

INFLUENCIA DEL TIPO DE INOCULACIÓN DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* SOBRE PARÁMETROS DE INFECCIÓN EN CORMOS DE GLADIOLO

Ricardo Martínez-Rueda⁽¹⁾, Silvia Bautista-Baños^{(2)*} y Laura Leticia Barrera-Necha⁽²⁾

⁽¹⁾**Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología. km. 38.5. Carr. México-Texcoco. Chapingo, Estado de México, Mexico c. p. 56230.**

⁽²⁾**Instituto Politécnico Nacional-Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Carr. Yautepec-Jojutla km. 6, Col. San Isidro, Calle CEPROBI 8, Morelos, Mexico c. p. 6253. sbautis@ipn.mx**

Palabras clave: pudrición del cormo, Gladiolus spp, secadera

Introducción

Los productores de gladiolo en México se enfrentan con varios problemas fitosanitarios tanto en el cultivo como en los cormos. Entre las principales enfermedades destaca la ‘fusariosis’ siendo el agente causal *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*. La pudrición del cormo originada por este hongo es la enfermedad más importante del gladiolo y es transmitida por el suelo. Es el principal problema con el material de siembra (cormos) y se encuentra en raíces, cormos y principalmente en el suelo (CESVMOR, 2009). Es considerada la enfermedad más destructiva y se distribuye ampliamente en la mayoría de los países productores de gladiolo del mundo *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* es un patógeno importante que puede reducir la producción de cormos y flores de gladiolos y causar grandes pérdidas económicas a los productores.

La pudrición del cormo tiene tres diferentes formas: vasculares, raíz café y raíz basal seca. En cormos presenta pequeñas pudriciones húmedas, irregulares; varían de color al esporular. Dentro de los daños notables, baja el rendimiento de la flor y cuando los daños son severos se pierde la producción de cormos. Cuando los cormos infectados son plantados, los más severamente enfermos no germinan en el suelo, o germinan pero producen hojas débiles y amarillas que pronto mueren. Los cormos menos infectados pueden producir plantas que crecen normalmente hasta la última temporada. Eventualmente, las puntas de las hojas se tornan de un color amarillo y estas comienzan a morir gradualmente hasta que la planta entera está muerta. En hojas causa un amarillamiento que comienza por los extremos hasta secar la planta completamente, otro síntoma común en los primeros estadios de desarrollo, es un encorvamiento de las hojas tomando el aspecto de “cuerno torcido” (Anónimo, 1983; CESVMOR, 2009). Debido a la importancia de este hongo se han evaluado diferentes métodos de control, sin embargo, en experimentos controlados es necesario primeramente lograr la infección del patógeno en el material vegetal. Wilfret y Woltz (1973), realizaron un experimento para observar la susceptibilidad de diferentes variedades de gladiolos para *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* preparado por una mezcla de 7 aislamientos de *Fusarium*, el crecimiento del hongo en caldo papa dextrosa usando constante agitación del medio y diluido a 10^6 microconidios por mililitro. Aproximadamente 0.1 ml de la suspensión de esporas se pusieron en la superficie cortada de cada mitad de 25 cormos de cada variedad y se colocaron en bolsas de polietileno cubiertas con vermiculita húmeda. Jones y Jenkins (1974), evaluaron la resistencia en gladiolo a *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, en 25 variedades de gladiolo que se sembraron en macetas de plástico, los cormos de estas variedades se dañaron con un cepillo de alambre rígido en dos sitios, después se inocularon al verterse 50 ml del inóculo que consistía de esporas y micelio preparado del crecimiento del hongo en caldo dextrosa papa de 10 días de edad (el medio se mantuvo en un cuarto oscuro a 25 °C). Después de la inoculación, los cormos se sembraron.

En otro experimento realizado por Barrows-Broad y Dwinell (1980), el inoculo de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* se cultivo en medio Czapek, después de 4 días de haber sido sembrado a 25 °C la concentración se ajustó a 10^6 conidios ml^{-1} . La superficie de los cormos se esterilizó, después se hicieron orificios en los cormos con un horador del # 3 a una profundidad de 1.25 cm, el inoculo (0.1 ml) se adicionó dentro del orificio con una micropipeta, los orificios se taponaron con algodón estéril y los cormos se colocaron en bolsas de polietileno con suelo estéril. Roebroeck et al. (1990), obtuvieron cultivos monospóricos de *F. oxysporum* f.sp. *gladioli* para la inoculación de cormos de gladiolo, los cultivos monospóricos se hicieron en medio nutritivo agar papa dextrosa (PDA) y se incubaron a 25 °C por dos semanas. Las suspensiones de esporas se realizaron al verter 0.02% de Tween 80 en los medios de cultivo PDA raspando la superficie del agar con una espátula. Las suspensiones se filtraron para remover los fragmentos de micelio y las esporas se midieron con una cámara de Neubauer, la concentración de esporas se calculó en 100 esporas ml^{-1} y en otro tratamiento fue de 20 esporas ml^{-1} , ambas suspensiones fueron vertidas a diferentes bolsas de plástico antes de sembrar los cormos. Shakir et al. (1998), aislaron al patógeno de raíces y cormos con síntomas de la enfermedad. Porciones de los cormos infectados se cortaron y se colocaron en medio PDA y se incubaron a 25 °C. Los cormos sanos se sumergieron en una solución de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, la cual consistió en que a todo el contenido de medio de cultivo PDA de 15 días de edad se le adicionó 200 ml de agua esterilizada para después hacer la inmersión por 24 h de los cormos. Después se sembraron en suelo estéril, y se incubaron a diferentes temperaturas. Haan et al. (2000), realizaron la inoculación en cormos de gladiolo en las variedades “Peter Pears” y “Nymph” Los cormos de gladiolo se sumergieron en una suspensión de esporas 10^6 y se mezclaron con el suelo. Después de seis semanas de haberse sembrado los cormos y con una temperatura promedio de 23 °C se obtuvo el índice de patogenicidad. Sharma y Tripathi (2008), utilizaron para la inoculación la variedad de gladiolo “Friendship Pink”, los cormos se hirieron con un alfiler en distintos lados (aprox. 25 por cada cormo, cada pinchazo de 3 mm de profundidad con un diámetro 1.5 mm). Los cormos se inocularon bajo inmersión en una suspensión de conidios 10^6 del patógeno *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* durante 30 min. y se incubaron a 25 ± 2 °C durante 24 h.

En esta investigación entonces se compararon diferentes métodos de inoculación de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* en cormos de gladiolo de la var. ‘Roja borrega’ con la finalidad de evaluar el periodo de incubación, incidencia y severidad y así determinar la inoculación artificial más adecuada para llevar a cabo estudios a futuro bajo condiciones controladas.

Materiales y métodos

Lugar de muestreo para la obtención del inoculo y cormos de gladiolo. La zona de muestreo comprendió el municipio de Cuautla, que es uno de los principales municipios productores del cultivo de gladiolo en el estado de Morelos. Se llevó a cabo la colecta en el campo denominado “Puxtla” donde había áreas infestadas de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. Se colectaron cormos de gladiolo y plantas de diferentes variedades, los cuales presentaron síntomas característicos de la infección causada por *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. La toma de muestras se realizó en diferentes puntos de cada parcela en donde se observaron plantas con amarillamiento, marchitamiento y muerte total de la planta. Las muestras se sacaron con una pala recta y se colocaron en bolsas de plástico previamente etiquetadas (lugar, fecha), las cuales fueron llevadas al laboratorio de Fitosanidad del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CEPROBI) en Yautepec, Morelos; Mexico. Además de colectar plantas y cormos de gladiolo, se colectó suelo de la zona cercana a la raíz de las plantas de gladiolo

enfermas. Los cormos utilizados en los tratamientos fueron donados por la productora de gladiolo Sra. Ana Clemente Hernández y pertenecían a la variedad “Roja borrega”.

Aislamiento y purificación de *Fusarium*. Los cormos y plantas de gladiolo con los síntomas anteriormente descritos se colocaron en una solución con hipoclorito de sodio al 1% durante 3 min, después se enjuagaron con agua destilada estéril y se colocaron en cámaras húmedas durante 24 h para promover el crecimiento de micelio. Se tomaron porciones de micelio las cuales se colocaron en cajas Petri con PDA y se incubaron a temperatura ambiente durante 7 días. Para obtener cultivos monoconidiales las cepas se purificaron con la técnica de punta de hifa transfiriendo el micelio en cajas Petri con PDA. El suelo colectado se puso bajo condiciones de oscuridad y humedad (30 días).

Identificación del patógeno y preparación del inóculo. Para la identificación taxonómica de los aislamientos de *Fusarium* a nivel de género se utilizó la metodología de clasificación de Barnett y Hunter (1998); la cual toma en cuenta la forma y el color de la colonia, en el caso de *Fusarium* se observó un crecimiento algodonoso con coloraciones rosas, púrpuras y blancas. Para la identificación a nivel de especie de *F. oxysporum* se consideraron las descripciones de Booth (1971) y Domsch et al. (1980). Para la preparación de la solución de esporas se agregó primeramente agua estéril a la caja Petri con el inóculo de 10 días de edad y se raspó todo el contenido. Después se realizó el conteo de esporas en la cámara de Neubauer, ajustando la concentración final a 10^6 esporas ml^{-1} . A la solución de esporas se le adicionó Tween 20 ($20 \mu\text{l ml}^{-1}$).

Métodos de inoculación aplicados. Los métodos de inoculación probados consistieron en: **A. cormos naturalmente infectados.** El primer método de inoculación fue sembrar cormos que presentaban de forma natural síntomas (pequeñas pudriciones húmedas, irregulares, que variaban de color café a rojizo y hundidas) característicos de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. **B. cormos sanos e inoculación en suelo.** Se realizó un segundo método de inoculación que consistió en sembrar cormos sanos. Una vez emergida la raíz de aproximadamente 3 cm de longitud se le agregó al suelo 10 ml de la solución de esporas (10^6). Después de 5 días de la primera inoculación se realizó una segunda inoculación con 5 ml de la solución antes mencionada. **C. cormos dañados con punciones y sumergidos en suspensión de esporas.** El tercer método de inoculación consistió en sumergir cormos previamente dañados de forma manual en la solución de esporas de la cepa de *F. oxysporum* f.sp. *gladioli* (10^6) por 24 h. Los cormos se dañaron mediante punciones realizadas con una aguja de disección estéril, cerca de la zona de raíz (20 punciones). **D. cormos dañados con bisturí y sumergidos en suspensión de esporas.** El cuarto método de inoculación consistió en sembrar cormos sanos, en suelo estéril para su germinación. Una vez emergido el tallo y la raíz de aproximadamente 3 cm de longitud se hicieron heridas con bisturí en la zona de crecimiento de la raíz. Los cormos se sumergieron en la solución de esporas (10^6) de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* durante 48 h. **E. cormos sanos y dañados en raíz y sumergidos en suspensión de esporas por 24 h.** Otro método de inoculación consistió en sembrar cormos sanos en suelo estéril. Una vez emergida la raíz de aproximadamente 3 cm de longitud se realizaron heridas mecánicas sobre ésta en la zona de crecimiento de la raíz. Los cormos se sumergieron en solución de esporas (10^6) (Ea) y en otra solución con esporas y micelio (200 ml de agua destilada/caja) durante 24h (Eb). Estos dos tratamientos se repitieron pero dejando los cormos en la solución 48 h (Ec y Ed). **F. cormos dañados con sacabocado e inoculado con porciones de micelio.** El ultimo método de inoculación consistió en realizar orificios con un sacabocados en la parte inferior de los cormos y cercanos al corazón del cormo (aproximadamente 3.9 mm de diámetro y 1.5 cm de profundidad). Una vez que

se hizo el orificio en el corazón del cormo, se colocó micelio de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* bajo condiciones asépticas. El orificio se selló con cera de abeja para evitar la entrada de otros posibles patógenos. **G. Testigo.** El testigo consistió en sembrar cormos sin inocular, los cuales sólo se sumergieron agua.

Después de realizar los tratamientos los cormos se sembraron en dos tipos de suelo: estéril (121°C, 15 lb de presión durante 3 h) e infestado (suelo colectado de las áreas infestadas con *F. oxysporum*).

Diseño experimental. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 10 repeticiones por tratamiento (10 tratamientos y 2 niveles para suelo (estéril e infestado). Todas las plantas se regaron y se mantuvieron en a una temperatura de 28-30 °C y a 80-85% de humedad relativa.

Variables evaluadas. Las variables evaluadas fueron: (I) periodo de incubación (II) porcentaje de incidencia y (III) porcentaje de severidad de la enfermedad. El periodo de incubación se consideró como el periodo de tiempo que transcurrió desde la siembra del cormo hasta la aparición de los primeros síntomas. La incidencia de la enfermedad se evaluó a través del número de cormos que presentaron síntomas de pudrición con respecto al número total de cormos que se inocularon y se expresó en porcentaje. La severidad de la enfermedad se determinó a través de una escala de daños siguiendo la metodología propuesta por Unterstenhofer (1976) citado por Mendoza (1997). Estos autores demostraron que para algunas enfermedades hay una alta relación de significancia entre la incidencia y la severidad. En consecuencia, es posible estimar la severidad a partir de los datos de incidencia, facilitando así la estandarización de las fuentes y evaluaciones de la enfermedad. Se realizaron algunas adecuaciones en las escalas para describir la severidad de esta enfermedad y se utilizó finalmente la escala descrita en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Escala de severidad para evaluar la infección en cormos de gladiolo.

| Value | Infección en cormos |
|-------|--------------------------------|
| 0 = | No infectados (0%) |
| 1 = | Ligeramente dañados (1-20%) |
| 2 = | Moderadamente dañados (21-41%) |
| 3 = | Daño avanzado (41-60%) |
| 4 = | Severamente dañados (>61%). |

Análisis estadístico. Como los datos obtenidos para la incidencia bajo los diferentes tratamientos y bajo las dos condiciones de suelo estéril e inoculado fueron expresados simplemente con valores binarios, 1 y 0 para representar incidencia y no incidencia, respectivamente. Igualmente la variable severidad fue medida en base a una escala basada en valores enteros multiestado (0, 1, 2, 3, 4) y en porcentaje. En este caso se reportan los resultados empleando un modelo para variables categóricas. Los análisis se realizaron para las dos siguientes alternativas: 1. Análisis individuales para cada condición de suelo y considerando en el modelo solo a los tratamientos y 2. Análisis combinados a través de las dos condiciones de suelo y considerando en el modelo a los suelos, los tratamientos y la interacción suelo por tratamiento.

Resultados

Periodo de incubación, incidencia y severidad en suelo estéril. En suelo estéril la enfermedad se manifestó únicamente en tres de los 10 tratamientos y hasta la cuarta semana de incubación (28 días). Entre los tres tratamientos el porcentaje de incidencia se observó en un rango de 30 a 50%. El valor de la severidad varió de 1 a 3 entre los tratamientos y el mayor porcentaje de severidad (40-55%), se observó en los cormos del tratamiento 'cormos naturalmente infectados' (A) (Cuadro 2).

Periodo de incubación, incidencia y severidad en suelo infestado. Los primeros síntomas de pudrición y no germinación de los cormos aparecieron a los 14 días después de que se sembraron. Esto se observó en el suelo inoculado con el tratamiento "cormos dañados con sacabocado y posteriormente inoculados con porciones de micelio (F)" en donde hubo un 10% de incidencia y 80% de severidad (Cuadro 2). En la tercera semana de incubación (21 días) se incrementó la incidencia de la enfermedad en los cormos y la no germinación de éstos, la enfermedad se manifestó nuevamente en suelo inoculado en cuatro de los 10 tratamientos. Destacando la mayor incidencia y severidad en los tratamientos (F) (incidencia de 30% y severidad de 30-90%) y (A) (20% incidencia y severidad 80-84%). Los resultados en suelo con inóculo a la cuarta semana (28 días), mostraron que en el tratamiento (A) tuvo un 60% de incidencia y severidad de 60% a 90% mientras que el tratamiento (C) tuvo 20% de incidencia y severidad de 30 a 40%. El tratamiento testigo (G) tuvo en ambos casos 10% de incidencia y severidad.

Los resultados estadísticos indicaron que no hubo diferencias significativas en el análisis CATMOD individual, en cambio en el análisis CATMOD combinado si hubo diferencias significativas entre suelos y la interacción tratamiento suelo, lo cual nos permitió observar que si hubo diferencias significativas entre los diferentes tratamientos y entre los dos niveles de suelo (Cuadro 3).

En el análisis individual por tratamiento mostró que en el suelo estéril no hubo diferencias entre tratamientos al ser categorizados mediante la prueba de Tukey ($P = 0.05$) con la misma letra A. En el suelo infestado a los 28 días mostró diferencias entre tratamientos mostrando 3 categorías, la primera de ellas con la letra A correspondió únicamente al tratamiento A, la segunda categoría B correspondió a los tratamientos C y F y los demás tratamientos fueron iguales estadísticamente C (Cuadro 4).

En el último análisis combinado de suelo para la comparación entre suelo inoculado y suelo estéril se mostró que hubo diferencias ($P = 0.05$) entre suelos teniendo una severidad e incidencia más alta en el suelo inoculado en comparación con el suelo estéril (Cuadro 5).

Cuadro 2. Periodo de incubación y porcentaje de incidencia y severidad en cormos inoculados con diferentes métodos en suelo estéril e infestado.

| Tratamiento | Periodo de incubación (días) | % Incidencia | % Severidad |
|---------------|---------------------------------|--------------|-------------|
| Suelo estéril | | | |
| A | 28 | 50% | 40-55% |
| C | 28 | 30% | 25-30% |

| | | | |
|-----------------|----|-----|--------|
| F | 28 | 30% | 10-40% |
| Suelo infestado | | | |
| F | 14 | 10% | 80% |
| A | 21 | 20% | 80-84% |
| C | 21 | 20% | 40% |
| F | 21 | 40% | 30-90% |
| T | 21 | 10% | 30% |
| A | 28 | 80% | 60-90% |
| C | 28 | 40% | 30-40% |
| Ec | 28 | 10% | 19% |
| F | 28 | 50% | 80% |
| G | 28 | 10% | 10% |

Cuadro3. Análisis individual y combinado para cada tipo de suelo usando el método categórico Individual (CATMOD, SAS) en términos de suelo, tratamientos y la interacción tratamiento*suelo.

| Modelo | Suelo | Evaluación 28 días | Escala de severidad | Porcentaje de severidad |
|------------|-------------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|
| Individual | estéril | 0.3185* | 0.6156 | 0.2172 |
| | infestado | 0.0174 | 0.0001 | 0.0001 |
| Combined | suelo | 0.0002** | 0.0001 | 0.0001 |
| | tratamiento | 0.0001 | 0.0001 | 0.0001 |
| | tratamiento*suelo | 0.0262 | 0.0001 | 0.0001 |

Probabilidad de error Tipo I asociada a la hipótesis nula de igualdad de efectos de los tratamientos. **Probabilidad de error Tipo I asociada a la hipótesis nula de igualdad de efectos para cada factor de estudio.

Cuadro 4. Análisis combinado para cada tratamiento (LSD , P = 0.05).

| Tratamiento | Evaluación 28 días Suelo estéril | Evaluación 28 días Suelo infestado |
|-------------|-------------------------------------|---------------------------------------|
| A | 0.5 A* | 0.8 A |
| C | 0.3 A | 0.4 B |
| F | 0.3 A | 0.5 B |
| B | 0.0 A | 0.0 C |
| D | 0.0 A | 0.0 C |
| Eb | 0.0 A | 0.0 C |
| Ec | 0.0 A | 0.0 C |
| Ed | 0.0 A | 0.1 C |
| Ea | 0.0 A | 0.0 C |
| G | 0.0 A | 0.1 C |

*Medias con letras iguales no son significativamente diferentes.

Cuadro 5. Análisis combinado para la comparación de suelos (LSD, P = 0.05).

| Suelo | Evaluación 28 días | Escala de severidad | Porcentaje de severidad |
|-----------|-----------------------|------------------------|----------------------------|
| Infestado | 0.1919 A* | 0.5960 A | 11.545 A |
| Sterile | 0.1111 B | 0.2323 B | 3.889 B |

*Medias con letras iguales no son significativamente diferentes.

Discusión

Durante el desarrollo de esta investigación, no se encontraron estudios publicados que reportaran como objetivo de estudio evaluar metodologías de inoculación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*. Tal vez dándose por hecho la reproducibilidad de los métodos de inoculación reportados en las investigaciones sobre este hongo (Jones y Jenkins, 1974, Barrows-Broad y Dwinell, 1980, Roebroek et al., 1990, Roebroek y Mes, 1992, Ram, 2004; Haan et al., 2000, Khan y Mustafa, 2005; Riaz et al., 2009). Los objetivos de las investigaciones de estos autores se enfocaron en evaluar entre otros aspectos de control de este hongo tal como, efectividad biológica de productos biológicos y químico así como la búsqueda de variedades resistentes, sin embargo, cuando en esta investigación estas metodologías se reprodujeron bajo condiciones ambientales adecuadas para el desarrollo de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, no se obtuvieron resultados alentadores, es decir no se logró la infección. Por otro lado, la estimación de la incidencia y severidad en estudios de efectividad biológica tanto de productos biológicos y químicos contra esta enfermedad, mostraron resultados muy variables y con pocas coincidencias entre sí. En la revisión de literatura se reportan porcentajes de incidencia en un rango de 1 al 100 y en algunos casos sin llegar a obtener la infección ((Wilfret y Woltz, 1973; Magie, 1980a,b; Rattink, 1986; Straathof et

al., 1997; Haan et al., 2000; Khan y Mustafa, 2005, Sharma y Tripathi, 2008, González, 2009,).

En general en nuestros resultados se pudo observar que la infección fue más rápida y efectiva cuando los cormos se sembraron en suelo que contenía el inoculo. La mayor incidencia se obtuvo con suelo sin esterilizar el cual como se mencionó en el capítulo de Materiales y Métodos, fue colectado en la zona cercana a la raíz de plantas de gladiolo, el cual probablemente contenía una mayor población de propágulos infectivos de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* en comparación con el suelo estéril. En estudios realizados por Bautista (2002), menciona que cuando los cormos se plantaron en suelo infestado con este patógeno, el hongo infectó las raíces y colonizó la zona de elongación en el área de tejido de forma más segura. Asimismo, puede considerarse la interacción entre organismos presentes en el suelo, tanto bacterias, nematodos y ácaros, que al convivir de manera natural pudieron interactuar con los cormos, utilizando el curso natural de la infección y los niveles naturales del inoculo en el suelo como lo reportaron Hillocks y Waller (1997).

En esta investigación, el periodo de manifestación del hongo coincidió con lo reportado en la literatura por varios autores (Wilfret y Woltz, 1973, Roebroek et al., 1990, Straathof et al., 1998, Sharma y Tripathi, 2008, González, 2009), los cuales mencionan como el periodo de incubación o la aparición de síntomas es a partir de la segunda y cuarta semana después de inocular de manera artificial ya sea en cormo o el suelo. La mayor expresión de la enfermedad se observó en el tratamiento 'cormos naturalmente infectados' tanto en suelo estéril como inoculado. A los 21 días, en suelo estéril e inoculado, hubo incidencia y severidad alta, incrementándose hasta los 28 días de evaluación en el segundo caso. Indicando esto que el hongo ya se encontraba bien establecido en el interior del cormo. Es necesario resaltar que en aquellos tratamientos en donde los cormos también manifestaron infección (tratamientos C y F) siempre hubo daño mecánico inducido previo a la infección artificial. El tiempo de inoculación de 24h pareció suficiente para que la infección se llevara acabo.

Referencias

- ANÓNIMO. *Gladiolus* corm rot. Report on plant disease. University of Illinois. RPD No. 651: 1-6, 1983.
- BALD, G.J.; FERGUSON, J.; MARKLEY, B.B. Treatment of gladiolus cormels hot water bath treatment of planting stock shows promise as means of controlling serious corm-borne fungus diseases. **California Agriculturae** 6(10):15-16, 1956
- BARNETT, L.H.; HUNTER, B.B. Illustrated genera of imperfect fungi. The American Phytopathological Society; 4th edition. U.S.A. 240 p. 1998.
- BARROWS-BROAD, J.; DWINELL, D.L. Decay and colonization of *Gladiolus* corms by the pine pitch canker fungus. Etiology. **American Phytopathological Society** 70 (9): 847-850, 1980.
- BAUTISTA, M.N. Manejo fitosanitario de ornamentales. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados, México. 237, 2002.
- BOOTH, C. The genus *Fusarium*. CAB-Commonwealth Mycological Institute. England. 237 p. 1971.

CAMPBELL, T. B. AND BOWER, J.P. *Gladiolus scabridus*-the Road to Conservation and Commercialization. In: International Horticultural Congress: Elegant Science in Floriculture. **Acta Horticulturae** 624:67-72, 2003.

CESVMOR. Guía fitosanitaria del cultivo del gladiolo. Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Morelos, México. 26 p. 2009.

DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T.H. Compendium of soil fungi. London: Academic Press. Vol. 1:646 p. 1980.

GONZÁLEZ, P.E.; YAÑEZ, M.M.J.; ORTEGA, E.H.M. Comparative analysis among Pathogenic fungal species that cause gladiolus (*Gladiolus grandiflorus* Hort.) corm rot in Mexico. **Revista Mexicana de Fitopatología** 27(1):45-52, 2009.

HANN, M.A.L.; NUMANSEN, A.; ROEBROECK, A.J.E.; VAN DOORN, J. PCR detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* race 1, causal agent of *Gladiolus* yellows disease, from infected corms. **Plant Pathology** 49 (1): 89-100, 2000.

HILLOCKS, R.J.; WALLER, J.M. Soilborne diseases of tropical crops. Wallingford, U.K. CAB International. 452 p. 1997.

JONES, K.R.; JENKINS, M.J. Evaluation of resistance in *Gladiolus* sp. to *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*. **Phytopathology** 65: 481-484, 1974.

KHAN, R.M.; MUSTAFA, U. Corm rot and yellows of gladiolus and its biomanagement. **Phytopathologia Mediterranea** 44(2):208-215, 2005.

LESZCZYŃSKA, B.H.; MICHAL, W.B. Gladiola. Editorial EDAMEX. 166p. 1994.

MAGIE, R.O. *Fusarium* disease of gladioli controlled by inoculation of corms with non-pathogenic Fusaria. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society** 93:172-175, 1980a

MAGIE, R.O. Biological control of *Fusarium* disease of *Gladiolus*. III International Symposium on Flower bulbs. **Acta Horticulturae** 109:415-420, 1980b

MENDOZA, Z.C. Certificación de estudios de efectividad biológica de plaguicidas. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. 279 p. 1997.

RAM, R.; MANUJA, S.; DHYANI, D.; MUKHERJEE, D. Evaluations of fortified solutions in managing corm rot disease of gladiolus caused by *Fusarium oxysporum*. **Crop Protection** 23 (9): 783-788, 2004.

RATTINK, H. Some aspects of the epidemiology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* on *Freesia*. In IV International Symposium on Flower Bulbs. **Acta horticulturae** 177: 85-91, 1986

RIAZ, T.; NAWAZ, K.S.; JAVAID, A. Management of corm-rot disease of *Gladiolus* by plant extracts. Ed. Taylor & Francis Natural product research part A. pp: 1-8. 2009a.

ROEBROECK, A J.E.; GROEN, A.P.N.; MES, J.J. Detection of latent *Fusarium oxysporum* in *Gladiolus* corms. In V International Symposium on Flower Bulbs. **Acta Horticulturae** 266:469-476. 1990.

ROEBROECK, A.J.E.; MES J.J. Biological control of *Fusarium* in gladiolus with non-pathogenic *Fusarium* isolates. In VI International Symposium on Flower Bulbs. **Acta Horticulturae** 325:769-779, 1992.

SHAKIR, S.A.; HAQ, E.; AYUB, M. Studies on pathogenecity and eradication of some fungal diseases of gladiolus in Pakistan. **Pakistan Journal of biological sciences** 1 (1): 23-26. 1998.

SHARMA, N.; TRIPATHI. Integrated management of postharvest *Fusarium* rot of gladiolus corms using hot water, UV-C and *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. essential oil. **Postharvest Biology and Technology** 47 (2): 246–254. 2008.

STRAATHOF, P.T.; JANSEN, J.; ROEBROECK, A.J.E.; LOEFFER, M.J.H. *Fusarium* resistance in *Gladiolus*: Selection in seedling populations. **Plant breeding** 116(3):283-286, 1997.

STRAATHOF, P.T.; ROEBROECK, A.J.E.; LOEFFER, M.J.H. Studies on *Fusarium*-*Gladiolus* interactions. **Journal of Phytopathology** 146(2-3):83-88, 1998.

WILFRET, G.J.; WOLTZ, S.S. Susceptibility of corms of gladiolus cultivars to *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* Snyder & Hans. at different temperatures. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society** 86: 376-378.