Método para el muestreo de esporas de hongos en una plantación de guayabo (*Psidium guajava* L.)¹

A Method for sampling fungal spores in a guava (*Psidium guajava* L.) plantation

E. Pérez^{2,7}, R. Santos^{4,7}, A. Montiel^{4,7}, F. Isea^{6,7}, M. Marín^{3,7} y L. Sandoval^{5,7}

Resumens

Con la finalidad de evaluar una metodología adecuada para determinar la micoflora incidente en plantaciones de guayabo se desarrolló un ensayo experimental para evaluar diferentes alturas de muestreo, tiempos de exposición y sustratos a usar en la superficie de colección; así como identificar y cuantificar esporas y géneros de los hongos colectados. El ensayo se realizó en una plantación comercial de guayabo del municipio Mara, estado Zulia. Se seleccionaron 36 árboles a pie franco como sitio de muestreo. Las superficies de colección fueron ubicadas en ramas del árbol en la dirección del viento (Norte-Sur). Las alturas de muestreo evaluadas fueron 1,0 y 1,70 m, los tiempos de exposición 2 y 4 días y los sustratos petrolato, cinta adhesiva y agar-agua. Se hicieron observaciones en 2 cm2 de la superficie de colección con un microscopio Olympus (400X). Se utilizó un diseño totalmente al azar con arreglo factorial 2² x 3, y 12 repeticiones. El contaje de esporas se facilitó en agar-agua y cinta adhesiva, no así en petrolato. No se encontraron diferencias significativas para número de géneros (NG) y número de esporas (NE) por efecto de las alturas de muestreo estudiadas pero sí para su interacción con el tiempo de exposición. El análisis estadístico determinó diferencias significativas para sustrato, tiempo de exposición y su interacción, resultando en petrolato los mayores NG y NE para un tiempo de exposición de 4 días. Los menores NG y NE se colectaron en agar-agua y cinta adhesiva. Se colectó un

Recibido el 1-4-2002 ● Aceptado el 5-9-2002

¹ Proyecto cofinanciado por CONDES-LUZ (01736-98) y FONACIT (S1-2378, S1-2808, S1-2000000795).

² Centro Frutícola del Zulia-CORPOZULIA, Gerencia Desarrollo Agrícola, piso 6, Av. 4 Bella Vista, Maracaibo, estado Zulia. E-mail: evelyncpp@cantv.net.

³ Departamento de Botánica. Facultad de Agronomía, La Universidad del Zulia (LUZ). Apartado 15205. Maracaibo 4005 Zulia. Venezuela.

⁴ Unidad Técnica Fitosanitaria (UTF). Facultad de Agronomía, LUZ.

⁵ Instituto de Investigaciones Agronómicas (IIA). Facultad de Agronomía, LUZ.

⁶ Universidad Nacional Experimental Sur del Lago (UNESUR).

⁷ Grupo de investigadores del Programa Bases fundamentales del cultivo del guayabo y otros frutales en la cuenca del lago de Maracaibo y el Proyecto Bases para el manejo integrado de los problemas fitosanitarios del cultivo del guayabo

total de 18 tipos de esporas entre las cuales se identificaron nueve géneros, 7 de los cuales son fitopatógenos: *Dothiorella, Cladosporium, Alternaria, Curvularia, Cercospora, Helminthosporium, Fusarium*, y 2 saprófitos: *Beltrania* y *Tetraploa*. **Palabras clave:** Colección, esporas de hongos.

Abstract

With the objective of developing an effective methodology to collect fungal spores in guava plantations, an experiment was carried out to evaluate different sampling heights, exposure times, substrates to be used on the collection surface, and to identify fungal spores collected. The trial was conducted in a guava plantation located in Mara county, Zulia state. Thirty six non-grafted guava plants were selected at the sampling site. The collection surfaces were oriented toward the prevailing winds (North-South) on the tree branches. The sampling heights were 1.0 and 1.70 m, the exposure times were 2 and 4 days, and the substrates were petroleum jelly, adhesive tape, and water-agar. The observations were made over 2 cm² of the collection surface with an Olympus microscope (objective: 40x and Ocular: 10x). Numbers of genera (NG) and spore numbers (NE) were analyzed using a completely randomized design with a factorial arrangement 2^2 x 3, and 12 repetitions. Spore counting was easier on water-agar and adhesive tape. No significant differences were detected for NG and NE at the sampling heights studied. For substrate, exposure time, and their interaction the analysis detected significant differences resulting in petroleum jelly with the highest NG and NE for an exposure time of 4 days. Water-agar and adhesive tape showed the lowest NG and NE. A total of 18 fungal spores types were collected, identifying nine genera with seven being phytopathogenic: Dothiorella, Cladosporium, Alternaria, Curvularia, Cercospora, Helmithosporium, and Fusarium and two saprophytes: Beltrania and Tetraploa.

Key words: Collections, fungi spores.

Introducción

La planicie de Maracaibo posee un apreciable potencial para la producción de frutales de origen tropical. Entre éstos, el guayabo (*Psidium guajava* L.) ha demostrado una excelente adaptación manifestada tanto en altos rendimientos como en la calidad de los frutos (14). La demanda para el mercado fresco, la industria de jugos, mermeladas y conservas a nivel nacional. así como

las perspectivas de exportación del producto procesado, constituyen grandes incentivos para el aumento del área de producción en el futuro (6,26). Sin embargo, en la zona noroccidental del estado Zulia, el cultivo es afectado por plagas como el nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (10,11), la mota blanca *Capulinia* sp. (8,9) y enfermedades fungosas como la pudrición apical del fruto causada por

Dothiorella sp., fase conidial de Botryosphaeria dothidea (7) y el necrosamiento del fruto causado por Pestalotiopsis psidii (14), problemas fitosanitarios que han diezmado la producción del cultivo. La pudrición apical del fruto del guayabo ha causado pérdidas hasta del 62% de la producción (16), por lo cual se hace necesario realizar muestreos seguros y correctos del patógeno, de forma de lograr el entendimiento de su epifitiología. Estos además muestreos ayudan desarrollar modelos epifitiológicos, que constituyen un medio para la predicción y medición de la incidencia de una enfermedad (3).

En Oriza sativa usualmente se enfatiza la importancia de la densidad de esporas de hongos patógenos en el aire como un indicador esencial, ya que el número de sitios infectados en plantas en el campo está estrechamente relacionado con ésta (2). Por tal razón, la medición exacta de la cantidad de inóculo aéreo es crucial para desarrollar y aplicar sistemas de predicción de enfermedades en el cultivo (18). Entre los métodos que han sido usados para medir la cantidad de esporas de *Pyricularia grisea* Sacc., se incluyen láminas de vidrio, plantas trampa (18) y muestreadores volumétricos, tales como varillas y muestreadores de succión (3,18).

En el campo se han llevado a cabo comparaciones entre muestreadores de esporas, tales como las varillas de vidrio y las láminas portaobjeto. Estos estudios han revelado que los muestreadores tipo varilla colectaron más uredosporas de roya por unidad de área que las de tipo lámina; así mismo, que hay un incremento en la variación del número de esporas colectadas por ambas trampas, cuando decrece el número de esporas (21). En el estado Zulia se han realizado estudios para determinar la micoflora del ambiente en plantaciones de guayabos (17), así como estudios preliminares para definir una metodología de colección de esporas del ambiente (15).

El presente estudio se realizó con la finalidad de evaluar una metodología adecuada para determinar la micoflora del ambiente de plantaciones de guayabo estableciendo como objetivos evaluar diferentes alturas de muestreo, tiempos de exposición, superficies de colección y tipo de sustratos, así como la identificación y cuantificación de esporas y géneros de hongos colectados.

Materiales y métodos

Localización del ensayo: El ensayo se realizó en la Agropecuaria "Los Ciénegos" (lat 10°52′20′N; long 71°49′55′W) ubicada en el sector "Ciénega de Reyes" del municipio Mara, estado Zulia. Se seleccionaron treinta y seis árboles al azar como

puntos de colección.

La investigación se llevó a cabo durante un período de 30 días, en el cual se registró un promedio de 30°C de temperatura, 65-70% de humedad relativa y 30,22 mm de precipitación (datos de estación meteorológica

portátil Weather Monitor II. Davis Instruments Corp. Hayward, CA). Los frutos enfermos se recogieron del suelo y se eliminaron, se realizó el control de malezas y se aplicó el riego por microaspersión con una frecuencia de tres veces por semana.

Sustrato: La colección de esporas se realizó con cinta adhesiva (marca Celoven®) de 1 cm de ancho y 10 cm de largo, agar-agua y petrolato. Para el agar-agua y petrolato se usaron láminas portaobjeto previamente esterilizadas. En el caso del agar-agua se dispensó 1 mL sobre la lámina de vidrio con la ayuda de una pipeta graduada esterilizada y el petrolato se dispersó sobre la lámina con la ayuda de una espátula igualmente esterilizada. La cinta adhesiva se fijó a la rama dejando expuesta la superficie adhesiva.

Altura de muestreo: Para la colocación de las superficies de colección se seleccionaron ramas del árbol que estuviesen a 1,0 y 1,70 m de altura y en la dirección del viento (Norte-Sur), a las cuales se sujetaron con adhesivo.

Tiempo de exposición: Las superficies de colección se expusieron durante 2 y 4 días, realizando un muestreo para cada tiempo de exposición.

Procedimiento de laboratorio: Una vez recolectadas las láminas portaobjeto fueron llevadas al laboratorio de Microbiología Agrícola de la Unidad Técnica Fitosanitaria (UTF) del Instituto de Investigaciones Agronómicas (IIA), Facultad de Agronomía, de La Universidad del Zulia (LUZ). Las láminas fueron

teñidas directamente con azul de metileno preparado en agua y cubiertas con cubre objeto de 2,4 cm x 5 cm (12 cm²). Para la observación de la cinta adhesiva, se procedió a distribuir 3 gotas de azul de metileno sobre láminas portaobjeto previamente esterilizadas para luego proceder a adherir la cinta. Una vez preparadas las láminas se procedió a realizar el contaje de las esporas con un microscopio Olympus (400X) sobre 2 cm², en la parte central y a lo largo de la lámina (17). Los hongos colectados fueron identificados hasta género con la ayuda de claves ilustradas (4,5,12,25).

Diseño experimental: El diseño utilizado fue completamente al azar con un arreglo factorial 2^2 x 3, y 12 repeticiones. Los factores en estudio fueron: altura de muestreo a dos niveles (1,0 m y 1,70 m), tiempo de exposición a dos niveles (2 y 4 días) y sustrato a tres niveles (agar-agua, petrolato y cinta adhesiva). La unidad experimental estuvo representada por una lámina portaobjeto.

Las variables estudiadas fueron el número de géneros de hongos (NG) y el número de esporas de hongos (NE). La variable número de esporas (NE) fue transformada por $\sqrt{y}+1$ para lograr su ajuste de normalidad (24).

El análisis estadístico se realizó haciendo uso del programa Statistical Analysis System (24), efectuándose el análisis de la varianza mediante el procedimiento Proc GLM, y las pruebas de medias para los efectos significativos se realizó mediante el MDS de medias ajustadas por el modelo (LS means) de este procedimiento.

Resultados y discusión

Sustrato: La colección de esporas se facilitó al usar agar-agua y petrolato sobre lámina portaobjeto en comparación con cinta adhesiva, debido a la dificultad que representó realizar en campo el montaje de la cinta adhesiva en la lámina portaobjeto para llevarla al laboratorio. Cabe mencionar que hubo pérdida de cinta adhesiva a causa del viento, ya que se dificultó mantenerlas fijas a las ramas de los árboles; además, la calidad de la imagen fue inferior al usar cinta adhesiva, en comparación con el uso de la lámina portaobjeto con su respectivo cubreobjeto.

El contaje de las esporas hialinas colectadas en cinta adhesiva y láminas con agar-agua se realizó con mayor facilidad, debido a que se logró uniformidad en la tinción de las esporas colectadas en el sustrato con la solución colorante; mientras que en dificultó petrolato se por desuniformidad de la tinción de las esporas, debido a la miscibilidad de la solución colorante con el sustrato utilizado, ya que el petrolato es una sustancia orgánica con características no polares y el agua es una sustancia polar.

El contaje de esporas colectadas en las láminas con petrolato requirió mayor tiempo en comparación con el contaje de las esporas colectadas en la cinta adhesiva y el agar-agua, debido a que al aplicar el petrolato sobre la lámina, la superficie del sustrato quedó en forma irregular, depositándose las esporas a diferentes profundidades, por lo que continuamente debía corregirse el enfoque del microscopio para

detectar las esporas colectadas. Sin embargo, es importante señalar que el petrolato ha sido usado como sustrato para la colección de esporas de *Cercospora hayi* en banano, de *Puccinia graminis* y *P. recondita* en *Triticum* sp. y *P. horiana* del crisantemo, dando buenos resultados para estudios de epifitiología (13,20,22).

En las láminas con agar-agua se observó un mayor número de esporas germinadas en comparación con el resto de los sustratos utilizados, debido a que éste ofrece condiciones propicias para la germinación de las mismas (1).

En el análisis de varianza se detectaron diferencias significativas (P<0,01) entre los sustratos utilizados en cuanto a NE y NG (cuadro 1). El menor NE colectado en agar-agua pudo ser debido a que una vez expuesto en el campo, el medio permaneció hidratado por muy poco tiempo por las condiciones climáticas que imperaron en la zona durante el ensayo (temp. 30 °C, hr 65-70 % y 30,22 mm de precipitación). Esto fue igual, aunque en menor grado, para la cinta adhesiva. Con respecto al NG, el menor número fue colectado en la cinta adhesiva seguido por agar-agua, mientras que en petrolato se colectó el mayor valor al igual que para NE, indicando que éste es un sustrato efectivo para la colección de esporas al permanecer adhesivo por mayor tiempo.

Altura de muestreo: En el análisis estadístico se detectaron diferencias significativas en NE y NG para la interacción altura de muestreo y tiempo de exposición, pero no para el efecto simple de altura de muestreo.

Cuadro 1. Número de esporas y géneros de hongos colectados en tres sustratos de una plantación de guayabos del municipio Mara, estado Zulia.

Sustrato	Número de esporas	Error standard	Número de géneros	Error standard
Agar-Agua	121,71 ^ь	35,18	5,50 b	0,29
Cinta adhesiva	134,81 b	36,62	3,40 ^c	0,29
Petrolato	411,58 a	35,53	7,65 a	0,29

Medias seguidas de letras diferentes presentan diferencias estadísticas significativas (P<0,01).

Resultados similares fueron observados por Villegas y Baeza (27), quienes realizaron muestreos de esporas de *Hemileia vastatrix* a varias alturas del árbol, no encontrando diferencias en el número de esporas concluyendo colectadas. posiblemente fue debido a las turbulencias del viento que se generan en la plantación y que mantienen las esporas en movimiento dentro de la misma. Sin embargo, estudios realizados por Pérez *et al.* (15) reflejaron que aun cuando no hubo diferencia entre el número de esporas colectadas a las alturas de muestreo evaluadas, el mayor número de esporas se colectó a la menor altura de colección y menor distancia de siembra entre plantas.

Tiempo de exposición: En el análisis de varianza se detectaron diferencias significativas (P<0,01) para tiempo de exposición, encontrándose el mayor NE promedio (308,97 esporas) y NG promedio (7,17 géneros) a los cuatro días (cuadro 2) debido a que hubo mayor oportunidad para el impacto de las esporas sobre las superficies de colección.

Interacción tiempo de exposición y sustrato: En el cuadro 3 se muestra la interacción tiempo de exposición y sustrato para la cual en el análisis de varianza se detectaron diferencias significativas para NE y NG (P<0,01). El NE colectado en cinta adhesiva con un tiempo de exposición de 2 días fue mayor (58,88 esporas) en comparación con el agar-agua (16,58

Cuadro 2. Número de esporas y géneros de hongos colectados en dos tiempos de exposición en una plantación de guayabos del municipio Mara, estado Zulia.

Exposición (días)	Número de esporas	Error standard	Número de géneros	Error standard
2	136,43 ь	28,73	3,86 b	0,24
4	308,97 a	29,73	7,17 a	0,24

Medias seguidas de letras diferentes presentan diferencias estadísticas significativas (P<0,01).

Cuadro 3. Variación en el número de esporas y géneros de hongos colectados para la interacción tiempo de exposición y sustrato, en una plantación de guayabos del municipio Mara, estado Zulia.

Tiempo de Exposición (días)	Sustrato	Número de esporas	Error standard	Número de géneros	Error standard
2	Agar-Agua	16,58 ^d	49,76	2,66 °	0,41
	Cinta-Adhesiva	58,88 ^c	49,76	3,29 °	0,41
	Petrolato	333,83 ab	49,76	5,63 b	0,41
4	Agar-Agua	226,83 ab	49,76	8,33 a	0,41
	Cinta-Adhesiva	$210,75^{\mathrm{\ b}}$	53,74	3,50 °	0,41
	Petrolato	489,32 a	50,88	9,67 a	0,41

Medias seguidas de letras diferentes presentan diferencias estadísticas significativas (P<0,01).

esporas), por lo tanto a menor tiempo de exposición la cinta adhesiva colectó el mayor NE en comparación con agaragua. Sin embargo, entre estos sustratos no se observó diferencia en el NE colectadas cuando el tiempo de exposición en el campo fue de 4 días, indicando que a mayor tiempo de exposición no existe diferencia en el NE colectadas en agar-agua y cinta adhesiva. El petrolato fue el sustrato utilizado que colectó el mayor número promedio de esporas para 2 y 4 días de exposición, 333,83 y 489,32 esporas, respectivamente.

El NG promedio colectado en petrolato a los 4 días de exposición fue mayor al NG colectado a los 2 días (5,63 géneros). Entre el agar-agua y la cinta adhesiva no hubo diferencias significativas para NG colectados a los 2 días de exposición pero si para 4 días, con el mayor NG colectado en agaragua, sin embargo, agar-agua no fue estadísticamente diferente a petrolato (cuadro 3).

Con respecto a la interacción triple de los factores de estudio tiempo de exposición, sustrato y altura de colección no se observó efecto significativo sobre las variables respuesta (resultados no mostrados).

Interacción tiempo exposición y altura: En el cuadro 4 se muestra la interacción tiempo de exposición y altura, para lo cual se detectaron diferencias significativas (P<0,01) según el análisis de varianza. El NE colectadas a 1,0 y 1,70 m no fue diferente a los 2 días de exposición pero si para 4 días, encontrándose para este tiempo de exposición el mayor NE a 1,0 m (410,27 esporas) con respecto a la exposición a 1,70 m (207,65 esporas). Similar comportamiento fue observado para NG, con el mayor valor para 1,0 m de altura y 4 días de exposición (8 géneros) con respeto a la colección a 1,70 m (6,33 géneros). A mayor tiempo de exposición mejoró el NE y NG colectados pero a menor altura.

Estudios realizados en

Cuadro 4. Variación en el número de esporas y géneros de hongos colectados para la interacción tiempo de exposición y altura de colección, en una plantación de guayabos del municipio Mara, estado Zulia.

Tiempo de Exposición (días)	Altura (m)	Número de esporas	Error standard	Número de géneros	Error standard
2	1,00	136,75 °	40,63	3,86 °	0,3
	1,70	136,11 ^c	40,63	3,86 °	0,3
4	1,00	410,27 a	40,63	8,00 a	0,3
	1,70	207,65 b	43,4	6,33 b	0,3

Medias seguidas de letras diferentes presentan diferencias estadísticas significativas (P<0,01).

plantaciones de guayabos (15), reportaron que no hubo diferencia en el número de esporas y géneros de hongos colectados cuando se evaluó la interacción altura de muestreo y distancia de siembra, sin embargo el mayor NE se colectó a una distancia de siembra de 3,5 m x 3,5 m y altura de 1,0 m, mientras que el mayor NG se colectó a mayor distancia de siembra 7 m x 7 m y una altura de 1,0 m.

Esporas colectadas: Se colectó un total de 18 tipos de esporas identificándose los siguientes géneros: Alternaria, Cladosporium,

Curvularia, Dothiorella, Fusarium, Helminthosporium, Beltrania, Tetraploa (14) y Cercospora. En el cuadro 5 se muestran los totales del NE colectadas en petrolato por un período de 96 hr, encontrándose que el mayor NE corresponde al género Cladosporium (3293 esporas), seguido por Fusarium (121 esporas), Dothiorella (76 esporas), Helminthosporium (60 esporas), Alternaria (39 esporas), Curvularia (33 esporas) y Cercospora (5 esporas). Dichos géneros han sido reportados asociados con guayabo en estudios previos realizados en campo

Cuadro 5. Número total de esporas de los géneros de hongos identificados en petrolato para cuatro días de exposición, colectados en una plantación de guayabos del municipio Mara, estado Zulia.

Géneros	Total de Esporas		
Alternaria	39		
Cercospora	5		
Cladosporium	3293		
Curvularia	33		
Dothiorella	76		
Fusarium	121		
Helminthosporium	60		

(17) y laboratorio (19). La metodología utilizada para la colección de esporas del ambiente empleando láminas de vidrio con petrolato o agar-agua y cinta adhesiva resultó ser efectiva en la colección de esporas de *Dothiorella* sp., aun cuando el NE promedio colectadas fue bajo en comparación con el NE promedio para el resto de géneros. Este patógeno causante de la pudrición apical del fruto del guayabo (7) ha causado pérdidas de frutas hasta de 62 % en el municipio Mara del estado Zulia (16).

Según Santos et al. (23), la permanencia en el suelo de los restos de frutos afectados por pudrición apical, así como la presencia de malezas sirven como fuente de inóculo del hongo para la infección de nuevos frutos. Es por ésto que se hace necesario realizar estudios sobre la epifitiología y la dinámica de desarrollo de la pudrición apical para determinar el momento preciso de inicio de las aplicaciones de fungicidas y su número total, de tal manera de realizarlas en el momento más oportuno.

Conclusiones

El contaje de esporas se facilitó en el agar-agua y la cinta adhesiva, no así en el petrolato. Sin embargo en petrolato se colectó el mayor número de esporas y géneros de hongos, mientras que en agar-agua y cinta adhesiva se colectó el menor número de éstas.

Petrolato utilizado en láminas de vidrio colectó el mayor número de esporas y géneros de hongos en la plantación de guayabos, expuesta a una altura de 1,0 m durante cuatro días. La solución para la tinción de las esporas debe ser preparada con una sustancia miscible con éste para facilitar la observación de las esporas.

Se identificaron nueve géneros de hongos: Dothiorella, Cladosporium, Alternaria, Curvularia, Cercospora, Helminthosporium, Fusarium, Beltrania y Tetraploa.

Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento al consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ No. 1736-98) y al Fondo Nacional de Ciencias, Tecnológica e Innovación (FONACIT-S1_2378,S1-2808,S-200000975) por el cofinancimiento

otorgado para la realización de esta investigación.

Especial agradecimiento a la Agropecuaria 'Los Ciénegos' por el apoyo brindado para la realización de esta investigación y al Prof. Angel Casanova por su aporte en el análisis estadístico de los datos.

Literatura citada

- 1. Agrios G.N. 1995. Fitopatología. Editorial Limusa. México 838 p.
- Asai G.N., M.V Jones y F.G. Rorie. 1967. Influence of certain environmental factors in the field on infection of rice by *Pyricularia oryzae*. Phytopathology 57:237-241.
- 3. Aylor D.E. 1993. Relative collection efficiency of Rotorod and Burkard spore samplers for airborne *Venturia inaequalis* ascospores. Phytopathology 83:1116-1119.
- Barnett H. y B. Hunter. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Third Edition. Burgess publishing company. Minneapolis. Minnesota. USA. 241 p.
- Barron G.L. 1972. The genera of Hyphomycetes from soil. Printed by Noble offset printers, I.N.C. New York U.S.A. 364 p.
- Caraballo B.M. 2001. Biología floral del guayabo (*Psidium guajava* L.) en la planicie de Maracaibo, Zulia, Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 18:41-55.
- Cedeño L., C. Carrero, R. Santos y K. Quintero. 1998. Podredumbre marrón en frutos del guayabo causada por *Dothiorella*, fase conidial de *Botryosphaeria dothidea*, en los estado Mérida y Zulia, Venezuela. Rev. Fitopatol. Venez. 11:16-23.
- 8. Cermeli C. y F. Geraud. 1997. Capulinia sp. cercana a jaboticabae von Ihering (Homoptera: Coccoidea, Eriococcidae) nueva plaga del guayabo en Venezuela. Agronomía Trop. 47:115-123.
- 9. Chirinos L., F. Geraud, D. Chirinos, C. Fernández, N. Guerrero, M. Polanco, G. Fernández y R. Fuenmayor. 2000. Efecto de insecticidas sobre *Capulinia* sp. cercana a *jaboticabae* von Ihering (Homoptera: Coccoidea, Eriococcidae) y sus enemigos naturales en el municipio Mara, estado Zulia, Venezuela. Bol. Entomol. Venez. 15:1-16.

- Crozzoli R. y A. Casassa. 1998. Especies y razas de *Meloidogyne* en el cultivo del guayabo en Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 15:107-108.
- 11. Crozzoli R., A. Casassa, D. Rivas y J. Matheus. 1991. Nematodos fitoparásitos asociados al cultivo del guayabo en el estado Zulia, Venezuela. Fitopatol. Venez. 4:2-6.
- Hanlin R. y O. Tortolero. 1995. Géneros ilustrados de Ascomicetes. Editorial Botánica S.A. Barquisimeto. Venezuela. 279p.
- Kaiser W.J. y F.L. Lukezic. 1966. Influence of certain environmental conditions on spore dispersal and survival of *Cercospora hayi* from banana. Phytopathology 56:1290-1293.
- 14. Montiel A. 1997. Pestalotiopsis psidii (Pat.) Mordue causante de necrosis de frutos de guayabo (Psidium guajava L.) en plantaciones de los municipios Baralt y Mara del estado Zulia. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 14:341-347.
- 15. Pérez E., F. Isea, A. Montiel, M. Marín y L. Sandoval. 1999. Efecto de la distancia de siembra y la altura de muestreo en la colección de esporas de hongos en una plantación de guayabo. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 16:43-48.
- 16. Pérez E., M. Marín y R. Santos. 1997. Estudio exploratorio de plantaciones de guayabo del municipio Mara, estado Zulia. IV Pudrición de frutos. VI Congreso Nacional de Fruticultura, Barquisimeto, Venezuela. p. 86. (Resumen)
- 17. Pérez E., R. Santos, A. Montiel, M. Marín y L. Sandoval. 2000. Micoflora del ambiente de una plantación de guayabo (*Psidium guajava* L.) en la planicie de Maracaibo del estado Zulia. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 17:373-383.

- 18. Pinnschmidt H.O., H.W. Klein-Gebbinck, J.M. Bonman y J. Kranz. 1993. Comparison of aerial concentration, deposition and infectionsness of conidia of *Pyricularia grisae* by spore-sampling techniques. Phytopathology 83:1182-1189.
- 19. Ramírez M., R. Santos y F. Isea. 1997. Hongos contaminantes en el cultivo in vitro de segmentos nodales de Psidium guajava L. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 17:217-225.
- 20. Rodríguez J., E. Zavaleta. y R. Alatorre. 1996. Epidemiología y manejo de la roya blanca (*Puccinia horiana P*. Henn.) del crisantemo (*Dendrathema grandiflora* Tzuelev). Fitopatología 31:122-132.
- 21. Roelfs A., V. Dirks y R. Romig. 1968. A comparison of rod and slide samplers used in cereal rust epidemiology. Phytopathology 58:1150-1154.
- 22. Romig R. y V.A. Dirks. 1966. Evaluation of generalized curves for number of cereal rust uredospores trapped on slides. Phytopathology 56:1376-1380.

- 23. Santos R., R. Carvajal y R. Montiel. 1993. Evaluación de cinco fungicidas en el control de la pudrición apical de los frutos del guayabo (*Psidium guajava* L.). Rev. Fac. Agr. (LUZ) 10:23-38.
- 24. SAS Institute, Inc. 1987. SAS user's guide: Statistic. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- Sutton B.C. 1980. The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Common Mycol. Inst., Kew, Surrey, England. 696 p.
- 26. Tong F., D. Medina y D. Esparza. 1991. Variabilidad en poblaciones de guayaba (*Psidium guajava* L.) del municipio Mara del estado Zulia. Rev. Fac. Agr. (LUZ) 8:15-27.
- 27. Villegas C. y C. Baeza. 1988. Factores naturales que intervienen en la diseminación de esporas de *Hemileia* vastatrix Berk. y Br. Cenicafe (Colombia). 39:111-126.