

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**



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

**CARRERA DE INGENIERIA AGRONÓMICA**

**TESIS DE GRADO**

**TÍTULO:**

**“CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS  
EN EL CULTIVO DE TOMATE HORTICOLA (*Solanum lycopersicum*)  
SECTOR PATAIN COTOPAXI 2014”.**

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

**Autora:**

Srta. Ana Lucia Chicaiza Paltán

**Director:**

Ing. Polivio Adolfo Cevallos Polanco

**Latacunga-Ecuador**

**2014**



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

## UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

Latacunga – Ecuador

---

### AUTORÍA

Los criterios emitidos en el presente trabajo de investigación **“CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE TOMATE HORTICOLA (*Solanum lycopersicum*) SECTOR PATAIN COTOPAXI 2014”**, son de exclusiva responsabilidad de la autora.

.....  
Chicaiza Paltán Ana Lucia

C.I. 050316150-7



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

**Latacunga – Ecuador**

---

**AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS**

En calidad de Director del Trabajo de Investigación sobre el tema: **“CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE TOMATE HORTICOLA (*Solanum lycopersicum*) SECTOR PATAIN. COTOPAXI 2014”**, de Ana Lucia Chicaiza Paltán, postulante de la Carrera de Ingeniería Agronómica, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para la validación del Anteproyecto y de ello desarrollar la tesis.

Latacunga, Junio 2014

El Director

.....

Ing. Polivio Adolfo Cevallos Polanco

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

En calidad de miembros de Tribunal de la Tesis Titulada:  
**“CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE HONGOS  
FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE TOMATE HORTICOLA  
(*Solanum lycopersicum*) SECTOR PATAIN. COTOPAXI 2014”**, de autoría de  
la egresada Chicaiza Paltán Ana Lucia, CERTIFICAMOS que se ha realizado las  
respectivas revisiones, correcciones y aprobaciones al presente documento.

### **Aprobado por:**

.....

Ing. Adolfo Cevallos Polanco

DIRECTOR DE TESIS

.....

Ing. Francisco Chancusig

PRESIDENTE

.....

Ing. Paolo Chasi

OPOSITOR

.....

Ing. David Carrera

MIEMBRO DE TRIBUNAL

## **AGRADECIMIENTO**

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecer a ti Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

A la UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional. A mi director de tesis, Ing. Adolfo Cevallos por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios con éxito. También me gustaría agradecer a mis profesores durante toda mi carrera profesional porque todos han aportado con un granito de arena a mi formación, y en especial a mis profesores al Ing. Paolo Chasi, Ing. David Carrera y Ing. Francisco Chancusig por sus consejos, su enseñanza y más que todo por su amistad ya que con su ayuda he podido llegar hoy por hoy hasta donde estoy.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida estudiantil a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida.

**Ana Lucia Chicaiza.**

## **DEDICATORIA**

Con mucha sencillez y humildad dedico mi trabajo: A Dios por haberme permitido realizar esta labor siendo mi guía en todo momento para culminar esta etapa de mi vida universitaria.

A mi MADRE la Sra. Gloria Paltán, a mi TÍA la Sra. Laura Paltán la cual ha sido una MADRE, a mi TÍO el Sr. Luis Fonseca que ha sido un PADRE, a los cuales les agradezco por su esfuerzo, por su apoyo constante e incondicional por sus enseñanzas, los valores inculcados y la fortaleza en cada momento para no desmayar y terminar esta etapa tan importante para mi crecimiento profesional

A mi prima Susana Fonseca que a sido y es como mi HERMANA, que me brindó su estímulo de superación, por haberme brindado palabras de aliento en momentos difíciles cuando ya no podía más y por ser incondicional en mi vida.

Y a mi familia y amigos en general que de manera directa e indirecta me apoyaron para cumplir mi meta y me han ayudado y llevado hasta donde estoy ahora.

**Ana Lucia Chicaiza.**

## RESUMEN

La presente investigación “**CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE HONGOS FITOPATOGENOS EN EL CULTIVO DE TOMATE HORTICOLA (*Solanum lycopersicum*), SECTOR PATAIN – COTOPAXI. 2014**”, tuvo por objetivo caracterizar morfológicamente el hongo que causa mayor impacto en la producción en el cultivo de Tomate de Hortícola (*Solanum lycopersicum*) en el sector de Patain, cantón Salcedo de la provincia de Cotopaxi.

La misma que se realizó mediante técnicas de aislamiento en laboratorio y la observación posterior del hongo en el Microscopio, para poder diferenciar sus partes y luego ratificarlo con la bibliografía existente.

Entre los aspectos fundamentales de esta investigación están; La determinación del hongo fitopatógeno de mayor impacto en la producción de tomate hortícola que resulto ser *Phytophthora infestans*, la cual se determinó gracias a la revisión y discusión bibliográfica, logrando identificar así los signos y síntomas del hongo en campo, la técnica empleada fue la observación directa comparándola con la fuente citada, permitiéndonos con esto realizar la caracterización de macro y micro estructuras como: talo, micelio, oosporas y esporangios, llegando a obtener fotografías digitales, las mismas que con ayuda de claves taxonómicas existentes se logró ratificar la presencia del agente causal que es *Phytophthora infestans*, también se pudo describir su ciclo de vida en condiciones controladas realizando la siembra y el aislamiento del patógeno en cajas Petri en un medio de cultivo papa – dextrosa – agar, con la duración de 24 horas a una temperatura de 22°C en una cámara de incubación.

El producto de esta investigación ha sido consolidado en una guía didáctica de las características morfológicas del hongo en estudio para difundir los resultados obtenidos.

## SUMMARY

2014”, It aimed to morphologically characterize the fungus that causes the greatest impact on production of horticultural tomato crop (*Solanum lycopersicum*) in “Patain” sector, Salcedo Canton, Cotopaxi province.

The research was conducted by laboratory isolation techniques and the subsequent observation of the fungus in the microscope to differentiate their parts and then ratify the existing literature.

Among the fundamental aspects of this research they are: The determination of the phytopathogenic fungus with greater impact on horticultural tomato production happened to be *Phytophthora infestans*, which was determined by the review and discussion of the literature, managing to identify the signs and symptoms of the fungus in field. The used technique was direct observation compared with the cited source, allowing us to perform the characterization of macro and micro structures such as: talo , mycelium, sporangia and oospores, coming to get digital photos, which using existing taxonomic keys it was possible to confirm the presence of the causative agent that is *Phytophthora infestans*, it was also possible to describe its life cycle under controlled conditions planting and isolating the pathogen in plastic petri boxes employing a harvest method papa – dextrosa – agar, with a 24 hour length at 22 ° C in an incubation chamber .

The product of this research has been consolidated into a tutorial of the morphological characteristics of the fungus studied in disseminating the results obtained.

## INDICE GENERAL

AUTORÍA.....	i
AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS.....	ii
AGRADECIMIENTO .....	iv
DEDICATORIA .....	v
RESUMEN.....	vi
SUMMARY .....	vii
INTRODUCCIÓN .....	1
JUSTIFICACIÓN .....	4
OBJETIVOS.....	5
GENERAL.....	5
ESPECÍFICOS.....	5
1. FUNDAMENTACION TEORICA.....	6
1.1. Marco Teórico .....	6
1.1.1.  Tomate Hortícola ( <i>Solanum lycopersicum</i> ) .....	6
1.1.1.1. Origen.....	6
1.1.1.2  Clasificación taxonómica .....	6
1.1.1.3  Características botánicas .....	7
1.3.  Enfermedades De Interés Comercial Del Cultivo De Tomate Riñón ....	11
1.3.1.  Tizon Tardio ( <i>Phytophthora infestans</i> ).....	11

1.3.1.1.	Ciclo de vida del hongo fitopatógeno .....	12
1.4.3.	Disponibilidad De Nutrientes En Los Medios De Cultivo.....	26
2.	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN .....	27
2.1.	Materiales .....	27
2.1.1.	Recursos Institucionales .....	27
2.1.2.	Recursos humanos .....	27
2.1.3.	Recursos Tecnológicos .....	27
2.1.3.1.	Equipos .....	27
2.1.3.2.	Material de Laboratorio .....	28
2.1.3.3.	Materiales de aseo.....	29
2.1.3.4.	Reactivos.....	29
2.1.3.5.	Materiales de campo .....	30
2.1.3.6.	Materiales de Oficina.....	30
3.	OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES .....	30
4.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	31
4.1.	Tipo de investigación .....	31
4.2.	Método.....	31
4.2.3.	Métodos lógicos. ....	31
4.2.3.1.	Método descriptivo analítico.....	31
4.2.3.2.	Método deductivo.....	32
4.2.3.3.	Método comparativo .....	32

4.2.4.	Técnicas.....	32
4.2.4.1.	Observación.....	32
4.2.4.1.	Fichaje.....	33
4.3.	Metodología.....	33
4.3.3.	Delimitación del Lugar de Recolección.....	33
4.3.3.1.	Ubicación Política.....	34
4.3.3.2.	Ubicación Geográfica .....	34
4.3.3.3.	Datos Edafoclimaticos .....	34
4.3.4.	Delimitación del Lugar donde se encuentra el laboratorio .....	35
4.3.4.1.	Ubicación Política.....	35
4.3.4.2.	Ubicación Geográfica .....	35
4.3.4.3.	Datos Edafoclimaticos .....	35
4.3.5.	Toma de Muestras .....	36
4.3.6.	Procedimiento en la Toma de Muestras .....	36
4.3.7.	Almacenamiento .....	36
4.3.8.	Identificación de la muestra en laboratorio previo a la siembra .....	37
4.3.9.	Elaboración del medio de cultivo.....	37
4.3.10.	Siembra .....	38
4.3.11.	Identificación.....	41
4.3.11.1.	Observación microscópica.....	41
5.	RESULTADO Y DISCUSIÓN .....	43

5.1. Identificación de síntomas y signos del Tizon Tardío ( <i>Phytophthora infestans</i> ) el cultivo de tomate hortícola.....	44
5.1.1. SINTOMAS .....	44
5.2. Caracterización de Macro y Microestructuras del Patógeno ( <i>Phytophthora infestans</i> ) el cultivo de tomate hortícola.....	51
5.2.1. Fotografía del micelio tomada en: .....	51
5.2.2. Fotografía del micelio tomada en:.....	52
5.2.3. Fotografía esporangio y flagelos tomada en : .....	53
5.2.4. Fotografía de Micelios, oospora y esporangios tomada en: .....	54
5.3. Descripción del ciclo de vida del Patógeno en Condiciones de Laboratorio .....	56
6. CONCLUSIONES .....	58
7. RECOMENDACIONES.....	59
BIBLIOGRAFIA .....	60
ANEXOS .....	69

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación Taxonómica del Tomate.....	6
<b>Tabla 2.</b> Clasificación taxonómica del hongo fitopatógeno (Phytophthora infestans) .....	15
<b>Tabla 3.</b> Operalización de variables .....	30
<b>Tabla 4.</b> Ciclo de vida del patógeno .....	56
<b>Tabla 5.</b> Costos .....	69
<b>Tabla 6.</b> Preparación del medio de cultivo .....	72

## INDICE DE IMÁGENES

<b>Imagen 1.</b> Tizon Tardío ( <i>Phytophthora infestans</i> ).....	11
<b>Imagen 2.</b> Ciclo de vida de <i>Phytophthora</i> .....	20
<b>Imagen 3.</b> Micelio cenocítico sin septas.....	22
<b>Imagen 4.</b> esporangios limoniformes .....	24
<b>Imagen 5.</b> Esporangio limoniforme, mostrando el pedicelo (p) y la semipapila (sp) .....	24
<b>Imagen 6.</b> Esporangióforo de crecimiento continuo mostrando dos hinchamientos (h) que se forman justo debajo del esporangio .....	25
<b>Imagen 7.</b> Zona de recolecto la muestra.....	34
<b>Imagen 8.</b> Lugar donde se realizó la practica.....	35
<b>Imagen 9.</b> Sintomas ( <i>Phytophthora infestans</i> ) en laboratorio Los frutos infectados presentan pequeñas manchas pardas sobre la epidermis, de forma irregular.....	45
<b>Imagen 10.</b> Sintomas ( <i>Phytophthora infestans</i> ) en campo .....	46
<b>Imagen 11.</b> Micelio y esporangios .....	47
<b>Imagen 12.</b> Micelio y esporangios .....	48
<b>Imagen 13.</b> Esporangióforo y esporangio .....	48
<b>Imagen 14.</b> Producción de micelio en el laboratorio.....	49
<b>Imagen 15.</b> Hifas y micelio .....	49
<b>Imagen 16.</b> Esporangios y flagelos .....	50
<b>Imagen 17.</b> Hifas .....	51
<b>Imagen 18.</b> Micelio .....	52
<b>Imagen 19.</b> Esporangio y flagelos .....	53

<b>Imagen 20.</b> Micelio, esporangios y oosporas .....	55
<b>Imagen 21.</b> Muestras de plantas .....	76
<b>Imagen 22.</b> Muestras de plantas .....	77
<b>Imagen 23.</b> Cajas con el medio de cultivo y micelio .....	78
<b>Imagen 24.</b> Visita del tutor y miembros del tribunal.....	79
<b>Imagen 25.</b> Visita del tutor y miembros del tribunal.....	79
<b>Imagen 26.</b> Cámara húmeda.....	80
<b>Imagen 27.</b> Destilador De Agua.....	80
<b>Imagen 28.</b> Incubadora.....	81
<b>Imagen 29.</b> Autoclave .....	81
<b>Imagen 30.</b> Cámara de flujo laminar .....	82
<b>Imagen 31.</b> Microscopio.....	82
<b>Imagen 32.</b> Nevera .....	83
<b>Imagen 33.</b> Mecheros .....	83
<b>Imagen 34.</b> Estufa.....	84
<b>Imagen 35.</b> Materiales de laboratorio.....	84

## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Costos .....	69
<b>Anexo 2.</b> Preparación del medio de cultivo. ....	72
<b>Anexo 3.</b> Muestras de plantas de tomate hortícola y placas con muestras. ....	76
<b>Anexo 4.</b> Cajas Petri con el medio de cultivo y con la presencia de micelio en el transcurso de horas. ....	78
<b>Anexo 5.</b> Visita del tutor y miembros del tribunal.....	79
<b>Anexo 6 .</b> Materiales y equipos de laboratorio .....	80

## INTRODUCCIÓN

La mayor producción de tomate hortícola a nivel mundial se halla centrada en países como Estados Unidos, China, India, Turquía, Iran y México mismos que dedican grandes superficies a este cultivo. En Ecuador, es importante dentro de los sistemas productivos de la economía campesina, en tanto permite tener una alternativa de producción que, con otros cultivos, complementan los ingresos económicos de los pequeños productores en la serranía ecuatoriana. (UGONG.F, 2009)

En la actualidad para los agricultores de la Serranía Ecuatoriana, la producción y comercialización de tomate hortícola (*Lycopersicon esculentum*) representa uno de los principales ingresos para la economía de sus familias. Pero la producción se ve limitada por el ataque de distintos hongos fitopatógenos. (CERVANTES, 2010)

En la agricultura mundial los hongos fitopatógenos son causantes de enfermedades de pre y pos cosecha en los cultivos de hortalizas, cereales y frutas, siendo estos responsables de pérdidas económicas cuantiosas; el daño que ocasiona no solo se refiere a las pérdidas de producción económica, sino también a las pérdidas en la producción biológica, es decir, a la alteración que existe en el crecimiento y desarrollo de las plantas hospedantes atacadas por estos microorganismos. (AGRIOS, 2005)

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

Algunas fuentes estiman que dichas pérdidas son del orden de 5-25% en países desarrollados y 20-50% en países en desarrollo. (FHIA, 2007)

La producción mundial de tomate se ha mantenido estable, con un nivel promedio anual de 123,79 Millones de toneladas, convirtiendo a este alimento en una de las hortalizas de mayor consumo mundial. (SICA, 2012).

Su importancia radica en que posee cualidades para integrar la preparación de alimentos, lo que convierte al tomate en un ingrediente básico en la dieta diaria. las Provincias representativas en superficie son: Guayas con superficie de 1 590 ha, una producción de 42 700 000 kg, un rendimiento de 26 855 kg/ha; Manabí con 514 ha, tiene una producción de 16 423 000 kg, un rendimiento de 16 700 kg/ha; Carchi con 417 ha, una producción de 7 380 000 kg, un rendimiento de 17 698 kg/ha; Loja con 417 ha, una producción de 4 985 000 kg, un rendimiento de 11 954 kg/ha, Pichincha con 190 ha, una producción de 1 900 000 kg y un rendimiento de 10 000 kg/ha. (PAREDES, 2010)

El Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) revelan que el área cultivada de tomate a la intemperie a nivel nacional para el año 2007 asciende a 3988 hectáreas de las cuales 1904 Has. Se distribuyen en las provincias de la sierra, en Pichincha se siembran alrededor de 196 hectáreas.

Una amplia gama de hongos que han sido identificados como causantes del deterioro patológico en el cultivo de tomate hortícola. Los más comunes se pueden mencionar FUSARIOSIS O MARCHITEZ (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici.*), TIZON TARDIO (*Phytophthora infestans*), TIZON TEMPRANO (*Alternaria solani*), CANCER BACTERIANO DEL TOMATE

(*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*), ANTRACNOSIS (*Colletotrichum lagenarium*), CENICILLA POLVORIENTA (*Leveillula taurica*, *Erysiphe orontii* y *Oidium lycopersicum*), MARCHITEZ POR VERTICILLIUM (*Verticillium Dahliae* Kleb y *V. albo-atrum* Reinke & Berthold).

Entre estos problemas fitosanitarios, de Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*) disminuye hasta en un 50 % la producción de tomate hortícola, Enfocándonos en nuestro país y siendo más específico en el callejón interandino se observa que esta enfermedad es uno de los principales problemas que aquejan a pequeños y medianos agricultores, que para controlar y enfrentar dicha enfermedad enfocan gran parte de sus recursos sin obtener buenos resultados debido al desconocimiento y confusión que existe con esta enfermedad, llegando a confundírsela muchas veces con problemas ocasionados por patógenos, gastando recursos económicos de forma innecesaria que a más de traer problemas económicos a los productores también acarrear problemas de salud tanto para los productores como para los consumidores ya que el uso inadecuado e indiscriminado de fungicidas contaminan a las plantas y al ambiente. (PAREDES, 2010)

## JUSTIFICACIÓN

La inexistencia de información sobre los hongos fitopatógenos y los altos porcentajes en pérdidas en las cosechas provocadas por el ataque de enfermedades causan problemas a los agricultores del sector de Patatin, razón por la cual se debe encontrar a los agentes causales de las enfermedades para dar alternativa en el manejo de enfermedades causadas por hongos en este cultivo.

La mayoría de los agricultores al no poseer la suficiente información sobre los distintos hongos fitopatógenos que atacan al cultivo de tomate hortícola (*Solanum lycopersicum*) cometen una serie confusiones y de errores al aplicar distintos productos sobre su cultivo sin resultado alguno y lo que no les permite mejorar la producción y por ende la calidad del producto no es bueno y sus ganancias son muy por debajo de lo estimado.

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

La investigación también puede servir para futuros proyectos del control de este hongo fitopatógeno Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*) y contribuir a la realización de planes de manejo de enfermedades en el Sector Patatin.

## **OBJETIVOS**

### **GENERAL**

Caracterizar morfológicamente el hongo fitopatógeno que causa mayor impacto en la producción en el cultivo de tomate hortícola (*Solanum lycopersicum*), Sector Patatin. Cotopaxi 2014.

### **ESPECÍFICOS**

- Determinar el hongo fitopatógenos de mayor impacto en la producción del cultivo.
- Identificar signos y síntomas del hongo de mayor impacto de tomate hortícola (*Solanum lycopersicum*) 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.

# CAPITULO I

## 1. FUNDAMENTACION TEORICA

### 1.1. Marco Teórico

#### 1.1.1. Tomate Hortícola (*Solanum lycopersicum*)

##### 1.1.1.1. Origen

El origen del género *Lycopersicum* se localiza en la región andina que corresponde a Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile. En esta área crecen espontáneamente las diversas especies del género; pero parece que fue en México donde se domesticó, quizá porque crecería como mala hierba entre los huertos. (JARAMILLO, 2007).

##### 1.1.1.2 Clasificación taxonómica

**Tabla 1.** Clasificación Taxonómica del Tomate

<b>Reino:</b>	Plantae
<b>División:</b>	Magnoliophyta
<b>Clase:</b>	Magnoliopsida
<b>Orden:</b>	Solanales
<b>Familia:</b>	Solanaceae
<b>Género:</b>	<i>Solanum</i>
<b>Especie:</b>	<i>S. Lycopersicum</i>

**Fuente:** (PEREZ, 2000)

### **1.1.1.3 Características botánicas**

Se pueden describir dos tipos de crecimientos en la planta de tomate:

Crecimiento determinado, donde el ápice de crecimiento se diferencia de vegetativo a floración, de ésta forma se detiene su crecimiento. Se trataría de plantas anuales.

Crecimiento indeterminado, se trataría de plantas perennes

Parte aérea.-El tallo principal forma de 6 a 12 hojas, que crecen lateralmente con una filotaxia de 2/5 antes de que la yema principal se convierta en una inflorescencia.

#### **Planta**

Perenne de porte arbustivo. Puede desarrollarse de forma rastrera, semirrecta o erecta.

#### **Tallo y Ramas**

De consistencia herbácea. Los tallos son gruesos, pubescente, angulosos, de color verde, con nodos compuestos de dos o, más comúnmente, tres hojas y una inflorescencia.

#### **Hojas**

Del tipo pinnado compuestas, una hoja de tomate uno 50 cm de longitud y tiene un gran foliolo terminal y hasta 8 grandes foliolos laterales, que a su vez, puede ser compuestos. Los foliolos son usualmente peciolados y lobulados irregularmente.

### **Raíz**

Está constituido por una raíz principal, raíces secundarias y adventicias. Dicho sistema es pivotante, muy denso y ramificado en los treinta primeros cm.

### **Flores**

Son hermafroditas, actinomorfas y péndulas, de 1 a 2 cm de largo y color amarillo brillante. El cáliz suele estar formado por 5 a 10 segmentos, que pueden ser desde lineales hasta lanceolados y persistentes.

### **Fruto**

En baya de forma y tamaño variable .En un fruto se puede encontrar 100 y 300 semillas. (MIGUEL CAGUANA,BOLIVAR QUINDE I,EDWING ROBAYO, DICIEMBRE,2003).

## **1.2. Hongos Fitopatogenos**

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

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

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

- **Características generales**

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

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

- **Estructuras somáticas**

El talo de los hongos consiste típicamente en filamentos microscópicos ramificados hacia todas partes y que se extienden sobre o dentro del sustrato que se utiliza como alimento. Estos filamentos se denominan hifas. El conjunto de hifas constituyen el micelio de los hongos.

Las hifas pueden ser septadas o sin septos (lisas o cenocíticas) este último tipo de hifa es característico de los hongos inferiores y cuando envejecen

pueden formarse septos en varios lugares. Los septos varían en su estructura y pueden ser simples o complejos.

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

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

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

- **Hongos como patógenos en las plantas**

El efecto nocivo de los hongos se debe a su capacidad para destruir físicamente los tejidos de la planta, alterar la fisiología vegetal reduciendo el crecimiento de toda la planta o de órganos determinados, o producir toxinas que afectan tanto a plantas como animales. Algunos hongos, conocidos como biótrofos, pueden crecer y multiplicarse manteniéndose durante todo su ciclo de vida en la planta huésped, viviendo y obteniendo nutrientes sin causar la

muerte. Otros son necrótrofos, en una parte de su ciclo vital requieren una planta huésped pudiendo crecer sobre tejido muerto o producir la muerte celular para absorber los nutrientes del tejido muerto. Muchas infecciones empiezan con una fase biotrófica que se convierte más tarde en necro trófica. Algunos hongos son simbioses facultativos, creciendo tanto libres como asociados a plantas, y otros son simbioses obligados, creciendo sólo si están asociados a plantas. (HERRERA M. , Fitopatología General, 1994).

### **1.3. Enfermedades De Interés Comercial Del Cultivo De Tomate Riñón**

#### **1.3.1. Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*)**

**Imagen 1.** Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*)



**Fuente:** (GOLDLOCKI, 2006)

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

Su peligrosidad está siempre latente, ya que es una de las enfermedades más destructivas que existen, debido a la rapidez con que puede diseminarse por el aire, a su capacidad reproductiva y a la gran virulencia que caracteriza a este hongo.

### **1.3.1.2. Descripción del Patógeno**

- Phytophthora infestans es el organismo que causa el tizón tardío.
- Micelio cenocítico, muy ramificado.
- El esporangio de este hongo es identificado por su forma parecida al limón, hialinos y con papila apical.
- Produce esporangios fósforos hialinos y ramificados.

### **1.3.1.3. Síntomas**

Los síntomas iniciales son manchas de color pardo en las hojas. Cuando las condiciones son adecuadas se forma un algodoncillo en el borde de estas manchas.

Conforme la mancha avanza cambia a un color negro. Cuando afecta a los tallos y los frutos, se tornan de un color cae claro a oscuro, los cuales se pudren y luego mueren. El ataque es más severo se tienen periodos frescos, lluviosos y húmedos en las mañanas, seguidos de periodos más cálidos.

El hongo se mueve fácilmente en superficies húmedas donde se forma una película de agua. La enfermedad es transmitida por la lluvia y el viento ,lo

cual hace que le pueda afectar a todo el cultivo en un periodo corto de tiempo ,pudiendo llegar si no se controla a una pérdida total .El hongo sobrevive en los restos de cultivo y en algunas malezas hospederas.

#### **1.3.1.4. Condiciones Favorables**

El hongo que provoca es una enfermedad que afecta a las hojas y tallos jóvenes de la planta. Es una de las enfermedades más agresivas en ataque severo y en condiciones adecuadas puede cubrir todo el cultivo en menos de una semana. Ataca en condiciones de temperaturas frescas (17 a 21°C) y de alta humedad relativa alrededor del 10%. (HERNANDEZ, 2007).

#### **1.3.1.5. Manejo de la enfermedad**

Luego que el hongo penetra el tejido vegetal, no existe control químico efectivo para esta enfermedad. La utilización de variedades resistentes es la medida más adecuada para el manejo del *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*.

El suelo libre de nematodos así como evitar la rotura de raíces al laboreo el suelo contribuirían a mantener la salinidad del cultivo. Las plantas enfermas deben eliminarse lo más pronto posible a efectos de reducir el inóculo.

#### **1.3.1.6. Control**

**Prevención** - Seleccione los sitios de cría con suelos bien drenados. Phytophthora pudrición de la raíz en los viveros se puede reducir en gran medida mediante la mejora de drenaje del suelo y limitar el riego.

No trasplantar las plántulas de viveros infestados en los libres de la enfermedad.

Evite el uso de árboles enfermos para mulch porque clamidosporas o oosporas pueden sobrevivir en este material huésped durante varios años. Evite el movimiento de equipo entre las áreas infestadas y no infestadas. Plántulas enfermas deben ser levantadas por separado y destruidos por la fumigación o la quema. Cualquier esfuerzo para salvar a los árboles en busca saludables dentro de las áreas enfermas darán lugar a la propagación del hongo a otras áreas de la guardería.

Después de trabajar en áreas infestadas, limpie el equipo a fondo con vapor o un método equivalente.

**Química** - Fumigar suelo con bromuro de metilo y cloropicrina mezcla para reducir el daño. Por desgracia, la penetración del fumigante en suelos pesados es a menudo insuficiente.

Metalaxil, un fungicida sistémico selectivo, se ha registrado como un suelo semillero emparar de plántulas de abeto Fraser y Douglas-fir. Dos aplicaciones anuales de metalaxil son eficaces en el control de Phytophthora. (KUHLMAN, 2004)

### 1.3.1.7. Clasificación taxonómica del hongo fitopatógeno (*Phytophthora infestans*)

**Tabla 2.** Clasificación taxonómica del hongo fitopatógeno (*Phytophthora infestans*)

<b>Reino:</b>	Stramenopila
<b>Phylum:</b>	Oomycota
<b>Orden:</b>	Peronosporales
<b>Familia:</b>	Pythiaceae
<b>Género:</b>	Phytophthora
<b>Especie:</b>	Infestans

**Fuente:** (ARAUJO, 2014)

#### 1.3.1.7.1. *Phytophthora infestans*

*Phytophthora infestans* es un oomicetos heterotalico ,patógeno hemibiotrófico bajo condiciones agrícolas y naturales su ciclo asexual permite a la población crecer rápidamente en tejidos hospederos susceptibles ,los esporangios son producidos en esporangióforos y son fácilmente dehiscentes particularmente en respuestas a cambios en la humedad relativa ,los esporangios germinan a partir de un tubo germinativo a temperaturas optimas alrededor de 20-25°C o por liberación de zoosporas a temperaturas bajas entre 10 y 15°C ,las zoosporas biflajelas son motiles por un corto tiempo a menudo menos de 60 minutos antes de enquistare ,una vez enquistadas germinan vía tubo germinativo para penetrar a tejidos de tallos u hojas ,los síntomas no son visibles macroscópicamente en los primeros dos días ,después de este corto tiempo pequeñas áreas necróticas son visibles bajo temperaturas moderadas y en presencia de humedad ,produciendo

esporangios de hasta 300 mil por lesión. (JOSE MAURICIO RIVERA ,JOSE MELGAR, 2013).

#### **1.3.1.7.2. Los oomicetos**

Comparten muchas características con los hongos por su crecimiento de hifas filamentosas ,nutrición por absorción y reproducción por esporas Pythium y Phytophthora son referidos como mohos de agua u hongos primitivos a pesar de que no son verdaderos hongos pero se parecen y se comportan como ellos ya que comparten algunos rasgos superficiales con los hongos tales como crecimiento filamentosos ,metabolismo heterotrófico y además se sugiere que los oomicetos pueden adquirir genes fungales a través de un genoma de genes horizontales ,así quizás la afinidad entre hongos y oomicetos es más que superficial.

Sin embargo análisis bioquímicos y análisis filogenéticos de la secuencia de genes mitocondriales y ribosomales sugiere que los oomicetos tiene poca afinidad taxonómica con los hongos filamentosos y están mas cercanamente relacionados a algas cafés y algas heterocontas dado que presentan meiosis en los gametangios y por lo tanto sus núcleos vegetativos son de naturaleza diploide. También conocidos como organismos “heterocontes”, lo que significa que sus zoosporas poseen flagelos con longitud y ornamentación diferente, los flagelos se presentan en pares, un flagelo largo y adornado mastigonemas (pelos) distintivos. (FLORES, 2010)

#### **1.3.1.7.3. Reproducción de Phytophthora infestans**

Las especies del género Phytophthora presentan dos tipos de reproducción: asexual (con la formación de clamidosporas y esporangios, que contienen las zoosporas) y sexual (mediante la formación de oosporas).

## **Reproducción asexual.**

El esporangióforo no se diferencia normalmente de las hifas, aunque en algunas ocasiones este puede ser más ancho o delgado que éstas y puede presentar hinchamientos. La presencia de esporangios es común para todas las especies del género, son incoloros o de color amarillo tenue y de manera general se insertan terminalmente en el esporangióforo, aunque también pueden estar intercalados. El esporangio muchas veces presenta vacuolas y al microscopio se observa un aspecto granuloso en su interior.

Existen características del esporangio que son muy importantes para la taxonomía de las especies como su forma y tamaño, la presencia o no de la papila y sus dimensiones, la manera en que estos se producen, así como la mayor o menor facilidad de este para desprenderse del esporangióforo (esta última característica permite clasificarlos en caedizos: si se desprenden fácilmente del esporangióforo y no caedizos: si se desprende difícilmente) siendo también importante desde el punto de vista taxonómico la longitud del pedicelo que va unido al esporangio cuando este se desprende del esporangióforo. Existen factores que afectan la producción y el desarrollo de los esporangios como son: la humedad, la tensión de oxígeno, la luz, la temperatura y la nutrición. La presencia de humedad es fundamental para la formación de esporangios, aunque la cantidad necesaria de la misma varía para cada especie. En la mayoría de las especies los esporangios se producen más abundantemente en presencia de luz, aunque el efecto de la misma es muy variable, llegando a estimularla en algunos casos e inhibiéndola en otros. El factor temperatura, que como se indicó anteriormente ejerce una gran influencia en el desarrollo vegetativo del hongo, también influye grandemente en el desarrollo y formación del esporangio. La temperatura óptima para la producción de esporangios es diferente y específica para cada especie, por lo que juega un papel destacado en la taxonomía, las mismas están comprendidas entre los 20 y los 28 °C. (EDDISON GUILLERMO ARAUJO SALVATIERRA, 2014)

Las zoosporas se forman dentro del esporangio, para lo cual es necesaria la presencia de agua libre. La formación de estas puede estimularse in vitro cuando se incuba un cultivo con esporangios durante pocos minutos a temperaturas entre 5 y 10 °C. La exposición más prolongada a estas temperaturas (10 – 15 minutos) provoca que las zoosporas sean liberadas, lo cual constituye la forma de germinación indirecta de estos hongos. Las especies de este género presentan además una forma de germinación directa, en la cual el tubo germinativo se origina, principalmente, a partir de la papila del esporangio, este a su vez puede dar lugar rápidamente al micelio o producir un nuevo esporangio, todo lo cual depende de las condiciones del medio de cultivo. (GONZALEZ, 2006)

Las zoosporas son las estructuras primarias que causan una nueva infección de las raíces. Estas esporas pueden nadar cortas distancias en el suelo con elevada humedad, así como también pueden ser transportadas grandes distancias en el agua de irrigación o por las lluvias. Además de esta forma de dispersión las especies de *Phytophthora* pueden dispersarse en la naturaleza por el aire o siendo transportadas por la actividad de los humanos y algunos invertebrados. Los miembros de este género producen además clamidiosporas, las cuales constituyen un órgano de conservación y supervivencia. Generalmente son de forma redondeada con una pared bien definida (más de 2 micras de espesor), siendo comúnmente intercalares aunque también pueden encontrarse en el extremo terminal de la hifa. Al principio las clamidiosporas son hialinas, tornándose de un color amarillo o ligeramente marrón con la edad. Es importante señalar que no se forman en todas las especies, por lo cual su presencia es importante para la taxonomía de las mismas. Las clamidiosporas pueden germinar dando lugar a numerosos tubos germinativos o a la producción de esporangios, lo cual dependerá de la cantidad de nutrientes presentes en el medio de cultivo . En cuanto a la influencia de la temperatura se plantea que un rango entre 18 – 30 °C es óptimo para que ocurra la germinación de las clamidiosporas, aunque también

se ha producido germinación entre 9 –12 °C y a 33 °C. El pH óptimo para que ocurra este proceso está comprendido entre 5 y 7, aunque a valores de pH de 3 y 9 también se ha producido germinación de las clamidiosporas. Además es importante mencionar que las clamidiosporas que persisten en el suelo constituyen también unidades infectivas. (ULLOA, 1990)

### **Reproducción sexual.**

Los órganos sexuales constituyen el elemento taxonómico más constantes y por tanto son de gran valor en la clasificación de las especies. No todas las especies los producen o se muestran inconstantes en cuanto a su formación, por lo que en algunos casos se requieren medios de cultivo especiales.

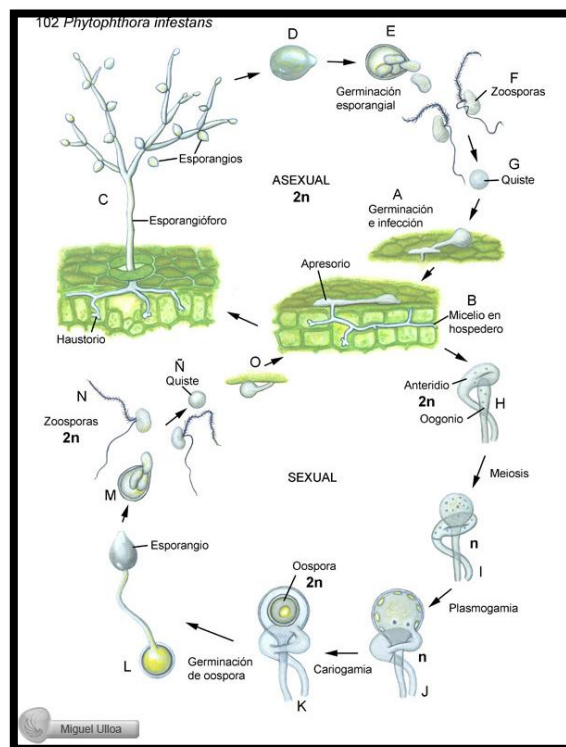
**Oogonio (Órgano sexual femenino):** Es de forma esférica o ligeramente ahusada, usualmente se encuentra en el ápice de una hifa, aunque también puede aparecer intercalado, separado del resto de la hifa por un grueso tabique. En cultivos jóvenes es hialino pero posteriormente, con el envejecimiento, se torna amarillo o ligeramente marrón. En la mayoría de las especies es suave y puede presentar ligeras protuberancias o verrugas en algunos casos.

**Anteridio (Órgano sexual masculino):** Presenta una forma variable, puede ser esférico, oval, en forma de clavo o cilíndrico. Observándose de manera habitual solitario, hialino y con una pared externa delgada. Su disposición respecto al oogonio puede ser anfígeno o paragono, o ambas a la vez, siendo importante tener en cuenta esta disposición para realizar la clasificación taxonómica de las especies.

**Oospora:** Las oosporas formadas en la hojas tienen un diámetro de 30  $\mu\text{m}$  y las formadas en medio de cultivo, entre 24 y 56  $\mu\text{m}$  de diámetro. Siempre se presenta de manera individual, ocupando relativamente toda la cavidad del

oogonio. Es de forma esférica, lisa o moderadamente verrugosa, y su coloración puede ser hialina o ligeramente amarillo oscuro. El medio de cultivo ejerce una influencia considerable en la formación de la oospora, los medios naturales ricos, tales como el maíz y la avena, son los más favorables. No produciéndose en medios líquidos. Es importante señalar también que existen ciertas sustancias que favorecen su formación, como son los extractos de plantas, ciertas vitaminas y algunos esteroides. Entre otros factores que también influyen en la formación de la oospora podemos citar la tensión de oxígeno y CO<sub>2</sub>, la presencia de luz, la temperatura cuyo óptimo está entre 20- 22 °C, así como también los cultivos asociados de diferentes especies y razas que facilitan la producción de oosporas entre las especies heterotálicas (especies auto estériles) . (MONCAYO, 2002)

**Imagen 2.Ciclo de vida de Phytophthora**



**Fuente: MOSQUERA ULLOA.**

A.-G. Fase de reproducción asexual, diploide, en la cual el micelio vegetativo desarrollado dentro de la planta hospedera produce esporangióforos que emergen de los estomas. Los esporangios, formados en los esporangióforos, son deciduos y germinan directamente para formar un tubo germinal (no ilustrado) o germinan liberando zoosporas; las zoosporas se enquistan y al germinar sobre el hospedero forman apresorio y penetran desarrollando el micelio vegetativo. H-O. La fase de reproducción sexual comprende la formación de oogonios y anteridios diploides. La hifa oogonial crece a través del anteridio y la meiosis ocurre en ambos órganos sexuales. A partir del anteridio se desarrolla un tubo de fertilización y un núcleo masculino haploide pasa a través de dicho tubo para fertilizar al núcleo femenino haploide y constituir la oospora diploide; la oospora, al quedar libre del oogonio, germina produciendo usualmente un esporangio. Las zoosporas liberadas de este esporangio continúan el ciclo de infección.

#### **1.3.1.7.4. Morfología**

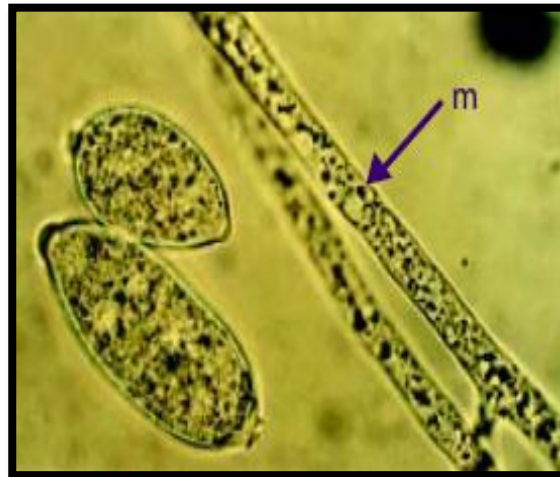
##### **Micelio**

Las estructuras somáticas (talos) de *Phytophthora* son llamadas micelios y están compuestos de filamentos “hialinos”(hifas) ramificados y cenocíticos (no septadas),excepto en cultivos viejos ,en cuales algunas veces se pueden observar septas. En cultivos jóvenes el citoplasma fluye libremente dentro del micelio .El diámetro del micelio (5-8 micras)es variable y dependiente de la naturaleza física y química del medio y del micelio esta por la superficie aérea ,sumergido o dentro de las células huéspedes En ocasiones el micelio se esponja ,se vuelve nudoso o tuberculado y raras veces crece simétricamente.

Las hifas se ramifican en ángulos aproximadamente de 90 grados y algunas veces se constriñen en la base .Aunque hay especies que tienen patrones de

micelio característicos estos no son lo suficientemente útiles para diferenciar especies: como tampoco son los de crecimiento y la forma de la colonia y el hinchamiento de las hifas. (RIVADENEIRA, 2006)

**Imagen 3.** Micelio cenocítico sin septas



**Fuente:** (ARRIETA, 2005)

### **Esporangios y zoosporas**

Los esporangios son esporas asexuales que se producen sobre pedúnculos llamados esporangióforos, los cuales difieren ligeramente de las hifas vegetativas, su desarrollo es indeterminado y se ramifica simpodialmente, lo cual es propio de *Phytophthora infestans*. Los esporangios se diferencian porque el *Phytophthora* cada uno tiene un pedúnculo cuya longitud varía con la especie, en rango de medio a corto en *Phytophthora infestans*, en el cual pueden liberar hasta 36 zoosporas.

Los esporangios varían en forma y tamaño. Las formas son algo diferentes para una especie en particular, pero son a menudo variables en el rango: de

esféricas ,subesfericas ,ovoides ovalovoides ,elipsoidales ,limoniformes(*Phytophthora infestans*),periniformes(en forma de pera invertida).La diferencia de tamaño puede estar afectado por la luz y los medios nutritivos .Los esporangios miden entre 29 x 19 a 59 x31 micras. (FLORES, 2010).

El patógeno de *Phytophthora infestans*, producen hinchamiento característico arriba de la zona donde se desprende el esporangio .En algunas especies el esporangióforo reinicia el crecimiento a través los de la base de los esporangios evacuados ; el nuevo esporangio puede proliferar adentro de las paredes de uno vacío(proliferación interna) o el esporangióforo puede crecer hacia afuera y salir por el poro de esporangios anteriores y formar el próximo esporangio a alguna distancia del último.

El egresa miento apical sobre el esporangio, el cual tiene forma de limón de denomina papila, de cuyo extremo emergen las zoosporas .El espesor de esta estructura varía entre especies .La especie *Phytophthora infestans* es semipapilada o sea con una cavidad superficial, cuyo poro es generalmente estrecho (AKINO, 2004)

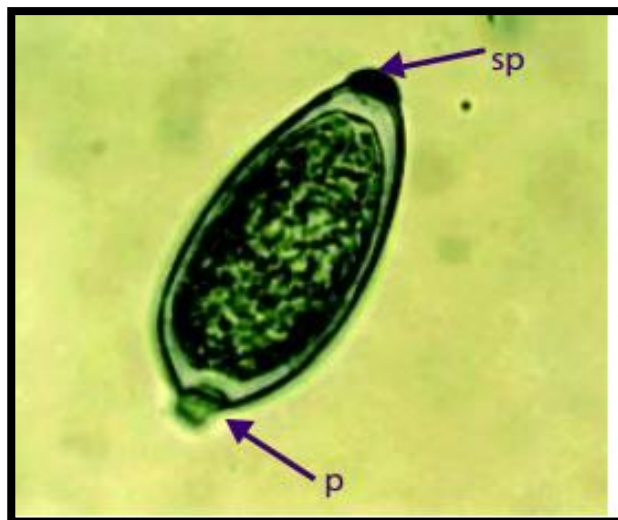
Los esporangios pueden germinar directamente, o bajo condiciones frescas y húmedas, son ovoides, elipsoidales a limoniformes, ahusados en la basa, caducos, con un pedicelo menor de 3 mm y semipapilados.Su tamaño varia de 36 x22 um, y puede producir hasta ocho zoosporas. Cada zoospora debido a los dos flagelos que posee puede moverse a través de una película de agua libre sobre la superficie de la planta, e inicia nuevas infecciones. (CASTAÑO, 2013)

**Imagen 4.** Esporangios limoniformes



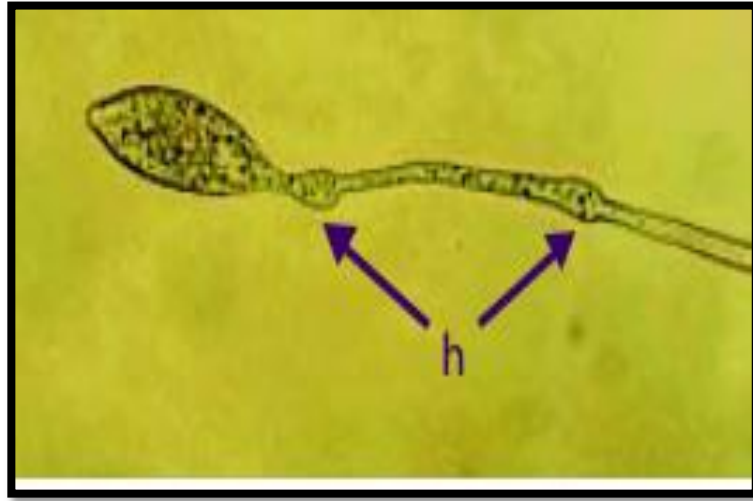
**Fuente:** (ARRIETA, 2005)

**Imagen 5.** Esporangio limoniforme, mostrando el pedicelo (p) y la semipapila (sp)



**Fuente:** (ARRIETA, 2005)

**Imagen 6.** Esporangióforo de crecimiento continuo mostrando dos hinchamientos (h) que se forman justo debajo del esporangio



**Fuente:** (ARRIETA, 2005)

### **Morfología de las zoosporas**

El aparato flagelar típico de las zoosporas posee dos flagelos uno en la forma de látigo y el otro en forma de pluma. La zoospora está conformado por varias partes: el Kinetosoma (cuerpo basal de la zoospora), la zona de transición que une el flagelo con el Kinetosoma y el sistema del micro túbulo ,permite anclar el flagelo a la zoospora.

Los ancles (como raicillas) de los flagelos de *Phytophthora infestans*, son significativamente diferentes pues solo tiene cinco “raicillas”, mientras que otras especies tienen seis. Una de las raicillas de las zoosporas de *Phytophthora infestans* contienen seis micro túbulos en comparación con otras especies que solo presenta solo cuatro Esta característica podría ser útil para diferenciar *Phytophthora infestans*, ya que parece ser única en el género.

## **1.4. Medios de cultivos**

### **1.4.1. Agar Papa Dextrosa (PDA).**

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

La temperatura habitual de incubación de los hongos es entre 25 y 28 °C. (FERNANDEZ, MARTÍNEZ, PERURENA, & VALDEZ, 2005).

### **1.4.2. Condiciones Que Debe Reunir Un Medio De Cultivo**

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

### **1.4.3. Disponibilidad De Nutrientes En Los Medios De Cultivo.**

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

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

## **CAPITULO II**

### **2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **2.1. Materiales**

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

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

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

- Autor: Ana Lucia Chicaiza Paltán
- Director de tesis: Ing. Adolfo Cevallos Polanco
- Miembros del Tribunal:
  - Ing. Francisco Chancusig
  - Ing. David Carrera
  - Ing. Paolo Chasi

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

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

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

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

### **2.1.3.2. Material de Laboratorio**

- Micro tubos
- Goteros de plástico
- Papel aluminio
- Pizeta
- Marcadores permanentes
- Aguja de disección
- Asa de siembra
- Reposeros plásticos con tapa
- Cajas Petri
- Papel absorbente
- Para film de laboratorio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Vaso de precipitación de 50-100-500-1000 ml
- Erlenmeyer de 500-1000 ml
- Tubos de ensayo de 10 ml
- Algodón
- Fundas ziplop
- Cinta adhesiva transparente
- Pinzas
- Bisturí
- Tijeras

- Cuchillo
- Estilete
- Olla
- Colador metálico
- Cuchara
- Pirutines
- Cucharas plásticas
- Agitador
- pH\_metros.

#### **2.1.3.3. Materiales de aseo**

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

#### **2.1.3.4. Reactivos**

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

### 2.1.3.5. Materiales de campo

• Recolección de muestras hongos Fitopatógenos en el cultivo de Tomate hortícola (*Solanum lycopersicum*).

- Tijeras
- Fundas de Papel
- Fundas ziplop
- Bisturí
- Cámara
- GPS
- Libro de Campo

### 2.1.3.6. Materiales de Oficina

- Computadora
- Internet
- Flash Memory
- Impresora

## 3. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

**Tabla 3.**Operalización de variables

CONSEPTUALIZACION	INDICADOR	INDICE	TECNICAS	INSTRUMENTO
CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE TOMATE HORTÍCOLA	TALO	TIPO	OBSERVACION	MICROSCOPIO
	HIFAS	TIPO		
	ESPORAS	TIPO		
	REPRODUCCIÓN	TIPO		

**Realizado por:** El Investigador

## **4. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **4.1. Tipo de investigación**

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

Esta investigación se realizó dentro del tipo descriptiva, Porque para su desarrollo y avance de la investigación necesita ser descrito sigilosamente, la misma que me permitió recopilar información de la característica morfológica que presenta el Hongo Fitopatógeno Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de Tomate hortícola (*Solanum lycopersicum*). Además de ser descriptiva por los resultados que serán procesados y colocados de tal modo que se puedan analizar, discutir y puntualizar el desarrollo conjuntamente con el avance del ciclo vital de dicho hongo, evaluando aspectos relevantes que ayudaron al desarrollar la investigación.

### **4.2. Método**

#### **4.2.3. Métodos lógicos.**

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

Utilice este método en esta investigación porque describí el ciclo de vida del hongo determinado de mayor impacto a la producción del cultivo del Tomate hortícola (*Solanum lycopersicum*), esta descripción se realizó en condiciones de laboratorio.

#### **4.2.3.2. Método deductivo**

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

Para el inicio de la investigación se empleó este método porque permitió recopilar información de las características morfológicas que presenta el Hongo fitopatógeno, identificando signos y síntomas del hongo en el cultivo del Tomate hortícola (*Solanum lycopersicum*).

#### **4.2.3.3. Método comparativo**

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

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

#### **4.2.4. Técnicas**

##### **4.2.4.1. Observación**

Consiste en observar desde el lugar de los hechos, todos los sucesos de manera directa y abierta con el propósito de obtener información de primera mano del fenómeno que se investiga.

La observación permitió conocer la realidad en la que se desarrolló el Hongo fitopatógeno Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*), además permitió observar macro y micro estructuras del patógeno. Lo cual se utilizó una guía de observación en donde se registró los datos los cuales se podía determinar en el cultivo también se utilizó el microscopio como instrumento.

#### **4.2.4.1. Fichaje**

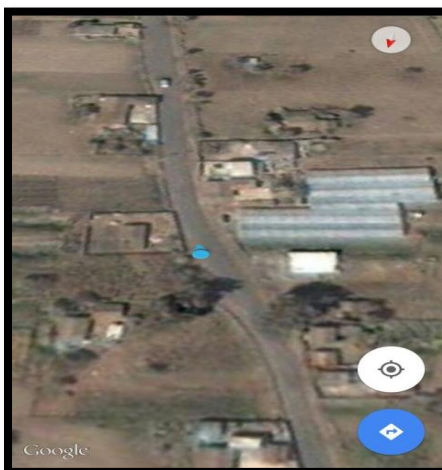
Se utilizó la técnica del fichaje, con la cual se realizó el levantamiento de información tanto en campo (selección de plantas), como en el laboratorio (siembras) donde se analizó a detalle y profundidad las características del hongo fitopatógeno Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*), con el cual se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

### **4.3. Metodología**

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

Las muestras se recolectaron en el Sector de Patayn, que está ubicado en la parte Suroriental de la ciudad de Salcedo.

**Imagen 7.Zona de recolecto la muestra**



**Tomada por:** El Investigador

**4.3.3.1. Ubicación Política**

- **País:** Ecuador
- **Provincia:** Cotopaxi
- **Cantón:** Salcedo
- **Parroquia:** Patain

**4.3.3.2. Ubicación Geográfica**

- **Latitud:** 34° 37' 56.1788" S
- **Longitud:** 58° 24' 30.4646" W
- **Altitud:** 2800m.s.n.m

**4.3.3.3. Datos Edafoclimaticos**

- **Temperatura promedio:** 13°C
- **Clima:** Región bioclimática sub húmeda templada
- **H° relativa:** 30%

**FUENTE :**(Estación meteorológica INAMI ubicada en CADERS Salcedo)

#### 4.3.4. Delimitación del Lugar donde se encuentra el laboratorio

**Imagen 8.**Lugar donde se realizó la practica



**FUENTE:** Google Maps

##### 4.3.4.1. Ubicación Política

- **Latitud:** 00° 59'57 " S
- **Longitud:** 18° 37' 14" W
- **Altitud:** 2725 m.s.n.m

##### 4.3.4.2. Ubicación Geográfica

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

##### 4.3.4.3. Datos Edafoclimaticos

- **Temperatura promedio:** 13°C
- **Clima:** Seco Templado
- **H° relativa:** 3%

**FUENTE :**(Estación meteorológica INAMI ubicada en CADERS Salcedo)

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

Se realizó la toma de muestras al Azar del hongo Fitopatógeno Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de Tomate hortícola (*Solanum lycopersicum*), recogiendo cinco muestras (tres muestras de la parte del tallo y dos muestras de las hojas) que presentaban mayor porcentaje de infección presente en el cultivo, para trasladar las muestras al laboratorio para su respectivo proceso de caracterización morfológica.

Se presentaron problemas ya que las muestras estaban contaminadas con residuos de tierra y otros hongos que no correspondían a Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*).

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

Se extrajeron plantas afectadas utilizando un bisturí y tijeras para facilitar la recolección de las muestras, en cada corte se esterilizo los materiales con alcohol y las muestras vegetales fueron envueltas en papel para que el exceso de humedad sea absorbido por el mismo, posteriormente se procedió a colocar las muestras en fundas ziplop con su respectiva codificación y estas fueron trasladadas en una hielera para evitar la deshidratación, contaminación y daño de las muestras.

#### **4.3.7. Almacenamiento**

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

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

Dentro del laboratorio se siguió un proceso minucioso de identificación para obtener muestras más óptimas, donde se verificó que era el hongo Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*), mediante la utilización de bibliografía existente de los síntomas que presenta el hongo y con la observación de la muestra en el microscopio.

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

Se elaboró el medio de cultivo optado por PDA (papa – dextrosa - agar), tiene la infusión de papa como fuente de almidones y la dextrosa son la base para el crecimiento de hongos y levaduras, utilizando:

- 50gr de papa
- 125ml de agua.
- 3,75gr de agar
- 5gr de glucosa
- 0,5gr de levadura

Las cantidades detalladas anteriormente abarcan para una capacidad de cinco cajas Petri las mismas que contienen 25 ml de PDA (papa – dextrosa - agar).

#### **Procedimiento:**

**PRIMERO:** Pelar y picar la papa y poner a hervir la papa 50gr en 125ml de agua en un tiempo de 10 a 15 minutos.

**SEGUNDO:** El extracto se filtra y se adiciona hasta completar los 125ml para reponer lo que se evapora.

**TERCERO:** Se agregan los otros ingredientes y se calienta a fuego lento moviendo constantemente durante de 1 a 2 minutos hasta que queden totalmente disueltos.

**CUARTO:** Obtenido ya el medio de cultivo se procede a colocar la mezcla en el Erlenmeyer el cual debe ser tapado con el papel aluminio de una forma segura que cuando empiece a hervir dentro del autoclave esta no sea derramada en el interior,

**QUINTO:** El Erlenmeyer es colocado dentro del autoclave durante 35 minutos a una temperatura de 121°C para que la solución sea completamente esterilizada, Después de haber transcurrido el tiempo establecido, se realiza una previa apertura al autoclave para que los vapores sean expulsados, posteriormente se verifica que los vapores han sido expulsados en su totalidad y con ello se procede a abrir completamente el autoclave.

**SEXTA:** Se obtiene el medio de cultivo y se coloca rápidamente 25ml de PDA (papa – dextrosa - agar) en las cajas Petri , misma que ya están esterilizadas, ya que si se las expone durante mucho tiempo al aire libre puede ser contaminadas.

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

#### **4.3.10. Siembra**

La siembra se realizó en cajas Petri previamente ya colocadas el medio de cultivo PDA (papa – dextrosa - agar), la misma que se realizó cortando pequeños segmentos (tallos y hojas) de las muestras del Tomate hortícola (*Solanum lycopersicum*) tomando los segmentos con una pequeña pinza los cuales tenían la presencia del hongo fitopatógeno Tizon Tardío (*Phytophthora*

*infestans*), la cual se realizó dentro de la cámara de flujo laminar para evitar la contaminación del medio de cultivo durante la siembra, utilizando materiales desinfectados como bisturís, pinzas, aza de siembra y mecheros.

Una vez sembradas las muestras se procede a sellar las cajas Petri con Parafilm y luego son colocadas en la incubadora a una temperatura de 22°C la que infiere para la proliferación del hongo fitopatógeno Tizon Tardio (*Phytophthora infestans*).

Para la obtención del hongo Tizon Tardio (*Phytophthora infestans*) se realizó cinco siembras:

**Primera siembra:** Se realizó tratando de buscar el hongo Tizon Tardio (*Phytophthora infestans*) de las partes vegetativas del tallo y de hojas siendo colocadas en la incubadora a una temperatura de 22° C, las cuales fueron revisadas en el lapso de 48 horas en donde se observó los contenidos de los cinco medios de cultivos, en el cual se obtuvo como resultado la presencia de bacterias y endógenos contaminantes por lo cual no se pudo encontrar el hongo requerido ya que el pH del medio de cultivo era de 8 y los hongos no se podían proliferar.

**Segunda siembra:** Se realiza la siembra de partes vegetativas del tallo y de hojas del Tomate hortícola (*Solanum lycopersicum*) con la presencia del hongo fitopatógeno Tizon Tardio (*Phytophthora infestans*) recolectadas en campo, en cinco cajas Petri las misma que fueron llevadas a la incubadora a una temperatura de 22°C estas fueron revisadas a las 24 horas después de su siembra, en donde solo se pudo obtener la presencia de una bacteria acuosa de una coloración variable que iba desde blanquesina, verdosa, amarillenta y roja contaminando así todo el medio de cultivo una de ellas fue identificada dentro

del género de Bacilos, con este medio de cultivo tampoco se pudo obtener el hongo que se requería ya que el pH del mismo era de 8.

**Tercera siembra:** Al ver que no se obtenida el hongo deseado se opta por realizar una desinfección con alcohol y agua en donde las partes vegetativas fueron sumergidas por unos tres segundos, también se opta por bajar el pH inicial que era de 8 a un pH de 6.5 en el medio de cultivo. La siembra se realiza en cinco cajas Petri en un medio de cultivo el cual su pH ha sido bajado ,las misma que fueron llevadas a la incubadora a una temperatura de 22°C la siembra es revisada a las 12 horas en donde se pudo observar la presencia mínima de micelio blanquecino en tres cajas Petri de las cinco cajas en las dos cajas restantes aún se tenía la presencia de una bacteria acuosa pero ya no en gran cantidad como al principio.

**Cuarta siembra:** Se procede a la siembra utilizando las tres cajas obtenidas anteriormente de la tercera siembra las que son m3 s2 (1)y m5 s2(2) ,la siembra se realiza de igual manera en cinco cajas, para realizar la siembra se toma pequeñas cantidades de micelio con una pinza de las muestras m3 s2(1)y m5 s2(2) y previamente identificadas en el microscopio , estas son llevadas a la incubadora a una temperatura de 22°C la siembra es revisada en un lapso de 12 horas transcurrido ese tiempo se puede observar la presencia de un micelio blanquecino en todas las cajas Petri solo en una de las cajas Petri se puede observar una cantidad mínima de contaminación de bacterias.

**Quinta siembra:** La siembra se realiza nuevamente de la m3 s2 en donde está ya se encuentra totalmente limpia libre de bacterias , en las cinco cajas Petri tomando todas las medidas de asepsia necesarias y el pH del medio de cultivo a sido bajado a un pH de 6 ,después que es realizado la siembra las cajas Petri son llevadas a la incubadora a una temperatura de 22°C las cuales

son revisadas en un lapso de 12 horas durante ese tiempo transcurrido se puede observar pequeñas cantidades de micelio blanquecino en todas las cajas Petri las misma que se encuentran totalmente limpias y libres de algún agente extraño al hongo que se dese obtener ,las cajas son llevadas nuevamente a la incubadora en donde son dejadas durante 24 horas más transcurrido ese tiempo se vuelve a observar las cajas en ellas se puede observar mayor cantidad de micelio blanquecino el cual ya es correspondiente al hongo fitopatígeno Tizon Tardio (*Phytophthora infestans*).

#### **4.3.11. Identificación**

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

**Técnica de cinta pegante:** Se realizó un dobléz de una tira de cinta de 4 cm, con el lado adhesivo hacia fuera y se sostuvo con una pinza. Con el lado adhesivo se tomó con mucho cuidado una pequeña muestra de la colonia del hongo Tizon Tardio (*Phytophthora infestans*), después se colocó una gota de agua destilada sobre el portaobjetos y se procedió a pegar la cinta sobre el portaobjetos para luego ser observado en el microscopio con un aumento de 20x y 100x.

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

## **Descripción**

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

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

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

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

- Se prepararon las cajas Petri con las cepas del hongo aislado.
- Se tomó un trozo de cinta máskin transparente de 4 cm. De largo y se fijó en el cuerpo fructífero, tomando directamente de la caja Petri, donde se encontraban las cepas puras.
- Se observó en el microscopio y se procedió a tomar fotografías microscópicas de las diferentes estructuras del hongo con una cámara de 20 megapíxeles.

## CAPITULO III

### 5. RESULTADO Y DISCUSIÓN

El presente trabajo con el tema caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el tomate hortícola , optando por la determinación del hongo de mayor impacto en la producción del cultivo, obteniendo como resultado a Tizón Tardío (*Phytophthora infestans*), hongo fitopatógeno Tizón Tardío (*Phytophthora infestans*) esta enfermedad puede aparecer en hojas, tallos y frutos. El patógeno es un alga que se reproduce mediante esporangióforos que producen esporangios. A su vez, los esporangios generan zoosporas con 2 flagelos que les sirven para nadar en el agua libre sobre los folíolos del tomate hasta que encuentren un punto por donde penetrar. En cuanto a la enfermedad la forma de supervivencia es una oospora en el suelo que germina produciendo esporangios que el viento y la lluvia acarrean al tomate. Las hojas infectadas presentan un tizón en el haz y un algodoncillo grisáceo en el envés. Cuando tenemos condiciones climáticas como nubosidad, humedad (90%), agua sobre el follaje, lluvias fuertes, se favorece las condiciones para el desarrollo de la enfermedad. (BADILLA, 2012).

En la actualidad para los agricultores de la Serranía Ecuatoriana, la producción y comercialización de tomate hortícola (*Lycopersicon esculentum*) representa uno de los principales ingresos para la economía de sus familias. Pero la producción se ve limitada por el ataque de distintos hongos fitopatógenos. (CERVANTES, 2010)

Los patógenos más importantes que causan elevadas pérdidas de frutas y hortalizas son normalmente bacterias y los hongos sin embargo, con mayor frecuencia son especies de hongos las causantes del deterioro patológico de frutas, hojas, tallos y productos subterráneos (raíces, tubérculos, cormos, etc.). Algunas fuentes estiman que dichas pérdidas son del orden de 5-25% en países desarrollados y 20-50% en países en desarrollo. (FHIA, 2007)

La producción mundial de tomate se ha mantenido estable, con un nivel promedio anual de 123,79 Millones de toneladas, convirtiendo a este alimento en una de las hortalizas de mayor consumo mundial. (SICA, 2012).

## **5.1. Identificación de síntomas y signos del Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*) el cultivo de tomate hortícola**

### **5.1.1. SINTOMAS**

Inicialmente, aparecen manchas pequeñas de color verde claro a verde, oscuro, de forma irregular. Estas manchas se inician por los bordes de las hojas y se extienden sin respetar las nervaduras. Son lesiones necróticas grandes de color castaño a negro, que pueden causar la muerte de los folíolos y diseminarse por los pecíolos hacia el tallo, matando la planta entera. Frecuentemente se observa un halo verde claro a amarillo alrededor de las lesiones, se forma un mildiu veloso en los bordes de las lesiones, principalmente en el envés de las hojas. Las lesiones son negras o castaño oscuras. En, los pecíolos, hasta producir la defoliación total de la planta. (MELEGARI, 2011)

Las primeras lesiones en las hojas y tallos se manifiestan como pequeñas manchas negras, que se agrandan progresivamente hasta producirse lesiones

que progresan desde el ápice y los bordes de la hoja hacia su centro. Inicialmente, los tejidos infectados son edematosos, de color verde grisáceo, pero se vuelven necróticos de color marrón o negro en unos pocos días. Muchas veces, alrededor de las lesiones es posible observar un halo de color verde claro. (GRANADILLA, 2006)

Los frutos infectados presentan pequeñas manchas pardas sobre la epidermis, de forma irregular.

**Imagen 9.**Sintomas (*Phytophthora infestans*)en laboratorio



**Fuente:** (GOLDLOCKI, 2006)

De acuerdo a la bibliografía citada sobre el Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*) los síntomas o lesiones que pude detectar en el cultivo de tomate hortícola En el sector de Patatin fue en la parte del tallo y sus hojas presentaban una coloración café, a medida que esta avanzaba se tornaba una coloración necrótica irregular ,en la parte de las hojas las manchas se iniciaban de afuera hacia dentro, llegando hacia al tallo hasta que este se

seca y fuera avanzando poco a poco hacia el resto de la planta provocando así la muerte total de la planta.

En lo que no se pudo observar el hongo fue en los frutos ya que las plantas estaban contaminadas con el hongo en la parte de los tallos y hojas, y al estar los tallos contaminados existe un estrangulamiento de la planta lo cual no permite llegar los nutrientes a las flores, lo que provoca la caída de las mismas y por ende no existían frutos.

**Imagen 10.** Síntomas (*Phytophthora infestans*) en campo



**Tomadas por:** El Investigador

### 5.1.2. SIGNOS

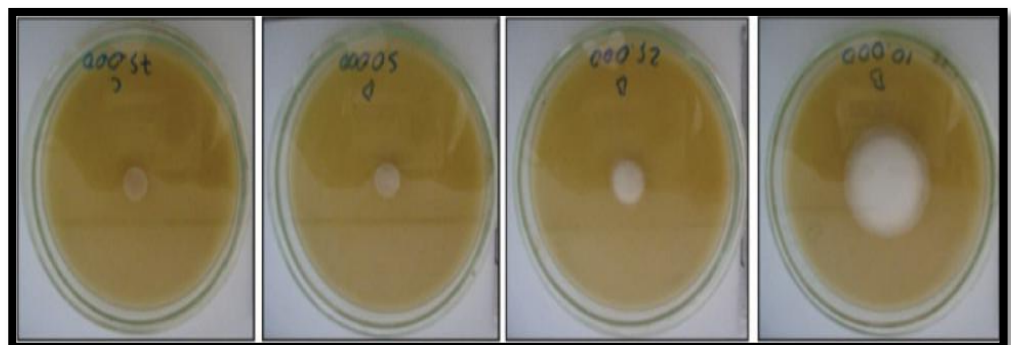
Micelio es hialino, cenocítico, continuo de paredes paralelas con la presencia de algunos tabiques, esporangióforo de crecimiento limitado, esporangio papilado en forma de limón, zoosporas biflageladas y oosporas antígenas (anteridio debajo del oogonio). (CAMPOS, 2014)

Las estructuras somáticas (talos) de *Phytophthora* son llamadas micelios y están compuestos de filamentos “hialinos” (hifas) ramificados y cenocíticos (no septadas) , excepto en cultivos viejos, en cuales algunas veces se pueden observar septas. En cultivos jóvenes el citoplasma fluye libremente dentro del micelio. (CASTAÑO, 2013)

Los esporangios son esporas asexuales que se producen sobre pedúnculos llamados esporangióforos, los cuales difieren ligeramente de las hifas vegetativas, su desarrollo es indeterminado y se ramifica simpo dialmente, lo cual es propio de *Phytophthora infestans* .Los esporangios se diferencian porque el *Phytophthora* cada uno tiene un pedúnculo cuya longitud varia con la especie, en rango de medio a corto en *Phytophthora infestans*, en el cual pueden liberar hasta 36 zoosporas.

Los esporangios varían en forma y tamaño .Las formas son algo diferentes para una especie en particular, pero son a menudo variables en el rango: de esféricas, subesfericas, ovoides ovalovoides, elipsoidales ,limoniformes(*Phytophthora infestans*),periniformes(en forma de pera invertida).La diferencia de tamaño puede estar afectado por la luz y los medios nutritivos .Los esporangios miden entre 29 x 19 a 59 x31 micras. (FLORES, 2010).

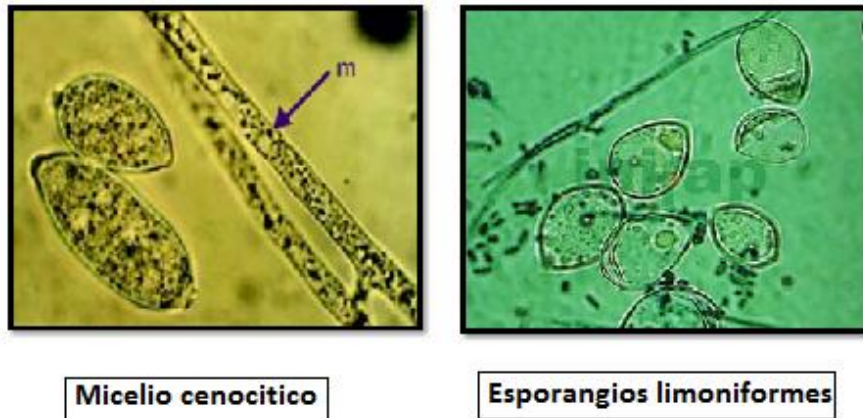
**Imagen 11.**Micelio y esporangios



**Fuente:** (CAMPOS, 2014)

Producción de micelio de *Phytophthora* infestans en el transcurso de 24 en donde se observar el micelio que es cenocítico, es decir no presenta septas o tabiques que separen el micelio. Los esporangios son limoniformes y elipsoidales. (CAMPOS, 2014)

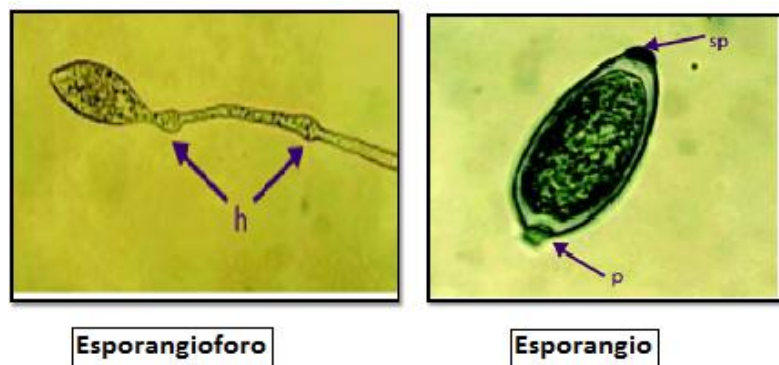
**Imagen 12.** Micelio y esporangios



**Fuente:** (ARRIETA, 2005)

Los esporangióforos son de crecimiento continuo, con un pequeño hinchamiento justo debajo del esporangióforo .El esporangio limoniforme, mostrando el pedicelo (p) y la semipapila (sp). (FLORES, 2010).

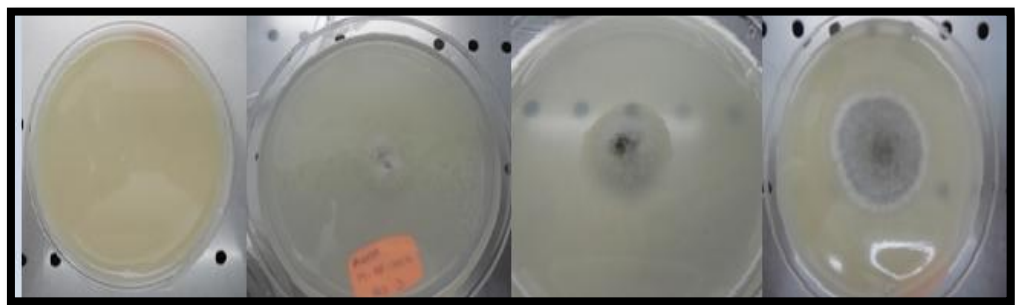
**Imagen 13.**Esporangióforo y esporangio



**Fuente:** (ARRIETA, 2005)

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

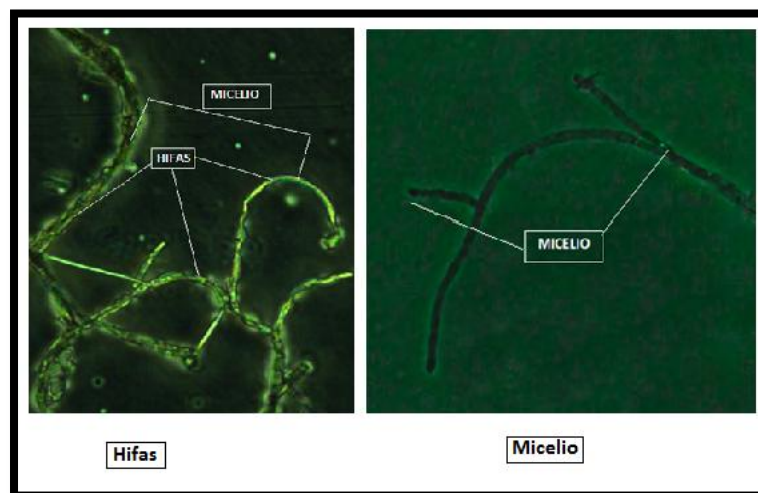
**Imagen 14.**Producción de micelio en el laboratorio



**Tomadas por:** El Investigador

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

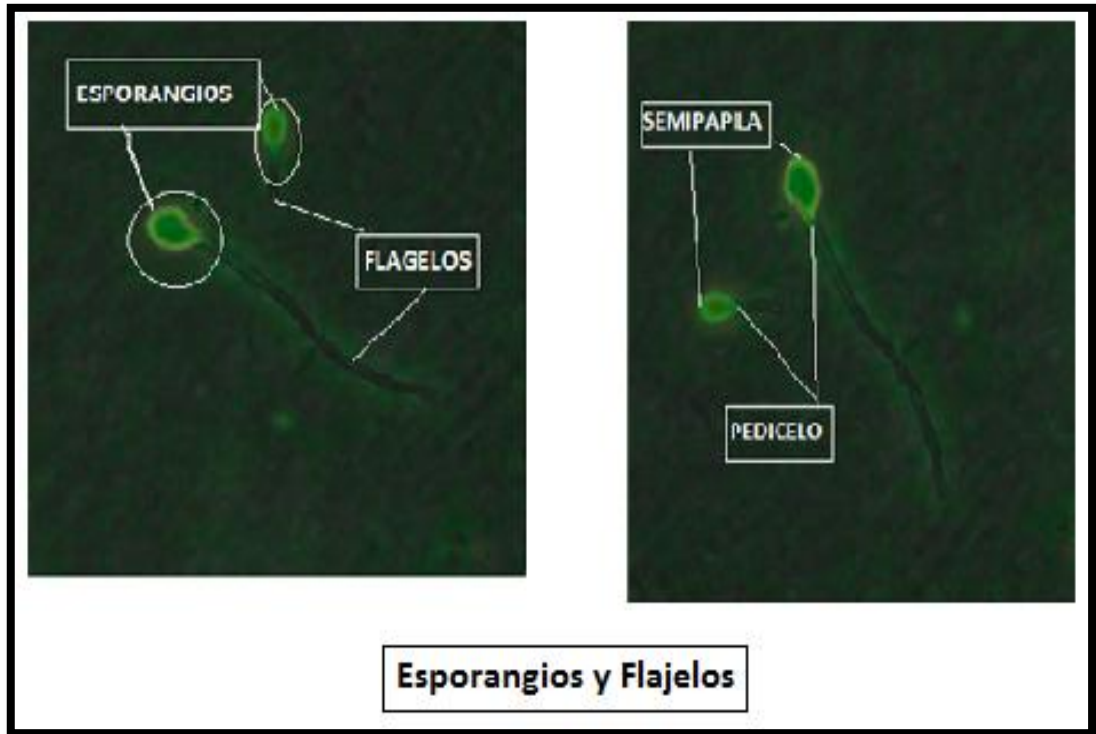
**Imagen 15.**Hifas y micelio



**Tomadas por:** El Investigador

De acuerdo a la bibliografía se pudo observar la mayoría de microestructuras en el laboratorio se pudo observar esporangios limoniformes los cuales tenían una semipapila y un pedicelo con flagelos.

**Imagen 16.** Esporangios y flagelos



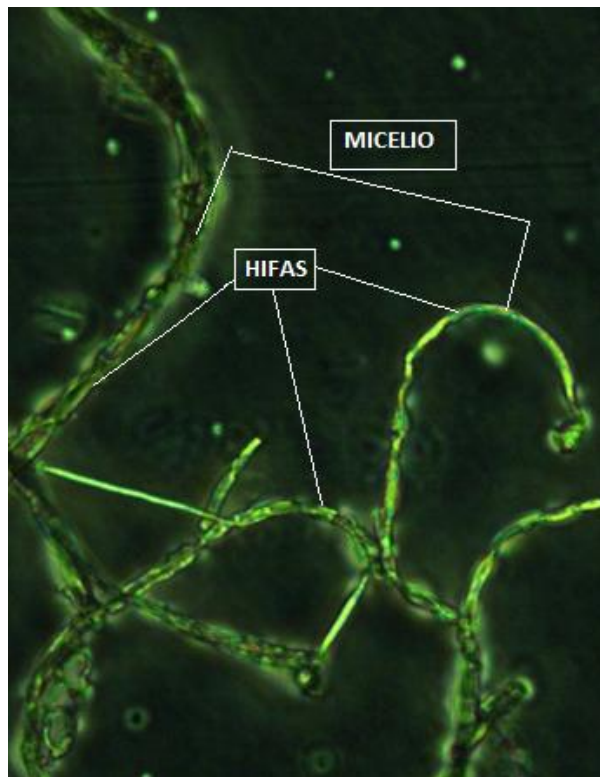
**Tomadas por:** El Investigador

**5.2. Caracterización de Macro y Microestructuras del Patógeno (*Phytophthora infestans*) el cultivo de tomate hortícola**

**5.2.1. Fotografía del micelio tomada en:**

- Campo oscuro Ph1
- Exposición 500
- Ganancia 5.4
- Gama 1
- Luz del día
- 20x

**Imagen 17.Hifas**



**Tomada por:** El Investigador

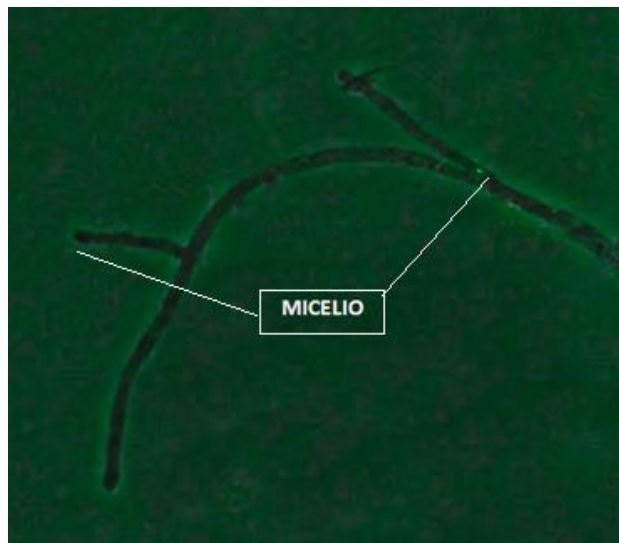
Se puede observar las hifas de (*Phytophthora infestans*) con el conjunto de hifas constituyen el micelio de (*Phytophthora infestans*), el cual se lo obtuvo en el laboratorio.

Las estructuras somáticas (talos) son llamadas micelios y están compuestos de filamentos “hialinos”(hifas) ramificadas(no septadas).El diámetro del micelio (5-8micras). (CRISTINA TELLO, 2008).

### 5.2.2. Fotografía del micelio tomada en:

- Campo oscuro :Ph1
- Exposición: 500
- Ganancia: 5.4
- Gama: 1
- Luz del día
- 20x

**Imagen 18.** Micelio



**Tomada por:** El Investigador

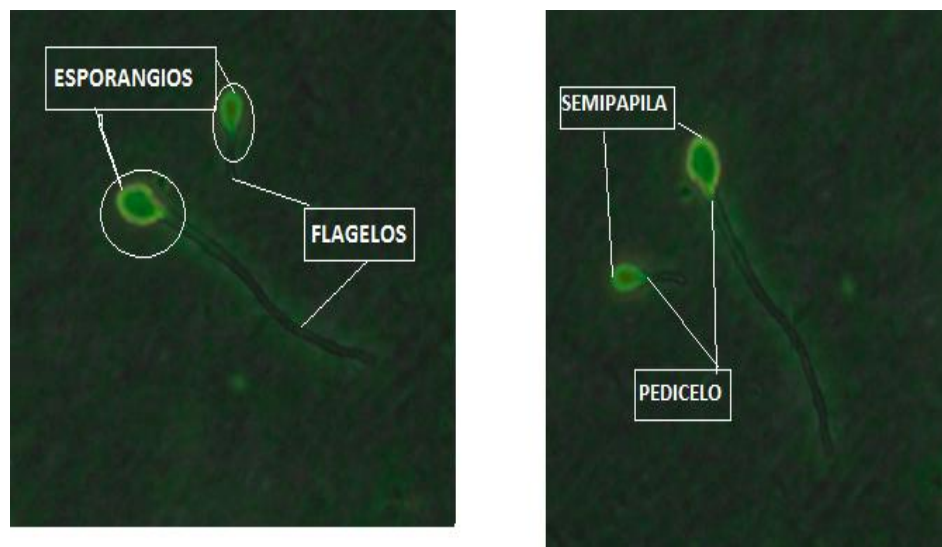
Se puede observar el micelio de (*Phytophthora infestans*) que es cenocítico sin septas y con ramificaciones, el cual se lo obtuvo en el laboratorio.

Las estructuras somáticas (talos) son llamadas micelios y están compuestos de filamentos “hialinos”(hifas)ramificadas(no septadas).El diámetro del micelio (5-8micras). (CRISTINA TELLO, 2008).

### 5.2.3. Fotografía esporangio y flagelos tomada en :

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

**Imagen 19.**Esporangio y flagelos



**Tomada por:** El Investigador

Se puede observar que los esporangios de (*Phytophthora infestans*) son ovoides, elipsoidales a limoniformes, menor de 3 mm, mostrando el pedicelo y la semipapila, el cual fue obtenido en laboratorio.

Sus esporangios son hialinos en forma limoniforme que pueden medir desde 29x19 ,36x22, 59x31 micras, que emergen a través de los estomas foliares, donde se puede diferencia el pedicelo que es menor de 3 mm y semipapila, pueden germinar directamente, o bajo condiciones frescas y húmedas, y producir hasta ocho zoosporas. El flagelo anterior de una zoospora es de tipo pincel, mientras que el flagelo posterior es de tipo látigo; ambos se unen típicamente a un surco ventral. (ROMERO, Tizón tardío (*Phytophthora infestans*), 2012).

#### **5.2.4. Fotografía de Micelios, oospora y esporangios tomada en:**

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

## Imagen 20. Micelio, esporangios y oosporas



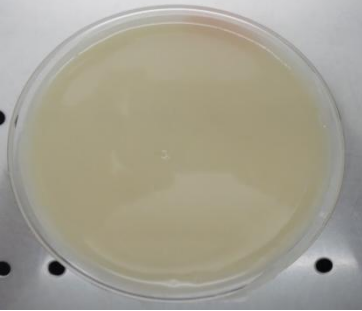

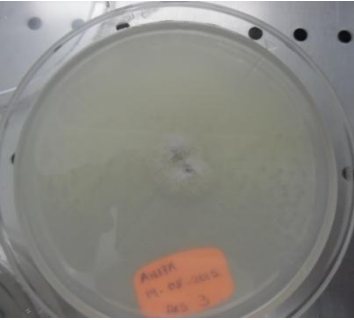
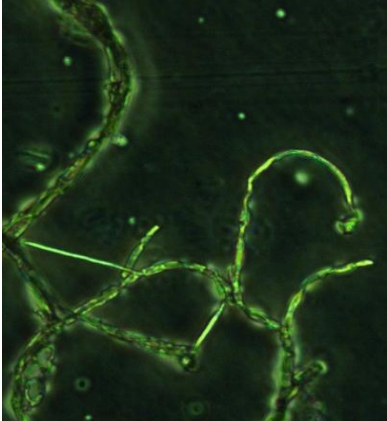
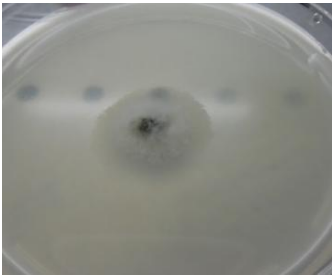
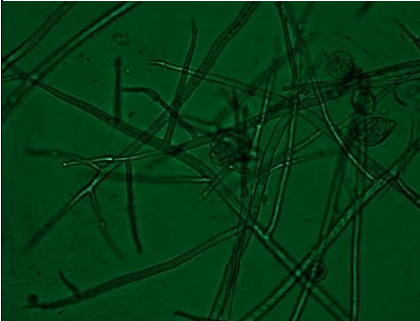
**Tomada por:** El Investigador

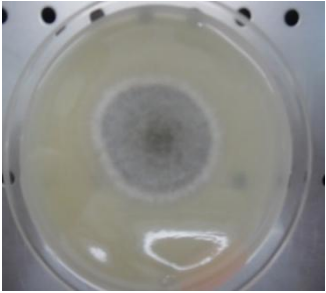
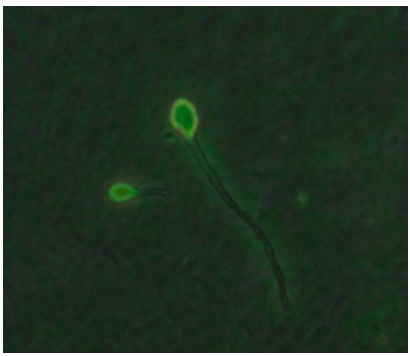
Se puede observar el micelio de (*Phytophthora infestans*) es cenocítico sin septas y con varias ramificaciones con la presencia esporangióforos de (*Phytophthora infestans*) que menor de 3 mm el cual obtenido en laboratorio.

Las oosporas pueden medir 24x56 um de diámetro, germinan para producir una hifa, la cual puede inmediatamente producir un esporangio. La germinación de la oospora es frecuentemente asíncrona; esto es, algunas oosporas germinan mientras que otras no lo hacen. (NIKLAUS , 2010)

**5.3. Descripción del ciclo de vida del Patógeno en Condiciones de Laboratorio**

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

ACTIVIDAD	TIEMPO	° C	GRAFICO
Siembra del hongo	10 min 	22°C	
Formación de hifas	12 horas 	22°C	
Formación del micelio	18 horas 	22°C	

Producción de esporangios con flagelos, con semipapila y pedicelo	24 horas 	22°C	
---	---	------	---

**Realizado por:** El Investigador

## 6. CONCLUSIONES

- Se determinó que el hongo de mayor impacto económico que afecta a los agricultores es (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de tomate hortícola ya que puede ocasionar pérdidas de 5-25% en países desarrollados y 20-50% en países en desarrollo.
- Los síntomas de (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de tomate hortícola pueden variar de acuerdo a la zona y humedad, pero siempre se presenta de una coloración café en la mayoría de la planta causando la muerte total de la misma, pero los signos son iguales se produce un micelio blanquecino el mismo que produce innumerable cantidad de oosporas.
- Se utilizó claves taxonómicas y protocolos de laboratorio para aislar, purificar y reproducir el hongo en estudio, en donde se pudo caracterizar estructuras del hongo fitopatógeno (*Phytophthora infestans*) como: talo, micelio, oosporas y esporangios las mismas que fueron observadas en el laboratorio.
- Con la ayuda de una incubadora y bajo condiciones controladas dentro del laboratorio a una temperatura de 22°C (*Phytophthora infestans*) se desarrolló y cumplió su ciclo de vida en 24 horas en donde pudimos identificar macro y micro estructuras (talo, micelio, oosporas y esporangios).
- En la investigación realizada los datos que se obtuvo, estos fueron sintetizados para la elaboración de una guía didáctica detallando la caracterización morfológica de (*Phytophthora infestans*).

## 7. RECOMENDACIONES

- Determinar con datos actuales las zonas con mayores pérdidas económicas a causa de problemas fitosanitarios para posibles investigaciones a futuro.
- En la caracterización de las macro y micro estructuras del hongo fitopatógeno *Phytophthora infestans* u otro hongo en estudio, se recomienda buscar claves taxonómicas actualizadas para de este modo tener una mejor descripción de las mismas.
- Tener mucho cuidado en cuanto se refiere a la asepsia dentro del laboratorio para lo cual se recomienda la utilización de protocolos en todo momento y de este modo evitar una contaminación dentro de las cajas Petri y así nos sea más fácil identificar el hongo en estudio ya que así no existirá ningún otro agente extraño al hongo que se está estudiando.
- Los resultados obtenidos de la investigación deben ser socializados a los estudiantes o personas interesadas en esta investigación, en donde todos los resultados ya han sido sintetizados en la guía didáctica y más práctica.
- Para obtener fotografías de buena calidad de las estructuras del patógeno se recomienda utilizar los lentes de 20x y 100x del Microscopio Trinocular CX31.
- Se recomienda continuar con esta investigación para profundizar más en el hongo en estudio en cuanto a sus macro y microestructuras.

## **BIBLIOGRAFIA**

AGRIOS, G. (2010 de Noviembre del 2005). Enfermedades de las plantas. Recuperado el 24 de 1 de 2015, de <http://enfermedadesdeltomate1.blogspot.com/2014/12/tizon-tardio-del-tomate-phytophthora.html>.

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

AKINO, S. (17 de Abril de 2004). Aislamientos De Phytophthora Infestans . Diario de Patología Vegetal general, 70, 212-214.

ARAUJO, E. (29 de Diciembre del 2014). Manual de las principales enfermedades en el tomate riñon. Recuperado el 10 de 8 de 2015, de <http://enfermedadesdeltomate1.blogspot.com/2014/12/tizon-tardio-del-tomate-phytophthora.html>

ARRIETA, H. G. (12 de Marzo de 2005). Hongo de genero de Phytophthora. Recuperado el 10 de Noviembre de 2015, de <http://fitopatologiamanuelchacon.blogoo.es/hongo-de-genero-phytophthora#.VkiPGbcvfiU>

BADILLA, I. A. (Junio de 2012). Bayer cropScience . Recuperado el 14 de Septiembre de 2015, de Bayer.www. Bayer.com. setiembre 2012

BLADIMIR, M. (12 de Abril de 2002). Recuperado el 2 de Septiembre de 2015, de

<http://es.slideshare.net/johannaperezcandia/monografia-phytophthora>

CAMPOS, P. (3 de Julio de 2014). Recuperado el 05 de Noviembre de 2015, de <http://es.slideshare.net/CICYTEX/diagnostico-de-phytophthora-spp-gran-laboratorio-e-instalaciones>

CASTAÑO, G. L. (18 de Abril de 2013). Agricultura Organica.  
Recuperado el 9 de Septiembre de 2015, de

<http://germoplasma.blogspot.com/2013/04/tizon-tardio-gota-phytophthora.html>

CERVANTES, M. (30 de 1 de 2010). Infoagro. Recuperado el 24 de 1 de 2015, de

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

CIAT. (03 de 06 de 1981). Google Libros. Recuperado el 07 de 08 de 2015, de

<https://books.google.com.ec/books?id=bYQfKDwA47wC&printsec=frontcover&dq=antracnosis&hl=es&sa=X&ved=0CBsQ6AEwAGoVChMIopLO26-WxwIVxCoeCh0nsACW#v=onepage&q=antracnosis&f=false>

CRISTINA TELLO . (12 de Junio de 2008). Identificacion de aspectos epidemiologicos. Recuperado el 29 de Septiembre de 2015, de

[https://books.google.com.ec/books?id=eoszAQAAMAAJ&pg=PA9&lpg=PA9&dq=esporangi%C3%B3foros+de+\(Phytophthora+infestans\)&source=bl&ots=QYKWTVT65V&sig=szwoF9QZfuVjT0PyDc71sSOh83Q&hl=es-419&sa=X&ved=0CCQQ6AEwAWoVChMI9-6b1PDoyAIVBl0eCh0IjgVu#v=onepage&q=esporang](https://books.google.com.ec/books?id=eoszAQAAMAAJ&pg=PA9&lpg=PA9&dq=esporangi%C3%B3foros+de+(Phytophthora+infestans)&source=bl&ots=QYKWTVT65V&sig=szwoF9QZfuVjT0PyDc71sSOh83Q&hl=es-419&sa=X&ved=0CCQQ6AEwAWoVChMI9-6b1PDoyAIVBl0eCh0IjgVu#v=onepage&q=esporang)

EDDISON GUILLERMO ARAUJO SALVATIERRA . (29 de Diciembre de 2014). Obtenido de

<http://enfermedadesdeltomate1.blogspot.com/2014/12/tizon-tardio-del-tomate-phytophthora.html>

- FERNÁNDEZ, C., MARTÍNEZ, G., PERURENA, M., & VALDEZ, I. (2005). La colección de cultivos de hongos del instituto de medicina tropical "Pedro Kouri". Funciones y Retos (Vol. 57). Revista Cubana de Medicina. Obtenido de [http://books.google.com.ec/books?id=b4pHX7kOmNIC&pg=PA17&dq=funciones+que+cumple+el+fosforo+en+la+produccion+de+pastos&hl=es&sa=X&ei=cwNWUrbyKYja8wSRxoCgCA&redir\\_esc=y#v=onepage&q=funciones%20que%20cumple%20el%20fosforo%20en%20la%20produccion%20de%20pasto](http://books.google.com.ec/books?id=b4pHX7kOmNIC&pg=PA17&dq=funciones+que+cumple+el+fosforo+en+la+produccion+de+pastos&hl=es&sa=X&ei=cwNWUrbyKYja8wSRxoCgCA&redir_esc=y#v=onepage&q=funciones%20que%20cumple%20el%20fosforo%20en%20la%20produccion%20de%20pasto)
- FHIA. (13 de Octubre de 2007). Recuperado el 12 de Noviembre de 2015, de <http://fhia.org.hn/downloads/fhiainfdic2007.pdf>
- FLORES, R. M. (10 de Julio de 2010). Recuperado el 15 de Septiembre de 2015, de <http://siafemor.inifap.gob.mx/pages/tizon-tardio.php>
- GOLDLOCKI. (17 de Diciembre de 2006). Recuperado el 10 de Noviembre de 2015, de <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:TomateTrossKrautundBraunf%C3%A4ulePhytophtorainfestans.jpg>
- GONZALEZ, M. (2006). EcuRed. Recuperado el 05 de Noviembre de 2015, de [http://www.ecured.cu/index.php/Tiz%C3%B3n\\_tard%C3%ADo](http://www.ecured.cu/index.php/Tiz%C3%B3n_tard%C3%ADo)
- GRANADILLA, C. (Marzo de 2006). Guía de identificación y manejo. Recuperado el 05 de Noviembre de 2015, de [http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Tomato\\_Spanish.pdf](http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Tomato_Spanish.pdf)
- 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>

- HERNANDEZ.M, I. (2007). Manejo de jitomate . Manual de produccion de jitomate en invernadero, 66-67.
- HERRERA. (1994). Fitopatología General. La Habana, Cuba: Felix Varela.
- HERRERA. (1994). Fitopatología General. La Habana Cuba: Felix Varela.
- JARAMILLO, J. (2007). , Manual tecnico de buenas practicas agricolas en la produccion de tomate bajo condiciones protegidas. Primera edicion(37).
- JORGE JARAMILLO N, V. P. (2007). Manual tecnico de buenas practicas agricolas en la produccion de tomate bajo condiciones protegida . Primera edicion(37 ).
- JOSE MAURICIO RIVERA C.,JOSE C. MELGAR. (5 de Octubre de 2013). Infoagro. Recuperado el 29 de Septiembre de 2015, de [http://www.infoagro.com/documentos/consideraciones\\_tecnicas\\_efectivo\\_manejo\\_integrado\\_del\\_tizon\\_tardio\\_papa.asp](http://www.infoagro.com/documentos/consideraciones_tecnicas_efectivo_manejo_integrado_del_tizon_tardio_papa.asp)
- KUHLMAN, G. (Octubre de 19 de 2004). Forest Pests. Recuperado el 2015 de Noviembre de 2015, de <http://www.forestpests.org/nursery/phytophthora.html>
- MANZÓN, R. y. (2005). Infecciones causadas por el género Fusarium, Servicio de micologia. Recuperado el Junio de 2012, de Centro Nacional de Micologia:  
[www.seimc.org/control/revciones/micologia/fusarium.htm](http://www.seimc.org/control/revciones/micologia/fusarium.htm).
- MELEGARI, D. (15 de Agosto de 2011). Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas. Recuperado el 05 de Noviembre de 2015, de <http://www.sinavimo.gov.ar/plaga/phytophthora-infestans>

MIGUEL CAGUANA,BOLIVAR QUINDE I,EDWING ROBAYO.  
(DICIEMBRE,2003). Cultivo de tomate riñón bajo invernadero.  
En B. Q. Miguel Caguana, Cultivo de tomate riñón bajo  
invernadero. Cañar: Abya Yala.

MOLINA, D. (24 de 4 de 2009). Metodos de fitopatologia. Recuperado  
el 10 de 8 de 2015, de

[http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursometodosfito/03-  
Medios\\_de\\_cultivos.pdf](http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursometodosfito/03-Medios_de_cultivos.pdf)

MONCAYO, B. (12 de Abril de 2002). Recuperado el 2 de Septiembre  
de 2015, de

<http://es.slideshare.net/johannaperezcandia/monografia-phytophthora>

MORENO, G. (1986). Micomania. Recuperado el 10 de 08 de 2015, de  
<http://www.micomania.rizoazul.com/microscopia%20las%20hifas.html>

NIKLAUS J. . (12 de Abril de 2010). The American Phytopathological  
Society. Recuperado el 29 de 10 de 2015, de  
<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/PathogenGroups/Pages/IntroOomycetesEspanol.aspx>

PAREDES, E. (2010). Analisis de los principales cultivos agricolas del  
Ecuador. Quito.

PEREZ. (19 de 8 de 2000). Semillaria el mundo de las semillas.  
Recuperado el 15 de 6 de 2014, de

<http://semillaria.es/index.php/cultivos-ok/29-cultivos/94-taxonomia>

PEREZ, D. (19 de 8 de 2000). Semillaria el mundo de las semillas.  
Recuperado el 15 de 6 de 2014, de

<http://semillaria.es/index.php/cultivos-ok/29-cultivos/94-taxonomia>

- RIVADENEIRA, J. (21 de Enero de 2006). Recuperado el 05 de Noviembre de 2015
- ROMERO, F. (18 de Marzo de 2012). SIAFEMOR. (inifa) Recuperado el 29 de Octubre de 2015, de <http://siafemor.inifap.gob.mx/pages/tizon-tardio.php>
- 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>
- SICA . (8 de 8 de 2012). Recuperado el 24 de 1 de 2015, de [http://www.sica.gov.ecagronegociosbibliotecaIng%20Rizzoperfiles\\_prod](http://www.sica.gov.ecagronegociosbibliotecaIng%20Rizzoperfiles_prod)
- UGONG.F. (6 de 2 de 2009). Rel-UITA. Recuperado el 24 de 1 de 2015, de [http://www.rapaluruaguay.org/agrotoxicos/Prensa/Modelo\\_Agroexportaodor.html](http://www.rapaluruaguay.org/agrotoxicos/Prensa/Modelo_Agroexportaodor.html)
- ULLOA, D. (Marzo de 1990). Instituto de biología UNAM Irekani. Recuperado el 05 de Noviembre de 2015, de <http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/32014?projecto=Irekani>
- YONG, A. (08 de 02 de 2004). Redylac. Recuperado el 16 de 07 de 2014, de <http://www.redaliyc.org/articulo.oa?id=1932008>. ISSN 0258-5936.
- ZAPATA, J. (2008). Recuperado el 07 de 08 de 2015, de [http://www.accefyn.org.co/revista/Vol\\_32/123/145-156.pdf](http://www.accefyn.org.co/revista/Vol_32/123/145-156.pdf)

## **GLOSARIO TÉCNICO**

### **Actinomorfias**

Flores que pueden dividirse en mitades simétricas por dos planos distintos a lo menos.

### **Apresorio**

Estructura adhesiva, achatada, a partir de la cual se origina una hifa afilada que rompe la cutícula de una célula epidérmica del huésped por punción permitiendo la penetración del micelio para establecer la infección de un hongo parásito de plantas superiores.

### **Conidióforos**

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

### **Cenocítico**

Micelio continuo que no tiene tabiques y con muchos núcleos.

### **Clamidiosporas**

Es un tipo de espora de paredes gruesas de varias clases de los hongos.

### **Esporangio**

Es la estructura de las plantas, hongos o algas que produce y contiene las esporas.

### **Espora**

Elemento o cuerpo reproductor, típicamente unicelular, originado tras un proceso de división asexual.

**Enquistarse**

Incrustarse.

**Filotaxia**

Disposición que presentan las hojas en el tallo.

**Fitopatógeno**

Organismo que causa alteraciones en las plantas.

**Gametangios**

Son los órganos sexuales que producen células sexuales diferenciadas con uno o más núcleos gaméticos.

**Haustorio**

Estructura que sirve para absorber nutrientes.

**Heterotalico**

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

**Hemibiotrófico**

Forma irregularidades en el micelio intracelular.

**Hialinos**

Transparente o translúcido como el vidrio.

**Hifas**

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

**Micelio**

Talo de los hongos formado por un conjunto de filamentos o hifas.

**Oogonio**

Gametangio femenino.

**Plasmogamia**

Fusión de protoplastos, generalmente como un proceso previo a la cariogamia en la reproducción sexual.

**Protoplastos**

Son células vegetales que han sido separadas de su pared celular mediante un tratamiento enzimático o mecánico y adoptan forma esférica en el medio de cultivo.

**Signos**

Partes o productos del patógeno que se observa en un síntoma.

**Síntomas**

Alteración que presenta una planta entera o uno de sus órganos como resultado de una enfermedad.

**Virulencia**

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

## ANEXOS

### Anexo 1. Costos

Tabla 5. Costos

DESCRIPCIÓN	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>Material de laboratorio</b>			
Pinzas	1	2,08	2,08
Lámpara de alcohol	3	3,99	11,97
Laminas porta-objetos	1	2,99	2,99
Cubre objetos	1	2,5	2,5
Hojas de bisturí estéril	10	0,04	0,4
Vasos de precipitación de 50ml, 100ml, 600ml y 1000ml.	4	2,5	10
Erlenmeyer d 500ml y 1000ml.	3	5	15
Asa de incubación de cromo	2	3,6	7,2
Cajas mono Petri descartables	40	0,21	8,4

Continúa.....







Continúa.....			
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
Continúa.....			

Continúa.....	
<b>SUBTOTAL</b>	19104,57
<b>Imprevistos (10%)</b>	1910,457
<b>COSTO TOTAL</b>	<b>21015,027</b>

**Realizado por:** El Investigador

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

**Tabla 6.**Preparación del medio de cultivo

<p>1. Pesado de la papa.</p> 	<p>2. Picado de la papa.</p> 
<p>3. Colocación de la papa picada y pesada en la olla.</p> 	<p>4. Medición de los 500ml de agua.</p> 
<p>6. Adición del agua a la papa picada en la olla.</p> 	<p>6. Colocación de la olla con el agua y la papa picada al fuego.</p> 

Continúa.....

Continúa.....

7. Esperar que el agua empiece a hervir y contar 15 minutos desde ese momento.



8. Filtrar la papa.



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



10. Pesar todos los ingredientes como el agar ,destroza y levadura



11.Colocación del agua que a sido filtrada nuevamente a la olla a fuego lento durante unos 2 minutos



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



Continúa.....

Continúa.....

13. Después del proceso verter el agua en un recipiente.



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



15. Tapar los Erlenmeyer con papel aluminio para evitar derrames del producto.



16. Medición el pH del medio del cultivo.



Continúa.....

Continúa.....

17. Colocación de los Erlenmeyer con el medio de cultivo en el autoclave.



18. Después de haber transcurrido el tiempo establecido por el autoclave sacar el medio de cultivo.



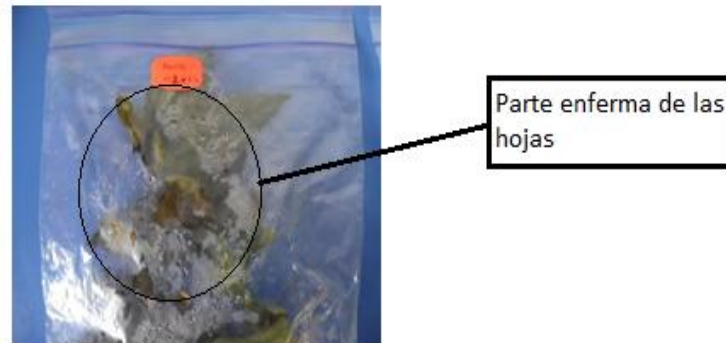
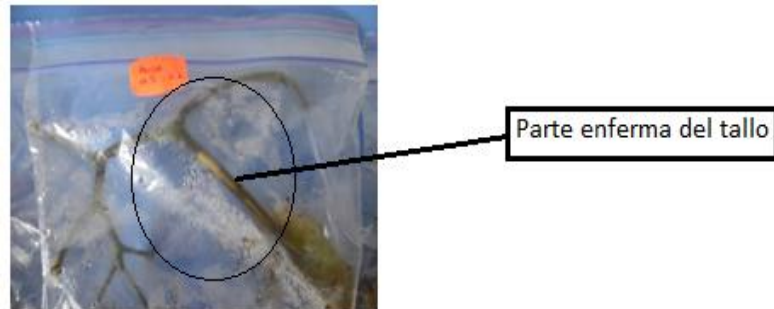
19. Colocación del medio de cultivo en las cajas Petri.



**Realizado por:** El Investigador

**Anexo 3.** Muestras de plantas de tomate hortícola y placas con muestras.

**Imagen 21.** Muestras de plantas

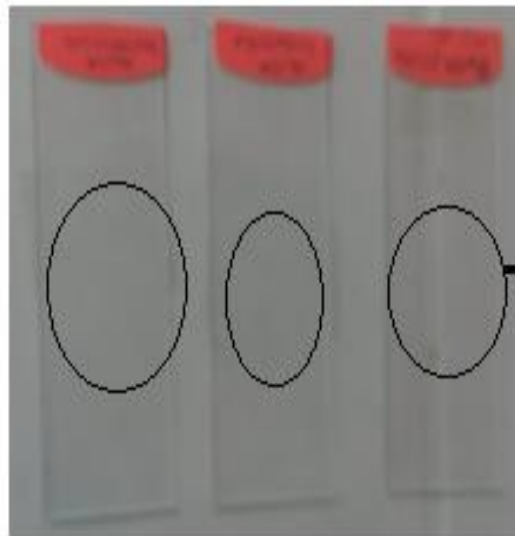


**Tomadas por:** El Investigador

**Imagen 22.** Muestras de plantas colocadas en las placas



Placas con pequeños  
segmentos de tallo de 3  
mm infectadas con  
(Phytophthora infestans)

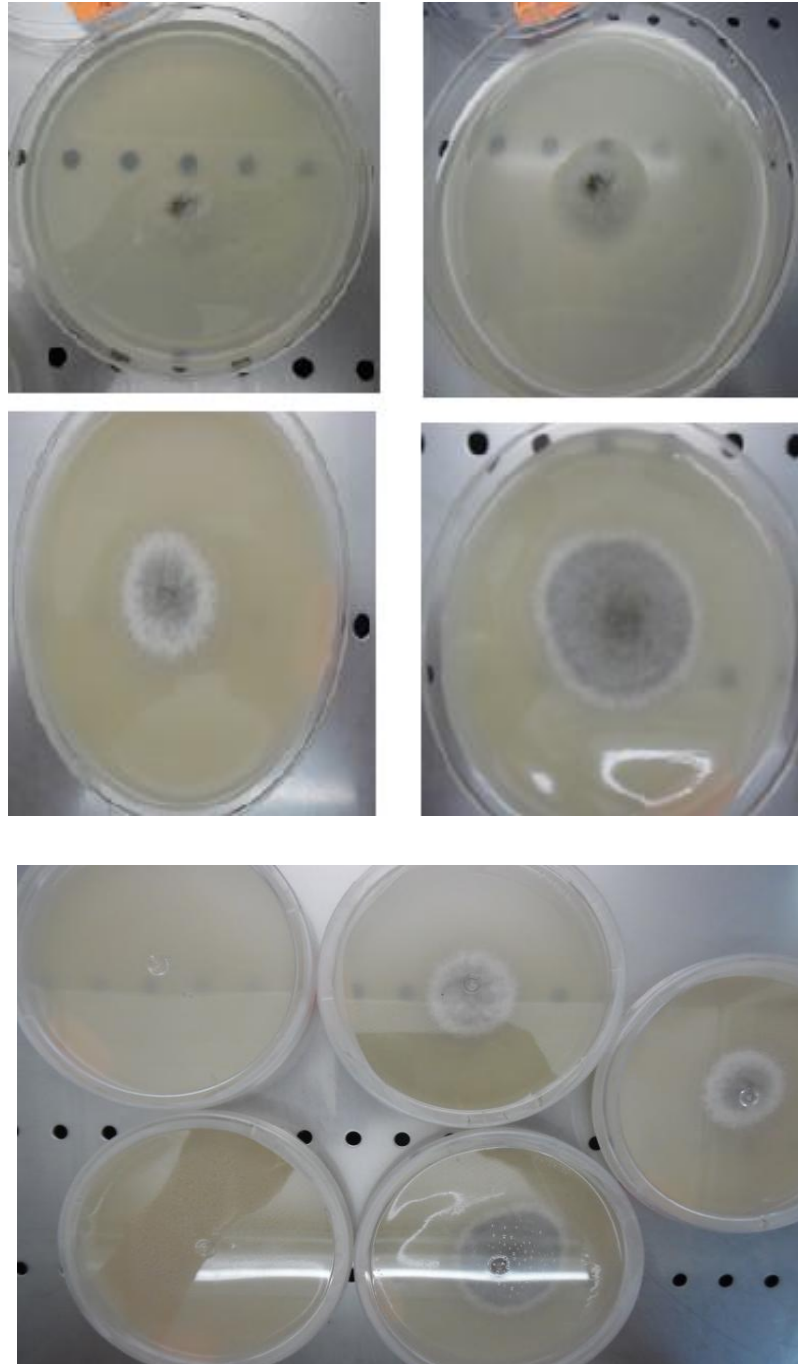


Placas con pequeños  
segmentos de hojas de 3  
mm infectadas con  
(Phytophthora infestans)

**Tomadas por:** El Investigador

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

**Imagen 23.** Cajas con el medio de cultivo y micelio



**Tomadas por:** El Investigador

Cajas petric con el micelio ya esporulado del hongo de (*Phytophthora infestans*) producido dentro del laboratorio en el transcurso de 24 horas.

**Anexo 5.** Visita del tutor y miembros del tribunal.

**Imagen 24.** Visita de los miembros del tribunal.



**Tomada por:** El Investigador

**Imagen 25.** Visita del tutor



**Tomada por:** El Investigador

**Anexo 6 .Materiales y equipos de laboratorio**

**Imagen 26.Cámara húmeda**



**Tomada por: El Investigador**

**Imagen 27.Destilador De Agua**



**Tomada por : El Investigador**

**Imagen 28.**Incubadora



**Tomada por:** El Investigador

**Imagen 29.**Autoclave



**Tomada por:** El Investigador

**Imagen 30.**Cámara de flujo laminar



**Tomada por:** El Investigador

**Imagen 31.**Microscopio



**Tomada por:** El Investigador

**Imagen 32.**Nevera



**Tomada por:** El Investigador

**Imagen 33.**Mecheros



**Tomada por:** El Investigador

**Imagen 34.**Estufa



**Tomada por:** El Investigador

**Imagen 35.**Materiales de laboratorio



**Tomada por:** El Investigador

**Anexo 7. Guía didáctica**



**Universidad  
Técnica de  
Cotopaxi**

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

**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**GUÍA DIDÁCTICA DE LA CARACTERIZACIÓN  
MORFOLÓGICA DE *Phytophthora infestan* EN EL CULTIVO DE  
TOMATE HORTICOLA (*Solanum lycopersicum*)**

**Autora: Ana Lucia Chicaiza Paltán**

**ÍNDICE**

Introducción

Fundamentación

Objetivo

Ubicación

Bloque I. Metodología

Bloque II. Resultados

Material de consulta sugerida

*"Por la vinculación de la Universidad con el pueblo"*

## INTRODUCCIÓN:

Uno de los principales problemas fitosanitarios, que afecta al tomate hortícola es el Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*) que disminuye la producción y en el sector de Patate también afecta dicha enfermedad, por lo cual se ha creado una guía en donde podemos encontrar información más detallada del hongo desde cómo es su recolección, su aislamiento, su propagación, su ciclo de vida y morfología del patógeno esto se realiza con el propósito de brindar más información sobre (*Phytophthora infestans*) y en un futuro poder controlar el hongo de una manera más efectiva.

## FUNDAMENTACIÓN:

El origen del género *Lycopersicon* se localiza en la región andina que corresponde a Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile. En esta área crecen espontáneamente las diversas especies del género, pero parece que fue en México donde se domesticó, quizá porque crecería como mala hierba entre los huertos. (JORGE JARAMILLO N, 2007).

En la actualidad para los agricultores de la Serranía Ecuatoriana, la producción y comercialización de tomate hortícola (*Lycopersicon esculentum*) representa uno de los principales ingresos para la economía de sus familias. Pero la producción se ve limitada por el ataque de distintos hongos fitopatógenos. (CERVANTES M., 2010).

Se trata de una planta perenne que puede desarrollarse de forma rastrera, semirrecta o erecta, el tallo principal forma de 6 a 12 hojas, que crecen lateralmente con una filotaxia de 2/5 antes de que la yema principal se convierta en una inflorescencia. La raíz está constituida por una raíz principal, raíces secundarias y adventicias. Dicho sistema es pivotante, muy denso y ramificado en los treinta primeros cm, sus flores son hermafroditas, actinomorfas y péndulas, de 1 a 2 cm de largo y color amarillo brillante. El cáliz suele estar formado por 5 a 10 segmentos, que pueden ser desde lineales

hasta lanceolados y persistentes, su fruto es una baya de forma y tamaño variable. (MIGUEL CAGUANA,BOLIVAR QUINDE ,EDWING ROBAYO., Diciembre,2003).

### **Los Síntomas**

No son visibles macroscópicamente en los primeros dos días, después de este corto tiempo pequeñas áreas necróticas son visibles bajo temperaturas moderadas y en presencia de humedad ,produciendo esporangios de hasta 300 mil por lesión se forma un algodoncillo en el borde de estas manchas.

### **Supervivencia**

La oospora es fuerte y puede sobrevivir en los rastrojos. Bajo condiciones favorables, la oospora produce un tubo germinativo que forma un esporangio apical, el cual puede liberar zoosporas o formar nuevamente un tubo germinativo, los cuales sirven como inóculo primario.

Las zoosporas se enquistan sobre superficies sólidas, es decir, se detienen, adquieren una forma redondeada y forman una pared celular. Luego, en presencia de humedad, pueden desarrollar un tubo germinativo y penetrar a la hoja por los estomas, o formar el apresorio, de tal manera que la hifa de penetración ingresa directamente a través de la cutícula.

### **Control**

Eliminar plantas enfermas y enterrarlas fuera de la parcela, tener un buen sistema de drenaje, utilizar camas bien altas durante la época de lluvias y aplicar productos preventivos y curativos cuando aparezca la enfermedad (HERNANDEZ.M, 2007).

## Morfología

*Phytophthora infestans* es un oomiceto heterotalico, el micelio es cenocítico, es decir no presenta septas o tabiques que separen el micelio. Los esporangios pueden germinar directamente, o bajo condiciones frescas y húmedas, son ovoides, elipsoidales a limoniformes, ahusados en la basa, caducos ,con un pedicelo menor de 3 mm y semipapilados.Su tamaño varia de 36 x22 um , y puede producir hasta ocho zoosporas. Cada zoospora debido a los dos flagelos que posee puede moverse a través de una película de agua libre sobre la superficie de la planta, e inicia nuevas infecciones. Los esporangióforos son de crecimiento continuo, con un pequeño hinchamiento justo debajo del esporangióforo. (ROMERO, Tizón tardío (*Phytophthora infestans*), 2012)

### OBJETIVO:

El objetivo es elaborar una guía didáctica en donde se encuentre todo acerca del hongo fitopatógeno (*Phytophthora infestans*) y de esta forma dar a conocer como propagar el hongo en el laboratorio y así caracterizarlo de una manera más fácil.

### UBICACIÓN:

**Tabla 1.**Ubicacion del Laboratorio.

<b>País:</b>	Ecuador
<b>Provincia:</b>	Cotopaxi
<b>Cantón:</b>	Latacunga
<b>Parroquia:</b>	Eloy Alfaro
<b>Sitio:</b>	Salache Bajo
<b>Latitud:</b>	00° 59'57 " S
<b>Longitud:</b>	18° 37' 14" W
<b>Altitud:</b>	2725 m.s.n.m

**Fuente:** Autoría propia

## BLOQUE I. METODOLOGÍA:

### 1. Recolección de la muestra en campo

Se realizó la recolección de muestras al Azar del hongo Fitopatógeno

Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de Tomate hortícola (*Solanum lycopersicum*) en el sector de Patayin, recogiendo cinco muestras (tres muestras de la parte del tallo y dos muestras de las hojas) que presentaban mayor porcentaje de infección presente en el cultivo, para trasladar las muestras al laboratorio para su respectivo proceso de caracterización morfológica.

**Imagen 36.** Hojas y tallo infectadas con *Phytophthora infestans*



**Tomada por:** El Investigador

## 2. Procedimiento en la Toma de Muestras

Se extrajeron plantas afectadas utilizando un bisturí y tijeras para facilitar la recolección de las muestras, en cada corte se esterilizo los materiales con alcohol y las muestras vegetales fueron envueltas en papel para que el exceso de humedad sea absorbido por el mismo, posteriormente se procedió a colocar las muestras en fundas ziplop con su respectiva codificación y estas fueron trasladadas en una hielera para evitar la deshidratación, contaminación y daño de las muestras.

## 3. Almacenamiento

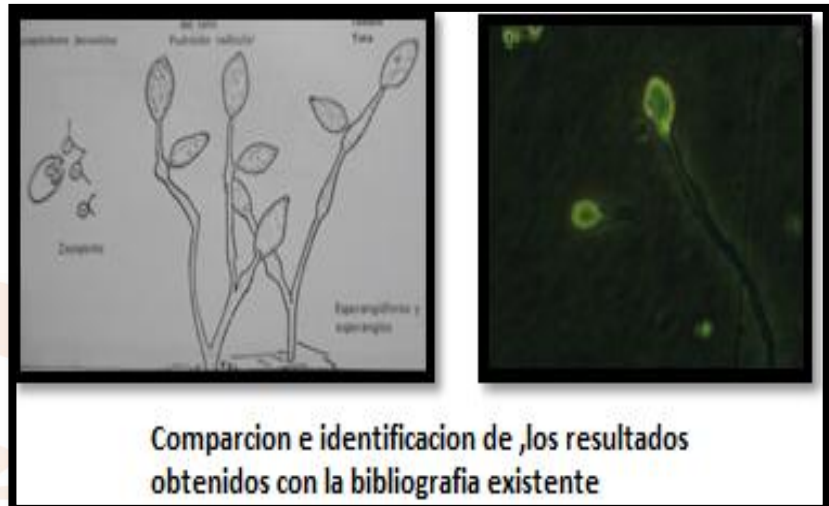
Las muestras fueron colocadas en la nevera a una temperatura de 6 a 8 °C para evitar que el hongo se prolifere y al mismo tiempo mantener al hongo vivo material que será indispensable para una posterior siembra en el laboratorio.



**Tomadas por:** El Investigador

#### 4. Identificación de la muestra en laboratorio previo a la siembra.

Dentro del laboratorio se siguió un proceso minucioso de identificación para obtener muestras más óptimas, donde se verificó que era el hongo Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*), mediante la utilización de bibliografía existente de los síntomas que presenta el hongo y con la observación de la muestra en el microscopio.



#### 5. Elaboración del medio de cultivo

Se elaboró el medio de cultivo optado por PDA (papa – dextrosa - agar), tiene la infusión de papa como fuente de almidones y la dextrosa son la base para el crecimiento de hongos y levaduras, utilizando:

- 50gr de papa
- 125ml de agua.
- 3,75gr de agar
- 5gr de glucosa
- 0,5gr de levadura

Las cantidades detalladas anteriormente abarcan para una capacidad de cinco cajas Petri las mismas que contienen 25 ml de PDA (papa – dextrosa - agar).

## 6. Procedimiento

**PRIMERO:** Pelar y picar la papa y poner a hervir la papa 50gr en 125ml de agua en un tiempo de 10 a 15 minutos.



**SEGUNDO:** El extracto se filtra y se adiciona hasta completar los 125ml para reponer lo que evaporo.



**TERCERO:** Se agregan los otros ingredientes y se calienta a fuego lento moviendo constantemente durante de 1 a 2 minutos hasta que queden totalmente disueltos.



**CUARTO:** Obtenido ya el medio de cultivo se procede a colocar la mezcla en el Erlenmeyer el cual debe ser tapado con el papel aluminio de una forma segura que cuando empiece a hervir dentro del autoclave esta no sea derramada en el interior.



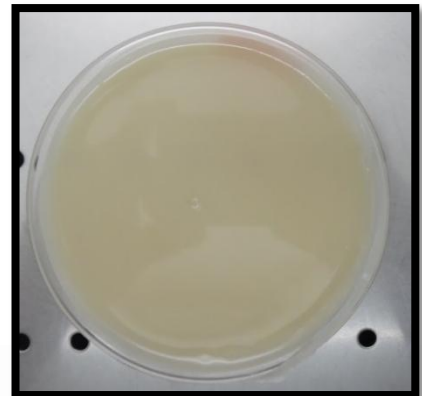
**QUINTO:** El Erlenmeyer es colocado dentro del autoclave durante 35 minutos a una temperatura de 121°C para que la solución sea completamente esterilizada, Después de haber transcurrido el tiempo establecido, se realiza una previa apertura al autoclave para que los vapores sean expulsados, posteriormente se verifica que los vapores han sido expulsados en su totalidad y con ello se procede a abrir completamente el auto clave.



**SEXTA:** Se obtiene el medio de cultivo y se coloca rápidamente 25ml de PDA (papa – dextrosa - agar) en las cajas Petri , misma que ya están esterilizadas, ya que si se las expone durante mucho tiempo al aire libre puede ser contaminadas.

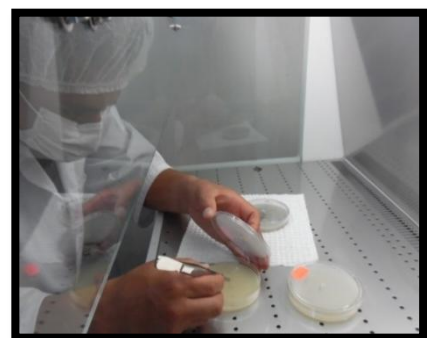


**SEPTIMA:** Después de que el medio de cultivo ha sido colocado en las cajas Petri estas deben mantenerse cerradas por completo hasta que con la temperatura ambiente se enfríen para poder realizar la siembra.



## 7. Siembra

La siembra se realizó en cajas Petri previamente ya colocadas el medio de cultivo PDA (papa – dextrosa - agar), la misma que se realizó cortando pequeños segmentos (tallos y hojas) de las muestras del Tomate hortícola (*Solanum lycopersicum*) tomando los segmentos con una pequeña pinza los cuales tenían la presencia del hongo fitopatógeno Tizon Tardío (*Phytophthora infestans*), la cual se realizó dentro de la cámara de flujo laminar para evitar la contaminación del medio de cultivo durante la siembra, utilizando materiales desinfectados como bisturís, pinzas, aza de siembra y mecheros.



Una vez sembradas las muestras se procede a sellar las cajas Petri con Parafilm y luego son colocadas en la incubadora a una temperatura de

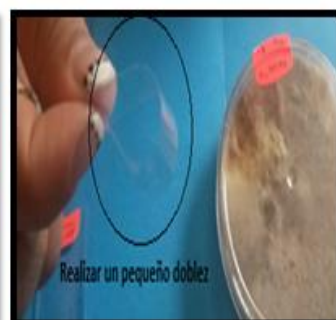
21°C a 22°C la que infiere para la proliferación del hongo fitopatógeno Tizon Tardio (*Phytophthora infestans*).



## 8. Identificación

### 8.1 Observación microscópica

**Técnica de cinta pegante:** Se realizó un dobléz de una tira de cinta de 4 cm, con el lado adhesivo hacia fuera y se sostuvo con una pinza. Con el lado adhesivo se tomó con mucho cuidado una pequeña muestra de la colonia del hongo Tizon Tardio (*Phytophthora infestans*), después se colocó una gota de agua destilada sobre el portaobjetos y se procedió a pegar la cinta sobre el portaobjetos para luego ser observado en el microscopio con un aumento de 40x y 100x.



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



## 8.2 Descripción

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

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

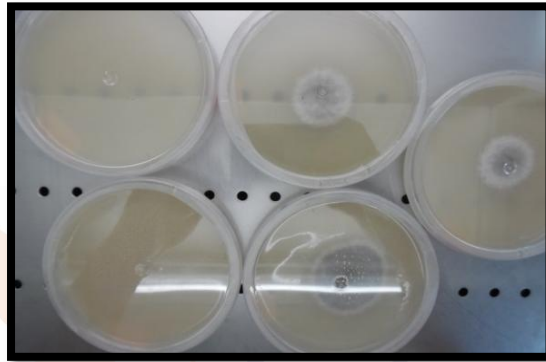


Luego se procedió a realizar placas fijas de cada una de las cepas aisladas para posteriormente observar las estructuras microscópicas tales como:

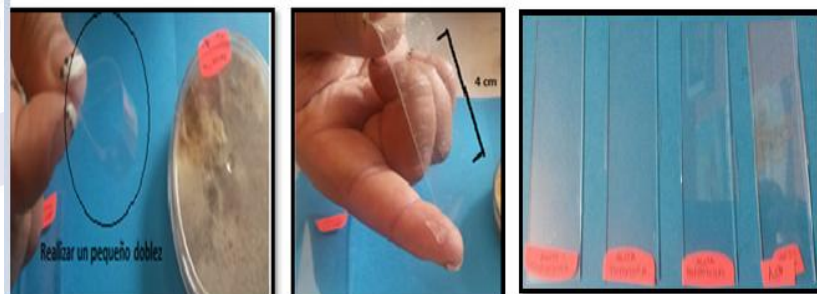
forma del conidiosporo, esporangios poros, forma y tamaño de las esporas o conidios.

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

- Se prepararon las cajas Petri con las cepas del hongo aislado.



- Se tomó un trozo de cinta máskin transparente de 4 cm. De largo y se fijó en el cuerpo fructífero, tomando directamente de la caja Petri, donde se encontraban las cepas puras.



- Se observó en el microscopio y se procedió a tomar fotografías microscópicas de las diferentes estructuras del hongo con una cámara de 20 megapíxeles.
- En las fotografías que obtuvimos se procedió a identificar las partes del hongo que pudimos diferenciar y lo comparamos con la bibliografía existente.

## BLOQUE II. RESULTADOS:

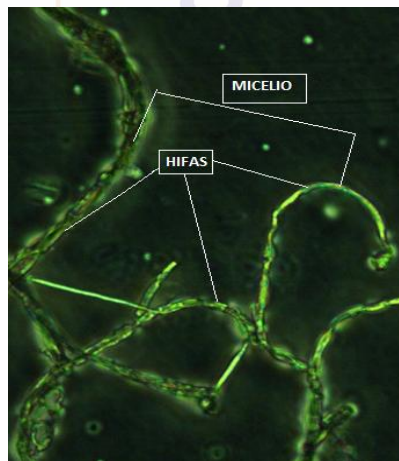
CONSEPTUALIZACION	INDICADOR	INDICE	TECNICAS	INSTRUMENTO
CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE HONGOS FITOPATOGENOS EN EL CULTIVO DE TOMATE HOTICOLA	TALO HIFAS ESPORAS REPRODUCCION	TIPO TIPO TIPO TIPO	OBSERVACION	MICROSCOPIO

**Realizado:** Por el autor.

### Observación del hongo en el microscopio

#### La Fotografía de las hifas fue tomada en:

Con ayuda de un microscopio con el lente de 20x, en campo oscuro Ph1, con una exposición de 500, una ganancia de 5.4, en una gama de 1 y con una luz del día.



**Tomada por:** El Investigador

Se puede observar las hifas de (*Phytophthora infestans*) y el conjunto de hifas forma el micelio el cual se lo obtuvo en el laboratorio.

Las estructuras somáticas (talos) son llamadas micelios y están compuestos de filamentos “hialinos”(hifas) ramificadas(no septadas).El diámetro del micelio (5-8micras). ( Cristina Tello, 2008).

**La Fotografía del micelio fue tomada en:**

Con ayuda de un microscopio con el lente de 20x, en campo oscuro Ph1, con una exposición de 500, una ganancia de 5.4, en una gama de 1 y con una luz del día.



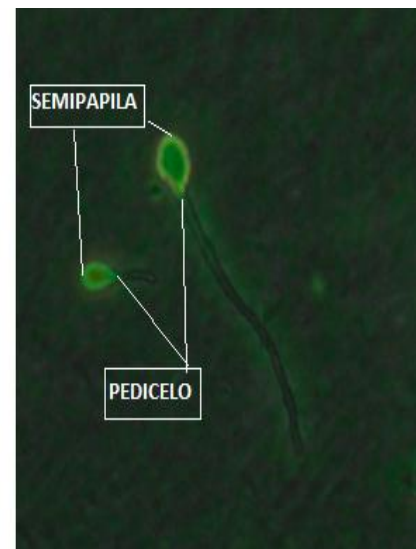
**Tomada por:** El Investigador.

Se puede observar el micelio de (*Phytophthora infestans*) es cenocítico sin septas y con ramificaciones, el cual se lo obtuvo en el laboratorio.

Las estructuras somáticas (talos) son llamadas micelios y están compuestos de filamentos “hialinos”(hifas)ramificadas(no septadas).El diámetro del micelio (5-8micras). (CRISTINA TELLO , 2008).

**La fotografía de esporangio y flagelos fue tomada en :**

Con ayuda de un microscopio con el lente de 20x, en campo oscuro Ph1, con una exposición de 500, una ganancia de 4.7, en una gama de 1 y con una luz del día.



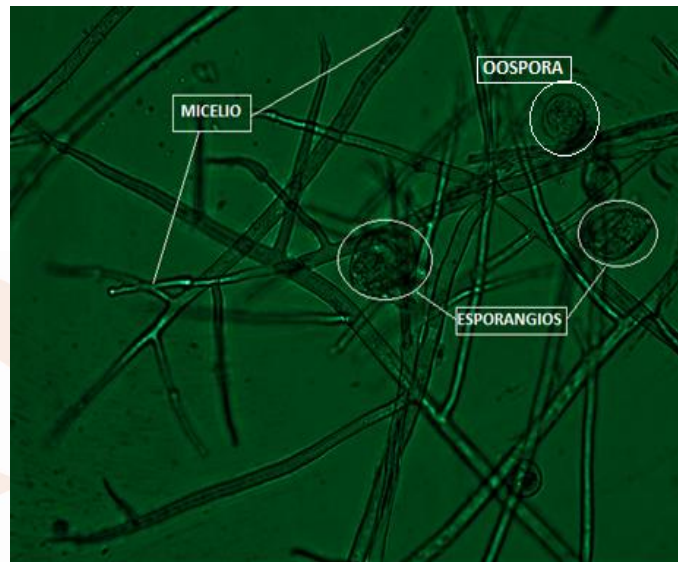
**Tomada por:** El Investigador

Se puede observar que los esporangios de (*Phytophthora infestans*) son ovoides, elipsoidales a limoniformes, menor de 3 mm, **mostrando el pedicelo y la semipapila, el cual fue obtenido en laboratorio.**

Sus esporangios son hialinos en forma limoniforme, que emergen a través de los estomas foliares, donde se puede diferenciar el pedicelo y semipapila, pueden germinar directamente, o bajo condiciones frescas y húmedas, y producir hasta ocho zoosporas. El flagelo anterior de una zoospora es de tipo pincel, mientras que el flagelo posterior es de tipo látigo; ambos se unen típicamente a un surco ventral. (ROMERO, Tizón tardío (*Phytophthora infestans*), 2012).

**La fotografía de Micelios, oosporas y esporangios fue tomada en:**

Con ayuda de un microscopio con el lente de 20x, en campo oscuro Ph1, con una exposición de 500, una ganancia de 4.7, en una gama de 1 y con una luz del día.



**Tomada por:** El Investigador

Se puede observar el micelio de (*Phytophthora infestans*) es cenocítico sin septas y con varias ramificaciones con la presencia esporangióforos de (*Phytophthora infestans*) que menor de 3 mm el cual obtenido en laboratorio.

Las oosporas germinan para producir una hifa, la cual puede inmediatamente producir un esporangio. La germinación de la oospora es frecuentemente asíncrona; esto es, algunas oosporas germinan mientras que otras no lo hacen. (NIKLAUS J. , 2010)

## MATERIAL DE CONSULTA SUGERIDO:

CRISTINA TELLO . (12 de Junio de 2008). Identificación de aspectos epidemiológicos. Recuperado el 29 de Septiembre de 2015, de [https://books.google.com.ec/books?id=eoszaQAAMAAJ&pg=PA9&lpg=PA9&dq=esporangi%C3%B3foros+de+\(Phytophthora+infestans\)&source=bl&ots=QYKWTVT65V&sig=szwoF9QZfuVjT0PyDc71sSOh83Q&hl=es-419&sa=X&ved=0CCQQ6AEwAWoVChMI9-](https://books.google.com.ec/books?id=eoszaQAAMAAJ&pg=PA9&lpg=PA9&dq=esporangi%C3%B3foros+de+(Phytophthora+infestans)&source=bl&ots=QYKWTVT65V&sig=szwoF9QZfuVjT0PyDc71sSOh83Q&hl=es-419&sa=X&ved=0CCQQ6AEwAWoVChMI9-)

HERNANDEZ.M, I. (2007). Manejo de jitomate . Manual de producción de jitomate en invernadero, 66-67.

MIGUEL CAGUANA,BOLIVAR QUINDE I,EDWING ROBAYO. . (Diciembre,2003). Cultivo de tomate riñón bajo invernadero. En B. Q. Miguel Caguana, Cultivo de tomate riñón bajo invernadero. Cañar: Abya Yala.

NIKLAUS J. . (12 de Abril de 2010). The American Phytopathological Society. Recuperado el 29 de 10 de 2015, de <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/PathogenGroups/Pages/IntroOomycetesEspanol.aspx>

ROMERO, F. (18 de Marzo de 2012). SIAFEMOR. (inifa) Recuperado el 29 de Octubre de 2015, de <http://siafemor.inifap.gob.mx/pages/tizon-tardio.php>