

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI



UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

TESIS DE GRADO

**“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS
FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE BANANO (*Musa paradisiaca* L.)
SECTOR LOS LAURELES, CANTÓN LA MANÁ, COTOPAXI 2015.”**

Tesis de grado presentada como requisito previo a la obtención del Título de
Ingeniero Agrónomo

AUTOR:

Edison Javier Batallas Fonseca

DIRECTOR

Ing. Santiago Jiménez

Latacunga - Ecuador

2015

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, BATALLAS FONSECA EDISON JAVIER, con cédula de ciudadanía N° 050292194-3, actuando en calidad de autor de la tesis denominada **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE BANANO (*Musa paradisiaca* L.) EN EL SECTOR LOS LAURELES, CANTÓN LA MANÁ, COTOPAXI 2015.”** declaro que el contenido de la presente tesis, es original, auténtica y académica, así como sus comentarios y discusiones emitidas son de exclusiva responsabilidad del autor.

Edison Javier Batallas Fonseca

C.I. 050292194-3

AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS

Cumpliendo con lo estipulado en el capítulo V Art. 12, literal f del Reglamento del Curso Profesional de la Universidad Técnica de Cotopaxi, en calidad de Director del Tema de Tesis: : **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE BANANO (*Musa paradisiaca* L.) SECTOR LOS LAURELES, CANTÓN LA MANÁ, COTOPAXI 2015.”**, debo confirmar que el presente trabajo de investigación fue desarrollado de acuerdo con los planteamientos requeridos.

En virtud de lo antes expuesto, considero que se encuentra habilitado para presentarse al acto de Defensa de Tesis, la cual se encuentra abierta para posteriores investigaciones.

Ing. Santiago Jiménez

DIRECTOR DE TESIS

AVAL DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

En calidad de miembros de Tribunal de la Tesis Titulada:
**“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS
FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE BANANO (*Musa paradisiaca* L.)
SECTOR LOS LAURELES, CANTÓN LA MANÁ, COTOPAXI 2015.”**, de
autoría del egresado Edison Javier Batallas Fonseca, CERTIFICAMOS que se ha
realizado las respectivas revisiones, correcciones y aprobaciones al presente
documento.

Ing. Santiago Jiménez.

DIRECTOR DE TESIS

Ing. Adolfo Cevallos. Msc.

PRESIDENTE

Ing. Luis Benavides.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. David Carrera.

OPOSITOR

DEDICATORIA

La presente tesis de grado está dedicada con mucho aprecio y cariño a mi Dios y a toda mi querida familia.

La mayor gratitud y respeto hacia mis queridos padres Mario Zenón Batallas Cueva y Lida Leonor Fonseca Heredia, por brindarme su apoyo incondicional para cumplir mi sueño, por aconsejarme y corregirme cuando me portaba mal, por felicitarme cuando triunfaba y levantarme cuando fracasaba en mi carrera estudiantil.

A mis hermanos Mario, Edwin, Gloria y Jaqueline Batallas Fonseca, como también a todos mis sobrinos por el apoyo constante y la confianza que siempre me han ofrecido durante mi carrera universitaria.

BATALLAS EDISON

AGRADECIMIENTOS

El autor desea agradecer a las siguientes personas e institución:

Mi eterno agradecimiento a la Universidad Técnica de Cotopaxi, en especial a la carrera de Ingeniería Agronómica, a todos los docentes que de una u otra manera aportaron para mi formación profesional.

A mi director de tesis al Ing. Santiago Jiménez por su apoyo incondicional para el desarrollo de la presente tesis, ya que con sus enseñanzas y su experiencia como docente y como un gran amigo me ayudado a salir adelante.

A los ingenieros, Adolfo Cevallos, Luis Benavides, David Carrera miembros del tribunal de grado por sus consejos, revisión y sustentación de la presente investigación.

Como no agradecer también a los Ingenieros, Francisco Chancusig, Paolo Chasi, Guadalupe López, Karina Marín, Fabián Troya, Ruth Pérez, Giovanna Parra, Edwin Chancusig, Dr. Jorge Armas y a la Licenciada Marcia Chiluisa por el apoyo y amistad brindada.

A mis compañeros de investigación Xavier Caicedo, Alex Soria y Wilson Eduardo Pacheco Orellana quienes llegaron a convertirse en grandes amigos, muchas gracias por su ayuda y colaboración en la presente tesis de grado.

BATALLAS EDISON

ÍNDICE

DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	i
AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS.....	ii
AVAL DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
RESUMEN.....	x
SUMMARY.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	4
PREGUNTA DIRECTRIZ.....	5
CAPÍTULO I.....	6
1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	6
1.1. El cultivo de banano.....	6
1.1.1. Clasificación Taxonómica.....	7
1.2. Enfermedades en el cultivo del banano.....	7
1.2.1. Sigatoka Amarilla (<i>Mycosphaerella musicola</i>).....	7
1.2.2. Sigatoka Negra (<i>Mycosphaerella fijiensis</i>).....	9
1.3. Hongos fitopatógenos.....	15
1.3.1. Características generales.....	15
1.3.1.5. Medios de cultivos usados en el aislamiento de hongos.....	18
1.4. Estructuras reproductivas.....	18
1.4.1. Hongos superiores.....	18

CAPÍTULO II	i
2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	i
2.1 Materiales y Recursos	i
2.1.1 Institucionales.....	i
2.1.2 Recursos Humanos	i
2.1.3. Material De oficina.....	i
2.1.4. Material experimental.....	ii
2.1.5. Materiales de laboratorio	ii
2.2. Diseño metodológico.....	iv
2.2.1. Investigación descriptiva	iv
2.3. Método.....	v
2.3.1. Métodos lógicos	v
2.4. Técnica	v
2.4.1. Delimitación del lugar de recolección.....	vi
2.5. Diagnóstico del cultivo.....	vii
2.6. Toma de muestras.....	viii
2.6.1. Procedimientos en la toma de muestras	viii
2.7. En laboratorio	viii
2.8. Aislamiento	viii
2.8.1. Aislamiento directo.....	viii
2.8.2. Partes vegetales en medio de cultivo PDA.....	ix
2.9. Purificación	ix
2.10. Incubación	ix
2.10.1. Caracterización morfológica.....	ix
2.11. Descripción.....	x
CAPÍTULO III.....	xii

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	xii
3.1. Determinación del hongo fitopatógeno de mayor impacto económico en el cultivo de Banano (<i>Musa paradisiaca L.</i>)	xii
3.2. Signos y síntomas de la Sigatoka negra (<i>Mycosphaerella fijiensis</i>) en el cultivo de Banano (<i>Musa paradisiaca L.</i>)	xii
3.3. Caracterización de macro y microestructuras de la Sigatoka negra (<i>Mycosphaerella fijiensis</i>)	xiii
3.3.1. <i>Macro estructura</i>	xiii
3.3.2. <i>Micro estructuras</i>	xiv
3.4. Descripción del ciclo de vida en condiciones del laboratorio	xvii
3.5. Elaboración de una guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo Sigatoka negra (<i>Mycosphaerella fijiensis</i>).	xviii
GLOSARIO.	xxi
BIBLIOGRAFÍA	xxiii
ANEXOS	44

ÍNDICE DE IMÁGENES

IMAGEN 1. Síntomas y signos de Sigatoka negra (<i>Mycosphaerella fijensis</i>)	xii
IMAGEN 2. Evolución de micelio en el medio de cultivo PDA Sigatoka negra	xiv
IMAGEN 3. Formación de Micros estructuras, 200x	xv
IMAGEN 4. Dimensiones de las micro estructuras, 200x	xvi

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Clasificación Taxonómica	7
TABLA 2. Condiciones edafoclimáticos	vi
TABLA 3. Caracterización de Macro y Micro estructuras del Patógeno.	xiii
TABLA 4. Ciclo de vida <i>Mycosphaerella fijensis</i> L en condiciones de laboratorio.....	xvii

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el sector Los Laureles, cantón La Maná, provincia de Cotopaxi, en el cultivo de banano (*Musa paradisiaca* L.) Donde se pudo determinar que el hongo que provoca la mayor pérdida hasta un 50 % de la producciones la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis*), el hongo se presenta en las hojas a modo de puntos de color marrón, oscuro rojizo con un diámetro aproximado de 0,25mm los que al unirse conforme avanza la enfermedad, aumenta de tamaño por la muerte de los tejidos foliares.

Con la información presentada se realizó una caracterización morfológica del hongo *Mycosphaerella fijensis* en condiciones de laboratorio en un medio de cultivo PDA y fueron incubados a una temperatura de 23,5 °C por el lapso de 15 días, donde se determinó las macro y micro estructuras del hongo en estudio. Las macro estructuras observadas fueron un micelio de color blanco, además se observó una coloración rojiza en la base de la caja petri, el cual al pasar los días se desarrolló más formando colonias de forma redondeada la misma que se extendió en todo el medio de cultivo. Las micro estructuras observadas con la ayuda de un microscopio trinocular fueron hifas segmentadas donde se iniciaron a desarrollarse los conidios, conidióforos y esporas con las siguientes dimensiones: dimensión de conidios L=34350.05µm B: dimensión de conidióforos L=50048.92µm C: dimensión de esporas L=3911.50 µm. y se las fotografió con la ayuda de una cámara INFINITY (1-2 CB)

Con la ayuda de las referencias bibliográficas y las observaciones realizadas de las macro y microestructuras, se determinó que el hongo en estudio correspondía a *Micosphaerella fijensis*.

SUMMARY

The present research was made in the Los Laureles sector, with the following coordinates: Latitude: 07° 06' 198" S, Longitude: 98° 89' 232" W, Altitude: 586 msnm in the La Maná canton, Cotopaxi province into the banana crop (*Musa paradisiaca* L.), where, it was can determined that the fungus which causes the greatest economic loss up to 50% of production, that is the black Sigatoka (*Mycosphaerella fijensis*), the fungus is appeared on the leaves as a brown, dark reddish spots with an approximate diameter of 0.25 mm, which joining as the disease progresses, enlarged by the death of leaf tissue.

With the presented information was made a morphological characterization of the *Mycosphaerella fijensis* fungus, into laboratory conditions located in Latacunga at the following coordinates: Latitude: 0° 55' 44.8" S, Longitude: 78° 37.24.2" W, Altitude: 2850 msmn, for its inoculation is made on a crop medium PDA (potato dextrose agar) and are incubated at a temperature of 23.5° C for a period of 15 days, where was determined the macro and micro structures of the fungus in study. The looked macro structures were a mycelium of white color. Also, they are looked a reddish coloration at the base of the petri box, which as the days are unfolded more rounded form colonies that spread itself throughout crop medium. The micro structures were segmented hyphae, where is started to develop the conidia, conidiophores and spores with the following dimensions: conidióforos L=34350.05µm conidios L=50048.92µm spores L=L=3911.50 um, these dimensions could be looked with a trinocular microscope and the help of a camera INFINITY (1-2 CB).

With an increase of 4x, 10x, 20x, 100x, with the bibliographic references help and the made observations of the macro and micro structures was determined that the fungus in study will correspond to *Mycosphaerella fijensis*.

INTRODUCCIÓN

Según los datos disponibles de la. (FAO, 2012), la producción de banano sumó 55 millones de toneladas, siendo los 10 principales productores: India (20%); Brasil (11,5%), Ecuador y China (9% cada uno); Filipinas (6,5%); Indonesia (5,7%); Costa Rica (3,8%); y, México, Tailandia y Colombia, con porcentajes menores. Sólo India, produjo 24,8 millones de toneladas métricas de banano, en segundo lugar se encuentra China, que realizó una producción de 10,5 millones de toneladas. En tercer lugar se ubica Filipinas con 9,2 millones y cuarto Ecuador con 7 millones. Brasil ya registra una producción de 6,9 millones por lo que ocupa el quinto lugar. En el 2007, Ecuador ocupaba el quinto lugar pero en los siguientes años mejoró sus niveles de producción, por un incremento en las extensiones de cultivo.

El banano constituye una importante renglón tanto para la economía de los países y de los productores individualmente, como para la sostenibilidad alimentaria en América Latina y particularmente en Ecuador. Los patógenos de mayor importancia afectan la productividad de las plantaciones y aumentan los costos de producción, con fuerte impacto en la rentabilidad de las producciones y la contaminación ambiental. Una de las enfermedades que más ataca al cultivo y provoca pérdidas de más de 50% es la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis*). A nivel mundial el costo para el control es estimado en aproximadamente US\$ 3500 millones por año, lo que no incluye su costo sobre el ambiente. Cuando la producción de banano se realiza con fines de exportación, se hace indispensable mantener el follaje libre de la enfermedad, aspecto que se logra parcialmente con la aplicación de fungicidas protectantes y sistémicos, lo que representa un costo anual de cerca de 350 millones de dólares para América Latina y 25 millones de dólares para Ecuador. (RIMACHE, 2008).

Según. (ROSALES & RIVAS, 2013), el Ecuador continental está dividido en tres regiones geográficas: litoral o costa, Interandina o sierra y región oriental.

La Sigatoka negra es detectada en el Ecuador en febrero de 1987 al norte de la provincia de Esmeraldas, en el año de 1989 se encontró en las provincias de los Ríos y el Guayas y finalmente apareció en las bananeras del Oro y al sur de país en 1992 por lo que esta enfermedad le tomó 5 años en infectar todas las bananeras del Ecuador. (ROSALES & RIVAS, 2013).

JUSTIFICACIÓN

La presente investigación genera interés a sabiendas que la Sigatoka negra constituye uno de las principales pérdidas económicas para el sector bananero, lo que ocasiona hasta un 27% del costo total de la producción.

El aporte social de esta investigación nace de las necesidades de identificar el hongo fitopatógeno que existe en el cultivo para apoyar al agricultor para su conocimiento y ayudar a reducir costos de producción, este tema de investigación es importante porque conociendo a cabalidad la estructura de los hongos fitopatógenos los agricultores y los consumidores del Banano (*Musa paradisiaca L.*) conocerán cómo combatir este problema para evitar pérdidas económicas, ambientales y sociales.

La presencia de la Sigatoka negra se ha expandido excesivamente en los cultivos del sector los Laureles de la provincia de Cotopaxi, cantón La Maná, que ha obligado a intensificar las medidas de combate y han puesto en manifiesto la necesidad de crear estrategias para el manejo integrado de la enfermedad, para mitigar su impacto negativo.

Con una cultura adecuada sobre la descripción morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de banano (*Musa Paradisiaca L.*), se estima reducir el uso excesivo de agroquímicos así el productor obtendrá una mayor producción y comercialización, y por ende una mejor producción.

Con la presente investigación se realizara una guía didáctica que servirá al agricultor a tomar decisiones adecuadas para el control de enfermedades producidas por el hongo fitopatogeno (*Mycosphaerella fijensis*), y a su vez a los estudiantes que realicen futuras investigaciones.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar morfológicamente el hongo fitopatógeno que causa mayor impacto en la producción del cultivo de banano (*Musa paradisiaca L.*), Sector Los Laureles, Cantón La Maná. Cotopaxi. 2015.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Determinar el hongo fitopatógeno de mayor impacto en la producción del cultivo de banano (*Musa paradisiaca L.*).
- Identificar signos y síntomas del hongo fitopatógeno del banano (*Musa paradisiaca L.*) en campo.
- Caracterizar macro y microestructuras del patógeno.
- Describir el ciclo de vida del patógeno en condiciones de laboratorio.
- Elaborar una guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo en estudio.

PREGUNTA DIRECTRIZ

- ¿Se podrá caracterizar morfológicamente sus macro, micro estructuras y ciclo de vida del hongo fitopatógeno (*Mycospherealle fijensis*) en condiciones del laboratorio?

CAPÍTULO I

1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1. El cultivo de banano

El banano tiene su origen probablemente en la región indomalaya donde han sido cultivados desde hace miles de años, desde Indonesia se propagó hacia el sur y el oeste, alcanzando Hawái y la Polinesia, los comerciantes europeos llevaron noticias del árbol a Europa alrededor del siglo III, aunque no fue introducido hasta el siglo X. De las plantaciones de África Occidental los colonizadores portugueses lo llevarían a Sudamérica en el siglo XVI, concretamente a Santo Domingo. (INFOAGRO, 2012)

Los primeros clones identificados en América fueron el SEDA; y el FRANCÉS, denominados por LINNEO como las especies *Musa sapientum* y *Musa paradisiaca*. Ambas especies ya existían en las Antillas desde el siglo XVII. Se sabe además que plántones de los cultivares fueron introducidos a principios del siglo XIX a República Dominicana. (RIMACHE, 2008).

El banano es la fruta tropical más cultivada y una de las cuatro más importantes en términos globales, sólo por detrás de los cítricos, la uva y la manzana, los países latinoamericanos y del Caribe producen el grueso de los plátanos que entran en el comercio internacional, a pesar de que los principales

productores son India y China, siendo el principal cultivo de las regiones húmedas y cálidas del suroeste asiático, los principales importadores son Europa, EE.UU., Japón y Canadá. Los consumidores del norte lo aprecian sólo como un postre, pero constituye una parte esencial de la dieta diaria para los habitantes de más de cien países tropicales y subtropicales. (INFOAGRO, 2012).

El banano es uno de los cultivos más importante del mundo, después del arroz, el trigo y el maíz. Además de ser considerado un producto básico y de exportación, constituye una importante fuente de empleo e ingresos en numerosos países en desarrollo. (INFOAGRO, 2012)

1.1.1. Clasificación Taxonómica

Tabla 1. Clasificación Taxonómica

Reino:	Plantae
Subreino:	Franqueahionta
División:	Espermatophyta
Subdivision:	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida
Orden:	Zingiberales
Familia:	<i>Musaceae.</i>
Género:	<i>Musa sp.</i>
Especie:	<i>Musa paradisiaca L.</i>
Nombre común:	Banano

Fuente: (INFOAGRO, 2012)

1.2. Enfermedades en el cultivo del banano.

1.2.1. Sigatoka Amarilla (Mycosphaerella musicola)

Los primeros síntomas de la Sigatoka amarilla se presentan en manchas pequeñas o rayas amarillas, que empiezan a salir en las hojas en sentido paralelo de las venas de las mismas y son visibles a trasluz. Las esporas de este hongo (ascosporas y conidias) germinan en la superficie del limbo y el micelio penetra por una abertura estomática, que luego de tres a siete días el color se nota visible para luego tomar un color rojizo hasta marrón. En esta fase las rayas de la Sigatoka sobre pasan los 12 milímetros de largo comenzando a ser perjudiciales para el cultivo, continuamente se forma un doblez negro y un centro gris que terminan por morir, luego estas infecciones se unen entre si y pasa a ser severa produciendo grandes áreas necróticas que cubren el total de las hojas. (JONES, 2000)

Esta enfermedad resulta favorecida por las precipitaciones y la alta humedad. Los efectos directos de la Sigatoka amarilla sobre el follaje están en relación directa con la cantidad de manchas presentes en las hojas. (JONES, 2000)

Los efectos indirectos de la enfermedad inciden en los racimos, al reducirse la superficie funcional de las hojas, debido a la presencia de numerosas manchas, el control más descrito consiste en la aplicación de aceite agrícola, siendo más eficaz en las manchas jóvenes en el proceso de evolución que interrumpe la producción de esporas, estas aplicaciones se encuentran dadas por medio de inspecciones y evaluaciones constantes al cultivo. (JONES, 2000)

Otro método de control es por medio de labores culturales en el cultivo las cuales son complementarias y se llevan a cabo conjuntamente para tener éxito en la operación. (JONES, 2000)

Síntomas: La enfermedad origina la muerte de grandes áreas de la superficie foliar, resultando afectada en algunos casos la hoja entera. El área fotosintética es reducida drásticamente y en casos severos los frutos no maduran totalmente. Los frutos tienen una madurez prematura ya sea antes o después del corte de separación del racimo y presentan olor y sabor anormales. (RIMACHE, 2008).

Los frutos cosechados de plantas infectadas son más sensibles al “daño por frío” durante el almacenaje en frío. Además, son más propensos a infecciones con descomposición en relación a los frutos de racimos sanos. La fruta de plantas enfermas no que dan apta para travesías y menos para comercio externo. Las pérdidas económicas derivadas de esta enfermedad están relacionadas con la severidad de las lesiones en las hojas, desde daños leves hasta casos extremos en las que han sido cuantiosas, en las cuales se tuvo que abandonar esta producción. (RIMACHE, 2008)

1.2.2. Sigatoka Negra (Mycosphaerella fijiensis)

La Sigatoka negra, es una enfermedad de tipo foliar económicamente más importante en Latinoamérica y el Caribe, Esta enfermedad destruye el área foliar disminuyendo la capacidad fotosintética de la planta conllevando a una prematura maduración de los frutos, se encuentra distribuida en la mayoría de las regiones bananeras en el mundo, fue reportado por primera vez en febrero de 1963 en el distrito de Sigatoka de la isla de VitiLevu en Fidji situada al sudeste Asiático. (JONES, 2000).

La primera aparición en el continente Americano de esta enfermedad fue reportada en Honduras en año de 1972 mezclada con Sigatoka amarilla. (STOVER, 1980). A partir de entonces se encuentra diseminada en toda América y el Caribe: Belice en 1975; Guatemala, el Salvador, Costa Rica, Nicaragua en 1977; en Panamá en 1980; Colombia 1981; Ecuador en. 1986, Venezuela y Cuba en 1991 Jamaica y Perú en 1994; República Dominicana 1996; Bolivia 1997 y Brasil 1998 En 1999 se detectó en Estados Unidos en condiciones de invernadero en la Florida, Estados Unidos y Haití en el 2000. (MOURICHON X., PETER D., ZAPATER M., 1987)

Los últimos reportes se confirman que se encuentra registrada la enfermedad en Australia, Trinidad y Tobago, Puerto Rico y Granada. A la fecha,

no se ha reportado la presencia de la enfermedad en las islas caribeñas de Guadalupe, San Vicente y Santa Lucía. (FOURTUNE & RAMBARAN, 2005)

➤ **Agente Causal:**

El agente causal de la Sigatoka negra es el hongo Ascomycete que se reproduce en forma sexual y asexual durante su ciclo de vida. *Mycosphaerella fijiensis Morelet*, (fase sexual) o *Paracercospora fijensis Morelet* (fase asexual). Durante la fase asexual correspondiente al género *Paracercospora* se presenta en el desarrollo de las primeras lesiones de esta enfermedad las cuales son descritas como pizcas o estrías, en esta fase se observa la presencia de conidióforos emergiendo de los estomas a la superficie de las hojas, terminado la fase de reproducción de los conidióforos, se inicia la fase sexual de la enfermedad sobre el primer estado de la mancha con la producción de ascosporas en estructuras llamadas peritecios, los cuales se forman sobre la superficie del estado más avanzado. (MARIN D.H., ROMERO R.A., GUZMAN M., 2008)

Los conidióforos se desarrollan en las manchas de color café sobre el envés de la hoja y son producidos únicamente hasta el segundo estadio de la enfermedad. Estos son rectos o curvos de color marrón, septados de tamaño de 25 micrómetros y 3 a 4 micrómetros de ancho. (CARRASCO & PINEDA, 2008)

Las conidias son estructuras hialinas, cilíndricas, rectas o ligeramente curvas, que poseen de seis a nueve septos, delgadas en el ápice y más anchas en la base. (CARRASCO & PINEDA, 2008)

El peritecio es una estructura de forma globosa de color marrón oscuro en donde en la parte superior presenta una apertura denominada ostiolo que dentro se encuentran las ascas que son especies de sacos, donde en el interior reencuentran las ascosporas que son las esporas sexuales. (MARIN D.H., ROMERO R.A., GUZMAN M., 2008)

Las ascosporas son hialinas, fusiformes clavadas, con dos células y ligeramente constrictivas en el septo, miden de 14-20 mm de longitud y de cuatro hasta 6 mm de ancho, la fase sexual es la más importante en la producción de la enfermedad ya que es aquí donde se disemina la enfermedad (MARIN D.H., ROMERO R.A., GUZMAN M., 2008)

➤ **Epidemiología:**

La Sigatoka es una enfermedad policíclica, en donde los conidias y las ascosporas cumplen la función de disipar la enfermedad con una secuencia sin fin de inoculación, infección, colonización, esporulación, dispersión y nuevas infecciones. (MOURICHON X., PETER D., ZAPATER M., 1987)

Las conidias cumplen un rol muy importante en la prevaencia de la enfermedad durante períodos de baja precipitación, las ascosporas son consideradas más importantes en la dispersión de la enfermedad a distancias mayores por efecto del viento y responsables de la introducción de la enfermedad a nuevas áreas, las trampas de ascosporas han recolectado de 8.000 a 33.000 mil ascosporas por metro cúbico de aire en 24 horas, bajo condiciones normales las ascosporas maduras pueden presentarse de 3 a 4 semanas de la aparición de las primeras estrías. (GUAHL & STOVER, 1994 - 1980).

Las ascosporas se producen en cuerpos fructíferos denominados pseudotecios, en lesiones maduras, generalmente en las hojas más viejas, por lo cual estas hojas necesitan ser removidas del cultivo, tanto las conidias como las ascosporas infectan la hoja vía estomática por lo cual son más abundantes en la parte abaxial, el rango óptimo para la reproducción de los conidios es del 92 al 100% de humedad y las ascosporas de 98 a 100 % con un rango de temperatura de 26 a 28°C, cabe señalar tanto las conidias como las ascosporas presentan el mismo desarrollo de la enfermedad. (GUAHL & STOVER, 1994 - 1980).

Estudios realizados acerca de la viabilidad de las conidias y ascosporas demuestran que las conidias pueden permanecer viables hasta 60 días sobre la superficie de la hoja y hasta 18 días en la epidermis de los frutos en condiciones de sombra. (GUAHL & STOVER, 1994 - 1980).

➤ **Desarrollo De La Enfermedad:**

Los síntomas iniciales de la Sigatoka negra están determinados por el patrón de infección en el desarrollo en la hoja, el desarrollo de una hoja de banano es constante y expandido en forma de embudo, de donde nuevos tejidos son expuestos a la infección del hongo, que por medio del viento y el agua se dispersa. La infección causada por las esporas generalmente germinan dentro de 2 a 3 horas cuando caen sobre superficies húmedas, una vez infectado se encuentra establecido la esporodoquia que son los grupos de conidióforos alineados dentro del estoma de la hoja infectada, el cual se desarrolla en la cavidad sub estomática de donde una o más hifas de *Mycosphaerella fijiensis* emergen del estoma en el envés de la hoja. (MARIN D.H., ROMERO R.A., GUZMAN M.,, 2008)

Para la infección de estomas adyacentes las hifas se desarrollan a manera de red por la superficie foliar produciendo ramificaciones, por lo cual es infectada toda la hoja en la etapa final mostrando un crecimiento epifítico, la producción de conidias se observa en mayor número en la etapa antes de floración los síntomas de la enfermedad, pueden desarrollarle por completo desde los 50 a 115 días los primeros síntomas se presenta en las hojas a modo de puntos de color marrón oscuro rojizo con un diámetro aproximado de presentándose en el periodo más largo en la época más seca del año, mientras que en la temporada lluviosa ocurre un desarrollo acelerado posible de encontrar los estadios en todas las épocas del año especialmente en las hojas jóvenes. (MARIN D.H., ROMERO R.A., GUZMAN M.,, 2008)

➤ **Síntomas:**

Los primeros síntomas se presentan en las hojas a modo de puntos de color marrón, oscuro rojizo con un diámetro aproximado de 0,25mm los que, al unirse conforme avanza la enfermedad, aumenta de tamaño por la muerte de los tejidos foliares, tornándose de color marrón negro.

El mal afecta severamente el área fotosintética con el consecuente debilitamiento de la planta y si está en la etapa de fructuación, los racimos de frutos no alcanzan el valor comercial, el hongo se reproduce sexualmente mediante su fase escógena y asexualmente por conidias.

Las ascosporas son diseminadas por el viento y las conidias también por el viento y las lluvias, la mayor infección es originada por las ascosporas, las que al adherirse a la lámina foliar en condiciones de humedad ya temperaturas favorables, germinan y emiten un tubo germinativo que penetra al interior de la hoja vía las estomas, una vez al interior se desarrollan gracias a las sustancias nutritivas que circulan internamente en la lámina foliar el mal aparece en forma de puntos a lo largo de la margen izquierda de la hoja, luego estos puntos se repiten en la punta de la hoja para enseguida aparecer en el lado derecho, hasta llegar al ápice. (RIMACHE, 2008).

(FOURE, 1985), describe los estadios de la enfermedad como aparecen a continuación.

Estadio 1: pequeñas manchas de color blancuzco o amarillo visibles en el envés de la hoja

.

Estadio 2: se observa una pequeña raya, generalmente de color café y visible en el envés de la hoja; en el haz se visualiza como una raya que cambia progresivamente de color café a negro.

Estadío 3: la raya se hace más alargada y bajo condiciones climáticas favorables, alcanza una longitud de 2 a 3 cm.

Estadío 4: mancha negra en el haz de la hoja, claramente apreciada a simple vista.

Estadío 5: la mancha elíptica se vuelve totalmente negra y se ha extendido en el haz de la hoja. Esta mancha tiene un halo amarillo que la rodea y su centro comienza a deprimirse.

Estadío 6: el centro de la mancha se seca, adquiere un color gris claro y lo rodea un anillo bien definido de color negro, rodeado a su vez por un halo de color amarillo brillante.

Interacción planta patógeno

El patógeno que causa la Sigatoka negra presenta varios grados de agresividad, según el grado de compatibilidad que exista entre en la especie *Musa sp.* Y el hongo generalmente, ataca a especies como *Musa balbisiana*, *Musa acuminata*. (GAUHL, 1997)

Los cultivares se clasifican de acuerdo a la resistencia o susceptibilidad a la Sigatoka negra, las plantas poseen diferentes mecanismos de defensa, así como los patógenos evaden estos ataques hasta suprimirlos de esta forma encontramos tres niveles de susceptibilidad a *Mycosphaerella fijiensis*. Que son:

➤ **Susceptibles:** los que se caracterizan por que la enfermedad se desarrolla con gran rapidez la fase 1 hacia la necrosis mostrando todos los estadío. Particularmente las plantas susceptibles presentan con una a dos hojas funcionales al momento de la cosecha. Ciertos bananos presentan una reacción de sensibilidad a la Sigatoka negra comparable a la del cultivar Grande Naine (AAA, Cavendish). Otras especies presentan una resistencia parcial que se puede ser moderada. (MOURICHON, X. FOURE, E., 1990-1997)

➤ **Los tolerantes:** Muestran un lento desarrollo de los síntomas de la fase uno hacia la necrosis teniendo una esporulación débil. La planta conserva su superficie foliar funcional al momento de la cosecha. (MOURICHON, X. FOURE, E., 1990-1997)

1.3. Hongos fitopatógenos

Según (FHIA, 2007), Manifiesta que los biólogos utilizan el término hongo para incluir organismos eucarióticos, esporógenos, sin clorofila.

Los hongos son pequeños organismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que tienen quitina, celulosa, o ambos componentes. (AGRIOS, 1999)

1.3.1. Características generales

Los hongos son organismos carentes de clorofila que se reproducen mediante esporas. Son por lo general filamentosos y multicelulares, con núcleos que se observan con facilidad. Los filamentos constituyen el cuerpo (soma) de los hongos que se alargan mediante un crecimiento especial y un pequeño fragmento de ellos puede reproducirse un nuevo individuo. (HERRERA & MAYEA, 1994)

Las estructuras reproductivas se diferencian de las somáticas y sobre la base de sus características se clasifican los hongos. Las estructuras somáticas de los diversos hongos son muy similares y pocos pueden ser identificados cuando no se presentan las estructuras reproductivas. (HERRERA & MAYEA, 1994)

1.3.1.1. Estructuras somáticas

El talo de los hongos consiste típicamente en filamentos microscópicos ramificados hacia todas partes y que se extienden sobre o dentro del sustrato que

se utiliza como alimento. Estos filamentos se denominan hifas. El conjunto de hifas constituyen el micelio de los hongos. (HERRERA & MAYEA, 1994).

Las hifas pueden ser septadas o sin septos (lisas o cenocíticas) este último tipo de hifa es característico de los hongos inferiores y cuando envejecen pueden formarse septos en varios lugares. Los septos varían en su estructura y pueden ser simples o complejos. (HERRERA & MAYEA, 1994).

El micelio en algunos hongos forma gruesos cordones denominado rizomorfos que semejan raíces, son resistentes a condiciones adversas y permanecen en estado de letargo hasta que se presentan condiciones favorables. En algunos casos, los rizomorfos pueden alcanzar grandes longitudes. (HERRERA & MAYEA, 1994).

1.3.1.2. Hongos como patógenos en las plantas

El efecto nocivo de los hongos se debe a su capacidad para destruir físicamente los tejidos de la planta, alterar la fisiología vegetal reduciendo el crecimiento de toda la planta o de órganos determinados, o producir toxinas que afectan tanto a plantas como animales. Algunos hongos, conocidos como biótrofos, pueden crecer y multiplicarse manteniéndose durante todo su ciclo de vida en la planta huésped, viviendo y obteniendo nutrientes sin causar la muerte. Otros son necrótrofos, en una parte de su ciclo vital requieren una planta huésped pudiendo crecer sobre tejido muerto o producir la muerte celular para absorber los nutrientes del tejido muerto.

Muchas infecciones empiezan con una fase biotrófica que se convierte más tarde en necrotrófica. Algunos hongos son simbioses facultativos, creciendo tanto libres como asociados a plantas, y otros son simbioses obligados, creciendo sólo si están asociados a plantas. (AGRIOS, 2005)

1.3.1.3. Identificación de hongos

(CALZADA, 2002), afirma que para la identificación de hongos fitopatógenos es necesario la observación de sus estructuras somáticas y reproductivas, mediante la técnica de cámara húmeda y/o aislamiento es posible inducir la aparición de estas estructuras producidas y el uso de claves taxonómicas son necesarios para determinar el género y la especie del hongo patógeno, para la identificación de los hongos es necesario el reconocimiento de las estructuras vegetativas y reproductivas. En cuanto a estructuras vegetativas se debe analizar: }

Plasmodio: se refiere al cuerpo o soma vegetativo de algunos hongos inferiores, el cual está constituido por una masa multinucleada, sin pared celular, son escasos los hongos fitopatógenos que poseen soma vegetativo de tipo plasmodial.

Micelio: la mayoría de los hongos poseen cuerpos filamentosos provistos de pared celular, a los filamentos que constituyen el cuerpo o soma vegetativo se les denomina hifas, al conjunto de hifas se le denomina micelio cuando las hifas no presentan septas, el micelio es denominado cenocítico o no tabicado y cuando las presenta el micelio se dice que es tabicado.

1.3.1.4. Signos y síntomas de hongos patógenos en la planta

Los síntomas que producen los hongos en sus hospedantes son de tipo local o general y pueden aparecer por separado en hospedantes distintos, en un mismo hospedante aparecer uno después de otro en un mismo en un mismo hospedante. En general, los hongos producen una necrosis local o general o la muerte de los tejidos vegetales que infectan, hipertrofia e hipoplasia o atrofia de plantas completas o de sus órganos, e hiperplasia o crecimiento excesivo de ellas o de algunos de sus órganos. (AGRIOS, 1999).

En muchas enfermedades, el patógeno se desarrolla, o produce varias estructuras, sobre la superficie de su hospedante estas estructuras que incluyen al micelio, esporóforos, cuerpos fructíferos y esporas, se les denomina signos y difieren de los síntomas, los cuales solo se refieren a la apariencia que toman las plantas o sus tejidos cuando han sido infectados. (AGRIOS, 1999).

1.3.1.5. Medios de cultivos usados en el aislamiento de hongos

(FRENCH, E., & HEBERT, T., 1980). Manifiestan que los medios de cultivo utilizados habitualmente que se encuentran en el mercado son:

AGAR PAPA DEXTROSA (PDA). Es un medio útil para valorar el aspecto morfológico y la coloración de la colonia. Su alto contenido de carbohidratos condiciona un mayor crecimiento, el detrimento de la esporulación que suele retrasarse hasta un mes, las colonias pueden ser atípicas.

AGAR PAPA SACAROSA ACIDIFICADO (APSA). Este medio, que inhibe la multiplicación de las bacterias, es de uso generalizado para el aislamiento de los hongos a partir de tejidos enfermos. Si se reduce a la mitad la cantidad de azúcar, generalmente se produce un crecimiento más ralo y fácil de observar, y una esporulación más rápida, factores que facilitan la identificación de hongos.

La temperatura habitual de incubación de los hongos es entre 23 y 28 °C.

1.4. Estructuras reproductivas

1.4.1. Hongos superiores

- **Estructuras representativas de la clase ascomycetes:** La clase ascomycetes se caracteriza por poseer micelio tabicado y producir esporas de origen sexual denominadas Ascosporas, estas ascosporas se producen dentro de sacos llamados ascas las ascas pueden encontrarse en forma libre o contenida en

cuerpos fructíferos. Los cuerpos fructíferos pueden ser de dos tipos: Apotecios y Cleistotecios.

- **Estructuras representativas de la clase Basidiomycetes:** La clase basidiomycetes se caracteriza por tener micelio tabicado y reproducirse sexualmente mediante la producción de basidiosporas. Estas son producidas exógenamente sobre una estructura llamada basidio. Los basidios pueden ser septados o no.

- **Estructuras representativas de la clase Deuteromycetes:** Esta Clase incluye a los hongos superiores (micelio tabicado) a los que no se les conoce la reproducción sexual. En algunos casos por no tener reproducción sexual, o si la tienen esta se produce rara vez, o simplemente porque no se le conoce aún. Estos hongos se reproducen de forma asexual formando esporas denominadas conidios.

Estos conidios pueden producirse en forma libre o dentro de cuerpos fructíferos.

Los conidios pueden tener diferentes formas y tamaños. Pueden ser hialinos u oscuros. Pueden ser unicelulares o multicelulares. Pueden estar sueltos o agrupados en ramilletes o cadenas.

CAPÍTULO II

2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Materiales y Recursos

2.1.1 Institucionales

- Universidad Técnica de Cotopaxi
- Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales
- Carrera de Ingeniería Agronómica
- Laboratorio de Microbiología

2.1.2 Recursos Humanos

- **Autor:** Edison Javier Batallas Fonseca
- **Director de tesis:** Ing. Santiago Jiménez
- **Miembros del tribunal:**
 - Ing. Adolfo Cevallos. Msc.
 - Ing. Luis Benavides
 - Ing. David Carrera

2.1.3. Material De oficina

- Cámara fotográfica SONY
- Computadora hp
- Flash memory
- Fundas de papel “sobres de carta”
- Fundas de plástico “Ziploc”
- GPS GARMIN

- Impresora
- Libro de campo
- Navaja
- Tijeras

2.1.4. Material experimental

- Muestra de la planta o parte enferma del Muestra de la planta o parte enferma del Banano (*Musa paradisiaca* L.)
- Hoja infectada con (*Micosphaera* *fijensis*) de la planta de banano del Banano (*Musa paradisiaca* L.)

2.1.5. Materiales de laboratorio

2.1.5.1. Equipos

- Autoclave semiautomática 2540-23 litros
- Balanza digital.
- Cámara científica INFINITY 1-2CB
- Cámara de crecimiento o incubadora
- Cámara de flujo laminar aurora mini con base
- Desmineralizador de agua waterwise 9000
- Estufa eléctrica
- Incubadora IN110
- Microscopio Trinocular Olympus CX31
- Refrigeradora R1-425 QUARZO INDURAMA

2.1.5.2. Material

- Asa de siembra
- Bisturí
- Botellón de agua y soporte.
- Cajas Petri
- Cajas separadoras “almacenamos las muestras terminadas”
- Cinta adhesiva transparente de 1,5 cm de ancho
- Cintas para etiquetar
- Cintas para medir el ph
- Cofias
- Cubreobjetos
- Cuchara de plástico pequeñas
- Cucharas de cocina
- Encendedor
- Erlenmeyer de 500 ml
- Bolígrafo
- Goteros de plástico
- Guantes desechables
- Mascarillas descartables
- Material didáctico
- Mechas para mechero
- Mechero de alcohol
- Olla
- Papel absorbente
- Papel aluminio
- Parafilm de laboratorio
- Pinzas
- Portaobjetos
- Protectores para calzado
- Taburetes
- Tamiz

- Tijera
- Varilla de agitación.
- Vaso de precipitación de 40 -100-800 ml

2.1.5.3.Reactivos

- Agar
- Agua destilada
- Alcohol antiséptico 72°G.L
- Alcohol industrial.
- Glucosa “azúcar”
- Levadura

2.2. Diseño metodológico

En esta investigación se caracteriza morfológicamente los signos y síntomas, macro y micro estructuras y ciclo de vida del hongo fitipatógeno (*Micosphoerealla fijensis*), en base a fotografías captadas con el microscopio trinocular OLYMPUS CX31 acoplado con la cámara INFINITY 1-2CB.

2.2.1. Investigación descriptiva

La metodología descriptiva puntualiza como se ocasionaron los fenómenos que se investigaron, también se ocupó la descripción de datos y características de una población.

Esta investigación es descriptiva, porque para su desarrollo se detalló minuciosamente todo el proceso de investigación, además se recopiló información de las características morfológicas e identificó a los hongos fitopatógenos. Además de ser descrita los resultados fueron procesados, analizados, discutidos y establecidos de cómo se ocasionaron los fenómenos, y así se evaluaron aspecto relevante de la investigación.

2.3. Método

La presente investigación se basó en un diseño no experimental, pues no se realizó manipulación de ninguna variable, es decir no se cambió la realidad del cultivo de banano en el sector los Laureles de la provincia de Cotopaxi del cantón La Maná por el contrario lo que se realizó con la investigación es mejorarla, gracias a la “Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos”.

2.3.1. Métodos lógicos

- **Método descriptivo analítico:** Utilizó este método en la investigación porque describió y analizó detalladamente en campo como en el laboratorio el hongo fitopatógeno (*Mycosphaerella fijiensis*)
- **Método deductivo:** para el avance de la investigación se empleó este método porque permitió recopilar información de la características morfológicas que presenta el hongo, permitiendo de esta manera identificar (*Mycosphaerella fijiensis*) en el cultivo de banano (*Musa paradisiaca*).
- **Método comparativo:** Es método se utilizó con la finalidad de comparar el hongo Fitopatógeno (*Mycosphaerella fijiensis*), aislado en el laboratorio con la bibliografía citada.

2.4. Técnica

Observación: Consistió en observar en campo y laboratorio, los sucesos de manera directa y abierta con el propósito de obtener información de primera mano del fenómeno que se investiga. La observación permitió conocer la realidad en la que se desarrolla el hongo, además se observó los signos y síntomas que se presentaron en el cultivo. Como instrumento utilice cuaderno de campo y cámara fotográfica SONY con el fin de apuntar todos los sucesos observados en el

cultivo, y en el laboratorio se utilizó un microscopio trinocular de marca OLYMPUSCX31 acoplada de una cámara INFINITY 1-2CB con la ayuda de un computador portátil.

Fichaje: Consistió en la recolección y organización de la información usando etiquetas que ayudó el almacenamiento de la información en formato digital.

2.4.1. Delimitación del lugar de recolección

Se recolecto las muestras en el recinto Los Laureles el mismo que se encuentra ubicado en la parte sureste del cantón La Maná, esta limita: al norte con el recinto San Pedro, al sur con el recinto San Pablo, al este con el rio San Pablo al oeste con el cantón Pangua.

2.4.1.1. Ubicación Política

- **País:** Ecuador
- **Provincia:** Cotopaxi
- **Cantón:** La Maná
- **Parroquia:** La Maná
- **Sector:** Los Laureles

2.4.1.2. Ubicación Geográfica

- **Latitud:** 07° 06' 198''S
- **Longitud:** 98° 89'232''W
- **Altitud:** 586 msnm

Tabla 2. Condiciones edafoclimáticos

CONDICIONES EDAFOCLIMÁTICOS	
Temperatura anual media (°C)	23
Humedad Relativa (%)	88 y 90
Precipitación anual (mm)	549,5 y 512

Fuente: (COTOPAXI, 2005)

2.4.1.3. *Ubicación política*

- **País:** Ecuador
- **Provincia:** Cotopaxi
- **Cantón:** Latacunga
- **Ciudad:** Latacunga

2.4.1.4. *Ubicación geográfica*

- **Latitud:** 0°55'44.8"S
- **Longitud:** 78° 37.24.2''W
- **Altitud:** 2850 msnm

2.5. Diagnóstico del cultivo

Al realizar el diagnóstico se siguió la secuencia propuesta por. (STREETS, 1972).

- **Identificar la planta hospedante:** banano (*Musa paradisiaca L.*)
- **Síntomas en campo:** utilice información propia y del agricultor.
- **Condiciones de cultivo:** El tipo de suelo, prácticas y riego, fertilización y aplicación de plaguicidas
- **Síntomas en detalle:** Se observa manchas, roya foliar, pudriciones, chancros o agallas.
- **Observación:** la observación se realizó con un microscopio OLYMPUS en laboratorio, de la superficie de las lesiones o tejidos muertos; esto permitirá observar la presencia de esporas, cuerpos fructíferos del hongo.

2.6. Toma de muestras

El método utilizado para esta actividad fue por cuotas, en la cual se fijó en un número de individuos que reunieron unas determinadas condiciones.

2.6.1. Procedimientos en la toma de muestras

Se extrajo partes de plantas afectadas “hojas” con una tijera, en cada corte se procedió a esterilizar los materiales con alcohol y las muestras vegetales se envasaron en bolsas de papel para que el exceso de humedad sea absorbido por el papel, posteriormente se procedió a colocar en una funda Ziploc con su respectiva codificación y se trasladara inmediatamente al laboratorio para proceder con el trabajo.

2.7. En laboratorio

Preparación del medio del cultivo PDA. (ANEXO 1)

2.8. Aislamiento

Se procedió a realizar diferentes tipos de aislamientos según se presente el caso tales como:

2.8.1. Aislamiento directo.

Se observó a través del microscopio una muestra enferma; para verificar; si se encontró fructificaciones de micelio etc., para esto se procedió a tomar una muestra de este material con una aza de disección estéril y se colocó directamente sobre el medio de cultivo solidificado. Se incubó a 23,5°C. Y se realiza observaciones durante los siguientes 7 días.

2.8.2. Partes vegetales en medio de cultivo PDA.

Se procedió a tomar porciones de tejido enfermo para desinfectarlos en una solución 2:1 de alcohol a 75 G.L, se lava dos veces con agua desmineralizada y se eliminó excesos de las mismas, y al final se coloca en el interior de la caja petri estéril con PDA.

2.9. Purificación

Consistió a realizar cortes de las puntas de micelio con la ayuda de un bisturí estéril del borde de la colonia en crecimiento, Esta pequeña porción del hongo y agar se depositó en otras cajas con medios de cultivo estéril y de esta forma se obtuvo cultivos puros.

2.10. Incubación

La incubación se realizó a 23,5°C, en una incubadora IN110 por un lapso de 15 días según el desarrollo de los micelios del hongo.

2.10.1. Caracterización morfológica

2.10.1.1. Observación microscópica

- **Técnica de cinta pegante:** Se procedió a realizar un dobléz de una tira de cinta de 4 cm, con el lado adhesivo hacia fuera y se sostendrá con una pinza. Con el lado adhesivo se tomó con mucho cuidado una pequeña muestra de la colonia del hongo a estudiar, se adicono una gota de agua destilada sobre el portaobjetos y se pegó la cinta sobre el portaobjetos para luego ser observado en el microscopio con un aumento de 4x, 10x, 20x y 100x.

- **Montaje por disección:** Con una aza estéril (o un bisturí), se tomó una pequeña muestra del hongo y se ubicó sobre el portaobjetos con una gota de agua destilada, con el misma aza se extendió el micelio, después se puso el cubreobjetos para observarlo en el microscopio con aumentos de 4x, 10x, 20x y 100x.

2.11. Descripción

Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos: para esto se utilizó el método comparativo a través de fotos microscópicas y macroscópicas y el uso de bibliografía.

De las cepas aisladas se hizo observaciones macroscópicas tales como: forma de la colonia del hongo, color característico del medio de cultivo, halo de crecimiento de cada una de las colonias.

Luego se procedió a realizar placas fijas de cada una de las cepas aisladas para posteriormente observar las estructuras microscópicas tales como: forma del conidiósporo, esporangiósporos, forma y tamaño de las esporas o conidios.

Para realizar las placas fijas se procedió de la siguiente manera:

- Preparación de cajas petri con las cepas de hongos aislados, una en cada caja petri.
- Utilización de cinta masking transparente de seis centímetros de largo y se fija en el cuerpo fructífero, tomando directamente de la caja petri, donde se encuentran las cepas puras.
- Observación en microscopio con el objetivo adecuado y toma de fotografías microscópicas de las diferentes estructuras.

- Creación de un archivo con las fotografías tomadas de las cepas para luego realizar los postulados de Koch y cumplir con el cuarto ítem.
- Elaboración de un cuadro comparativo con los hongos re-aislados, para ver si eran el mismo hongo que se inóculo

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Determinación del hongo fitopatógeno de mayor impacto económico en el cultivo de Banano (*Musa paradisiaca L.*)

Mediante observación directa se determinó que el hongo fitopatógeno de gran impacto económico en el cultivo de banano (*Musa paradisiaca L.*), en el sector los Laureles del cantón la Maná de la provincia de Cotopaxi, fue la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis*).

3.2. Signos y síntomas de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis*) en el cultivo de Banano (*Musa paradisiaca L.*)

La observación realizada en campo los signos y síntomas que presenta la Sigatoka negra están determinados por pequeñas rayas, generalmente visible de color café en el envés de la hoja; en el haz se representa como una raya que cambia progresivamente de color café a negro, a partir de la tercera hoja de la planta.

IMAGEN 1. Síntomas y signos de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis*)



Fuente: Batallas Edison

3.3. Caracterización de macro y microestructuras de la *Sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis)*

TABLA 3. Caracterización de Macro y Micro estructuras del Patógeno.

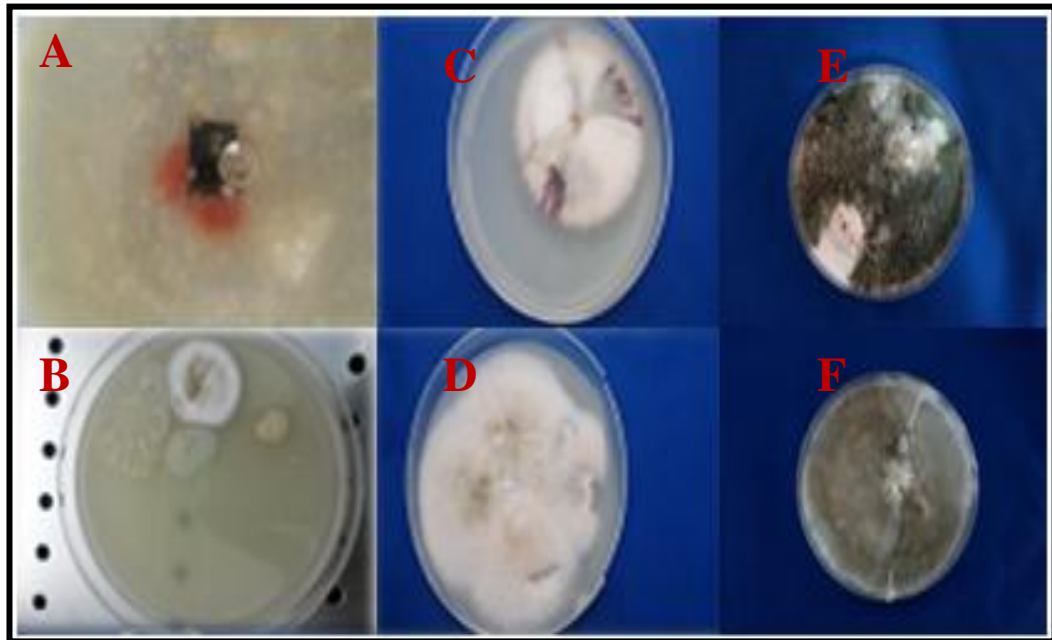
CONCEPTUALIZACIÓN	INDICADOR	ÍNDICE	TÉCNICAS	INSTRUMENTO
Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de Banano (<i>Musa paradisiaca</i> L.)	Talo	Tipo	Observación	Microscopio
	Micelio	Tipo		
	Esporas	Tipo		
	Reproducción	Tipo		

Fuente: Batallas Edison

3.3.1. *Macro estructura*

Se logró identificar en los primeros días de desarrollo en el medio de cultivo PDA, la presencia de una insuficiente formación de micelio, y a su vez una coloración rojiza en la base de la caja petri, al pasar los días el micelio presento una forma ovalada de color blanco que cubrió casi en su totalidad la caja petri el mismo que no cambia su coloración en todo ese tiempo, mediante el paso de los días fue formando colonias de micelio que llego a cubrir en su totalidad la caja petri empezando a cambiar de color blanco a café y llegando a su fase final a ponerse de un color negro.

IMAGEN 2. Evolución de micelio en el medio de cultivo PDA Sigatoka negra



Fuente: Batallas Edison

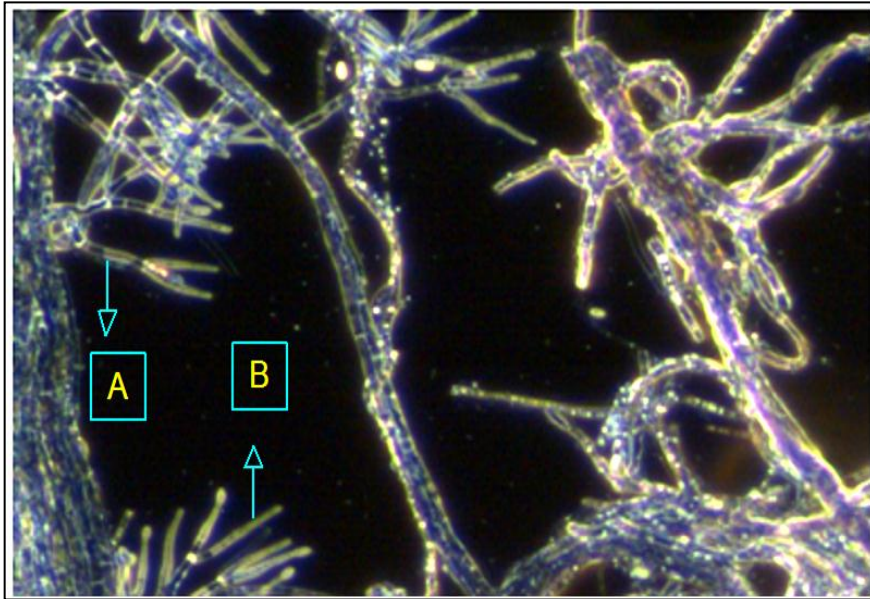
A. siembra de cultivo **B.** Iniciación de micelio **C.** Desarrollo de micelio de dos colonias blanquecino y rojizo **D.** Micelio color blanquísimo formando por tres colonias **E.** Colonias de micelio **F.** Etapa final desarrollo de conidios y conidióforos

3.3.2. Micro estructuras

Se observaron las micro estructuras con el microscopio óptico olympus, incorporada con una cámara INFINITY 1-2CB con un aumento de 20x.

Las conidias son estructuras hialinas, cilíndricas, rectas o ligeramente curvas, que poseen de seis a nueve septos, delgadas en al ápice y más anchas en la base. (CARRASCO, 1995)

IMAGEN 3. Formación de Micros estructuras, 200x



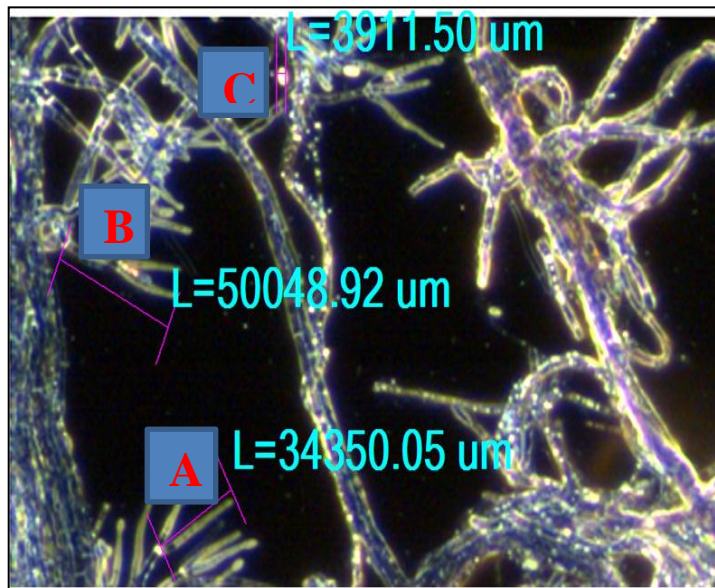
Fuente: Batallas Edison

A. Conidióforos **B.** Germinación de conidios

En la presenta imagen se puede apreciar el desarrollo de varios conidios de forma alargada que a través de su ciclo de vida, empiezan a desarrollarse los conidióforos que se despliegan de los conidios, de la misma manera podemos observar las diferentes dimensiones y amplitudes de los conidios y conidióforos segmentados.

Los conidióforos se desarrollan en las manchas de color café sobre el envés de la hoja y son producidos únicamente hasta el segundo estadio de la enfermedad. Estos son rectos o curvos de color marrón, septados de tamaño de 25 micrómetros y 3 a 4 micrómetros de ancho. (CARRASCO, 1995).

IMAGEN 4. Dimensiones de las micro estructuras, 200x




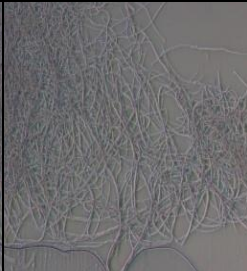

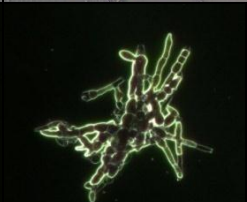

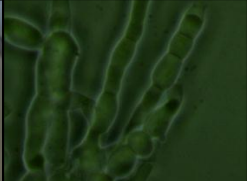

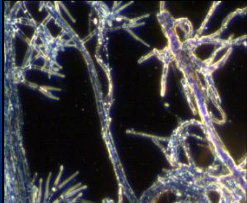
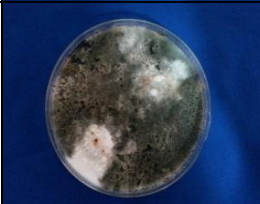
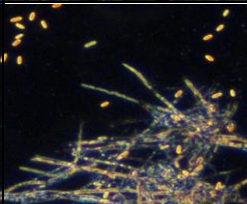
Fuente: Batallas Edison

Identificación de micro estructuras del hongo Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis*) con el objetivo 20x. **A.** dimensión de conidios $L=34350.05\mu\text{m}$ **B.** dimensión de conidióforos $L=50048.92\mu\text{m}$ **C.** dimensión de esporas $L=3911.50\mu\text{m}$.

Los conidióforos se desarrollan en las manchas de color café sobre el envés de la hoja y son producidos únicamente hasta el segundo estadio de la enfermedad. Estos son rectos o curvos de color marrón, septados de tamaño de 25 micrómetros y 3 a 4 micrómetros de ancho. Las conidios son estructuras hialinas, cilíndricas, rectas o ligeramente curvas, que poseen de seis a nueve septos, delgadas en el ápice y más anchas en la base. (CARRASCO, 1995). El peritecio es una estructura de forma globosa de color marrón oscuro en donde en la parte superior presenta una apertura denominada ostiolo que dentro se encuentran las ascas que son especies de sacos, donde en el interior reencuentran las ascosporas que son las esporas sexuales. Las ascosporas son hialinas, fusiformes clavadas, con dos células y ligeramente constrictivas en el septo, miden de 14-20 mm de longitud y de cuatro hasta 6 mm de ancho. La fase sexual es la más importante en la producción de la enfermedad ya que es aquí donde se disemina la enfermedad.

3.4. Descripción del ciclo de vida en condiciones del laboratorio

Tabla 4. Ciclo de vida *Mycosphaerella fijensis* L en condiciones de laboratorio.

Actividad	Tiempo/T°	Imagen	Observación en microscopio	Aumento
Inoculación del hongo	10 minutos a 19 °C			10x
Presencia de micelio	2 días a 23,5 °C			10x
Formación de conidióforos	4 días a 23,5 °C			4x
Formación de conidios	11 días a 23,5 °C			20x
Formación de ascosporas	15 días a 23,5 °C			20x

Fuente: Batallas Edison

3.5. Elaboración de una guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo Sigatoka negra (*Mycosphaerellafijensis*).

Anexo 1

CONCLUSIONES

1. Luego de una exhaustiva revisión bibliográfica y el testimonio de los agricultores del sector los Laureles del cantón la Maná de la provincia de Cotopaxi, se determinó que el hongo fitopatógeno de mayor impacto económico en el cultivo de banano (*Musa paradisiaca* L.) es la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*).
2. Los signos y síntomas que corresponde a (*Mycosphaerella fijiensis*), son pequeñas manchas de color marrón oscuro y en el transcurso de su desarrollo cambia de color café a negro.
3. En esta investigación se logró caracterizar las macro y micro estructuras del hongo fitopatógeno Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en condiciones de laboratorio con la ayuda de un microscopio trinocular.
4. Las macro estructura identificadas fueron con una insuficiente formación de micelio, que presentaba una coloración rojiza en la base de la caja petri al paso de los días se formó colonias de micelio empezando a cambiar de color blanco a café, y llegando a su fase final de un color negro.
5. La micro estructuras observadas fueron con el desarrollo de varios conidios de forma alargada que a través de su ciclo de vida, empiezan a desarrollarse los conidióforos segmentados que se despliegan de los conidios.
6. Con la investigación realizada se elaboró una guía didáctica para la Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de banano (*Musa paradisiaca* L.) en el sector los Laureles, cantón La Maná, Cotopaxi
7. La elaboración de la guía didáctica tendrá como objetivo ayudar a los estudiantes en el proceso de enseñanza – aprendizaje como material didáctico de investigaciones basadas a dicho tema.

RECOMENDACIONES

1. Para realizar la recolección de las muestras del hongo fitopatógeno *Micosphaerealla fijensis* en hojas de banano (*Musa paradisiaca L.*) se recomienda transportar en un lapso de 3 horas debido a la pérdida de supervivencia del patógeno.
2. Para realizar la inoculación de la muestra se recomienda tomar en cuenta los protocolos adecuados de asepsia, con el fin de no contaminar las muestras y obtener un mejor resultado.
3. Se recomienda colocar el medio de cultivo PDA en las cajas petri a una temperatura ambiente para evitar que el vapor se condense y las gotas de agua formadas contaminen el medio de cultivo.
4. Se recomienda a las estudiantes e ingenieros de la carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Cotopaxi extensión La Maná, tomar el interés respectivo para con los agricultores del sector Los Laureles, realicen investigaciones, charlas y capacitaciones técnicas sobre el manejo integrado para *Micosphaerealla fijensis*.

GLOSARIO.

Agar: sustancia de consistencia gelatinosa que se obtiene de las algas marinas y que se utiliza para preparar medios de cultivo nutritivos en los que se estudia y cultiva a los microorganismos.

Aislamiento: separación de un patógeno a partir de un hospedante y su cultivo en un medio nutritivo.

Alogamia: es un tipo de reproducción sexual en plantas consistente en la polinización cruzada y fecundación entre individuos genéticamente diferentes

Cepa: progenie de un solo aislamiento en un cultivo puro; aislado; grupo de aislados similares; una raza.

Coalescencia: es la propiedad de las cosas de fundirse o unirse. Las sustancias o los materiales coalescentes son aquellos que pueden unirse en un único cuerpo.

Conidio: espora asexual de un hongo formada en el extremo de un conidióforo.

Conidióforo: Es una estructura microscópica especializada en la producción asexual de miles de esporas llamadas conidios

Cuerpo fructífero: estructura compleja de los hongos que contienen esporas.

Enfermedad: cualquier mal funcionamiento de las células y tejidos del hospedante, que resulta de la irritación continúa por un agente patogénico o factor ambiental y que lleva al desarrollo de síntomas.

Espora: unidad reproductiva de los hongos que consta de una o varias células, es análoga a la semilla de las plantas verdes.

Esterilización: eliminación de los patógenos y otros organismos vivos del suelo, recipientes, etc., mediante calor o sustancias químicas.

Fitopatógenos: termino que se aplica a los microorganismos que producen enfermedades en las plantas.

Hifa: ramificación simple de un micelio.

Hongo: pequeños organismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que contienen quitina, celulosa, o ambos componentes.

Hospedante: planta que es invadida por un paracito y de la cual este obtiene sus nutrientes.

Medio de cultivo: medio nutritivo preparado en el que se cultivan microorganismos o células vegetales.

Micelio: hifa o masa de hifas que constituyen el soma de un hongo.

Purificación: aislamiento y concentración de partículas virales en forma pura, libre de los componentes celulares.

Signo: patógeno o sus partes o productos que se observan sobre una planta hospedante.

Sinema:Coremio, conidioma compuesto por conidióforos más o menos compactados erecto o a veces fusionados llevando los conidios en el ápice solamente o en ambos ápice y lateralmente.

Síntoma: reacciones o alteraciones internas y externas que sufre una planta como resultado de una enfermedad.

Uredóspora: Dícese de las esporas de las Uredinales (royas) que propagan la infección únicamente en las hojas atacadas

BIBLIOGRAFÍA

- AGRIOS. (1999). *G. N. Fitopatología*. Limusa, México. .
- AGRIOS. (2005). Revista de la Academia colombiana de ciencias exactes, físicas y naturales.
- CALZADA. (2002). *Frutales nativas* . Lima- peru: El Estudiante.
- CARRASCO & PINEDA. (2008). *Manual de sigatoka negra*. Quito, Ecuador.
- CARRASCO. (1995).
- COTOPAXI, G. (martes de enero de 2005). [htt://www.cotopaxi.gob.ec](http://www.cotopaxi.gob.ec).
- FAO. (2012). Biotechnology and banana production.
- FHIA. (2007). *Deterioro poscosecha de las frutas y hortalizas frescas por los hongos y bacterias*.
- FOURE. (1985).
- FOURTUNE & RAMBARAN. (2005). *Enfermedades de la Sigatoka Negra*.
- FRENCH, E.,& HEBERT, T. (1980). *Metodos de investigacion fitopatologica*. San Jose, Costa Rica: IICA.
- GAUHL, F. (1997). Epidemiology and Ecology of Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morlet) on Plantain and.
- GUAHL & STOVER. (1994 - 1980). *Epidemiology and Ecology of Black Sigatoka (Mycosphaerella fijiensis Morlet) on Plantain and*.
- HERRERA & MAYEA. (1994). *Fitopatologia General*. La Habana, Cuba: Felix Varela.
- INFOAGRO. (2012). www.infoagro.com/frutas/frutas_tropicales/platano.htm.
- JONES. (2000). *Introduccion al banano y enfermedades del banano*. Reino Unido: D Jones ed, CAB Internacional.
- JONES. (2000). *Mycosphaerella Leaf Spot Diseases of Bananas: Present ...* USTADOS UNIDOS: DR JONES.

- MARIN D.H., ROMERO R.A., GUZMAN M.,. (2008). *EFEECTO DE LA SIGATOKA NEGRA (Mycosphaerella fijiensis)*. HIDALGO.
- MOURICHON X., PETER D., ZAPATER M. (1987). *EFEECTO DE LA SIGATOKA NEGRA (Mycosphaerella fijiensis)*. HIDALGO.
- MOURICHON, X. FOURE, E. (1990-1997). EFECTO DE LA SIGATOKA NEGRA (Mycosphaerella fijiensis). (hidalgo, Ed.)
- RIMACHE. (2008). *CULTIVO DE BANANO Y PLATANO*.
- ROSALES & RIVAS. (2013). *Agrostemin en el Cultivo de Banano - QSI*. (eds).
- STOVER. (1980). *Plant Regeneration and Genetic Variability*. Indra Vasil.
- STREETS, R. (1972). *El Diagnóstico de enfermedades de las plantas: un manual de campo y de laboratorio haciendo hincapié en los métodos para la rápida identificación*. Tucson: University of Arizona Press: (2°ed ed.).

ANEXOS



**UNIVERSIDAD
TÉCNICA DE
COTOPAXI
UA-CAREN
CARRERA DE**

GUÍA DIDÁCTICA

**CARACTERIZACIÓN
MORFOLÓGICA DEL
HONGO
FITOPATÓGENO
SIGATOKA NEGRA
(*Mycosphaerella fijensis*)”**

DEDICATORIA

La presente guía didáctica está dedicada a la Universidad Técnica de Cotopaxi por permitirme realizar los estudios en tan prestigiosa institución.

Como no también dedicar a los docentes de la carrera de Ingeniería Agronómica por brindarnos su apoyo y conocimientos para la elaboración de esta Guía.

También quiero dedicar a la carrera de Ingeniería Agronómica. Por ser una carrera emprendedora para el apoyo de los conocimientos de los estudiantes.

Edison

ÍNDICE

DEDICATORIA

INTRODUCCIÓN

RECOMENDACIONES PARA EL USO DEL
LABORATORIO

TOMA DE MUESTRA.....

MATERIALES Y PREPARACIÓN

PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO PDA

TIPOS DE AISLAMIENTOS

PURIFICACIÓN

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

SIGNOS Y SÍNTOMAS

MACRO Y MICRO ESTRUCTURAS

CICLO DE VIDA DE (*Mycosphaerella fijensis*), EN
CONDICIONES DE LABORATORIO

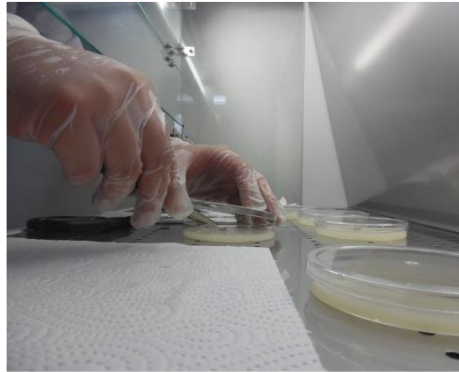
INTRODUCCIÓN

La *Mycosphaerella fijensis* es el agente causal de la Sigatoka negra cuyos síntomas en campo se presentan mediante la observación realizada en campo los síntomas que presentan, una pequeña raya generalmente son visible de color café en el envés de la hoja; en el haz se presenta como una raya que cambia progresivamente de color café a negro. A partir de la tercera hoja de la planta.

La presente guía didáctica sirve para determinar las macro y micro estructuras del hongo Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis*), y su ciclo de vida en condiciones del laboratorio.

OBJETIVO

Caracterizar morfológicamente el hongo fitopatógeno Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis*) en condiciones de laboratorio



RECOMENDACIONES PARA EL USO DEL LABORATORIO

- ⇒ No ingresar con bebidas o alimentos.
- ⇒ Ingresar con mandil, guantes, cofias y protectores de calzado.
- ⇒ Tener el lugar trabajo en orden y limpio antes, durante y al finalizar la práctica.
- ⇒ Tener cuidado con los materiales y equipos del laboratorio.
- ⇒ Seguir los pasos indicados para realizar el medio de cultivo para no desperdiciar reactivos y a su vez realizar un pesaje correcto con la balanza.
- ⇒ Revisar antes de encender el microscopio, que la luz del condensador este apagado para evitar algún tipo de daño.



TOMA DE MUESTRAS

El método utilizado para esta actividad puede ser por cuotas, en la cual se fija un número de individuos que reunieron unas determinadas condiciones.

PROCEDIMIENTOS EN LA TOMA DE MUESTRAS

Se extrae partes de plantas afectadas con una tijera, en cada corte se esteriliza los materiales con alcohol, las muestras vegetales se envasan en bolsas de papel para que el exceso de humedad sea absorbido por el papel, posteriormente se procede a colocar en una funda ziploc con su respectiva codificación y se traslada inmediatamente al laboratorio.

MATERIALES Y REACTIVOS

Reactivos.

- * 3,5 gr de levadura
- * 30 gr de Agar
- * 35 gr de glucosa “azúcar”
- * 350 gr de papa
- * 955 ml de agua desmineralizada

Materiales

- * 1 balanza digital
- * 1 cocina eléctrica
- * 1 cuchara de cocina
- * 1 cuchillo
- * 1 olla
- * 1 tamiz

- * 1 varilla de agitación
- * 1 vaso de precipitación de 1000ml
- * 2 matraces de 500ml
- * 2 vasos de precipitación de 100ml
- * 40 cajas petri
- * 7 papel filtro
- * Papel absorbente
- * Papel aluminio
- * Auto clave
- * Cámara de flujo laminar

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO PDA

1. Lavar y cortar en pequeñas partes, y pesar 350 gramos de papas
2. Colocar la muestra en una olla con 875ml de agua desmineralizada para la cocción en una estufa eléctrica.
3. Retirar la olla de la estufa, y tamizar el contenido; medir la cantidad de agua que sobro y se añade la cantidad de agua que se perdió en la cocción.
4. Pesar el agar, la levadura y la glucosa en papel filtro en una balanza digital.
5. Diluir la levadura y la glucosa en 80ml de agua desmineralizada (caliente), en un vaso de precipitación de 100ml con la ayuda de una varilla de agitación.



6. Colocar el vaso de precipitación de 1000ml a baño María y agregamos 30gr de agar y la solución disuelta en 80ml de glucosa y levadura.

7. Mezclar con una varilla de agitación hasta obtener una solución homogénea.

8. La solución obtenida se verterá en dos matraces de 500ml equitativamente, después y tapar los matraces con papel absorbente en forma de corcho y papel aluminio.

9. Colocar los matraces en el autoclave para su esterilización por un lapso de una hora a 121°C.

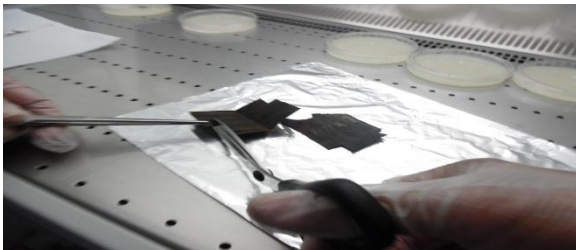
10. Enfriar la solución y colocar en cajas petri, hasta cubrir la base de las mismas.



TIPOS DE AISLAMIENTOS

Aislamiento directo.

Para esto se toma una muestra de este material con una aza de cultivo esterilizada “flameada con un mechero de alcohol”, para finalizar se coloca directamente sobre el medio de cultivo solidificado de PDA.



Partes vegetales en PDA.

Se procede a tomar porciones de tejido enfermo para desinfectarlos en una solución 2:1 de alcohol a 75°G.L, se lava dos veces con agua desmineralizada y se elimina los excesos de la misma, y colocar en el medio de cultivo PDA.



PURIFICACIÓN

Consiste en realizar cortes de las puntas de micelio del borde de la colonia en crecimiento con la ayuda de un bisturí estéril. Esta pequeña porción del hongo y agar se deposita en otras cajas con medios de cultivo estéril y de esta forma se obtiene cultivos puros.



INCUBACIÓN

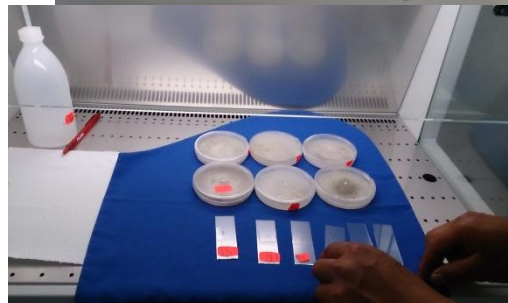
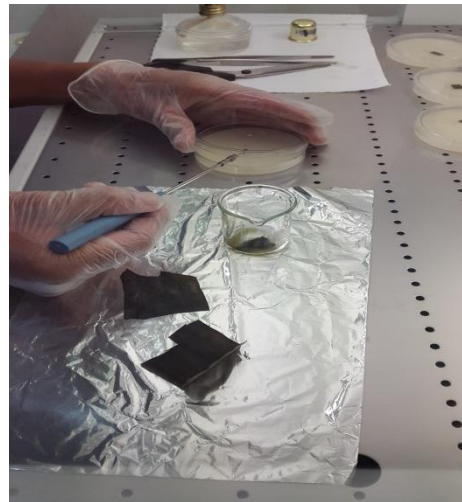
La incubación se la realiza a 23,5 °C en una incubadora IN110, por el lapso de 15 días según el desarrollo del micelio del hongo.



CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

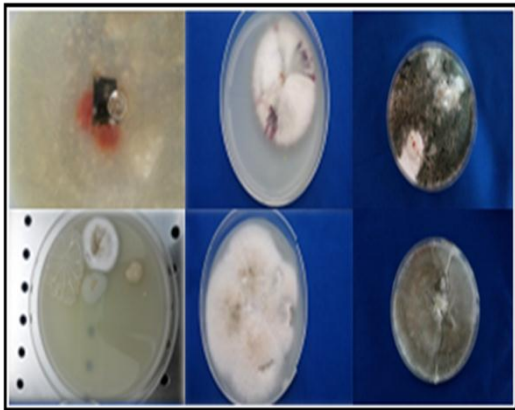
OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA

Montaje por disección: Con un aza estéril o bisturí, se toma una muestra del hongo y se ubica sobre un portaobjetos con una gota de agua destilada, con la misma aza se extiende el micelio, después se coloca el cubreobjetos los mismos que tienen que llevar una etiqueta para evitar confusiones, para finalizar se observa en el microscopio con aumentos de 4x, 10x, 20x y 100x.



SIGNOS Y SÍNTOMAS:

La observación realizada en campo los signos y síntomas que presenta la Sigatoka negra están determinados por pequeñas rayas, generalmente visible de color café en el envés de la hoja; en el haz se representa como una raya que cambia progresivamente de color café a negro, a partir de la tercera hoja de la planta.



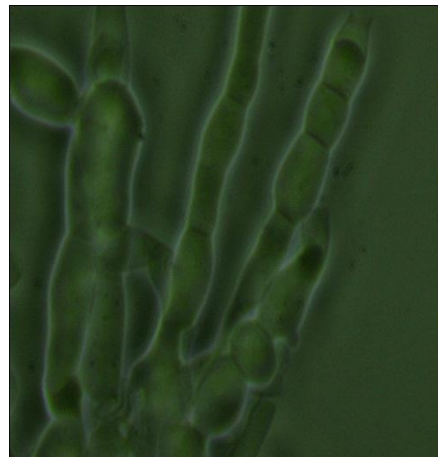
MACRO ESTRUCTURAS:

Se logró identificar en los primeros días de desarrollo en el medio de cultivo PDA, la presencia de una insuficiente formación de micelio, al pasarse los días el micelio presentó una forma ovalada de color blanco, mediante el paso de los días fue formando colonias de micelio que llegó a cubrir en su totalidad la caja petri empezando a cambiar de color blanco a café y llegando a su fase final a ponerse de un color negro.


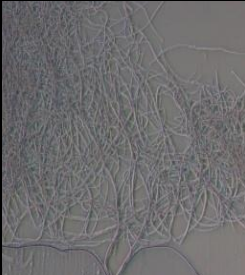

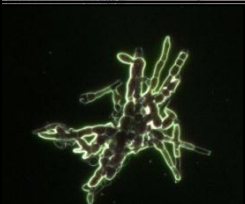

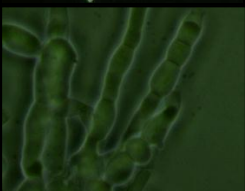

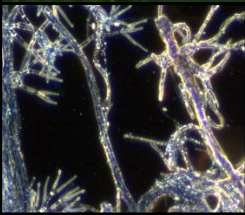

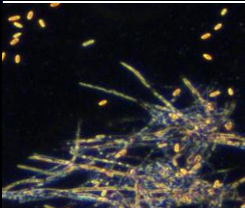
MICRO ESTRUCTURAS:

Se observaron las microestructuras con el microscopio óptico Olympus, incorporada con una cámara INFINITY 1-2CB con un aumento de 20x.

Las conidias son estructuras hialinas, cilíndricas, rectas o ligeramente curvas, que poseen de seis a nueve septos, delgadas en el ápice y más anchas en la base



CICLO DE VIDA DEL HONGO *Mycosphaerella fijensis*

Actividad	Tiempo/T°	Imagen	Observación en microscopio	Aumento
Inoculación del hongo	10 minutos a 19 °C			10x
Presencia de micelio	2 días a 23,5 °C			10x
Formación de conidióforos	4 días a 23,5 °C			4x
Formación de conidios	11 días a 23,5 °C			20x
Formación de ascosporas	15 días a 23,5 °C			20x

Fuente: Batallas Edison

ANEXO 2

FOTOGRAFÍAS DE LA PRÁCTICA REALIZADAS TRABAJOS EN CAMPO

Ilustración 1. Observación en campo, identificación de hongo



Ilustración 2. Revisión de la enfermedad



Ilustración 3. Muestra con Sigatoka negra



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 4. Hoja atacada por la Sigatoka negra



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 5. Corte de la muestra infectada



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 6. Toma de la muestra para su estudio



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 7. Empaquetado de la muestra



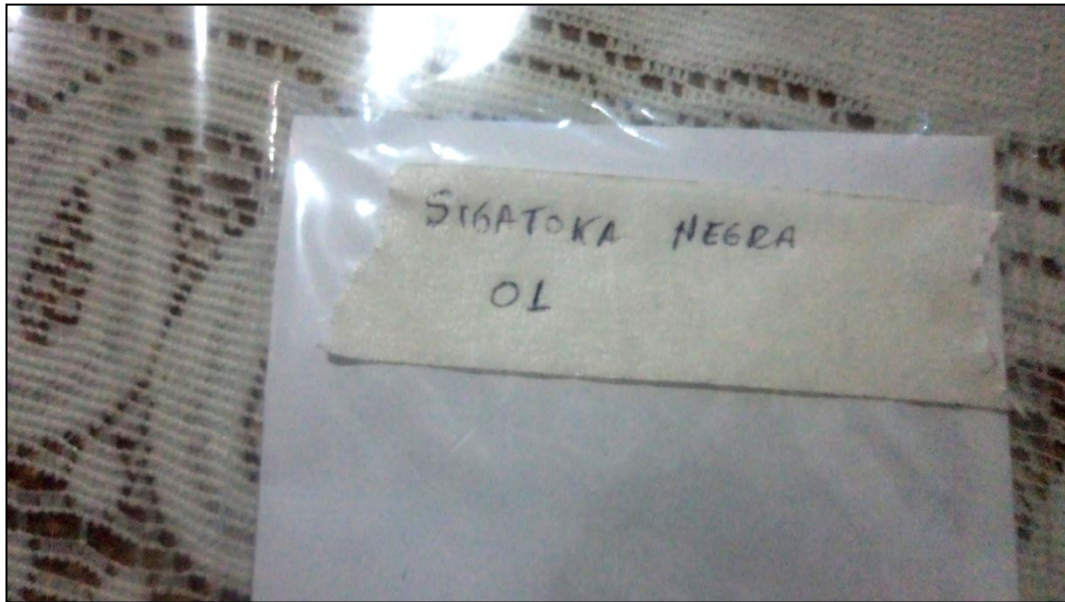
Fuente: Batallas Edison

Ilustración 8. Muestra lista para su traspotación



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 9. Etiquetación de la muestra



Fuente: Batallas Edison

ANEXO 3

EQUIPOS UTILIZADOS

Ilustración 10. Refrigeradora R1-425 QUARZOINDURAMA



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 11. Estufa eléctrica



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 12. Cámara de flujo laminar aurora mini con base



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 13. Autoclave semiautomática 2540-23 litros



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 14. Cámara de crecimiento o incubadora



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 15. Microscopio Trinocular Olympus CX31 y Cámara científica INFINITY 1-2CB



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 16.Balanza digital



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 17. Esterilizador de agua



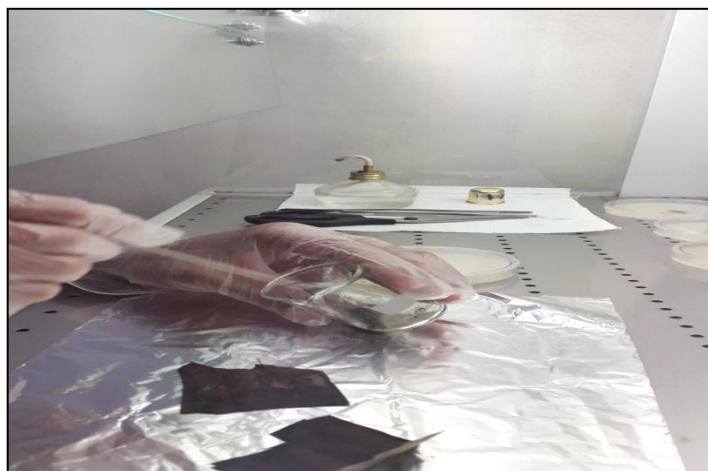
Fuente: Batallas Edison

ANEXO 4
TRABAJOS PARA SIEMBRA DE CULTIVO
TRABAJOS DE MUESTRA RASPANDO

Ilustración 18. Trabajo en la cámara de flujo laminar



Ilustración 19. Macerado de la hoja afectada



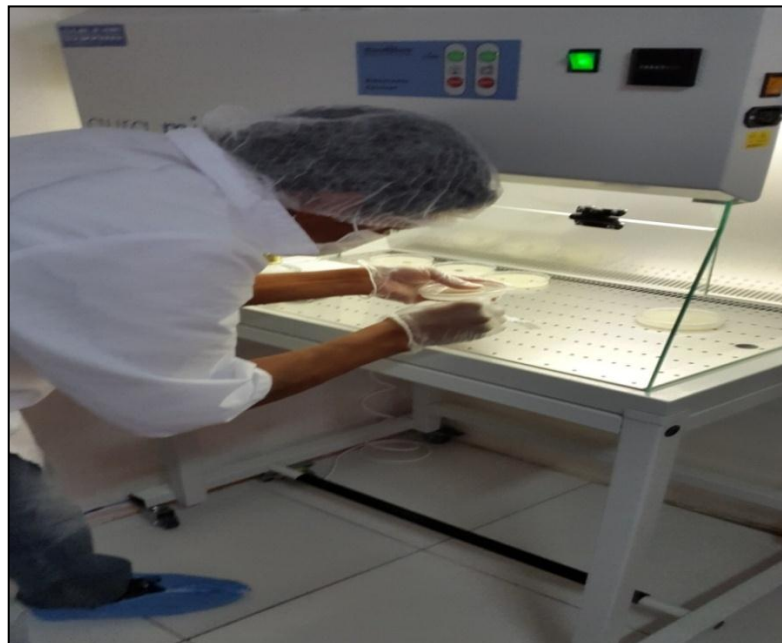
Fuente: Batallas Edison

Ilustración 20. Siembra del hongo



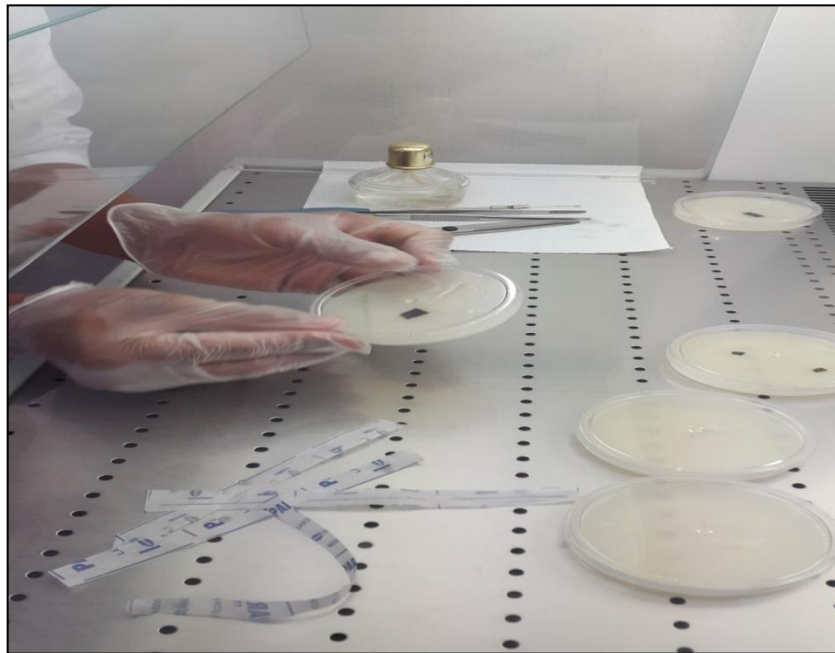
Fuente: Batallas Edison

Ilustración 21. Ubicación del parafil



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 22. Sellado de la caja petri



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 23. Etiquetado



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 24. Cajas petri con su respectiva siembra e identificación



Fuente: Batallas Edison

ANEXO 5

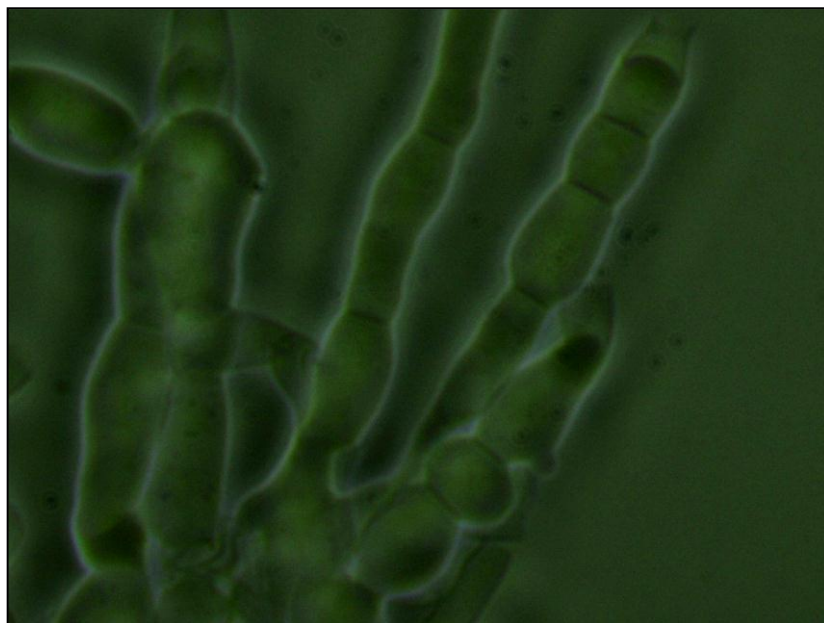
Prácticas microscopio

Ilustración 25. Formación de hifas observadas con el lente 20x



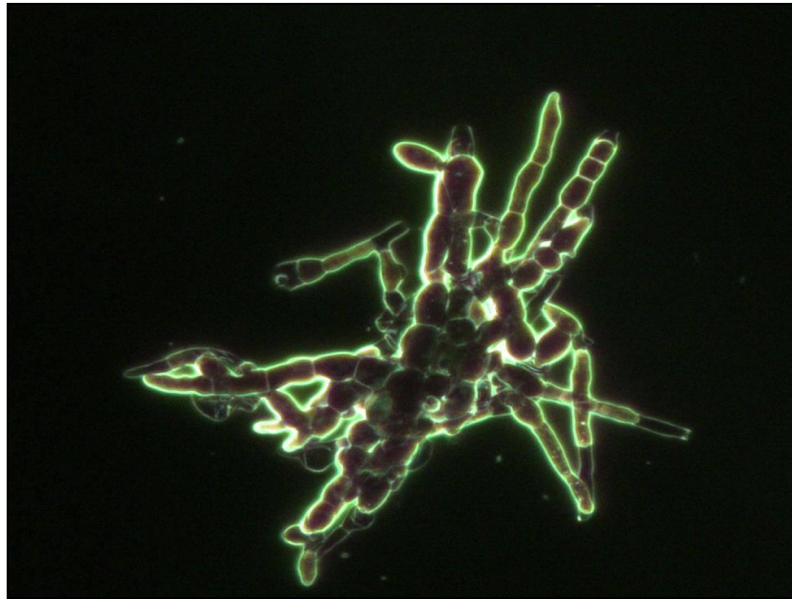
Fuente: Batallas Edison

Ilustración 26. Crecimiento de hifas observado con el lente 20x



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 27. Desarrollo de micelio observado con el lente 10x



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 28. Hifas segmentadas observadas con el lente 20x



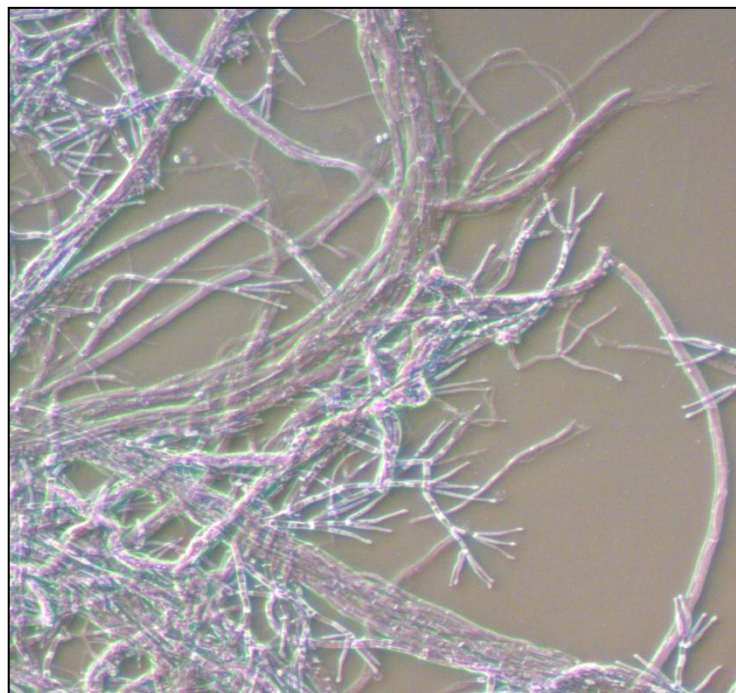
Fuente: Batallas Edison

Ilustración 29. Desarrollo de micelio observado con el lente 10x



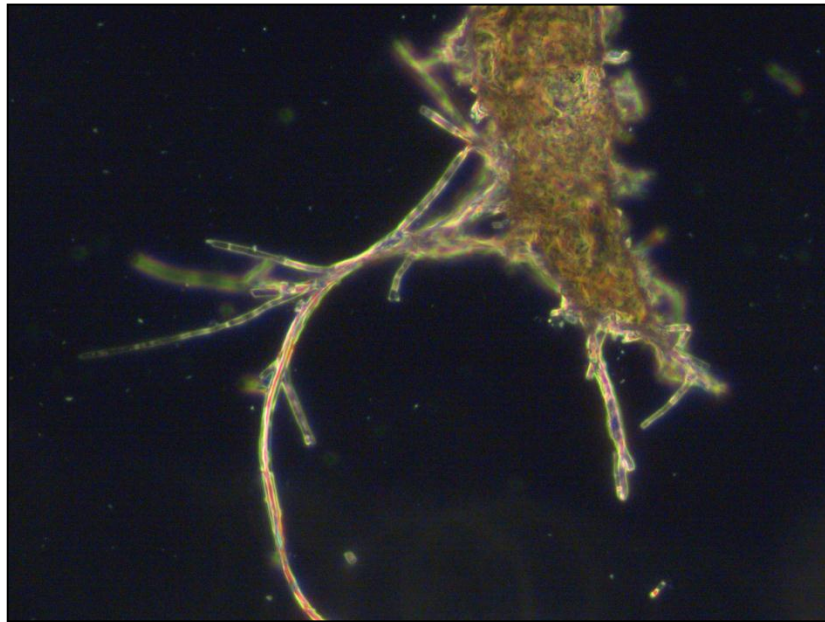
Fuente: Batallas Edison

Ilustración 30. Formación de conidios observado con el lente 10x



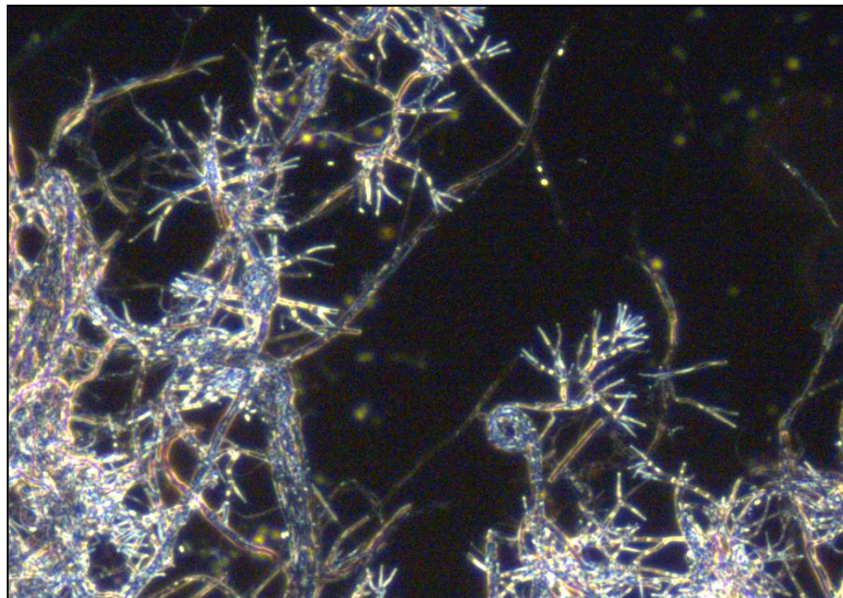
Fuente: Batallas Edison

Ilustración 31. Iniciación del desarrollo de conidio observado con el lente 20x



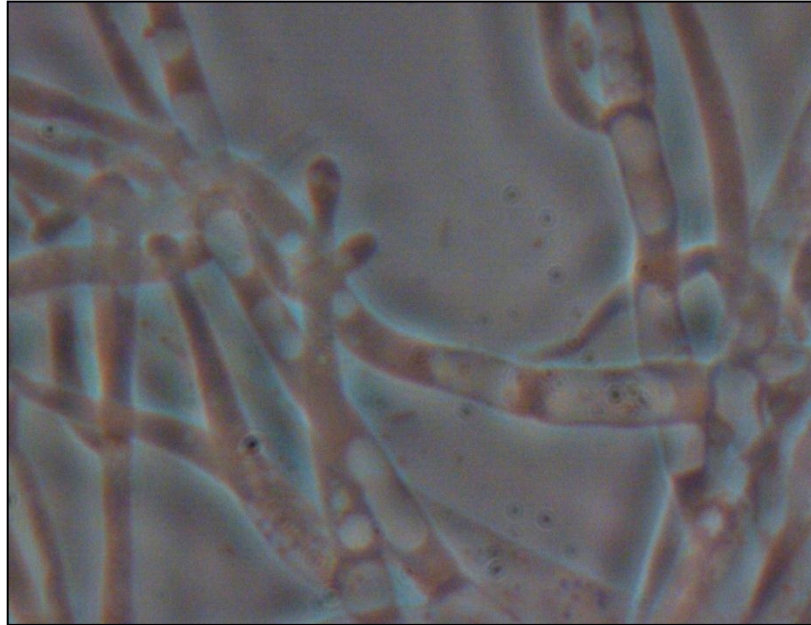
Fuente: Batallas Edison

Ilustración 32. Desarrollo de conidios observado con el lente 4x



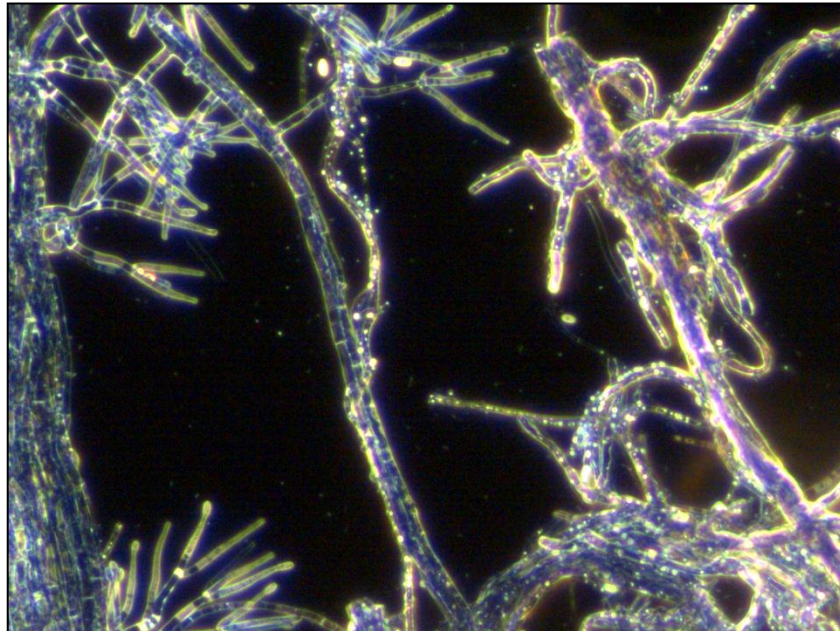
Fuente: Batallas Edison

Ilustración 33. Estructura de conidios observado con el lente 100x



Fuente: Batallas Edison

Ilustración 34. Formación de conidióforos observado con el lente 20x



Fuente: Batallas Edison

ANEXOS 6

COSTOS

DESCRIPCION	CANTIDAD	COSTO UNITARIO	COSTO TOTAL
Materiales de aseo			
Alcohol	1	5,5	5,5
Cofias	15	0,3	4,5
Escoba	1	2	2
Franela	2	4,5	9
Guantes	15	0,25	3,75
Kalipto	1	4,3	4,3
Mascarillas	15	0,25	3,75
Papel de cocina	2	3,5	7
Reactivos de aseo			
Trapeador	2	3	6
Yodo	1	3,6	3,6
Zapatones	15	0,35	5,25
Materiales de laboratorio			
Asa de inoculación de cromo	2	3,6	7,2
Cajas mono Petri descartables	40	0,21	8,4
Cajoneras de plástico	1	7,5	7,5
Cintas de pH	10	0,14	1,4
Colador	1	2	2
Cubre objetos	1	2,5	2,5
Erlenmeyer de 500 ml y 1000 ml	3	5	15
Hojas de bisturí estéril	10	0,04	0,4
Juego de botellón de agua	1	28	28
Laminas porta-objetos	1	2,99	2,99
Lámpara de alcohol	3	3,99	11,97
Olla	1	4	4
Papel aluminio	1	3	3
Papel parafilm	0,5	49	24,5
Pinzas	1	2,08	2,08
Tijeras	1	1,5	1,5
Varilla de agitación	1	3,5	3,5
Vasos de precipitación de 50 ml, 100 ml, 600 ml y 1000 ml	4	2,5	10
Reactivos de laboratorio			
Ácido cítrico	1	2,5	2,5

Agua	1	2	2
Bacto agar	0,5	88	44
Levadura	1	2	2
Sacarosa	1	2	2
Equipos			
semiautomática 2540-23 litros	1	2999,47	2999,47
Balanza	1	30	30
Cámara científica infinity 1-2CB	1	2176,56	2176,56
Cámara de flujo laminar aurora mini con base	1	6690	6690
Cámara digital	1	280	280
Cocineta eléctrica	1	30	30
Desecador 250mm de diámetro con tapa	1	229,8	229,8
Destilador de agua waterwise 9000	1	511,3	511,3
Incubadora IN110	1	2665,7	2665,7
Microscopio TrinocularCX31	1	2455,68	2455,68
Refrigeradora R1-425 QUARZOINDURAMA	1	767,97	767,97
Termómetro digital	1	25	25
SUBTOTAL			19104,57
Imprevistos (10%)			1910,457
COSTO TOTAL \$			21015,027