingresado anteriormente sea inhibido. En el grupo control no ocurrió esta situación ya que el hongo que se encontraba en el fruto se pudo desarrollar libremente, sin ninguna competencia. Un dato que apoya en parte esta explicación es mencionado por Gerlach y Gams (14): en infecciones de *F. tabacinum* combinadas con *Septomyxa affinis* se redujo el daño producido por *Brevilegnia gracilis*. Esto significa que es posible que *F. tabacinum* inhiba el crecimiento de otro patógeno cuando es inoculado a una planta.

b. *F. tabacinum* causó la pudrición pero se encontraban presentes otros hongos contaminantes en los frutos. Al efectuarse un cultivo de los hongos, los contaminantes eliminaron a *F. tabacinum* dada la baja competitividad de este hongo a nivel de medio de cultivo.

Por otra parte, el hecho de que se encontraran otras especies de hongos abre la posibilidad de que uno o más de éstas sean capaces de producir síntomas similares a los que produce *F. tabacinum*. El Dr. John Bissett (en litt.)

detectó en uno de los cultivos enviados la presencia de Glomerella cingulata (Stonem.) Spaulding & Schrenk, o estado teleomórfico de Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Sacc. Este hongo causa pudriciones a frutos, hojas y tallos conocidas como antracnosis (21, 25). Es posible que G. cingulata también produzca síntomas similares a lo que produce Fusarium tabacinum. Sería aconsejable aislar este hongo de frutos de cardamomo e inocularlo a frutos sanos para que en el caso de reproducirse síntomas se efectúe una diferenciación entre las dos enfermedades.

Otra posibilidad es que Glomerella cingulata esté en una forma latente en el fruto y al ser el fruto cortado, transportado y colocado en una cámara de inoculación este hongo presente una sintomatología similar a la provocada por Fusarium tabacinum. Según Holliday (21) y Mordue (25), una de las más importantes y comunes formas de infección de G. cingulata es la producción de una infección latente en frutos tropicales. Se forman numerosas lesiones microscópicas e invisibles en los frutos durante todos sus estadios de crecimiento al penetrar la cutícula via un apresorio. Bajo ciertas condiciones, que se dan en la maduración, transporte o almacenamiento del fruto, unas pocas de estas infecciones se desarrollan hasta producir una necrosis. Esto no implica que G. cingulata sea un hongo que produzca lesiones como las de la enfermedad en estudio en las plan-

taciones de cardamomo. No se encontró ningún artículo reportando a *G. cingulata* como un patógeno de cardamomo.

Si la muestra utilizada hubiera sido mayor sería posible eliminar las parcelas donde aparecieron otros hongos y hacer una corrección a los datos. Al realizarse la corrección los grados de libertad se reducirían aumentándose con ello el error experimental. Sin embargo, aún trabajando con los datos sin corregir se obtienen diferencias significativas entre los tratamientos.

2. Diseño de parcelas totalmente al azar

No es necesario discutir los resultados obtenidos en este diseño pues los resultados fueron básicamente los mismos que en el diseño de bloques completos al azar. Esto viene a respaldar los resultados del primer diseño indicando que *Fusarium tabacinum* es el agente de una pudrición del fruto del cardamomo.

La utilización de una cámara de humedad con un vaporizador da en general los mismos resultados que la utilización de una caja plástica con esponjas húmedas cuando se desea inocular frutos de cardamomo con *F. tabacinum*.

Sería interesante comparar los datos obtenidos a nivel del laboratorio con inoculaciones a nivel de campo en

una zona en que esta enfermedad constituya un problema para no introducirla a una zona libre de ella y contar con las condiciones apropiadas para su desarrollo.

Cuadro 18. Número de frutos con síntomas de la enfermedad en el diseño de parcelas totalmente al azar por caja de Petri a cuatro intervalos de tiempo después de inoculados.

TRATA- MIENTO	No. CAJA	NO. HORAS			
		48	72	108	132
C O N T R O L	1	0	0	0	1
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	5	0	1	1	1
P U N C I O N	9	0	2	7	8
	10	2	2	4	7
	11	3	6	8	8
	13	1	2	4	7
F R O T A C I O N	17	0	0	2	3
	18	0	0	1	3
	19	0	0	2	2
	21	0	0	0	0

Concentración de conidias: 1.2×10^4 /ml

Cuadro 19. Promedio de frutos con síntomas del control y grupos experimentales a cuatro intervalos de tiempo después de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar.

TRATAMIENTO	\bar{X}			
	48 hr	72 hr	108 hr	132hr
Control	0.00	0.25	0.25	0.50
Punción	1.50	3.00	5.75	7.50
Frotación	0.00	0.00	1.35	3.00

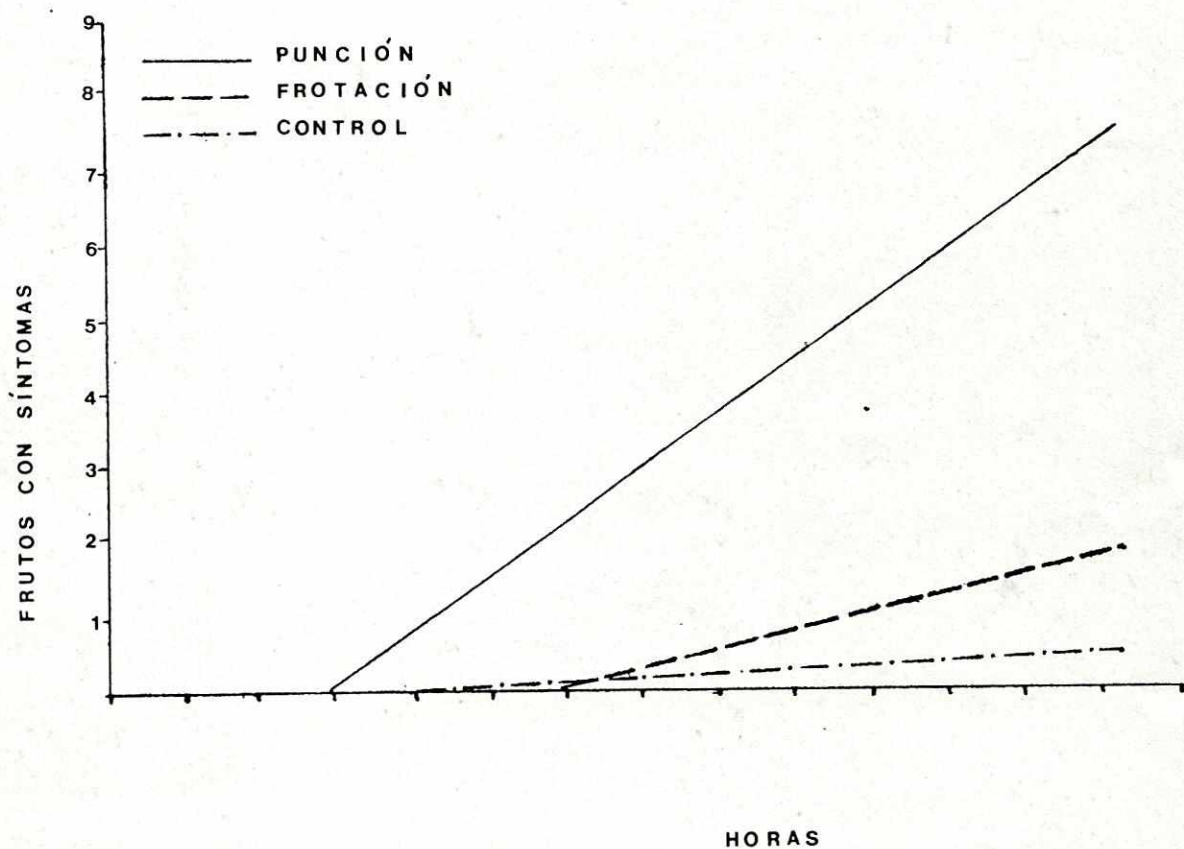


Figura 4. Promedio del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales a diferentes tiempos después de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar.

Cuadro 20. Ecuación de la recta y coeficiente de regresión del control y los grupos experimentales de la figura.

TRATAMIENTO	ECUACION DE LA RECTA	COEFICIENTE DE REGRESION
Control	$Y = 0.02 x - 1.19$	0.81
Punción	$Y = 0.07 x - 0.32$	0.98
Frotación	$Y = 0.02 x - 1.00$	1.00

Cuadro 21. Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 48 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar.

FUENTE VARIACION	G.L.	S.G.	C.M.	Fc.	Ft0.05
Tratamiento	2	6.00	3.00	5.36	4.26
Error	9	5.00	0.56		
Total	11	11.00			

Cuadro 22. Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 72 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar.

FUENTE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	Ft0.05
Tratamiento	2	22.57	11.28	8.00	4.26
Error	9	12.75	1.41		
Total	11	34.92			

Cuadro 23. Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 108 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar.

FUENTE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F _c	F _{t0.05}
Tratamiento	2	68.67	34.34	19.08	4.26
Error	9	16.25	1.80		
Total	11	84.92			

Cuadro 24. Análisis de varianza del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 132 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar.

FUENTE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F _c	F _{t0.05}
Tratamiento	2	108.67	54.34	61.75	4.26
Error	9	8.00	0.88		
Total	11	116.67			

Cuadro 25. Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 48 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar.

NO.	TRATAMIENTO	\bar{X} *	SIGNIFICANCIA
1	Punción	1.50	a
2	Frotación	0.00	b
3	Control	0.00	b

* Frutos con síntomas/No. cajas de Petri

Cuadro 26. Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 72 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar.

NO.	TRATAMIENTO	\bar{X} *	SIGNIFICANCIA
1	Punción	3.00	a
2	Frotación	0.25	b
3	Control	0.00	b

* Frutos con síntomas/No. cajas de Petri

Cuadro 27. Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 108 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar.

NO.	TRATAMIENTO	\bar{X} *	SIGNIFICANCIA
1	Punción	5.75	a
2	Frotación	1.25	b
3	Control	0.25	b

* Frutos con síntomas/No. cajas de Petri

Cuadro 28. Comparación de medias por el método de Duncan del número de frutos con síntomas de la enfermedad por caja de Petri en el control y los dos grupos experimentales después de 132 horas de inoculados en el diseño de parcelas totalmente al azar.

NO.	TRATAMIENTO	\bar{X} *	SIGNIFICANCIA
1	Punción	7.50	a
2	Frotación	2.00	b
3	Control	0.50	c

* Frutos con síntomas/No. cajas de Petri

Cuadro 29. Especies de hongos encontrados por parcela (caja de Petri) al reaislar el patógeno de los frutos con presencia de síntomas de la enfermedad en el diseño de parcelas totalmente al azar.

TRATAMIENTO	CAJA DE PETRI	<u>Fusarium</u> <u>tabacinum</u>	Hongo A	Hongo B	<u>Penicil-</u> <u>lum</u>
CONTROL	1		.X	X	X
	5		X		
FROTACION	9	X			
	10	X			
	11	X			
	12	X			
FROTACION	17	X			
	18	X		X	
	19	X			

V. CONCLUSIONES

1. El hongo Fusarium tabacinum es el agente causante de una pudrición en los frutos del cardamomo.

2. La inoculación esporas de Fusarium tabacinum por punción provoca la reproducción de síntomas más rápidamente que la inoculación por frotación con una concentración de conidias de 1.2×10^4 por mililitro de solución acuosa.

VI. LITERATURA CITADA

1. ABRAHAM, P. Now better possibilities with cardamom. *Plant Chron.* 52 (3): 65-73. 1957.
2. ALEXOPOULUS, G.J. y MIMS, C.W. *Introductory Mycology*. 3a Ed. New York, John Wiley & Sons, 1979. 632 p.
3. AMEZQUITA, M.O. Técnicas de producción en el cultivo del cardamomo (*Elettaria cardamomum*), según tamaño de explotación agrícola en Alta Verapaz. Tesis de Ing. Agr. Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala, 1978. 57p.
4. APROCAR y UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA. Memorias del I simposio de cardamomo en Guatemala. Guatemala, Universidad del Valle de Guatemala, 1985. 171p.
5. AREVALO, M.A. Nematodos asociados al cultivo del cardamomo en la zona sur cardamomera de Guatemala. Tesis de Ing. Agr. Facultad de Ciencias y Humanidades, Universidad del Valle de Guatemala. Guatemala, 1985.
6. BONILLA, O. Búsqueda de fuentes de resistencia y métodos de diagnosis al virus del mosaico en cardamomo. Facultad de Ciencias y Humanidades, Universidad del Valle de Guatemala. Guatemala, 1983. 66p.
7. BRATHWAITE, C.W.D. An introduction to the diagnosis of plant diseases. San José, I.I.C.A., 1981. 39p.
8. BOOTH, C. The genus *Fusarium*. Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Institute, 1971.
9. CASTILLO, S. Aislamiento del agente causante de la mancha foliar del cardamomo. Tesis de Ing. Agr. Facultad de Ciencias y Humanidades, Universidad del Valle de Guatemala, 1985. 39p.
10. CASTRO, O.R. Identificación, importancia y alternativas de control de la mancha negra de la base del tallo del cultivo de ajonjolí en el parcelamiento "La Máquina". Tesis de Ing. Agr. Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala, 1980. 58p.
11. COBLEY, L.S. An introduction to the botany of tropical crops. 2da Ed. London, Logman, 1977. 371p.

12. CRONQUIST, A. An integrated system of classification of flowering plants. New York, Columbia University Press, 1981. 1262p.
13. FRENCH, E.R. y HEBERT, T.T. Métodos de investigación fitopatológica. San José, I.I.C.A., 1980. 289p.
14. GAMS, W. y GERLACH, M. Beiträge zur systematik und biologie von Plectosphaerella cucumeris und der zugehörigen Konidienform. Persoonia (Alemania) 5(2):177-188. 1969.
15. GARLACH, W. y NIRENBERG, H. The genus Fusarium, a pictorial Atlas. NITT. BIOL. BUNDESANSTALT f. LAND u. FORSTWIRTSCHAFT. 406p.
16. GONSALVES, E., TRUJILLO, E. y HOCH, H.C. Purification and some properties of a virus associated with cardamom mosaic: a new member of the Potyvirus group. Plant Disease (U.S.A.) 69.
17. GONZALES, E. Cultivo del cardamomo. Guatemala, Dirección General de Servicios Agrícolas, 1977. 16p.
18. GONZALES, L.C. Introducción a la fitopatología. San José, I.I.C.A., 1981. 148p.
19. GUATEMALA. ANACAFE. El cultivo del cardamomo (Elettaria cardamomum). Guatemala, 1982. 15p.
20. HENTZE, F.W. Estudio preliminar sobre la virosis del cardamomo (Elettaria cardamomum). Tesis de Ing. Agr. Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala, 1982.
21. HOLLIDAY, P. Fungus diseases of tropical crops. Cambridge, Cambridge University Press, 1980.
22. INTERNATIONAL TRADE CENTRE. Market survey of cardamom in selected Middle East and West European countries. Génova, International Trade Centre, 1978.
23. LITTLE, T.M. y JACKSON, F. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. México D.F., Trillas, 1979. 270p.
24. MOLINA, M. Microbiología de suelos y técnicas fitopatológicas. Guatemala, Universitaria, 1957. 287p.

25. MORDUE, J.E.N. Glomerella cingulata. London, The Eastern Press Ltd., 1971.
26. PASCOE, I.G., NANCARROW, R.J. y COPES, C.J. Fusarium tabacinum on tomato and other hosts in Australia. Trans. Br. Mycol. Soc. (Gran Bretaña) 82(2): 343-345. 1984.
27. PURSEGLOVE, J.W. Tropical crops. Monocotyledons 2. New York, John Wiley & Sons, 1972. 607p.
28. PURSEGLOVE, J.W., BROWN, E.G., GREEN, C.L. y ROBBINS, S.R.J. Spices. Vol II. London, Logman, 1981.
29. ROSENGARTEN, F. The book of spices. New York, Pyramid Communications, Inc., 1973. 480p.
30. SAMAYOA, J.C. y SUEHAND, G.S. Cardamom. California, 1977. 28p. s.n.t.
31. SHERY, R.W. Plants for man. 2nda Ed. Englewood Cliffs, Prentice-Hall, Inc., 1972. 657p.
32. WELLMAN, F.L. Tropical american plant disease. Metuchen, New Jersey, The Scarecrow Press, Inc., 1972. 989p.