

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI



UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
RECURSOS NATURALES

CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA

TESIS DE GRADO

TÍTULO:

**"CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS PRINCIPALES  
HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE REMOLACHA (*Beta  
vulgaris* L.), PARROQUIA SAN BUENAVENTURA COTOPAXI." 2014.**

Tesis de grado presentado previo a la obtención del Título de **Ingeniero  
Agrónomo**

**Autor:**

Sr. Francisco Rubén Anchatipan Villacis

**Director:**

Ing. Mg. Francisco Chancusig

**Latacunga – Ecuador**

**2016**



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
RECURSOS NATURALES

Latacunga – Ecuador

---

## AUTORÍA

Los criterios emitidos en el presente trabajo de investigación “**CARECTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE REMOLACHA (*Beta vulgaris L.*), PARROQUIA SAN BUENAVENTURA COTOPAXI.**” 2014., son de exclusiva responsabilidad del autor.

.....  
Anchatipan Villacis Francisco Rubén

C.I. 050349200-1



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y**  
**RECURSOS NATURALES**  
**Latacunga – Ecuador**

---

**AVAL DE DIRECTOR DE TESIS**

En calidad de Director del Trabajo de Investigación sobre el tema: “**CARECTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE REMOLACHA (*Beta vulgaris L.*), PARROQUIA SAN BUENAVENTURA COTOPAXI.**” 2014., de Anchatipan Villacis Francisco Villacis , 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.Mg Francisco Chancusig



**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: “ **CARECTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE REMOLACHA (*Beta vulgaris L.*), PARROQUIA SAN BUENAVENTURA COTOPAXI.**” 2014 de autoría del egresado Francisco Ruben Anchatipan Villacis, CERTIFICAMOS que se ha realizado las respectivas revisiones, correcciones y aprobaciones al presente documento.

.....  
Ing. Mg. Francisco Chancusig  
DIRECTOR DE TESIS

.....  
Ing. Paolo Chasi  
PRESIDENTE

.....  
Ing. Mg. Guadalupe López  
OPOSITORA

.....  
Ing. Mg. Fabián Troya  
MIEMBRO

## **DEDICATORIA**

Esta Tesis le dedico principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional, y a mis padres que han sido un pilar fundamental, para poder culminar mi carrera ya que ellos siempre han estado presentes para apoyarme moral y psicológicamente, aportando con su comprensión y apoyo en el proceso de mi formación.

Francisco Rubén Anchatipan Villacis

## AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

A mi madre y a mi padre que me han enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada y siempre perseverar a través de sus sabios consejos.

A mis hermanos y a mi pequeño Elián por siempre estar a mi lado dándome ánimos para seguía delante en mi carrera.

A mi director de Tesis Ing. Francisco Chancusig que a través de sus conocimientos me supo transmitir el conocimiento necesario, que me sirvió de inspiración para realizar este proyecto.

También agradecer a todos mis profesores durante toda mi carrera profesional quienes aportaron sus conocimientos para mi formación, y en especial a mis profesores Ing. Paolo Chasi, Ing. Guadalupe López, Ing. Fabián Troya por su apoyo y consejos, su enseñanza y por su amistad brindada en mi vida estudiantil.

Francisco Rubén Anchatipan Villacis

## INDICE GENERAL

AUTORÍA.....	ii
AVAL DE DIRECTOR DE TESIS.....	iii
AVAL DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL.....	iv
DEDICATORIA .....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
RESUMEN.....	1
SUMARY.....	2
INTRODUCCION.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	5
OBJETIVO.....	6
GENERAL.....	6
ESPECÍFICO.....	6
PREGUNTAS DIRECTRICES.....	7
CAPITULO I.....	8
1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	8
1.1. REMOLACHA ( <i>Beta vulgaris</i> L.).....	8
1.2. HONGOS FITOPATOGENOS.....	9
1.3. ENFERMEDADES DE INTERÉS COMERCIAL DEL CULTIVO DE REMOLACHA.....	11
1.3.1 <i>Cercospora</i> ( <i>Cercospora beticola</i> ).....	11
1.4 MEDIOS DE CULTIVO.....	17
1.4.1 AGAR PAPA DEXTROSA (PDA).....	17

1.4.2 AGAR PAPA SACAROSA ACIDIFICADO (APSA) .....	17
1.5. CONDICIONES QUE DEBE REUNIR UN MEDIO DE CULTIVO .....	17
1.6. DISPONIBILIDAD DE NUTRIENTES EN LOS MEDIOS DE CULTIVO.....	18
CAPITULO II.....	19
2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN .....	19
2.1. Materiales .....	19
2.1.1. Recursos Institucionales .....	19
2.1.2. Recursos humanos.....	19
2.1.3. Recursos Tecnológicos.....	19
3. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES.....	22
4. DISEÑO METODOLÓGICO .....	23
4.1. Tipo de investigación .....	23
4.2. Método .....	23
4.2.3 Métodos lógicos.....	23
4.2.4. Técnicas.....	24
4.3. MANEJO DEL ENSAYO .....	24
4.3.3. Delimitación del Lugar de Recolección .....	24
4.3.4. DELIMITACION DEL LUGAR DEL LABORATORIO .....	26
4.3.5. Toma de Muestras .....	27
4.3.6. Procedimiento en la Toma de Muestras .....	27
4.3.7 Almacenamiento .....	27
4.3.8. Identificación de la muestra en laboratorio previa a la siembra .....	27
4.3.9. Elaboración del medio de cultivo.....	28
4.3.10. Siembra.....	29
4.3.11. Identificación .....	30



Descripción.....	31
5. RESULTADO Y DISCUSIÓN .....	32
5.1. Identificación de síntomas y signos de la Cercospora ( <i>Cercospora beticola</i> ) en el cultivo de la Remolacha ( <i>Beta vulgaris L.</i> ) .....	33
5.5.1. SINTOMAS .....	33
5.5.2. SIGNOS.....	34
5.6. Caracterización de Macro y Micro estructuras del Patógeno ( <i>Cercospora beticola</i> ) en el cultivo de Remolacha.....	38
5.3. Descripción del ciclo de vida del Patógeno en Condiciones de laboratorio ..	42
CONCLUSIONES .....	44
RECOMENDACIONES .....	45
GLOSARIO TECNICO .....	63
BIBLIOGRAFIA .....	65
ANEXOS.....	70

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla1.</b> Clasificación Taxonómica de la Remolacha.....	8
<b>Tabla 2.</b> Clasificación taxonómica del hongo fitoptogeno ( Cercospora beticola) ...	14
<b>Tabla 3.</b> Operalización de variables.....	22
<b>Tabla 4.</b> Ciclo de vida del patógeno .....	42

## INDICE DE IMÁGENES

<b>Ilustración 1.</b> (Cercospora beticola) .....	11
<b>Ilustración 2.</b> Ciclo de vida de Cercospora beticola.....	16
<b>Ilustración 3.</b> Zona de recolección de la muestra.....	25
<b>Ilustración 4.</b> Lugar donde se realizó la practica .....	26
<b>Ilustración 5.</b> Sintomas (Cercospora beticola).....	33
<b>Ilustración 6.</b> Sintomas (Cercospora beticola) en campo .....	34
<b>Ilustración 7.</b> Conidioforo y Conidio .....	35
<b>Ilustración 8.</b> Producción de micelio en laboratorio .....	36
<b>Ilustración 9.</b> Hifas y Micelio .....	36
<b>Ilustración 10.</b> Conidios y Conidióforos .....	37
<b>Ilustración 11 .</b> Hifas .....	38
<b>Ilustración 12.</b> Micelio .....	39
<b>Ilustración 13.</b> Conidios.....	40
<b>Ilustración 14.</b> Conidios y Conidióforos .....	41

## **INDICE DE ANEXOS**

<b>Anexo 1</b> Costos .....	70
<b>Anexo 2</b> .Preparación del medio de cultivo .....	72
<b>Anexo 3</b> .Muestra de planta de Remolacha y Placas con muestras.....	76
<b>Anexo 4</b> .Cajas Petri con el medio de cultivo y con la presencia de medio de micelio en el transcurso de horas.....	77
<b>Anexo 5</b> .Materiales y equipos de laboratorio .....	78
<b>Anexo 6</b> .Guía Didáctica.....	79

## RESUMEN

La presente investigación tubo como tema principal la caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de Remolacha (*Beta vulgaris L.*), en el sector de San Buenaventura- Cotopaxi 2014. Misma que se realizó en el laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi ubicada en la parroquia Eloy Alfaro, Cantón Latacunga, Provincia Cotopaxi, el cual tuvo como objetivo principal caracterizar morfológicamente el hongo fitopatógeno que causa mayor impacto de producción en el cultivo de Remolacha (*Beta vulgaris L.*), en el sector de San Buenaventura, cantón Latacunga de la provincia de Cotopaxi. Se plantearon los siguientes objetivos específicos: Determinar el hongo Fitopatógeno de mayor impacto en la producción del cultivo. Identificar signos y síntomas del hongo de mayor impacto de la Remolacha (*Beta vulgaris L.*) 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 la caracterización morfológica del hongo en estudio.

Se realizó mediante técnicas de aislamiento en laboratorio y la observación posterior del hongo en el Microscopio Trilocular CX31, para poder diferenciar sus partes para luego ratificar con la bibliografía existente. La técnica empleada fue la observación directa comparándola con la fuente citada, permitiéndonos con esto realizar la caracterización de macro y micro estructuras como: talo, micelio, conidióforos, conidios, llegando a obtener fotografías digitales, las mismas con ayuda de claves taxonómicas existentes se logró ratificar la presencia del agente causal que es *Cercospora beticola*, se pudo describir su ciclo de vida en condiciones controladas realizando la siembra y el aislamiento del patógeno en cajas Petri en un medio de cultivo de papa - destroza – agar, con la duración de 24 horas a una temperatura de 25°C en una cámara de incubación. El resultado de esta investigación ha sido consolidado en una guía didáctica de las características morfológicas del hongo en estudio para difundir los resultados obtenidos.

## SUMMARY

This research has as its main theme the morphological characterization of plant pathogenic fungi in the cultivation of beet (*Beta vulgaris* L.), in the area of San Buenaventura 2014. Same Cotopaxi held in the laboratory of the Technical University located in Cotopaxi Eloy Alfaro Parish, Canton Latacunga, Cotopaxi Province, which had as its main objective characterize morphologically the phytopathogenic fungus that causes most impact production in the cultivation of beet (*Beta vulgaris* L.), in the area of San Buenaventura, Canton Latacunga Cotopaxi province. The following specific objectives were to: determine the phytopathogenic fungus greatest impact on crop production. Identify signs and symptoms of the fungus with the greatest impact from beet (*Beta vulgaris* L.) in field. Macro and micro structures characterize the pathogen. Describe the life cycle of the pathogen in laboratory conditions. Develop a tutorial of the morphological characterization of the fungus under study.

It was performed by laboratory isolation techniques and subsequent observation of the fungus in the trilocular Microscope CX31, to differentiate parts and then ratify the literature. The technique used was direct observation compared with the cited source, allowing us to make this characterization of macro and micro structures as talo, mycelium, conidiophores, conidia, obtaining digital photographs, using the same existing taxonomic keys are managed confirm the presence of the causative agent is beticola *Cercospora*, he could describe its life cycle under controlled conditions making sowing and isolation of the pathogen in Petri dishes in a culture medium potato - takes - agar, with the duration of 24 hours at a temperature of 25 ° C in an incubation chamber. The result of this research has been consolidated into a tutorial of the morphological characteristics of the fungus studied in disseminating the results obtained.

## INTRODUCCION

Los principales productores de Remolacha (*Beta vulgaris L.*), en el mundo son Rusia, Francia, Estados Unidos, Polonia e Italia. Canadá y México son países que tienen una producción importante del 60% lo cual distribuyen a diferentes países para ser consumidos en frescas, mientras que a nivel de la provincia de Cotopaxi y a nivel nacional la variedad de Remolacha (*Beta vulgaris L.*), se encuentra en una escasa producción ya que se ve opacada por el mal aprovechamiento de los suelos y por el desconocimiento de los beneficios para la salud. (SICA, 2012)

En la agricultura mundial los hongos fitopatógenos son causantes de enfermedades de pre y poscosecha en los cultivos de hortalizas, cereales y frutas, siendo estos responsables de pérdidas económicas cuantiosas; el daño que ocasiona no solo se refiere a las pérdidas de producción económica, sino también a las pérdidas en la producción biológica, es decir, a la alteración que existe en el crecimiento y desarrollo de las plantas hospedantes atacadas por estos microorganismos. (AGRIOS, 2008).

La baja efectividad en la identificación y control de organismos fitopatógenos de la Remolacha (*Beta vulgaris L.*) se presenta por el desconocimiento de los productores y agricultores de la etiología de dicho organismos, como sus características morfológicas y su comportamiento en si en el pato sistema lo cual ha provocado el uso incorrecto de las formulaciones químicas o moléculas existentes en el mercado para el control de plagas.

Los patógenos más importantes que causan elevadas pérdidas de frutas y hortalizas son normalmente bacterias y los hongos sin embargo, con mayor frecuencia son especies de hongos las causantes del deterioro patológico de frutas, hojas, tallos, y productos subterráneos (raíces, tubérculos, cormos, etc.) (FHIA, 2007)

Entre estos problemas fitosanitarios, de *Cercospora beticola*) disminuye la producción en la zona, enfocados en nuestro país y siendo más

específico en el callejón interandino se observa que esta enfermedad es uno de los principales problemas que aquejan a pequeños y medianos agricultores, que para controlar y enfrentar dicha enfermedad enfocan gran parte de sus recursos sin obtener buenos resultados debido al desconocimiento y confusión que existe con esta enfermedad, llegando a confundírselas muchas veces con problemas ocasionados con patógenos, gastando recursos económicos en forma innecesaria que a más de traer problemas de salud tanto para los productores como para los consumidores ya que el uso inadecuado e indiscriminado de fungicidas contaminan a las plantas y al ambiente



## JUSTIFICACIÓN

La falta de información sobre los hongos fitopatógenos y los altos porcentajes en pérdidas en las cosechas provocadas por el ataque de enfermedades que causan problemas a los agricultores del sector de San Buenaventura, razón por la cual se debe encontrar a los agentes causales de las enfermedades para dar alternativa en el manejo de enfermedades causadas por los hongos en este cultivo de Remolacha (*Beta vulgaris L.*).

La mayoría de los agricultores de no poseer la suficiente información sobre los distintos hongos fitopatógenos que atacan al cultivo de Remolacha (*Beta vulgaris L.*) cometen una serie de confusiones y de errores al aplicar distintos productos sobre su cultivo sin resultado alguno y por ende no les permite mejorar la producción.

La presente investigación tiene como objetivo “Identificar el hongo fitopatógeno en el cultivo de Remolacha (*Beta vulgaris L.*) en el sector de San Buenaventura” pretende brindar una base de información que servirá al agricultor para tomar decisiones adecuadas y tener una guía para el control de enfermedades producidas por hongos fitopatógenos que permita reducir los costos de producción e incrementar la producción, obtener un producto de calidad y aumentar sus ingresos económicos.

La investigación también puede servir para futuros proyectos del control de este hongo fitopatógeno *Cercospora* (*Cercospora beticola*) y contribuir a la realización de plantas de manejo de enfermedades en el sector de San Buenaventura.

## **OBJETIVO**

### **GENERAL**

Caracterizar morfológicamente el hongo fitopatógeno que causa mayor impacto en la producción en el cultivo de Remolacha (*Beta vulgaris L.*), Parroquia San Buenaventura. Cotopaxi. 2014.

### **ESPECÍFICO**

- Determinar el hongo Fitopatógeno de mayor impacto en la producción del cultivo.
- Identificar signos y síntomas del hongo de mayor impacto de la Remolacha (*Beta vulgaris L.*) 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 la caracterización morfológica del hongo en estudio.

## **PREGUNTAS DIRECTRICES**

- ¿Se reconoció signos y síntomas de los hongos fitopatógenos en el cultivo de Remolacha (*Beta vulgaris L*) en base a la observación realizada?
- ¿Cuál es el principal hongos fitopatógenos de mayor impacto económico que afecta a la Remolacha (*Beta vulgaris L*) en el sector de San Buenaventura?
- ¿Cuáles son las características del hongo fitopatógenos encontrado?

# CAPITULO I

## 1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.

### 1.1. REMOLACHA (*Beta vulgaris* L.)

#### 1.1.1. Origen

Su ancestro crecía en forma salvaje en la costa sur de Inglaterra, pasando por Europa y Asia hasta la India Occidental. Se cultiva en todo el mundo para la alimentación humana, pero los grandes cultivos para la explotación de la industria azucarera se encuentran en Rusia, Polonia, Francia, Alemania, Turquía, Estados Unidos y Canadá. (INFOAGRO.2006).

#### 1.1.2. Clasificación taxonómica

**Tabla1.** Clasificación Taxonómica de la Remolacha

<b>Reino:</b>	Plantae
<b>División:</b>	Magnoliophyta
<b>Clase:</b>	Magnoliopsida
<b>Orden:</b>	Caryophyllales
<b>Familia:</b>	Amaranthaceae
<b>Subfamilia:</b>	Chenopodioideae
<b>Genero:</b>	<i>Beta</i>
<b>Especie:</b>	<i>Beta vulgaris</i>

**Fuente:** (LINNEO, 2000)

### 1.1.3. Características Botánicas

La remolacha azucarera es una planta bianual perteneciente a la familia *Quenopodiaceae* y cuyo nombre botánico es *Beta vulgaris* L.

Durante el primer año la remolacha azucarera desarrolla una gruesa raíz napiforme y una roseta de hojas, durante el segundo, emite una inflorescencia ramificada en panícula, pudiendo alcanzar ésta hasta un metro de altura.

**-Flores:** poco llamativas y hermafroditas. La fecundación es generalmente cruzada, porque sus órganos masculinos y femeninos maduran en épocas diferentes.

**-Raíz:** es pivotante, casi totalmente enterrada, de piel-amarillo verdosa y rugosa al tacto, constituyendo la parte más importante del órgano acumulador de reservas.

**-Semillas:** estas adheridas al cáliz y son algo leñosas. (CARRANCO, 2001).

## 1.2. HONGOS FITOPATOGENOS

Manifiesta que los biólogos utilizan el término hongo para incluir organismos eucarióticos, esporógenos, sin clorofila. (HERRERA, 1994)

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

Los hongos son organismos filamentosos simples, no tienen clorofila y dependen de una planta hospedera para obtener su alimento. Son más grandes que las bacterias y se identifican con mayor facilidad, algunas de las estructuras que producen se pueden ver a simple vista y sirven en su identificación.

## **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)

## **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.

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.

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, 1994)

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 (se traslocan por el interior de la planta). Las principales enfermedades causadas por hongos son mildius, oídios, royas y carbones.

### **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 simbiontes facultativos, creciendo tanto libres como asociados a plantas, y otros son simbiontes obligados, creciendo sólo si están asociados a plantas. (HERRERA, 1994)

## **1.3. ENFERMEDADES DE INTERÉS COMERCIAL DEL CULTIVO DE REMOLACHA.**

### **1.3.1 Cercospora (*Cercospora beticola*).**

#### **Ilustración 1(Cercospora beticola)**



### **1.3.1.1. Ciclo de vida del hongo fitopatógeno**

Su peligrosidad siempre es dañina, ya que es la enfermedad más destructiva en la zona del cultivo de Remolacha, debido a la rapidez con que puede diseminarse por el aire, a su capacidad reproductiva y a la gran virulencia que caracteriza a *Cercospora*. (GONZALEZ, 2011)

### **1.3.1.2. Descripción del patógeno**

- *Cercospora beticola* es el organismo que causa la viruela.
- Micelio tabicado
- Conidios hialinos de aciculares rectos o algo curvados con ápice agudo y base truncada.
- Producen numerosos conidios, los cuales son diseminados por el viento

### **1.3.1.3. Síntomas**

El síntoma característico de *Cercospora* es la aparición sobre el limbo de numerosas manchas pequeñas, redondeadas, marrones claras, a veces rodeadas de un halo marrón oscuro o rojizo.

Al avanzar la enfermedad las manchas se juntan y acaban provocando la desecación total de las hojas infectadas. Con tiempo húmedo, aparecen dentro de las manchas puntuaciones negras y una ligera masa algodonosa grisácea, que son los órganos multiplicadores. Cuando el ataque es fuerte se produce una importante defoliación. La planta entonces emite nuevos brotes foliares que pueden ser también destruidos.

El hongo sobrevive en residuos vegetales, lo que constituye la principal fuente de inóculo primario para nuevas infecciones. En condiciones húmedas se forman nuevas esporas que se extienden por el viento y las salpicaduras de la lluvia, germinan sobre las hojas y penetran en el interior. (GONZALEZ, 2011)



#### **1.3.1.4 Condiciones Favorables**

El hongo que provoca es una enfermedad que afecta a las hojas más viejas para pasar progresivamente a las más jóvenes de la planta. Las hojas severamente afectadas pueden researse, morir y caer aunque generalmente se mantienen adheridas a la misma. Se ve favorecida por temperaturas de 25°C a 35°C por el día y temperatura por encima de las 16°C por la noche con largos períodos de humedad relativa de 90% a 95% o de humectación de la hoja. (GONZALEZ, 2011)

#### **1.3.2.5. Manejo de la enfermedad**

El suelo libre de nematodos así como evitar la rotura de raíces al laboreo el suelo contribuirá a mantener la salinidad del cultivo. Las plantas enfermas deben eliminarse lo más pronto posible a efectos de reducir el inoculo. (GONZALEZ, 2011)

#### **1.3.2.6. Control**

**Prevención:** La rotación de cultivos durante 3 años te ayudará a prevenir la reinfestación del hongo Cercospora. Por otro lado, considera reducir al mínimo el riego por aspersión, especialmente en condiciones ambientales húmedas, y no olvides enterrar profundamente los residuos de las cosechas para así reducir las opciones de refugio para la Cercospora durante el invierno. Los lechos domésticos deben limpiarse de malezas con frecuencia para limitar las posibilidades de albergar portadores de Cercospora y el riego debería aplicarse directamente a las raíces de las plantas en las horas tempranas de la mañana, siempre que sea posible. La enfermedad por Cercospora en los céspedes se puede prevenir mediante el uso de una mezcla equilibrada de fertilizantes con nitrógeno y potasio y regando en las horas tempranas de la mañana sólo durante los días secos. (GONZALEZ, 2011)

**Químico:** Para un control efectivo es crítico el momento de aplicación de los fungicidas a la aparición de la primera mancha y repetir las aplicaciones cada 21 días.

Spyrale: Es un fungicida a base de dos sustancias activas, Difenoconazol y Fenpropidin, con acción preventiva y curativa. La mezcla de ambas sustancias activas actúa contra las enfermedades causadas por *Cercospora*, oídio y roya, que son de gran importancia económica en el cultivo de la remolacha. (BILBAO, 2013)

### 1.3.1.7. Clasificación taxonómica del hongo Fitopatógeno ( *Cercospora beticola* )

**Tabla 2.** Clasificación taxonómica del hongo fitopatógeno ( *Cercospora beticola* )

<b>Reino:</b>	Fungi
<b>Phylum :</b>	Ascomycota.
<b>Clase:</b>	Dothideomycetes.
<b>Orden:</b>	Capnodiales.
<b>Familia:</b>	Mycosphaerellaceae.
<b>Género:</b>	<i>Cercospora</i>
<b>Especie:</b>	<i>beticola</i>

**FUENTE:** (GARCIA, 2011)

#### 1.3.1.7.1. *Cercospora beticola*

*Cercospora beticola* son conidios que producirán las conidióforos encargadas, a modo de pequeñas semillas, de extender la enfermedad a otras hojas de la misma o de otra planta. La germinación de las conidios sobre la hoja está condicionada por varios factores, siendo los más importantes: temperatura y humedad .Las

condiciones óptimas para la germinación de las 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 las conidias. Por encima de 35°C y por debajo de 13°C no germina ninguna conidia, cualquiera que sea la humedad ambiente. (GONZALEZ A. , 2009)

#### **1.3.1.7.2. Reproducción de *Cercospora beticola***

La reproducción principal de este hongo en condiciones de nuestro clima, es asexual, mediante conidios, estos son alargados, acirculares, hialinos y claramente tabicados y aparecen por el envés de la hoja.

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 las conidios. Por encima de 35°C y por debajo de 13°C no germina ninguna conidio, cualquiera que sea la humedad ambiente.

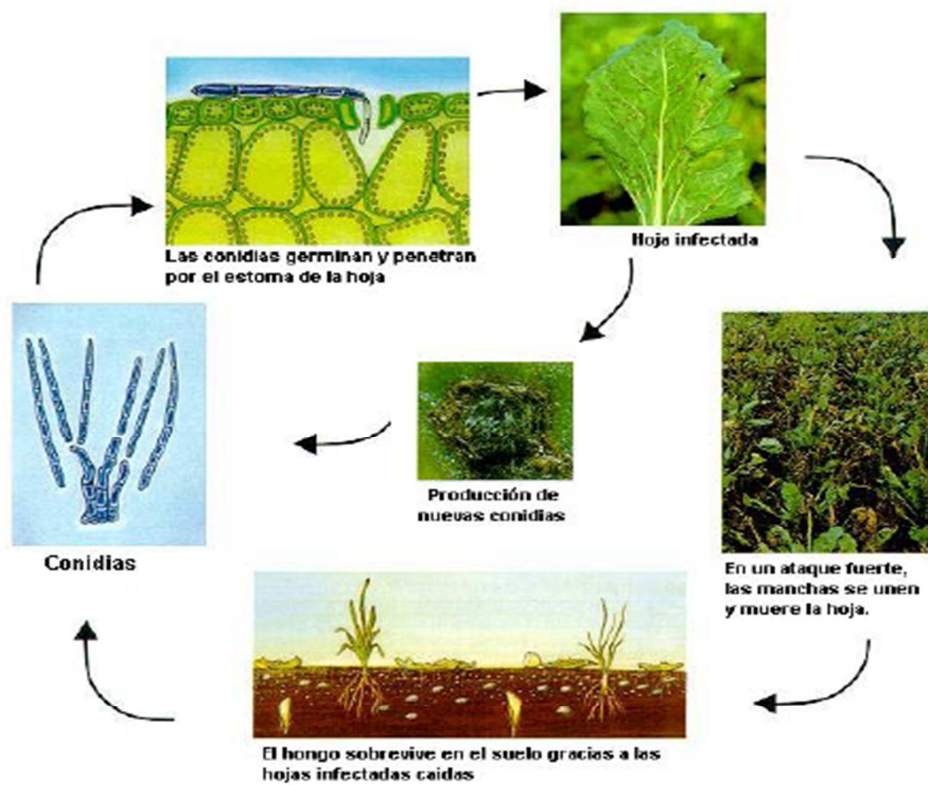
Una vez dentro de la hoja, el primitivo filamento se ramifica varias veces, extendiéndose por toda ella. La actividad dentro de la hoja está completamente regulada por la temperatura, no teniendo ya tanta importancia la humedad. Unos días después se empiezan a ver las primeras manchitas, que marcan la aparición de los síntomas externos de la enfermedad. Al tiempo transcurrido desde que el filamento penetró por la estoma hasta la aparición de las primeras manchas y conidios en las hojas se conoce con el nombre de fase de incubación.

La mínima duración de esta fase, es decir, el óptimo para el desarrollo del hongo y producción de conidios, corresponde a una temperatura comprendida entre 26° y

32°C, con un 60% de humedad relativa. Cuando estas condiciones se mantienen, bastan veinte horas para que aparezcan las primeras manchas con conidios en las hojas. A 20 °C, también constante, el tiempo necesario es de doce a catorce días.

Las condiciones atmosféricas adversas no ejercen marcada influencia sobre la vitalidad del hongo. El microorganismo entra en una fase de reposo del que sale en cuanto mejoran, en su favor, y renueva seguidamente la producción de conidios. Los restos de micelio que quedan en el interior de las hojas muertas y secas también se inactivan, pero vuelven con rapidez a desarrollarse cuando las condiciones son favorables. (ALVARADO, 2000)

**Ilustración 2.** Ciclo de vida de *Cercospora beticola*



**Fuente:** (ALVARADO, 2000)

En resumen, 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.

## **1.4 MEDIOS DE CULTIVO**

### **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. (MONDIDO, 2009)

### **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. (MONDIDO, 2009)

## **1.5. CONDICIONES QUE DEBE REUNIR UN MEDIO DE CULTIVO**

Para que los microorganismos crezcan adecuadamente, un medio de cultivo artificial debe reunir una serie de condiciones: contener los nutrientes y factores de crecimiento necesarios disponer de oxígeno, temperatura adecuada, humedad, pH. Exento de microorganismos contaminantes. (MONDIDO, 2009)

## **1.6. DISPONIBILIDAD DE NUTRIENTES EN LOS MEDIOS DE CULTIVO.**

Un medio de cultivo para que permita el crecimiento adecuado de microorganismos debe contener como mínimo: Carbono, Nitrógeno, Azufre, Fósforo, Sales inorgánicas que suplan iones (K, Mg, Fe, Ca, etc.).

Estos nutrientes generalmente se aportan con Extracto de malta, Peptona, Papa, extracto de levadura, etc. (MONDIDO, 2009)

## **CAPITULO II**

### **2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **2.1. Materiales**

##### **2.1.1. Recursos Institucionales**

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

##### **2.1.2. Recursos humanos**

- Autor: Anchatipan Villacis Francisco Rubén
- Director de Tesis: Mg. Francisco Chancusig
- Miembros del Tribunal:
  - Ing. Paolo Chasi
  - Ing. Mg. Guadalupe López
  - Ing. Mg. Fabián Troya

##### **2.1.3. Recursos Tecnológicos**

###### **2.1.3.1. Equipos**

- Cámara de crecimiento o incubadora
- Balanza de precisión
- Estufa de 2 quemadores

- Microscopio
- Refrigeradora
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Cuenta colonias
- Microondas
- Cámara húmeda

### **2.1.3.2. 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
- Algodón
- Fundas ziplog
- Cinta adhesiva transparente
- Pinzas
- Bisturí
- Tijeras



- Cuchillo
- Estilete
- Colador
- Olla
- Fosforera
- Cucharas plásticas
- Pirutines
- Agitador
- Ph metros

#### **2.1.3.3. Material de Aseo**

- Pala para basura
- Escoba
- Lavacaras
- Lava
- Trapeadores
- Detergente
- Limpiones
- Cepillos
- Escobillas de laboratorio
- Desinfectantes

#### **2.1.3.4. Reactivos**

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

#### **2.1.3.5. Materiales de campo**

- Recolección del hongo Fitopatógeno en el cultivo de la Remolacha (*Beta vulgaris L.*)
- Tijeras
- Fundas de Papel
- Fundas de ziplop
- Bisturí
- Cámara
- GPS
- Libro de Campo

#### 2.1.3.6. Materiales de Oficina

- Computadora
- Internet
- Flash Memory
- Impresora

### 3. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Tabla 3. Operalización de variables

CONSEPTUALIZACION	INDICADOR	INDICE	TECNICAS	INSTRUMENTO
CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE HONGOS FITOPATOGENOS EN EL CULTIVO DE REMOLACHA	TALO	TIPO	OBSERVACION	MICROSCOPIO
	HIFAS	TIPO		
	CONIDIOS	TIPO		
	REPRODUCCION	TIPO		

**Realizado:** Por el investigador

## **4. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **4.1. Tipo de investigación**

La metodología descriptiva puntualiza como se ocasionaron los fenómenos a investigar, se ocupa de la descripción de datos y características de una población.

Esta investigación se realizó dentro del tipo descriptiva, Porque para su desarrollo y avance de la investigación necesita ser descrito sigilosamente, la misma que me permitió recopilar información de la característica morfológica que presenta el Hongo Fitopatógeno *Cercospora* (*Cercospora beticola*). Además de ser descriptiva por los resultados que serán procesados y colocados de tal modo que se pueden analizar, discutir y puntualizar el desarrollo conjuntamente con el avance del ciclo vital de dicho hongo, evaluando aspectos relevantes que ayudaron a desarrollar la investigación.

### **4.2. Método**

#### **4.2.3 Métodos lógicos**

##### **4.2.3.1. Método descriptivo analítico**

Utilice este método en esta investigación porque describí el ciclo de vida del hongo determinado de mayor impacto a la producción del cultivo de Remolacha (*Beta vulgaris L.*), esta descripción se realizara a condiciones de laboratorio.

##### **4.2.3.2. Método deductivo**

Es aquel que parte de hechos o fenómenos generales que permite establecer conclusiones o consecuencias en las que se busca casos particulares sobre la cual se basa una afirmación.

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

#### **4.2.3.3. 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; es comparando los casos en que están simultáneamente presentes o ausentes y buscando si las variaciones que presentaron en estas diferentes combinaciones de circunstancias prueban que uno depende del otro.

#### **4.2.4. Técnicas**

##### **4.2.4.1. 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 permitió conocer la realidad en la que se desarrolló el Hongo Fitopatógeno *Cercospora* (*Cercospora beticola*), además permitió observar macro y micro estructuras del patógeno. Como instrumento se utilizó el microscopio.

##### **4.2.4.2. Fichaje**

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* (*Cercospora beticola*), con el cual se pudo cumplir cada actividad establecida.

### **4.3. MANEJO DEL ENSAYO**

#### **4.3.3. Delimitación del Lugar de Recolección**

Las muestras se recolectaran en La Parroquia San Buenaventura que está ubicado en la parte Suroriental de la ciudad de Latacunga.

### **Ilustración 3. Zona de recolección de la muestra**



**Fuente: Google Maps**

#### **4.3.3.1. Ubicación Política**

- **País:** Ecuador
- **Provincia:** Cotopaxi
- **Cantón:** Latacunga
- **Parroquia:** San Buenaventura

#### **4.3.3.2. Ubicación Geográfica**

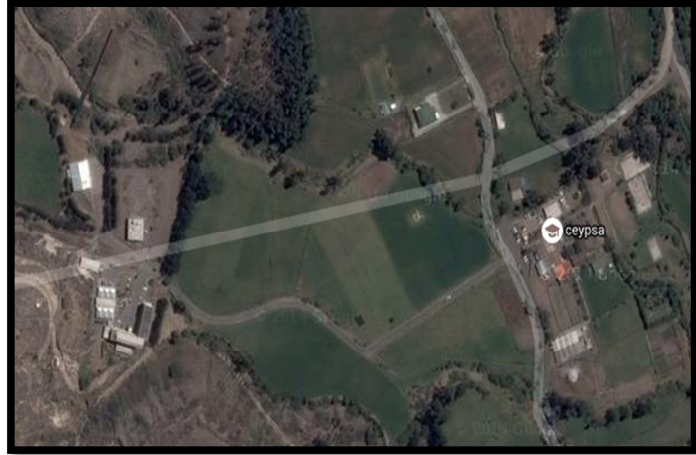
**Latitud:** 0°51'12.5"S

**Longitud:** 78°36'11.4"W

**Altitud:** 2948 m.s.n.m

#### 4.3.4. DELIMITACION DEL LUGAR DEL LABORATORIO

**Ilustración 4.** Lugar donde se realizó la practica



**Fuente:** Google Maps

##### 4.3.4.1. Ubicación Política

- **País:** Ecuador
- **Provincia:** Cotopaxi
- **Cantón:** Latacunga
- **Parroquia:** Eloy Alfaro

##### 4.3.4.2. Ubicación Geográfica

**Latitud:** 00°59'57" S

**Longitud:** 78°37'14" w

**Altitud:** 2725 m.s.n.m

#### **4.3.5. Toma de Muestras**

Se realizó la toma de muestras al azar del hongo Fitopatógeno *Cercospora* (*Cercospora beticola*) en el cultivo de Remolacha (*Beta vulgaris L.*), recogiendo cinco (muestras de las hojas) que presentaban mayor porcentaje de infección presente en el cultivo, para trasladar las muestras al laboratorio para su respectivo proceso de caracterización morfológica.

#### **4.3.6. Procedimiento en la Toma de Muestras**

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 envueltas en papel para que el exceso de humedad sea absorbido por el mismo, posteriormente se procedió a colocar en una funda ziplop con su respectiva codificación y se trasladó en una hielera para evitar la deshidratación, contaminación y daños de las muestras al laboratorio.

#### **4.3.7 Almacenamiento**

Las muestras fueron colocadas dentro de 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.

#### **4.3.8. Identificación de la muestra en laboratorio previa a la siembra**

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

#### **4.3.9. Elaboración del medio de cultivo**

Se elaboró el medio de cultivo optado 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, utilizando:

- 50gr de papa
- 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 (papa – dextrosa - agar).

#### **Procedimiento**

Pelar y poner a hervir la papa 50gr en 500ml 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 tapar con papel aluminio de una forma segura, cuando empiece a hervir dentro del autoclave no sea derramada en el interior, luego el Erlenmeyer 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 al autoclave para que los vapores sean expulsados, posteriormente se verifica que los vapores han sido expulsados en su totalidad y con ello se procede abrir completamente el autoclave, se obtiene el medio de cultivo se coloca rápidamente 25 ml de PDA (papa – dextrosa - agar) en las cajas Petri mismas que ya están esterilizadas, ya que si las expone durante mucho tiempo al aire libre puede ser contaminadas,



Después de que el medio de cultivo a sido colocado en las cajas Petri estas deben mantenerse cerradas por completo hasta que con la temperatura ambiente se enfríe para poder realizar la siembra.

#### **4.3.10. Siembra**

La siembra se realizó en cajas Petri previamente ya colocadas el medio de cultivo PDA (papa – dextrosa - agar), la misma que se realizó tomando pequeños segmentos (hoja) de las muestras del cultivo de Remolacha (*Beta vulgaris L.*) con la presencia del Hongo Fitopatogeno Cercospora (*Cercospora beticola*) la cual se realizó dentro de la caja de flujo laminar para evitar la contaminación del medio del cultivo durante la siembra, utilizando materiales desinfectados como bisturís, pinzas, aza de siembra y mecheros.

Una vez sembradas las muestras se procede a sellar las cajas Petri con parafilm y luego son colocadas en la incubadora a una temperatura de 21°C y a 22°C que infiere para la proliferación del hongo Cercospora (*Cercospora beticola*).

Para la obtención del hongo Cercospora (*Cercospora beticola*) se realizaro cinco siembras distintamente.

**Primera Siembra:** Se realizó tratando de buscar el hongo Cercospora (*Cercospora beticola*) utilizando las partes vegetativas (hojas) se realizó a una temperatura de 21°C de la incubadora, las cuales fueron revisadas en un lapso de 48 horas, donde se observó los contenidos de los cinco medios de cultivo, utilizando el medio de cultivo PDA sin haber regulado el Ph en el cual se obtuvo como resultado la presencia de bacterias y endógenos sin encontrar ningún resultado del hongo requerido.

**Segunda Siembra:** Se realizó utilizando partes vegetativa (Hojas) a una temperatura de 22°C de la incubadora, utilizando el medio de cultivo DA (Dextrosa Agar) regulando el Ph a 3.5 en los cuales se revisó a un lapso de 48 horas donde se observó contaminación de bacterias.

**Tercera Siembra:** Se realizó utilizando partes vegetativa (Hojas) a una temperatura de 22°C de la incubadora, utilizando el medio de cultivo PDA, con la regulación del Ph de 3.5 la revisión se lo realizo en lapso de 48 horas donde se pudo observar en 3 cajas (C1M3) (C3M1) (C5M4) que ya existía la presencia de la reproducción del hongo *Cercospora (Cercospora beticola)* en las restantes solo se pudo observar contaminación que tenía un color negro.

**Cuarta Siembra:** Realice un aislamiento de las tres cajas (C1M3) (C3M1) (C5M4) donde ya hubieron presencia de reproducción del hongo existente la presencia de contaminación, utilice el medio de cultivo de PDA con un Ph de 3.5, la incubadora con una temperatura de 22°C en las dos cajas restantes realice una siembra con partes vegetativas (hojas), revise a las 48 horas en las cuales pude observar que en las cinco cajas existían ya la presencia de la reproducción del hongo *Cercospora (Cercospora beticola)*.

**Quinta Siembra:** Realice un aislamiento de las cinco cajas anteriores en las cuales ya existía la presencia del hongo *Cercospora (Cercospora beticola)* utilice el medio de cultivo PDA con una temperatura de 22°C con la regulación de Ph a 4 la revisión se lo hizo a las 24 horas; en la cual pudimos observar un cultivo totalmente limpio con el hongo.

#### **4.3.11. Identificación**

##### **4.3.11.1. Observación microscópica**

**Técnica de cinta pegante:** Se realizó 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 se tomó con mucho cuidado una pequeña muestra de la colonia del hongo *Cercospora (Cercospora beticola)*, después se colocó una gota de agua destilada sobre el portaobjetos y se procedió a pegar la cinta sobre el portaobjetos para luego ser observado en el microscopio con un aumento de 40x y 100x.

**Montaje por disección:** Con un asa estéril se tomó una pequeña muestra del hongo y se colocó en un portaobjetos con una gota de agua destilada, con un asa

se extendió el micelio, se colocó el cubreobjetos y procedió a observar al microscopio de 40x y 100x.

### **Descripción**

Característica morfológica del hongo Fitopatógeno: para esto se utilizó el método comparativo a través de fotos microscópicas y macroscópicas y el uso de claves taxonómicas.

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

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

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

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

## CAPITULO III

### 5. RESULTADO Y DISCUSIÓN

El presente trabajo con el tema caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en remolacha, opta por la determinación del hongo de mayor impacto en la producción del cultivo, obteniendo como resultado a *Cercospora* (*Cercospora beticola*), este parásito se desarrolla preferentemente en las hojas, atacando con más intensidad a las externas, que son las más viejas, pero también puede asentarse sobre cualquier otro órgano aéreo de la planta. Se produce por un hongo que se encuentra en el interior de la hoja y emite hacia el exterior, por el envés, unos conidióforos de color claro, reunidos en hacecillos. Cuando se mira el envés de la hoja con una lupa, se perciben puntos negros, que son los órganos de fructificación del hongo. La esporulación, incubación e infección se ve favorecida por temperaturas de 25°C a 35°C por el día y temperaturas por encima de los 16°C por la noche, con largos períodos de humedad relativa de 90% a 95% o de humectación de la hoja. (GONZALEZ, 2011)

Hoy en día para los agricultores de la Serranía Ecuatoriana, la producción y comercialización de Remolacha (*Beta vulgaris L.*) representa uno de los principales ingresos económicos para sus familias. Pero la producción se ve limitada por el ataque de distintos hongos Fitopatógenos. (CERVANTES, 2010)

Los patógenos más importantes que causan elevadas pérdidas de frutas y hortalizas son normalmente bacterias y los hongos sin embargo, con mayor frecuencia son especies de hongos las causantes del deterioro patológico de frutas, hojas, tallos y productos subterráneos. Algunas fuentes estiman que dichas pérdidas son alrededor de 4-20% en países desarrollados y 10-40% en países en desarrollo. (JUAREZ, 2010)

La producción de remolacha se concentra en toda la región sierra del Ecuador. Para el 2004 se estimó una producción nacional de 3 177 t, encontrándose la mayor producción de esta hortaliza en la provincia de Chimborazo, llegando a producir en el 2004 un total de 1 057 toneladas. (VALLEJO, 2013)

### **5.1. Identificación de síntomas y signos de la Cercospora (*Cercospora beticola*) en el cultivo de la Remolacha (*Beta vulgaris* L.)**

#### **5.5.1. SINTOMAS**

Inicialmente, se producen manchas, en forma de círculos de 3 a 5 mm de diámetro, de color gris ceniza con bordes marrones tirando a púrpura rojizo. Las hojas severamente afectadas pueden resecarse, morir y caer, aunque generalmente se mantienen adheridas a la planta. Comienza afectando a las hojas más viejas para pasar progresivamente a las más jóvenes. Cuando éstas son atacadas por el parásito, caen y rebrotan de nuevo, renovándose continuamente la parte foliácea. También pueden ser afectados los peciolo. (GAMEZ, 2008)

Están circundadas por un estrecho halo de color rojo-purpúreo que les da un aspecto característico. El número de manchas en cada hoja es muy variable; depende de la intensidad del ataque del hongo y de la edad de la hoja. Cuando las lesiones son muy fuertes producen pérdida de masa foliar, y entonces pierden el contorno casi circular antes referido. (JIMENEZ, 2008)

**Ilustración 5.** Síntomas (*Cercospora beticola*)



**Fuente:** (GAMEZ, 2008)

De acuerdo a la bibliografía citada sobre la (*Cercospora beticola*) los síntomas o lesiones que puede detectar en el cultivo de remolacha en el sector de San Buenaventura fue en la parte de las hojas presentaban un color gris ceniza con los bordes marrón a mediada que esta avanza se torna una coloración púrpura rojiza, en la parte de las hojas se iniciaban de adentro hacia afuera, llegando poco a poco al resto de la planta provocando la muerte total de la misma.

**Ilustración 6.**Sintomas (*Cercospora beticola*) en campo



**Tomadas por:** El Investigador

### 5.5.2. SIGNOS

El micelio es tabicado con la presencia de tabicaciones, conidióforos de crecimiento limitado, conidios oscuros livacios, simples, primero primero cilíndricos, luego nudosos denticulados en la cima debido a la inserción de los conidios. (RONCAL, 2001)

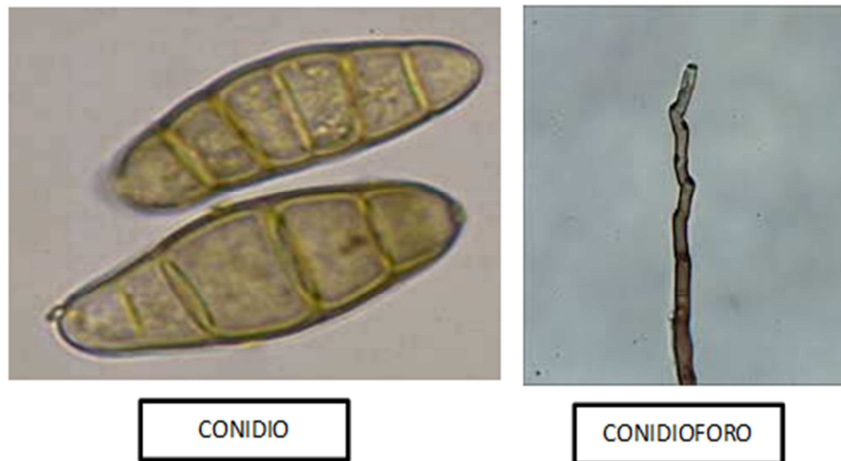
Las estructuras somáticas (talos) son llamados micelios y están compuestos de filamentos " septados " (hifas) no ramificados. El diámetro del micelio (5-8 micras). (SANCHEZ, 2012)

Los conidios son esporas asexual inmóvil formada directamente a partir de una hifa o célula conidiógena o esporógena las conidias comienzan seguidamente a germinar, produciéndose un finísimo filamento que se desliza sobre la hoja hasta

encontrar un estoma por donde penetrar y poder tomar contacto con las células interiores, en las que busca su alimento. Cualquier herida en la hoja le presta el mismo servicio que el estoma, pero ella sola, por sus propios medios, no es capaz de romper la cutícula. (RONCAL, 2001)

Los conidióforos producen conidios alargados, filiformes, en forma de mazo, simples o septados con 0-5 septas transversales y de 35-75 x 2.5-5.0  $\mu$  Las conidios del hongo se forman en cuerpos fructíferos llamados esporodocios. Los conidióforos y conidios son hialinos. Estas estructuras reproductivas se forman sobre los tejidos del hospeder.

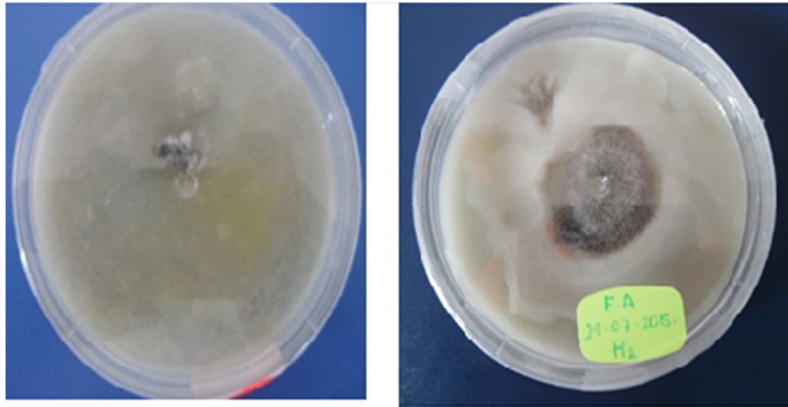
#### **Ilustración 7.**Conidioforo y Conidio



**Fuente:** (RONCAL, 2001)

De acuerdo a lo que se pudo observar en la bibliografía se pudo corroborar en el laboratorio la presencia de micelio oscuro a medida que este avanzaba en el centro del micelio se podía observar como un halo de color pardo iba apareciendo y en su exterior aún se conservaba el halo oscuro en el transcurrir de las 24 horas.

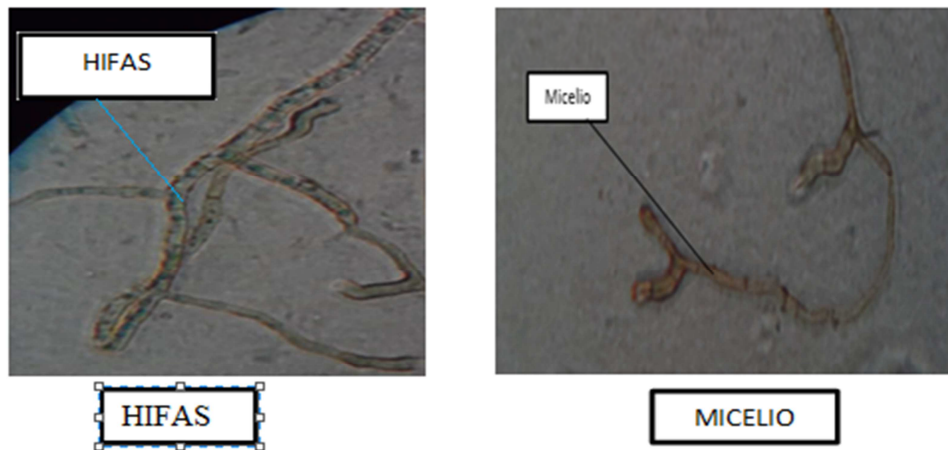
**Ilustración 8.** Producción de micelio en laboratorio



**Tomado por:** El Investigador

En el laboratorio se puede observar hifas con lo cual el conjunto de hifas es lo que forma el micelio.

**Ilustración 9.**Hifas y Micelio

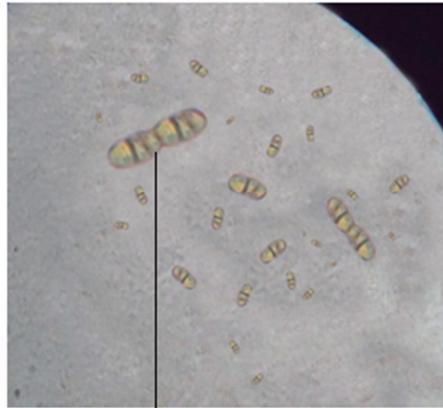


**Tomado por:** El Investigador

De acuerdo a la bibliografía se pudo observar la mayoría de microestructuras en el laboratorio se pudo observar conidios y conidióforos.



**Ilustración 10.**Conidios y Conidióforos



CONIDIOS



CONIDIOFOROS

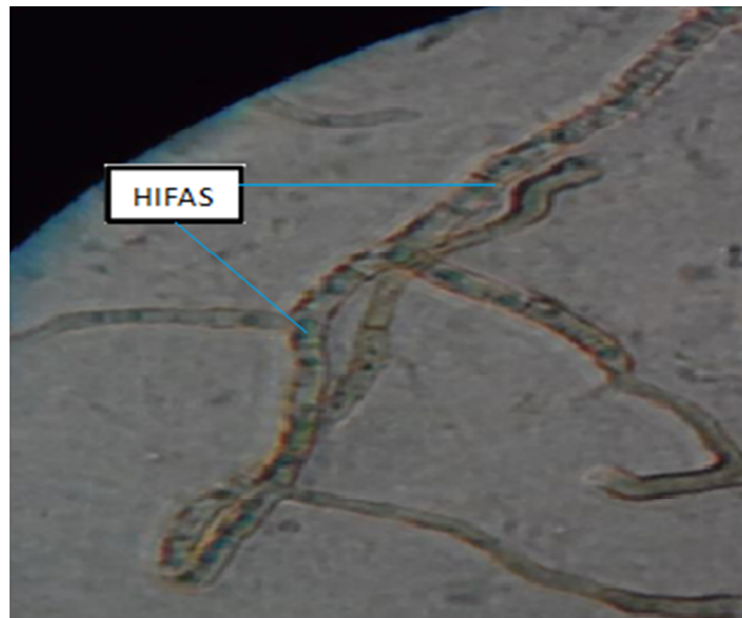
**Tomado por:** El Investigado

## 5.6. Caracterización de Macro y Micro estructuras del Patógeno (*Cercospora beticola*) en el cultivo de Remolacha

### 5.2.1. Fotografía del micelio tomada en:

- Campo claro Ph1
- Exposición : 500
- Ganancia 5.7
- Gama 1
- Luz del día
- 20x

#### Ilustración 11 .Hifas



**Tomado por:** El investigador

Se observa las hifas de (*Cercospora beticola*) con el conjunto de hifas constituyen el micelio de (*Cercospora beticola*), el cual se lo obtuvo en el laboratorio.

Las estructuras somáticas (talos) son llamados micelios y están compuestos de filamentos " septados " (hifas) no ramificados. El diámetro del micelio (5-8 micras). (SANCHEZ, 2012)

### 5.2.2. Fotografía del micelio tomado en:

- Campo claro Ph1
- Exposición: 500
- Ganancia 5.7
- Gama 1
- Luz del día
- 20x

#### **Ilustración 12.**Micelio



**Tomado por:** El Investigador

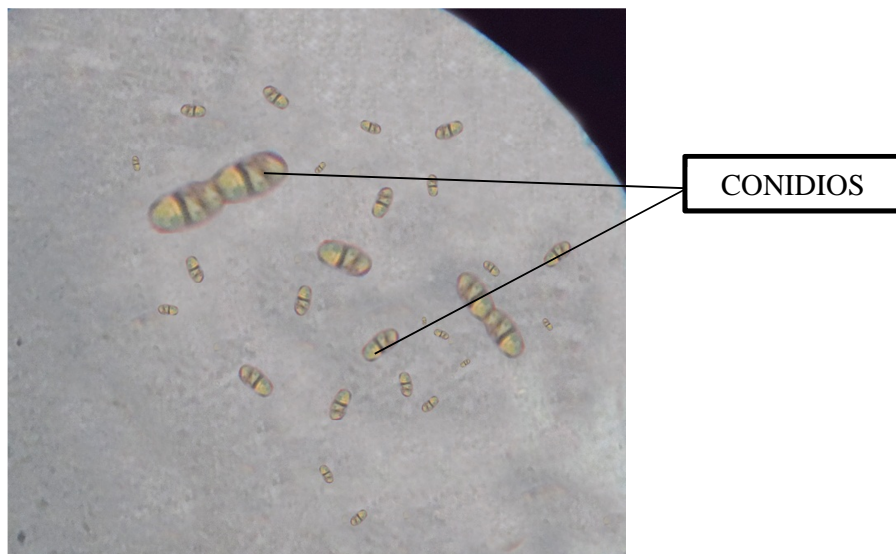
Se puede observar el micelio de (*Cercospora beticola*) que es cenocítico sin septos y con ramificaciones, el cual se la obtuvo en el laboratorio.

Las estructuras somáticas (talos) son llamadas micelios y están compuestos de filamentos "hialinos" (hifas) ramificadas (no septadas). El diámetro del micelio (5-8 micras). (SANCHEZ, 2012)

### 5.2.3. Fotografía conidiós tomado en:

- Campo claro Ph1
- Exposición: 500
- Ganancia 4.5
- Gama 1
- Luz del día
- 20x

**Ilustración 13.**Conidiós



**Tomado por:** El Investigador

Se puede observar que los conidiós de (*Cercospora beticola*) son rectos o algo curvados, con ápice agudo y base truncada, el cual se pudo observar en el laboratorio.

Los conidios son de forma elíptico-ovada, oscuros, con varias células, siendo las extremas hialinas, con apéndices apicales incoloros y base truncada, multiseptados, de dimensiones  $35-125 \times 2,5-4$  micras. (CABRERA, 2003)

### 5.2.3. Fotografía conidios y conidióforos tomado en:

- Campo claro Ph1
- Exposición: 500
- Ganancia 4.7
- Gama 1
- Luz del día
- 20

**Ilustración 14.** Conidios y Conidióforos









**Tomado por:** El Investigador

Se puede observar que los conidioforos de (*Cercospora beticola*) son en forma de agujas mostrando su septo, el cual fue obtenido en laboratorio.

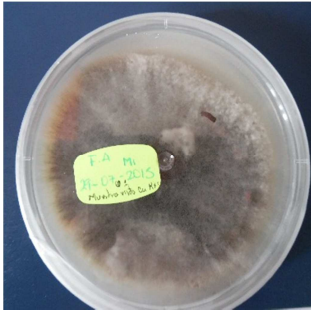

Los conidioforos son septos, en forma de aguja con varios tabiques, que pueden medir desde 6-8 micras, tienen un extremo aguzado y son romas por el que han estado unidas al conidióforo, queda aislado por la aparición de un septo, el protoplasma segrega una pared y se transforma en un conidio, mientras un segundo conidio se forma por debajo empujando hacia afuera la primera espora, al final se forma una cadena de esporas. (LUQUE, 2014)

### 5.3. Descripción del ciclo de vida del Patógeno en Condiciones de laboratorio

**Tabla 4.** Ciclo de vida del patógeno

ACTIVIDAD	TIEMPO	°C	GRAFICO
Siembra del hongo	12 minutos 	25°C	
Formación de Hifas	14 horas 	25°C	
Formación del micelio	19 horas 	25°C	

Continúa....

Producción de conidioforos y conidios	24 horas  A clear plastic petri dish containing a dark, fuzzy mold culture. A small yellow label is attached to the center of the dish with handwritten text: 'F-4 M', '27-07-2015', and 'Muestra n.º 2, 10'.	25°C  A light micrograph showing several long, thin, brownish, filamentous structures (conidioforos) and several oval-shaped, yellowish-brown structures (conidios) on a light-colored background.
---------------------------------------	---	---

**Realizado:** Por el investigador

## CONCLUSIONES

- Se determinó que el hongo de mayor impacto económico que afecta a los agricultores es (*Cercospora beticola*) en el cultivo de remolacha ya que puede ocasionar pérdidas de 4-20% en países desarrollados y 10-40% en países sub desarrollados.
- Los síntomas de (*Cercospora beticola*) en el cultivo de remolacha pueden variar de acuerdo a la zona y humedad, pero siempre se presenta de color gris ceniza con bordes marrones tirando a púrpura rojizo en la mayoría de las plantas causando la muerte total de la misma pero los signos son iguales se produce un micelio oscuro el mismo que se produce innumerable cantidad de conidios.
- La aparición de micelio el cual está compuesto por hifas de (*Cercospora beticola*) dentro del laboratorio se presenta en forma oscura y están compuestos de filamentos. Las macro y micro estructuras del hongo va variando de acuerdo a su ciclo de vida que este se encuentre en un principio solo se puede encontrar talos y a medida que va pasando las horas van apareciendo sus demás estructuras hasta poder observar los conidióforos y conidios.
- El hongo Fitopatógeno de *Cercospora beticola* se desarrolla a una temperatura de 25°C en donde cumple su ciclo de vida apareciendo hifas, micelio, conidios y conidióforos.
- De los datos obtenidos de la investigación se realizó una guía didáctica para las personas interesadas en esta investigación.



## RECOMENDACIONES

- Conocer todo acerca del hongo a estudiar, dentro del laboratorio y fuera del mismo, para de este modo evitar problemas futuros al momento de la manipulación del hongo.
- Al momento de realizar la recolección se debe analizar bien los síntomas que presenta la planta y ver si los síntomas que presenta son los que corresponden al hongo que se va a estudiar.
- Cuando las muestras son recolectadas en campo estas deben ser transportadas con las debidas precauciones para evitar que estas se estropeen y no se contaminen por otro agente, por lo cual es necesario que las muestras sean transportadas dentro de fundas herméticas las mismas que deberán ser colocadas en una caja.
- Antes de que la muestra vaya a ser utilizada en el laboratorio es necesario que esta sea desinfectada con alcohol.
- Es preciso conocer el pH del agua que se está utilizando para realizar un medio de cultivo ya que no todos los hongos se proliferan en un solo pH y también es preciso conocer cuál es el medio de cultivo indicado para cada hongo.
- Dentro del laboratorio se debe mantener la asepsia en todo momento que se está realizando la práctica para de este modo evitar contaminaciones y problemas futuros.

## **GLOSARIO TECNICO**

### **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.

### **Conidio**

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

### **Conidióforo**

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

### **Cuerpo fructífero**

Estructura compleja de los hongos que contienen esporas.

### **Cenocítico**

Micelio continuo que no tiene tabiques y con muchos nucleos.

### **Espora**

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

### **Esterilización**

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

### **Fitopatógeno**

Organismo que causa alteraciones en las plantas.

**Hifas**

Filamentos microscópicos que integran al micelio o cuerpo de la mayoría de los hongos.

**Haustorio**

Estructura que sirve para observar nutrientes.

**Heterotalico**

Condición sexual de reproducción del micelio de los hongos, a través de la interacción de diferentes tipos de cruces, los cuales son cepas similares morfológicamente.

**Micelio**

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

**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.

**Virulencia**

El carácter nocivo y patógeno de un microorganismo, ya sea un virus, una bacteria un hongo, determina su virulencia.

## BIBLIOGRAFIA

- AGRIOS. (2008). Obtenido de [http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursos/fitopato/.../Hongos%20I\\_2011.pdf](http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursos/fitopato/.../Hongos%20I_2011.pdf)
- AGROECUADOR. (2005). Recuperado el 5 de Agosto de 2014, de Produccion de zanahoria en el Ecuador: <http://www.agroecuador.com/HTMLagendaInterestcebollazanaahoriaCebolla%20y%20Zanahoria.pdf>
- ALDANA, Héctor. (1995). Producción Agropecuaria 2. En H. Aldana, Producción Agropecuaria 2. Bogotá, Colombia: Terranova.
- ALVARADO, F. (15 de 8 de 2000). Obtenido de <http://www.fundesyam.info/biblioteca/displayFicha.php?fichaID=3130>
- ARAUJO, J. (2009). Clasificación botánica sistemática. Riobamba, Ecuador.
- BARAHONA, E. (2003). Manual de Horticultura. Quito, Ecuador.
- BAYER. (2014). Bayercropscience. Recuperado el 23 de 06 de 2014, de <http://www.bayercropscience.cl/soluciones/fichaproblema.asp?id=64>
- BELLAROSA. (2013). Recuperado el 22 de 06 de 2014, de <http://www.bellarosa.com/home.php?lang=es>
- BILBAO, J. (2 de 8 de 2013). Recuperado el 4 de 9 de 2015, de <http://www.kws.es/aw/KWS/spain/Productos/Remolacha-azucarera/asistencia-tecnica/Hongos/~xrd/CERCOSPORA-MANCHAS-FOLIARES/>
- CABRERA, M. (24 de 11 de 2003). Recuperado el 12 de 20 de 2015, de [www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2004/5-Agrarias/A-025.pdf](http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2004/5-Agrarias/A-025.pdf)
- CALZADA, B. (2002). Frutales nativos. Lima, Perú: El Estudiante.
- CASTELLANOS, G. (2002). Fitopatología. Quito: Guías prácticas de laboratorio.
- CERDA, D. (2005). Recuperado el 04 de Junio de 2014, de El mundo según Google, Google Earth y la creación del dispositivo GeoSemántico Global: <http://geosemanticagearth>
- CERVANTES, M. (3 de 11 de 2010). Infoagro. (Infoagro, Ed.) Recuperado el 3 de 10 de 2015, de

[http://www.infoagro.com/hortalizas/enfermedades\\_cultivos\\_intensivos.htm](http://www.infoagro.com/hortalizas/enfermedades_cultivos_intensivos.htm)

CHARLES, V. (2008). Génesis y evolución de los postulados de Koch y su relación con la fitopatología (Vol. 26). Medellín - Colombia: Revista "Agronomía Colombiana" de la Universidad Nacional de Colombia.

ESTADISTICA. (s.f.). Recuperado el 27 de Julio de 2014, de <http://www.estadistica.mat.uson.mx/Material/elmuestreo.pdf>

FAO. (2009). Recuperado el 31 de Enero de 2015, de Zanahoria Producción y consumo:  
<http://www1.etsia.upm.es/departamentos/botanica/fichasplantas/zanprod.pdf>

FERNÁNDEZ, C., MARTÍNEZ, G., PERURENA, M., & VALDEZ, I. (2005). La colección de cultivos de hongos del instituto de medicina tropical "Pedro Kouri". Funciones y Retos (Vol. 57). Revista Cubana de Medicina. Retrieved from [http://books.google.com.ec/books?id=b4pHX7kOmNIC&pg=PA17&dq=funciones+que+cumple+el+fósforo+en+la+producción+de+pastos&hl=es&sa=X&ei=cwNWUrbyKYja8wSRxoCgCA&redir\\_esc=y#v=onepage&q=funciones%20que%20cumple%20el%20fósforo%20en%20la%20producción%20de%20pasto](http://books.google.com.ec/books?id=b4pHX7kOmNIC&pg=PA17&dq=funciones+que+cumple+el+fósforo+en+la+producción+de+pastos&hl=es&sa=X&ei=cwNWUrbyKYja8wSRxoCgCA&redir_esc=y#v=onepage&q=funciones%20que%20cumple%20el%20fósforo%20en%20la%20producción%20de%20pasto)

FHIA. (2007). Recuperado el 4 de Julio de 2014, de Deterioro poscosecha de las frutas y hortalizas frescas por hongos y bacterias: <http://fhia.org.hn/downloads/fhiainfdic2007.pdf>

FRENCH, E., & HEBERT, T. (1980). Métodos de investigación fitopatológica. San José, Costa Rica: IICA.

Fuente:. (s.f.). Obtenido de <http://www.infoagro.com/hortalizas/alcachofa.htm>

Fuentes, C. (2007). Los postulados de Koch, Revisión Histórica y Perspectiva Actual. I(2).

GAMEZ, J. (5 de 1 de 2008). Recuperado el 7 de 10 de 2015, de <http://www.parasiticplants.siu.edu/Scrophulariaceae/Orobanche.Gallery.html>

GARCIA, C. (2 de 10 de 2011). Recuperado el 10 de 9 de 2015, de [www.researchgate.net/profile/Carmen\\_Garcia7/publication/48220633\\_Taxonomia\\_de\\_Hongos\\_del\\_Complejo\\_Cercospora\\_Sobre\\_Ipomoea\\_spp/links/0fcfd5064aeaf8a01a000000.pdf](http://www.researchgate.net/profile/Carmen_Garcia7/publication/48220633_Taxonomia_de_Hongos_del_Complejo_Cercospora_Sobre_Ipomoea_spp/links/0fcfd5064aeaf8a01a000000.pdf)

- GAVIOLA, J. (2013). Manual de Producción de Zanahoria. Buenos Aires: Ediciones INTA.
- ntent&view=article&id=154:cercospora-beticola&catid=67:nombres-cientifico&Itemid=69
- GONZALEZ, B. (10 de 6 de 2011). Recuperado el 2 de 8 de 2015, de <http://www.aimcra.es/Biblioteca/Enfermedad.aspx?ID=3>
- HERRERA, (1994). Fitopatología General. La Habana, Cuba: Felix Varela.
- HUARAL. (2003). Recuperado el 6 de Julio de 2014, de Manejo del cultivo de zanahoria: <http://www.huaral.org/Manejocultivodezanahoria/2003/articulo.htm>
- INAMHI. (2014). Anuario meteorológico Nro. 51-2011. Quito, Ecuador. Infoagro. (s.f.). Recuperado el 15 de 06 de 14, de <http://www.infoagro.com/hortalizas/alcachofa.htm>
- INIAP. (2009). Sanidad Vegetal: Recomendaciones para la toma de muestras. Quito, Ecuador.
- JIMENEZ, M. (2 de 4 de 2008). Recuperado el 2 de 10 de 2015, de <http://www.parasiticplants.siu.edu/Scrophulariaceae/Orobanche.Gallery.html>
- JUAREZ, P. (5 de 7 de 2010). Recuperado el 5 de 10 de 2015, de [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No4-Vol-2/TSIA-4\(2\)-Juarez-Becerra-et-al-2010.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No4-Vol-2/TSIA-4(2)-Juarez-Becerra-et-al-2010.pdf).
- KIRSOP, B., & DOYLE, A. (1991). Maintenance of microorganisms and cultured cells. A manual of laboratory methods. San Diego - California: Academic Press Inc.
- LINNEO, C. (3 de 12 de 2000). Recuperado el 7 de 4 de 2015, de [www.agroes.es/cultivos-agricultura/cultivos-huerta-horticultura/remolacha/430-remolacha-descripcion-morfologia-y-ciclo](http://www.agroes.es/cultivos-agricultura/cultivos-huerta-horticultura/remolacha/430-remolacha-descripcion-morfologia-y-ciclo)
- LOPEZ, A. (1979). Manejo de Hongos Fitopatogenos. Mexico: Universidad Autónoma de Chapingo.
- LUQUE, A. (12 de 8 de 2014). Recuperado el 20 de 11 de 2015, de <http://www.plantasyhongos.es/hongos/Aspergillus.htm>
- MANZÓN, R. y. (2005). Infecciones causadas por el género Fusarium, Servicio de micología. Recuperado el Junio de 2012, de Centro Nacional de Micología: [www.seimc.org/control/revciones/micologia/fusarium.htm](http://www.seimc.org/control/revciones/micologia/fusarium.htm).

- MERCK. (2007). Indicaciones generales para el empleo de medio de cultivos deshidratados. Recuperado el 10 de junio de 2012, de <http://www.merck.de/serviet/PB/menu/1660270/index.html>.
- MONDIDO, P. (19 de 4 de 2009). Recuperado el 25 de 7 de 2015, de [http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursometodosfito/03-Medios\\_de\\_cultivos.pdf](http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursometodosfito/03-Medios_de_cultivos.pdf)
- MÓSTACEDO, B., & TODD, F. (2000). Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal. Santa Cruz, Bolivia.
- OCEANO. (1999). Enciclopedia Practica de la Agricultura y Gnaderia. Barcelona, España: Océano.
- RONCAL, M. (25 de 4 de 2001). Principios de fitopatología andina. Cajabamba: Casa del Libro. Recuperado el 7 de 18 de 2015, de [https://books.google.es/books?id=d\\_ZiAAAAMAAJ](https://books.google.es/books?id=d_ZiAAAAMAAJ)
- SANCHEZ, C. (24 de 9 de 2012). Recuperado el 22 de 11 de 2015, de <http://www.buenastareas.com/ensayos/Estructuras-Som%C3%A1ticas-De-Los-Hongos/5483787.html>
- SICA. (6 de 5 de 2012). Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/905/1/T-UTC-1217.pdf>.
- SINAGAP. (2015). Visualizador de precios. Recuperado el 12 de Febrero de 2015, de Sistema de información de precios a nivel nacional: <http://sinagap.agricultura.ec/visualizador>
- SIRA. (2005). Ficha Técnica Cultivo de Alcachofa, Perú. Recuperado el 16 de 06 de 14, de [http://www.sira-arequipa.org.pe/principal/fichas/hort\\_exp\\_alcachofa.pdf](http://www.sira-arequipa.org.pe/principal/fichas/hort_exp_alcachofa.pdf)
- STANIER, K. (1996). Microbiología. Barcelona, España: Revert.
- STREETS, R. (1972). The diagnosis of plant disease. A field and laboratory manual emphasizing the most practical methods for rapid identification. Tucson, Arizona.
- SUQUILANDA, M. (2003). Facultad de Ciencias Agrícolas. En Agricultura Orgánica en Hortalizas, Universidad Central del Ecuador pp. 47.
- TERRANOVA. (1995). Produccion Agricola 2. Santa Fe, Colombia: Edición Agropecuaria.
- VALLEJO, J. (5 de 10 de 2013). Cultivo de hortlizas de mayor importancia . Recuperado el 2 de 10 de 2015, de

<https://www.google.es/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiWity0k6LJAhXFax4KHTWADwgQFggqMAI&url=http%3A%2F%2Fwww.dspace.uce.edu.ec%2Fbitstream%2F25000%2F2037%2F1%2FT-UCE-000437.pdf&usg=AFQjCNGxG9Q4ydGd0bnCZpwAxCo5sOFcmg&bvm>



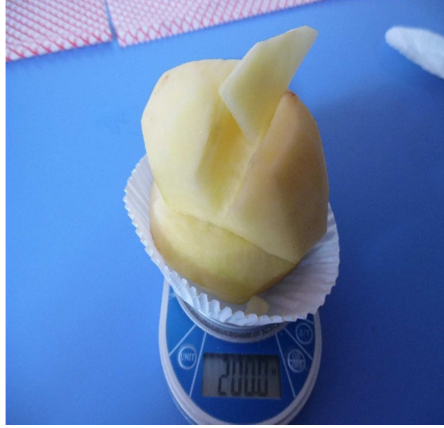
**ANEXOS****Anexo 1. Costos**

<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>CANTIDA D</b>	<b>COSTO UNITARI O</b>	<b>COSTO TOTAL</b>
<b>Materiales de aseo</b>			
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
<b>Reactivos de aseo</b>			
Kalipto	1	4,3	4,3
Alcohol	1	5,5	5,5
Yodo	1	3,6	3,6
<b>Material de laboratorio</b>			
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
<b>Reactivos de laboratorio</b>			
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
<b>Equipos</b>			
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
<b>SUBTOTAL</b>			19104,57
<b>Imprevistos (10%)</b>			1910,457
<b>COSTO TOTAL</b>			<b>21015,027</b>

**Anexo 2.** Preparación del medio de cultivo

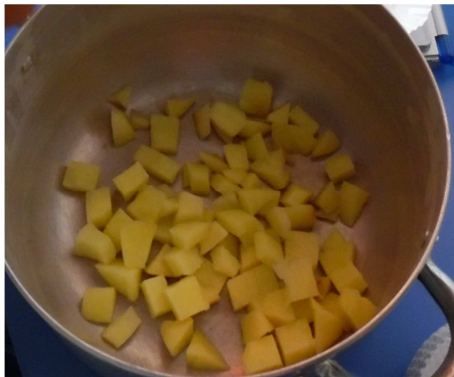
1. Pesado de la papa



2. Picado de la papa



3. Colocación de la papa picada y pesada en la olla



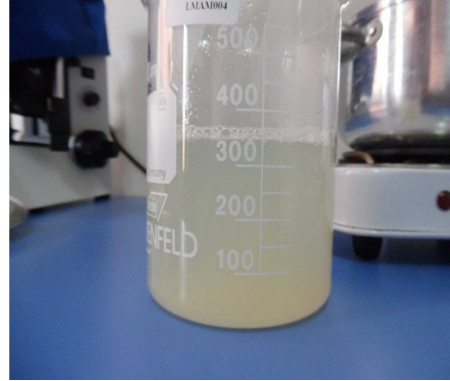
4. Colocación de la olla con el agua y la papa picada al fuego



5. Filtrar la papa



6. Volver a medir el agua e incorporar el agua perdida por la evaporación



7. preparar todos los ingredientes como el agar, destroza y levadura



8. Colocar el agua que a sido filtrada nuevamente a la olla a fuego lento durante unos 2 minutos



9. Adición de todos los elementos que han sido pesado anteriormente pero siempre removiendo lentamente



10. después del proceso verter el agua en un recipiente.



11. Colocar la solución final en dos Erlenmeyer siendo estos llenados la cuarta parte del mismo para evitar derrames.



12. Medir el pH del medio de cultivo



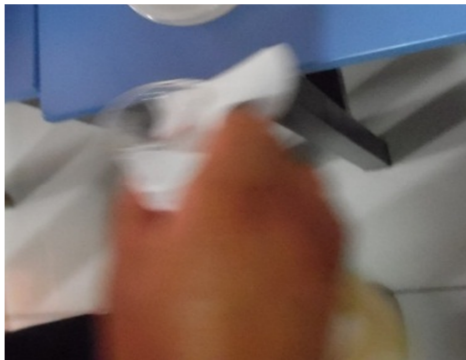
13. Tapar los Erlenmeyer con papel aluminio para evitar derrames del medio de cultivo.



14. Colación de los Erlenmeyer con el medio de cultivo en el autoclave.



15. Después de haber transcurrido el tiempo establecido por el auto clave sacar el medio de cultivo.



16. Colocar el medio de cultivo en cajas Petri.



**Anexo 3.** Muestra de planta de Remolacha y Placas con muestras

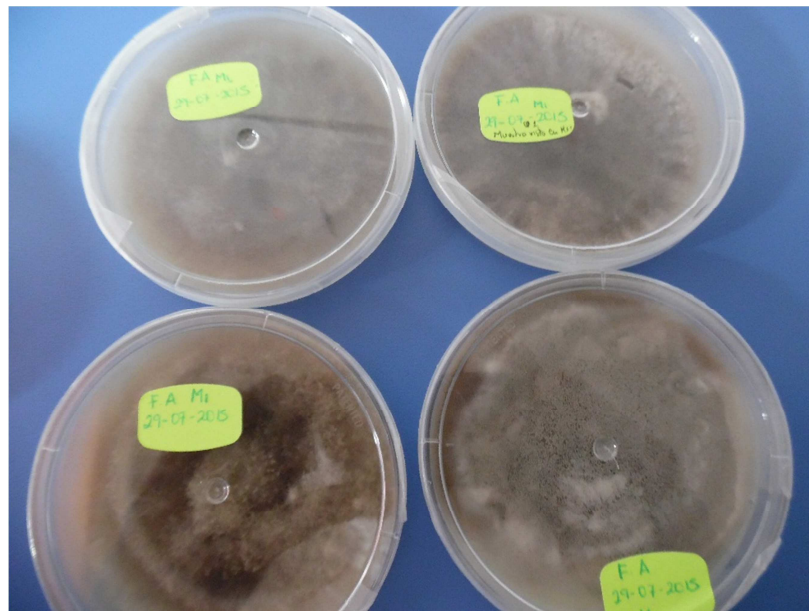
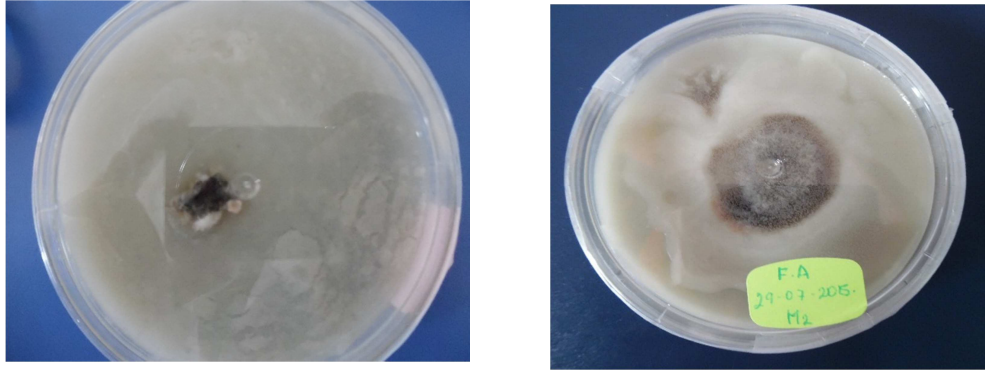


Parte de la planta (hoja) con la presencia del hongo (*Cercospora beticola*) guardadas en fundas herméticas.



Placos con el Hongo (*Cercospora beticola*) listas para ser observada en el microscopio.

**Anexo 4.** Cajas Petri con el medio de cultivo y con la presencia de medio de micelio en el transcurso de horas.

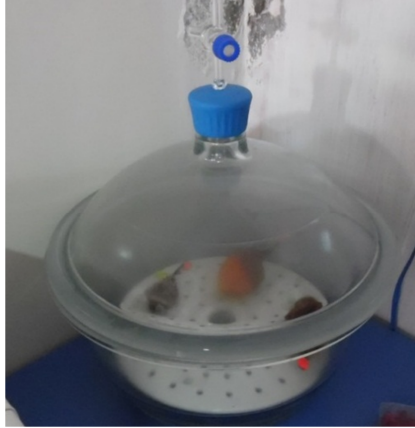


Cajas Petri con el micelio ya esporulado del hongo de (*Cercospora beticola*) producido dentro del laboratorio en el transcurso de las 24 horas.



**Anexo 5.** Materiales y equipos de laboratorio

Cámara húmeda



Destilador de agua



Incubadora



Autoclave



Camara de flujo Laminar



Microscopio



Estufa



Mecheros



Nevere



Materiales de laboratorio



Anexo 6. Guía Didáctica

## UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI



### UNIDAD ACADÉMICA DE RECURSOS AGROPECUARIOS Y RECURSOS NATURALES

GUIA DIDACTICA DE LA CARECTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE  
*Cercospora beticola* EN EL CULTIVO DE REMOLACHA (*Beta vulgaris L.*)

**Autor: Francisco Ruben Anchatipan Villacis**

**Director: Ing.Mg. Francisco Chancusig**

**Latacunga - Cotopaxi**

**2016**

**INTRODUCCIÓN:**

En muchos sectores del Ecuador los hongos Fitopatógenos son los culpables de grandes pérdidas económicas al dañar los cultivos, el sector de San Buenaventura no es la excepción al tener muchos problemas en el cultivo de remolacha causada por *Cercospora beticola*, 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:

La remolacha (*Beta vulgaris L.*), es una planta originaria del Norte de África, se cultiva en todo el mundo para la alimentación humana, pero los grandes cultivos para la explotación de la industria azucarera se encuentran en Rusia, Polonia, Francia, Alemania, Turquía, Estados Unidos y Canadá. (MORALES, 1995)

El tamaño del sistema radicular de la remolacha es muy extenso de raíces absorbentes que llega a casi un metro de profundidad y a unos 60 centímetros lateralmente, el buen desarrollo de este sistema le permite a la remolacha soportar sequías cortas y recuperarse rápidamente de las mismas. Es una planta herbácea con tallo muy corto (1 a 3 cm de alto), pero al comenzar la etapa reproductiva el tallo floral alcanza de 80 a 120 cm de alto, es ramificado y sostiene las inflorescencias, las hojas aparecen formando un penacho o roseta sobre el tallo, la lámina es ovalada de color verde intenso, el peciolo es largo de color rojo, púrpura o amarillento. (MORALES, 1995)

La principal enfermedad fitopatógena del cultivo de remolacha es la *Cercospora* (*Cercospora beticola*)

**Síntomas:** Enfermedad de mayor importancia en Ecuador, penetra en los estomas de las hojas de remolacha, desarrollándose en su interior, las lesiones presentan un color canela a marrón claro con bordes marrón oscuro a púrpura rojizo, a medida que progresa la enfermedad, las manchas individuales se unen.

**Diseminación:** Los conidios aseguran la propagación de la enfermedad a las plantas vecinas.

**Sobrevivencia:** Persiste asociado a tejidos enfermos aparentemente al estado de micelio o de conidios.

**Control:** Realizar rotación de cultivos de remolacha y realizar después de la cosecha una labor de volteo profunda. Realizar aspersiones foliares de fungicidas.

GUTIÉRREZ. (2000)

Las principales características morfológicas de *Cercospora beticola* posee: conidios aciculares (en forma de aguja), hialino (diáfano como el vidrio o parecido a él), conidióforos oscuros, a veces con esporodoquios, que es un tipo de estructura reproductiva asexual de hongos imperfectos. Los conidios son pequeños en donde se encuentran los conidios uniformes. Se pueden ver fácilmente los peritecios o pseudotecios y los conidióforos con los conidios en la misma mancha foliar. (PEREZ, 2010)

## OBJETIVO:

La presente guía didáctica sobre la caracterización morfológica del hongo *Cercospora beticola*, cuya finalidad es complementar los conocimientos y fomentar el autoaprendizaje en el aula.

## UBICACIÓN:

**Tabla 1.** Ubicación del laboratorio

<b>Sitio:</b>	Salache Bajo
<b>Parroquia:</b>	Eloy Alfaro
<b>Cantón:</b>	Latacunga
<b>Provincia:</b>	Cotopaxi
<b>Coordenadas cuadrícula mercator utm:</b>	N: 9888.749,37. E: 764.660,386.
<b>Altitud:</b>	2757.59 msnm

**Fuente:** autoría del investigador

## BLOQUE I. METODOLOGÍA:

### 1. Recolección de la muestra en campo

Las muestras fueron recolectadas en la parroquia de San Buenaventura canton Latacunga provincia Cotopaxi donde se realizó la toma de muestras al azar de Remolacha (*Beta vulgaris L.*), quienes presentaban signos y síntomas de *Cercospora beticola* recogiendo cinco (muestras de las hojas) que presentaban mayor porcentaje de infección presente en el cultivo.

Se extrajeron hojas 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 envueltas en papel para que el exceso de humedad sea absorbido por el mismo, posteriormente se procedió a colocar en una funda tetrapac con su respectiva codificación y se trasladó en una hielera para evitar la deshidratación, contaminación y daños de las muestras al laboratorio.



**Imagen 1** Hojas con presencia de *Cercospora beticola*

## **2. Almacenamiento y tratamiento de las muestras en laboratorio**

Las muestras fueron colocadas dentro de 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.



**Imagen 2** Muestras con *Cercospora beticola* coladas en fundas tetrapac

### 3. Elaboración del medio de cultivo para destroza agar (PDA)

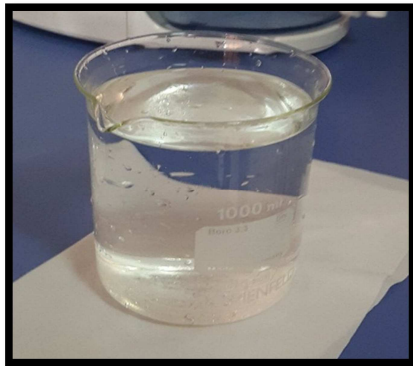
Es un medio útil para valorar el aspecto morfológico y es de uso generalizado para el aislamiento de los hongos.

#### Paso 1

En un vaso de precipitación medimos 500ml de agua de botellón, se recomienda utilizar este tipo de agua para evitar contaminaciones de bacterias teniendo en consideración que el pH óptimo para la preparación del medio es de 6.5 teniendo un rango de acidez para evitar la presencia de bacterias para bajar el pH se puede utilizar Acido.

#### Paso 2

Se procede a pesar 200 gr de papa pelada, en una olla pelar la papa en cuadritos para que sea más fácil la remoción del almidón durante la cocción, previamente la papa lista se coloca el agua en la olla y se procede a dejar que hierva durante 10 minutos.



**Imagen 3** Paso 1. 500ml de agua



**Imagen 4** Paso 2 Procedimiento de la papa.



### Pasó 3

Mientras tanto procedimos a pesar 15 gr. de agar, 20 gr. de dextrosa o sacarosa y 2 gr. de levadura sustancias que completamente el medio, se obtiene ya los 10 minutos de cocción de la papa se tamiza en vaso de precipitación, al instante se contabiliza la medida inicial al no contar con ello se complementa el agua que se perdió mediante la evaporación, se coloca a fuego lento de 2 a 3 minutos con ello enseguida se coloca los materiales previos medidos, con la barita de agitación se mese a dirección de las manecillas del reloj evitando que este se condense con pequeñas partículas de masa.



**Imagen 5** 15 gr. de agar, 20 gr. de dextrosa o sacarosa y 2 gr. de levadura



**Imagen 6** Colocación y muestras de las sustancias

### Paso 4

Obtenida la mezcla homogénea se coloca en el Erlenmeyer de 500ml tapando con papel aluminio para que esta no derrame en el interior de la autoclave mismo que es expuesto a un tiempo de 35 minutos necesariamente para que sea esterilizado.



**Imagen 7** Medios de cultivo colocados autoclave por Homogéneamente en el Erlenmeyer de 500ml.

**Imagen 8** Colocado en el 35 minutos.

#### **Paso 5**

Una vez cumplido el tiempo en el autoclave el medio de cultivo es colocado cuidadosamente en las cajas Petri, determinando que ocupe una caja que cubra la parte superior de la misma.



**Imagen 9** colocar las cajas Petri en posición Adecuada para colocar el PDA.

#### **4. Siembra**

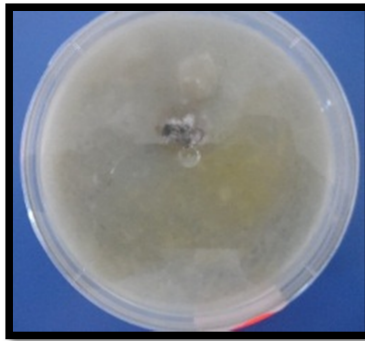
La siembra luego de unos 10 minutos después de haber colocado el medio de cultivo en las cajas ya se obtiene el cuajado de la mezcla, consiguiendo con ello el estado adecuado para realizar la siembra, se coloca las cajas dentro de la cámara de flujo laminar conjuntamente con las muestras una vez previamente desinfectado todos los materiales a utilizar, se toma una parte de la muestra y se coloca dentro del micelio mismo que debe ser tapada y sellada con el parafilm evitando la entrada de contaminantes.



**Imagen 10** Utilizando la cámara de flujo laminar la siembra.

### **5. Cultivo del hongo *Cercospora Beticola***

Son colocadas las cajas Petri en la incubadora a una temperatura de 25°C la que infiere para la proliferación del hongo *Cercospora Beticola*. Estas son monitoreadas cada 24 horas para ir observando el crecimiento del hongo o al mismo tiempo si alguna caja fue contaminada al instante ya que se requiere un cultivo sano y libre de contaminantes.



**Imagen 11** Presencia de bacterias  
y endógenos contaminantes

### **6. Identificación**

Se prevé utilizando material bibliográfico y mediante el microscopio y por ende teniendo un cultivo limpio y listo para su identificación.

**Utilizando la cinta pegante:** Se realizó un dobliz de una tira de cinta de 4 cm, con el lado adhesivo hacia fuera y se sostuvo con una pinza. Con el lado adhesivo se tomó con mucho cuidado una pequeña muestra de la colonia del hongo *Cercospora beticola*, después se colocó una gota de agua destilada sobre el portaobjetos y se procedió a pagar la cinta sobre el portaobjetos para luego ser observado en el microscopio con un aumento de 20x y 10x.

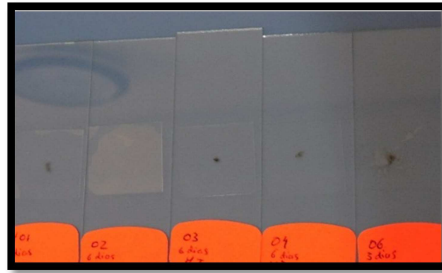


Imagen 12 Placas previamente etiquetadas con muestras de *Cercospora Beticola*.

## 7. Caracterización

Se obtiene un cultivo en las cajas Petri totalmente limpio con la presencia del hongo se busca *Cercospora beticola* mismo que era 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 eficiencia directamente con la cámara digital.

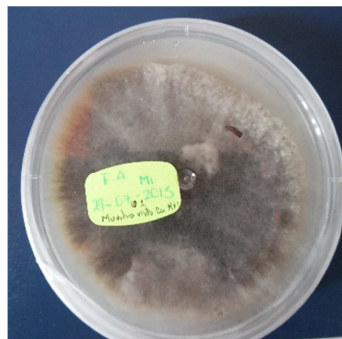


Imagen 13 Cultivo de *Cercospora beticola*

## BLOQUE II. RESULTADOS:

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

**Tabla1.** Caracterización de Macro y Microestructuras del Patógeno

CONSEPTUALIZACION	INDICADOR	INDICE	TECNICAS	INSTRUMENTO
Caracterización morfológica de hongos fitopatogenos en el cultivo de Remolacha	Talo	Tipo	Observación	Microscopio
	Micelio	Tipo		
	Conidos	Tipo		
	Reproducción	Tipo		

**Fuente:** Autoría del investigador

### Observación del hongo en el microscopio

#### Hifas

En la imagen 1 se puede apreciar las hifas de *Cercospora beticola*.

Obtenida en laboratorio en medio de cultivo PDA.

La imagen fue obtenida con la ayuda de un microscopio con el lente de 20x en campo claro Ph1 y con intensidad de luz 5.7.



### **Imagen 14** Micelio, Hifas

**Tomado por:** el investigador

Se observa las hifas de (*Cercospora beticola*) con el conjunto de hifas constituyen el micelio de (*Cercospora beticola*), el cual se lo obtuvo en el laboratorio.

Las estructuras somáticas (talos) son llamados micelios y están compuestos de filamentos " septados " (hifas) no ramificados. El diámetro del micelio (5-8 micras). (SANCHEZ, 2012)

### **Micelio**

En la imagen 1 se puede apreciar el micelio de *Cercospora beticola*.

Obtenida en laboratorio en medio de cultivo PDA.

La imagen fue obtenida con la ayuda de un microscopio con el lente de 20x en campo claro Ph1 y con intensidad de luz 5.7.



**Imagen 15.** Micelio

### **Tomado por: El Investigador**

Se puede observar el micelio de (*Cercospora beticola*) que es cenocítico sin septos y con ramificaciones, el cual se la obtuvo en el laboratorio.

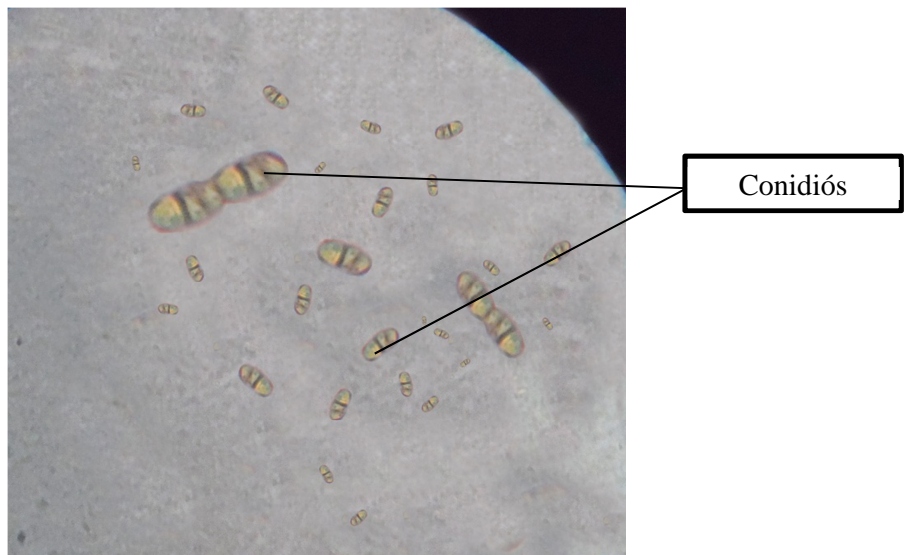
Las estructuras somáticas (talos) son llamadas micelios y están compuestos de filamentos "hialinos" (hifas) ramificadas (no septadas). El diámetro del micelio (5-8 micras). (SANCHEZ, 2012)

### **Conidios**

En la imagen 1 se puede apreciar los conidios de *Cercospora beticola*.

Obtenida en laboratorio en medio de cultivo PDA.

La imagen fue obtenida con la ayuda de un microscopio con el lente de 20x en campo claro Ph1 y con intensidad de luz 4.5.



**Imagen 16** Conidios

### Tomado por: El Investigador

Se puede observar que los conidios de (*Cercospora beticola*) son rectos o algo curvados, con ápice agudo y base truncada, el cual se pudo observar en el laboratorio.

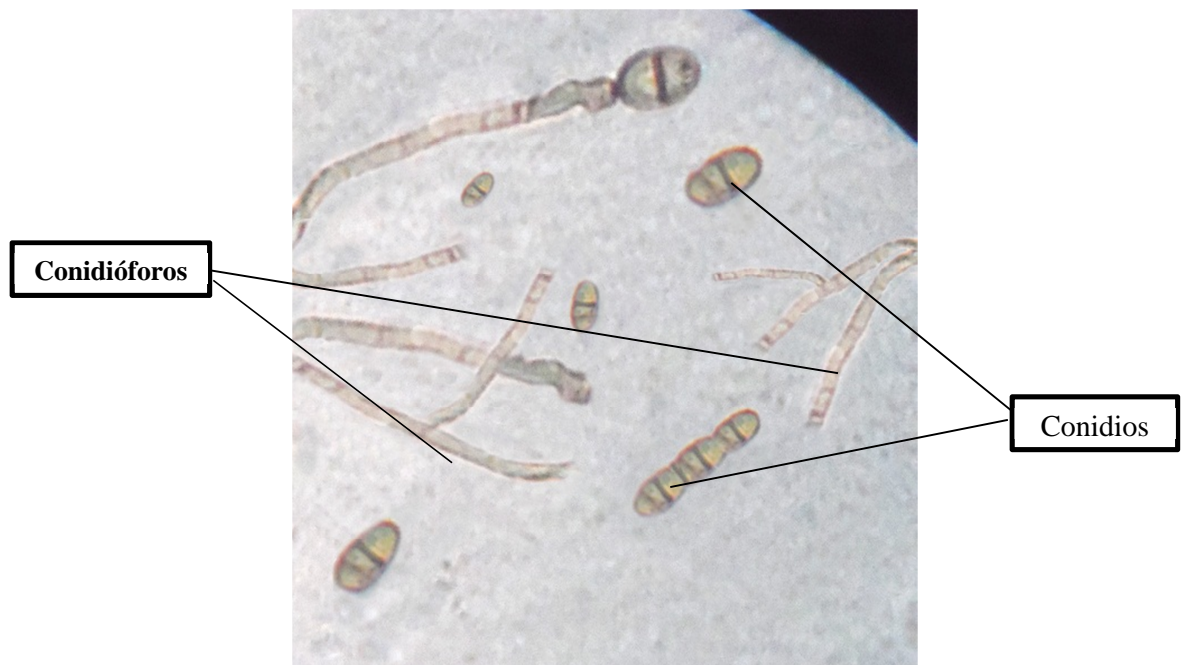
Los conidios son de forma elíptico-ovada, oscuros, con varias células, siendo las extremas hialinas, con apéndices apicales incoloros y base truncada, multiseptados, de dimensiones  $35-125 \times 2,5-4$  micras. (CABRERA, 2003)

### Conidioforos

En la imagen 1 se puede apreciar los conidioforos de *Cercospora beticola*.

Obtenida en laboratorio en medio de cultivo PDA.

La imagen fue obtenida con la ayuda de un microscopio con el lente de 20x en campo claro Ph1 y con intensidad de luz 4.5.



**Imagen 17** Conidióforos



**Tomado por:** El Investigador

Se puede observar que los conidioforos de (*Cercospora beticola*) son en forma de agujas mostrando su septo, el cual fue obtenido en laboratorio.

Los conidioforos son septos, en forma de aguja con varios tabiques, que pueden medir desde 6-8 micras, tienen un extremo aguzado y son romas por el que han estado unidas al conidióforo, formados dentro del ápice de la fiálide, un núcleo queda aislado por la aparición de un septo, el protoplasma segrega una pared y se transforma en un conidio, mientras un segundo conidio se forma por debajo empujando hacia afuera la primera espora, al final se forma una cadena de esporas. (LUQUE, 2014)

**MATERIAL DE CONSULTA SUGERIDO:**

MORALES, J. (1995). *Fundación de Desarrollo Agropecuario*, Inc. República Dominicana: Centro de Información FDA.

GUTIÉRREZ, M. (2000). *Departamento de Protección del cultivo de remolacha*, Varradolid: AIMCRA.

PEREZ, L. (2010). *Enfermedades de las plantas*. Bogotá: ISBN.

LUQUE, A. (12 de 8 de 2014). Recuperado el 20 de 11 de 2015, de <http://www.plantasyhongos.es/hongos/Aspergillus.htm>