

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

UA“CAREN”



**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**

INGENIERIA AGRONOMICA

TESIS DE GRADO

TÍTULO:

**“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL HONGO FITOPATÓGENO EN EL
CULTIVO DE ACELGA (*Beta vulgaris*), SECTOR SAN BUENAVENTURA.”
2014.**

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

Autora:

Helen Liliana Morales Veloso

Director:

Ing. David Carrera

Latacunga – Ecuador



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
RECURSOS NATURALES

Latacunga – Ecuador

AUTORÍA

Los criterios emitidos en el presente trabajo de investigación **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICAS DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE ACELGA (*Beta vulgaris*), SECTOR SAN BUENAVENTURA.” 2014.** Son de exclusiva responsabilidad del autor.

.....
Morales Veloso Helen Liliana

C.I. 172167254-9



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

Latacunga – Ecuador

AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS

En calidad de Director del Trabajo de Investigación sobre el tema: **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICAS DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE ACELGA (*Beta vulgaris*), SECTOR SAN BUENAVENTURA.” 2014**, de Helen Liliana Morales Veloso, postulante de la carrera de Ingeniería Agronómica, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para la validación del Anteproyecto y de ello desarrollar la tesis.

Latacunga, Junio 2014

El Director

.....

Ing. David Carrera



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

Latacunga – Ecuador

AVAL DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

En calidad de miembros de Tribunal de la Tesis Titulada: **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICAS DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE ACELGA (*Beta vulgaris*), SECTOR SAN BUENAVENTURA.” 2014**, de autoría del egresada Helen Liliana Morales Veloso CERTIFICAMOS que se ha realizado las respectivas revisiones, correcciones y aprobaciones al presente documento.

Aprobado por:

Ing. David Carrera

DIRECTOR DE TESIS

Ing. Edwin Chancusig

PRESIDENTE

Ing. Karina Marín

OPOSITOR

Ing. Jorge Kaslin

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico con mucho amor a Dios y a mis Padres Luis y Victoria porque ellos han dado razón a mi vida por sus consejos su apoyo moral y paciencia el apoyo económico en mi formación académica lo que soy es gracias a ellos, y así permitiéndome alcanzar uno de mis objetivos anhelados a pesar de las dificultades de la vida.

A mis hermanos, Carolina Emily y Cristian porque han estado conmigo en todo momento apoyándome y motivándome por la unión familiar y el amor que siempre reinaba en nosotros

Gracias a todos.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios ser maravilloso que me dio fuerza y fe para creer lo que me parecía imposible terminar y por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida

A mis Padres por ser las personas que me brindaron su apoyo incondicional que 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. David Carrera, Director de Tesis por su invaluable dirección en el desarrollo de este trabajo de investigación por compartir sus conocimientos

A mis hermanos Carolina Cristian y Emily que me brindaban una palabra de aliento en los momentos difíciles, y por ayudarme en todo momento

RESUMEN

La investigación realizada tubo como tema CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICAS DEL HONGO FITOPATÓGENO EN EL CULTIVO DE ACELGA (*Beta vulgaris*), SECTOR SAN BUENAVENTURA." 2014. La cual se realizó en el laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi Ubicada en la Parroquia: Eloy Alfaro, Cantón: Latacunga, Provincia: Cotopaxi

Considerando que el cultivo de acelga se lo siembra en todo el año por ser un cultivo de ciclo corto, mediante investigación se pudo determinar que el hongo de mayor impacto en el cultivo de acelga es (*Cercospora beticola*) ya que en la provincia de Cotopaxi son 35 ha sembradas con una producción del 85% las cuales son afectadas por el hongo en un porcentaje del 40%

las muestras fueron tomadas en campo del cultivo de acelga (*Beta vulgaris*) donde identifique Los síntomas determinados en campo según la bibliografía investigada que indica que presentan unas manchas de color marrón en el centro en los bordes presentaban un color vino , muestras que fueron llevadas con el mayor cuidado para que no exista ningún tipo de contaminación (Fundas herméticas) , las cuales permanecieron almacenadas en una refrigeradora a una temperatura de 4 a 5 °C para ser observada su morfología , utilizando cajas Petri de plástico esterilizadas , realice 5 siembras en las cuales necesite pequeños trozos vegetales (hojas) de 3 mm de muestras que tenían el hongo (*Cercospora beticola*) la cual debían ser selladas con para film correctamente para que no exista ningún tipo de contaminación, llevándolas a la incubadora, utilizando una temperatura de 25°C teniendo una mayor esporulación las cuales fueron observadas a las 24h ,obteniendo las siembras listas se procede a caracterizar macro y micro estructuras micelio ,talo ,conidióforos, conidios, describiendo el ciclo del vida del patógeno en condiciones de laboratorio

Además se elaboró una guía didáctica la cual nos ayudara para poder tener una investigación del cultivo de Acelga en el Hongo (*Cercospora beticola*) y así poder contar con información la cual pueda ser utilizada por demás estudiantes

SUMARY

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF FITOPATHOGENIC FUNGI IN THE FARMING OF CHARD (*Beta vulgaris*), SANBUENA VENTURA PARISH, LATACUNGA CANTON, COTOPAXI PROVINE, 2014

The research work was carried out in the Technical University of Cotopaxi laboratory; located in Eloy Alfaro Parish, Latacunga Canton, Cotopaxi Province.

Taking into account that chard is sowed during the whole year due to this is short cycle farming, through the researchwork it was determined that the fungus with the greatest impact on the chard cultivation is the (*Cercospora beticola*) because in the Cotopaxi Province there are 35 planted hectares with the 85% of production which are affected by the fungus at a rate of 40%.

The samples were taken in the growing chard field (*Beta vulgaris*) where certain symptoms were identified in the research work; The literature field denoted that they presented some brown spots in the center and in the edges had a burgundy color, These samples were taken with too much care, so that there is no contamination (hermetic covers), which remained stored in a refrigerator at a temperature of 4-5 ° C to observe their morphology, using sterile plastic Petri boxes, Five sowings were done in which small vegetable pieces were necessary for it (leaves) Each leave of 3 mm had the fungus (*Cercospora beticola*) which should be properly sealed with film so that there is no contamination, leading them to the incubator, using a temperature of 25 ° C having a greater sporulation which were observed at 24h, obtaining the ready sowing is proceeded to characterize macro and micro structures mycelium, talo, conidiophores, conidia, describing the life cycle of the pathogen in laboratory conditions

Also a tutorial was prepared which will help us to have a culture research in Chard fungus (*Cercospora beticola*) so, It is possible to have information which could be used by other students

INTRODUCCION

Las Enfermedades, son particularmente el principal problema en la producción de las hortalizas como es en el cultivo de Acelga esto provoca que exista una pérdida de producción identificar cuáles son los hongos que más daños causan al cultivo de acelga (*beta vulgaris*)(CRUZ, 2004)

Las enfermedades fungosas originan afectaciones tanto en la parte aérea como subterránea de las plantas provocando pérdidas notables, pudiendo ocasionar la muerte de las mismas con la consiguiente disminución de rendimientos (KLEIN, 1997)

Las zonas productoras de acelga que más se destacan en el país son las Provincias de: Cotopaxi Latacunga y Pujilí, Tungurahua en el cantón Ambato, Pichincha en los cantones Quito y Rumiñahui, Cañar cantón Cañar, Loja (CRUZ, 2004)

Las hectáreas sembradas en Cotopaxi son de 35ha con una producción del 85% Tungurahua 37 ha con una producción del 100%

Algunos hongos pueden también atacar otras partes de la planta. Se caracterizan por pasar parte de su ciclo de vida en el suelo, ya sea en estado latente como estructuras más o menos resistentes como saprofiticamente en el rastrojo. Los patógenos más importantes que causan elevadas pérdidas de hortalizas son normalmente las bacterias y hongos, con mayor frecuencia son especies de hongos los causantes del deterioro patológico en tallo hojas y productos subterráneos (CRUZ, 2004)

JUSTIFICACIÓN

Debido a que los hongos que causan daños en el cultivo de Acelga y el desconocimiento de los agricultores en el Sector San Buenaventura ; se ha visto en la necesidad de investigar y caracterizar morfológicamente los hongos Fitopatógenos , para poder obtener mayor información de esta manera ayudar a los agricultores que puedan identificar los hongos que afectan en su producción .La acelga es cultivada 35 ha en la Provincia de Cotopaxi por lo cual es importante conocer los hongos que afectan al cultivo y así poder disminuir pérdidas de producción y disminuir la aplicación de pesticidas y ocasionar daños en el medio ambiente y reducir gastos económicos en los agricultores , ya que los hongos se reproducen por diferentes factores que puede ser por la falta de un análisis de suelo a tiempo para conocer cuáles son los macro y micronutrientes que necesita el suelo y así poder evitar enfermedades , los hongos son los organismos más frecuentes como patógenos de plantas que producen síntomas muy diversos en las diferentes especies hortícolas son productores de esporas que pueden ser asexual o sexual , mediante la investigación conoceremos las características morfológicas del hongo en el Cultivo de Acelga

OBJETIVOS

GENERAL

- Caracterizar morfológicamente el hongo Fitopatógenos que causa mayor impacto en la producción en el cultivo de Acelga (*Beta vulgaris.*), sector San Buenaventura. Cotopaxi. 2014

ESPECIFICOS

- Determinar el hongo Fitopatógenos de mayor impacto en la Producción del cultivo
- Identificar signos y síntomas del hongo de mayor impacto del Cultivo de Acelga (*Beta vulgaris*) en campo
- Caracterizar macro y micro estructuras del patógeno
- Describir el ciclo de vida del patógeno en condiciones de laboratorio
- Elaborar una guía didáctica de a caracterización morfológica del hongo en estudio

PREGUNTAS DIRECTRICES

- ¿Se reconoció signos y síntomas del hongos fitopatógenos en el cultivo de Acelga (*Beta vulgaris*) en base a la observación Realizada?
- ¿Cuál es el principal hongo fitopatógenos de mayor impacto económico que afectan a la Acelga (*Beta vulgaris*) en el sector de San buenaventura?
- ¿Cuáles son las características del hongo fitopatógenos encontrado?

ÍNDICE GENERAL

AUTORÍA	ii
AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS	iii
AVAL DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
RESUMEN.....	vii
SUMARY	ix
INTRODUCCION.....	x
JUSTIFICACIÓN.....	xi
OBJETIVOS.....	xii
GENERAL	xii
ESPECIFICOS.....	xii
PREGUNTAS DIRECTRICES.....	xii

CAPITULO I

1. FUNDAMENTACION TEÓRICO	17
1.1.CULTIVO DE LA ACELGA	17
1.1.1. Origen.....	17
1.1.2. Taxonomía.....	18
1.2. Hongos fitopatógenos	19
1.2.1. Estructuras somáticas	20
1.3. Viruela (<i>Cercospora beticola</i>).....	21
1.3.1 Clasificación botánica	22
1.3.2. Síntomas	22
1.3.3. Presencia de enfermedad según estado fenológico de las plantas.....	23
1.3.4. Dispersión.....	23
1.3.5. Supervivencia	23
1.3.6. Biología.....	23
1.4.MEDIOS DE CULTIVOS	24

1.4.1. Agar papa dextrosa (PDA).....	24
1.4.2 Agar papa sacarosa ACIDIFICADO (APSA).....	24

CAPITULO II

2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	25
2.1. Materiales.....	25
2.1.1. Institucionales.....	25
2.1. 2. Recursos Humanos.....	25
2.1.3. Recursos Tecnológicos.....	26
2.1.4. Materiales de campo.....	28
2.1.5. Materiales de oficina.....	28
2.2. Operacionalización de las variables.....	29
2.3. Diseño Metodológico.....	29
2.3.1. Tipo de investigación descriptiva.....	29
2.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS.....	30
2.4.1 Métodos lógicos	30
2.4.1.1. Método descriptivo analítico.....	30
2.4.1.2. Método deductivo.....	30
2.4.1.3. Método comparativo	31
2.4.1.4. Observación.....	31
2.4.1.5. Fichaje	32
2.5. METODOLOGIA	32
2.5.1. Delimitación del lugar de recolección	32
2.5.1.1. Ubicación política	32
2.5.1.2. Ubicación geográfica.....	33
2.5.1.3. Delimitación del lugar del laboratorio	33
2.5.1.4. Ubicación política	33
2.5.1.5. Ubicación geográfica.....	33
2.5.2.Toma de muestras.....	34
2.5.2.1. Procesamiento de la muestra	34
2.5.2.1. Almacenamiento.....	34
2.5.2.3. Identificación de la muestra en laboratorio previa a la siembra.....	35

2.5.2.4. Elaboración del medio de cultivo.....	35
2.5.2.5. Siembra.....	36
2.5.2.6. Identificación.....	36
2.5.2.6. 1. Observación microscópica	36
2.5.2.6.2. Descripción.....	37

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
3.1. Determinación del hongo fitopatógeno de mayor importancia en la producción del cultivo acelga (<i>Beta vulgaris</i>).....	38
3.2. Identificación de signos y síntomas del hongo (<i>Cercospora beticola</i>) del Cultivo de Acelga	40
3.3 .Caracterización de macro y microestructuras del patógeno	42
3.4. Descripción del ciclo de vida del patógeno en condiciones de laboratorio.....	45
3.5. Elaboración de una guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo en estudio	47
4. CONCLUSIONES.....	48
5. RECOMENDACIONES	49
6. GLOSARIO TÉCNICO.....	50
7. REFERENCIA BIBLIOGRAFÍA	54
8. ANEXOS	56

INDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1	Operación de variables.....	29
Cuadro N° 2	Siembra hongo.....	48
Cuadro N° 3	Producción de micelio.....	49
Cuadro N° 4	Producción de conidios y conioforos.....	49

INDICE DE IMÁGENES

Imagen N° 1	Síntomas.....	40
Imagen N° 2	Signos.....	41
Imagen N° 3	Micelio.....	42
Imagen N° 4	Talo.....	43
Imagen N° 5	Conidios y conidióforos.....	44

INDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1	Equipos de Laboratorio.....	56
Anexo N° 2	Fase de campo y laboratorio.....	58
Anexo N° 3	Costos.....	63
Anexo N° 4	Guía Didáctica.....	65

CAPITULO I

1. FUNDAMENTACION TEÓRICO

1.1 CULTIVO DE LA ACELGA

La acelga *Beta vulgaris* L., es una planta de hoja grande, ancha, jugosa con pecíolo grueso y acanalado interiormente. La planta resiste a altas temperaturas de verano, por lo que es un cultivo temprano de primavera. Puede ser cosechado a través de todo el verano y el otoño. Su alto contenido de fibra lo transforma en un excelente alimento para ayudar a regular la función intestinal. (BUSTOS, 1996).

1.1.1. Origen

También comenta (BOHORQUEZ, 2007), se tienen referencias escritas que sitúan a la acelga en las regiones costeras de Europa y del norte de África bañadas por el mar Mediterráneo, dotadas de un clima templado adecuado para una planta a la que le perjudica bastante los cambios bruscos de temperatura. Existen documentos que prueban que ya en el siglo V a.C. los griegos utilizaban la acelga como un alimento en su dieta. Desde Europa se ha expandido a distintos países del mundo y en la actualidad presenta una amplia difusión, de manera especial en América y Asia (BOHORQUEZ, 2007).

Parece ser que fueron los árabes quienes, a partir de la Edad Media, comenzaron a cultivarla y descubrieron las auténticas propiedades medicinales y terapéuticas de esta planta. Resulta curioso que la acelga, una verdura tan utilizada como planta medicinal desde hace siglos por árabes, griegos y romanos, se considere en la actualidad una verdura ordinaria, de pobre categoría. (AGRIOS, 1999).

1.1.2. Taxonomía

Según (BLANCARD, 1990) explica la clasificación de la acelga

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Amaranthaceae

Género: Beta

Especie: vulgaris.

.

1.2. Hongos fitopatógenos

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, 1997).

Menciona también (KIMATI, 1997) . La reproducción puede ser asexual o sexual, principalmente por esporas. La mayor parte de los hongos son saprofitos; algunos se consideran parásitos; otros mutualistas Se reproducen principalmente por medio de esporas, que son diseminadas por el viento y pueden ser sexuadas o asexuadas La mayoría de los hongos tienen un núcleo pequeño con poco DNA.

- 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, 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, 1994).

1.2.1. 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. (CARDENAS, 2012).

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 (CARDENAS, 2012).

Los hongos atacan las plantas hospederas susceptibles a través del movimiento de sus estructuras reproductivas. Las esporas se diseminan fácilmente por medios mecánicos, corrientes de aire y el agua, por ejemplo: los hongos se transfieren fácilmente de los sustratos o suelos contaminados a las plantas o partes de estas, por lo que es necesario eliminarlas ya que son fuente de inóculos (transmisores de la enfermedad).

Los fungicidas se utilizan para el control de enfermedades causadas por hongos, los hay específicos y de amplio espectro, de contacto y sistémicos Las principales enfermedades causadas por hongos son mildius, oídios, royas y carbones (ALSINA, 1980).

- 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 biótros, 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. (CARDENAS, 2012)

1.3. Viruela (*Cercospora beticola*)

En las hojas aparecen pequeñas manchas redondeadas de unos 3 mm de diámetro; al principio el centro de la mancha es grisáceo, después se forman unos puntitos negros. Toda la superficie de las hojas puede quedar cubierta por las manchas que se van secando.

Cuando hay numerosas manchas y el tiempo es húmedo, todo el tejido de las hojas comprendido entre las mismas puede tornarse clorótico o morir, transformándose en un tizón también puede afectar pecíolos y tallos de plantas viejas (BIGRE, 2004).

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 (NOME H, 2011).

1.3.1 Clasificación botánica

Según (FERNANDEZ, 1979)

Reino: Hongos

Filo: Ascomycota

Clase: Dothideomycetes

Orden: Capnodiales

Familia: Mycosphaerellaceae

Género: Cercospora.

1.3.2. Síntomas

En las hojas se forman manchas redondeadas (viruela), de 2-5 mm de diámetro, pudiendo excepcionalmente llegar a los 10 mm. Las mismas pueden tener borde castaño oscuro o púrpura y puede haber presencia de un halo clorótico. En el centro de las lesiones puede haber presencia de un moho oscuro (FERNANDEZ, 1979)

Menciona también. Cuando hay numerosas manchas y el tiempo es húmedo, todo el tejido de las hojas comprendido entre las mismas puede tornarse clorótico o morir, transformándose en un tizón. La viruela también puede afectar pecíolos y tallos de plantas viejas.

1.3.3. Presencia de enfermedad según estado fenológico de las plantas

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, hojas inferiores y medias; esporádicamente pecíolos y tallos. (AGRIOS, 2005).

1.3.4. Dispersión

Los conidios se desprenden fácilmente y son movilizados por el viento. Como consecuencia de su tamaño y forma no se alejan más de 100 metros. A grandes distancias, entre diferentes regiones, por medio de semillas. (NOME H, 2011) .

1.3.5. Supervivencia

Este hongo sobrevive durante 2-3 años en el suelo. Los estromas actúan como estructuras de supervivencia.(NOME H, 2011).

1.3.6. Biología

El hongo permanece fundamentalmente en residuos de cultivos anteriores, así como en semillas y malezas. Es por ello que puede haber gran potencial de infección en una rotación de cultivos corta. Los síntomas aparecen después de cinco días con condiciones de alta humedad y calor (humedad relativa mínima de 90-96% y temperaturas entre 22 y 27°C) (NOME H, 2011).

1.4. MEDIOS DE CULTIVOS

1.4.1. 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.

1.4.2 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 25 y 28 °C (FERNÁNDEZ, 1979).

CAPITULO 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

2.1. 2. Recursos Humanos

- Autor: Helen Liliana Morales Veloso
- Director de tesis: Ing. David Carrera
- Miembros del tribunal:
 - Ing. Edwin Chancusig
 - Ing. Karina Marín
 - Ing. Jorge Kaslin

2.1.3. Recursos Tecnológicos

- EQUIPOS
 - Cámara de crecimiento o incubadora
 - Balanza de precisión
 - Estufa
 - Microscopio
 - Refrigeradora
 - Cámara de flujo laminar
 - Autoclave
 - Cuenta colonias
 - Microondas
 - Desecador con mallas
 - Cámara húmeda
- MATERIAL DE LABORATORIO
 - Micro tubos
 - Goteros de plástico
 - Papel aluminio
 - Pizeta
 - Marcadores permanentes
 - Aguja de disección
 - Asa de siembra
 - Reposeros plásticos con tapa
 - Cajas Petri
 - Papel absorbente
 - Parafilm de laboratorio
 - Portaobjetos
 - Cubreobjetos
 - Vaso de precipitación de 50-100-500-1000 ml

- Erlenmeyer de 500-1000 ml
- Tubos de ensayo de 10 ml
- Agitador
- Algodón
- Fundas herméticas
- Cinta adhesiva transparente de 1,5 cm de ancho
- Pinzas
- Bisturí
- Tijeras con punta
- Olla
- Cuchillo
- Estilete
- Colador metálico
- Pirutines
- Cucharas plásticas
- pH- metros
- MATERIAL DE ASEO
 - Pala para basura
 - Escoba
 - Trapeadores
 - Detergente
 - Limpiones
 - Lava
 - Lavacaras
 - Escobillas de laboratorio
 - Desinfectantes
- REACTIVOS
 - Agua destilada
 - Agar

- Dextrosa o sacarosa
- Alcohol antiséptico
- Ácido cítrico
- Levadura granulada
- Papa(*Solanum tuberosum*)

2.1.4. Materiales de campo

- Recolección de muestras de hongos Fitopatógenos en el cultivo de Acelga (*Beta vulgaris.*)
- Tijeras
- Fundas de Papel
- Fundas herméticas
- Bisturí
- Cámara
- GPS
- Libro de Campo

2.1.5. Materiales de oficina

- Computadora
- Internet
- Flash Memory

2.2. Operacionalización de las variables

Cuadro 1. Operacionalización de variables

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

Autor: Helen Morales

2.3. Diseño Metodológico

2.3.1. Tipo de investigación descriptiva

Tipo de investigación que describe de modo sistemático las características de una población, situación o área de interés. Aquí los investigadores recogen los datos sobre la base de una hipótesis o teoría, exponen y resumen la información de manera cuidadosa y luego analizan minuciosamente los resultados, a fin de extraer generalizaciones significativas que contribuyan al conocimiento (AVILA, 2006).

Esta investigación se realizó dentro del tipo descriptiva, Porque para su desarrollo y avance de la misma me permitió recopilar información de las características morfológicas que presento el hongo fitopatógeno (*Cercospora beticola*) en el cultivo de Acelga (*Beta vulgaris*) Además de ser descriptiva por los resultados que fueron procesados de tal modo que se pude analizar y discutir y puntualizar el desarrollo conjuntamente con el avance del

ciclo vital de dicho hongo evaluando aspectos relevantes que ayudaron a desarrollar la investigación.

2.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.4.1 Métodos lógicos

2.4.1.1. Método descriptivo analítico

El Método analítico es aquel método de investigación que consiste en la desmembración de un todo, descomponiéndolo en sus partes o elementos para observar las causas, la naturaleza y los efectos. El análisis es la observación y examen de un hecho en particular (LIMON, 2006).

Se utilizó para describir el ciclo de vida del hongo fitopatógeno (*Cercospora beticola*) determinado de mayor impacto a la producción del cultivo de Acelga (*Beta vulgaris*), esta descripción se realizó en condiciones de laboratorio.

2.4.1.2. Método deductivo

En este método se desciende de lo general a lo particular, de forma que partiendo de enunciados de carácter universal y utilizando instrumentos científicos, se infieren enunciados particulares. (MARK, 1985).

Para el avance de la investigación se empleó este método porque permitió recopilar información de las características morfológicas que presenta el hongo fitopatógeno (*Cescorpora beticola*), identificando signos y síntomas del hongo en el cultivo Acelga (*Beta vulgaris*).

2.4.1.3. Método comparativo

Es un procedimiento de búsqueda sistemática de similitudes con el objeto de estudiar su parentesco.

Sólo tenemos una manera de demostrar que un fenómeno es causa de otro; comparando los casos en que están simultáneamente presentes o ausentes y buscando si las variaciones que presentaron en las diferentes combinaciones de circunstancias prueban que uno depende del otro (ZAYAS, 2010)

Comparar la Bibliografía investigada sobre el hongo (*Cescorpora beticola*) identificado en laboratorio.

2.4.1.4. Observación

Consiste en observar desde el lugar de los hechos, todos los sucesos de manera directa y abierta con el propósito de obtener información de primera mano del fenómeno que se investiga. La observación es un elemento fundamental de todo proceso investigativo; en ella se apoya el investigador para obtener el mayor número de datos. Gran parte del acervo de conocimientos que constituye la ciencia ha sido lograda mediante la observación. (CENTTY, 2010).

La observación permitió conocer la realidad en la que se desarrolló el hongo fitopatógeno (*Cescorpora beticola*), además permito observar los signos y síntomas que presentan en el cultivo. La manera y tiempo de crecimiento del hongo Como instrumento se utilizó el Microscopio.

2.4.1.5. Fichaje

El fichaje consiste en la recolección y organización de la información usando fichas, tradicionalmente en tarjetas como trozos rectangulares de papel, pero también se considera como fichaje el almacenamiento de información tabulada para estos mismos fines en bases de datos, o sea en formato digital (CENTTY, 2010).

Se utilizó la técnica del fichaje, con la cual se realizó el levantamiento de información tanto en campo (selección de plantas), como en el laboratorio (siembras) donde se analizó a detalle y profundidad las características del hongo fitopatógeno (*Cercospora beticola*), con el cual pudimos cumplir cada actividad establecida.

2.5. METODOLOGIA

2.5.1. Delimitación del lugar de recolección

Las muestras se recolecto en el Sector San Buenaventura, que está ubicado en la parte Norte de la ciudad de Latacunga

Material vegetal de muestras infestadas de hongos fitopatógenos del cultivo de acelga (*Beta vulgaris*).

2.5.1.1. Ubicación política

País: Ecuador

Provincia: Cotopaxi

Cantón: Latacunga

Parroquia: San Buenaventura

2.5.1.2. Ubicación geográfica

Latitud: 0°51'12.5"S

Longitud: 78°36'11.4"W

Altitud: 2948 m.s.n.m.

2.5.1.3. Delimitación del lugar del laboratorio

2.5.1.4. Ubicación política

País: Ecuador

Provincia: Cotopaxi

Cantón: Latacunga

Parroquia: Eloy Alfaro.

2.5.1.5. Ubicación geográfica

Latitud: 00°59' 57" s

Longitud: 18° 37' 14" w

Altitud: 2725 m.s.n.m.

2.5.2. Toma de muestras

Se realizó la toma de la muestra al Azar del hongo fitopatógeno (*Cescorepora beticola*) en el cultivo de Acelga (*Beta vulgaris*), recogiendo 5 muestras (hojas) que presentaba mayor porcentaje de infección presente en el cultivo, para trasladar las muestras al laboratorio para su respectivo proceso de caracterización.

No se mostró mayores problemas ya que las muestras en campo fueron lavadas con agua corriente para retirar el exceso de tierra, luego fueron colocadas en papel periódico para que absorba la humedad, y ser colocadas en fundas herméticas.

2.5.2.1. Procesamiento de la muestra

Se extrajeron plantas afectadas utilizando un bisturí y tijeras para facilitar la recolección de las muestras, en cada corte se esterilizo los materiales con alcohol y las muestras vegetales fueron cubiertas de papel periódico para que el exceso de humedad sea absorbido por el mismo y colocar en fundas herméticas con su respectiva codificación, y se trasladó en una hielera para evitar la deshidratación, contaminación y daños de las muestras.

2.5.2.1. Almacenamiento

Las muestras fueron colocadas en la nevera, a una temperatura de 6 a 8°C para evitar que el hongo se prolifere, y al mismo tiempo mantener al hongo vivo, material que será indispensable para una posterior siembra en el laboratorio.

2.5.2.3. Identificación de la muestra en laboratorio previa a la siembra

Dentro del laboratorio se siguió un proceso de minucioso de identificación para obtener muestras más optimas, donde se verifico que era el hongo (*Cercospora beticola*), mediante la utilización de bibliografía (existe de los síntomas que presenta el hongo y con la observación de muestra en el microscopio).

2.5.2.4. Elaboración 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 hongos y levaduras

Utilizado:

- 50gr de papa con capacidad para cinco cajas Petri
- 125ml de agua
- 3,75gr de agar
- 5gr de glucosa
- 0,5gr de levadura

Las cantidades detalladas anteriormente abarcan para una capacidad de cinco cajas Petri las mismas que contienen 25 ml de PDA.

Procedimiento:

Pelar y poner a hervir la papa (50gr) en 125ml de agua en un tiempo de 10 a 15 minutos, el extracto se filtra y se adiciona hasta completar los 125ml para reponer lo que evaporo a continuación se agregan los otros ingredientes y se calienta a fuego lento moviendo constantemente durante de 1 a 2 minutos hasta que queden totalmente disueltos. Obtenido ya el medio de cultivo se procede a colocar la mezcla en el Erlenmeyer el cual debe ser tapado con papel aluminio de una forma segura ,que cuando empieza a hervir dentro del

autoclave esta no sea derramada en el interior, luego el Erlenmeyer es colocado dentro del autoclave durante 35 minutos a una temperatura de 121°C para que la solución sea completamente esterilizada, después de haber transcurrido el tiempo establecido, se realiza una previa apertura posteriormente se verifica que los vapores han sido expulsados en su totalidad se procede a abrir completamente el autoclave, se obtiene el medio de cultivo y se coloca rápidamente 25ml de PDA en las cajas Petri mismas que ya están esterilizadas, ya que si se las expone durante mucho tiempo al aire libre puede ser contaminada, después que el medio de cultivo ha sido colocadas en las cajas Petri estas deben mantenerse cerradas hasta que con la temperatura ambiente se enfríen para poder realizar con la siembra

2.5.2.5. Siembra

La siembra realice en cajas Petri previamente ya colocadas el medio de cultivo PDA (papa – dextrosa - agar), la misma que realice tomando pequeños segmentos de (hojas) de las muestras del cultivo de Acelga (*Beta vulgaris*) con la presencia del hongo fitopatógenos (*Cercospora beticola*), la cual hice dentro de la cámara de flujo laminar para evitar la contaminación del medio de cultivo durante la siembra, utilizando materiales desinfectados como bisturí, pinzas, aza de siembra, y mecheros. Una vez sembradas las muestras se procede a tapar y sellar las cajas Petri con parafilm y luego son colocadas en la Incubadora a una temperatura de 25°C la que infiere para la proliferación del hongo fitopatógenos (*Cercospora beticola*).

2.5.2.6. Identificación

2.5.2.6. 1. Observación microscópica

Técnica de cinta pegante: realice un dobléz 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 (*Cercospora beticola*) 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 40x y 100x.

Montaje por disección: Con un asa estéril tome una pequeña muestra del hongo y 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 40x y 100x.

2.5.2.6.2. Descripción

Caracterización morfológica del hongo fitopatógeno para esto se utilizara el método comparativo a través de fotos microscópicas y macroscópicas

De las cepas aisladas se hizo observaciones macroscópicas y microscópicas tales como: color característico del medio de cultivo, halo, estructuras y crecimiento del hongo

Luego procedí a realizar placas fijas de cada una de las cepas aisladas para posteriormente observar las estructuras microscópicas tales como: forma de conidios conidióforo. Para realizar las placas fijas se procederá de la siguiente manera:

- Se prepararon las cajas Petri con las cepas del hongo aislado, una en cada caja Petri.
- Se tomara un trozo de cinta masking transparente de cuatro cm de largo y se fijó en el cuerpo fructífero, tomando directamente de la caja Petri
- Se observó en el microscopio y se procedió a tomar fotografías microscópicas del hongo fitopatógenos las diferentes estructuras con una cámara de 20 megapíxeles.
- Se creó un archivo con las fotografías tomadas del hongo (*Cercospora beticola*) y realice una guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Determinación del hongo fitopatógeno de mayor importancia en la producción del cultivo acelga (*beta vulgaris*)

El presente trabajo previo a la realización de la investigación con el tema caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en acelga, opta por la determinación del hongo de mayor impacto en la producción del cultivo, obteniendo como resultado a (*Cercospora beticola*), hongo fitopatógeno

Los factores atmosféricos que más favorecen el ataque y posterior desarrollo de esta enfermedad son sucesiones de días muy húmedos y cálidos, seguidos de períodos calurosos, aun cuando la humedad ya no sea en éstos muy elevada .El origen de la contaminación inicial puede proceder de las semillas, de restos de hojas enfermas, de restos de cosecha (ROUXEL, 1995)

Existen pérdidas económicas en un 40% por el hongo (*Cercospora beticola*) por lo cual se ven afectados los productores en la Provincia de Cotopaxi Sector San Buenaventura, por no conocer maneras de combatir el hongo que ataca principalmente en hojas (CRUZ,2004)

En las hojas aparecen pequeñas manchas redondeadas de unos 3 mm de diámetro; al principio el centro de la mancha es grisáceo, después se forman unos puntitos negros. Toda la superficie de las hojas puede quedar cubierta por las manchas que se van secando (ROUXEL, 1995).

Los signos que se pudieron conocer mediante la observación en el microscopio fueron conidios y conidióforos, los conidios son solitarios que constan de 4 a 6 septos de una forma pluricelular. Los conidióforos son septados largos sin ramificar de un color marrón. Los conidios se desprenden fácilmente y son movilizados por el viento. Como consecuencia de su tamaño y forma no se alejan más de 100 metros. A grandes distancias, entre diferentes regiones, por medio de semillas (NOME H, 2011)

El hongo (*Cercospora beticola*) en condiciones de laboratorio se utilizó el medio de cultivo PDA, para su reproducción fue necesaria 25°C de temperatura, para que exista la producción de conidios y conidióforos.

Las condiciones óptimas para la germinación de los conidios son: temperatura entre 25°C y 30°C, y una humedad relativa superior al 95%. Esta humedad puede provenir de una lluvia, del rocío o del riego. En estas condiciones bastan unas pocas horas, de seis a ocho, para que germine el 90% de los conidios. Por encima de 35°C por debajo de 13°C no germina ningún conidio, cualquiera que sea la humedad ambiente. (JONES, 1991)

3.2. Identificación de signos y síntomas del hongo (*Cercospora beticola*) en el Cultivo de Acelga

Síntomas

En las hojas se forman manchas redondeadas (viruela), de 2-5 mm de diámetro, pudiendo excepcionalmente llegar a los 10 mm. Las mismas pueden tener borde castaño oscuro o púrpura y puede haber presencia de un halo clorótico. En el centro de las lesiones puede haber presencia de un moho oscuro (FERNANDEZ, 1979).

Cuando hay numerosas manchas y el tiempo es húmedo, todo el tejido de las hojas comprendido entre las mismas puede tornarse clorótico o morir, transformándose en un tizón. La viruela también puede afectar pecíolos y tallos de plantas viejas (FERNANDEZ, 1979).

Imagen 1. Síntomas Cultivo de Acelga



Fuente: (HARVERSON.1986)



Fuente: Autora.

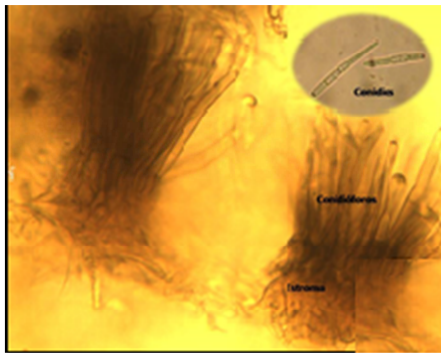
Síntomas

La observación que realice fue que en las hojas presentan unas manchas redondas de un color marrón dando presencia a un color vino formando en las hojas halos cloróticos, manifestándose en hojas maduras.

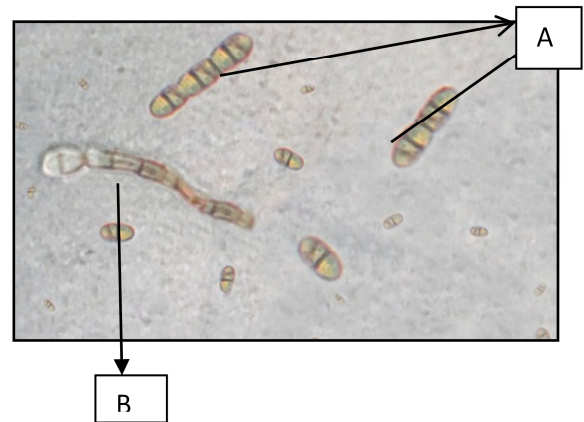
Signos

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.

Imagen 2. Signos Cultivo de Acelga



Fuente: (HARVENSON, 1986)



Fuente: Autora

Se realiza la observación mediante el microscopio el cual pude determinar las estructuras del hongo son conidios y conidióforos, los conidióforos son libres septados porque se desprenden del estroma, los conidios son solitarios grandes, con una forma pluricelular de 4 a 6 septos

A.- conidios de 4 a 6 septos

B.- Conidióforos septados

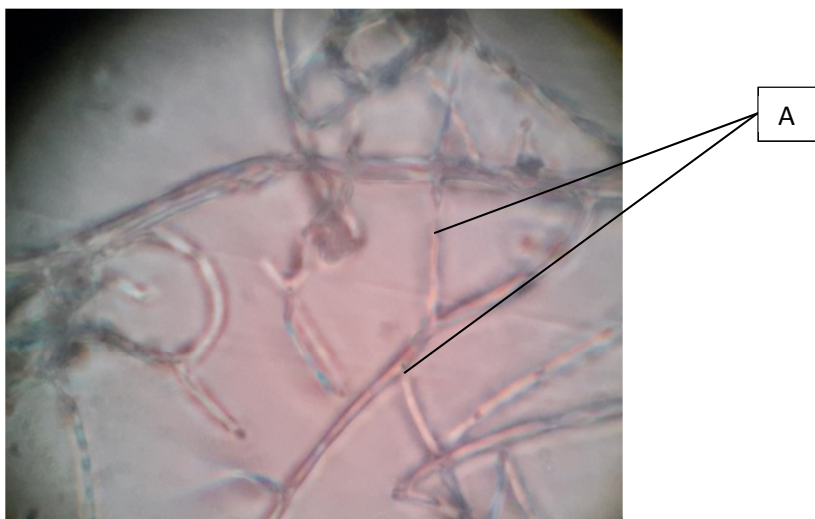
3.3 .Caracterización de macro y microestructuras del patógeno

Micelio observado al microscopio trinocular cx31

El micelio es la masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo de un hongo. Dependiendo de su crecimiento se clasifican en reproductores (aéreos) o 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, 1995)

Las hifas crecen tan solo apicalmente en el ápice. Las hifas pueden crecer con mucha rapidez, hasta más de 1 mm por hora. Por este motivo y por las frecuentes ramificaciones surge en el sustrato una maraña de hifas con una enorme superficie: el micelio.

Imagen 3. Micelio



Fuente: Autora

A. Micelio

El micelio del hongo (*Cercospora beticola*) se presentó en un color grisáceo es un micelio septado, el micelio el cual resulta de la unión de un grupo de hifas.

Talo observado al microscopio trinocular cx31

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 parasito; 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 4.Talo



Fuente: Autora

A. Talo septado

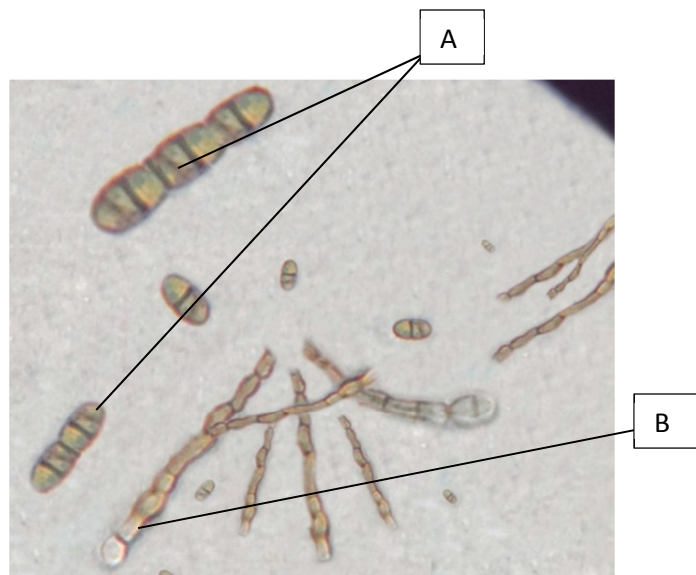
El talo que observe en el microscopio del hongo (*Cercospora beticola*) es septado

Conidióforos y conidios observado al microscopio trinocular cx31

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. (HARVESON, 1986)

Los conidios se desprenden fácilmente y son movilizadados por el viento. Como consecuencia de su tamaño y forma no se alejan más de 100 metros. A grandes distancias, entre diferentes regiones, por medio de semillas (KOITE, 2007)

Imagen 5. Conidios y Conidióforos



Fuente. Autora

Conidios son solitarios pluricelulares están formando de 4 a 6 septos son de color marrón


Conidióforos son septadas sin ramificar de color marrón

A.- Conidios pluricelulares de 4 a 6 septos solitarios de 6mm

B.- Conidióforos septado de 7mm

3.4. Descripción del ciclo de vida del patógeno en condiciones de laboratorio

Cuadro 2. Siembra de hongos

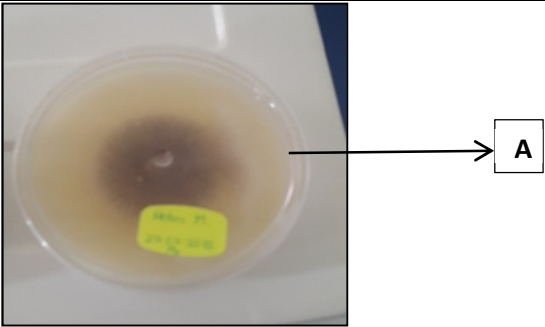
Actividad	Tiempo	°C	Grafico
Siembra del Hongo (<i>Cercospora beticola</i>)	15 min	25°C	

Fuente: Autora

Siembra del hongo

La siembra se realizó utilizando el medio de cultivo PDA en cajas petri esterilizadas, utilizando partes vegetativas (hojas) del cultivo de acelga (*Beta vulgaris*) donde notamos la presencia de (*Cercospora beticola*), luego tomamos un trozo de 3 a 5 mm cortamos con un bisturí previamente desinfectado, para seguidamente proceder a colocarlas sobre el medio de cultivo, realizando esta actividad en la cámara flujo laminar después sellamos con el parafilm correctamente con el propósito de que no ingrese aire, finalmente colocamos en la incubadora con la temperatura utilizada de 25°C

Cuadro 3. Producción del hongo

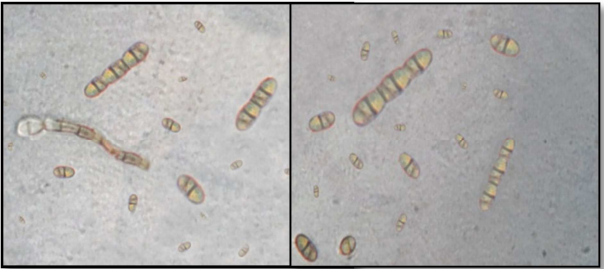
Actividad	Tiempo	°C	Grafico
Producción de Micelio	24h	25°C	

Fuente. Autora

A. PDA presencia de micelio

El desarrollo del micelio se observó a las 24 horas que fue sembrado en el medio de cultivo siendo un desarrollo aterciopelado, afelpada, felposo de color grisáceo

Cuadro 4. Producción de conidióforos y conidios

Actividad	Tiempo	°C	Grafico
Producción de conidióforos y conidios	24h	25°C	

Fuente: Autora

En la caja petri se observó el desarrollo del micelio que es felposo de un color grisáceo en los cuales se van formando conidios y conidióforos, los conidióforos son libres y de un color pardo presenta conidios solitarias hialinas obclavadas pluricelulares, la temperatura adecuada para la reproducción de conidios y conidióforos es de 25°.

3.5. Elaboración de una guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo en estudio

La guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo en estudio se encuentra en el ANEXO 4.

4. CONCLUSIONES

- El cultivo de acelga en la Provincia de Cotopaxi se la cultiva en un 85% la cual el hongo (*Cercospora beticola*) causa pérdidas económicas en un 40%
- Los síntomas que se determinó en campo mediante la bibliografía investigada que indicaba que presentan unas manchas de color marrón en el centro en los bordes presentaban un color vino
- Se determinó los signos en laboratorio mediante la reproducción del hongo (*Cercospora beticola*) pudiendo identificar conidios y conidióforos
- Utilizando claves taxonómicas se pude característicar las estructuras tales como: talo es septado , su micelio septado , los conidióforos que median 7mm sin ramificar de un color pardo oscuro , los conidios solitarias elipsoidales miden 6 mm,
- En el laboratorio el hongo se desarrolló bajo la temperatura de 25°C utilizando partes vegetativas de 3 mm, pudiendo cumplir su ciclo de vida, utilizando el medio de cultivo PDA.
- La información será redactada en una guía didáctica que será de mucha ayuda para los estudiantes de la carrera de Ingeniería Agronómica quienes podrán contar con la investigación en el cultivo de Acelga en el hongo (*Cercospora beticola*)

5. RECOMENDACIONES

- En campo al momento de la recolección realizarla con el mayor cuidado desinfectando las muestras para que no exista contaminación transportarlas en fundas herméticas que se mantengan bien selladas hasta llegar al lugar de trabajo
- Al realizar las caracterizaciones macro y micro tener claves taxonómicas actualizadas para tener una descripción correcta del hongo en estudio
- Se recomienda al trabajar en el Laboratorio tener una mayor asepsia posible para que no exista contaminaciones siempre desinfectar todos los materiales utilizados
- Al momento de obtener las fotografías ocupar los lentes de 20x y 100x para obtener mejores fotos
- Se recomienda difundir a los estudiantes de la Carrera de Agronomía los resultados que se encuentran en la guía didáctica

6. GLOSARIO TÉCNICO

Actinomorfo. Se aplica a cualquiera de las partes u órganos de un vegetal que está dividido en dos partes simétricas por cualquier plano que pase por su eje y por la línea media de un sépalo o pétalo.

Agallas. Porciones alargadas de las plantas que por lo común están llenas del micelio del hongo.

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

Ahogamiento o secadera. Muerte rápida y colapso de plántulas muy jóvenes que se cultivan en el campo o en el almácigo.

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

Antracnosis. Lesión necrótica que se asemeja a una úlcera profunda y que se produce en el tallo, hojas, frutos o flores de las plantas hospedantes.

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.

Cancro. Herida localizada o lesión necrótica; con frecuencia sumida bajo la superficie del tallo de una planta leñosa.

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

Cleistotecio. Ascocarpo cerrado que ha de romperse para liberar las ascósporas.

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.

Cuerpo fructífero. Estructura compleja de los hongos que contienen esporas.

Decaimiento. Crecimiento deficiente de las plantas; las hojas son pequeñas, quebradizas, amarillentas o de color rojo; las plantas muestran cierto grado de defoliación y muerte descendente.

Dextrosa. Es un hidrato de carbono. Incluimos en este grupo el almidón, los azúcares (sacarosa, glucosa o dextrosa y lactosa) y los ácidos orgánicos (cítrico, fumárico y propiónico).

Enchinamiento foliar. Deformación, engrosamiento y enchinamiento de las hojas.

Esporas. Una célula reproductora generalmente haploide y unicelular. La reproducción por esporas permite al mismo tiempo la dispersión y la supervivencia por largo tiempo en condiciones adversas.

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

Fitopatógeno. 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.

Hifas. Vegetativas con conidióforos simples o ramificados, solitarios o formando esporadiquitos con microconidas apicales simples y macroconidias fusiformes de bordes curvados, con ápices obtusos o agudos, solitarios o en cadena y con algunos tabiques transversales.

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. La ciencia que los estudia se llama Micología (Mykes=Hongo y Logos=Estudio)

Hospedante. Planta que es invadida por un parásito y de la cual este obtiene sus nutrientes.

Infestación. Se denomina a la invasión de un organismo vivo por agentes parásitos externos o internos. La diferencia fundamental con el término infección es que este último, se aplica exclusivamente a microorganismos que tienen como objetivo su reproducción en el organismo infectado, causando en muchas ocasiones la muerte del mismo, mientras que el objetivo de los parásitos es su supervivencia a costa del huésped que parasitan.

Inóculo. Es la Cantidad o Número de Gérmenes infectantes que son introducidos accidental o voluntariamente en los tejidos vivos o en medios de cultivos.

Manchas foliares. Lesiones localizadas en las hojas de los hospedantes que constan de células muertas y colapsadas.

Marchitamiento. Por lo común, es un síntoma secundario generalizado en el que las hojas o los retoños de las plantas pierden su turgencia y se cuelgan debido a las alteraciones que sufre el sistema vascular de la raíz o del tallo.

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

Micelio. Aparato vegetativo de los hongos que constituye su talo, formado por filamentos muy ramificados.

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

Muerte descendente. Necrosis generalizada de las ramitas de las plantas que se inicia en sus puntas y avanza hacia su base.

Necrosis. Es la degeneración de un tejido por la muerte de sus células. Esta mortalidad es producida por la acción de un agente nocivo que genera una lesión irreparable

Oospora. Una oospora es una espora sexual de pared celular gruesa que se desarrolla a partir de una oosfera fertilizada en algunos protistas, algas y hongos. Es una estructura de supervivencia que puede resistir durante varios años.

Parafilm. Es una película autosellante, moldeable y flexible para numerosos usos en el trabajo cotidiano en el laboratorio, incluido el de microscopía electrónica.

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

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

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

7. REFERENCIA BIBLIOGRAFÍA

- AGRIOS, G.1999.**Fitopatología. 2a. ed. México: LIMUSA. 819 pag
- ALSINA, Daniela Jhous. 1980.** Hongos Fitopatogenos . Alsina D. España : Sintesis S.A, 1980.
- AVILA Baray, Hector Luis. 2006.** Introduccion a la Metodologia de la Investigacion. Mexico : Trillas, 2006.
- BIGRE, J.P. 2004.** Patología de los cultivos florales y ornamentales. Madrid : Mundi-Prensa, 2004.
- BLANCARD, SERGIO. 1990.** taxonomia cultivos. [aut. libro] blancard. españa : mundi prensa, 1990.
- BOHORQUEZ. 2007.** Hortalizas. [aut. libro] Bohorquez J. *Hortalizas*. españa : credsa, 2007.
- BUSTOS. 1996.** Manual Agropecuario. *manual agropecuario*. españa : credsa, 1996.
- CARDENAS, BERNARDO. 2012.** *MICROBIOLOGIA* . Mexico : prensa , 2012.
- CENTTY Villafuerte, Deymor. 2010.***Manual metodologico para el investigador cientifico*. Peru : Cientifica, 2010. ISBN-13.
- CRUZ, Rafael. 2004.***La defensa de las plantas cultivadas, tratado practico de fitopatologia y soologia agricola* . Barcelona : Omega, 2004.
- FERNANDEZ, Manuel v. 1979.***introduccion a la Fitopatologia Volumen III Hongos* . Buenos Aires : INTA, 1979.
- GAUSSEN, Henri. 1891.***Botanica vegetales inferiores* . Vauclense : Reverte, 1891. ISBN/12434.
- HERRERA, L y MAYEA, S. 1994.***Fitopatología General*. La Habana, Cuba : Felix Varela, 1994.

JONES, N.K. 1991.*Cercospora beticola* . Argentina : prensa s.a, 1991. ISBN 123340.

KIMATI, Hiroshi ,L Amorim. 1997.*Manual de Fitopatologia* . Sau Paulo : CERES Ltda., 1997. ISBN 85-318-0008-0.

KLEIN, Koch. 1997.*Enfermedades horticolas* . Buenos Aires : S.E., 1997.

LIMON, Ramon Ruiz. 2006.*Historia y evolucion del Pensamiento Cientifico*. Mexico : Esfinge.S.A., 2006. pág. 189.

LUQUE, Alicia. 2010 .*centro de referencia de microbiologia* . argentina : scandiani prensa , 2010

MARK, Blaug. 1985.*Metodologia de la Economia*. Madrid : Alianza, 1985.

NOME H, Sergio Fernando. 2011.*Atlas Fitopatologico*. Argentina : INTA, 2011.

ROUXEL, FLEURY. 1995.*Enfermedades de las Hortalizas*. España : Mundi- Prensas, 1995. ISBN 84-7114-502-2.

ZAYAS Agüero, Pedro Manuel. 2010.*El rombo de la investigacion de las Ciencias*. Mexico : Academica, 2010.

8. ANEXOS

Anexo 1 .Equipos de laboratorio

Estufa



Mecheros



Microscopio



Cámara de crecimiento o incubadora



Autoclave



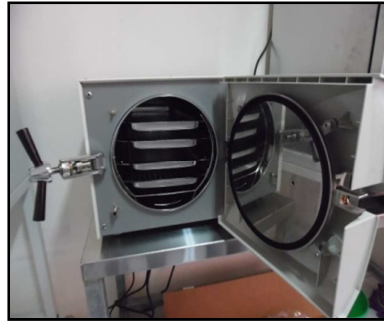
Refrigeradora



Cámara de flujo laminar



Autoclave



Cámara Húmeda



Cuenta colonias



Anexo 2. Fase campo y laboratorio

En campo



En laboratorio



Elaboración del Medio de cultivo

Papa 200 gr



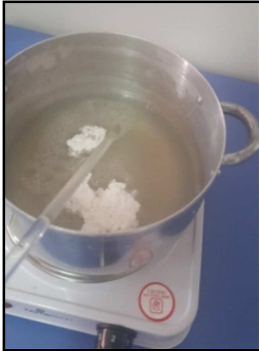
levadura , dextrosa, agar



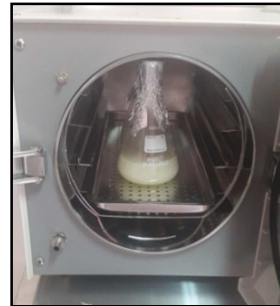
Poner a hervir las papas y tamizarlas completar el agua que se evaporo con 125ml



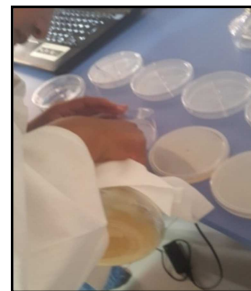
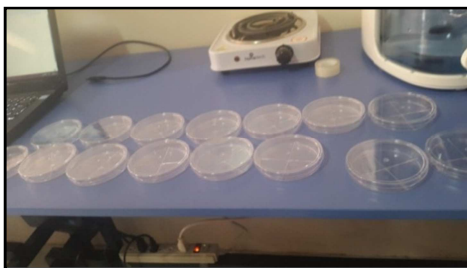
Después de reponer el agua evaporada se coloca (dextrosa, levadura, agar) se calienta a 1 o 2 minutos



Se procede a trasladar el medio de cultivo en el Erlenmeyer cubrirlo con papel aluminio al momento de ingresar a la auto clave es colocado dentro del autoclave durante 35 minutos a una temperatura de 121°C



Después del tiempo establecido dentro del autoclave se procede a colocar el medio de cultivo en cajas petri

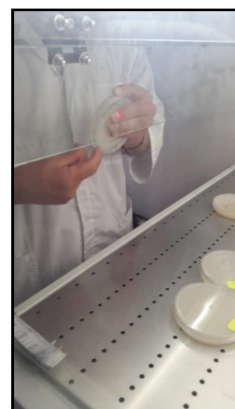


Siembra

Tome pequeños segmentos del hongo



Colocamos el para film



Anexo 3. Costos

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
Zapatones	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



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

UNIDAD ACADÉMICA DE RECURSOS AGROPECUARIOS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Autora: Helen Liliana Morales Veloso

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

FUNDAMENTACIÓN

OBJETIVO

UBICACIÓN

BLOQUE I. METODOLOGÍA

BLOQUE II. RESULTADOS

MATERIAL DE CONSULTA SUGERIDA

Ingeniería
Agronómica

INTRODUCCIÓN:

En el Ecuador existen muchas pérdidas por daños de hongos fitopatógenos como es igual en el sector de San Buenaventura por la presencia del hongo (*Cercospora beticola*) viruela en el cultivo de acelga se presenta en las hojas en forma de manchas redondeadas, de 2-5 mm de diámetro, pudiendo excepcionalmente llegar a los 10 mm Las mismas pueden tener borde castaño oscuro o púrpura y puede haber presencia de un halo clorótico En el centro de las lesiones puede haber presencia de un moho oscuro (KOITE & GLADDERS, 2007)

Por las razones antes mencionadas se elabora la siguiente guía didáctica y pueda ser utilizada en el proceso de aprendizaje por los estudiantes de la Carrera de Ingeniería Agronómica, aquí conocerán los pasos prácticos para la reproducción de dicho hongo (*Cercospora beticola*) en condiciones de laboratorio

FUNDAMENTACION

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, 1997).

Las Zonas Productoras de Acelga que más se destacan en el país son las Provincias y cantones de: Cotopaxi, cantón Latacunga y Pujili, Tungurahua en el Cantón Ambato, Pichincha en los cantones Quito y Rumiñahui y Cañar. Las Hectáreas sembradas y cultivadas en la provincia de Cotopaxi son de 35 ha. con una producción del 85%, Tungurahua 37 ha. con una producción del 100% (CRUZ R. , 2004).

Cercospora beticola, 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 (MARROTO, 1995)

Los conidios se desprenden fácilmente y son movilizados por el viento. Como consecuencia de su tamaño y forma no se alejan más de 100 metros. A grandes distancias, entre las diferentes regiones se dispersa por medio de semillas. Además sobrevive durante 2-3 años en el suelo.(WEILAND J. & KOCH, 2004)

El hongo comienza esporádicamente en plántulas, pero es 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 en floración y adultas, hojas inferiores y medias; en forma esporádica en pecíolos y tallos. (AGRIOS, 2005)

OBJETIVO

Caracterizar la morfología del hongo fitopatógeno (*Cercospora beticola*) en el cultivo de Acelga (*Beta vulgaris*) en condiciones de laboratorio y la misma que sirva de guía para los estudiantes de la Carrera de Ingeniería Agronómica.

UBICACIÓN

UBICACIÓN DEL LABORATORIO

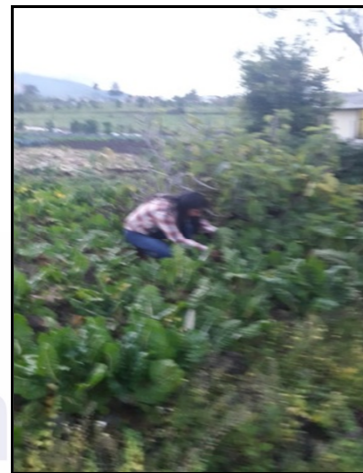
- **Sitio:** Salache Bajo
- **Parroquia:** Eloy Alfaro
- **Cantón:** Latacunga
- **Provincia:** Cotopaxi
- **Latitud:**
- N: 9888.749,37.
- E: 764.660,386.
- **Altitud:** 2757,59 msnm.

Ingeniería
Agronómica

1. TOMA DE MUESTRAS

Se realiza la toma de la muestra al Azar del hongo Fito patógeno (*Cescorpora beticola*) en el cultivo de Acelga (Beta vulgaris) recogiendo 5 muestras de hojas.

Se lava con agua corriente para retirar el exceso de tierra, luego son colocadas en papel periódico para que absorba la humedad, y luego ser colocadas en fundas herméticas, como consta en las fotos adjuntas.



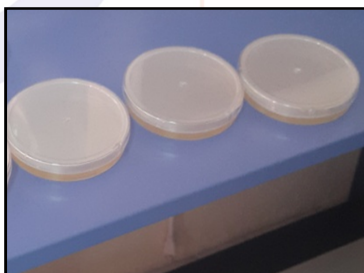
2. ALMACENAMIENTO

Las muestras son colocadas en la nevera, a una temperatura de 6 a 8°C para evitar que el hongo se prolifere, y al mismo tiempo mantener al hongo vivo, este material que será indispensable para una posterior siembra en el laboratorio.



3. ELABORACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

Se elabora el medio de cultivo, optando el agar PDA (papa – dextrosa - agar), el mismo que tiene la infusión de papa como fuente de almidones y la dextrosa son la base para el crecimiento de hongos y levaduras



Paso 1

Se procede a pesar 200gr de papa pelada, en una olla picar la papa en cuadraditos para que sea más fácil la remoción del almidón durante la cocción, previamente la papa lista se coloca la papa en 500 ml de agua, la cocción se realiza en un tiempo de 10 minutos, como se visualiza en las fotografías.



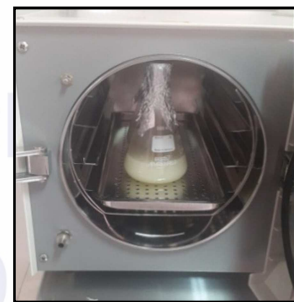
Paso 2

Pesamos 15 gr. de agar; 20 gr. de dextrosa o sacarosa y 2 gr. de levadura, sustancias que complementaran el medio cultivo, pasado los 10 minutos de cocción de la papa se tamiza en un vaso de precipitación, al instante se contabiliza la medida inicial de 500 ml, si ha disminuido el agua nuevamente completamos el agua que se perdió, inmediatamente se coloca a fuego lento durante 2 a 3 minutos, a continuación colocamos los 15 gr. de agar; 20 gr. de dextrosa o sacarosa y 2 gr. de levadura, con la barita de agitación se mese a dirección de las manecillas del reloj, evitando que esta se condense en pequeñas partículas de masa.



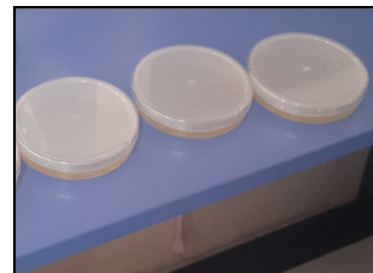
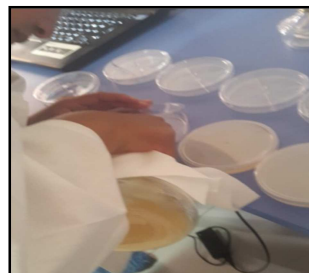
Paso 3.

Obtenida la mezcla homogénea, luego colocamos en el erlenmeyer de 500ml, tapamos con papel aluminio para evitar el derrame en el interior de la autoclave, aquí debe pasar por 35 minutos para que cumpla el proceso de esterilización.



Paso 4.

Una vez cumplido los 35 minutos en la autoclave, el medio de cultivo es colocado una capa que cubra la parte inferior de caja petri.

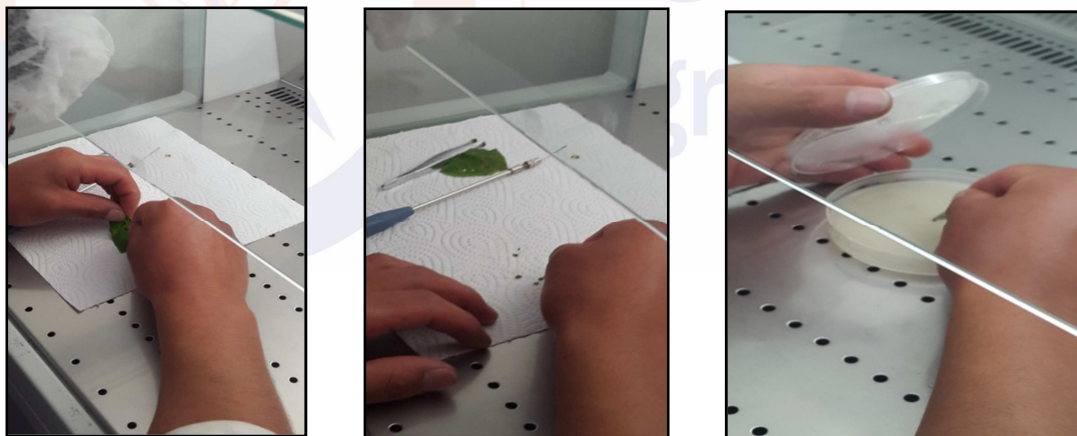


Paso 5

Siembra

La siembra se realiza en las cajas Petri en donde se encuentra el medio de cultivo PDA (la misma que se realiza tomando pequeños segmentos de (hojas) con la presencia del hongo (*Cercospora beticola*), esta actividad se realiza dentro de la cámara de flujo laminar para evitar la contaminación del medio de cultivo durante la siembra, utilizando materiales desinfectados como bisturí, pinzas, aza de siembra, y mecheros.

Una vez sembradas las muestras se procede a tapar y sellar las cajas Petri con parafilm y luego son colocadas en la incubadora, a una temperatura a 25°C la que infiere para la proliferación del hongo fitopatógeno (*Cercospora beticola*).



6. Identificación

Observación microscópica

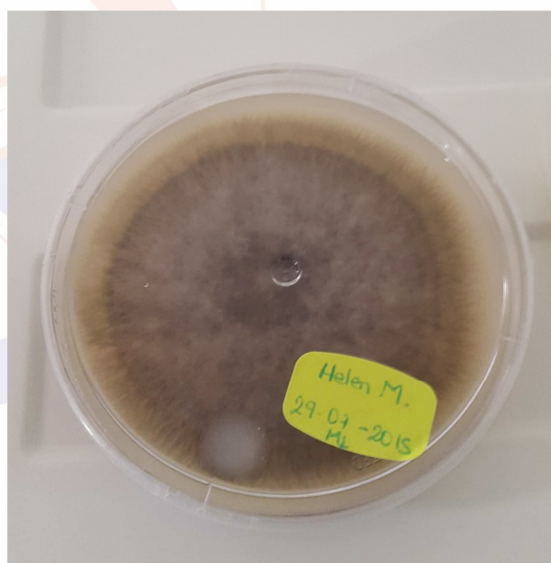
Técnica de cinta pegante: Se realizó un doblar de una tira de cinta de 4 cm, con el lado adhesivo hacia fuera y se sostuvo con una pinza. Con el lado adhesivo tome con mucho cuidado una pequeña muestra de la colonia del hongo (*Cercospora beticola*) coloque una gota de agua destilada sobre el portaobjetos 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



7. Caracterización

Se obtiene un cultivo en las cajas petri totalmente limpio con la presencia del hongo que se busca (*Cercospora beticola*) mismo que será útil para el desarrollo de la investigación, se procedió a realizar las suficientes placas y ser observadas en el microscopio, se trata de ir tomando foto tras foto con la cámara integrada en el microscopio, o para una mayor eficacia directamente con la cámara digital.



BLOQUE II. RESULTADOS

Observación del hongo en el microscopio

Micelio

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

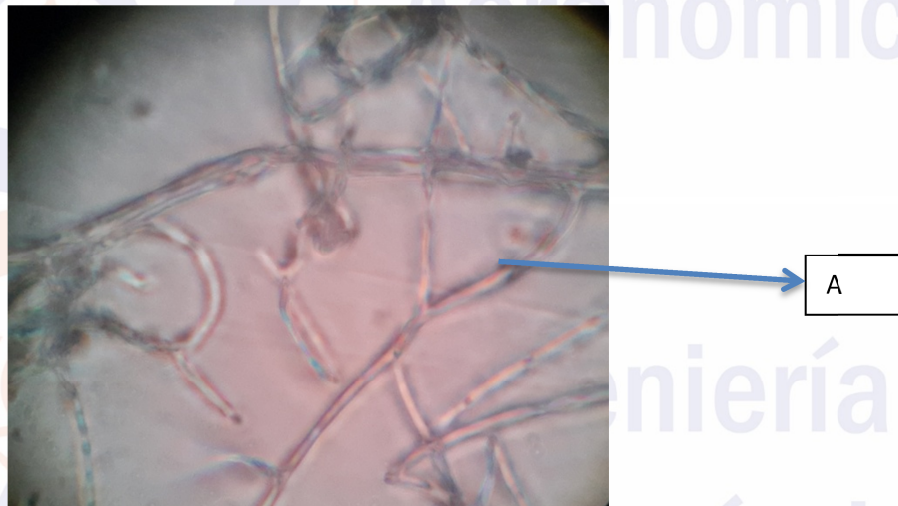


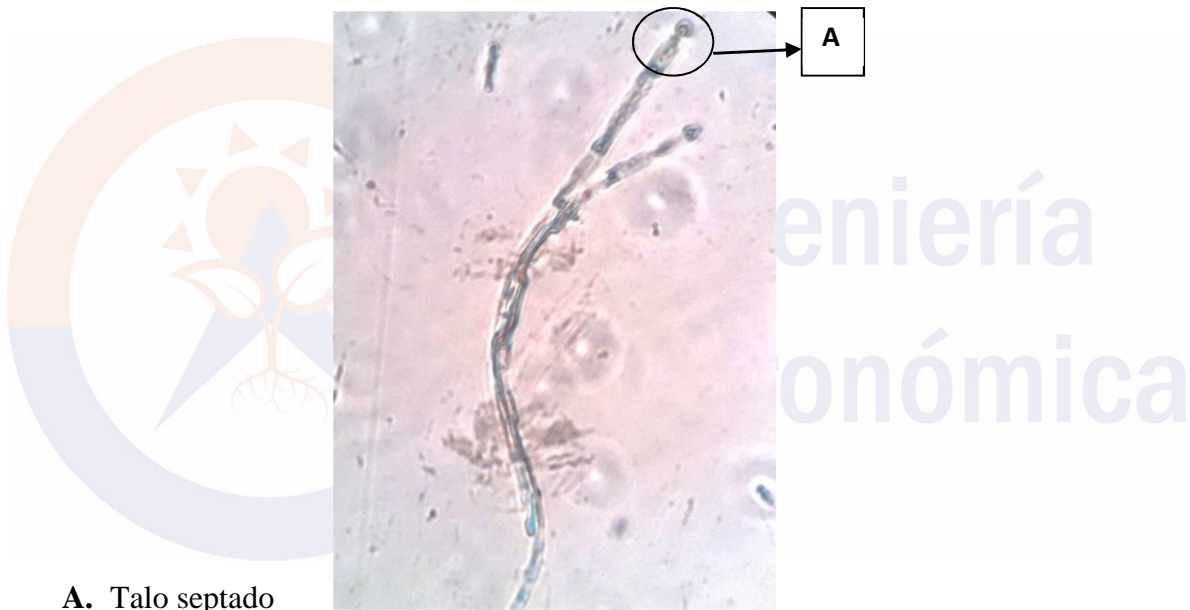
Foto. A. Micelio, Unión de Hifas

Tomada: por el investigador

El micelio es la masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo de un hongo. Dependiendo de su crecimiento se clasifican en reproductores (aéreos) o 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, 1995)

Talo

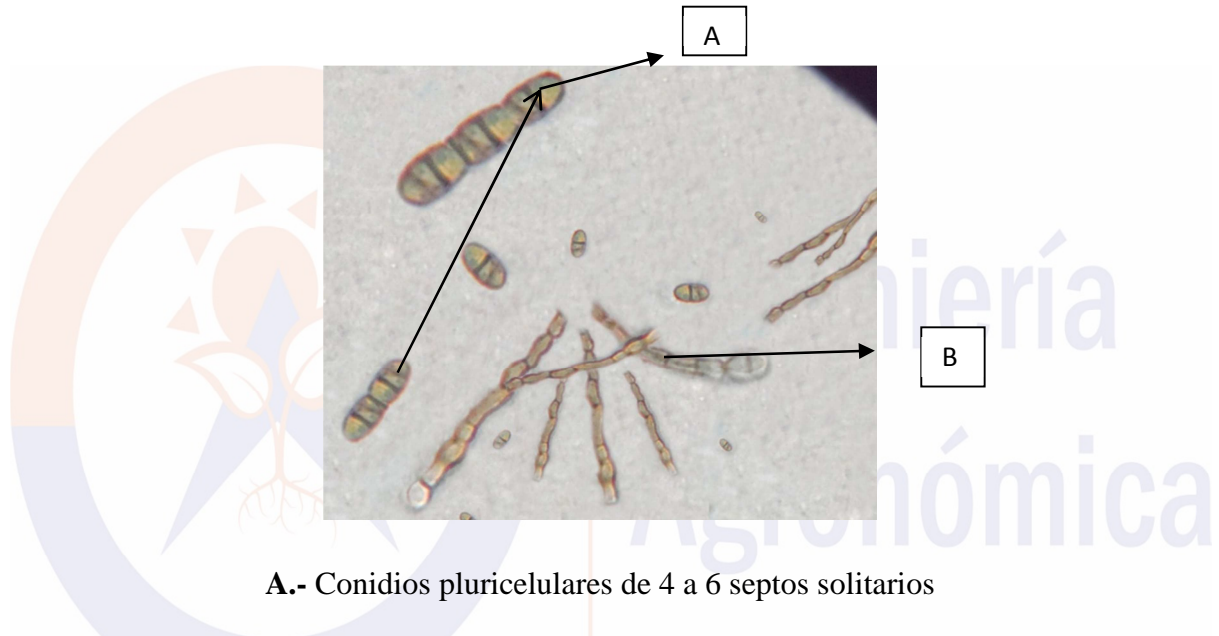
En la imagen se puede observar el micelio de (*Cercospora beticola*) obtenido en laboratorio en medio de cultivo de PDA la imagen fue obtenida con ayuda de un microscopio con el lente de 100 x con intensidad de luz de 5



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.- Conidios pluricelulares de 4 a 6 septos solitarios

B.- Conidióforos septado

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. (HARVESON, 1986)

Los conidios se desprenden fácilmente y son movilizados por el viento. Como consecuencia de su tamaño y forma no se alejan más de 100 metros. A grandes distancias, entre diferentes regiones, por medio de semillas (KOITE, 2007)

**MATERIAL DE CONSULTA
SUGERIDA**

AGRIOS, G. (1995). *Fitopatología 2 ed.* Mexico: LIMUSA.

CRUZ, R. (2004). *La defensa de las plantas cultivadas, tratado practico de fitopatología y soología agrícola* .Barcelona : Omega.

HAVERSON, R. M. (1986). *Harveso Compendium of beet diseases and insects*. San Diego: APS Press. St. Paul, Minn. 76 pp.

KIMATI, H. A. (1997). *Manual de Fitopatología* . Sau Paulo : CERES LTDA.

KOITE, S., & GLADDERS, P. &. (24 de julio de 2007). *Patología Vegetal*. Recuperado el 04 de noviembre de 2015, de Patología Vegetal: http://www.patologiavegetal.unlu.edu.ar/?q=node/19#Viruela_de_la_ancelga

MARROTO, J. (1995). *Horticultura herbacea especial*. Madrid: Ed.Mundi-Prensa.

GAUSSEN , Z. (2004). *hongos fitopatogenos*. Sevilla: Ed. Zoilo Serrano Cermeño.

Weiland J. & Koch, J. .. (2004). (*Cercospora beticola Sacc.*) *Molecular Plant Pathology* .Vaticano : alianza .