

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI



## UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

### CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

#### TESIS DE GRADO

#### TÍTULO:

**“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS  
FITOPATOGENOS EN EL CULTIVO DE LA LECHUGA (*Lactuca sativa*)  
EN EL SECTOR DE SAN BUENAVENTURA – COTOPAXI. 2014”.**

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

**Autor: Ruben Sillo Totasig**

**Director: Ing. Mg. Edwin Chancusig**

**Latacunga – Cotopaxi**

**2016**

## **AUTORÍA**

Yo, **RUBEN SILLO TOTASIG**, portador de la cedula N° 0503408940, libre y voluntariamente declaro que la tesis titulada: **“CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE HONGOS FITOPATOGENOS EN EL CULTIVO DE LA LECHUGA (*Lactuca sativa*) EN EL SECTOR DE SAN BUENAVENTURA, – COTOPAXI. 2014”**, es original, autentica y personal. En virtud, declaro que el contenido será de mi sola responsabilidad legal y académica.

.....  
Ruben Sillo Totasig  
CI. 050340894-0

## **AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS**

Cumpliendo con lo estipulado en el capítulo V Art. 12. Literal f del Reglamento del Curso Profesional de la Universidad Técnica de Cotopaxi, en calidad de Director del Tema de Tesis: **“CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE HONGOS FITOPATOGENOS EN EL CULTIVO DE LA LECHUGA (*Lactuca sativa*), SECTOR SAN BUENAVENTURA – COTOPAXI. 2014”**, debo confirmar que el presente trabajo de investigación fue desarrollado de acuerdo con los planteamientos requeridos.

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

.....  
**Ing. Mg. Edwin Chancusig**  
**Director de Tesis**

## **AVAL DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL**

En calidad de miembros del Tribunal de la Tesis Titulada **“CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE HONGOS FITOPATOGENOS EN EL CULTIVO DE LA LECHUGA (*Lactuca sativa*), SECTOR DE SAN BUENAVENTURA – COTOPAXI. 2014”** De autoría del egresado **Ruben Sillo Totasig** CERTIFICAMOS que se ha realizado las respectivas revisiones, correcciones y aprobaciones al presente documento.

### **Aprobado por:**

Ing. Mg. Edwin Chancusig. ....

**DIRECTOR DE TESIS**

Ing. Mg. Fabián Troya. ....

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

Ing. Mg. Karina Marín. ....

**SECRETARIO DEL TRIBUNAL**

Ing. Mg. Guadalupe López. ....

**OPOSITOR**

## **DEDICATORIA**

*Esta tesis la dedico con mucho cariño y amor a mi Dios y a mis queridos padres Antonio Sillo y Teresa Totasig, quienes me han apoyado moral y económicamente en mi formación académica permitiéndome así alcanzar uno de mis objetivos anhelados a pesar de las dificultades de la vida.*

*A mis hermanos, William, Geremias, Sara, Antonio, Jefferson, Joel, Jhon, por mantener y cultivar en todos nosotros el amor, el respeto, la unión familiar, por su comprensión y el apoyo incondicional que me han brindado la cual me ha dado fuerza y voluntad para seguir adelante.*

*A mi esposa Bertha y a mi pequeña Shirley, porque han brindado su apoyo incondicional y por compartir conmigo buenos y malos momentos.*

*Gracias por todo los quiero mucho...*

***Ruben Sillo T.***

## AGRADECIMIENTO

*Primero agradezco a Dios por toda las bendiciones que he recibido de el en el momento indicado y por estar a mi lado en cada paso que doy la cual me ayudado a salir adelante de toda las adversidades de la vida.*

*A la Universidad Técnica De Cotopaxi, en especial a la Carrera de Ingeniería Agronómica, quien me ha dado la oportunidad de acurrucarme en su manto de sabiduría y conocimiento.*

*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 eterno y sincero agradecimiento al Ing. Mg. Edwin Chancusig, Director de Tesis por su invaluable dirección en el desarrollo de este trabajo de investigación por compartir sus conocimientos y por su colaboración técnica en el desarrollo de la investigación.*

*Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que les encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.*

*A mis amigos y todas las personas que colaboraron y confiaron en mí para culminar este trabajo de investigación.*

*Muchas Gracias...*

**Ruben Sillo T.**

## RESUMEN

El cultivo de la Lechuga (*Lactuca sativa*), es importante en la economía de Serra centro del país, dentro de este ciclo de cultivo, la incidencia de enfermedades provocadas por hongos el principal enfermedad es la podrición de la planta que a ocasionando la mayor pérdida de producción en aumento razón por la cual hace necesario la **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATOGENOS EN EL CULTIVO DE LA LECHUGA (*Lactuca sativa*) EN EL SECTOR DE SAN BUENAVENTURA – COTOPAXI. 2014”**esto nos ayuda para un adecuado manejo del cultivo de manera que nos permita evitar que esta enfermedad tenga un efecto significativo en el rendimiento por tal razón el objetivo de esta investigación fue caracterizar morfológicamente el hongo que ataca mayormente en la producción en el cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa*) que afecta en la zona de San Buena Ventura.

También la presente investigación es con el objetivo generar, sistematizar y estandarizar la información gráfica de hongos en medios digitales de las macro y micro estructuras del hongo, el trabajo se efectuó mediante imágenes de alta resolución capturadas con equipos de tecnología avanzada en donde se identifica cada una de las partes del hongo (*Botrytis cinérea*), donde se describe su ciclo de vida en condiciones controladas realizando la siembra y el aislamiento del patógeno en cajas Petri en un medio de cultivo papa – dextrosa – agar, con la duración de cuatro días a una temperatura de 23 y 25°C.

## ABSTRACT

The cultivation of lettuce (*Lactuca sativa*), is important in the economy of the Sierra center of the country, within this cycle of cultivation, the incidence of diseases caused by fungi the main disease is the Rot of the plant that to causing the greatest loss of production on the increase for which reason makes necessary the **"MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF PHYTOPATHOGENIC FUNGI IN THE CULTIVATION OF LETTUCE (*Lactuca sativa*), IN SAN BUENAVENTURA'S AREA - COTOPAXI, 2014"**. This helps us to ensure proper management of the crop in a way that will enable us to prevent this disease and has a significant effect on the performance by such reason the objective of this research was to characterize morphologically the fungus attacking mostly in production in the cultivation of lettuce (*Lactuca sativa*), which affects in the area of San Buena Ventura.

Also the present investigation is with the objective of generating, systematize and standardize the graphical information of fungi in digital media of the macro and micro structures of the fungus, the work was performed using high-resolution images captured with advanced technology equipment where it identifies each one of the parts of the fungus (*Botrytis cinérea*), which describes its life cycle in controlled conditions making the sowing and the isolation of the pathogen in Petri' Boxes in a medium of Potato - dextrose - agar, with the duration of four days at a temperature of 23 and 25°C.



## ÍNDICE GENERAL

AUTORÍA .....	ii
AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS.....	iii
AVAL DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL .....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO .....	vi
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT .....	viii
INTRODUCCIÓN .....	xvi
JUSTIFICACIÓN.....	xvii
OBJETIVOS.....	xviii
PREGUNTAS DIRECTRICES.....	xix
CAPITULO I.....	20
1. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	20
1.1. LECHUGA ( <i>Lactuca sativa</i> ).....	20
1.1.1. Origen y Distribución Geográfica.....	20
1.1.2. Características Botánicas.....	20
1.1.3. Descripción de la Planta.....	21
1.1.4. Taxonomía.....	21
1.2. ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE LA LECHUGA CAUSADAS POR HONGOS .....	22
1.2.1. Antracnosis ( <i>Marssonina panattoniana</i> ).....	22
1.2.2. Botrytis o moho gris ( <i>Botrytis cinérea</i> ).....	22
1.2.3. Mildiu velloso ( <i>Bremia lactucae</i> ).....	23
1.2.4. Esclerotinia ( <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ).....	23
1.3. LA BOTRYTIS.....	23
1.3.1. Generalidades.....	23
1.3.2. Hongos del género BOTRYTIS.....	24

1.3.2.2. Taxonomía del genero botrytis.....	26
1.3.2.3. Características biológicas del género botrytis.....	27
1.3.3. Características morfológicas de botrytis.....	27
1.4. PUDRICIÓN CAUSADA POR EL HONGO ( <i>Botrytis cinérea</i> .....	27
1.4.1. Características.....	28
1.4.2. Síntomas.....	29
1.4.3. Epidemiología.....	29
1.4.4. Nutrición del patógeno.....	30
1.4.5. Fuentes de inóculo del patógeno.....	30
1.4.6. Hibernación del hongo patógeno.....	30
1.4.7. Asociación del patógeno con otros microorganismos.....	30
1.5. Características morfológicas de hongos.....	31
1.5.1. Tipos de talos.....	31
A. Talos fruticulosos.....	31
1.5.2. Micelio.....	31
1.5.3. Hifas.....	32
1.5.4. Conidio.....	32
1.5.5. Conidióforo.....	33
CAPÍTULO II.....	34
2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	34
2.1. Materiales.....	34
2.1.1. Institucionales.....	34
2.1.2. Recursos Humanos.....	34
2.1.3. Materiales de oficina.....	34
2.1.4. Materiales de campo.....	35
2.1.5. Materiales de aseo.....	35
2.1.6. Reactivos de aseo.....	35
2.1.7. Materiales de laboratorio.....	35
2.1.8. Reactivos de laboratorio.....	36

2.1.9. Equipos .....	36
2.2. Diseño Metodológico .....	37
2.3. Métodos y Técnicas.....	37
2.3.1. Método descriptivo analítico .....	37
2.3.2. Método deductivo .....	37
2.3.2. Método comparativo.....	38
2.3.4. Técnicas .....	38
2.3.4.1. Observación .....	38
2.4. Metodología.....	38
2.4.1. Recolección de la muestra en campo .....	38
2.4.2. Tratamiento de las muestras en laboratorio .....	39
2.4.3. Preparación del medio de cultivo .....	39
2.4.4. Siembra.....	40
2.4.5. Cultivo del hongo .....	40
2.4.6. Identificación .....	40
2.4.8. Caracterización Morfológica .....	41
CAPITULO III .....	42
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
3.1. Determinación del hongo fitopatógeno .....	42
3.2. Identificación de signos y síntomas del hongo .....	44
3.3. Caracterización de macro y microestructuras del patógeno .....	46
3.3.1 Microestructuras.....	48
3.4. Descripción del ciclo de vida del patógeno en condiciones de laboratorio....	51
CONCLUSIONES .....	53
RECOMENDACIONES .....	54
GLOSARIO TÉCNICO .....	55
BIBLIOGRAFÍA .....	59
<b>ANEXO 1. FOTOGRAFÍAS DE LA RECOLECCIÓN DE MUESTRAS EN CAMPO.....</b>	<b>62</b>
<b>Fotografía 1.Cultivo de la lechuga en campo.....</b>	<b>62</b>

<b>Fotografía 2.</b> Hojas con síntoma de botrytis.....	62
<b>Fotografía 3.</b> Hojas con signos de botrytis.....	63
<b>Fotografía 4.</b> Muestras en fundas hermeticas.....	63
<b>Fotografía 5.</b> Muestras de Hoja lista para almacenar.....	64
<b>ANEXO 2.</b> FOTOGRAFÍAS DE MATERIALES Y EQUIPOS UTILIZADOS ..	65
<b>Fotografía 1.</b> Mecheros de alcohol.....	65
<b>Fotografía 2.</b> Destilador de agua.....	65
<b>Fotografía 3.</b> Microscopio trinocular CX31 con cámara científica.....	66
<b>Fotografía 4.</b> Incubadora IN110.....	66
<b>Fotografía 5.</b> Autoclave semiautónoma 2540_23 litros.....	67
<b>Fotografía 6.</b> Anaquel con todos los materiales de laboratorio.....	67
<b>Fotografía 7.</b> Cámara de flujo laminar aurora con base.....	68
<b>Fotografía 8.</b> Refrigeradora R1_425 QUERZO INDURAMA.....	68
<b>ANEXO 3.</b> FOTOGRAFÍAS DE LA PRACTICA .....	69
<b>Fotografía 1.</b> Preparación de medio de cultivo PDA.....	69
<b>Fotografía 2.</b> Colocación de medio de cultivo en las cajas.....	69
<b>Fotografía 3.</b> Siembra de hongo en caja petri.....	70
<b>Fotografía 4.</b> Revisión de las cajas Petri después de 4 días.....	70
<b>Fotografía 5.</b> Porta objetos listos con muestra de micelio.....	71
<b>Fotografía 6.</b> Observación al microscopio de las porta objetos.....	71
<b>ANEXOS 4.</b> FOTOGRAFÍAS DE LA VISITA DEL TRIBUNAL .....	72
<b>Fotografía 1.</b> Visita al laboratorio.....	72
<b>ANEXOS 5.</b> Fotografías del proceso de ( <i>Botrytis cinerea</i> ) en laboratorio .....	73
<b>Fotografía 1.</b> Propagación de bacterias y hongos contaminantes.....	73
<b>Fotografía 2.</b> Reproducción de un hongo blanco contaminante.....	73

<b>Fotografía 3.</b> Obtención de un hongo de micelio blanco.....	74
<b>Fotografía 4.</b> Contaminación de todas las muestras por mal uso de laboratorio..	74
<b>Fotografía 5.</b> De la caja izquierda se resembro a la derecha, las dos contaminadas por el mal uso del laboratorio.....	75
<b>Fotografía 6.</b> Almacenamiento de las cajas Petri en la refrigeradora.....	75
<b>Fotografía 7.</b> Cajas Petri contaminadas 10 días después de la siembra.....	76
<b>Fotografía 8.</b> Cajas Petri con hongo endófito contaminadas.....	76
<b>Fotografía 9.</b> Obtención de <i>Botrytis cinérea</i> , contaminado con hongos.....	77
<b>Fotografía 10.</b> Obtención de <i>BOTRYTIS CINEREA</i> .....	77
<b>Fotografía 11.</b> Obtención de <i>Botrytis cinérea</i> en medio de cultivo maíz destroza agar, libre de bacterias, presenta una coloración distinta del micelio.....	78
<b>Fotografía 12.</b> Obtención de <i>Botrytis cinérea</i> en medio de cultivo papa destroza agar, libre de bacterias, presenta una coloración distinta del micelio.....	78
<b>Fotografía 13.</b> Obtención de <i>Botrytis cinérea</i> en medio de cultivo destroza agar, libre de bacterias en tres aislamiento, presenta una coloración distinta.....	79
<b>Fotografía 14.</b> Obtención de <i>Botrytis cinérea</i> en medio de cultivo avena destroza agar, libre de bacterias en tres aislamiento, presenta una coloración distinta.....	79
<b>Fotografía 15.</b> Obtención de un hongo de coloración blanco café que corresponde al hongo en estudio.....	80
<b>Fotografía 16.</b> <i>Botrytis cinérea</i> en medio de cultivo destroza agar, almacenado 20 días en la refrigeradora, presento cambios en su ciclo de vida.....	80
<b>ANEXOS 6</b> .....	81
<b>COSTOS</b> .....	81
<b>ANEXO 7. GUÍA DIDÁCTICA DE LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE (<i>Botrytis cinérea</i>) EN EL CULTIVO DE LA LECHUGA (<i>Lactuca sativa</i>).....</b>	<b>82</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Identificación de signos y síntomas del hongo botrytis ( <i>Botrytis cineria</i> ) en el cultivo de la lechuga ( <i>Lactu sativa</i> ).....	44
<b>Tabla 2.</b> Caracterización de macro y microestructura del patógeno.....	46
<b>Tabla 3.</b> Descripción del ciclo de vida del patógeno en condiciones de laboratorio.....	51

## INDICE DE IMÁGENES

<b>Imagen 1.</b> Toma de muestra es San Buenaventura, en el cultivo de la lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> ).....	45
<b>Imagen 2.</b> Botrytis ( <i>Botrytis cineria</i> ) en la planta.....	46
<b>Imagen 3.</b> Desarrollo del micelio.....	47
<b>Imagen 4.</b> Hongo desarrollado de botrytis.....	47
<b>Imagen 5.</b> Micelio.....	48
<b>Imagen 6.</b> Talo.....	49
<b>Imagen 7.</b> Conidióforos y conidios.....	50
<b>Imagen 8.</b> Ciclo del hongo.....	52

## INTRODUCCIÓN

En el Ecuador se encuentran una gran variedad de lechuga (*Lactuca sativa*), tienen gran importancia económica, alimentación y otras formas culinarias en el mundo.

El hecho de que el consumo de la lechuga orgánica (de hoja) se haya popularizado en el país y esté siendo demandada en el extranjero se debe a sus bondades nutricionales pues es fuente de vitaminas y minerales, teniendo una bajo contenido de azúcares, por lo que es el ingrediente básico de las dietas bajas en calorías. (SUAREZ PEREZ, 1992)

De acuerdo con el informe anual del Sistema de información Geográfico Agropecuaria (Sigragro), Durante 2005, en el Ecuador se destinaron unas 1 288 hectáreas para el cultivo de lechugas, lo que generó una producción aproximada de 7 680 toneladas métricas. La provincia que tiene la mayor producción es Tungurahua, con 3 256 Tm de lechuga cultivadas en un área de 640 hectáreas, seguida de Chimborazo con 2 560 Tm en una extensión de 366 hectáreas. Pichincha se coloca en tercer lugar con 68 hectáreas y una producción de 548 tm. Carchi, Imbabura, Azuay y Loja mantiene promedios de entre 45 y 49 hectáreas de sembríos, mientras que Cotopaxi y Cañar registran 4 y 29 hectáreas, respectivamente. Estas cifras, según el estudio, no variaron en los primeros seis meses de 2006. (DIARIO, 2007)

La información acerca de los hongos fitopatógenos permitirá a los productores mejorar la calidad de sus producciones.

La presente investigación: “Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de la Lechuga (*Lactuca sativa*.), en el Sector San buena Ventura” 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.



## JUSTIFICACIÓN

El proceso que se da a esta investigación es lograr con éxito identificar las enfermedades que afectan y la poca información sobre los hongos Fitopatógenos que se presentan en el cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa*) causa de los problemas a los agricultores de Cotopaxi por esa razón este tema es vital importancia para el productor en un alza en su economía y una baja en inversiones y gastos innecesarios ya que dotará de información entendible y de fácil asimilación representando una herramienta de conocimiento exacto del desarrollo de los patógenos.

Ya que esta enfermedad es un hongo Fitopatógeno que infecta una amplia variedad de hortalizas, esto causa que cualquier intento de control exija un conocimiento amplio para el manejo de esta enfermedad, para lo cual elaboraremos un manual de esta enfermedad para ayudar al agricultor.

Se podrá cambiar muchos planteamientos de un manejo integrado eficiente de las enfermedades la presente investigación tiene un gran aporte social ya que toda la información se la compartirá con todas las personas interesadas en el ámbito de la producción incluyendo métodos de control químico, cultural y biológico permitiendo una producción de mayor calidad y cantidad y sana producción del cultivo.

## **OBJETIVOS**

### **General**

- Caracterizar morfológicamente el hongo fitopatógeno que causa mayor impacto en la producción en el cultivo de la Lechuga (*Lactuca sativa.*), sector San Buenaventura-Cotopaxi. 2014.

### **Específicos**

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

## **PREGUNTAS DIRECTRICES**

- ¿Se reconocerá signos y síntomas del hongo fitopatógeno del cultivo de la Lechuga (*Lactuca sativa*) en base a la observación realizada?
- ¿Cuál es el hongo fitopatógeno que afecta a la Lechuga (*Lactuca sativa*) en el sector de San Buenaventura?
- ¿Determinar cuáles son las características del hongo fitopatógenos encontrado?

# CAPITULO I

## 1. FUNDAMENTO TEÓRICO

### 1.1. LECHUGA (*Lactuca sativa*)

#### 1.1.1. Origen y Distribución Geográfica

El origen de la lechuga (*Lactuca sativa*) no es muy preciso, algunos piensan que procede de la India, y otros de regiones templadas de Europa, Asia y América del Norte. Se cree que se comenzó a cultivar hace alrededor de 2500 años, siendo utilizada por persas, griegos y romanos. Los egipcios también, forman parte de su historia, de hecho la lechuga se vinculó al Dios Min (Dios lunar, de la fertilidad y la vegetación) debido a sus propiedades afrodisíacas. (INFOAGRO, 2013).

La horticultura en el Ecuador ha crecido paulatinamente a partir de la década de los años 90, debido a que los hábitos alimenticios de la población han cambiado positivamente hacia un mayor consumo de hortalizas en su dieta diaria y a las exportaciones de algunas hortalizas como el brócoli, el espárrago, la alcachofa; adicionalmente se está desarrollando la industrialización de algunos productos hortícolas, orientados al mercado externo (FAO, 2004).

Todas las enfermedades de las plantas de interés agrícola son todas, se estima que, al menos, 2/3 de ellas se deben a hongos fitopatógenos, ya sea especializados o generalistas. Entre los géneros de hongos más frecuentes, más distribuidos y más agresivos en plantas está *Botrytis* y sus representantes. (FAO, 2004).

#### 1.1.2. Características Botánicas

Según (INFOAGRO, 2013) menciona que las características de (*Lactuca sativa*) son:

### **1.1.3. Descripción de la Planta**

#### **1.1.3.1. Raíz.**

La lechuga tiene raíz pivotante con muchas raíces laterales, posee un sistema radical profundo. La mayor parte de las raíces laterales se desarrollan en la capa superficial del suelo (en los primeros 30 cm). (AGROes, 2012)

#### **1.1.3.2. Tallo**

Es una especie que es muy corto el tallo de la lechuga esto al llegar a la floración puede llegar hasta los 0.50 y 1m, en su etapa de maduración. (AGROes, 2012)

#### **1.1.3.3. Hojas**

Las hojas son simples, en caso de (*Lactuca sativa*) mide de 20 a 30cm de largo). Por lo general las hojas son de color verde claro a verde oscuro y sus nervaduras son bien marcadas. En cualquiera de las especies del género el tamaño de las hojas pueden variar según las condiciones. (INFOAGRO, 2013).

#### **1.1.3.6. Semillas**

Cuyas semillas que en realidad son frutos en forma de aquenios típicos, esta provistas de un vilano plumoso. (INFOAGRO, 2013).

### **1.1.4. Taxonomía**

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae
Género:	Lactuca
Nombre Científico	<i>Lactuca sativa</i>
Nombre Común:	Lechuga

(FERNANDEZ, 1992)

## 1.2. ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE LA LECHUGA CAUSADAS POR HONGOS

### 1.2.1. Antracnosis (*Marssonina panattoniana*).

**Síntomas:** Suele aparecer sobre las hojas más viejas antes que el resto de hojas, con especial predominancia por el nervio central, peciolo y limbo.

Sobre dichas hojas aparecen manchas pequeñas, hundidas, de color amarillento y con un margen rojizo o necrótico. Con el tiempo, dicho anillo rojizo se extiende hacia el interior, necrosando toda la mancha.

**Diseminación:** Las esporas son diseminadas por el viento e insectos.

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

**Control:** Realizar aspersiones foliares de fungicidas a base de cobre. (DIARIO, 2007).

### 1.2.2. Botrytis o moho gris (*Botrytis cinérea*).

**Síntomas:** Comienzan en las hojas más viejas con unas manchas de aspecto húmedo que se tornan amarillas, y seguidamente se cubren de moho gris que genera enorme cantidad de esporas. Si la humedad relativa aumenta, las plantas quedan cubiertas por un micelio blanco, pero si el ambiente es seco se produce una putrefacción de color pardo o negro.

**Diseminación:** mediante viento, suelos infectados, o los restos vegetales que pudieran portar esclerocios o micelio del hongo.

**Sobrevivencia:** Presentes en restos de tejidos enfermos.

**Control:** Respetar las distancias de siembra y revisar en forma semanal el cultivo. Aplicaciones preventivas de fungicidas de contacto y sistémicos con adherentes. (BAYER, Bayercropscience, 2011).

### 1.2.3. Mildiu veloso (*Bremia lactucae*).

**Síntomas:** en las hojas aparecen unas manchas de un centímetro de diámetro y en el envés aparece un micelio veloso; las manchas llegan a unirse unas con otras y se tornan de color pardo.

**Diseminación:** del hongo son transportadas por el viento dando lugar a nuevas infecciones.

**Sobrevivencia:** Sobrevive en residuos de tejidos enfermos que se mantenga húmedos.

**Control:** Eliminar la maleza. Control químico mediante aspersiones foliares de fungicidas a base de cobre. (BAYER, Bayercropscience, 2011).

### 1.2.4. Esclerotinia (*Sclerotinia sclerotiorum*).

**Síntomas:** Sobre la planta produce un marchitamiento lento en las hojas, iniciándose en las más viejas y continúa hasta que toda la planta queda afectada.

En el tallo aparece un micelio algodonoso que se extiende hacia arriba en el tallo principal.

**Diseminación:** Fácilmente por el viento.

**Sobrevivencia:** En las malezas u otros cultivos.

**Control:** Realizar podas de mantenimiento. Aplicación en forma alternada de fungicidas preventivos a base de cobre. (ALVAREZ, 2012).

## 1.3. LA BOTRYTIS

### 1.3.1. Generalidades

Botritis o moho gris de la lechuga (*Botrytis cinerea*). Es una enfermedad que su desarrollo se manifiesta en un clima cálido y húmedo, trae como consecuencia que las hojas más viejas se cubran de manchas de aspecto húmedo y si la humedad es abundante pueden cubrirse la planta de un micelio blanco (INFOAGRO, 2013).

Aparece en forma de manchas húmedas que se tornan amarillas, y seguidamente se cubren de moho gris que genera enorme cantidad de esporas

Las enfermedades causadas por *Botrytis* quizá sean las más comunes y más ampliamente distribuidas de hortalizas, plantas ornamentales, frutales, etc. Son las enfermedades más comunes de las plantas cultivadas en los invernaderos. Estas enfermedades aparecen principalmente en forma de tizones de inflorescencias y pudriciones del fruto, pero también como chanchos o pudriciones del tallo, ahogamiento de las plántulas, manchas foliares y como pudriciones del tubérculo, como un bulbo y raíces. Bajo condiciones húmedas el hongo produce una capa fructífera conspicua de moho gris sobre los tejidos afectados. En este momento, es uno de los problemas más graves de los cultivos protegidos y al aire libre del litoral mediterráneo. (ALARCON, 2007).

Algunas de las enfermedades más importantes ocasionadas por *Botrytis* incluyen al moho gris de la fresa, la pudrición por el moho gris de las hortalizas tales como la alcachofa, frijol, remolacha, col, zanahoria, pepino y berenjena, la pudrición del extremo de la punta de los plátanos, lechuga, pimiento, calabaza, tomate, etc., la pudrición del cuello y tizón de la cebolla, la pudrición del extremo del cáliz de las manzanas, el tizón de las ramitas e inflorescencias de arándanos, el tizón o moho gris de plantas ornamentales como la violeta africana, begonia, ciclámico, crisantemo, dalia, geranio, jacinto, lirio, rosal, tulipán, etc. *Botrytis* también ocasiona las pudriciones blandas secundarias de frutos y hortalizas cuando se almacenan, transportan y venden en el mercado. (ALVAREZ, 2012).

### **1.3.2. Hongos del género BOTRYTIS**

#### **1.3.2.1. Generalidades del patógeno**

El género de (*Botrytis cinérea*), es una enfermedad que su desarrollo se manifiesta en un clima cálido y húmedo, trae como consecuencia que las hojas más viejas se cubran de manchas de aspecto húmedo y si la humedad es abundante puede cubrirse la planta de un micelio blanco.



Las enfermedades causadas por hongos del género *Botrytis* han sido encontradas en casi todos los países del mundo, ocasionando daños en muchas especies de frutales y especies vegetales. (SUAREZ PEREZ, 1992).

Esta enfermedad aparece en forma de manchas húmedas, que se tornan amarillas, y seguidamente se cubren de moho gris que genera enorme cantidad de esporas. (SUAREZ PEREZ, 1992).

Algunas de las enfermedades más importantes ocasionadas por *Botrytis* incluyen al moho gris de la fresa, la pudrición por el moho gris de las hortalizas tales como la alcachofa, frijol, remolacha, col, zanahoria, pepino y berenjena, la pudrición del extremo de la punta de los plátanos, lechuga, pimiento, calabaza, tomate, etc., la pudrición del cuello y tizón de la cebolla, la pudrición del extremo del cáliz de las manzanas, el tizón de las ramitas e inflorescencias de arándanos, el tizón o moho gris de plantas ornamentales como la violeta africana, begonia, ciclamino, crisantemo, dalia, geranio, Jacinto, lirio, rosal, tulipán, etc. *Botrytis* también ocasiona las pudriciones blandas secundarias de frutos y hortalizas cuando se almacenan, transportan y venden en el mercado (AGRIOS G. , PLAGAS Y ENFERMEDADES DE LA LECHUGA , 1988).

El micelio se encuentra formado por conjunto de hifas o finalmente tabicados y cilíndricos, los cuales se multiplican de forma vegetativa mediante la división citoplasmática. Se considera una estructura de resistencia y tiene la capacidad de vivir por largo tiempo en las hojas de la planta. (AGRIOS G. , Fitopatología 2 ed, 1999).

A partir de micelio, generalmente envejecido, se forma diversas estructuras tales como los macronidioforos y esclerosis cuya función es la propagación y supervivencia ante condiciones favorables.

Los conidios son las principales estructuras de dispersión y de resistencia del hongo, se consideran de corta duración en el campo y su supervivencia está determinada por la temperatura, humedad, actividad microbiana y la exposición a la luz. Los conidios son capaces de sobrevivir sobre la superficie vegetal,

manteniendo su viabilidad y capacidad infectiva bajo las condiciones adversas (ALVAREZ, 2012).

Las clamidosporas son células de aspecto hialino de alta variabilidad de forma y tamaño. Se consideran estructuras de resistencias bajo condiciones críticas. Se forman a partir de la transformación de algunas partes de micelio y liberadas por la desintegración de las hifas. Bajo condiciones de humedad y sin nutrientes, estas estructuras germinan dando lugar a microconidios que permanecerán en estado latente hasta que se tengan los nutrientes para germinar originando hifas que penetren al huésped, esporulen y formen conidios nuevamente (ALVAREZ, 2012).

Los esclerocios son considerados las estructuras de mayor importancia involucradas en la supervivencia y reproducción del hongo. Pueden sobrevivir bajo condiciones ambientales adversas y producir estructuras llamadas apotecios, las cuales tienen una considerable capacidad de producción de conidios. La formación de estas estructuras está influenciada por varios factores como la temperatura, la luz, el pH y la composición del tejido sobre el cual se desarrollan. Dentro de los esclerocios se encuentra pigmentos melánicos y una reserva de nutrientes. (ESPINOSA, 2006).

### **1.3.2.2. Taxonomía del género botrytis.**

La identificación de un organismo permite conocer los patrones de comportamiento de la especie o del grupo taxonómico. (BAYER, Bayercropscience, 2011).

**Reino**.....Fungi

**Subdivisión**..... Deuteromycota

**Clase**.....Deuteromycetes

**Orden**..... Moniliaceae

**Género**.....*Botrytis*

**Especie**.....Cinérea

(AGRIOS G. , FITOPATOLOGIA , 1988)

### **1.3.2.3. Características biológicas del género botrytis.**

La infección se empieza a desarrollar sobre los tejidos cercanos al suelo, pues la zona del cuello de la planta es donde se inician y permanecen los ataques. Sobre la planta produce un marchitamiento lento en las hojas, iniciándose en las más viejas, y continúa hasta que toda la planta queda afectada. En el tallo aparece un micelio algodonoso que se extiende hacia arriba en el tallo principal. (GUTIERREZ, 2010).

### **1.3.3. Características morfológicas de botrytis.**

Posee conidios hialinos con forma semejante a un huevo formado en ramas de conidióforos sobre la superficie, no en cuerpos de las hojas. La organización de la esporas en forma de racimos da el nombre a este género, en griego botrytis significa grupo de uvas. Forma esclerocios lisos de color negro en forma de barra o hemisferio debajo de la cutícula o la epidermis del huésped y se aferran firmemente a esta.

La especie de botrytis causa comúnmente moho gris. *Botrytis cinérea* causa en ornamentales atizamiento en las hojas vegetativa en el tallo se presenta alargadas hundidas y oscuras. (BAYER, Bayercropscience, 2011).

## **1.4. PUDRICIÓN CAUSADA POR EL HONGO (*Botrytis cinérea*), EN LA LECHUGA (*Lactuca sativa*).**

El moho gris de la lechuga causada por el hongo (*Botrytis cinérea*, es la enfermedad es la principal limitante en la producción de la lechuga, desvalorizando comercialmente la hortaliza. (ALARCON, 2007).

La botrytis de las hojas es la enfermedad más importante del cultivo, por su amplia distribución y por las pérdidas económicas que produce al destruir el producto a cosechar. (ALARCON, 2007).

La demanda de alternativas para el manejo de la enfermedad ha creado la necesidad de realizar estudios básicos orientados hacia el diagnóstico y caracterización de las especies. (CARRASCO, 2003).

### 1.4.1. Características

Las características que tipifican esta epidemia, evidencian varios aspectos; en primer lugar que la precipitación y la temperatura juega un papel definitivo en la infección y severidad del problema, segundo que los patios de infección en la planta son múltiples (las edades, hojas, brotes, pedúnculos, etc.), tercero que el inoculo efectivo incrementa rápida y fácilmente todo el tiempo, es altamente eficiente y presenta características de quiescencia, favoreciéndolo de condiciones adversas sin perder viabilidad, por un tiempo aún no determinado, pero de varias semanas; que las condiciones ecológicas y agronómicas del cultivo son ideales para la epidemia. (CARRASCO, 2003).

Esta enfermedad se presenta cuando las plantas se encuentran en pleno desarrollo vegetativo, la humedad ambiental alcanza un 90% y la temperatura es superior a 17 °C. (SILVA, 1999).

Aunque su nombre científico es algo difícil para quien no haya tenido contacto directo con esta enfermedad, seguro que le sonará el nombre de “**podredumbre gris**” o “**moho gris**”.

Sin embargo hay que especificar algo técnico y particular del mundo de los hongos y es que, por decirlo de alguna manera, esta enfermedad no se llama siempre igual. (*Botrytis cinérea*) se llama así cuando el hongo se encuentra en forma anamórfica, pero también se llama *Botryotinia fuckeliana* en su forma teleomorfa también (*Botrytis vulgaris*).

**Anamorfo:** es un estado reproductivo asexual en el que se produce anamorfos. Para rizar aún más el rizo, cuando dichos anamorfos no son iguales se denomina sinanamorfos.

**Teleomorfo:** es un estado reproductivo sexual.

**Holomorfo:** cuando el hongo está desarrollado, incluyendo su estado anamorfo o teleomorfo.

Por eso, el más famoso es *cinerea*, en su forma anamorfa, ya que suele encontrarse en forma asexual. *Fuckeliana*, que también existe, que casi viene a ser

lo mismo, sería la forma sexual, más rara y desconocida. (AGROMATICA, 2014).

Aunque este hongo lo podemos ver en muchos cultivos, especialmente es temido en la vid. De hecho, el término *botrys* significa racimo o *grupo de uvas*. El término *cinérea* viene de *ceniza*, y es que, como luego veremos en la identificación, aparece un polvillo grisáceo como si de ceniza se tratase.

*Botrys + cinerea = racimo de uvas con ceniza*

### **1.4.2. Síntomas**

Es una enfermedad que su desarrollo se manifiesta en un clima cálido y húmedo, trae como consecuencia que las hojas más viejas se cubran de manchas de aspecto húmedo y si la humedad es abundante pueden cubrirse la planta de un micelio blanco. (SILVA, 1999).

En las hojas de cualquier edad, inicialmente se producen manchas circulares negras, hundidas, de bordes definidos, que aumentan rápidamente de tamaño y se tornan de consistencia húmeda, para luego cubrir casi todo el fruto y finalmente momificarse en la planta o caer al terreno. En condiciones de ambiente muy húmedo y precipitaciones continuas, se produce en el centro de la mancha una coloración blanco, que corresponde a las estructuras de reproducción del patógeno. (SILVA, 1999).

### **1.4.3. Epidemiología.**

Puede ser transportado de planta a planta y de cultivo a cultivo, de varias formas: por el viento, por la lluvia, o por el mismo agricultor. (SEGURA, 1997).

Las esporas son liberadas de los acérvulos solamente cuando hay una abundante humedad, y el salpicado de las gotas de lluvia es un medio común de diseminación. (SEGURA, 1997)

La severidad de la enfermedad está relacionada con las condiciones del medio ambiente, el hongo se inactiva en condiciones de clima seco, luz solar y temperaturas extremas (menor de 18°C o mayor de 25°C). (SEGURA, 1997).

#### **1.4.4. Nutrición del patógeno.**

*(Botrytis cinerea)* es un microorganismo que en la naturaleza vive de la materia orgánica y en ocasiones especiales tiene la capacidad de volverse patógeno, prefiriendo atacar tejidos muy jóvenes o tejidos muy viejos y físicamente débiles. Los ataques más severos a las hojas ocurren cuando coinciden el estado más susceptible del cultivo (en las hojas viejas) con un tiempo lluvioso y días de permanente humedad relativa, mayor del 90%. (SANDOVAL, 2014).

#### **1.4.5. Fuentes de inóculo del patógeno.**

Las fuentes de inóculo se encuentran en las hojas, cuando exista una mayor humedad relativa. (SANDOVAL, 2014).

#### **1.4.6. Hibernación del hongo patógeno.**

El hongo hiberna en los restos de plantas afectadas, así como en las semillas; produce infecciones leves del follaje y tallos jóvenes que pueden pasar inadvertidas, pero que le permiten sobrevivir y reproducirse hasta que el fruto empieza a madurar y se hace susceptible a la infección. Las altas temperaturas y la gran humedad que prevalecen cuando ocurre la maduración de los frutos, favorecen la infección y propagación del hongo, conduciendo frecuentemente a epidemias destructivas. (CARRASCO, 2003).

#### **1.4.7. Asociación del patógeno con otros microorganismos**

Este patógeno tiene gran facilidad para asociarse con otros microorganismos, especialmente con bacterias del tipo *Pseudomonas*, que actúan en asocio (sinergismo) y le permiten una mejor germinación y formación de órganos que le facilitan la infección (apresorio), mientras la bacteria se beneficia, obteniendo del lugar donde producen las esporas elementos nutritivos como el hierro para formar metabolitos. (SILVA, 1999).

## **1.5. Características morfológicas de hongos.**

### **1.5.1. Tipos de talos.**

#### **A. Talos fruticulosos.**

No aplicados al sustrato, sólo adheridos al sustrato por una superficie de fijación reducida.

Pueden ser erectos, péndulos o extendidos, hay varios tipos:

Cilíndricos, ramificados: *Usnea*, *Alectoria*.

Laciniados: *Evernia*, *Ramalina*, *Cetraria*.

#### **B. Talos foliáceos.**

Extendidos sobre el sustrato.

Fijados por un conjunto de ricinas: *Xanthoria*, *Physcia*.

Unidos por un solo punto, talos umbilicados: *Umbilicaria*, *Dermatocarpon*.

#### **C. Talos escuamulosos.**

Formados por un conjunto de escamas más o menos cercanas, contiguas o imbricadas, con un borde no adherido al sustrato: *Psora decipiens*

#### **F. Talos gelatinosos.**

Negrucos, coriáceos y friables cuando secos pero al menos pulposos, flexibles y traslúcidos cuando húmedos.

Ficobionte siempre cianofita: *Collemanigrescens*.

#### **G. Talos filamentosos**

Formados por filamentos muy finos enmarañados, con aspecto lanoso, extendidos sobre el sustrato.

Constituidos por una clorofita del género *Trentepohlia*, con los filamentos cubiertos por una vaina de hifas: *Ephebelanata* con *Stigonema*), *Cystocoleus*, *Racodium*. (LICHEN, 2014).

### **1.5.2. Micelio**

Masa entretejida de filamentos de una célula de espesor.

## **Tipos de micelio**

**A.** Micelio vegetativo, que crece por toda la superficie del sustrato (suelo, alimento, tejido vegetal) y tiene como función absorber nutrientes del sustrato al penetrar en él y fijar el hongo al sustrato.

**B.** Micelio aéreo o reproductor, que produce esporas sexuales y asexuales. (IMAI CELA, 2001).

### **1.5.3. Hifas**

Es la unidad vegetativa en la estructura de los hongos.

Su forma es filamentosa y de tipo tubular con paredes celulares, pudiendo presentar tabiques (hifas septadas) o no (hifas aseptadas) y que contienen en su interior citoplasma que viene a ser una sustancia similar a la clara de huevo junto con pequeñas estructuras con morfologías y funciones determinadas denominadas organoides. (ALVAREZ, 2012).

El conjunto de hifas forman un entretejido que constituye el micelio (hongo) y sus frutos son las setas. (ALVAREZ, 2012).

#### **1.5.3.1. Tipos de hifas**

**GENERATIVAS:** Producen estructuras fértiles y con paredes delgadas, septadas (con septos o paredes transversales) y con fibulas presentes o ausentes.

**ESQUELÉTICAS:** Aseptadas (sin septos o paredes transversales), no ramificadas, con paredes gruesa, hialinas o coloreadas.

**ENVOLVENTES:** Aseptadas, con paredes gruesas, ramificadas y extremos terminados en punta (acuminados). (ALVAREZ, 2012).

### **1.5.4. Conidio**

Un conidio es una espora asexual inmóvil formada directamente a partir de una hifa o célula conidiógena o esporógena. Aparecen en hongos: Zygomycetes, Ascomycetes y algunos Basidiomycetes. El término Deuteromycetes está en desuso pues la tendencia actual es referirse a estos hongos mediante los grupos principales mencionados a los que pertenecen. (ALVAREZ, 2012).



Aunque muchas especies de hongos han perdido la capacidad de producir estructuras sexuales y se reproducen sólo asexualmente, es posible ubicarlos en alguno de los grandes grupos de hongos mencionados anteriormente, mediante análisis morfológico o molecular. El término conidio se utiliza también como sinónimo de exospora, esporas de las bacterias fungoides del grupo de los Actinomycetes, como las del género *Streptomyces*. (ALVAREZ, 2012).

Los Conidios son esporas asexuales que a menudo están pigmentadas y son resistentes a la desecación. Los conidios sirven para dispersar al hongo hacia nuevos hábitats. Cuando estos se forman el color blanco del micelio cambia y toma el color de los conidios que puede ser negro, verde azulado, rojo, amarillo o marrón. (ALVAREZ, 2012)

#### **1.5.5. Conidióforo**

En ciertos hongos, la conidiófora o conidióforo estructura microscópica especializada en la producción asexual de miles de esporas llamadas conidios. Se localizan en el extremo de hifas las cuales levantan la conidiofora en el aire con el fin de esparcir las esporas con más eficiencia. Algunas conidioforas (en el *Geotrichum candidum*, por ejemplo) son de un filamento, mientras que otras (en el *Trichoderma viride*, por ejemplo) son ramificadas.

Los conidióforos se localizan aislados o en conidio más siendo la morfología de éstos (picnidios, acérvulos, sinemas o esporodoquios) un carácter taxonómico importante en hongos imperfectos. (ALVAREZ, 2012).

## **CAPÍTULO II**

### **2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **2.1. Materiales**

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

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

##### **2.1.2. Recursos Humanos**

- Autor: Ruben Sillo Totasig
- Director de tesis: Ing. Edwin Chancusig
- Miembros del Tribunal:

Ing. Agr. Fabian Troya

Ing. Agr. Karina Marín

Ing. Agr. Guadalupe López

##### **2.1.3. Materiales de oficina**

- Computador
- Internet
- Flash memory
- Cd o DVD
- Hojas formato A4

#### **2.1.4. Materiales de campo**

- Muestras de la lechuga infectados con (*Botrytis cinérea*)

#### **2.1.5. Materiales de aseo**

- Escoba
- Trapeador
- Franela
- Papel de cocina
- Zapatones
- Guantes
- Mascarillas
- Cofias
- Mandil

#### **2.1.6. Reactivos de aseo**

- Kalipto
- Alcohol
- Yodo

#### **2.1.7. Materiales de laboratorio**

- Pinzas
- Lámpara de alcohol
- Laminas porta-objetos
- Cubre objetos
- Hojas de bisturí estéril
- Vasos de precipitación de 50 ml, 100 ml, 600 ml y 1000 ml
- Erlenmeyer de 500 ml y 1000 ml
- Asa de inoculación de cromo
- Cajas mono Petri descartables
- Papel parafilm
- Juego de botellón de agua

- Papel aluminio
- Cajoneras de plástico
- Colador
- Tijeras
- Cintas de pH
- Varilla de agitación
- Olla

#### **2.1.8. Reactivos de laboratorio**

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

#### **2.1.9. Equipos**

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

## **2.2. Diseño Metodológico**

La metodología descriptiva puntualizo como se ocasionaron los fenómenos a investigar, se ocupó de la descripción de datos y características de una población. (AVILA, 2006)

Esta investigación se realizó dentro del tipo descriptiva, porque para su desarrollo y avance de la investigación necesito ser descrito sigilosamente, la misma que me permitió recopilar información de la característica morfológica que presenta el Hongo Fitopatógeno (*Botrytis cenaria*) en el cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa*).

Además de ser descriptiva por los resultados que fueron procesados y colocados de tal modo que se puedan analizar, discutir y puntualizar el desarrollo conjuntamente el avance del ciclo vital de dicho hongo, evaluó aspectos relevantes que ayudaron a desarrollar la investigación.

## **2.3. Métodos y Técnicas**

### **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 la lechuga (*Lactuca sativa*), esta descripción se realizó a condiciones de laboratorio.

### **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 la característica morfológica que presentan el Hongos fitopatogeno. Identifico signos y síntomas del hongo en el cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa*).

### **2.2.3. Método comparativo**

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

Sólo tenemos una manera de demostrar que un fenómeno es causa de otro; se comparó 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.

### **2.3.4. Técnicas**

#### **2.3.4.1. Observación**

Consistió 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 desarrollan el Hongo (*Botrytis cinérea*), además permitió observar macro y micro estructuras del patógeno. Como instrumento si utilizo el microscopio.

#### **2.3.4.2. 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 (siembra) donde se analizó a detalle y profundidad las características del hongo Fitopatógeno (*Botrytis cinerea*) estructurales, histológicas y espectrales del hongo, la cual nos ayudó a cumplir cada actividad.

## **2.4. Metodología**

### **2.4.1. Recolección de la muestra en campo**

En los cultivares de la lechuga (*Lactuca Sativa*) ubicados en la Parroquia de San Buenaventura del Cantón Latacunga de la Provincia de Cotopaxi, a una altura de 1800 a 2800 m.s.n.m., con Latitud: 34° 37' 56.1788" S y Longitud: 58° 24'

30.4646" W, se tomó muestras de cuatro huertas que presentaban mayor signos y síntomas de estar afectados por (*Botrytis cinerea*) conocido empíricamente en el sector como pudrición.

Se realizó la toma de muestra al azar del hongo fitopatogeno (*Botrytis cinerea*) en el cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa*) recogiendo cinco muestras que presentaba mayor porcentaje de infección presente en el cultivo en las diferentes partes de las hojas y tallos verdes de la planta, donde se realizó la recolección de muestras en los diferentes estados de la planta y se escogió únicamente de las plantas con mayor incidencia del hongo.

No se mostró problemas mayores de contaminación de otros hongos debido las muestras tomadas fueron desinfectadas y colocadas en las fonda ermiticas y las plantas se trasladó al laboratorio en una caja de cartón debido a que la estructura del hongo no se resisten al marchitamiento inmediato.

#### **2.4.2. Tratamiento de las muestras en laboratorio**

En un refrigerador a una temperatura entre 6 y 8°C fueron almacenadas las muestras tomadas en campo, con la finalidad de que el patógeno se mantenga vivo, hasta sembrarlo en el medio de cultivo, tomando en cuenta que este tiempo no sea mayor a 8 días.

#### **2.4.3. Preparación del medio de cultivo**

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

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

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

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

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

#### **2.4.4. Siembra**

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

#### **2.4.5. Cultivo del hongo**

Las cajas Petri ya sembradas las colocamos en la incubadora a una temperatura de 23°C A 25°C para que el hongo se propague de manera más rápida.

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

#### **2.4.6. Identificación**

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



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

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

#### **2.4.7. Aislamiento**

De la caja Petri que contiene el hongo de interés se realizó el aislamiento de botrytis (*Botrytis cinérea*). Para lo cual se realizó el siguiente procedimiento:

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

#### **2.4.8. Caracterización Morfológica**

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

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

## CAPITULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Determinación del hongo fitopatógeno de mayor importancia en la producción de la Lechuga (*Lactuca sativa*).

Durante los últimos años la producción de hortalizas ha experimentado un significativo progreso en cuanto a rendimiento y calidad, dentro de ello la superficie cultivada de lechuga ha ido incrementándose, debido en parte a la introducción de nuevos cultivares y el aumento de su consumo. Es por ello que es importante determinar la producción y rendimiento de estos nuevos cultivares en diferentes épocas de siembra y sistemas de producción como el cultivo orgánico que cada día cobra mayor importancia, porque representa una nueva tendencia que promueve el uso de insumos alternativos a fin de lograr el aprovechamiento adecuado de los recursos existentes localmente para llegar a una producción agropecuaria limpia y sostenida. (SOLAGRO, 2012).

Con un análisis bibliográfico el hongo fitopatógeno de mayor importancia en la producción de la lechuga es la botrytis más conocida por los agricultores como pudrición causada por el hongo (*Botrytis cinérea*) siendo este el agente causal de mayor importancia económica ya que puede provocar pérdidas en la producción de más del 40%, al atacar en estadios verdes y maduros, tal y como menciona (GRANADOS, 2003).

Según menciona (ALARCON, 2007) la botrytis de la lechuga causada por el hongo, es la enfermedad más importante de las que afectan la fruticultura y en la horticultura en el ámbito mundial y nacional, debido a la severidad de los daños que ocasiona, a la magnitud de las pérdidas que genera tanto en producción como en calidad de la cosecha y a la dificultad que se presenta para su control, lo que se comprobó en la visita a campo al recolectar las muestras, y con las


expresiones de los agricultores que afirmaban tener problemas ya varios años con lo que empíricamente le conocen como pudrición, con un rango de pérdidas que oscilan entre el 40 y 50% de la producción por la severidad del patógeno.

Tal y como menciona (ABCAGRO, 2002) es importante determinar la producción y rendimiento de estos cultivos en diferentes épocas de siembra y sistemas de producción como el cultivo orgánico que cada día cobra mayor importancia, producción agropecuaria limpia y sostenida, sin embargo tienen pérdidas en la producción provocados por la pudrición que ataca las hojas tiernas y maduros ocasionando pérdidas representativas en la producción.

Las pérdidas provocadas por el (*Botrytis cinérea*) en cultivos de la lechuga al presentar una necrosis en la hoja en etapas iniciales y pudrición en etapas finales; dañando la presentación del producto ocasionando problemas en la comercialización interna y externa. El agricultor al tratar de controlar esta enfermedad en sus cultivos realizan aplicaciones fitosanitarias con un alto valor económico y social pues utilizan productos con un porcentaje elevado de toxicidad que causa daño al medio ambiente (IDROVO, 2009) y (GRANADOS, 2003).

**3.2. Identificación de signos y síntomas del hongo Botrytis (*Botrytis Ceneria*) en el cultivo de la Lechuga (*Lactuca Sativa*).**

**Tabla 1.** Identificación de signos y síntomas del hongo BOTRYTIS (*Botrytis cinerea*) en el cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa*).

Signos / Síntomas	Bibliografía	Campo	Fotos
Signos	La enfermedad empieza como una mancha de color marrón ligero a gris, sin ningún margen distinto alrededor del área afectada. <i>(Botrytis cinerea)</i>	Se Ratifica la Bibliografiade (AGRIOS G. , PLAGAS Y ENFERMEDADES DE LA LECHUGA , 1988)	

Fuente: Ruben Sillo

**3.2.1. Observación en campo.**

Mediante la observación directa en el lote de cultivo de la (*Lactuca sativa*) me permitió determinar el hongo también conocido como Pudrición gris, es un hongo fitopatógeno altamente polífago responsable del mayor porcentaje de pérdidas económicas en la Industria de frutas y hortalizas frescas a nivel mundial de mayor impacto económico y son los causantes de enfermedades en pre y poscosecha es la botrytis (*Botrytis cinerea*) en el sector de San Buena Ventura Cantón Latacunga.



A: SIGNOS  
B: SINTOMAS

**Imagen 1:** Toma de muestra en San Buenaventura, en el cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa*)

FUENTE: Ruben Sillo

### 3.2. Signos y síntomas

En el momento de realizar un monitoreo el cultivo los síntomas provenientes de botrytis (*Botrytis cinérea*) es fácil de distinguir debido a que empieza como una mancha de color marrón ligero a gris, sin ningún margen distinto alrededor del área afectada. Esta mancha mantiene una textura firme en cuanto crezca y una fina aun completamente cubierta de Botrytis mantendrá su forma original sin deshacerse.

Después de unas días y si las condiciones lo favorecen, quiere decir temperaturas entre (15o – 25o C), un crecimiento gris a marrón constando de millones de esporos aparecerá en la superficie de la planta infectada coincidiendo de esta manera con la bibliografía de (Edu. U., 2012)



**Imagen 2:** Botrytis (*Botrytis cineria*) en la planta

Fuente: Ruben Sillo

### 3.3. Caracterización de macro y microestructuras del patógeno

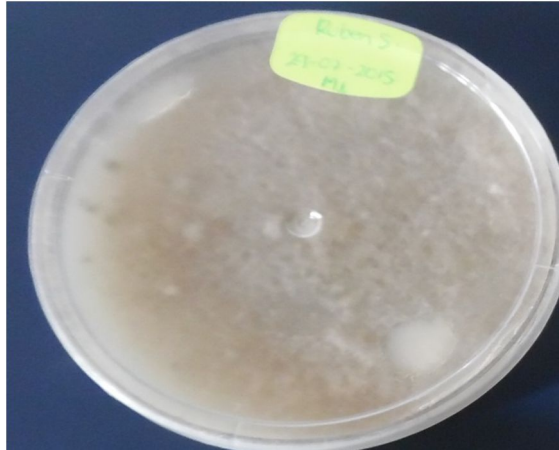
**Tabla 2.** Caracterización de Macro y Microestructuras del Patógeno

CONCEPTUALIZACIÓN	INDICADOR	ÍNDICE	TÉCNICAS	INSTRUMENTO
Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de la Lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> )	Talo	Tipo	Observación	Estereoscopio/ microscopio
	Micelio	Tipo		
	Esporas	Tipo		
	Reproducción	Um		

Fuente: Ruben Sillo

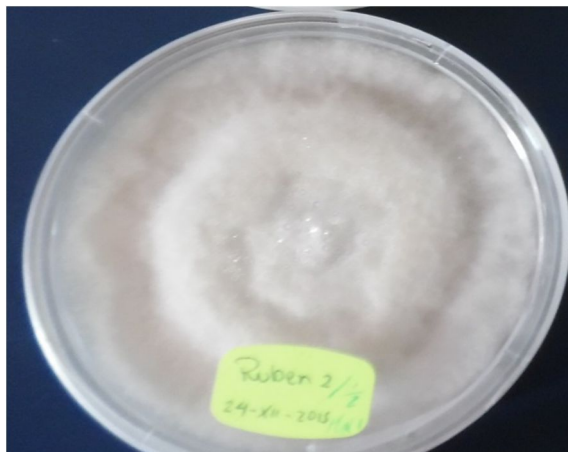
#### Macro estructuras

Los síntomas comienzan en las hojas más viejas con unas manchas de aspecto húmedo que se tornan amarillas, y seguidamente se cubren de moho gris que genera enorme cantidad de esporas. Si la humedad relativa aumenta, las plantas quedan cubiertas por un micelio blanco, pero si el ambiente es seco se produce una putrefacción de color pardo o negro. (FITOSANITARIA, 2008, pág. 120)



**Imagen 3.** Desarrollo del micelio (*Botrytis cinerea*)

Fuente Ruben Sillo



**Imagen 4.** Hongo desarrollado botrytis (*Botrytis cinérea*)

Fuente Ruben Sillo

El hongo después de su identificación se inoculó en el medio de cultivo PDA, en sus primeros estadios presento una acumulación de hifas de color obscuro, con el pasar del tiempo se observa en la imagen contextura algodonosa de color blanco.

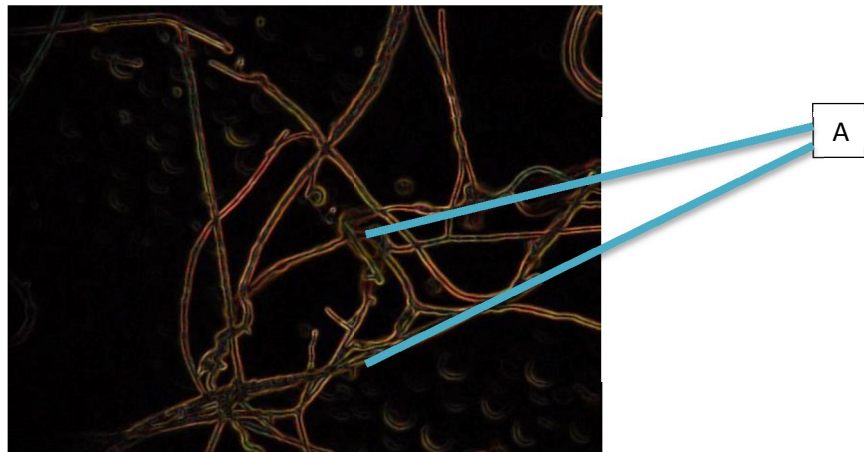
### 3.3.1 Microestructuras

#### 3.3.1.1 Micelio

El micelio es la masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo de un hongo. Dependiendo de su crecimiento se clasifican en reproductores vegetativos.

Los micelios reproductores crecen hacia la superficie los tabiques se observan con claridad sobre la hifa que cruza en diagonal la imagen.

El micelio está constituido por un conjunto de hifas o filamentos tabicados, cilíndricos, que se multiplican vegetativamente mediante división citoplasmática, siendo común que tenga lugar una división nuclear sin que se haya producido división citoplasmática, lo que da lugar a hifas cenocíticas con un elevado y variable número de núcleos. Características morfológicas como son la coloración y el diámetro de las hifas, son muy variables, dependiendo en gran medida de las condiciones de desarrollo del micelio, puede ser de una dimensión entre 15- 25 micras. (AGRIOS G. , 1995)



**Imagen 5.** Micelio (*Botrytis cinérea*)

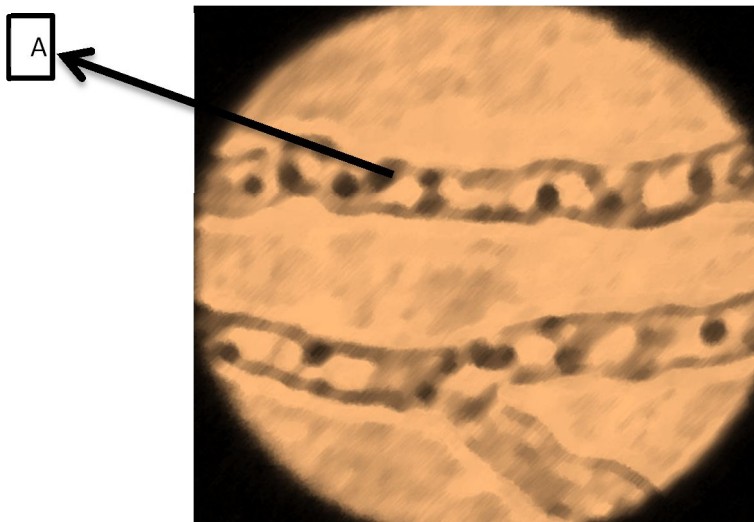
Fuente. Ruben Sillo

(A) El micelio del hongo es la unión de hifas (*Botrytis cinérea*) son hifas cruzadas diagonalmente que se observa con claridad sobre la hifa. El micelio tiene un desarrollo inmerso mide 15 – 25 micras, el micelio el cual resulta de la unión de un grupo de hifas.



### 3.3.1.2. Talo

El talo de los hongos está formado por filamentos microscópicos de una espora que se forma el cuerpo vegetativo o talo del hongo. El talo fúngico más típico es filamentoso (en verdad, los hongos podrían considerarse como pelusas dotadas de vida), y recibe el nombre de micelio. Cada filamento individual del micelio es una hifa. Las hifas pueden estar divididas por tabiques (GAUSSEN, 1891)



**Imagen 6. A. Talo (*Botrytis cinérea*)**

Fuente: Rubén Sillo

El talo que observe en el microscopio del hongo (*Botrytis cinérea*) es un talo septado. En el diámetro de cada uno varia pero no obstante su proximidad es de 20 $\mu$ m.

En la Imagen 6 se puede apreciar el talo de. Obtenido en laboratorio en medio de cultivo PDA.

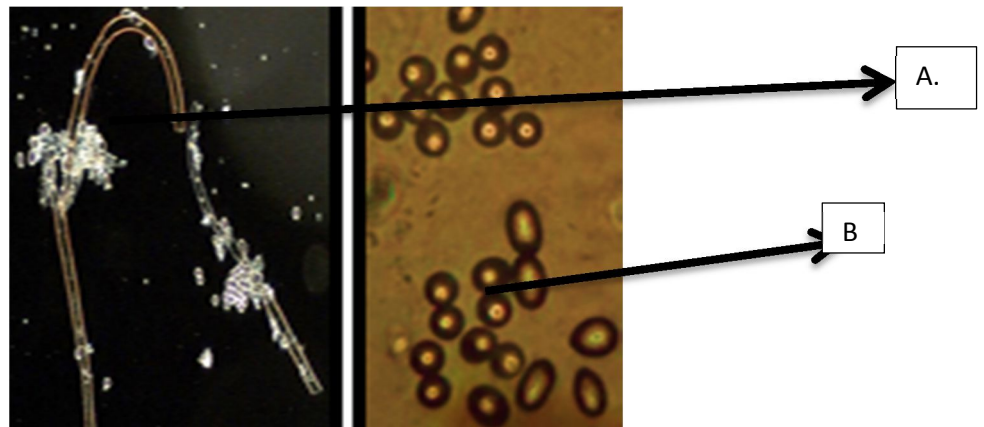
La imagen fue obtenida con ayuda de un microscopio con el lente de 20x, en campo oscuro Ph1 y con intensidad de luz de 5.

### 3.3.1.3. Conidióforos y conidios

Es un hongo que produce pequeños grupos de conidióforos de botrytis está conformado por un grupo de conidios a ovals unicelulares, sostenida por pequeño denticulo esterigma. (RAIMUNDO, 2001)

Los conidióforos se encuentran en grupo de conidios en una forma de ramo de uvas frecuentemente unicelulares y ovaladas color gris oliváceo. La conidia es unicelular y ovulares. (RAIMUNDO, 2001)

Los conidios son estructuras ovaladas, globosas o elípticas, separadas del pedicelo por un septo transversal y sus dimensiones oscilan entre 5-8.4 micras de sección transversal y las 8.8-11 micras de longitudinal y son capaces de sobrevivir sobre la superficie vegetal, manteniendo su viabilidad y capacidad infectiva durante toda la etapa de crecimiento del cultivo. (JUVA, 2012)



**Imagen 7. A: Conidióforos B. Conidios**



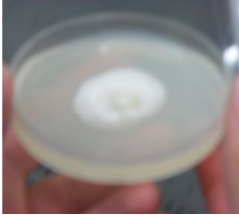

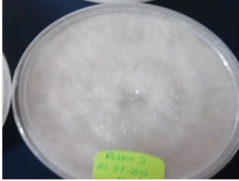
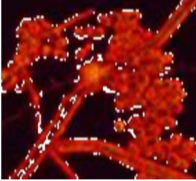

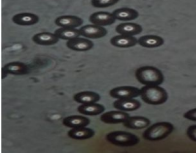
Fuente: Ruben Sillo

(A) Los conidióforos se originan principalmente de la masa hifal. Su estructura consta de un microfilamento más o menos recto, que se ramifica en la zona apical de forma alterna; las ramificaciones constan a su vez de ramificaciones secundarias tiene una dimensión entre 22 – 26 micras.

(B) Los conidios son estructuras ovaladas, globosas o elípticas, separadas del pedicelo por un septo transversal y sus dimensiones oscilan entre 5-8.4 micras de sección transversal y las 8.8-11 micras de longitudinal.

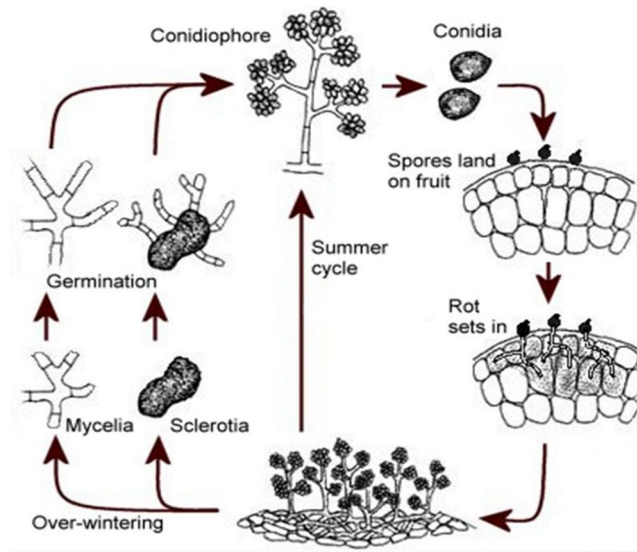
### 3.4. Descripción del ciclo de vida del patógeno en condiciones de laboratorio

**Tabla 3.** Descripción del ciclo de vida del patógeno en condiciones de laboratorio

<i>Actividad</i>	<i>Tiempo/ T°</i>	<i>Imagen</i>	<i>Observación en microscopio</i>	<i>Aumento</i>
Inoculación del hongo	Un día/2°C			20x
Presencia del hongo	3 días			20x
Presencia de conidióforos	8 días			20
Presencia de conidios	15 días			20x

Fuente: Ruben Sillo

Después de haber desarrollado el trabajo en el laboratorio del ciclo de vida del hongo fitopatógeno *Botrytis* (*Botrytis cinérea*) detallado en la tabla numero 5 al momento de realizar una comparación entre el trabajo desarrollado en el laboratorio y la imagen citada bibliográficamente son similares.



**Imagen 8:** Ciclo del hongo FUENTE: (ALCHIMA, 2012)

La siembra se lo realizo utilizando el medio de cultivo PDA en cajas Petri esterilizadas utilizando partes vegetativas ( hojas) del cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa*) donde existía la presencia de pudrición(*Botrytis cinerea*) tomando un trozo de 2 a 5 mm cortándolas con un bisturí previamente desinfectado para proceder a colocarlas con asa de inoculación sobre el medio de cultivo lo cual se lo realizaba en la cámara flujo laminar después lo sellamos con el parafilm correctamente para que no exista ningún tipo de entrada de aire y así colocarlo en la incubadora con la temperatura utilizada de 23°C a 25°C.

Se forman el desarrollo del micelio que es felposo de un color blanco en los cuales se van formando conidios y conidióforos, los conidióforos son de mismo color presenta conidios y hifas que ya en los primeros días se nota claramente que le da su característica como enfermedad, la temperatura adecuada para la producción de conidios y conidióforos en temperatura de 23°C a 25°C.

## CONCLUSIONES

- ✓ Las muestras tomadas en cultivos de la lechuga el porcentaje de pérdidas supera el 40 a 50% en la época lluvias altas se determinó que el agente causal es botrytis (*Botrytis cinerea*).
- ✓ Con la ayuda de los equipos se capturo imágenes de alta definición, de las macro y micro estructuras, del ciclo de vida de la Botrytis (*Botrytis cinérea*) y aplicando diferentes citas bibliográficas se pudo identificar cada uno de los estadios y esto demuestra que se llegó a obtener un resultado positivo.
- ✓ Bajo condiciones controladas en el laboratorio con ayuda de una incubadora a una temperatura de 22°C a 25°C (*Botryits cinérea*) completo su ciclo de vida en una semana, permitiendo documentar, describir cada 24 horas el avance del desarrollo de cada macro y microestructura del hongo en estudio.
- ✓ Los datos obtenidos en la investigación se sintetizaron en una guía didáctica, detallando la caracterización morfológica de (*Botrytis cinérea*).
- ✓ La guía didáctica que se realizó en la presente investigación, que servirá de ayuda informativa tanto para estudiantes que realicen futuras investigaciones, como para los agricultores de sectores productivas de este cultivo, para una oportuna identificación y control del hongo pudrición (*Botrytis cinérea*).

## RECOMENDACIONES

- ✓ Para caracterizar las macro y micro estructuras del hongo se recomienda buscar claves taxonómicas actualizadas con una mejor descripción de macro y micro estructuras.
- ✓ Al momento de trabajar en el Laboratorio tener la mayor asepsia posible porque se puede realizar algún tipo de contaminación, por más mínima que sea siempre desinfectar los materiales que se utilicen
- ✓ Es importante para la investigación realizar una campaña de socialización de los resultados obtenidos, sintetizados en la guía didáctica.
- ✓ Al momento de trabajar con la incubadora se debe programarla con una temperatura de 22 a 25°C, por un intervalo de 15 días que necesita el hongo (*Botrytis cinérea*) para reproducirse, y a su vez no mantenerla abierta por mucho tiempo ya que puede variársela temperaturas y ocasionar daños a las muestras incubadas.
- ✓ Se recomienda continuar con esta investigación para poder identificar la cepa estudiada en el hongo de (*Botrytis cinérea*).

## GLOSARIO TÉCNICO

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

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

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

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

**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.

**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.

**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.

**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).

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

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

**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.

**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.

**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.

**Pudrición de la hoja.** Pudrición o desintegración de todo el tejido de una planta o parte de él.

**Pudriciones blandas y pudriciones secas.** Maceración y desintegración de frutos, raíces, bulbos, tubérculos y hojas carnosas de las plantas.

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

**Sarna.** Lesiones que se producen sobre el fruto, hojas, tubérculos y otros órganos de las plantas hospedantes, por lo común ligeramente realizadas o bien profundas y agrietadas, lo cual les da una apariencia costrosa.

**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.

**Tizón.** Coloración café general y extremadamente rápida de las hojas, ramas, ramitas y órganos florales de una planta, que dan como resultado la muerte de estos órganos.

**Vástago.** Rama tierna de un árbol o planta

**Verrugas.** Protuberancias en forma de verruga que se forman sobre los tubérculos y los tallos.

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

## BIBLIOGRAFÍA

- ABCAGRO. (2002). *CULTIVO DE LA LECHUGA*. Recuperado el 11 de 2015, de <http://www.abcagro.com/hortalizas/lechuga.asp>
- AGRIOS, G. (2007). *Fitología*. Mexico: LIMUSA.
- AGRIOS, G. (1988). FITOPATOLOGIA . MEXICO: 3RA EDICION . Obtenido de
- AGRIOS, G. (1988). *PLAGAS Y ENFERMEDADES DE LA LECHUGA* . MEXICO : LIMUSA .
- AGRIOS, G. (1995). *fitopatologia*. mexico: uthea.
- AGRIOS, G. (1999). *Fitopatologia* . Mexico: LIMUSA.
- AGRIOS, G. (1999). *Fitopatologia 2 ed*. Mexico: LIMUSA.
- AGRIOS, G. (2005). *Plant Pathology*. Nueva York: Academic Press.
- AGRIOS, G. (2007). *Fitopatologia*. Mexico: LIMUSA.
- AGROes, e. ( 2012). <http://www.agroes.es/cultivos-agricultura/cultivos-huerta>
- AGROMATICA. (2014). <file:///F:/descarga.htm>.
- ALARCON, J. (2007). [http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15\(1\)\\_6.pdf](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/agronomia15(1)_6.pdf)
- ALCHIMA. (2012). *CICLO DE HONGO*. Recuperado el 12 de 2015, de <https://www.alchimiaweb.com/blog/que-es-la-botrytis-o-moho-gris/>
- ALVAREZ, B. T. (2012). PRODUCCION AGRICOLA SOSTENTABLE. 23,24. <http://www.micomania.rizoazul.com/microscopia%20las%20hifas.html>
- AVILA, B. (2006). *Fitopatologia 2 ed*. Mexico: LIMUSA.
- BAYER. (15 de 04 de 2011). *Bayercropscience*. Recuperado el 04 de 08 de 2014, de <http://bayercropscience.cl/soluciones/fichaproblema.asp?id=64>
- BAYER. (2015). *BAYER, Problemas Biologicos*. Recuperado el miercoles de mayo de 2015,
- BUITRON, J. L. (2012). *ESTANDARIZACION Y OPTIMIZACION DE MOLECULA DE BOTRYTIS*. <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/5982/1/T-ESPE-034494.pdf>

- CCARRASCO, R. (2003). Recuperado el 07 de 08 de 2015, de <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/24321/2/articulo1.p%20df>
- CRUZ, R. (2004). *la defensa de las plantas cultivadas , tratado practico de fitopatologia y sologia agricola*. Barcelona: Omega.
- DIARIO, H. (2007). *SIGRAGRO*. <http://www.agromatica.es/plagas-y-enfermedades-de-la-lechuga/>
- ESPINOSA, M. (2006). ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENITICA Y ORGANIZACION CROMOSOMICA EN EL HONGO FITOPATOGENO B. CINEREA.  
<https://books.google.com.ec/books?id=bYQfKDwA47wC&printsec=frontcover&dq=antracnosis&hl=es&sa=X&ved=0CBsQ6AEwAGoVChMIopL026-WxwIVxCoeCh0nsACW#v=onepage&q=antracnosis&f=false>
- FALCONI, C. (1995). *PRINCIPALES GENEROS DE HONGOS FITOPATOGENOS*. Quito: USFQ.
- FAO. (2004). *MANUAL VEGETATIVA* .  
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2037/1/T-UCE-0004-37.pdf>
- FERNANDEZ, L. ( 1992). CULTIVO DE LA LECHUGA. MURCIA: IMIDA. R  
<http://www.redaliyc.org/articulo.oa?id=1932008>. ISSN 0258-5936.
- FITOSANITARIA, R. D. (2008). *FITODIACNOSTICO*.  
<http://www.fitodiagnostico.com/Elemento/758b2a2c754e499d9f90a6826c6e5f>
- FRENCH, & HEBERT. (1980). *Metodos de Investigacion Fitopatologia*. Costa Rica: Icca.
- GALLEGOS, P. (1998). *Evaluación de diez variedades dela lechuga (Lactuca sativa) y dos sistemas de plantación. Guaytacama-Cotopaxi*. QUITO.
- GAUSSEN, H. (1891). *Botanica vegetales inferiores*. Vauclense: Reverte.
- GRANADOS, M. (03 de 09 de 2003). *SLIDESHARE*. Recuperado el 08 de 08 de 2015, de <http://es.slideshare.net/milagranados/sintomas-y-signos-2010-97-2003>
- GUTIERREZ, A. S. ( 2010). <http://www.monografias.com/trabajos82/carencia-nutricional-lechuga/carencia-nutricional-lechuga2.shtml>.
- HERRERA, L., & MAYEA, S. (1994). *Fitopatología General*. La Habana, Cuba: Felix Varela.

- IDROVO, N. (25 de 02 de 2009). *GOOGLE*. Recuperado el 10 de 08 de 2015, de <http://tomatederbolproyecto.blogspot.com/>
- IMAICELA, D. (2001). *AULA G-404*. Recuperado el 10 de 08 de 2015, de <http://es.slideshare.net/DianacImaicela/los-hongos-7932466>
- INFOAGRO. (2013).  
[http://www.infoagro.com/industria\\_auxiliar/altas\\_temperaturas](http://www.infoagro.com/industria_auxiliar/altas_temperaturas).  
<http://www.infoagro.com/hortalizas/lechuga.htm>
- JUVA. (2012). *BOTRYTIS CINEREA*. Recuperado el 11 de 2015, de <http://nana-zierra.blogspot.com/2012/04/botrytis-cinerea.html>
- KIMATI, H. (1997). *Manual de Fitopatología*. Sau Paulo: CERES LTDA.
- LICHEN, I. (2014). *Growth Forms*.  
[http://www.plantasyhongos.es/hongos/liquenes\\_talos.htm](http://www.plantasyhongos.es/hongos/liquenes_talos.htm)
- RAIMUNDO, S. V. (2001). *SANIDAD VEGETAL*. Recuperado el 12 de 2015, de <http://es.slideshare.net/rairaimundo/botrytis-r-seplveda>
- ROMERO, JIMENEZ, & DIAZ. (1979). *La mancha Negra*. España: Investigacion Agraria Proteccion Vegetal.
- RONDON, J. (2001). *Estudio biológico y epidemiológico de la antracnosis*.  
[http://www.agronet.gov.co/www/docs\\_si2/20061127103437\\_Estudio%20de%20la%20antracnosis%20en%20tomate%20de%20arbol.pdf](http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/20061127103437_Estudio%20de%20la%20antracnosis%20en%20tomate%20de%20arbol.pdf)
- SANDOVAL, C. (2014). *Manual Técnico Manejo integrado de Enfermedades en cultivos*. Recuperado el 07 de 08 de 2015, de <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/aup/pdf/integral.pdf>
- SEGURA, E. (1997).  
<http://www.bayercropscience.com.pe/web/index.aspx?articulo=347-Op.Cit.->
- SILVA, E. (1999). Recuperado el 07 de 08 de 2015, de <http://cultivotomatedearbol.blogspot.com/-Op.Cit.->
- SOLAGRO. (2012).  
<http://www.solagro.com.ec/web/cultdet.php?vcultivo=LECHUGA>.  
<http://www.solagro.com.ec/web/cultdet.php?vcultivo=LECHUGA>
- SUAREZ PEREZ, R. (1992). *plagas y Enfermedades y su control*. pueblo y educacion. <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis239.pdf>

## ANEXO 1

### 2. FOTOGRAFÍAS DE LA RECOLECCIÓN DE MUESTRAS EN CAMPO



**Fotografía 1.** Cultivo de la lechuga en campo con enfermedad.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 2.** Hojas con síntomas de Botrytis.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 3.** Hoja con signos de botrytis.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 4.** Muestras de hojas con Botrytis en fundas herméticas.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 5.** Muestras de Hoja listas para ser almacenadas en la refrigeradora a una temperatura entre 6 y 8°C.

FUENTE: Ruben Sillo



## ANEXO 2

### FOTOGRAFÍAS DE MATERIALES Y EQUIPOS UTILIZADOS



**Fotografía 1.** Mecheros de alcohol.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 2.** Destilador de agua waterwise 9000.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 3.** Microscopio Trinocular CX31 con Cámara científica infinity 1-2CB

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 4.** Incubadora IN110.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 5.**Autoclave semiautomática 2540-23 litros

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 6.** Anaquel con todos los materiales del laboratorio

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 7.**Cámara de flujo laminar aurora mini con base.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 8.**Refrigeradora R1-425 QUARZO INDURAMA.

FUENTE: Ruben Sillo

### ANEXO 3

## FOTOGRAFÍAS DE LA PRÁCTICA



**Fotografía 1.** Preparación de medio de cultivo PDA.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 2.** Colocación del medio de cultivo en las cajas Petri, luego de haber sido esterilizado en la autoclave.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 3.** Siembra de pedazos de hoja con (*Botrytis cinérea*) en las cajas Petri con ayuda de una pinza, todo el trabajo dentro de la cámara de flujo laminar.

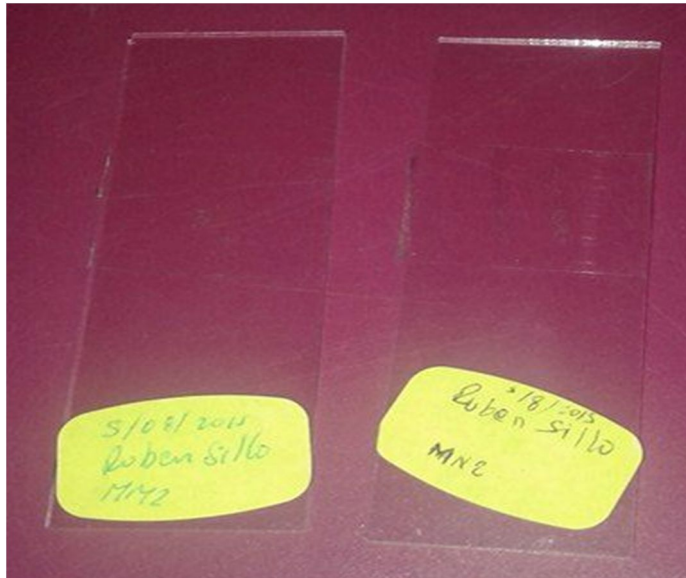
FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 4.** Revisión de las cajas Petri después de 4 días de la siembra, se puede observar un hongo endófito de color blanco.

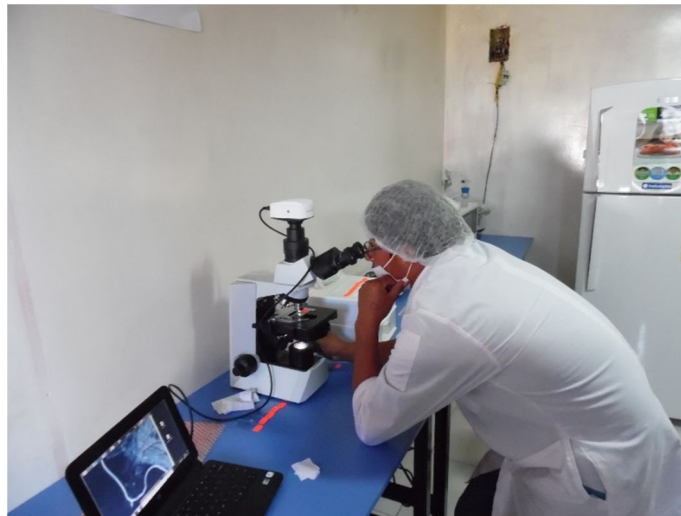
FUENTE: Ruben Sillo





**Fotografía 5.** Porta objetos listos con muestras de micelio obtenidos de la siembra en las cajas Petri para observar en el microscopio, las muestras son cogidas con pedazos de cinta adhesiva transparente.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 6.** Observación al microscopio de las placas porta objetos, fotografiándolas con ayuda de la cámara científica instalada en el microscopio.

FUENTE: Ruben Sillo

## ANEXOS 4

### FOTOGRAFÍAS DE LA VISITA DEL TRIBUNAL

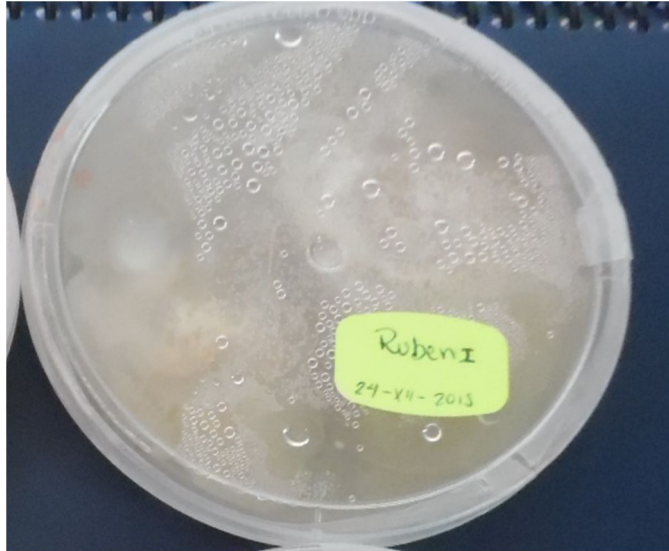


**Fotografía 1.** Visita al laboratorio del Ing. Edwin Chancusig.  
FUENTE: Ruben Sillo



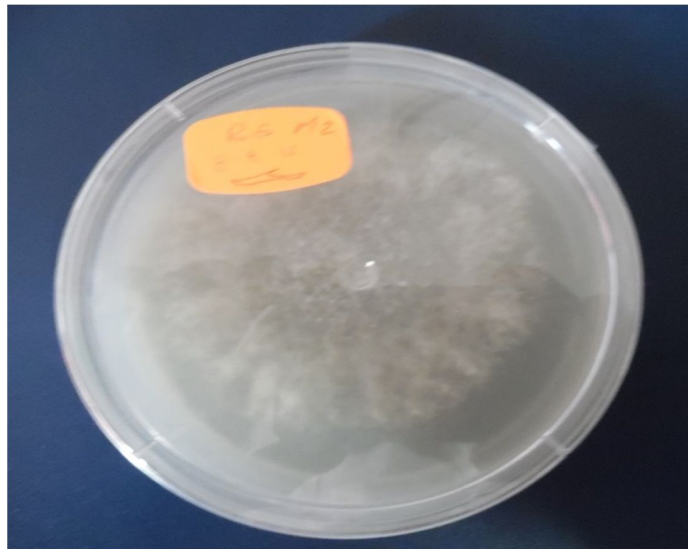
## ANEXOS 5

### FOTOGRAFÍAS DEL PROCESO DE OBTENCION DE (*Botrytis cinerea*) EN LABORATORIO



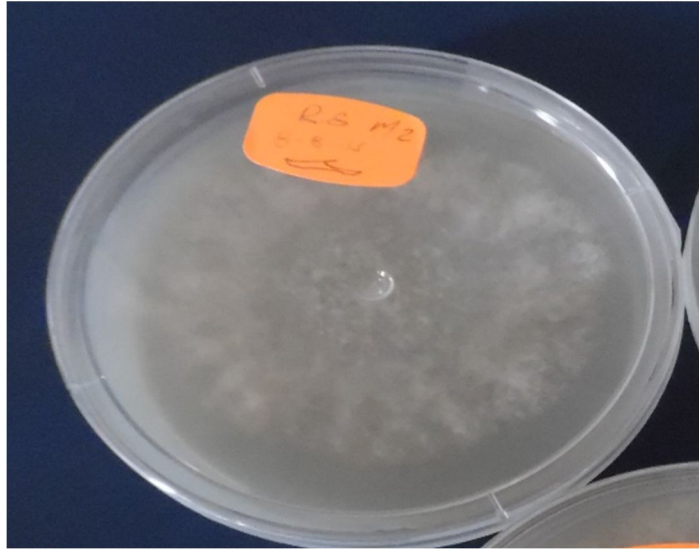
**Fotografía 1.** Propagación de bacterias y hongos contaminantes, no se encontró el patógeno en estudio.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 2.** Reproducción de un hongo blanco contaminado con bacterias.

FUENTE: Ruben Sillo



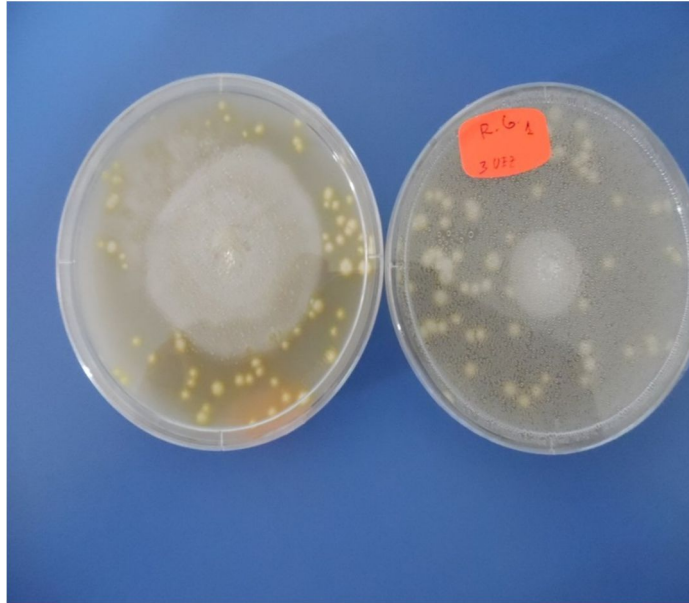
**Fotografía 3.** Obtención de un hongo de micelio blanco, libre de bacterias y hongos.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 4.** Contaminación de todas las muestras por mal uso del laboratorio.

FUENTE: Ruben Sillo



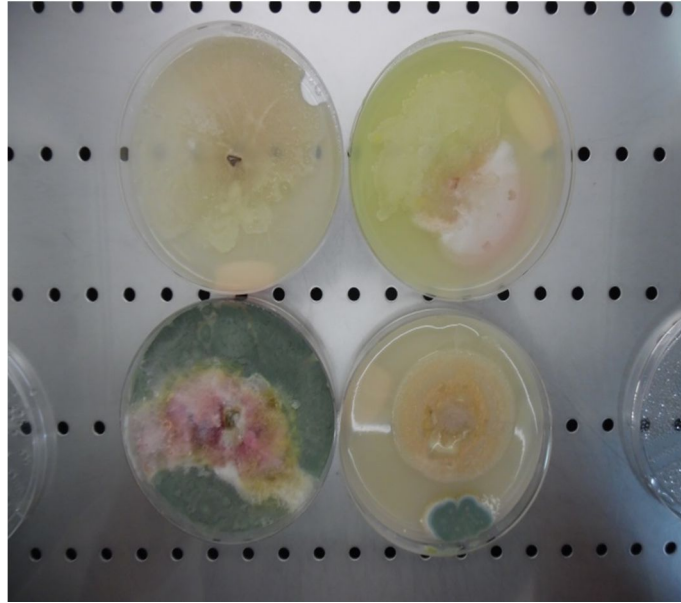
**Fotografía 5.** De la caja izquierda se resembró a la derecha, las dos contaminadas por el mal uso del laboratorio.

FUENTE: Ruben Sillo

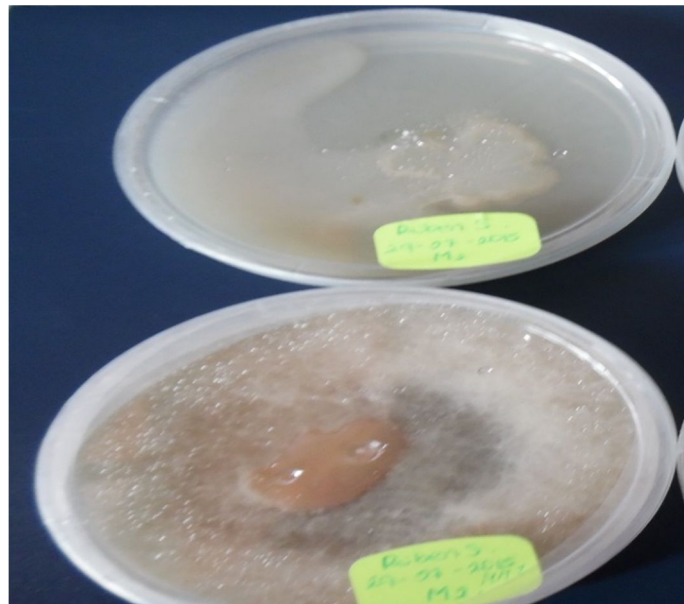


**Fotografía 6.** Almacenamiento de las cajas Petri en la refrigeradora a una temperatura de 6-8 °C, para detener el desarrollo de micelio.

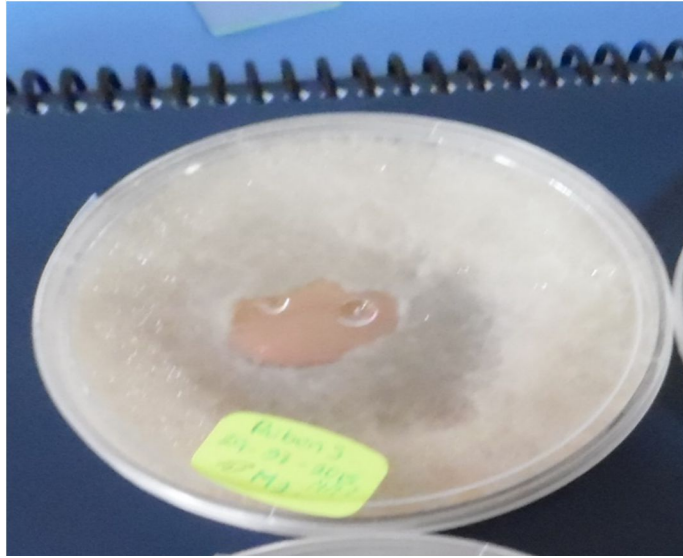
FUENTE: Ruben Sillo



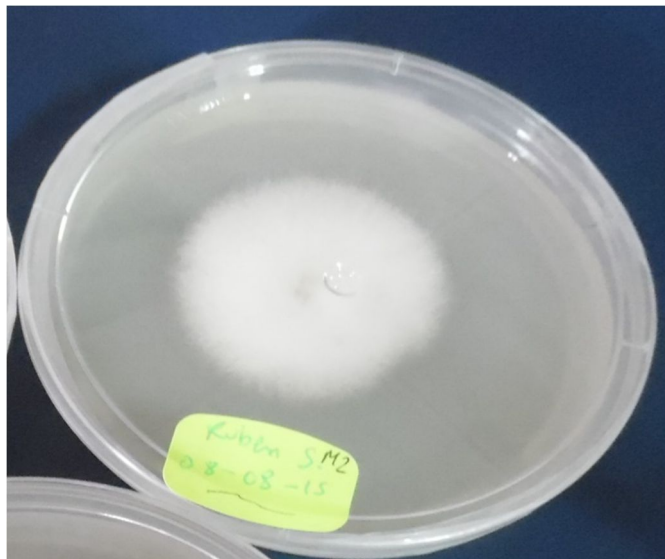
**Fotografía 7.** Cajas Petri contaminadas 10 días después de la siembra.  
FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 8.** Cajas Petri con hongo endófito contaminadas, a la izquierda 4 días a la siembra, a la derecha 7 días a la siembra.  
FUENTE: Ruben Sillo

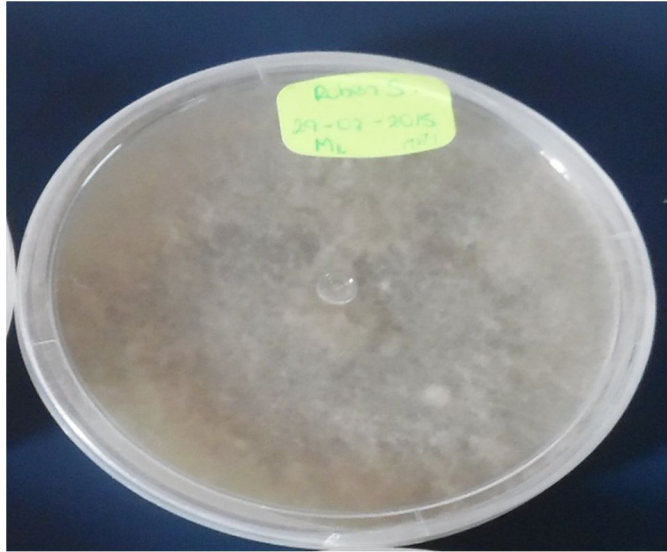


**Fotografía 9.** Obtención de (*Botrytis cinerea*), contaminado con bacterias y hongos.  
FUENTE: Ruben Sillo



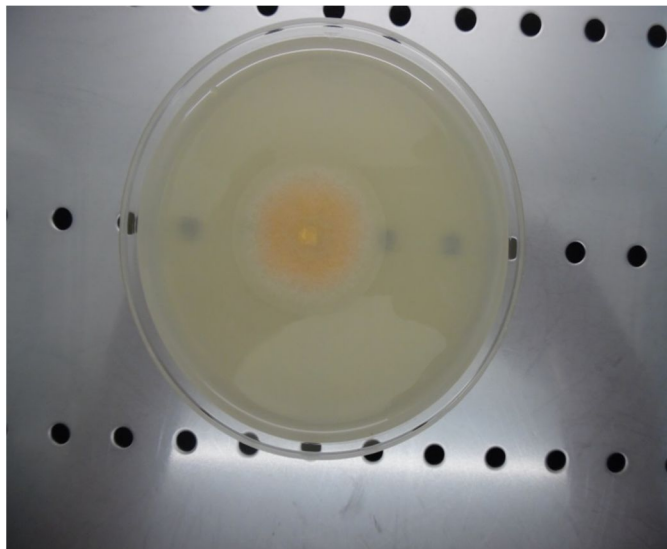
**Fotografía 10.** Obtención de (*Botrytis cinerea*).  
FUENTE: Ruben Sillo





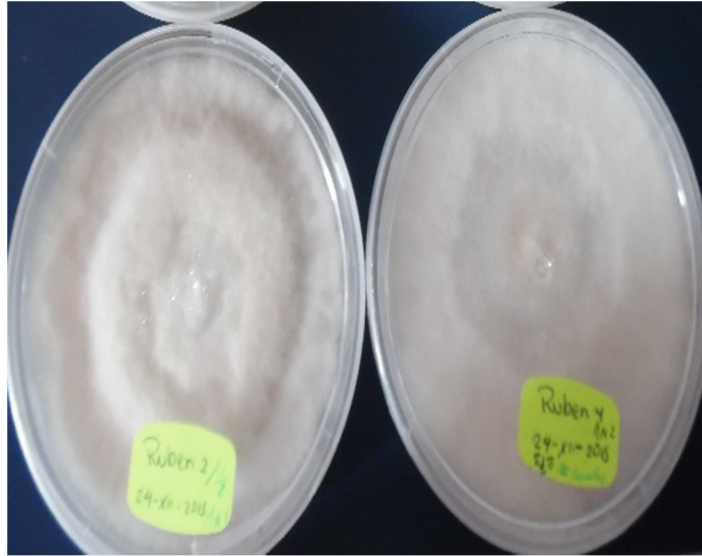
**Fotografía 11.** Obtención de (*Botrytis cinerea*) en medio de cultivo maíz destroza agar, libre de bacterias, presenta una coloración distinta del micelio.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 12.** Obtención de (*Botrytis cinerea*) en medio de cultivo papa destroza agar, libre de bacterias, presenta una coloración distinta del micelio.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 13.** Obtención de (*Botrytis cinerea*) en medio de cultivo destroza agar, libre de bacterias en tres aislamiento, presenta una coloración distinta del micelio.  
FUENTE: Ruben Sillo

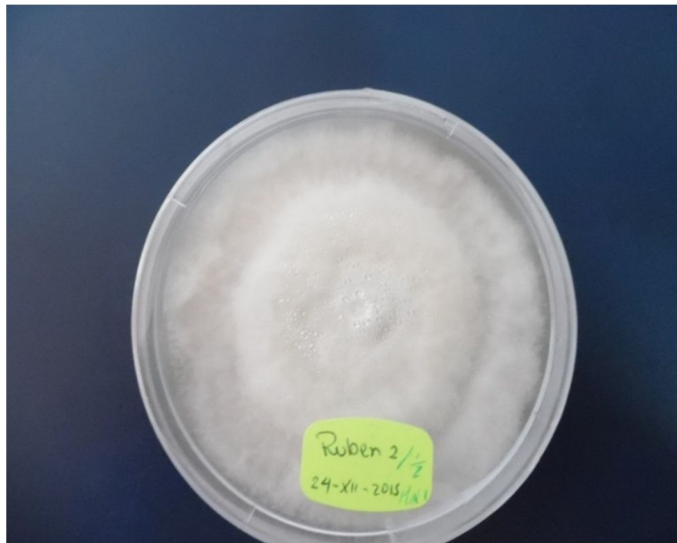


**Fotografía 14.** Obtención de (*Botrytis cinerea*) en medio de cultivo avena destroza agar, libre de bacterias en tres aislamiento, presenta una coloración distinta del micelio.  
FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 15.** Obtención de un hongo de coloración blanco café que corresponde al hongo en estudio.

FUENTE: Ruben Sillo



**Fotografía 16.** (*Botrytis cinerea*) en medio de cultivo destroza agar, almacenado 20 días en la refrigeradora, presento cambios en su ciclo de vida.

FUENTE: Ruben Sillo



## ANEXOS 6

### COSTOS

DESCRIPCION	CANTIDAD	COSTO UNITARIO	COSTO TOTAL
<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>Materiales 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 50 ml, 100 ml, 600 ml y 1000 ml	4	2,5	10
Erlenmeyer de 500 ml y 1000 ml	3	5	15
Asa de inoculación de cromo	2	3,6	7,2
Cajas mono Petri 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 7.**

### **GUÍA DIDÁCTICA DE LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE (*Botrytis cinérea*) EN EL CULTIVO DE LA LECHUGA (*Lactuca sativa*).**



Universidad  
Técnica de  
Cotopaxi

**UNIDAD ACADÉMICA DE RECURSOS AGROPECUARIOS Y  
RECURSOS NATURALES**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**GUÍA DIDÁCTICA DE LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE  
(*Botrytis cinérea*) EN EL CULTIVO DE LA LECHUGA (*Lactuca sativa*).**

**Autor: Ruben Sillo Totasig**

**ÍNDICE**

Introducción

Fundamentación

Objetivo

Ubicación

Bloque I. Metodología

Bloque II. Resultados

Material de consulta sugerido.

Ingeniería  
Agronómica



## INTRODUCCIÓN:

En muchos sectores del Ecuador los hongos fitopatógenos son los responsables de grandes pérdidas económicas al dañar los cultivos, el sector de San Buenaventura donde se siembra la mayor cantidad de hortalizas especialmente la lechuga donde existe, muchos problemas con el cultivo causado por, (*Botrytis cinérea*) más conocido en la zona por sus agricultores como pudrición, 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, sabiendo este hongo es muy duro de controlar, teniendo ya muy claro el ciclo de vida, y la morfología del patógeno.

## FUNDAMENTACIÓN:

El origen de la lechuga (*Lactuca Sativa*) no es muy preciso, algunos piensan que procede de la India, y otros de regiones templadas de Europa, Asia y América del Norte. Se cree que se comenzó a cultivar hace alrededor de 2500 años, siendo utilizada por persas, griegos y romanos. Los egipcios también, forman parte de su historia, de hecho la lechuga se vinculó al Dios Min (Dios lunar, de la fertilidad y la vegetación) debido a sus propiedades afrodisíacas. (INFOAGRO, 2013)

La horticultura en el Ecuador ha crecido paulatinamente a partir de la década de los años 90, debido a que los hábitos alimenticios de la población han cambiado positivamente hacia un mayor consumo de hortalizas en su dieta diaria y a las exportaciones de algunas hortalizas como el brócoli, el espárrago, la alcachofa; adicionalmente se está desarrollando la industrialización de algunos productos hortícolas, orientados al mercado externo (FAO, 2004)



Todas las enfermedades de las plantas de interés agrícola son todas, se estima que, al menos, 2/3 de ellas se deben a hongos fitopatógenos, ya sea especializados, medianamente especializados o generalistas. Entre los géneros de hongos más frecuentes, más distribuidos y más agresivos en plantas está *Botrytis* y sus representantes. (FAO, 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 gris presente en las lesiones está constituido por conidióforos y conidios (CRUZ, 2004)

El hongo *botrytis* constituye un grupo de hongos fotopatógenos, de gran importancia ya que se encuentra ampliamente distribuida, este género cuenta más de 20 especies, dentro de las cuales, esta *botryti stulipae*, *botrytis fabae*, que afecta a tulipán y haba respectivamente. Otro especie conocida es la *botrytis cinérea* que es un hongo que infecta a innumerables especies de planta uno de ellos es la lechuga, este causando la enfermedad conocida como podredumbre, este hongo puede encontrar en todo el mundo y puede infectar casi a todas las plantas en cualquier parte de la misma. (BUITRON, 2012)

Con un análisis bibliográfico el hongo fitopatógeno de mayor importancia en la producción de la lechuga es la *botrytis* más conocida por los agricultores como pudrición causada por el hongo (*Botrytis cinérea*) siendo este el agente causal de mayor importancia económica ya que puede provocar pérdidas en la producción de más del 40%, al atacar en estadios verdes y maduros, tal y como menciona (GRANADOS, 2003).

**Síntomas:** Comienzan en las hojas más viejas con unas manchas de aspecto húmedo que se tornan amarillas, y seguidamente se cubren de moho gris que genera enorme cantidad de esporas. Si la humedad relativa aumenta, las plantas quedan cubiertas por un micelio blanco, pero si el ambiente es seco se produce una putrefacción de color



pardo o negro. **Diseminación:** mediante viento, suelos infectados, o los restos vegetales que pudieran portar esclerocios o micelio del hongo.

**Sobrevivencia:** Presentes en restos de tejidos enfermos.

**Control:** Respetar las distancias de siembra y revisar en forma semanal el cultivo. Aplicaciones preventivas de fungicidas de contacto y sistémicos con adherentes. (BAYER, Bayercropscience, 2011)

**OBJETIVO:**

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

**UBICACIÓN:**





**Cuadro .Ubicación del Laboratorio.**

Sitio:	San Buenaventura
Parroquia:	San Buenaventura
Cantón:	Latacunga
Provincia:	Cotopaxi
Coordenadas cuadrícula Mercatorutm:	N: 9888 749,37 E: 764.660,386
Altitud:	2720 msm

BLOQUE I. METODOLOGÍA:

**TOMA DE MUESTRAS**








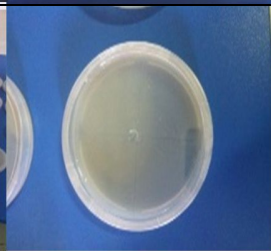
Se realizó la toma de la muestra al Azar del hongo Fito patógeno (*Btrytis cinérea*) en el cultivo de de la lechuga (*Lactuca sativa*), recogiendo 3 muestras (hojas)

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



**ELABORACION DEL MEDIO DE CULTIVO**

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

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

**Fuente:** Ruben Sillo Totasig



SIEMBRA

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

Fuente: Ruben Sillo Totasig



**BLOQUE II. RESULTADOS:**

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 tome con mucho cuidado una pequeña muestra de la colonia del hongo (*Botrytis cinérea*) coloque una gota de agua destilada sobre el portaobjetos y se procedió a pegar la cinta sobre el mismo para luego ser observado en el microscopio con un aumento de 20x y 100x.

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

**BLOQUE II. RESULTADOS**

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

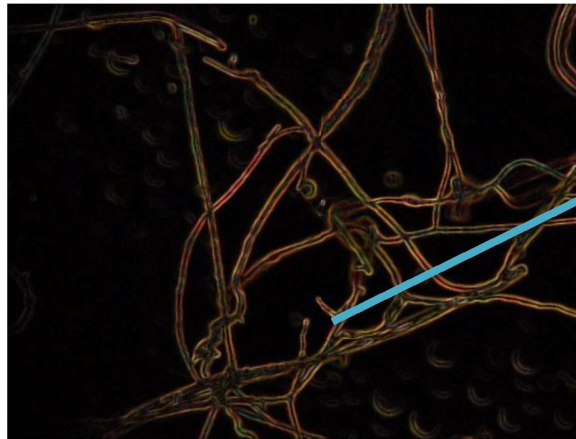
CONCEPTUALIZACION	INDICADOR	INDICE	TECNICAS	INSTRUMENTO
Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de la lechuga.	Talo	Tipo	Observación	Microscopio
	Micelio	Tipo		
	Conidios	Tipo		
	Reproducción	Tipo		

Fuente: Ruben Sillo

## Observación del hongo en el microscopio

### Micelio

En la imagen se puede observar el micelio de (*Botrytis cinérea*) 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

**Imagen A. Micelio (*Botrytis cinérea*)**

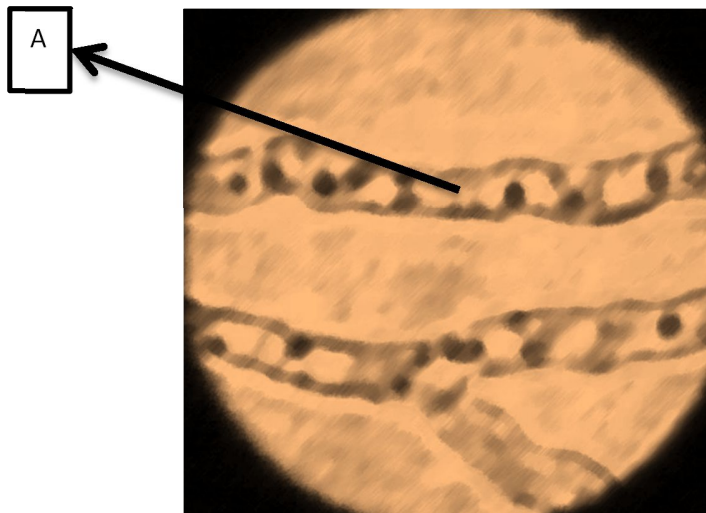
Fuente: Ruben Sillo

El micelio es la masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo de un hongo. Dependiendo de su crecimiento se clasifican en reproductores vegetativos. Los micelios reproductores crecen hacia la superficie los tabiques se observan con claridad sobre la hifa que cruza en diagonal la imagen.

El micelio está constituido por un conjunto de hifas o filamentos tabicados, cilíndricos, que se multiplican vegetativamente mediante división citoplasmática, siendo común que tenga lugar una división nuclear sin que se haya producido división citoplasmática, lo que da lugar a hifas cenocíticas con un elevado y variable número de núcleos. Características morfológicas como son la coloración y el diámetro de las hifas, son muy variables, dependiendo en gran medida de las condiciones de desarrollo del micelio. (AGRIOS G. , 1995)

### Talo

En la imagen se puede observar el micelio de (*Botrytis cinérea*) 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.



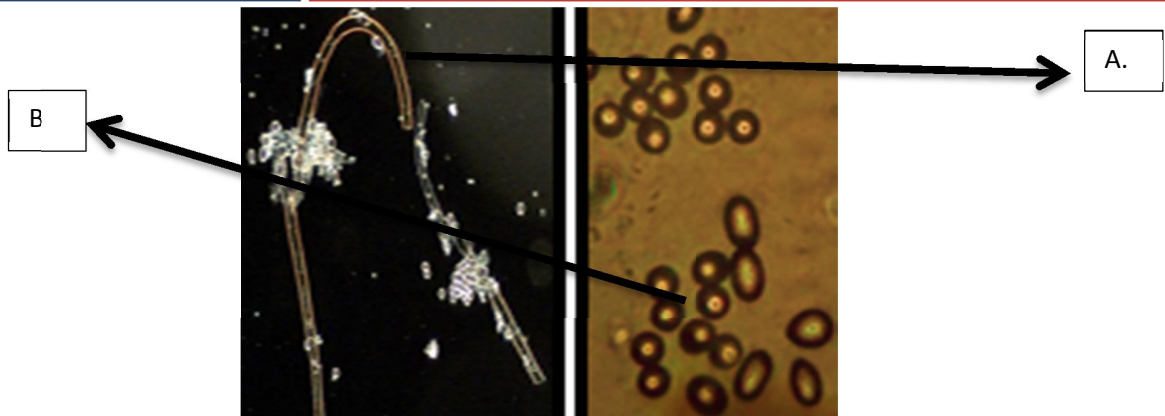
**Imagen. A: Talo (*Botrytis cinérea*)**

Fuente: Rubén Sillo

El talo de los hongos está formado por filamentos microscópicos de una espora que se forma el cuerpo vegetativo o talo del hongo. El talo fúngico más típico es filamentoso (en verdad, los hongos podrían considerarse como pelusas dotadas de vida), y recibe el nombre de micelio. Cada filamento individual del micelio es una hifa. Las hifas pueden estar divididas por tabiques (GAUSSEN, 1891)

### Conidióforos y conidios

En la imagen se puede observar el conidióforos y conidios de (*Botrytis cinérea*) 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.



**Imagen. A: Conidióforos y Conidios**

Fuente: Ruben Sillo

Es un hongo que produce pequeños grupos de conidióforos de botrytis está conformado por un grupo de conidios a ovales unicelulares, sostenida por pequeño denticulo esterigma. (RAIMUNDO, 2001)

Los conidióforos se encuentran en grupo de conidios en una forma de ramo de uvas frecuentemente unicelulares y ovaladas color gris oliváceo. La conidia es unicelular y ovulares. (RAIMUNDO, 2001)

Los conidios o macroconidios constituyen la principal estructura de dispersión del hongo así como, una de las estructuras de resistencia que presenta *B. cinerea*. Son capaces de sobrevivir sobre la superficie vegetal, manteniendo su viabilidad y capacidad infectiva durante toda la etapa de crecimiento del cultivo. (JUVA, 2012)



## MATERIAL DE CONSULTA SUGERIDA

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

**BAYER.** (2011). *Bayercropscience*. Recuperado el 04 de 08 de 2014, de <http://bayercropscience.cl/soluciones/fichaproblema.asp?id=64>

**FAO.** (2004). *MANUAL VEGETATIVA*. Recuperado el 11 de 2015, de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2037/1/T-UCE-0004-37.pdf>

**GALLEGOS, P.** (1998). Evaluación de diez variedades de lechuga (*lactuca sativa*) y dos sistemas de plantación. Guaytacama-Cotopaxi. QUITO.

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

**JUVA.** (2012). *BOTRYTIS CINEREA*. Recuperado el 11 de 2015, de <http://nana-zierra.blogspot.com/2012/04/botrytis-cinerea.html>

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

**RAIMUNDO, S. V.** (2001). *SANIDAD VEGETAL*. Recuperado el 12 de 2015, de <http://es.slideshare.net/rairaimundo/botrytis-r-seplveda>




**INFOAGRO.**2013).

[http://www.infoagro.com/industria\\_auxiliar/altas\\_temperaturas](http://www.infoagro.com/industria_auxiliar/altas_temperaturas). Recuperado el 15 de 10 de 2015, de [http://www.infoagro.com/industria\\_auxiliar/altas\\_temperaturas](http://www.infoagro.com/industria_auxiliar/altas_temperaturas): <http://www.infoagro.com/hortalizas/lechuga.htm>



**ANEXO 4**

**TABLA 5. ENFERMEDADES EN EL CULTIVO DE LA LECHUGA**

<p><b>Podredumbre gris (<i>Botrytis cinerea</i>)</b></p> <p>Este hongo puede aparecer en cualquier fase vegetativa del cultivo de la lechuga. Normalmente suele ir vinculado con el exceso de humedad, por lo que el control del riego es muy importante. La aireación también supone una buena técnica para evitar la propagación de esta enfermedad.</p>	
<p><b>Alternaria (<i>Alternariadauci</i> – <i>Stemphyllium</i>spp.)</b></p> <p>A la hora de reconocer esta enfermedad causada por un hongo hay que detectar pequeñas manchas oscuras sobre las hojas de la lechuga. Suele desarrollarse en condiciones altas de humedad, por lo que a veces se suele actuar de forma preventiva cuando hay temporadas de lluvia.</p>	
<p><b>Antracnosis (<i>Microdochium panattoniana</i>)</b></p> <p>Suele aparecer sobre las hojas más viejas antes que el resto de hojas, con especial predominancia por el nervio central, peciolo y limbo. Sobre dichas hojas aparecen manchas pequeñas, hundidas, de color amarillento y con un margen rojizo o necrótico. Con el tiempo, dicho anillo rojizo se extiende hacia el interior, necrosando toda la mancha.</p>	

**Septoria (*Septoria lactucae*)**

Septoria produce manchas sobre la parte inferior de las hojas. Para que este hongo haga su aparición el cultivo debe estar en zonas de mucha humedad o época de lluvias.

**Esclerotinia (*Sclerotinia sclerotiorum*)**

Esta enfermedad provoca la aparición de podredumbres blanquecinas de aspecto blando sobre las hojas de la lechuga. La infección se inicia en la parte basal de la planta y se va extendiendo con el tiempo. Este hongo puede permanecer en el suelo hasta 5 años por lo que se recomiendan técnicas de saneado como la solarización.



**Fuente:** (BAYER, BAYER, Problemas Biologicos, 2015) (AGROMATICA, 2014)  
(AGRIOS G. , PLAGAS Y ENFERMEDADES DE LA LECHUGA , 1988)