

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 BROCOLI (*Brassica oleracea var. italica*), SECTOR BRIGADA
PATRIA – COTOPAXI. 2014**

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

Autor: Bladymir Alexander Medina Plaza

Director: Ing. Santiago Jiménez

Latacunga – Cotopaxi

2015

AUTORÍA

Yo, **BLADYMR ALEXANDER MEDINA PLAZA**, portador de la cedula N° 0503059578-8, libre y voluntariamente declaro que la tesis titulada: **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE BROCOLI (*Brassica oleracea var. italica*), SECTOR BRIGADA PATRIA – COTOPAXI. 2014”**, es original, autentica y personal. En virtud, declaro que el contenido será de mi sola responsabilidad legal y académica.

.....
Bladymir Alexander Medina Plaza
C.I. 050305957-8

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 Directora del Tema de Tesis: **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE BROCOLI (*Brassica oleracea var. italica*), SECTOR BRIGADA PATRIA – COTOPAXI. 2014”**, 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

AVAL DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

En calidad de miembros del Tribunal de la Tesis Titulada “**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE BROCOLI** (*Brassica oleracea var. italica*), **SECTOR BRIGADA PATRIA – COTOPAXI. 2014**” De autoría del egresado **Bladymir Alexander Medina Plaza** CERTIFICAMOS que se ha realizado las respectiva revisiones, correcciones y aprobaciones al presente documento.

Aprobado por:

Ing. Santiago Jiménez

DIRECTOR DE TESIS

Ing. Mg. Guadalupe López

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Paolo Chasi

SECRETARIO DEL TRIBUNAL

Ing. Mg. Karina Marín

OPOSITOR

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada con mucho amor a mis Padres Franklin, Salma y a Dios porque han estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar, a mis padres, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo incondicional en todo momento. Depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Es por ellos que soy lo que soy ahora.

A mis hermanas, Carolina y Diandra que estuvieron conmigo en esos momentos ya sean de alegría, tristeza y que nunca me dejaron solo en ningún momento de mi arduo camino a la culminación de una etapa más de mi vida.

AGRADECIMIENTO

A mis Padres por ser las personas que me brindaron su apoyo incondicional y me ayudaron a culminar con mi carrera

A los docentes de la Unidad Académica de Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales “CAREN”, por su tiempo, dedicación, y compromiso de sembrar la semilla del conocimiento.

Mi agradecimiento al. Ing. Santiago Jiménez, Director de Tesis por su invaluable dirección en el desarrollo de este trabajo de investigación por compartir sus conocimientos

INDICE GENERAL

AUTORÍA	ii
AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS.....	iii
AVAL DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL.....	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
RESUMEN	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN	xiii
JUSTIFICACIÓN	xiv
OBJETIVOS	xv
GENERAL.....	xv
ESPECÍFICOS	xv
PREGUNTAS DIRECTRICES	xvi
CAPITULO I	17
1. FUNDAMENTO TEORICO	17
1.1. BROCOLI (<i>Brassica oleracea var. italica</i>).....	17
1.1.1. Origen y Distribución Geográfica.....	17
1.1.2. Descripción de la Planta.....	17
1.1.4. Taxonomía.....	18
1.2. ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE BROCOLI CAUSADAS POR HONGOS	19
1.2.1. Hernia o potra de la col (<i>Plasmiodiophora brassicae Wor.</i>).....	19
1.2.2. Lancha o tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>).....	19
1.2.3. Mildeu (<i>Peronospora brassicae</i>)	19
1.2.4. Alternaría (<i>Alternaria brassicae (Berk.)</i>).....	20
1.3 ALTERNARIA.....	20
1.3.1 Generalidades	20
1.3.2 Ciclo de la Enfermedad.....	21
1.4 Hongos fitopatógenos	23
1.4.1 Características generales	23

1.4.2 Estructuras somáticas	23
1.4.3 Hongos como patógenos en las plantas.....	24
1.4.4 Signos y síntomas de hongos patógenos en la planta.....	24
1.5 Medios de cultivos usados en el aislamiento de hongos	25
1.6 Estructuras reproductivas.....	25
1.6.1 Hongos superiores	25
CAPÍTULO II.....	26
2.1. Materiales.....	26
2.1.1. Institucionales.....	26
2.1.2. Recursos Humanos	26
2.1.3. Materiales de oficina	27
2.1.4. Materiales de campo.....	27
2.1.5. Materiales de aseo	27
2.1.6. Reactivos de aseo	27
2.1.7. Materiales de laboratorio.....	28
2.1.8. Reactivos de laboratorio.....	29
2.1.9. Equipos.....	29
2.2 Diseño Metodológico.....	30
2.3. Métodos y Técnicas	30
2.3.1. Método	30
2.3.2. Técnicas.....	30
2.4. Metodología	30
2.4.1. Recolección de la muestra en campo	30
2.5. Delimitación del laboratorio.....	31
2.5.1 Ubicación política	31
2.5.2 Ubicación geográfica.....	31
2.5.3 Condiciones edafoclimáticas de Latacunga	32
2.6 Tratamiento de las muestras en laboratorio	32
2.7 Preparación del medio de cultivo.....	32
2.8 Siembra	33
2.9 Purificación	33
2.10. Identificación	33

2.11. Aislamiento	34
2.12. Caracterización Morfológica	34
CAPITULO III.....	35
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
3.1. Determinación del hongo fitopatógeno de mayor importancia en la producción de Brócoli (<i>Brassica oleracea var. italica</i>).....	35
3.2. Identificación de signos y síntomas del hongo Alternaría (<i>Alternaría brassicae</i> (<i>Berk.</i>)) en el cultivo de Brócoli (<i>Brassica oleracea var. italica</i>).....	36
3.3 Caracterización de Macro y Microestructuras de Alternaría (<i>Alternaría brassicae</i> (<i>Berk.</i>)).....	37
3.3.1. Macro estructura.....	37
3.3.2 Microestructuras.....	39
3.4 Descripción del ciclo de vida del Patógeno en Condiciones de Laboratorio.....	42
3.5 Elaboración de una guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo Alternaría (<i>Alternaría Brassicae</i> (<i>Berk</i>)).....	43
4. CONCLUSIONES	44
5. RECOMENDACIONES	45
6. GLOSARIO TÉCNICO	46
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFIA	51
8. ANEXOS	53
ANEXOS 1.	53
ANEXO 2.	62
ANEXO 3.	64
ANEXO 4	77

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1	Clasificación taxonómica del brócoli (<i>Brassicaea oleraceae</i> <i>va itálica</i>).....	18
Tabla N° 2	Clasificación taxonómica de alternaría (<i>Alternaria brassicae</i> (<i>Berk</i>)).....	21
Tabla N° 3	Condiciones edafoclimaticos de Latacunga.....	33
Tabla N° 4	Descripción del ciclo de vida del Patógeno en Condiciones de Laboratorio.....	42
Tabla N° 5	Enfermedades en el cultivo de Brocoli.....	77

INDICE DE IMÁGENES

Imagen 1.	Alternaría (<i>Alternaria brassicaea</i> (<i>Berk</i>)).....	36
Imagen 2.	Hongo desarrollado de (<i>Alternaria brassicaea</i> (<i>Berk</i>)).....	38
Imagen 3.	Homgo Desarrollado de (<i>Alternaria brassicaea</i> (<i>Berk</i>)).....	38
Imagen 4.	Micelio.....	39
Imagen 5.	Talo.....	40
Imagen 6.	Conidioferos y Conidios.....	41

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el sector de la Brigada Patria, con coordenadas: latitud: 0°50'46.428''S, longitud: 78°37'41.938''OE, y a una altitud de 2.867 msnm; en el cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi, ya que existe gran incidencia de hongos fitopatógenos en el cultivo del brócoli. Se pudo determinar que el hongo que afecta de gran manera a la producción del brócoli es la alternaria (*Alternaria brassicaea (berk)*) la misma que se presenta en las plántulas y plantas en producción en todas las partes de la planta, se manifiesta con manchas de color negras de un centímetro de diámetro, con anillos concéntricos de color amarillos .

Con los antecedentes antes presentados se caracterizó el hongo fitopatógeno *Alternaria brassicaea (berk)* en condiciones de laboratorio el mismo que se encuentra ubicado en la ciudad de Latacunga, con coordenadas: latitud: 0°55'42.888"S, longitud: 78°37'26.083''OE, y a una altitud: 2.765 msnm.

Se identificó que las macro estructura del hongo presentaba un micelio ramificado, con una textura algodonosa y con una coloración café, mientras que las micro estructuras presentaron hifas con gran aglomeración cuya longitud promedio oscila 100 μm , La inoculación se realizó en un medio de cultivo PDA, y los que fueron incubados a una temperatura de 23 °C por el lapso de 15 días. en el interior de las mismas presentaron los talos que son filamentos microscópicos que se ramifican en todas las direcciones con una longitud promedio de 15 μm de forma oblicua estas estructuras se pudieron observar con la ayuda de un microscopio trinocular OLYMPUS CX31 adaptado con una cámara INFINTY 1-2CB, con un aumento de 4x, 10, 20x y 100x de esta manera pudimos comparar los resultados con la bibliografía.

ABSTRACT

This research was carried out at Brigada Patria Sector, with coordinates: latitude: 0°50'46.428''S, longitude: 78°37'41.938''OE, at an altitude of 2.867 msnm; in Latacunga city, Cotopaxi Province. There is a high phytopathogens fungal incidence in broccoli crops. It was possible to determine that the fungus which affects to broccoli production was the *Alternaria (alternaria brassicaea (berk))*. It is present in seedlings and it covers everywhere in older plants. It is manifested as black spots of 1 cm diameter with stronger concentric colored rings.

The antecedent presented before on the *Alternaria brassicaea (berk)* fungus was characterized under laboratory conditions which is located in Latacunga City with coordinates: Latitude: 0°55'42.888''S,, Longitude: 78° 37'26.083''OE, an Altitude: 2.765 meters above sea level.

Inoculation was performed in a PDA growing medium, and they were incubated at a 23 ° c temperature for a 15 days period. It was identified that the fungus' macro structure had a mycelium branched. Its texture was cottony and a browning while microstructures showed hyphae with large agglomeration and whose average length ranges 100 microns, inside thereof presented thalli which are microscopic filaments that branch out in all directions with an average length of 15 um obliquely. These structures were observed with the help of a trinocular microscope Olympus CX31 INFINTY 1-2CB fitted with a camera, an increase of 4x, 10, 20x and 100x this way we could compare Bibliographically.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de Brócoli (*Brassica oleracea var. italica*). Es originario del Mediterráneo y Asia menor, en el Ecuador las provincias donde se cultiva el brócoli ha mostrado un fuerte dinamismo en los últimos años, la región andina es ideal para este tipo de cultivo. Cotopaxi es la principal provincia productora del país con el 68% de exportación, en el país existe una densidad de siembra de 3.359 hectáreas que alcanzando una producción total de 70 mil toneladas. (PROECUADOR, 2015)

Los hongos más característicos del cultivo de brócoli son: hernia o potra de la col (*Plasmodiophora brassicaea* Wor), Lancha o tizon tardío (*Phytophthora infestans*), Mildéu (*Pernospora brassica*), Alternaría (*Alternaria brassicaea* (Berk.))

Los efectos que puede tener Alternaría, causado por el patógeno, *Alternaria brassicaea* (Berk.) Sobre la condición de las plantas y el rendimiento productivo del brócoli; pueden ser muy devastadores para el agricultor que convive con esta enfermedad en zonas de clima favorable para el patógeno. Bajo condiciones climáticas favorables y sin un manejo apropiado de la enfermedad, puede ocurrir la pérdida de un 40% de la cosecha presente y una reducción del 60% en el potencial productivo del brócoli en el siguiente ciclo de producción, esto debido al gran agotamiento que sufren las plantas por daños severos a toda la planta por *Alternaria brassicaea* (Berk.)

JUSTIFICACIÓN

El motivo de esta investigación se basa en que la actividad brocolera en nuestro país es un cultivo de exportación que enfrenta una gran cantidad de problemas fitosanitarios que provocan pérdidas en la competitividad en el mercado internacional y un deterioro de la estructura socioeconómica de los productores del brócoli.

Esta investigación es muy importante ya que en el brócoli ha representado para el país una fuente de empleo muy significativo se estima 600.000 plazas de trabajo directo y de 40.000 indirectos. (PROECUADOR, 2015)

La presencia de hongos fitopatógenos en el sector de la “Brigada Patria” impide una mayor productividad motivo por el cual se propone la presente investigación “Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea var. italica*), que servirá de información al agricultor para tomar decisiones oportunas y tener una guía para el control de enfermedades producidas por hongos fitopatógenos que permita reducir los costos e incrementar la producción y así aumentar sus ingresos económicos, también puede servir como una guía didáctica para los estudiantes, organizaciones y personas interesadas del Sector y la zona 3.

OBJETIVOS

GENERAL

Caracterizar morfológicamente el hongo fitopatógeno en el cultivo de Brócoli (*Brassica oleracea var. italica*), sector Brigada Patria. Cotopaxi. 2014.

ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar el hongo fitopatógeno de mayor impacto en la producción del cultivo
- ✓ Identificar signos y síntomas del hongo de mayor impacto del Brócoli (*Brassica oleracea var. italica*) 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.

PREGUNTAS DIRECTRICES

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

CAPITULO I

1. FUNDAMENTO TEORICO

1.1. BROCOLI (*Brassica oleracea var. italica*)

1.1.1. Origen y Distribución Geográfica

Esta hortaliza es originaria del Mediterráneo y Asia Menor. Existen referencias históricas de que el cultivo data desde antes de la Era Cristiana. Ha sido popular en Italia desde el Imperio Romano, sin embargo, era desconocido en Inglaterra hasta hace unos pocos siglos, en la actualidad Estados Unidos es uno de los mayores mercados consumidores en el mundo. (REVELO & RUIZ, 2009)

La región andina es ideal para este cultivo. Cotopaxi es la principal provincia productora del país con el 68% de la producción total, seguida por Pichincha e Imbabura que producen el 16% y el 10% del total nacional respectivamente. Estas zonas presentan condiciones favorables para la producción de esta hortaliza durante todo el año, siendo las principales variedades legacy o avenger sembradas en el país. (PROECUADOR, 2015)

1.1.2. Descripción de la Planta

1.1.2.1. Raíz.

Son ramificadas, profundas, extendiéndose alrededor del tallo de 45 a 60 centímetros

1.1.2.2. Tallo

Son herbáceos, cilíndricos; el tallo principal es relativamente grueso (3 a 6 cm diámetro), de 20 a 50 cm de alto, sobre el cual se disponen las hojas en forma helicoidal, con entrenudos cortos.

1.1.2.3 Inflorescencia

Primaria, conformada por flores dispuestas en un corimbo principal. Los corimbos son de color verde claro a púrpura, según el cultivar. Las flores son de color amarillo sobre inflorescencias racimosas de polinización alógama. (BROK, 2013)

1.1.4. Taxonomía

TABLA 1. Clasificación taxonómica del brócoli (*Brassica oleraceae var. itálica*)

Reino	Plantae
Divisió	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	. Brassicales
Familia	. Brassicaceae
Género	Brassica
Especie	Brassica oleracea var. Itálica

Fuente: (MATELJAN, 2009)

1.2. ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE BROCOLI CAUSADAS POR HONGOS

1.2.1. Hernia o potra de la col (*Plasmodiophora brassicae* Wor.)

Síntomas: Esta enfermedad ataca a las raíces que se ven afectadas de grandes abultamientos o protuberancias. Como consecuencia del atrofiamiento que sufren los vasos conductores, la parte aérea no se desarrolla bien y las hojas se marchitan. (BROK, 2013)

Diseminación: Produce innumerables esporas que son las que reproducen la enfermedad

Sobrevivencia: Persiste asociado a tejidos enfermos aparentemente al estado de conidias.

1.2.2. Lancha o tizón tardío (*Phytophthora infestans*)

Síntomas: En el haz y en el envés de las hojas se producen manchas redondeadas de color café negruzco y en el tallo, lesiones de color negro brillante, de consistencia ligeramente acuosa. (BAKER & COOK, 1974)

Diseminación: Por el viento.

Sobrevivencia: Presentes en restos de tejidos enfermos.

1.2.3. Mildew (*Peronospora brassicae*)

Síntomas: La parte inferior de la hoja en forma de manchas oscuras en hojas jóvenes. La parte superior de la hoja también desarrolla manchas oscuras similares en forma y acompañadas del amarillamiento de la hoja. (MESA, 2001)

Diseminación: Fácilmente por el viento.

Sobrevivencia: En las malezas u otros cultivos.

1.2.4. Alternaria (*Alternaria brassicae* (Berk.))

Síntomas: Los primeros síntomas se pueden observar al nacer los cotiledones y en la aparición de las primeras hojas. Se forman unas manchas negras de un centímetro de diámetro, con anillos concéntricos más fuerte de color. (GALLEGOS, 1998)

Diseminación: Presentes en restos de tejidos enfermos.

Sobrevivencia: En las malezas u otros cultivos.

1.3 ALTERNARIA

- Sinónimos

Mancha foliar, Alternaría, Repollo de brócoli

1.3.1 Generalidades

Es un hongo patógeno de las plantas capaz de infectar a la mayoría de brassicas incluyendo muchas especies importantes en agricultura como brócoli, Causa el marchitamiento de las plantas si ataca cuando ellas son jóvenes. Los ataques en plantas adultas son menos severos, causando manchas en las hojas. (CALVO, 2001)

Entre los síntomas son los brotes del brócoli las manchas pueden aparecer pero es un síntoma muy raro y estaría conectado con las bajas temperaturas al final del periodo de vegetación”. (CALVO, 2001)

Además se debe evitar la dispersión del inóculo secundario mediante la aplicación de fungicidas en el cultivo, especialmente durante los períodos con elevada humedad ambiente y temperaturas templadas a cálidas.” (CALVO, 2001)

TABLA 2. Clasificación taxonómica de alternaría (*Alternaria brassicae* Berk.)

Reino	Fungui
Hongo	Mitospanica
División	Eumycota
Subdivisión	Deuteromycotina
Clase	Hyphomycetes

Fuente: (ROMERO, JIMENEZ, & DIAZ, 1979)

1.3.2 Ciclo de la Enfermedad

El hongo participa en la pérdida de humedad y más tarde infecta las hojas más viejas. Durante el periodo de vegetación se extiende por conidios a causa del viento y del agua salpicada". (SALAS, 2013)

- **Etapas de sobrevivencia del hongo.** Son todos parásitos obligados (Briofitos), por lo general la infección y desarrollo del micelio es totalmente superficial, desarrollando haustorios en los tejidos epidermales. Raramente matan a sus huéspedes, pero utilizan sus nutrientes, disminuyen su fotosíntesis, aumentan su respiración, disminuyen su desarrollo y productividad, Enfermedad frecuente en zonas con condiciones húmedas en invierno o en los meses de abril a septiembre donde reaparecen los patógenos. (KUCHAREK, 1984)

Sobreviven como saprótrofos en restos de plantas enfermas. Cuando los conidios quedan expuestos a temperaturas bajas (3 °C) se pueden formar clamidosporas y microesclerocios, estructuras con gran capacidad de persistencia en condiciones adversas. (KOIKE, GLADER, & PAULUS, 2008)

- **Etapa de gemación del hongo.** Cada gema producida tiene la potencialidad de infectar y producir más lesiones en nuevas hojas. La presencia de agua y temperatura alrededor de 18 °C es importante para que esto ocurra. Cuando estas gemas se depositan en hojas débiles o tallos jóvenes; en pocas horas, inicia la germinación de las gemas con la emisión de hifa del hongo sobre el tejido de la planta. (KUCHAREK, 1984)
- **Fructificación de nuevas lesiones o inóculo secundario.** Esta fase se debe principalmente al desarrollo de la enfermedad cuando las condiciones climáticas o factores para que el patógeno disperse mas la expansión de la enfermedad a la planta. (BOYER, 1995)
- **Final del ciclo de la enfermedad e inóculo residual.** Al final de la época lluviosa, la humedad disminuye, la temperatura se incrementa, hay mayor ventilación y menos horas de mojado foliar. Durante el invierno, el hongo permanece en los restos de cosecha que quedan en el suelo. Las plantas más débiles debido a ataques por otras enfermedades o por falta de abonado nitrogenado, son a las que primero ataca. (LUZ M & RONALD D)
- **Condiciones optimas para el desarrollo de la enfermedad.** La producción de conidios de ambas especies de *Alternaria* es óptima entre los 16 y 24 °C. Fuera de ese rango de temperaturas la esporulación tiene lugar si las lesiones permanecen húmedas por más de 20 h.

Una vez formados los conidios, se liberan cuando el ambiente se encuentra seco y las temperaturas son templadas a cálidas. Por eso la dispersión de inóculo es máxima cuando se producen tales condiciones después de un período lluvioso.

Una vez que los conidios de *Alternaria* llegaron a un tejido sano, pueden permanecer vivos por períodos prolongados, hasta que se produzcan las condiciones ambientales necesarias para su germinación. Ello ocurre porque su color oscuro les permite soportar el efecto deletéreo de la radiación ultravioleta de la luz solar. (FERREIRA & BOLEY, 1991)

1.4 Hongos fitopatógenos

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 G. , Fitopatología, 2007)

1.4.1 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)

1.4.2 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)

1.4.3 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 G. , Plant Pathology, 2005)

1.4.4 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 G. , 1995)

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 G. , 1995)

1.5 Medios de cultivos usados en el aislamiento de hongos

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. (FRENCH & HEBERT, 1980)

La temperatura de incubación de los hongos fue de 23. °C.

1.6 Estructuras reproductivas

1.6.1 Hongos superiores

- **Estructuras representativas de la clase Ascomycetas:** 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. (AGRIOS G. , Fitopatología , 1999)

CAPÍTULO II

2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Materiales

2.1.1. Institucionales

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

2.1.2. Recursos Humanos

- ✓ Autor: Bladymir Alexander Medina Plaza
- ✓ Director de tesis: Ing. Santiago Jiménez
- ✓ Miembros del Tribunal:
 1. Ing. Mg. Guadalupe López
 2. Ing. Paolo Chasi
 3. Ing. Mg. Karina Marín

2.1.3. Materiales de oficina

- ✓ Computadora Sony
- ✓ Internet
- ✓ Flash memory
- ✓ Cd o DVD
- ✓ Hojas formato A4

2.1.4. Materiales de campo

- ✓ Muestras de brócoli infectados con alternaría
- ✓ Fundas de plástico “ ziploc “
- ✓ GPS Garmin
- ✓ Estilete
- ✓ Cámara Sony

2.1.5. Materiales de aseo

- ✓ Escoba
- ✓ Trapeador
- ✓ Franela
- ✓ Papel de cocina

2.1.6. Reactivos de aseo

- ✓ Desinfectante (Kalipto)
- ✓ Alcohol
- ✓ Yodo
- ✓ Zapatones
- ✓ Guantes

- ✓ Mascarillas
- ✓ Cofias
- ✓ Mandil

2.1.7. Materiales de laboratorio

- ✓ Pinzas
- ✓ Lámpara de alcohol
- ✓ Laminas porta-objetos
- ✓ Cubre objetos
- ✓ Hojas de bisturí estéril
- ✓ Vasos de precipitación de 50 ml, 100 ml, 600 ml y 1000 ml
- ✓ Erlenmeyer de 500 ml y 1000 ml
- ✓ Asa de inoculación de cromo
- ✓ Cajas mono Petri descartables
- ✓ Papel parafilm
- ✓ Juego de botellón de agua
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Cajoneras de plástico
- ✓ Colador
- ✓ Tijeras
- ✓ Cintas de pH
- ✓ Varilla de agitación
- ✓ Olla

2.1.8. Reactivos de laboratorio

- ✓ Bacto agar
- ✓ Agua
- ✓ Levadura
- ✓ Sacarosa
- ✓ Ácido cítrico

2.1.9. Equipos

- ✓ Refrigeradora R1-425 QUARZO INDURAMA
- ✓ Incubadora IN110
- ✓ Microscopio Trinocular CX31
- ✓ Cámara de flujo laminar aurora mini con base
- ✓ Autoclave semiautomática 2540-23 litros
- ✓ Destilador de agua waterwise 9000
- ✓ Cámara científica infinity 1-2CB
- ✓ Desecador 250mm de diámetro con tapa
- ✓ Cocineta eléctrica
- ✓ Cámara digital
- ✓ Balanza
- ✓ Termómetro digital

2.2 Diseño Metodológico

Para esta investigación se describió las características morfológicas de las macro y micro estructuras del principal hongo fitopatógeno del cultivo de brócoli (*brassica oleraceae var. itálica*), en base a imágenes obtenidas con ayuda del microscopio trinocular OLYMPUS CX31 y la cámara científica INFINITY se comparó con la bibliografía ya existente, y en las cuales se pueden visualizar sus estructuras predominantes.

2.3. Métodos y Técnicas

2.3.1. Método

Descriptivo analítico, se analizó la siembra del principal hongo Fito patógeno y se describió según lo observado, adicionalmente se usó el método comparativo ya que se planteó una comparación entre lo observado y lo existente en la bibliografía.

2.3.2. Técnicas

Observación científica, fichaje, la observación científica permitió conocer la realidad de los signos y síntomas de las muestras en campo para poder recolectarlas, además permitió caracterizar macro y micro estructuras del hongo patógeno.

Con el fichaje se realizó en una tabla con el ciclo de vida del hongo y la guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo en estudio.

2.4. Metodología

2.4.1. Recolección de la muestra en campo

Se trasladó a la hacienda NINTNGA donde se realizó la visita de campo a los cultivos de brócoli (*Brassica oleraceae var italica*), donde se identificó las plantas que presentaban signos y síntomas característicos del patógeno de alternaria.

Se recolectó pellas, hojas, tallo enfermos de los sitios más afectados, buscando los que estén libres de otros patógenos y tierra, guardándolos en fundas “ziploc” para transportarlos hacia el laboratorio a una distancia de 45 min en vehículo.

2.4.1.2 Ubicación de la recolección de la muestra

La recolección de la muestra se la realizó en la Hacienda Nintanga con una altitud de 2.867 msnm en la parroquia Guaytacama Provincia de Cotopaxi, las muestras se las hizo en los focops de infección previamente determinadas por el administrador de la hacienda y con la ayuda del mismo.

2.5. Delimitación del laboratorio

El laboratorio está ubicado a 300 m al sur de la Maltería Plaza, entre la calle General Montero y la carretera Panamericana Sur, en el Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi.

2.5.1 Ubicación política

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

2.5.2 Ubicación geográfica

- **Latitud:** 0°55'44.8"S
- **Longitud:** 78° 37.24.2''W
- **Altitud:** 2.765 msnm

2.5.3 Condiciones edafoclimáticas de Latacunga

TABLA 3. Condiciones edafoclimáticas

CONDICIONES EDAFOCLIMÁTICOS	
Temperatura anual media (°C)	13
Humedad Relativa (%)	48
Precipitación anual (mm)	500 a 900

Fuente: Elaboración propia basada en (INAMHI, 2014)

2.6 Tratamiento de las muestras en laboratorio

Las muestras trasladadas al laboratorio se las procede a guardar en el refrigerador para evitar que se dañen a una temperatura entre 6 y 8°C que es la apropiada para que el hongo se mantenga vivo, esto hasta que sean sembradas en el medio de cultivo.

Se recomienda guardar las muestras por un periodo de 8 días porque caso contrario se pierde.

2.7 Preparación del medio de cultivo

El medio de cultivo que se preparo fue el papa destroza agar (PDA), ya que este es el medio de cultivo universal para la propagación de hongos en laboratorio.

Primero.- pesamos 200 gr. De papa pelada y picamos en cuadritos, pusimos en una olla para cocinarlas por 10 minutos con 500 ml de agua con un pH de 6.5 que lo bajamos con ácido cítrico, esto para evitar la propagación de bacterias.

Segundo.- pasamos por el colador la sustancia obtenida para liberarla de impurezas, la regresamos a fuego lento completando con agua lo que se evaporo, procedimos a añadir 15 gr. de agar, 20 gr. de dextrosa o sacarosa y 2 gr. de levadura.

Tercero.- una vez que ya tuvimos una solución homogénea procedimos a trasladarla a un Erlenmeyer lo tapamos bien con papel aluminio para evitar que se derrame y lo sometemos a 35 min en el autoclave para esterilizarlo.

Cuarto.- una vez que obtuvimos el medio de cultivo esterilizado procedimos a ponerlo en cada caja Petri con mucho cuidado para evitar contaminaciones, fue necesario esperar de 5 a 10 minutos para que se gelatinice y pudimos realizar la siembra.

2.8 Siembra

Se llevó las cajas Petri con el medio de cultivo a la cámara de flujo laminar al igual que las muestras, bisturí, pinza, aza de siembra en donde se procedió a cortar pedazos de la hoja contaminada de 3 mm y con las pinzas las colocamos en el centro de la caja Petri, de inmediato sellamos las cajas con parafilm y etiquetamos, de esta manera se terminó con el proceso de siembra.

2.9 Purificación

Las cajas Petri ya sembradas las colocamos en la incubadora a una temperatura de 23°C para que el hongo se propague de manera más rápida.

En esta etapa tuvimos que estar pendientes de las muestras observándolas cada 24 horas y siendo muy minuciosos con todo lo que suceda en las cajas, diferenciando colonias de hongos y bacterias, que fueron contaminantes, inhibiendo la reproducción de la *Alternaria brassicaea* (berk)

2.10. Identificación

Se llevó las cajas Petri a la cámara de flujo laminar en donde las abrimos para coger muestras en el porta objetos, la mejor manera de coger las muestras fue con un pedacito de cinta adhesiva transparente, luego las llevamos al microscopios para poder diferenciar las estructuras de los diferentes hongos que se propagaron en la caja hasta encontrar *Alternaria brassicae* (Berk.).

Para poder diferenciar las estructuras en el microscopio fue necesario ver en los lentes de 5x, 10x, 20x y 100x.

Una vez que ya diferenciamos nuestro hongo de interés separamos la capa Petri para de esa volver a sembrar y obtener la colonia del hongo libre de cualquier tipo de contaminación.

2.11. Aislamiento

De la caja Petri que contiene el hongo de interés se realizó el aislamiento de *Alternaria brassicae* (Berk.) con el siguiente procedimiento:

Realizamos un nuevo medio de cultivo de igual manera que para la siembra, llevamos todo a la cámara de flujo laminar, en donde se obtiene una porción de micelio y se lo siembra en la caja Petri con el medio de cultivo, la llevamos a la incubadora para continuar con las observaciones cada 24 horas.

2.12. Caracterización Morfológica

Como ya tuvimos la caja Petri con *Alternaria brassicae* (Berk.). Completamente libre de contaminación esta lista para llevarla al microscopio y observarla con los lentes de 20 x y 100x ya que estos son los de mayor aumento y pudimos diferenciar de mejor manera, una vez que ya tuvimos enfocado en el microscopio procedimos a tomar las fotografía con la cámara digital acercándole al ocular que fue la manera más adecuada de obtener fotografía claras.

En las fotografías que obtuvimos se procedió a identificar las partes del hongo que pudimos diferenciar y lo comparamos con la bibliografía existente.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Determinación del hongo fitopatógeno de mayor importancia en la producción de Brócoli (*Brassica oleracea var. italica*).

De acuerdo a la revisión bibliográfica se determinó que el hongo fitopatógeno de mayor impacto económico en el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea var. italica*.) es *Alternaria brassicae* (*Berk.*) y se corroboró mediante la observación directa del cultivo en la hacienda Nintangá.

Las plántulas que crecen de semillas infectadas pueden ser atacadas en la región del hipocótilo presentando unas lesiones oscuras que lentamente detienen el crecimiento. *Alternaria brassicae* (*Berk.*) se caracteriza por lesiones circulares amarillos de mayor tamaño en la que aparece una masa negra o marrón de esporas. A medida que las lesiones se unen entre sí y se hacen mayores no quedan limitadas por los nervios foliares y se extienden por completo.

3.2. Identificación de signos y síntomas del hongo *Alternaría* (*Alternaría brassicae* (*Berk.*)) en el cultivo de Brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*).



IMAGEN 1. A. Signo B. Sintoma

Fuente Bladymir Medina

- (A) En el campo el patógeno *alternaría* (*Alternaría brassicae* (*Berk.*)) los signos que se pudo constatar la pérdida de masa foliar, decoloración de las hojas y acurrugamiento en muchas plantas del cultivo
- (B) Entre los síntomas se forman manchas negras de 1 cm de diametro, en formas de anillos concéntricos. Poseen halo clorotico en su alrededor posteriormente estas características concuerdan bibliográficamente con el hongo fitopatógeno *Alternaría*

La diseminación también ocurre por viento, tejido enfermo de plantas, aunque el principal medio de dispersión a nuevos campos es por medio del uso de semilla infestada. El hongo se transfiere de plántulas enfermas en charolas al campo por medio del suelo que esta adherido a la raíz en el momento del trasplante. *Alternaría brassicae(berk)* requiere agua y temperaturas de 15°C por 16 horas para iniciar la infección. Subsecuentemente la enfermedad se desarrolla después de dos a tres días.

Aunque la alternancia de periodos húmedos y secos podría restringir la infección. Por lo menos 12 horas continuas de humedad relativa de más del 90% y temperaturas sobre 14°C son necesarias para una abundante esporulación. A 10°C, *Alternaría brassicae(berk)* produce numerosas lesiones sobre tejidos de hospederos después de cuatro días. (LUIZ & MALDONADO, 2009, págs. 8-85)

3.3 Caracterización de Macro y Microestructuras de Alternaría (*Alternaría brassicae (Berk.)*)

CONCEPTUALIZACION	INDICADOR	INDICE	TECNICAS	INSTRUMENTO
Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de brócoli	Micelio	Tipo	Observación	Microscopio
	Talo	Tipo		
	Esporas	Tipo		
	Reproducción	Tipo		

Fuente elaboración propia

3.3.1. Macro estructura

La enfermedad inicia con la presencia de puntos café oscuros especialmente en las hojas más viejas, posteriormente los puntos crecen para originar una mancha gris con anillos concéntricos y los bordes de color púrpura o negros, la lesión se rodea de un halo clorótico, con humedad se hacen visibles en la superficie de la lesión un grupo de conidios oscuros. (ALVAREZ, M, 1989, pág. 120)



Imagen 2. Desarrollo del micelio (*Alternaria brassicae* (Berk.))

Fuente Bladymir Medina



Imagen 3. Hongo desarrollado Alternaria (*Alternaria brassicae* (Berk.))

Fuente Bladymir Medina

El hongo después de su identificación se inoculó en el medio de cultivo PDA, en sus primeros estadios presento una acumulación de hifas de color oscuro, con el pasar del tiempo se observa en la imagen tres el acumulamiento del patógeno en su total del medio del cultivo con anillado amarillo y textura algodonosa.

3.3.2 Microestructuras

3.3.2.1 Micelio

El micelio es la masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo de un hongo. Dependiendo de su crecimiento se clasifican en reproductores vegetativos. Los micelios reproductores crecen hacia la superficie externa del medio y son los encargados de formar los orgánulos reproductores (endosporios) para la formación de nuevos micelios. Los micelios vegetativos se encargan de la absorción de nutrientes, crecen hacia abajo, para cumplir su función (AGRIOS G. , 1995)



Imagen 4. Micelio (*Alternaria Brassciae* (Berk))

Fuente 4. Bladymir Medina

(A) El micelio del hongo es la unión de hifas *Alternaria Brassciae* (Berk) se presentó con gran aglomeración y ramificadas .El micelio tiene un desarrollo inmerso mide 100 μm , el micelio el cual resulta de la unión de un grupo de hifas.

3.3.2.2 Talo

El talo de los hongos está formado por filamentos microscópicos que se ramifican en todas direcciones ocupando el sustrato que le sirve de alimento o dentro del mismo si se trata de un hongo parásito; cada uno de estos filamentos se llama hifa y al conjunto que forman micelio cada hifa está formada por una pared delgada, transparente que guarda en su interior un protoplasma. (GAUSSEN, 1891)



Imagen 5. A. Talo (*Alternaria Brassicae* (Berk))

Fuente Bladymir Medina

(A) El talo que observe en el microscopio del hongo *Alternaria Brassicae* (Berk) es un talo septado oblicuo. En el diámetro de cada uno varia pero no obstante su proximidad es de 15 μm .

3.3.2.3 Conidióforos y conidios

Es un hongo que produce pequeños grupos de conidióforos libres a partir de un estroma, el que tiene capacidad de persistir en el suelo. Los conidios son grandes, largos y pluricelulares. El moho oscuro presente en las lesiones está constituido por conidióforos y conidios. (CRUZ, 2004)

Los conidióforos se encuentran en grupo de dos a diez usualmente son simples, rectos o flexuosos frecuentemente geniculados más o menos cilíndricos más o menos de color gris oliváceo. La conidia es multicelular es solitaria pero ocasionalmente en cadenas de hasta 4 conidias.

La conidia tiene forma recta o ligeramente curvada tiene de 16 a 19 septas transversales usualmente de 11 a 15 y de 11 a 8 septas longitudinales además de 0 a 3 septas oblicuas el tamaño de pico es la tercera parte del cuerpo de la conidia. (CRUZ, 2004)



Imagen 6. A: Conidióforos B. Conidios

Fuente Bladymir Medina

(A) Los conidioferos se ven en acumulación que están hay en grupo de 2 color medio café muy simples casi redondeados.

(B) Los conidios se ven casi redondos y simples unicelular y sola como se observa 3 septas oblicuas un dimensión de 40 μ m.

3.4 Descripción del ciclo de vida del Patógeno en Condiciones de Laboratorio

TABLA 4. Descripción del ciclo de vida del Patógeno en Condiciones de Laboratorio

Actividad	Tiempo	°C	Grafico
Siembra del Hongo (<i>Alternaria Brassicae</i> (Berk))	15 min	25°C	
Actividad	Tiempo	°C	Grafico
Producción de Micelio	24h	25°C	
Actividad	Tiempo	°C	Grafico
Producción de conidióforos y conidios	72h	25°C	

La siembra se lo realizo utilizando el medio de cultivo PDA en cajas Petri esterilizadas utilizando partes vegetativas (hojas) del cultivo de Brócoli (*Brassica oleracea var. italica*) donde existía la presencia de *Alternaría Brassciae (Berk)* tomando un trozo de 3 a 5 mm cortándolas con un bisturí previamente desinfectado para proceder a colocarlas sobre el medio de cultivo lo cual se lo realizaba en la cámara flujo laminar después lo sellamos con el parafilm correctamente para que no exista ningún tipo de entrada de aire , y así colocarlo en la incubadora con la temperatura utilizada de 23°C .

Se forman el desarrollo del micelio que es felposo de un color café en los cuales se van formando conidios y conidióforos, los conidióforos son libres de un color pardo presenta conidios y hifas que ya en los primeros días se nota claramente que le da su característica como enfermedad, la temperatura adecuada para la producción de conidios y conidióforos en tempertaura de 23° .

3.5 Elaboración de una guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo *Alternaría (Alternaría Brassciae (Berk)*

Se encuentra en el Anexo 4

4. CONCLUSIONES

- El cultivo de Brócoli en la Provincia de Cotopaxi presenta una superficie cultivada de un 70% en la cual el hongo *Alternaria Brassicaea (Berk)* de mayor importancia a nivel de pérdida de producción con un 30 %, esto se pudo determinar por una observación detallada que se realizó en campo los mismos que corroboran con los datos obtenidos bibliográficamente.
- Se pudo identificar que los signos y síntomas que presentaba el cultivo de Brocoli (*Brassica oleracea var. Italica*) que las plantas afectadas con Alternaria (*Alternaria brassicaea (berk)*), las que se presenta en el has tanto en hojas jóvenes o viejas, también presenta lesiones redondas de coloración amarillenta o marrón como se observa en la IMAGEN 3.
- Luego de una revisión bibliográfica y también con un trabajo realizado en el laboratorio, se logró caracterizar al hongo Alternaria (*Alternaria brassicaea (berk)*) sus macro estructuras estas se presentaron un sus primeros estadios presento una acumulación de hifas de color oscuro, con el pasar del tiempo se ve como la imagen dos el acumulamiento del patógeno en su total del medio del cultivo con anillado amarillo ya en su micro estructura y contextura algodonosa estas estructuras se pudieron observar su variedad o genero del hongo que le da distintas a las demás (Alternarias) ya que son multicelulares ,son ramificadas con su color llamativo y conidios solitarias o a su vez agrupadas tienen de 16 a 19 septas transversales el tamaño del pico es la tercera parte del cuerpo de la conidia.
- La guía didáctica que se realizó en la presente investigación, que servirá de ayuda informativa tanto para estudiantes que realicen futuras investigaciones, como para los agricultores de sectores, para una oportuna identificación y control del hongo *Alternaria Brasciaea (berk)*.

5. RECOMENDACIONES

- En campo al momento de la recolección realizarla con el mayor cuidado desinfectando las muestras y su tiempo que sea lo mas pronto posible ya que la sobrevivencia del hongo es corto plazo sin un medio de cultivo.
- Al realizar el medio de cultivo PDA se recomienda seguir los procedimientos adecuados para utilización del laboratorio, tanto como el buen manejo y trato de los equipos, materiales y reactivos, de esta forma se puede obtener un medio de cultivo totalmente para la inoculación del patógeno y libre de bacterias o patógenos no relacionados .
- Al momento de trabajar en el Laboratorio tener la mayor asepsia posible porque se puede realizar algún tipo de contaminación por más mínima que sea siempre desinfectar los materiales que se utilicen
- Al momento de trabajar con la incubadora se debe programarla con una temperatura de 22 °C, por un intervalo de 15 días que necesita *Alternaria Brasicae (berk)* para reproducirse, y a su vez no mantenerla abierta por mucho tiempo ya que puede existir variaciones bruscas de temperaturas y ocasionar daños a las muestras incubadas.

6. GLOSARIO TÉCNICO

Esquejes.-

Los esquejes o gajos son fragmentos de plantas separados con una finalidad reproductiva. Pueden cortarse fragmentos de tallo e introducirlos en la tierra, para producir raíces. Las plantas enraizadas de esta manera serán idénticas a sus progenitoras, es decir, formarán con ellas un clon.

Espora.-

Unidad reproductiva de los hongos que consta de una o varias células, es análoga a la semilla de las plantas verdes

Parafilm:-

Es una película auto sellante, moldeable y flexible para numerosos usos en el trabajo cotidiano en el laboratorio, incluido el de microscopía electrónica

Fitopatógenos.-

Se denomina a un organismo, en general microorganismo, que causa enfermedades en las plantas por medio de disturbios en el metabolismo celular causado por la secreción de enzimas, toxinas y otras sustancias.

Hongos.-

Los hongos son un grupo de seres vivos diferentes de las plantas y de los animales, razón por la cual se clasifican en un reino aparte llamado Fungí.

Aquenios.-

Un aquenio o aqueno es un tipo de fruto seco producido por numerosas especies de plantas. Los aquenios son monocarpelados, forman un único carpelo, e indehiscentes, no se abre al madurar

Semiperemne.-

Dicho de un vegetal, que pierde parcialmente el follaje Se aplica también a la hoja Viene a ser equivalente a semicaduco.

Rizomas.-

Es un tallo subterráneo con varias yemas que crece de forma horizontal emitiendo raíces y brotes herbáceos de sus nudos. Los rizomas crecen indefinidamente

Vernalización.-

La Vernalización es la condición natural física a periodos variables de frío de algunas plantas herbáceas para que se produzca la apertura de sus flores. La Vernalización o cantidad mínima de horas frío requeridas, varía con las distintas especies

Mitospóricos.-

Los hongos Mitospóricos, también llamados deuteromicetes, hongos imperfectos o anamorfos, carecen de fase sexual

Conidióforos.-

Es una estructura microscópica especializada en la producción asexual de miles de esporas llamadas conidios. Se localizan en el extremo de hifas las cuales levantan el conidióforo en el aire con el fin de esparcir las esporas con más eficiencia

Fitopatógenos.-

Termino que se aplica a los microorganismos que producen enfermedades en las plantas

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.

Micelio.-

Hifa o masa de hifas que constituyen el soma de un hongo.

Hifa.-

Ramificación simple de un micelio.

Conidio.-

Espora asexual de un hongo formada en el extremo de un conidióforo.

Cuerpo fructífero.-

Estructura compleja de los hongos que contienen esporas.

Signo.-

Patógeno o sus partes o productos que se observan sobre una planta hospedante.

Síntoma.-

Reacciones o alteraciones internas y externas que sufre una planta como resultado de una enfermedad

Enfermedad.-

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

Aislamiento.-

Separación de un patógeno a partir de un hospedante y su cultivo en un medio nutritivo.

Cepa.-

Progenie de un solo aislamiento en un cultivo puro; aislado; grupo de aislados similares; una raza.

Esterilización.-

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

Medio de cultivo.-

Medio nutritivo preparado en el que se cultivan microorganismos o células vegetales.

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.

Purificación.-

Aislamiento y concentración de partículas virales en forma pura, libre de los componentes celulares

µm._

El micrómetro o micra es una unidad de grados equivalente a una milésima parte de un milímetro.

Haustorios._

Es el extremo de la Hifas, de un hongo parásito, simbiote o de la raíz modificada de una planta parásita, que penetra en el tejido del anfitrión, pero permanece fuera de la membrana de la célula huésped.

Hipocotilo._

Es el término botánico usado para referirse a una parte de la planta que germina de una semilla. Cuando se produce la embriogénesis, a medida que el embrión crece durante la germinación, envía un brote (la radícula), que se convertirá en la raíz primaria al penetrar el suelo.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFIA

- AGRIOS, G. (2007). *Fitología*. Mexico: LIMUSA.
- AGRIOS, G. (1995). *fitopatologia*. mexico: uthea.
- AGRIOS, G. (1999). *Fitopatologia* . Mexico: LIMUSA.
- AGRIOS, G. (2005). *Plant Pathology*. Nueva York: Academic Press.
- AGRIOS, G. (2007). *Fitopatologia*. Mexico: LIMUSA.
- ALVAREZ, M. (1989). *Estudio sobre el comportamiento de 30 cultivos de brócoli en la zona de Gatazo*. Riobamba.
- BAKER, K., & COOK, R. (1974). *Biological control of plant pathogens*. SAN FRANCISCO.
- BAYER. (2015). *BAYER, Problemas Biologicos*. Recuperado el miercoles de mayo de 2015, de http://www.bayercropscience-ca.com/contenido.php?id=241&cod_afleccion=30
- BOYER, J. (1995). *Biochemical and Biophysical aspect of the water to diasease*. Anual of Phytopathology.
- BROK, M. (2013). *Cracteristicas del brocoli , Oro verde*. Recuperado el 21 de octubre de 2014, de <http://mrbroko.com/caracteristicas-del-brocoli/>
- CALVO, C. R. (Septiembre de 2001). *Alternaria Ascomyceto*. Recuperado el 14 de Agosto de 2014, de <https://es.wikipedia.org/wiki/Alternaria>
- CRUZ, R. (2004). *la defensa de las plantas cultivadas , tratado practico de fitopatologia y sologia agricola*. Barcelona: Omega.
- FERREIRA, S., & BOLEY, R. A. (1991). *Alternaria brassicae, Alternaria brassicicola, Alternaria raphani*.
- FRENCH, & HEBERT. (1980). *Metodos de Investigacion Fitopatologia*. Costa Rica: Icca.
- GALLEGOS, P. (1998). *Evaluación de diez variedades de brócoli (Brassica olerácea var Itálica) y dos sistemas de plantación*. Guaytacama-Cotopaxi. QUITO.
- GAUSSEN, H. (1891). *Botanica vegetales inferiores*. Vauclense: Reverte.

- HERRERA, L., & MAYEA, S. (1994). *Fitopatología General*. La Habana, Cuba: Felix Varela.
- INAMHI. (2014). Quito-Ecuador.
- KIMATI, H. (1997). *Manual de Fitopatología*. Sau Paulo: CERES LTDA.
- KOIKE, S., GLADER, P., & PAULUS, A. (2008). *Vegetable Diseases*. Paul Minn. US. 446 pp.
- KUCHAREK, T. (1984). *Alternaria diseases of crucifers*. University of Florida.
- LUIZ, H., & MALDONADO, A. (2009). *Guía Técnica para el cultivo de brócoli en la serranía ecuatoriana*. Quito.
- LUZ M, L., & RONALD D, F. (s.f.). *Enfermedades en huertos caseros*. Recuperado el MARTES de NOVIEMBRE de 2015, de <http://amarillo.tamu.edu/files/2010/11/HomeGardenDiseases-Spanish.pdf>
- MATELJAN, G. (11 de Mayo de 2009). *Taxonomia brasica oleraceae var italica*. Recuperado el 8 de noviembre de 2014, de https://es.wikipedia.org/wiki/Brassica_oleracea_italica
- MESA, C. (11 de Septiembre de 2001). *Enfermedades del brocoli*. Recuperado el Jullio de 2014, de <http://www.infoagro.com/hortalizas/brocoli.htm>
- PROECUADOR. (11 de 02 de 2015). *EXPORTACION BROCOLI*. Recuperado el 11 de 2015, de http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/2015/02/PROECU_PPM2012_BROCOLI_REINO-UNIDO.pdf
- REVELO, R., & RUIZ, M. (2009). *Perfilbrocoli*. Quito.
- ROMERO, JIMENEZ, & DIAZ. (1979). *La mancha Negra*. España: Investigacion Agraria Proteccion Vegetal.
- SALAS, M. (2013). CAULIFLOWER. Mexico.
- SCIENCIE, B. C. (2 de julio de 2010). *Control fitosanitario en brocoli*. Recuperado el 9 de Octubre de 2014, de <http://www.bayercropscience.cl/soluciones/fichacultivo.asp?id=15>
- SERRAT, M. (s.f.). *Sendas del TE*. Barcelona.
- SITUCIONAL, B. (2013). *Papa.indd - Brocoli.pdf*. Recuperado el 11 de 2015, de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/phocadownloadpap/BoletinesCultivos/Brocoli.pdf>

8. ANEXOS

ANEXOS 1. Fase Campo



Sitio de la recolección de las muestras en Nintangá

Fuente. Bladymir Medina



Identificación de las muestra

Fuente .Bladymir Medina



Hoja infectada con *Alternaria Brassicaea* (Berk)

Fuente .Bladymir Medina



Muestra ya recolectada en fundas “ziploc”

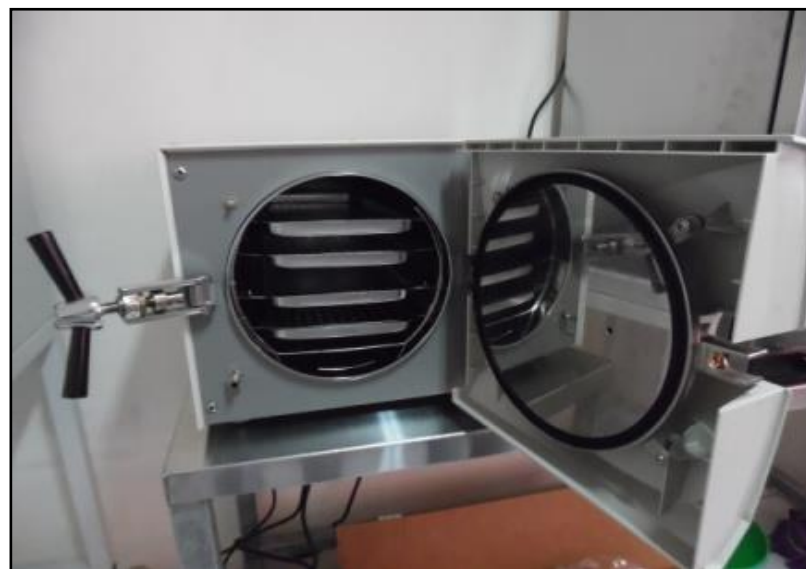
Fuente. Bladymir Medina

Equipos Laboratorio



Cámara de flujo laminar

Fuente .Bladymir Medina



Autoclave

Fuente .Bladymir Medina



Incubadora IN110

Fuente.Bladymir Medina



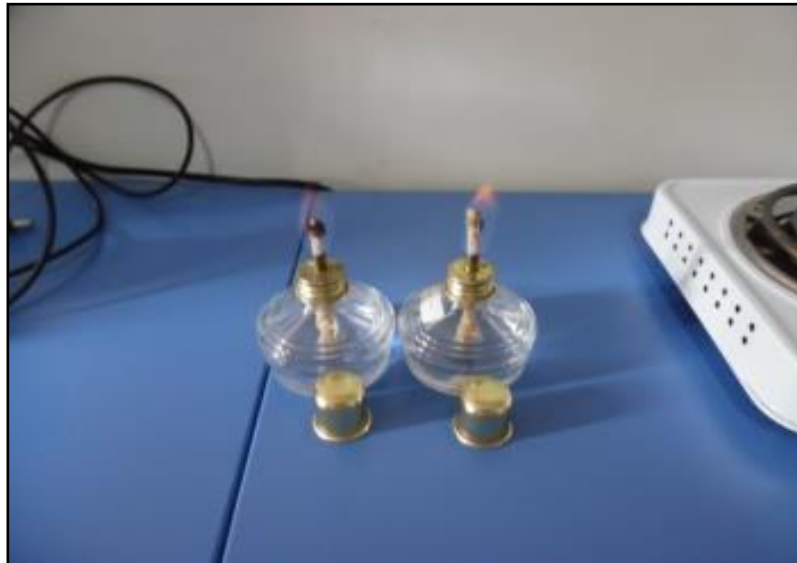
Microscopio Trinocular CX31

Fuente.Bladymir Medina



Refrigeradora R1-425 QUARZO INDURAMA

Fuente .Bladymir Medina



Mecheros

Fuente .Bladymir Medina

Fase Laboratorio



Preparación de medio de cultivo

Fuente .Bladymir Medina



Regulación del pH para el medio de cultivo

Fuente.Bladymir Medina



Medios de cultivo

Fuente.Bladymir Medina



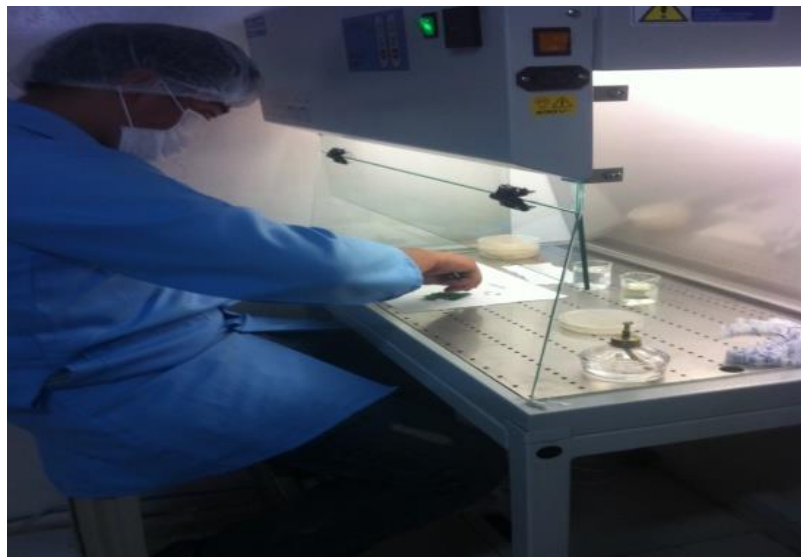
Cortes de muestra para la siembra

Fuente.Bladymir Medina



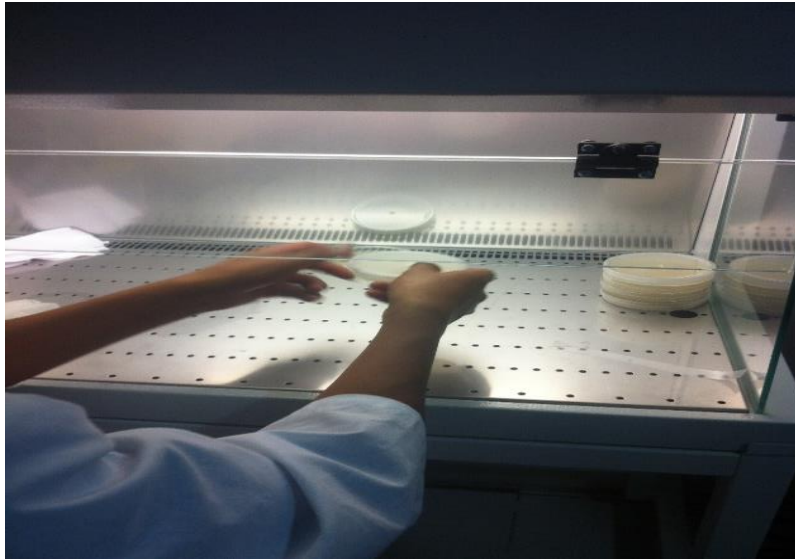
Toma de pequeños cortes de planta infectada

Fuente.Bladymir Medina



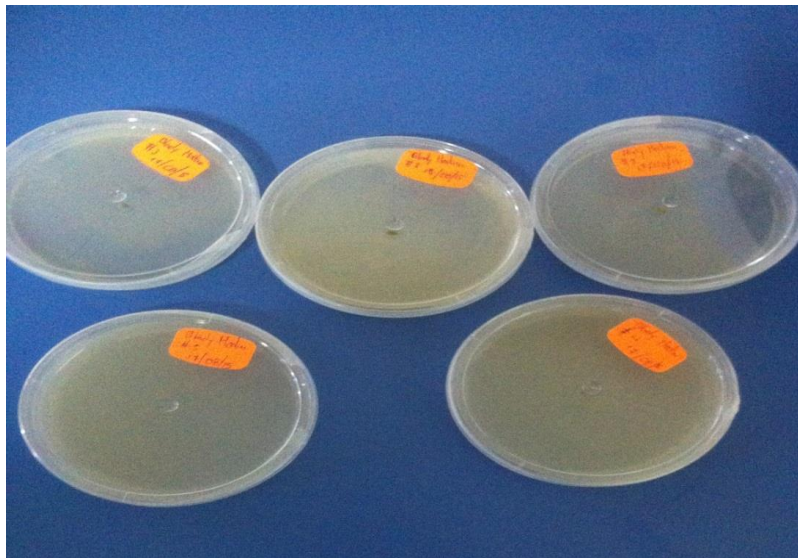
Siembra de *Alternaria Brassicaea* (Berk)

Fuente .Bladymir Medina



Colocación de parafilm

Fuente.Bladymir Medina



Siembra

Fuente. Bladymir Medina

ANEXO 2. Costos de materiales de laboratorio

DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	COSTO UNITARIO	COSTO TOTAL
Materiales de aseo			
Escoba	1	2	2
Trapeador	2	3	6
Franela	2	4,5	9
Papel de cocina	2	3,5	7
Zapatos	15	0,35	5,25
Guantes	15	0,25	3,75
Mascarillas	15	0,25	3,75
Cofias	15	0,3	4,5
Reactivos de aseo			
Kalipto	1	4,3	4,3
Alcohol	1	5,5	5,5
Yodo	1	3,6	3,6
Material de laboratorio			
Pinzas	1	2,08	2,08
Lámpara de alcohol	3	3,99	11,97
Laminas porta-objetos	1	2,99	2,99
Cubre objetos	1	2,5	2,5
Hojas de bisturí estéril	10	0,04	0,4
Vasos de precipitación de 50ml, 100ml, 600ml y 1000ml.	4	2,5	10
Erlenmeyer d 500ml y 1000ml.	3	5	15
Asa de incubación de cromo	2	3,6	7,2
Cajas mono petrií descartables	40	0,21	8,4
Papel parafilm	0,5	49	24,5
Juego de botellón de agua	1	28	28
Papel aluminio	1	3	3

Cajoneras de plástico	1	7,5	7,5
Colador	1	2	2
Tijeras	1	1,5	1,5
Cintas de Ph	10	0,14	1,4
Varilla de agitación	1	3,5	3,5
Olla	1	4	4
Reactivos de laboratorio			
Bacto agar	0,5	88	44
Agua	1	2	2
Levadura	1	2	2
Sacarosa	1	2	2
Ácido Cítrico	1	2,5	2,5
Equipos			
Refrigeradora R1-425 QUARZO INDURAMA	1	767,97	767,97
Incubadora IN110	1	2665,7	2665,7
Microscopio Trinocular CX31	1	2455,68	2455,68
Cámara de flujo laminar aurora mini con base	1	6690	6690
Autoclave semiautomática 2540-23 litros	1	2999,47	2999,47
Destilador de agua waterwise 9000	1	511,3	511,3
Cámara científica infinity 1-2CB	1	2176,56	2176,56
Desecador 250mm de diámetro con tapa	1	229,8	229,8
Cocineta eléctrica	1	30	30
Cámara digital	1	280	280
Balanza	1	30	30
Termómetro digital	1	25	25
SUBTOTAL			19104,57
Imprevistos (10%)			1910,457
COSTO TOTAL			21015,027

ANEXO 3.

GUÍA DIDÁCTICA DE LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE *Alternaria Brassicae* (Berk) EN EL CULTIVO BROCOLI (*Brassica oleracea var. italica*)



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

UNIDAD ACADÉMICA DE RECURSOS AGROPECUARIOS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

GUÍA DIDÁCTICA DE LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE *Alternaria Brassicae* (Berk) EN EL CULTIVO BROCOLI (*Brassica oleracea* var. *italica*).

Autor: Bladymir Alexander Medina Plaza

ÍNDICE

Introducción

Fundamentación

Objetivo

Ubicación

Bloque I. Metodología

Bloque II. Resultados

Material de consulta sugerido.

Ingeniería
Agronómica



INTRODUCCIÓN:

En muchos sectores del Ecuador los hongos fitopatógenos son los culpables de grandes pérdidas económicas al dañar los cultivos, el sector de Brigada Patria no es la excepción al tener muchos problemas con el cultivo de brócoli causado por, *Alternaria Brassicae* (*Berk*) más conocido en la zona por sus agricultores como Alternaria, por lo cual en la presente Guía Didáctica se redactan los pasos más prácticos para la reproducción de dicho hongo en condiciones de laboratorio, con el objetivo de aislar, propagar y estudiar el fitopatógeno para poder a futuro recomendar un control adecuado, teniendo ya muy claro el ciclo de vida, y la morfología del patógeno.

FUNDAMENTACIÓN:

Esta hortaliza es originaria del Mediterráneo y Asia Menor. Existen referencias históricas de que el cultivo data desde antes de la Era Cristiana. Ha sido popular en Italia desde el Imperio Romano, sin embargo, era desconocido en Inglaterra hasta hace unos pocos siglos y actualmente Estados Unidos es uno de los mayores mercados consumidores en el mundo (REVELO & RUIZ, 2009)

En Ecuador la superficie cosechada de brócoli en el año 2012 alcanzó las 3,639 hectáreas, distribuidas en ocho provincias, con una producción total de 70,000 toneladas y un rendimiento de 19.24 tm/ha. Las provincias de Cotopaxi y Pichincha registran la mayor cantidad de superficie cosechada de brócoli, ocupando el 82.00% de la superficie total nacional. Cotopaxi es la provincia con mayor producción (51,350 toneladas) y con un rendimiento de 28.22 tm/ha. (PROECUADOR, 2015)

Es un hongo que produce pequeños grupos de conidióforos libres a partir de un estroma el que tiene capacidad de persistir en el suelo. Los conidios son grandes, largos y pluricelulares El moho oscuro presente en las lesiones está constituido por conidióforos y conidios (CRUZ, 2004)



Comienza esporádicamente en plántulas, pero se hace más notable cuando las plantas tienen tamaño mediano. Las hojas inferiores son las que primero se enferman y las que resultan afectadas con mayor severidad. La enfermedad puede ser grave en plantas adultas y en floración. Órganos afectados hojas inferiores y medias; esporádicamente pecíolos y tallos. (AGRIOS, G, 2007, pág. 819)

Los hongos son los organismos más frecuentes como patógenos de plantas. Producen síntomas muy diversos en las diferentes plantas son productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que tienen quitina, celulosa (KIMATI, H, 1997)

Síntomas: Los primeros síntomas se pueden observar al nacer los cotiledones y en la aparición de las primeras hojas. Se forman unas manchas negras de un centímetro de diámetro, con anillos concéntricos más fuerte de color. (GALLEGOS, 1998)

Diseminación: Presentes en restos de tejidos enfermos.

Sobrevivencia: En las malezas u otros cultivos.

Control: Se debe evitar la dispersión del inóculo secundario mediante la aplicación de fungicidas en el cultivo. (SCIENCIE, 2010)

Ingeniería
Agronómica



OBJETIVO:

La presente guía didáctica sobre la caracterización morfología del hongo *Alternaria Brassicae* (Berk) tiene como finalidad complementar los conocimientos y fomentar el autoaprendizaje en el aula.

UBICACIÓN:

Cuadro .Ubicación del Laboratorio

Sitio:	Salache Bajo
Parroquia:	Eloy Alfaro
Cantón:	Latacunga
Provincia:	Cotopaxi
Coordenadas cuadrícula Mercator utm:	N: 9888 749,37 E: 764.660,386
Altitud:	2757,59 msm

BLOQUE I. METODOLOGÍA:

TOMA DE MUESTRAS

Se realizó la toma de la muestra al Azar del hongo Fito patógeno *Alternaria Brassicae* (*Berk*) en el cultivo de Brócoli (*Brassica oleraceae var italica*), recogiendo 5 muestras (hojas)

	<p>En los cultivos de Brócoli (<i>Brassica oleracea var italica</i>) ubicado en la Brigada Patria Guaytacama -Latacunga Provincia de Cotopaxi, a una altura de 2720 m.s.n.m, se tomó muestras de la planta que presentaban signos y síntomas de estar afectados por <i>Alternaria Brassicaea</i> (<i>Berk</i>).</p>
	<p>La recolección de material en campo se recolecto plantas enfermas, luego fueron almacenados en fundas ziploc para ser transportados hacia el laboratorio en un rango de tiempo de 30 min en vehículo.</p>
	<p>En un refrigerador a una temperatura entre 6 y 8°C fueron almacenadas las muestras tomadas en campo en las fundas “Ziploc”, esto con la finalidad de que el patógeno se mantenga vivo.</p>
	<p>Las muestras deben estar rotuladas para evitar que se mesclen, tomando en cuenta que el tiempo de almacenado no sea mayor a 15 días.</p>

ELABORACION DEL MEDIO DE CULTIVO

Se elaboró el medio de cultivo optando por PDA (papa – dextrosa - agar), tiene la infusión de papa como fuente de almidones y la dextrosa son la base para el crecimiento de los hongos con los siguientes pasos.

		<p>Primero.- pesamos 200 gr. de papa pelada y picamos en cuadritos, poner en una olla para cocinarlas por 10 minutos con 500 ml de agua con un pH de 6.5 que lo bajamos con ácido cítrico, esto para evitar la propagación de bacterias.</p>
		<p>Segundo.- pasamos por el colador la sustancia obtenida para liberarla de impurezas, la regresamos a fuego lento completando con agua lo que se evaporo, procedimos a añadir 15 gr. de agar, 20 gr. de dextrosa y 2 gr. de levadura.</p>
		<p>Tercero.- una vez que ya tuvimos una solución homogénea procedimos a trasladarla a un Erlenmeyer lo tapamos bien con papel aluminio para evitar que se derrame y lo sometemos a 35 min en el autoclave para esterilizarlo.</p>
		<p>Cuarto.- una vez que obtuvimos el medio de cultivo esterilizado procedimos a ponerlo en cada caja Petri con mucho cuidado para evitar contaminaciones, fue necesario esperar de 5 a 10 minutos para que se gelatinice.</p>

Fuente: Bladymir Medina

SIEMBRA

	<p>La siembra se realizó en cajas Petri previamente ya colocadas el medio de cultivo PDA la misma que se realizó tomando pequeños segmentos de (hojas) fueron llevadas a la cámara de flujo laminar para que no haya contaminación</p>
	<p>Con un bisturí se procedió a cortar pedazos del fruto contaminado de 3 mm, que fueron colocados en el centro de cada caja Petri con ayuda de una pinza y aza de siembra, de inmediato sellamos las cajas con parafilm y etiquetamos.</p>
	<p>Las cajas Petri ya sembradas las colocamos en la incubadora a una temperatura de 23°C para que el hongo se propague de manera más rápida.</p>
	<p>Es identificar la infiere para la proliferación del hongo fitopatogeno (<i>Alternaria brassicaea (berk)</i>) o algún patógeno ya teniendo en cuenta que se osbervo bacterias.</p>

Fuente: Bladymir Medina.

**BLOQUE II. RESULTADOS:**

Técnica de cinta pegante: Se realizó un doblado de una tira de cinta de 4 cm, con el lado adhesivo hacia fuera y se sostuvo con una pinza. Con el lado adhesivo tome con mucho cuidado una pequeña muestra de la colonia del hongo (*Alternaria brassicaea (berk)*) coloque una gota de agua destilada sobre el portaobjetos y se procedió a pegar la cinta sobre el mismo para luego ser observado en el microscopio con un aumento de 20x y 100x.

Montaje por disección: Con un asa estéril se tomó una pequeña muestra del hongo coloque en el portaobjetos con una gota de agua destilada, con el mismo asa se extenderá el micelio, se colocará el cubreobjetos y se procedió a observar al microscopio de 20x y 100x

BLOQUE II. RESULTADOS

Los siguientes datos de la presente guía se presentan en base a la siguiente tabla:

CONCEPTUALIZACION	INDICADOR	INDICE	TECNICAS	INSTRUMENTO
Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de Brócoli	Talo	Tipo	Observación	Microscopio
	Micelio	Tipo		
	Conidios	Tipo		
	Reproducción	Tipo		

Fuente Bladymir Medina

Observación del hongo en el microscopio

Micelio

En la imagen se puede observar el micelio de (*Alternaria brassicaea* (berk))obtenido en laboratorio en medio de cultivo de PDA la imagen fue obtenida con ayuda de un microscopio con el lente de 100 x con intensidad de luz de 5

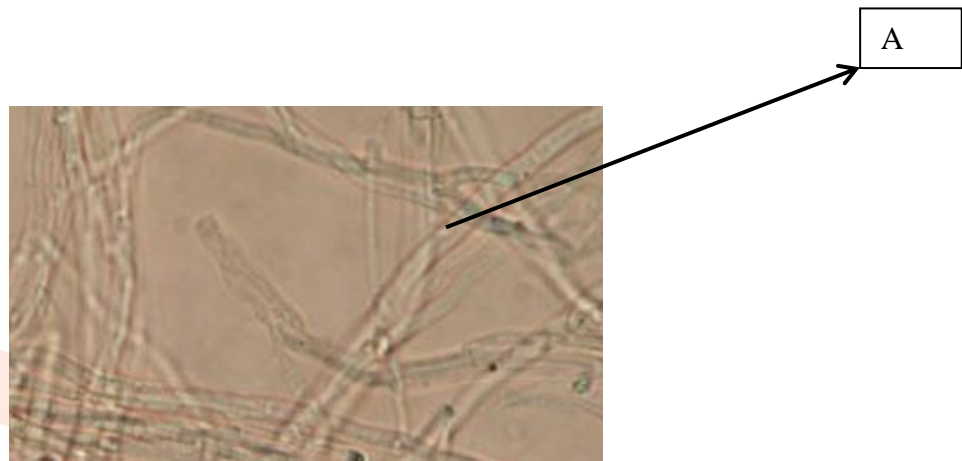
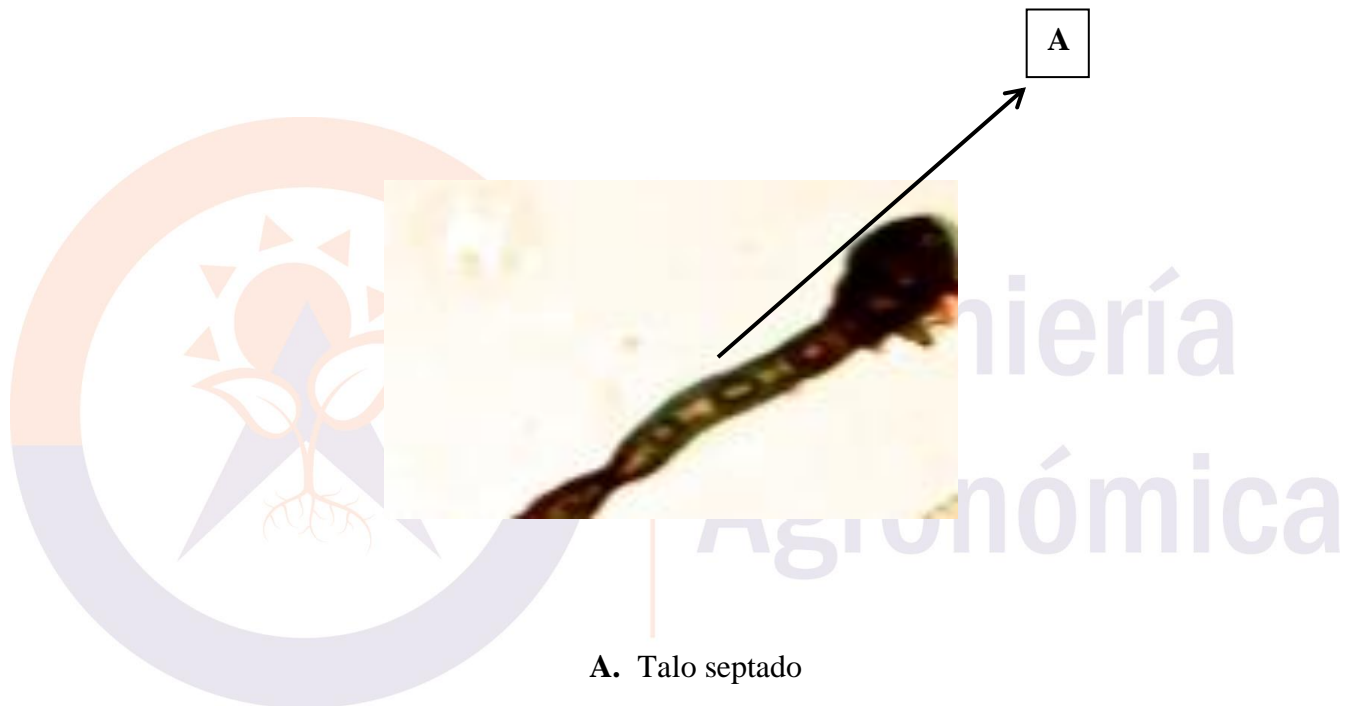


Foto. A. Micelio

El micelio es la masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo de un hongo. Dependiendo de su crecimiento se clasifican en reproductores vegetativos. Los micelios reproductores crecen hacia la superficie externa del medio y son los encargados de formar los orgánulos reproductores (endosporios) para la formación de nuevos micelios. Los micelios vegetativos se encargan de la absorción de nutrientes, crecen hacia abajo, para cumplir su función. (AGRIOS G. , Plant Pathology, 2005)

Talo

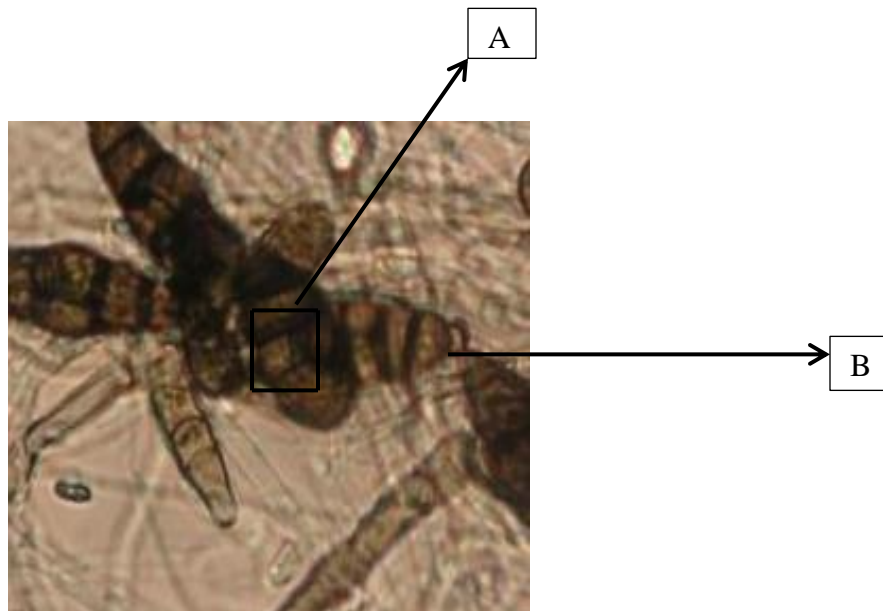
En la imagen se puede observar el micelio de (*Alternaria brassicaea* (berk) obtenido en laboratorio en medio de cultivo de PDA la imagen fue obtenida con ayuda de un microscopio con el lente de 100 x con intensidad de luz de 5



El talo de los hongos está formado por filamentos microscópicos que se ramifican en todas direcciones ocupando el sustrato que le sirve de alimento o dentro del mismo si se trata de un hongo parásito; cada uno de estos filamentos se llama hifa y al conjunto que forman micelio cada hifa está formada por una pared delgada, transparente que guarda en su interior un protoplasma. (GAUSSEN, 1891)

Conidióforos y conidios

En la imagen se puede observar el micelio de (*Cercospora beticola*) obtenido en laboratorio en medio de cultivo de PDA la imagen fue obtenida con ayuda de un microscopio con el lente de 100 x con intensidad de luz de 5



A.conidioferos B.conidios

A.

Los conidioferos se ven en acumulación que están hay en grupo de 2 color medio café muy simples casi redondeados.

B.

Los conidios se ven casi redondos y simples unicelular y sola como se observa 3 septas oblicuas un dimensión de 100 μm .



3.7 MATERIAL DE CONSULTA SUGERIDA

AGRIOS, G. (2005). Plant Pathology. Nueva York: Academic Press.

AGRIOS, G. (2007). Fitopatología. Mexico: LIMUSA.

CRUZ, R. (2004). la defensa de las plantas cultivadas , tratado practico de fitopatologia y sologia agricola. Barcelona: Omega.

GALLEGOS, P. (1998). Evaluación de diez variedades de brócoli (Brassica olerácea var Itálica) y dos sistemas de plantación. Guaytacama-Cotopaxi. QUITO.

GAUSSEN, H. (1891). Botanica vegetales inferiores. Vauclense: Reverte.

KIMATI, H. (1997). Manual de Fitopotología. Sau Paulo: CERES LTDA.

REVELO, R., & RUIZ, M. (2009). Perfilbrocoli. Quito

REVELO, R., & RUIZ, M. (2009). Perfilbrocoli. Quito.

PROECUADOR. (2015, 02 11). EXPORTACION BROCOLI. Retrieved 11 2015, from http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/2015/02/PROECU_PPM2012_BROCOLI_REINO-UNIDO.pdf

ANEXO 4

TABLA 5. ENFERMEDADES EN EL CULTIVO DEL BROCOLI

<p>Hernia o potra de la col (<i>Plasmodiophora brassicae</i> Wor)</p> <p>Esta enfermedad ataca a las raíces que se ven afectadas de grandes abultamientos o protuberancias. Como consecuencia del atrofiamiento que sufren los vasos conductores, la parte aérea no se desarrolla bien y las hojas se marchitan</p>	
<p>Lancha o tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>)</p> <p>En el haz y en el envés de las hojas se producen manchas redondeadas de color café negruzco y en el tallo, lesiones de color negro brillante, de consistencia ligeramente acuosa.</p>	
<p>Mildeu (<i>Peronospora brassica</i>)</p> <p>La parte inferior de la hoja en forma de manchas oscuras en hojas jóvenes. La parte superior de la hoja también desarrolla manchas oscuras similares en forma y acompañadas del amarilla miento de la hoja</p>	
<p>Alternaria (<i>Alternaria brassicae</i> (Berk.))</p> <p>Los primeros síntomas se pueden observar al nacer los cotiledones y en la aparición de las primeras hojas. Se forman unas manchas negras de un centímetro de diámetro, con anillos concéntricos más fuerte de color.</p>	

Fuente: (MESA, 2001), (BROK, 2013), (BAYER, 2015)