

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI



UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGRONÓMICAS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

TESIS DE GRADO

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL HONGO
FITOPATÓGENO EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA (*Daucus carota L.*)
EN EL SECTOR SAN BUENAVENTURA-COTOPAXI, 2014.**

Tesis de grado presentada previo a la obtención del Título De Ingeniero Agrónomo.

Autor:

Sr. Yauli Llumiyinga Cristian Paul

Director:

Ing. Mg. Jácome Mogro Emerson

Javier

Latacunga – Cotopaxi

2015

AUTORÍA

Yo, **CRISTIAN PAUL YAULI LLUMIQUINGA**, portador de la cédula N° 050334794-0, libre y voluntariamente declaro que la tesis titulada: **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL HONGO FITOPATÓGENO EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA (*Daucus carota L.*), SECTOR SAN BUENAVENTURA - COTOPAXI. 2014”**, es original, autentica y personal. En virtud, declaro que el contenido será de mi sola responsabilidad legal y académica.

.....

Yauli Llumiquinga Cristian Paul

C.I. 050334794-0

AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS

Cumpliendo con lo estipulado en el capítulo V Art.12. Literal f del Reglamento del Curso Profesional de la Universidad Técnica de Cotopaxi, en calidad de Director del Tema de Tesis: **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL HONGO FITOPATÓGENO EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA (*Daucus carota L.*), EN EL SECTOR SAN BUENAVENTURA - COTOPAXI. 2014”**, de Yauli Llumiquinga Cristian Paul, postulante de la carrera de Ingeniería Agronómica, debo confirmar que el presente trabajo de investigación fue desarrollado de acuerdo con los planteamientos requeridos.

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

El Director

.....

Ing. Mg. Emerson Jácome

AVAL DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

En calidad de miembros del Tribunal De La Tesis Titulada: **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL HONGO FITOPATÓGENO EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA (*Daucus carota* L.) EN EL SECTOR SAN BUENAVENTURA – COTOPAXI. 2014”**, de autoría del egresado Cristian Paul Yauli Llumiquinga, **CERTIFICAMOS** que se ha realizado las respectivas revisiones, correcciones y aprobaciones al presente documento.

Ing. Mg. Edwin Chancusig

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Santiago Jiménez

SECRETARIO DEL TRIBUNAL

Ing. Paolo Chasi

OPOSITOR

AGRADECIMIENTO

Mi más grande agradecimiento a DIOS por brindarme la suficiente sabiduría para la culminación de la presente carrera, de la misma manera un agradecimiento muy especial al alma mater la Universidad Técnica de Cotopaxi, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Carrera de Ingeniería Agronómica y a todos mis docentes que durante estos cinco años supieron compartir sus conocimientos y experiencias para ser un profesional útil para la sociedad.

También quiero agradecer al Ingeniero Agrónomo EMERSON JAVIER JÁCOME, Director de Tesis y a los Miembros del Tribunal de Tesis, quienes me orientaron para el desarrollo de esta investigación.

Finalmente quiero agradecer infinitamente a mis padres MILTON y ANGELINA, a mi abuelita ISABEL y a mi hermana SILVIA, quienes con su esfuerzo y apoyo incondicional han hecho posible alcanzar esta meta tan anhelada.

GRACIAS A TODOS

CRISTIAN

DEDICATORIA

Al transcurrir estos cinco años me llena de gran satisfacción poder seguir contando con personas tan especiales como lo es mi familia que a pesar de mis tropiezos me supieron guiar y ayudar a encontrar la luz del bien por esta razón este trabajo va dedicado a toda mi familia, en especial a mi abuelita ISABEL por estar a mi lado en cada momento de mi vida.

CRISTIAN

RESUMEN

El cultivo de zanahoria (*Daucus carota* L.), es importante dentro de los sistemas productivos de la economía en la serranía ecuatoriana. Durante el ciclo del cultivo, la incidencia de enfermedades provocadas por hongos principalmente la quemadura o tizón de la hoja ha ido en aumento razón por la cual hace necesario la **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL HONGO FITOPATÓGENO EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA (*Daucus carota* L.), SECTOR SAN BUENVANTURA – COTOPAXI. 2014”**, Esto es trascendente para un adecuado manejo del cultivo de manera que nos permita evitar que esta enfermedad tenga un efecto significativo en el rendimiento. El objetivo de esta investigación fue caracterizar morfológicamente el hongo que causa mayor impacto en la producción del cultivo de zanahoria (*Daucus carota* L.), que afecta en la localidad de San Buenaventura. Se colectaron folíolos que presentaban síntomas de la enfermedad. Se realizó el aislamiento del tejido vegetal enfermo en cajas petri que contenían el medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA) y se procedió a incubar a 23 °C, hasta observar el desarrollo de micelios del hongo que nos llevó 4 días, posteriormente se procedió a realizar la purificación mediante la técnica de cultivos de punta de hifa, sembramos nuevamente en cajas petri con PDA + Ácido cítrico al 2%, e incubamos a 23 °C durante 10 días. Los cultivos obtenidos fueron comparados con la información disponible en la base de datos, utilizando bibliografía y fotografías. Los resultados permitieron establecer que los aislamientos de la enfermedad conocido como quemadura o tizón de la hoja corresponden al hongo *Alternaria dauci* descrito por Kühn y ratificadas por Richardson en 1990. En contraste estos aislamientos correspondientes a *Alternaria dauci* son la que ocasiona la quemadura o tizón de la hoja de la zanahoria en el cultivo de zanahoria en la localidad.

ABSTRACT

TOPIC: “MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE PHYTOPATHOGEN FUNGUS IN THE CARROT CROP (*Daucus carota L.*) AT SAN BUENAVENTURA SMALL TOWN IN COTOPAXI PROVINCE DURING 2014”.

Author: Cristian Paul Yauli Llumiquinga

The carrot crop (*Daucus carota L.*) is important in the production systems of the economy in the Ecuadorian Highlands. During the crop cycle, the diseases incidence caused by fungi mainly the burn or leaf blight, it was increased, for this reason, it is necessary the “MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE PHYTOPATHOGENIC FUNGUS IN CARROT CROP (*Daucus carota L.*), AT SAN BUENAVENTURA SMALL TOWN IN COTOPAXI PROVINCE DURING 2014”. It is important for proper crop management, so that it allows preventing this disease has a significant effect on performance. The objective of this research was been to morphologically characterize the fungus that causes the greatest impact on crop production carrot (*Daucus carota L.*), that it was affected to this disease. It was carried out the isolation of the diseased plant tissue in petri boxes that they were contained the medium crop Potato - Dextrosa - Agar (PDA) and it was proceeded to incubate to 23° C, to observe the development of fungus mycelium fungal that it was carried out four days, then it was proceeded to perform the purification using the crop technique of hypha tip. It was sowed again in petri boxes with PDA + 2% of citric acid, and incubated at 23 ° C for 10 days. The crops obtained were compared with the information available in the database, using bibliography and photos. The results allowed establishing that the isolates of the disease known as burn or leaf blight were belonged to the fungus *Alternaria dauci* described by Kuhn and confirmed by Richardson in 1990. In contrast to these insulations corresponding to *Alternaria dauci* were caused the burn or leaf blight in the carrot crop in the locality.

INDICE

AUTORÍA.....	ii
AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS.....	iii
AVAL DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
INDICE	ix
INDICE DE GRÁFICOS	xiv
INDICE DE TABLA	xv
INDICE DE ANEXOS	xv
INTRODUCCIÓN.....	xvi
JUSTIFICACIÓN.....	xviii
OBJETIVOS.....	xix
OBJETIVO GENERAL	xix
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	xix
PREGUNTAS DIRECTRICES.....	xx
CAPÍTULO I.....	1
1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	1

1.1	Cultivo de zanahoria (<i>Daucus carota L.</i>).....	1
1.1.1	Origen	1
1.1.2	Importancia económica y alimenticia.....	1
1.1.3	Taxonomía.....	2
1.1.4	Morfología	3
1.2	Enfermedades En El Cultivo De Zanahoria.....	4
1.2.1	Mildiu de la zanahoria	4
1.2.2	Oídio o cenicilla	4
1.2.3	Muerte de la raíz.....	4
1.2.4	Podredumbre negra de la raíz.....	4
1.2.5	Tizón bacteriano	5
1.2.6	Podredumbre blanca	5
1.3	Quemadura de las hojas (<i>Alternaria dauci</i>).....	5
1.3.1	Importancia.	6
1.3.2	Clasificación taxonómica de <i>Alternaria</i>	7
1.3.3	Daños causados por <i>Alternaria</i> en la hoja de zanahoria.....	7
1.3.4	Síntomas.....	8
1.3.5	Morfología	8
1.3.6	Ciclo de la enfermedad	9
1.3.7	Control para <i>Alternaria</i>	11
1.4	Hongos Fitopatógenos	12
1.4.1	Características generales.....	12

1.4.2	Estructuras somáticas.....	13
1.4.3	Hongos como patógenos en las plantas	15
1.5	Aislamiento De Hongos Fitopatógenos A Partir De Plantas Enfermas..	15
1.5.1	Aislamiento del patógeno de las hojas.....	16
1.5.2	Aislamiento del patógeno de raíces, tubérculos, raíces carnosas y frutos de hortalizas que se encuentran en contacto con el suelo.....	16
1.5.3	Inducción al desarrollo miceliar	17
1.5.4	Lavado de tejidos afectados.	17
1.5.5	Purificación de cepas	18
1.5.6	Desinfección.....	18
1.5.7	Identificación de hongos	19
1.6	Pasos Para La Recolección De Muestras	19
1.6.1	Toma de muestras por conveniencia o por selección intencionada.	19
1.6.2	Observaciones de muestras	19
1.6.3	Signos y síntomas de hongos patógenos en la planta	20
1.6.4	Calidad de la muestra.....	22
1.6.5	Recomendaciones para toma de muestras - sanidad vegetal.....	23
1.7	Pasos Para El Aislamiento De Patógenos	23
1.7.1	Métodos de aislamiento	23
1.7.2	Aislamiento de hongos.....	24
1.7.3	Aspectos a contar en el estudio de los hongos en laboratorio.....	25
1.7.4	Medios de cultivos usados en el aislamiento de hongos.....	25

1.8	Pasos Para La Identificación De Los Hongos Fitopatógenos.	25
1.8.1	Observaciones de hongos.....	25
1.8.2	Observaciones microscópicas.	26
1.9	Clasificación De Los Hongos Según Agrios.....	27
1.9.1	Hongos superiores	27
1.9.2	Estructuras Reproductivas de los hongos superiores.....	29
CAPITULO II.....		30
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	30
2.1	Características del lugar de investigación.....	30
2.1.1	Ubicación	30
2.1.2	Características meteorológicas.....	31
2.2	Materiales.....	31
2.2.1	Institucionales.....	31
2.2.2	Recursos humanos	31
2.2.3	Materiales de laboratorio	31
2.2.4	Materiales de campo	33
2.3	Diseño metodológico	33
2.4	Métodos y técnicas	33
2.4.1	Método	33
2.4.2	Técnicas	34
2.5	Metodología	35
2.5.1	Metodología en la fase de campo	35

2.5.2	Metodología en la fase de laboratorio	37
CAPITULO III		41
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
3.1	Determinación del hongo fitopatógeno de mayor importancia en la producción de zanahoria (<i>Daucus carota L.</i>).....	41
3.2	Identificación de signos y síntomas del hongo Tizón de la hoja (<i>Alternaria dauci</i>) en el cultivo de zanahoria (<i>Daucus carota L.</i>)	43
3.2.1	Síntomas.....	43
3.2.2	Signos.....	45
3.3	Caracterización de macro y micro estructuras del patógeno.....	46
3.4	Observación del hongo en el microscopio	46
3.4.1	Talo.....	46
3.4.2	Micelio	47
3.4.3	Conidióforo	48
3.4.4	Conidio.....	48
3.4.5	Reproducción	49
3.5	Descripción del ciclo de vida del patógeno en condiciones de laboratorio.....	50
3.6	Guía didáctica.....	51
CONCLUSIONES		52
RECOMENDACIONES		53
GLOSARIO.....		54
BIBLIOGRAFIA		56

ANEXOS.....	63
Anexo 1. GUÍA DIDÁCTICA DE <i>Alternaria dauci</i> EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA (<i>Daucus carota L.</i>).....	63
ANEXO 2. FASE DE CAMPO.....	78
ANEXO 3. FASE DE LABORATORIO.....	79
ANEXO 4. COSTOS.....	82

INDICE DE GRÁFICOS

Grafico 1. Ciclo del hongo <i>Alternaria</i>	10
Grafico 2. Cultivo de zanahoria.....	36
Grafico 3. A. Síntomas de <i>A. dauci</i> en hoja de zanahoria.....	36
Grafico 4. Hoja de zanahoria infectada por la Quemadura de la hoja.....	37
Grafico 5. Cámara húmeda.....	38
Grafico 6. Sintoma de <i>Alternaria dauci</i>	43
Grafico 7. Sintoma de <i>Alternaria dauci</i> en tuberculo.....	44
Grafico 8. A. Síntomas de <i>A. dauci</i> en hoja de zanahoria.....	44
Grafico 9. Signos de <i>A. dauci</i> en medio de cultivo PDA.....	45
Grafico 10. A. Talo de <i>A. dauci</i>	46
Grafico 11. A. Micelio septado de <i>A. dauci</i>	47
Grafico 12. A. Conidióforo de <i>A. dauci</i>	48
Grafico 13. A. Conidios solitarios de <i>A. dauci</i> . B. Conidios en cadena de <i>A. dauci</i>	49

INDICE DE TABLA

Tabla 1. Clasificación Taxonómica De La Zanahoria (<i>Daucus carota L.</i>).....	2
Tabla 2. Morfología De La Zanahoria (<i>Daucus carota L.</i>).....	3
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>Alternaria</i> :.....	7
Tabla 4. Ubicación de la investigación.	30
Tabla 5. Características meteorológicas de la investigación.....	31
Tabla 6. Caracterización de maro y micro estructuras.....	46
Tabla 7. Ciclo de vida del patógeno.	50

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. GUÍA DIDÁCTICA DE <i>Alternaria dauci</i> EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA (<i>Daucus carota L.</i>).	63
ANEXO 2. FASE DE CAMPO.....	78
ANEXO 3. FASE DE LABORATORIO.....	79
ANEXO 4. COSTOS	82

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el cultivo de zanahoria (*Daucus carota* L.) ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años, tanto en superficie, como en producción, ya que se trata de una de las hortalizas de mayor producción y consumo en el mundo, siendo los principales países productores: China, Rusia, Estados Unidos, Polonia, Japón, Ucrania y Reino Unido. Estos 7 países producen el 58% de la producción mundial (FAO, 2009).

En Ecuador el cultivo de zanahoria (*Daucus carota* L.), 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 (AGROECUADOR, 2005). La superficie cultivada de zanahoria (*Daucus carota* L.) en el año 2009 fue de alrededor de 5000 hectáreas, de la cuales 581 hectáreas se sembraron en Cotopaxi, con una producción total de 4,980 toneladas y un rendimiento de 8,571.43 kilogramos por hectáreas. Para el año 2010 se sembraron 666 hectáreas, con una producción de 4,555 toneladas, esta reducción en la producción es atribuida a los problemas edafoclimáticos y al ataque de plagas y enfermedades presentadas en el cultivo. (AGRONEGOCIOSECUADOR, 2015).

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, cornos, 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).

El cultivo de zanahoria (*Daucus carota* L.) es el hospedero principal de *Alternaria dauci* Kühn, el cual puede infectar otras umbelíferas en condiciones naturales (RICHARDSON, 1990). La enfermedad es conocida como Tizón o quemazón de las hojas, es responsable de daños ocasionados por hongos económicamente significativa en todo el mundo en todas las zonas de cultivo de zanahoria, esta es la enfermedad foliar más importante en la zanahoria y las pérdidas suelen ser muy

fuertes sin el adecuado control, debido a que puede desfoliar por completo a las hojas, dicha pérdida puede alcanzar el 40 a 99 % de reducción en el rendimiento del cultivo. (VINTAL, BEN-NOON, SHLEVIN, YIRMEYAHU, SHTIENBERG, & DINOOR, 1999).

Con este estudio se pudo determinar que el principal problema fungoso en el cultivo de zanahoria (*Daucus carota L.*), es la quemadura de la hoja provocado por (*Alternaria dauci*) mediante el aislamiento, purificación y reproducción del patógeno en condiciones de laboratorio se pretende conocer morfológicamente el agente causal que ocasiona la mayor cantidad de pérdidas económicas, para lo cual se acudió a claves taxonómicas y comparaciones fotográficas para poder describir su estructura.

Los resultados de la presente investigación: “Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de zanahoria (*Daucus carota L.*), en el Sector San Buenaventura – Cotopaxi.2014” serán socializados a los sectores de interés mediante la elaboración de una guía didáctica la misma contendrá 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, mejorar e incrementar la producción, obtener un producto de calidad y aumentar sus ingresos económicos.

JUSTIFICACIÓN

En Ecuador la superficie cultivada de zanahoria (*Daucus carota L.*) es de alrededor de 5000 ha, superficie que va incrementándose debido a que existe una mayor demanda con el paso del tiempo. Las principales provincias productoras en nuestro país son: Chimborazo con 1553 ha sembradas, Pichincha con 1300 ha, Cotopaxi con 581 ha y Tungurahua con 550 ha.

En Cotopaxi, la producción total de zanahoria (*Daucus carota L.*), fue de 4,980 toneladas y un rendimiento de 8,571.43 kilogramos por hectáreas en el año 2009. Para el año 2010 se sembraron 666 hectáreas, con una producción de 4,555 toneladas, esta reducción en la producción es atribuida a los problemas edafoclimáticos y al ataque de enfermedades presentadas en el cultivo.

La inexistencia de información sobre los hongos fitopatógenos y los altos porcentajes en pérdidas en las cosechas provocadas por el ataque de Tizón de la hoja de zanahoria, causan problemas a los agricultores del sector de San Buenaventura, razón por la cual se debe encontrar al agente causal de la enfermedad para dar alternativa en el manejo de enfermedades causadas por dicho hongo en este cultivo.

La presente investigación tiene como objetivo: “Identificar al hongo fitopatógeno de mayor importancia económica en el cultivo de zanahoria (*Daucus carota L.*), en el Sector San Buenaventura, 2014”, y la información obtenida acerca de los hongos fitopatógenos permitirá 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 de control de este hongo fitopatógeno Tizón de la hoja de zanahoria (*Daucus carota L.*), y contribuir a la realización de planes de manejo de enfermedades en el Sector San Buenaventura.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar morfológicamente el hongo fitopatógeno que causa mayor impacto en la producción del cultivo de zanahoria (*Daucus carota L.*), en el Sector San Buenaventura, Cotopaxi. 2014.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el hongo fitopatógeno de mayor impacto en la producción del cultivo de zanahoria (*Daucus carota L.*).
- Identificar signos y síntomas del hongo de mayor impacto de la zanahoria (*Daucus carota L.*) 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 fitopatógeno en estudio.

PREGUNTAS DIRECTRICES

- ¿Se reconocerá signos y síntomas del hongo fitopatógeno del cultivo de zanahoria (*Daucus carota L.*) en base al diagnóstico realizado?
- ¿Cuál es el hongo fitopatógeno que afecta en el cultivo de zanahoria (*Daucus carota*) en el sector de San Buenaventura?
- ¿Determinar cuáles son las características del hongo fitopatógeno encontrado?

CAPÍTULO I

1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1 CULTIVO DE ZANAHORIA (*Daucus carota L.*).

1.1.1 Origen

La zanahoria es una especie originaria del centro Asiático y del Mediterráneo. Ha sido cultivada y consumida desde antiguo por griegos y romanos. Durante los primeros años de su cultivo, las raíces de la zanahoria eran de color violáceo. El cambio de éstas a su actual color naranja se debe a las selecciones ocurridas a mediados de 1700 en Holanda, que aportó una gran cantidad de caroteno, el pigmento causante del color y que han sido base del material vegetal actual. (RUBATZKY, QUIROS, & SIMON, 1999).

Las variedades de raíz anaranjadas se reportaron por primera vez en Holanda en el siglo XVII, de donde se distribuyeron y popularizaron por toda Europa y pasaron al continente americano. (PAYÁN, 1995).

1.1.2 Importancia económica y alimenticia

A nivel mundial, la zanahoria es el cultivo hortícola de raíz más importante. La raíz engrosada se consume cruda, hervida o procesada en jugos, ensaladas y conservas. (PAYÁN, 1995). Las cualidades nutritivas de las zanahorias son importantes, especialmente por su elevado contenido en beta-caroteno (precursor

de la vitamina A), pues cada molécula de caroteno que se consume es convertida en dos moléculas de vitamina A. (IMAR, 2010).

El cultivo de la zanahoria ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años, tanto en superficie, como en producción, ya que se trata de una de las hortalizas más producidas en el mundo. Asia es el mayor productor, seguida por Europa y E.E.U.U. (INFOAGRO, 2008).

1.1.3 Taxonomía

Planta bianual. Durante el primer año se forma una roseta de pocas hojas y la raíz. Después de un período de descanso, se presenta un tallo corto en el que se forman las flores durante la segunda estación de crecimiento. (INFOAGRO, 2008)

Tabla 1. Clasificación Taxonómica De La Zanahoria (*Daucus carota L.*)

Reino:	Plantae
División:	Angiospermae
Clase:	Dicotiledónea
Subclase:	Aspiales
Orden:	Salanales
Familia:	Umbeliferaceae
Género:	<i>Daucus</i>
Especie:	<i>carota</i>
Nombre binomial:	<i>Daucus carota</i>
Nombre común:	Zanahoria

FUENTE: Clasificación taxonómica de la zanahoria. Tomado de Araujo (2009).

La zanahoria en otros lugares es conocida también como: Acenoria, azanoria, bufanaga, cenoria, cenoura, sinoria. (TERRANOVA, 1995).

1.1.4 Morfología

Tabla 2. Morfología De La Zanahoria (*Daucus carota L.*)

<p style="text-align: center;">RAÍZ</p> 	<p>Napiforme, carnosa, lisa, recta y no ramificada. Pueden ser desde redondeada hasta cilíndricas, el diámetro varía desde 1-10 cm dependiendo la variedad. El largo se extiende entre 5 y 50 cm.</p>
<p style="text-align: center;">TALLO</p> 	<p>Durante la etapa vegetativa se encuentra sumamente comprimido al ras del suelo, por lo tanto sus entrenudos no son visibles. Una vez que comienza la etapa reproductiva, los entrenudos del tallo se alargan y en su ápice se desarrolla la inflorescencia primaria</p>
<p style="text-align: center;">HOJAS</p> 	<p>Son pubescentes, con segmentos lobulados. Los pecíolos son largos, expandidos en la base, emerge 1 o 2 semanas después de la germinación.</p>
<p style="text-align: center;">FLORES, SEMILLAS, FRUTOS</p> 	<p>Son hermafroditas, pequeñas y blancas, agrupadas en umbela compuesta. Las semillas son de color gris o verdoso, el peso de las semillas varía entre 0,8 y 3 g por cada 1000 semillas.</p>

FUENTE: Características botánicas de la zanahoria. Tomado de Gaviola (2013).

1.2 ENFERMEDADES EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA

La presencia de enfermedades en el cultivo de zanahoria se relaciona con las características climáticas del área de producción. (GAVIOLA, 2013).

1.2.1 *Mildiu de la zanahoria*

Producido por el hongo (*Plasmopora nivea* Schr.), la cual presenta manchas amarillentas en el haz y en el envés micelio afieltrado. Esta enfermedad es más común en invernadero que al aire libre, ya que requiere concentraciones de humedad importantes para desarrollarse. (INFOJARDIN, 2005)

1.2.2 *Oídio o cenicilla*

Causado por (*Erushipe umbelliferarum*, y *Leveillula taurica*), en las hojas se observan inicialmente manchas cloróticas que con posterioridad manifiestan una pulverulencia blanca, culminando con la necrosis de los folíolos de las hojas. Los ataques producidos por ambos hongos son parecidos, pues se caracterizan por la formación en la superficie de las hojas de un tipo de pudrición blanca y sucia constituida por los conidióforos y conidias. (INFOAGRO, 2008)

1.2.3 *Muerte de la raíz*

Enfermedad producida por hongos del género *Pythium* se caracteriza por el marchitamiento de los extremos apicales (debido a disrupción vascular de las raíces) y la bifurcación de las raíces por la muerte de los extremos radicales, esto último hace que las raíces sean inaceptables para su comercialización. (GAVIOLA, 2013).

1.2.4 *Podredumbre negra de la raíz.*

El patógeno causante de esta enfermedad es el hongo (*Stemphylium radicum* Neeg), los síntomas se observan en la corona y los hombros de las raíces, presentándose como canchales negros con bordes bien definidos entre la región afectada y la sana (GAVIOLA, 2013). También provoca lesiones en la parte superior de la raíz recubiertas de un moho negruzco. (LOPEZ M. , 1994)

1.2.5 Tizón bacteriano

Enfermedad causada por (*Xanthomonas campestris*), se caracteriza por producir manchas foliares necróticas que destruyen gran parte de la hoja. (BARAHONA, 2003)

1.2.6 Podredumbre blanca

Es causado por (*Sclerotinia sclerotiorum*), el hongo sobrevive en el suelo como esclerocio, que son cuerpos negros, duros, de forma irregular y tamaño entre 5-7 mm. La infección a campo es más común, pero la infección en almacenamiento también puede ocurrir debido al uso de contenedores contaminados. (GAVIOLA, 2013).

1.3 QUEMADURA DE LAS HOJAS (*Alternaria dauci*).

El género *Alternaria* contiene especies cosmopolitas que se encuentran en un amplio rango de materiales y productos, como saprofitas que pueden deteriorar alimentos y forrajes, produciendo compuestos biológicamente activos tal como micotoxinas. Como patógenos reducen el rendimiento de las cosechas o afectan a los vegetales almacenados. Es necesaria una identificación precisa de las especies porque cada nombre entraña un conjunto de características (preferencias para el crecimiento, patogenicidad, producción de metabolitos secundarios) que permiten predecir el comportamiento del hongo. (ANDERSEN, KROGER, & ROBERTS, 2001).

Tizón de la hoja de zanahoria, causada por *Alternaria dauci*, es una de las enfermedades foliares más perjudiciales de la zanahoria en todo el mundo (VINTAL, BEN-NOON, SHLEVIN, YIRMEYAHU, SHTIENBERG, & DINOOR, 1999).

El cultivo de la zanahoria (*Daucus carota* L.) es el hospedero principal del hongo *Alternaria dauci* Kühn, el cual también puede infectar otras umbelíferas (ROMANAZZI, NIGRO, HIPOLITO, DI VENERE, & SALERNO, 2002), La enfermedad producida por este hongo conocida como "tizón de hoja" es la más

común en todas las áreas productoras de zanahoria del mundo (POISSONNIER, REULET, GUERY, & TISON, 1995), *Alternaria dauci* se encuentra sobre la superficie y en el mericarpio de la semilla en forma de conidia y como micelio invernante causando muerte prematura de plántulas. Los residuos de follaje son una fuente de infección, especialmente cuando están sobre la superficie del suelo (STRANDBERG, 1977).

Este hongo fue descrito por Kühn en 1885, como *Sporidesmium exitiosum* var. *dauci* y desde entonces es reportado en todas las áreas de producción de zanahoria del mundo (NEERGAARD, 1945).

1.3.1 Importancia.

Tizón de la hoja de la zanahoria (*Daucus carota*) es responsable de daños ocasionados por hongos económicamente significativos en todo el mundo en todas las zonas de cultivo de zanahoria. Las pérdidas causadas por *Alternaria dauci* pueden alcanzar 40-99% (VINTAL, BEN-NOON, SHLEVIN, YIRMEYAHU, SHTIENBERG, & DINOOR, 1999), *Alternaria dauci*, el agente causal necrotrófico de la enfermedad, es uno de los patógenos foliares más destructivos de este cultivo, las hojas de los cultivos gravemente enfermos aparecen como quemado resultado de la coalescencia de las lesiones de color marrón oscuro, a veces rodeadas por un halo clorótico, en condiciones favorable (FARRAR, PRYOR, & DAVIS, 2004).

La quemadura de la hoja de zanahoria es la enfermedad foliar más común del cultivo; fue descrita por primera vez en Alemania. Bajo condiciones óptimas, desarrolla rápidamente severas epidemias foliares, conduciendo a pérdidas de follaje y de producción (SERDANI, 2002). La planta aparece como quemada por el sol o por un tratamiento mal efectuado, los ataques severos de la enfermedad cuando la planta es joven pueden producir su muerte y en las adultas tiende a producir putrefacciones radiculares (TERRANOVA, 1995). Es común observar en este tipo de hongos cuando crecen en medios ricos y en obscuridad, que se forme un exceso de micelio aéreo que afecta al desarrollo de la esporulación. (ANDERSEN, KROGER, & ROBERTS, 2001)

1.3.2 Clasificación taxonómica de *Alternaria*

Tabla 3. Clasificación taxonómica de *Alternaria*:

Reino	Fungi
División	Eumycota
Subdivisión	Deuteromycotina
Clase	Deuteromycete (Imperfecto)
Subclase	Hyphomycetidae
Orden	Hyphales (Moniliales)
Familia	Dematiaceae
Género	<i>Alternaria</i>
Especie	<i>dauci</i> (Kühn)
Nombre común	Tizón de la hoja de la zanahoria

FUENTE: Bayer CropScience 2007.

1.3.3 Daños causados por *Alternaria* en la hoja de zanahoria

Dentro de las principales enfermedades que ataca a las hojas de la zanahoria tenemos a *Alternaria dauci*. Es una enfermedad que se presenta principalmente a fines de verano y durante el otoño. Este hongo es patogénico para la zanahoria, pero puede instalarse igualmente en otro tipo de umbelíferas (MESSIAEN, 1979).

Alternaria dauci si ataca en la primeras fases del desarrollo produce marras de nascencia, en plantas más desarrolladas produce manchas parduscas diseminadas en los bordes de las hojas (HOLLE & MONTES, 1981).

El tizón o añublo causado por *Alternaria dauci* provoca la muerte prematura de las hojas extremas, así como también de los peciolo, con una reducción ocasional de la producción (OJILVIE, 1964).

El tizón de la hoja causada por *Alternaria dauci*, es una enfermedad importante y se presenta en las hojas y peciolo con manchas primero amarillentas y posteriormente se oscurecen hasta el castaño. En ataques intensivos se observan

las puntas completamente podridas. El hongo sobrevive en los desechos (GARCÍA, 1980).

La semilla es portadora de *Alternaria dauci* y el patógeno puede persistir en los restos de cosechas, sobre todo en el follaje más viejo (CASSERES, 1966).

1.3.4 Síntomas

Las lesiones de tizón de la hoja (*Alternaria dauci*) son pequeñas y se encuentran comúnmente en los márgenes y las puntas de los folíolos de zanahoria. Las lesiones son irregulares en forma y tamaño, de color marrón oscuro a negro. En condiciones favorables, las lesiones se vuelven numerosas y continuará expandiéndose hasta que finalmente se fusionan dando un aspecto (quemado) deteriorando el tejido de la hoja. Eventualmente, el folíolo puede marchitarse y morir. Las lesiones grandes también pueden desarrollarse en los pecíolos y pueden rodear y matar a las hojas. Comparado con *Cercospora* tizón de la hoja, las lesiones de *Alternaria dauci* son más evidentes inicialmente en las hojas inferiores así como en las hojas más viejas, mientras que las lesiones de *Cercospora carotae* son más numerosas en las jovencitas (VINTAL, BEN-NOON, SHLEVIN, YIRMEYAHU, SHTIENBERG, & DINOOR, 1999).

Los síntomas foliares aparecen de 8-10 días después de la infección, como lesiones con formas irregulares que van desde el marrón oscuro hasta el negro en los filos de las hojas y pecíolos a menudo comienza en las hojas más viejas. Se presentan primero en forma de pequeñas manchas parduzcas, aureoladas de amarillo y diseminadas por el borde de la hoja. Al aumentar el número de manchas mueren los tejidos intermedios, con lo que deseca el folíolo completo (TERRANOVA, 1995).

En el tubérculo las lesiones son irregulares van desde el marrón oscuro al negro y aparecen como un área de pudrición superficial firme (PLANTPRO, 2015).

1.3.5 Morfología

El patógeno *Alternaria sp* tiene un micelio de color oscuro y en los tejidos viejos infectados producen conidióforos cortos, simples y erectos que portan cadenas

simples o ramificadas de conidios. Los conidios son grandes, alargados y oscuros, o bien multinucleares y en forma de pera y presentan septos transversales como longitudinales. Los conidios se desprenden con facilidad y son diseminados por las corrientes de aire. Las especies fitopatógenos de *Alternaria* invernan como micelio en los restos de las plantas infectadas y en forma de esporas y micelios en las semillas. En caso de que el hongo vaya con las semillas, ataca a las plántulas (por lo común después de que han emergido) y produce el ahogamiento de ellas o bien lesiones del tallo y la pudrición del cuello. Sin embargo, es más frecuente que las esporas que forma el hongo en gran abundancia (especialmente cuando las lluvias son más frecuentes y hay un rocío abundante) sean desprendidas del micelio para desarrollarse sobre resto de vegetales, malas hierbas o plantas cultivadas. Las esporas que han emergido penetran a los tejidos susceptibles directamente o a través de heridas, y en poco tiempo producen nuevos conidios que son diseminados por el viento, la lluvia, las herramientas, etc. (AGRIOS, 1999)

Las hifas de los hongos de *A. dauci* son desde hialino, marrón hasta marrón oscuro con la edad, y los septos. Los conidióforos son marrón oscuro, septos y no ramificados, 30-100 µm de largo. El Conidio de la *Alternaria dauci* tiene forma de trébol, con 5-7 hojas de trébol y 1-3 septos a lo largo, medido por 150 x 15-25 µm. (PLANTPRO, 2015).

En malta agar o PDA, las conidias típicamente aparecen de color gris oscuro con micelio esponjado. En algunos casos se produce un distintivo pigmento púrpura de la colonia rodeando al medio. La producción de esporas es facilitada por la incubación de cultivos con luz fluorescente o luz de día indirecta. La producción de esporas es variable en medios ricos y esta aumenta en medios pobres tal como diluidos de V8 agar y harina de maíz. (KONSTANTINOVA, 2002)

1.3.6 Ciclo de la enfermedad

El patógeno puede transmitirse a través semillas infectadas o contaminadas y pueden sobrevivir en residuos de cosecha, que puede actuar como una fuente de

inóculo en posteriores años de cultivo (BEN-NOON, SHTIENBERG, SHLEVIN, VINTAL, & DINOOR, 2001).

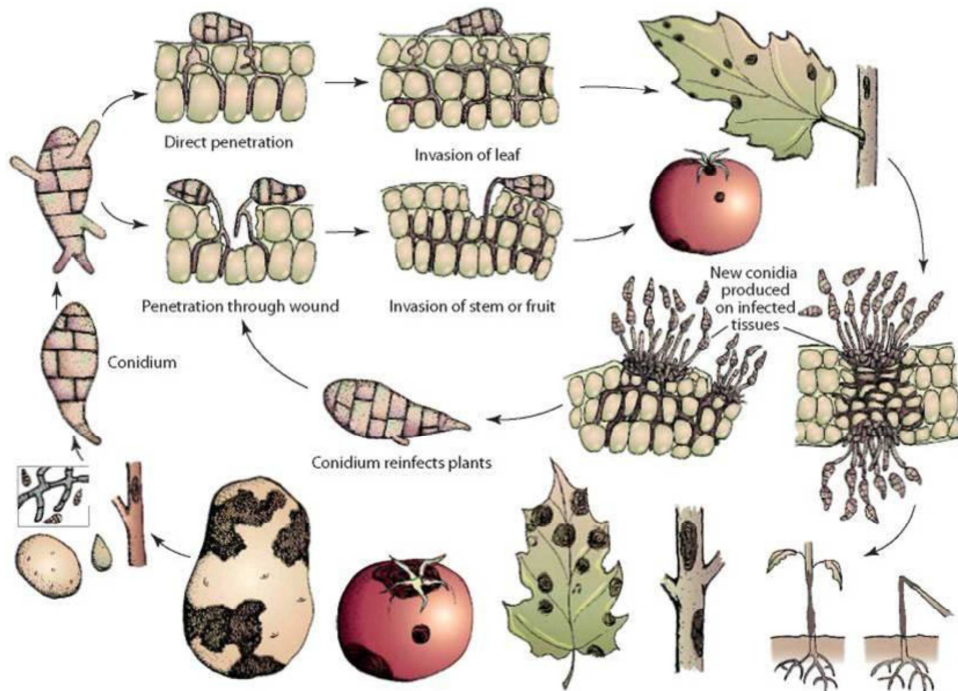


Grafico 1. Ciclo del hongo *Alternaria*.

FUENTE: Ciclo del hongo *Alternaria*. Tomado de Agrios (1999).

La germinación, penetración, y el desarrollo de síntomas puede tomar de 8 a 16 días; menos tiempo cuando la heridas están presentes. Dentro de dos a tres semanas un gran número de conidios se puede producir en las lesiones, y ciclos enfermedad secundaria pueden repetirse en un tiempo más largo si las condiciones sigue siendo favorable (BEN-NOON, SHTIENBERG, SHLEVIN, VINTAL, & DINOOR, 2001).

La infección por *Alternaria dauci* se ve favorecida por temperaturas moderada y prolongada humedad en la hoja. La infección puede ocurrir en 8 a 12 horas a temperaturas de 16-25°C (61-77°F). El hongo esporula fácilmente en el tejido necrótico muertos y las esporas germinan fácilmente en las gotitas de agua y el rocío. La velocidad de propagación de estas enfermedades en el campo es

dependiente del nivel inicial de inóculo disponibles (contaminación de las semillas y / o residuos infectados), temperatura del aire, y la presencia de agua, ya sea de la lluvia, irrigación, alta humedad o rocío (GUGINO, CARROLL, CHEN, LUDWING, & ABAWI, 2004).

La enfermedad se extiende rápidamente en las hojas más antiguas de una cosecha madura después de que los surcos se han cerrado. Esto se debe en parte a la poca circulación de aire entre las hojas bajas más antiguas en la cubierta y a la capacidad de retener la humedad del denso follaje. Las hojas más antiguas infectadas producen muchas esporas, lo que eventualmente infecta a hojas más jóvenes y pueden penetrar hasta el suelo y atacar los tubérculos (especialmente después de una herida mecánica) (PLANTPRO, 2015).

La *Alternaria* sobrevive en las semillas y puede pasar el invierno en los residuos de cosechas enfermas dejadas en el campo al igual que en plantas de zanahorias salvajes o semillas de zanahoria. El viento, los insectos, las salpicaduras de agua, la maquinaria agrícola y los agricultores pueden difuminar la spora del hongo. El tiempo fresco y húmedo generalmente favorece la quemadura de *Alternaria*. Aunque el hongo sobrevive en el detritus de la zanahoria dejada en el campo después de la recolección, una vez que el residuo de la cosecha se descompone, el hongo muere (PLANTPRO, 2015).

1.3.7 Control para Alternaria.

1.3.7.1 Control cultural

Muchas de las enfermedades en hortalizas son debidas a las labores mal ejecutadas, por las cuales las plantas crecen débiles y son fácilmente atacadas por paracitos (TAMARO, 1968).

Según (TAY & SEPÚLVEDA, 2011), hay que tener en cuenta las siguientes medidas culturales para el establecimiento del cultivo de zanahoria.

- Utilizar semilla sana libre se *Alternaria*.
- Desinfectar siempre la semilla.
- Realizar rotaciones mínimas de dos años.

- Evitar el exceso de humedad, sobretodo evitar encharcamiento del suelo, realizar riegos solo cuando el cultivo lo requiera.
- Elegir predios que tengan antecedentes de no haber sido afectado por *Alternaria*.
- El cultivo debe estar localizado en sitios que cuenten con buen drenaje.
- Eliminar plantas voluntarias que pueden ser hospederos del hongo.
- Desinfección de implementos agrícolas cuando sean utilizados en otros predios.

1.3.7.2 Control químico

El control químico debe ser utilizado como complemento a las medidas culturales (TAY & SEPÚLVEDA, 2011).

Una vez detectada la enfermedad se debe realizar aplicaciones químicas al follaje a fin de frenar la evolución de la enfermedad tratando con fungicidas de contacto como Mancozeb al 2.5 por mil con 7 días de carencia, Maneb + oxiclورو de cobre + zineb al 4 por mil con 15 días de carencia, Clorotalonil 50% en dosis de 3.5 por mil, 72% al 3 por mil con 7 a 14 días de carencia (COLOMBO, 2002).

1.4 HONGOS FITOPATÓGENOS

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

Los hongos son pequeños organismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarioticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que tienen quitina, celulosa, o ambos componentes. (AGRIOS, 1999).

1.4.1 Características generales

Los hongos son organismos carentes de clorofila que se reproducen mediante esporas. Son por lo general filamentosos y multicelulares, con núcleos que se observan con facilidad. Los filamentos constituyen el cuerpo (soma) de los

hongos que se alargan mediante un crecimiento especial y un pequeño fragmento de ellos puede reproducirse un nuevo individuo. (HERRERA & MAYEA, 1994).

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

1.4.2 Estructuras somáticas

1.4.2.1 Talo

Es el nombre que se le da al cuerpo vegetativo o soma de un hongo. (HERRERA & ULLOA, 1990), que consta de filamentos microscópicos continuos más o menos alargados y ramificados hacia todas partes y se extienden sobre o dentro del sustrato que utiliza como alimento. (AGRIOS, 1999).

Tipos de talos

Existen diversos tipos de talo, aunque el más común sea el de tipo micelial. (HERRERA & ULLOA, 1990)

- Unicelular: Cuerpo formado por una sola célula y su núcleo.
- Pseudoplasmodial: Talo formado por mixamibas que se unen pero sin perder su individualidad.
- Plasmodial: Talo formado por mixamibas que se unen y pierden su individualidad.
- Pseudo micelial: Talo formado por cadenas de células unidas en sus extremos que forman un “micelio” corto.
- Micelial: Talo formado por filamentos tubulares llamadas hifas.

1.4.2.2 Hifas

Ramificación simple de un micelio. (AGRIOS, 1999). Cada hifa está formada por una pared delgada, transparente, que guarda en su interior un protoplasma. (ASTURNATURA, 2015).

Tipos de hifas

(HERRERA & ULLOA, 1990). Existen dos tipos de hifas.

- **Septada:** Hifa dividida por septos formando unidades similares a las células pero que están comunicadas por poros de forma que existe un continuo citoplasmático y fluyen los organelos.
- **Cenocítica:** Hifa sin divisiones transversales, el número de núcleos por segmento varía de 2 a más de 100, pero siempre se concentran en la parte apical de la hifa.

1.4.2.3 Micelio

Conjunto de hifas que constituye el cuerpo vegetativo de un hongo. (URBINA, 2011).

Tipos de micelio

(CARRILLO, 2009). Dependiendo de su crecimiento se clasifica en:

- **Micelios reproductores:** También llamados aéreos, crecen hacia la superficie externa del medio y son los encargados de formar los orgánulos reproductores para la formación de nuevos micelios.
- **Micelios vegetativos:** Se encargan de la absorción de nutrientes, crecen hacia abajo, para cumplir su función.

1.4.2.4 Conidio

Se tratan de esporas asexuales, no flageladas, que se forman en el ápice o en los laterales de una célula esporógena. Existe una gran variedad en la morfología de los conidios, que pueden ser esféricos, cilíndricos, alargados estrellados, en espiral, incluso puede ser unicelular o estar formados por varias células separadas por septos transversales o longitudinales. Pueden formarse individualmente o en grupos. Son catenulados si se forman en cadenas, llamándose artrospora a cada “eslabón” de la cadena; si los nuevos conidios se forman en la base de la cadena se dice que son basípetos, y si se forman en el ápice, se llaman acrópetos. (ASTURNATURA, 2015).

1.4.2.5 Conidióforo

Hace referencia a una hifa simple o ramificada que surge de la hifa somática y sostiene una o más células conidiogénicas. Los conidióforos pueden aparecer aislados o en grupos, originando las siguientes estructuras: Sinema, Esporodocio, Picnidio, Acérvulo. (ASTURNATURA, 2015).

1.4.3 Hongos como patógenos en las plantas

El efecto nocivo de los hongos se debe a su capacidad para destruir físicamente los tejidos de la planta, alterar la fisiología vegetal reduciendo el crecimiento de toda la planta o de órganos determinados, o producir toxinas que afectan tanto a plantas como animales. Algunos hongos, conocidos como **biótrofos**, pueden crecer y multiplicarse manteniéndose durante todo su ciclo de vida en la planta huésped, viviendo y obteniendo nutrientes sin causar la muerte. Otros son **necrótrofos**, en una parte de su ciclo vital requieren una planta huésped pudiendo crecer sobre tejido muerto o producir la muerte celular para absorber los nutrientes del tejido muerto. Muchas infecciones empiezan con una fase biotrófica que se convierte más tarde en necrotrofica. Algunos hongos son simbiontes facultativos, creciendo tanto libres como asociados a plantas, y otros son simbiontes obligados, creciendo sólo si están asociados a plantas. (AGRIOS, 2005).

1.5 AISLAMIENTO DE HONGOS FITOPATÓGENOS A PARTIR DE PLANTAS ENFERMAS

El aislamiento consiste en el proceso de separación de microorganismos a partir de su sustrato natural (planta) para hacerla crecer en medio de cultivo artificial. El aislamiento y cultivos persiguen distintos fines, el más común en un laboratorio de fitopatología es para diagnosticar la causa de una enfermedad desconocida, sin embargo, puede tener objetivos didácticos o de investigación sobre taxonomía, fisiología y genética microbiana. Es común también cuando se quiere tener cepas puras, en la evaluación de productos químicos in vitro. (LOPEZ A. , 1979)

El cultivo de microorganismos tiene enormes ventajas que contribuyen al conocimiento de la biología de estos. Sin embargo, hay que considerar que al cultivar un organismo: a) pueden ocurrir mutaciones, b) se puede perder parcial o totalmente su patogenicidad, c) los hongos pueden o no formar cuerpos fructíferos en medios artificiales; estos cuerpos pueden presentar variación, d) existen hongos que no se pueden cultivar (parásitos obligados) y otros que requieren medios complejos para su desarrollo. (LOPEZ A. , 1979)

1.5.1 Aislamiento del patógeno de las hojas

En caso de que la infección de las hojas de una planta avance en forma de tizón o mancha foliar fungosa y en caso de que las esporas del hongo aparezcan sobre su superficie, algunas de esas esporas deben depositarse sobre una caja de Petri que contenga medio de cultivo o bien deben recolectarse con la punta de una aguja estéril o un escalpelo y colocarse sobre la superficie del medio de cultivo. Si el hongo crece en cultivo, al cabo de unos cuantos días aparecerán colonias de micelio aisladas debido a la germinación de las esporas. Éstas se re siembran en placas separadas y de esta forma se asegura que algunas de ellas contengan al patógeno libre de cualquier tipo de contaminante. (AGRIOS, 2005).

El método más común para aislar a los patógenos de las hojas infectadas y de otros órganos de la planta es aquel en el que se seleccionan varios cortes pequeños de 5 a 10 mm² a partir del borde de la lesión infectada, a fin de que contenga tejidos enfermos y tejidos al parecer sanos. (AGRIOS, 2005)

1.5.2 Aislamiento del patógeno de raíces, tubérculos, raíces carnosas y frutos de hortalizas que se encuentran en contacto con el suelo.

Para el aislamiento, la tierra que se encuentra impregnada en el tejido debe separarse y deben colocarse en una solución de Clorox, varios cortes de tejido obtenidos del borde de las lesiones. Se seleccionan uno por uno los cortes de tejidos en la solución, se sumergen o lavan en agua estéril y se colocan en cajas de Petri que contengan agar. Si el patógeno ha penetrado profundamente en el tejido

sano, puede usarse el método descrito anteriormente para tallos y frutos, que consiste en desgarrar los especímenes primero por la parte sana y después por la zona infectada, tomando porciones de tejido del borde de la pudrición (la cual no ha sido expuesta), y colocarlos directamente en el medio de cultivo. (AGRIOS, 2005).

1.5.3 Inducción al desarrollo miceliar

Es necesario utilizar una trozo del hospedante para inducir al desarrollo miceliar, aquellos hongos biótrofos para que el hongo crezca y esporule sobre medios de cultivos, recomendables para hongos que esporule poco tejido, tales como hongos de la raíz. (AGRIOS, 2007)

Según (AGRIOS, 2007), este método es el más usado cuando se quiere tener a un hongo en cultivo puro.

- Lavar el material enfermo con agua corriente y secar.
- Seleccionar el tejido vegetal afectado procurando que los trocitos queden de 0.3 a 0.5 cm de longitud.
- Enjuagar los trocitos en 3 pasos de agua destilada y secarlos perfectamente, al secar bien, disminuyen las contaminaciones pasar 4 a 5 secciones a una caja de Petri con PDA, selle la caja con cinta adhesiva e incube de 20 a 25 °C.

1.5.4 Lavado de tejidos afectados.

Partes subterráneas: deben lavarse bajo agua corriente, con la ayuda de un cepillo suave. Para casos difíciles como de algunos Ficomicetos patógenos sensibles a desinfectantes, se alarga el proceso de lavado para eliminar el uso de desinfectantes. Se colocan porciones de las raíces lavadas en un frasco tapado con una malla o gasa y se deja caer un chorro de agua sobre este durante dos o más horas. (FRENCH & HEBERT, 1980).

Partes aéreas: los órganos aéreos son generalmente difíciles de mojar. Una sumersión instantánea en alcohol etílico 70% antes de introducir en agua. Los

tejidos aparentemente limpios no necesitan lavado, excepto el que se hace durante la desinfección. (FRENCH & HEBERT, 1980).

1.5.5 Purificación de cepas

Es raro que al hacer una siembra o aislamiento, se obtenga solo al hongo deseado, normalmente también microorganismos contaminantes, de los cuales es necesario apartar al organismo de interés. Este proceso se denomina purificación y normalmente consiste en cortar puntas de micelio del borde de la colonia en crecimiento, mediante agujas de disección flameadas. Esta pequeña porción del hongo y agar se depositan en otras cajas con medios de cultivo estéril y de esta forma se obtienen cultivos puros (AGRIOS, 2007).

Es aconsejable hacer aislamientos de la muestra que sea fresca (pocas horas) y que se siembre a partir del borde de lesiones en crecimiento activo, de lo contrario la purificación se dificulta, en ocasiones es necesario utilizar medios selectivos con antibióticos y fungicidas para purificar cepas. (AGRIOS, 2007).

1.5.6 Desinfección

Los tejidos enfermos contienen normalmente diversidad de organismos que invaden los tejidos muertos por el patógeno indica (AGRIOS, 2007). Estos contaminantes dificultan el aislamiento por lo que generalmente es necesaria una desinfección previa a la siembra.

Entre los desinfectantes más usuales se tiene: Hipoclorito de sodio. El desinfectante más usado es el blanqueador de uso doméstico (cloralex), basta mezclar una parte de esta sustancia en 5 partes de agua destilada para obtener el producto deseado ya que el blanqueador viene al 5-6 %, es decir que normalmente se usa hipoclorito al 1-2 %, el tiempo de exposición varía de 30 a 90 segundos; el material viejo o muy contaminado se puede tratar por 2 a 3 minutos siempre que no se elimine el patógeno.

1.5.7 Identificación de hongos

(CALZADA, 2002), afirma que para la identificación de hongos fitopatógenos es necesario la observación de sus estructuras somáticas y reproductivas. Mediante la técnica de cámara húmeda y/o aislamiento es posible inducir la aparición de estas estructuras producidas y el uso de claves taxonómicas son necesarios para determinar el género y la especie del hongo patógeno. Para la identificación de los hongos es necesario el reconocimiento de las estructuras vegetativas y reproductivas. En cuanto a estructuras vegetativas se debe analizar:

- **Plasmodio:** se refiere al cuerpo o soma vegetativo de algunos hongos inferiores, el cual está constituido por una masa multinucleadas, sin pared celular. Son escasos los hongos fitopatógenos que poseen soma vegetativo de tipo plasmodial.
- **Micelio:** la mayoría de los hongos poseen cuerpos filamentosos provistos de pared celular. A los filamentos que constituyen el cuerpo o soma vegetativo se les denomina hifas. Al conjunto de hifas se le denomina micelio. Cuando las hifas no presentan septas, el micelio es denominado cenocítico o no tabicado y cuando las presenta el micelio se dice que es tabicado.

1.6 PASOS PARA LA RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

1.6.1 Toma de muestras por conveniencia (o por selección intencionada).

Este tipo de muestreo se realiza colectando hojas de plantas que presentaban síntomas y/o signos típicos del ataque del patógeno perteneciente al género *Alternaria*.

1.6.2 Observaciones de muestras

Para la observación de los hongos fitopatógenos se emplean diversas técnicas de preparación de las muestras. Su selección depende de la detención de estructuras como: trozos de micelio, conidios, cuerpos fructíferos (picnidios, peritecas,

acérvulos, etc.), en estos casos con un simple raspado de la superficie afectada puede tomarse material para la observación microscópica. Para esta preparación debemos auxiliarnos de instrumentales especializados como pinzas, agujas, escalpelos, etc. (HERRERA & MAYEA, 1994).

1.6.3 Signos y síntomas de hongos patógenos en la planta

Los síntomas que producen los hongos en sus hospedantes son de tipo local o general y pueden aparecer por separado en hospedantes distintos, en un mismo hospedante aparecer uno después de otro en un mismo en un mismo hospedante. En general, los hongos producen una necrosis local o general o la muerte de los tejidos vegetales que infectan, hipertrofia e hipoplasia o atrofia de plantas completas o de sus órganos, e hiperplasia o crecimiento excesivo de ellas o de algunos de sus órganos. (AGRIOS, 1999).

Según (AGRIOS, 1999) los síntomas necróticos más comunes son los siguientes:

- **Manchas foliares.** Lesiones localizadas en las hojas de los hospedantes que constan de células muertas y colapsadas.
- **Tizón.** Coloración café general y extremadamente rápida de las hojas, ramas, ramitas y órganos florales de una planta, que dan como resultado la muerte de estos órganos.
- **Cancro.** Herida localizada o lesión necrótica; con frecuencia sumida bajo la superficie del tallo de una planta leñosa.
- **Muerte descendente.** Necrosis generalizada de las ramitas de las plantas que se inicia en sus puntas y avanza hacia su base.
- **Pudrición de la raíz.** Pudrición o desintegración de todo el sistema radical de una planta o parte de él.
- **Ahogamiento o secadera.** Muerte rápida y colapso de plántulas muy jóvenes que se cultivan en el campo o en el almácigo.
- **Pudrición basal del tallo.** Desintegración de la parte inferior del tallo.
- **Pudriciones blandas y pudriciones secas.** Maceración y desintegración de frutos, raíces, bulbos, tubérculos y hojas carnosas de las plantas.

- **Antracnosis.** Lesión necrótica que se asemeja a una úlcera profunda y que se produce en el tallo, hojas, frutos o flores de las plantas hospedantes.
- **Sarna.** Lesiones que se producen sobre el fruto, hojas, tubérculos y otros órganos de las plantas hospedantes, por lo común ligeramente realzadas o bien profundas y agrietadas, lo cual les da una apariencia costrosa.
- **Decaimiento.** Crecimiento deficiente de las plantas; las hojas son pequeñas, quebradizas, amarillentas o de color rojo; las plantas muestran cierto grado de defoliación y muerte descendente.

(AGRIOS, 1999), también manifiesta que los síntomas que se asocian a la hipertrofia o hiperplasia y distorsión de los órganos de las plantas incluyen:

- **Hernia de las raíces.** Raíces alargadas en forma de huso o mazo.
- **Agallas.** Porciones alargadas de las plantas que por lo común están llenas del micelio del hongo.
- **Verrugas.** Protuberancias en forma de verruga que se forman sobre los tubérculos y los tallos.
- **Enchinamiento foliar.** Deformación, engrosamiento y enchinamiento de las hojas.

Además (AGRIOS, 1999), indica que de los síntomas que ya se han mencionado, pueden añadirse otros grupos de síntomas:

- **Marchitamiento.** Por lo común, es un síntoma secundario generalizado en el que las hojas o los retoños de las plantas pierden su turgencia y se cuelgan debido a las alteraciones que sufre el sistema vascular de la raíz o del tallo.
- **Roya.** Muchas lesiones pequeñas, por lo común de color rojizo, que aparecen sobre las hojas o el tallo de las plantas.
- **Mildiu.** Zonas necróticas o cloróticas que aparecen sobre las hojas, tallo y frutos de una planta y que por lo común se cubren con el micelio y los cuerpos fructíferos del hongo.

En muchas enfermedades, el patógeno se desarrolla, o produce varias estructuras, sobre la superficie de su hospedante. Estas estructuras, que incluyen al micelio, esporóforos, cuerpos fructíferos y esporas, se les denomina signos y difieren de los síntomas, los cuales solo se refieren a la apariencia que toman las plantas o sus tejidos cuando han sido infectados. (AGRIOS, 1999).

Por ejemplo, en los mildius, lo que se observa con mayor frecuencia son los signos representados por las esporas y el crecimiento veloso y blanquizo del micelio del hongo sobre las hojas, frutos o tallos de la planta, mientras que los síntomas consisten en lesiones necróticas o cloróticas que aparecen sobre las hojas, frutos y tallos, crecimiento deficiente de la planta, etc. (AGRIOS, 1999).

1.6.4 Calidad de la muestra

Este aspecto es de suma importancia puesto que con frecuencia las muestras tomadas no llegan al lugar de destino con la calidad requerida para poder realizar una labor investigativa eficiente. Al tomar la muestra de la planta enferma no se deben seleccionar las partes u órganos que manifiestan estado avanzado de desarrollo de la enfermedad tales como: tubérculos en estado avanzado de descomposición o ramas totalmente necrosadas, sino aquellas partes que manifiesten aun un proceso de desarrollo intermedio de la enfermedad, en las que el agente parasitario permanece activo y su observación se facilita. Igualmente, en casos de avanzado desarrollo de los síntomas, la presencia de organismos secundarios entorpece gravemente el proceso de diagnóstico. (HERRERA & MAYEA, 1994)

La conservación y el almacenamiento de las muestras hasta su llegada al laboratorio deben tenerse muy en cuenta; para ello se aconseja el empleo de envases que no acumulen excesiva humedad y eviten la proliferación de organismos secundarios, así como mantener las muestras, de ser posible bajo temperaturas que inhiban el desarrollo de microorganismos. (HERRERA & MAYEA, 1994)

El empleo de técnicas de herborización natural le permite en algunas circunstancias y por algunas enfermedades causadas por hongos, conservar las

muestras inalterables durante largo tiempo, como ocurre en numerosas enfermedades foliares. (HERRERA & MAYEA, 1994).

1.6.5 Recomendaciones para toma de muestras - sanidad vegetal

La muestra debe recogerse en bolsas de plástico limpias, debidamente codificadas y manteniendo la boca de la bolsa abierta para evitar putrefacciones.

Si la muestra debe ser enviada por correo, se envolverá en papel de periódico para absorber la humedad de la misma. Si la muestra es de semillas, podrán recogerse en bolsas de plástico, botes de cristal o sobres de papel limpios, con su correspondiente código de identificación. (INIAP, 2009).

1.7 PASOS PARA EL AISLAMIENTO DE PATÓGENOS

El microorganismo debe aislarse en cultivo puro y deben establecerse sus características físicas (forma, tamaño, fisiología, etc.).

Se debe plantear la necesidad de la asociación constante de un agente biótico con el hospedero enfermo, para proceder luego a su aislamiento, su caracterización y su cultivo in vitro en ausencia de otros microorganismos (purificación) (CHARLES, 2008).

1.7.1 Métodos de aislamiento

Para lograr el aislamiento del agente causal de una determinada sintomatología o enfermedad, en primer lugar, se debe establecer la causa que originó dichos trastornos, es decir permite llegar a diagnosticar la naturaleza del agente causal. No obstante, es muy común cuando se utilizan técnicas o métodos para el aislamiento del agente causal, que más de un organismo sea obtenido. (HERRERA & MAYEA, 1994).

Las técnicas y métodos de laboratorio empleados para el diagnóstico de microorganismos fitopatógenos requieren personal calificado, equipos e instrumentos de precisión, reactivos y cristalería variada, así como una alta

laboriosidad. El procedimiento a seguir está determinado en gran medida por la naturaleza del posible agente causal (HERRERA & MAYEA, 1994).

1.7.2 Aislamiento de hongos

El aislamiento de los hongos fitopatógenos se puede realizar frecuentemente con cierta facilidad, ya que sobre el tejido enfermo de una planta suelen encontrarse solamente las estructuras de un organismo causantes, sin la presencia de otros microorganismos contaminantes. Como ejemplo de este tipo de situación puede citarse el caso de los mildius y carbones, que fructifican profundamente sobre tejidos afectados. Las royas, que fructifican también abundantemente, son difíciles de aislar *in vitro*. Sin embargo en la mayoría de los casos se requiere de métodos específicos de aislamiento, los cuales dependen principalmente de la naturaleza del hongo en cuestión y del sustrato o planta hospedante en que se desarrolló. Tal es el caso de la mayoría de los hongos fitopatógenos del suelo. El autor antes mencionado indica que en otras ocasiones numerosos hongos que producen estructuras reproductoras sobre el sustrato natural que parasitan no lo hacen en medios artificiales, por lo que para su identificación hay que prescindir de métodos de aislamientos. Un caso particular de esta naturaleza son los hongos de la Clase *Ascomycetes* que raramente producen sus cuerpos fructíferos sobre medios artificiales. El aislamiento de los hongos productores de micelio aéreo esporógeno resulta exitoso simplemente transfiriendo directamente el micelio o masas de esporas formadas sobre el tejido de la planta, sobre un medio determinado. Cuando el crecimiento del micelio o la formación de esporas no es apreciable sobre el tejido de la planta hospedante se emplea la técnica conocida como cámara húmeda, que consiste en tomar porciones o pedazos de dicho tejido, lavarlo bajo un chorro de agua corriente durante 10 o 15 minutos para remover de la superficie las esporas de otros hongos saprofitos y colocarlos luego sobre papel de filtro humedecido dentro de placas de Petri e incubar dentro de varias horas a temperatura entre 26 y 30 °C. Para el aislamiento de hongos presentes en el interior de la planta (haces vasculares, frutos, tubérculos, etc.) debe procederse a la desinfección externa con los productos antes descritos, cortar el tejido con un bisturí o escalpelo estéril y extraer porciones afectadas y colocarlas o sembrarlas

en un medio apropiado que favorezca el crecimiento de las estructuras vegetativas o reproductoras. El ajuste del pH en los medios empleados para el aislamiento debe garantizar valores bajos (alrededor de 5.5) que impidan el crecimiento de bacterias. (HERRERA & MAYEA, 1994).

1.7.3 Aspectos a contar en el estudio de los hongos en laboratorio

Los hongos son capaces de crecer en cualquier medio de cultivo, sin embargo para evitar su contaminación por bacterias, los medios de cultivo deben presentar altas concentraciones de soluto y bajo pH.

1.7.4 Medios de cultivos usados en el aislamiento de hongos

(FRENCH & HEBERT, 1980), manifiestan que los medios de cultivo utilizados habitualmente que se encuentran en el mercado son:

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

AGAR PAPA SACAROSA ACIDIFICADO (APSA). Este medio, que inhibe la multiplicación de las bacterias, es de uso generalizado para el aislamiento de los hongos a partir de tejidos enfermos. Si se reduce a la mitad la cantidad de azúcar, generalmente se produce un crecimiento más ralo y fácil de observar, y una esporulación más rápida, factores que facilitan la identificación de hongos.

La temperatura habitual de incubación de los hongos es entre 25 y 28 °C.

1.8 PASOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LOS HONGOS FITOPATÓGENOS.

1.8.1 Observaciones de hongos.

Para la observación de hongos fitopatógenos se emplean diversas técnicas de preparación de las muestras. Su selección depende de la detección de estructuras tales como: trozas de micelio, conidios, cuerpos fructíferos (picnidios, peritecas,

acérvulos, etc.). En estos casos con un simple raspado de la superficie afectada puede tomarse material para la observación microscópica. Para esta preparación debemos auxiliarnos de instrumentales especializados como pinzas, agujas, escalpelos, etc. (HERRERA & MAYEA, 1994).

En los hongos imperfectos y en los ascomicetos que existen principalmente en su fase imperfecta, las características que deben determinarse para que el hongo pueda ser identificado son: la forma del **conidióforo** (hifa que produce el conidio), las características conidiales, la disposición de los conidióforos y la forma en que se disponen los conidios sobre estos últimos (AGRIOS, 1999)

Cuando no se observa ningún tipo de estructuras sobre la superficie de las partes afectadas deben procederse a la realización de preparaciones del tejido para localizar en el interior de estos el agente causal. Para ello se dispone de varios métodos a seguir según las características del tejido de la planta hospedante y que puede ser: cortes histológicos, disgregación de tejidos, extracción de estructuras de parásitos, etc. (HERRERA & MAYEA, 1994).

1.8.2 Observaciones microscópicas.

Las primeras observaciones que se deben realizar en el estudio de la sintomatología pueden llevarse a cabo mediante el empleo de lentes de aumentos comprendido entre 5 y 30x, ya sea manuales o de soporte para determinar las características macroscópicas de los síntomas, en especial lo referente a configuración, coloración, presencia de cuerpo o estructura del posible organismo patógeno, etc. Es también aconsejable la observación por microscopio binocular dotado de iluminación, superiores a los lentes y lupas. En estas observaciones se pueden determinar la presencia de cueros fructíferos (en el caso de los hongos), como son picnidios, peritecas, acérvulos, etc. Además de los micelios, conidios y otras formas. Con frecuencia no se observa ningún tipo de estructura que permita dar un indicio sobre la etiología de la enfermedad, por lo que llegado a este punto el especialista debe discernir según los datos obtenidos y por su propia experiencia, que vía debe continuar, definiendo qué tipo de determinaciones de

laboratorio debe realizarse. Para ello hay que tener en cuenta la posible naturaleza del agente causal. (HERRERA & MAYEA, 1994).

1.9 CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS SEGÚN AGRIOS.

Los hongos que producen enfermedades en las plantas constituyen un grupo diverso y, debido a su abundancia y diversidad, aquí solo se presentaran una clasificación superficial de algunos de los géneros fitopatógenos más importantes. Los hongos pertenecen al reino *Mycetae* (Fungí).

1.9.1 Hongos superiores

Clase: FUNGI IMPERFECTI O DEUTEROMYCETES (hongos asexuales). Carecen de estructuras o reproducción sexuales o no se sabe que las presenten.

- **Orden:** Sphaeropsidales. Las esporas asexuales se forman en picnidios.
- **Géneros:** *Ascochyta*. *A. pisi* produce el tizón del tallo de la frambuesa.
 - *Cytospora* ocasiona el cáncer del durazno y otros árboles. (Valsa representa su etapa sexual).
 - *Phoma*. *P. lingam* ocasiona la pierna negra de las crucíferas.
 - *Phomopsis* produce al tizón y el cáncer del tallo de varios árboles.
 - *Phyllosticta* produce las manchas foliares de muchas plantas.
 - *Septoria*. *S. apti* produce el tizón tardío del apio.
- **Orden:** Melanconiales. Las esporas asexuales se forman en un acèrvulo.
- **Géneros:** *Colletotrichum* ocasiona la antracnosis de muchas plantas de cultivo.
 - *Coryneum*: *C. beijerincki* produce el tizón de los frutos de hueso.
 - *Cylindrosporium* produce manchas foliares en muchas clases de plantas.
 - *Gloeosporium* muy parecido (si no idéntico) a *Colletotrichum*; produce antracnosis en muchas plantas.
 - *Marssonina* ocasiona el tizón de las y hojas del álamo, la quemadura de las hojas de fresa y la antracnosis de los nogales.
 - *Melanconium*. *M. fuligenum* produce la pudrición amarga de la vid.

- *Sphaceloma* produce la antracnosis de la vid y de la frambuesa y la sarna de los cítricos del aguacate.
- **Orden:** Moniliales. Las esporas asexuales se forman sobre las hifas (o en su interior) del hongo que se encuentran expuestas libremente a la atmósfera.
- **Géneros:** *Alternaria* produce manchas foliares y tizones en muchas plantas.
 - *Aspergillus* produce la pudrición de las semillas almacenadas.
 - *Botrytis*. *B. cinerea* produce el moho gris y los tizones de muchas plantas.
 - *Cercospora*; una especie de este género produce el tizón temprano del apio.
 - *Cladosporium*. *C. fulvum* produce el moho de las hojas del tomate.
 - *Fusarium* produce el marchitamiento y la pudrición de la raíz de muchas plantas anuales, así como el cáncer de árboles forestales.
 - *Fusicladium* produce la roña de la manzana (*venturia* representa su etapa sexual).
 - *Graphium*. *G. ulmi* produce la enfermedad del olmo holandés (*Ceratocystis* representa su etapa sexual).
 - *Helminthosporium* produce el tizón de los cereales y enfermedades de los céspedes.
 - *Penicillium* produce la pudrición de los frutos y otros órganos carnosos debido a los mohos azules.
 - *Phymatotrichum*. *P. omnivorum* produce la pudrición de la raíz del algodón y otras plantas.
 - *Pyricularia* produce el tizón del arroz y la mancha gris foliar de los céspedes.
 - *Strumella* produce el cáncer del roble.
 - *Thielaviopsis*. *T. basicola* produce la pudrición negra de la raíz del tabaco.
 - *Verticillium* produce la marchitez de muchas plantas anuales y perennes.

- **Orden:** Mycelia Sterilla. No se ha observado o es muy poco frecuente la formación de esporas asexuales o sexuales en este grupo de hongos.
- **Géneros:** *Rhizoctonia* produce las pudriciones de la raíz de la corona de las plantas anuales y mancha parda de los céspedes (su etapa perfecta corresponde a *Thanatephorus*).
 - *Sclerotium* produce las pudriciones de la raíz y del tallo de muchas plantas (su etapa perfecta corresponde a *Pellicularia*).

1.9.2 Estructuras Reproductivas de los hongos superiores.

Estructuras representativas de la Clase Ascomycetes: La clase ascomycetes se caracteriza por poseer micelio tabicado y producir esporas de origen sexual denominadas Ascosporas. Estas ascosporas se producen dentro de sacos llamados ascas. Las ascas pueden encontrarse en forma libre o contenida en cuerpos fructíferos. Los cuerpos fructíferos pueden ser de dos tipos: Apotecios y Cleistotecios.

Estructuras representativas de la Clase Basidiomycetes: La clase basidiomycetes se caracteriza por tener micelio tabicado y reproducirse sexualmente mediante la producción de basidiosporas. Estas son producidas exógenamente sobre una estructura llamada basidio. Los basidios pueden ser septados o no.

Estructuras representativas de la Clase Deuteromycetes: Esta Clase incluye a los hongos superiores (micelio tabicado) a los que no se les conoce la reproducción sexual. En algunos casos por no tener reproducción sexual, o si la tienen esta se produce rara vez, o simplemente porque no se le conoce aún. Estos hongos se reproducen de forma asexual formando esporas denominadas conidios. Estos conidios pueden producirse en forma libre o dentro de cuerpos fructíferos. Los conidios pueden tener diferentes formas y tamaños. Pueden ser hialinos u oscuros. Pueden ser unicelulares o multicelulares. Pueden estar sueltos o agrupados en ramilletes o cadenas.

CAPITULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR DE INVESTIGACIÓN

2.1.1 Ubicación

La presente investigación se realizó en la Universidad Técnica de Cotopaxi, ubicada en:

Tabla 4. Ubicación de la investigación.

PROVINCIA	Cotopaxi
CANTÓN	Latacunga
PARROQUIA	Eloy Alfaro
SECTOR	Salache la Universidad
ALTITUD	2725 m.s.n.m.
LATITUD	00°59'57"S
LONGITUD	78°37'14"W

FUENTE: GPS eTrex H

2.1.2 Características meteorológicas

Tabla 5. Características meteorológicas de la investigación.

Temperatura promedio anual	14°C
Precipitación promedio anual	719.2mm
Humedad relativa promedio	75%

FUENTE: Anuario Meteorológico Nro. 51-2011. INAMHI (2014).

2.2 MATERIALES

Los equipos, herramientas e insumos utilizados en la presente investigación se detallan a continuación:

2.2.1 Institucionales

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

2.2.2 Recursos humanos

- Autor: Sr. Cristian Paul Yauli Llumiquinga
- Director de tesis: Ing. Mg. Emerson Jácome
- Miembros del tribunal:
 - Ing. Paolo Chasi
 - Ing. Santiago Jiménez
 - Ing. Edwin Chancusig

2.2.3 Materiales de laboratorio

- EQUIPOS
 - Autoclave semiautomática Tuttnauer M2540
 - Cámara de flujo laminar aura mini con base

- Incubadora memmert IN110
- Balanza de precisión MF238
- Estufa de 1 quemador hometech
- Microscopio Trinocular Olympus CX31
- Estereoscopio
- Refrigerador R1-425 QUARZO INDURAMA
- Microondas

- MATERIAL DE LABORATORIO

- Mechero
- Pizeta
- Aguja de disección
- Asa de siembra
- Cajas Petri
- Reporteros plásticos con tapa
- Papel aluminio
- Parafilm de laboratorio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Vaso de precipitación de 50-100-500-1000 ml
- Erlenmeyer de 500-1000ml
- Algodón
- Tarrinas de ½ litro transparente
- Cinta adhesiva transparente de 1,5 cm de ancho
- Pinzas
- Tijeras con punta

- REACTIVOS

- Agua destilada
- Agar
- Dextrosa o sacarosa
- Alcohol antiséptico

2.2.4 Materiales de campo

- Muestra de hojas de zanahoria (*Daucus carota L.*)
- Tijeras
- Papel absorbente
- Fundas de papel
- Fundas plásticas ziploc
- Bisturí
- Cámara fotográfica
- GPS
- Libro de campo

2.3 DISEÑO METODOLÓGICO

La investigación es de diseño no experimental pues no se manipulan deliberadamente variables, es decir, no se harán variar intencionalmente las variables independientes. Lo que se hará es observar el fenómeno tal y como se da en su contexto para después analizarlo (FERRER, 2010).

Para esta investigación se describe las caracterizaciones morfológicas de las macro y micro estructuras del principal hongo fitopatógeno que afecta al cultivo de zanahoria (*Daucus carota L.*), en base a imágenes obtenidas, con la ayuda del microscopio y la cámara científica que coinciden con la descripción de la bibliografía ya existente, en las cuales se pueden visualizar sus estructuras predominantes.

2.4 MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.4.1 Método

Descriptivo.- Describen los hechos como son observados, su preocupación primordial radica en describir algunas características fundamentales de conjuntos homogéneos de fenómenos, utilizando criterios sistemáticos que permitan poner de manifiesto su estructura o comportamiento. De esta forma se pueden obtener las notas que caracterizan a la realidad estudiada (FERRER, 2010).

Analítico.- Se distinguen los elementos de un fenómeno y se procede a revisar ordenadamente cada uno de ellos por separado. Consiste en la extracción de las partes de un todo, con el objeto de estudiarlas y examinarlas por separado, para ver, por ejemplo las relaciones entre las mismas (FERRER, 2010).

Comparativo.- Es un procedimiento de búsqueda sistemática de similitudes con el objeto de estudiar su parentesco (FERRER, 2010).

Se analizó el hongo fitopatógeno de mayor impacto en la producción de zanahoria y se describió las macro y micro estructuras del hongo fitopatógeno según lo observado, adicionalmente se usó el método comparativo ya que se planteó una comparación entre lo observado y lo existente en la bibliografía.

2.4.2 Técnicas

Observación científica.- Es una técnica que consiste en observar atentamente el fenómeno, hecho o caso, tomar información y registrarla para su posterior análisis. La observación es un elemento fundamental de todo proceso investigativo; en ella se apoya el investigador para obtener el mayor número de datos. Observar científicamente significa observar con un objetivo claro, definido y preciso: el investigador sabe qué es lo que desea observar y para qué quiere hacerlo, lo cual implica que debe preparar cuidadosamente la observación (FERRER, 2010).

Fichaje.- Técnicas empleada en investigación científica; consiste en registrar los datos que se van obteniendo, las cuales, debidamente elaboradas y ordenadas contienen la mayor parte de la información que se recopila en una investigación por lo cual constituye un valioso auxiliar, al ahorrar mucho tiempo, espacio y dinero (FERRER, 2010).

La observación científica permitió conocer cómo son y cómo se presentan los signos y síntomas del hongo fitopatógeno en campo para poder recolectarlas en muestras y trasladarlas al laboratorio, además permitió caracterizar las macro y micro estructuras del hongo fitopatógeno en laboratorio. Con el fichaje se realizó

en una tabla del ciclo de vida del hongo y la guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo en estudio.

2.5 MÉTODOLOGIA

Metodología cualitativa: Es una investigación que se basa en el análisis subjetivo e individual, esto la hace una investigación interpretativa, referida a lo particular (FERRER, 2010).

La presente investigación se realizó en dos fases: una en campo y la otra en laboratorio. La primera fase o fase de campo se realizó en la Parroquia San Buenaventura, Cantón Latacunga, Provincia Cotopaxi; y la segunda fase de laboratorio se llevó a cabo en la carrera de Ingeniería agronómica de la Universidad Técnica de Cotopaxi, ubicada en la Parroquia Eloy Alfaro, Cantón Latacunga, Provincia Cotopaxi.

2.5.1 Metodología en la fase de campo

2.5.1.1 Diagnóstico del cultivo

Para llevar a cabo el diagnóstico del cultivo se siguió la secuencia propuesta por Rubert Streets (1972).

Identificar la planta hospedante: en mi caso fue el cultivo de zanahoria (*Daucus carota L.*).

Síntomas en campo: para este paso nos basamos en la información bibliográfica recopilada en esta investigación.

Condiciones de cultivo: el cultivo tiene alrededor de 1 hectárea de extensión, actualmente tiene 4 meses de edad, la frecuencia de riego lo realiza cada 8 o 15 días dependiendo de las condiciones climáticas como presencia o ausencia de precipitaciones, en cuanto a la fertilización lo ha realizado con abono completo 4 qq/Hectárea, a los 15 días después de la germinación ha realizado la primera deshierba.



Grafico 2. Cultivo de zanahoria.

FUENTE: Cristian Yauli.

Síntomas en detalle: en hojas bajas se pudo observar lesiones irregulares de color café oscuro a negro en hojas y peciolo, en hojas jóvenes presentan manchas que están rodeadas de un margen irregular de color amarillo.



Grafico 3. A. Síntomas de *A. dauci* en hoja de zanahoria

FUENTE: Cristian Yauli.

2.5.1.2 Recolección de muestras

Se recolectaron muestras de hojas de zanahoria infectadas por la “Quemadura de la hoja”, en el predio que se realizó el diagnóstico, mismas que presentaron lesiones típicas, (ver Gráfico N° 3). Para la recolección se utilizaron fundas plásticas ziploc, y fue llevado de inmediato al laboratorio para realizar la observación directa y posteriormente su descripción.



Grafico 4. Hoja de zanahoria infectada por la Quemadura de la hoja.

FUENTE: Cristian Yauli.

2.5.2 Metodología en la fase de laboratorio

2.5.2.1 Observación directa

En el laboratorio, se realizó la observación con una lupa; para establecer la presencia de signos sobre las hojas infectadas y así realizar la descripción.

2.5.2.2 Cámara húmeda

Una vez realizada la observación se procedió a realizar la cámara húmeda; para lo cual se utilizaron muestra de folíolos lesionados por la “quemadura de la hoja”, estos fueron desinfectados por inmersión en hipoclorito de sodio al 20% durante 45 segundos, con el propósito de eliminar o reducir notablemente los contaminantes de la superficie e inmediatamente fueron enjuagadas con agua

destilada por tres veces, para eliminar residuos de desinfectante que pudieran interferir con el desarrollo del patógeno (AGRIOS, 2007).

La muestra fue colocada en la cámara húmeda previamente esterilizada, se colocó algodón empapado con agua destilada, para generar humedad, de esta manera se hizo la cámara húmeda como se puede apreciar en el grafico N° 4. Finalmente se procedió a sellarla y dejarla incubar a temperatura ambiente en un lugar con iluminación limitada (FRENCH & HEBERT, 1980).



Grafico 5. Cámara húmeda.

FUENTE: Cristian Yauli.

2.5.2.3 Aislamiento del tejido vegetal enfermo

El aislamiento se realizó en cajas Petri que contenían el medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA), mediante el siguiente procedimiento:

En la cámara de flujo laminar, previamente desinfectada, se ubicó una lámpara de alcohol, pinzas, bisturí, cintas de parafilm, cajas Petri con medio de cultivo, gasa, Erlenmeyer con clorox al 20%, Erlenmeyer con agua destilada y material vegetal con lesiones. Se procedió a separar material vegetal con las lesiones, se cortó y descartó las partes del material vegetal que no fue utilizado para el aislamiento. Se seleccionó varios cortes pequeños de 5 a 10 mm² a partir del borde de la lesión infectada, estos cortes contenían tejidos enfermos y tejidos al parecer sanos, estos

cortes se colocaron en la gasa para posteriormente realizar la desinfección superficial para lo cual se sumergió en clorox al 20% durante 45 segundos, seguidamente se enjuagaron en agua destilada por tres veces con intervalos de 10 a 15 segundos.

A continuación se “sembraron” cuatro submuestras espaciadas sobre la superficie del medio de cultivo PDA, previamente solidificado en la caja petri. Se sellaron las cajas petri con parafilm, se rotularon y se procedió a incubar a 24°C durante 10 días, hasta observar el desarrollo de las colonias del hongo.

2.5.2.4 Purificación

Con el propósito de separar al hongo de ciertas bacterias contaminantes se realizó la purificación para lo cual se utilizó la técnica de cultivos de punta de hifa propuesta por (FRENCH & HEBERT, 1980); en la que indica que se selecciona las mejores colonias, en base a las características macroscópicas como el color, esporulación, forma del micelio; y microscópicas como la forma de las conidias.

Para la purificación del hongo, en la cámara de flujo laminar previamente desinfectada, se colocaron las cajas petri seleccionadas con medio (PDA), cuatro cajas petri con (PDA + Ácido cítrico al 2%), esterilizados y sellados con parafilm, un mechero de alcohol, un aza de platino. Con el aza de platino, desinfectado y flameado, se tomó una sección de la colonia de hongo desarrollado en la caja petri con medio PDA y se sembró en la caja petri que contenía PDA + Ácido cítrico al 2%), cada caja se sellaron con cinta de parafilm y se procedió a incubar a 23°C durante 7 días y posteriormente a temperatura ambiente.

2.5.2.5 Identificación

Para la identificación del hongo se realizaron observaciones microscópicas para lo cual se utilizó la técnica de cinta pegante de la siguiente manera: en el cubreobjetos colocamos una gota de agua, cortamos un fragmento de cinta adhesiva, esterilizamos la punta de aza micológica y dejamos enfriar, posteriormente adherimos a la aza micológica la cinta adhesiva transparente, en condiciones asépticas abrimos la placa con el cultivo, presionamos ligeramente el

micelio con la parte adhesiva de la cinta y colocamos la muestra sobre la gota de agua y utilizamos una pinza para extender la cinta, finalmente colocamos la preparación sobre el microscopio y observamos con una aumento de 40x, posteriormente observamos los detalles de las estructuras con el objetivo de 100x.

En base a la información recopilada durante el proceso de investigación bibliográfica y el diagnóstico del cultivo se procedió a realizar comparaciones fotográficas y confrontaciones con las descripciones reportadas por los autores en la literatura sobre las características macro y microscópicas para identificar al hongo fitopatógeno para lo cual también se utilizó claves taxonómicas, la literatura que se utilizó fue:

- ASTURNATURA, 2015
- COLOMBO M, 2002.
- HERRERA, *et al.* 1990
- KONSTANTINOVA, 2002
- MCKENZIE, 2013
- NEERGAARD, 1945
- PEÑA, 2007
- PLANTPRO, 2015
- SERDANI, 2002
- TERRANOVA, 1995
- <http://www.padil.gov.au/maf-border/pest/main/142987/50833>
- http://www.plantprotection.hu/modulok/spanyol/root_veg/alternaria_root.htm
- <http://www.mycobank.org/>
- <http://microbiology.mtsinai.on.ca/mig/defungi/demfig39.shtml>

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 DETERMINACIÓN DEL HONGO FITOPATÓGENO DE MAYOR IMPORTANCIA EN LA PRODUCCIÓN DE ZANAHORIA (*Daucus carota L.*).

En Ecuador se ha observado una disminución en la superficie cultivada de zanahoria, debido a que sus costos de producción son elevados dejando un bajo margen de ganancia. Los problemas sanitarios en la zanahoria se deben a la falta de rotación del cultivo, pérdida de fertilidad del suelo y el inadecuado uso de agroquímicos. Esto a su vez se ve reflejado en la disminución en la producción y baja calidad de la zanahoria debido a la incidencia de enfermedades. (FALCONÍ, 2014).

La superficie cultivada de zanahoria en el país es de alrededor de 5000 hectáreas, de las cuales 581 hectáreas se siembran en Cotopaxi, con una producción total de 4,980 toneladas y un rendimiento de 8.57 toneladas por hectáreas, de acuerdo a los datos proporcionados por (AGRONEGOCIOSECUADOR, 2015).

Según la investigación bibliográfica realizada el hongo fitopatógeno de importancia económica en la producción de zanahoria es la enfermedad conocida como “Tizón o Quemazón de la hoja”, provocado por *Alternaria dauci* Kühn, el cual puede infectar otras umbelíferas en condiciones naturales. (RICHARDSON, 1990).

Tizón de la hoja de zanahoria (*Daucus carota L.*), causada por *Alternaria dauci*, es una de las enfermedades foliares más perjudiciales de la zanahoria en todo el mundo. Es responsable de daños ocasionados por hongos económicamente significativos en todas las zonas de cultivo de zanahoria. Las pérdidas causadas por *Alternaria dauci* pueden alcanzar 40-99% (VINTAL, BEN-NOON, SHLEVIN, YIRMEYAHU, SHTIENBERG, & DINOOR, 1999), y esto es corroborado por (BEN-NOON, SHTIENBERG, SHLEVIN, VINTAL, & DINOOR, 2001).

Esta es la enfermedad foliar más importante en la zanahoria y las pérdidas suelen ser muy fuertes sin el adecuado control, debido a que puede desfoliar por completo a las hojas, la enfermedad puede extenderse a la raíz provocando una pudrición radicular superficial, el ataque de *Alternaria* mal controlada puede reducir entre 40 a 60 % en el rendimiento del cultivo o incluso causar la pérdida total de la cosecha. (PAYÁN, 1995).

3.2 IDENTIFICACIÓN DE SIGNOS Y SÍNTOMAS DEL HONGO TIZÓN DE LA HOJA (*Alternaria dauci*) EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA (*Daucus carota L.*).

3.2.1 Síntomas

Los síntomas foliares aparecen de 8-10 días después de la infección, como lesiones con formas irregulares que van desde el marrón oscuro hasta el negro en los filos de las hojas y peciolo. Las manchas están rodeadas de un margen amarillo y a menudo comienza en las hojas más viejas. (PLANTPRO, 2015)

Las lesiones de tizón de la hoja (*Alternaria dauci*) son pequeñas y se encuentran comúnmente en los márgenes y las puntas de los folíolos de zanahoria. Las lesiones son irregulares en forma y tamaño, de color marrón oscuro a negro. En condiciones favorables, las lesiones se vuelven numerosas y continuará expandiéndose hasta que finalmente se fusionan dando un aspecto (quemado) deteriorando el tejido de la hoja. Eventualmente, el foliolo puede marchitarse y morir. Las lesiones grandes también pueden desarrollar en los pecíolos y pueden rodear y matar a las hojas. (VINTAL, BEN-NOON, SHLEVIN, YIRMEYAHU, SHTIENBERG, & DINOOR, 1999).



Grafico 6. Sintoma de *Alternaria dauci*.

FUENTE: *Alternaria dauci*, with insert showing leaf lesions. Gugino, et al. (2004).

En el tubérculo las lesiones son irregulares van desde el marrón oscuro al negro y aparecen como un área de pudrición superficial firme. (PLANTPRO, 2015)



Grafico 7. Sintoma de *Alternaria dauci* en tuberculo.

FUENTE: Tay & Sepulveda (2011).

En el Sector San Buenaventura los síntomas presentados por Tizón o Quemazón de la hoja causado por *Alternaria dauci* principalmente en hojas bajas se pudo observar lesiones irregulares de color café oscuro a negro en hojas y peciolo, en hojas jóvenes presentan manchas que están rodeadas de un margen irregular de color amarillo.



Grafico 8. A. Síntomas de *A. dauci* en hoja de zanahoria

Fuente: Cristian Yauli.

3.2.2 Signos

Las hifas de los hongos de *A. dauci* son desde hialino, marrón hasta marrón oscuro con la edad, y los septos. Las conidias aparecen típicamente aparecen de color gris oscuro con micelio esponjado. Los conidióforos son marrón oscuro, septos y no ramificados, 30-100 μm de largo. (PLANTPRO, 2015).

Para observar los signos de *A. dauci* se realizó en el laboratorio la cámara húmeda ya que en el campo no tuvimos presencia de signo de la enfermedad. En la que observamos micelio esponjado.



En malta agar o PDA, las conidias típicamente aparecen de color gris oscuro con micelio esponjado. En algunos casos se produce un distintivo pigmento púrpura de la colonia rodeando al medio. (KONSTANTINOVA, 2002).

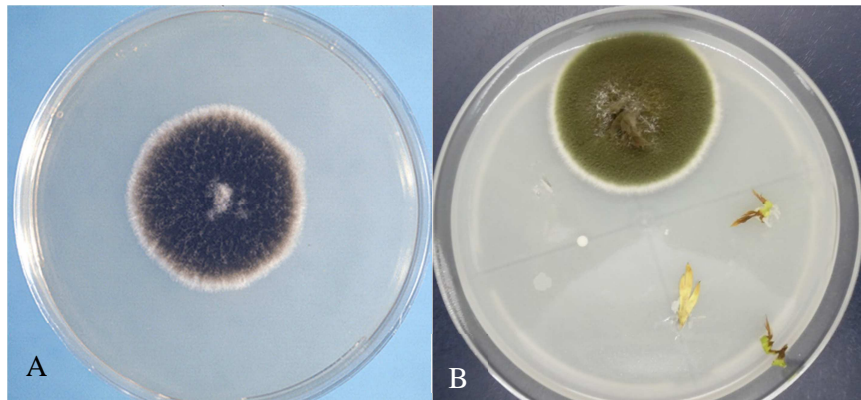


Grafico 9. Signos de *A. dauci*. en medio de cultivo PDA.

FUENTE: A. Konstantinova (2002).

FUENTE: B. Cristian Yauli. (2015).

3.3 CARACTERIZACIÓN DE MACRO Y MICRO ESTRUCTURAS DEL PATÓGENO.

Tabla 6. Caracterización de macro y micro estructuras.

Variable Independiente	Variable dependiente	Indicador	Indice	Técnicas	Instrumento
<i>Alternaria dauci</i>	Caracterización morfológica del hongo fitopatógeno en el cultivo de zanahoria.	Talo	Tipo	Observación	Microscopio
		Reproducción	Tipo		
		Esporas	Tipo		
		Micelio	Tipo		

FUENTE: Cristian Yauli.

3.4 OBSERVACIÓN DEL HONGO EN EL MICROSCOPIO

3.4.1 Talo

En el gráfico 5 se puede apreciar el talo de *Alternaria dauci*. Obtenido en laboratorio en medio de cultivo PDA. La imagen fue obtenida con la ayuda de un Microscopio Trinocular CX31 con lente de 20x, en campo oscuro Ph1.

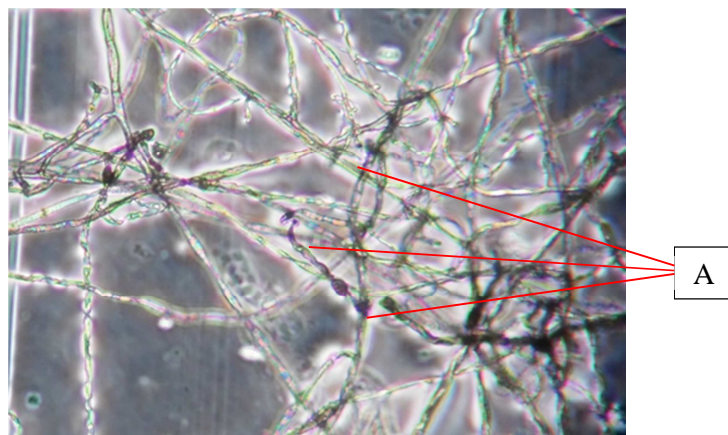


Grafico 10. A. Talo de *A. dauci*.

FUENTE: Cristian Yauli.

En malta agar o PDA, las colonias típicamente aparecen de color gris oscuro con el micelio esponjado. En algunos casos se produce un distintivo pigmento púrpura de la colonia rodeando al medio, tal como se obtuvo en el laboratorio y se ratifica lo dicho por (KONSTANTINOVA, 2002). Esto es corroborado por (PLANTPRO, 2015), en la cual menciona que las hifas de los hongos son desde hialino, marrón hasta marrón oscuro con la edad y presenta septos.

3.4.2 *Micelio*

En el gráfico 6 se puede apreciar el micelio de *Alternaria dauci*, obtenida en laboratorio en medio PDA. La imagen fue obtenida con la ayuda de un Microscopio trinocular CX31, con el lente de 100x.

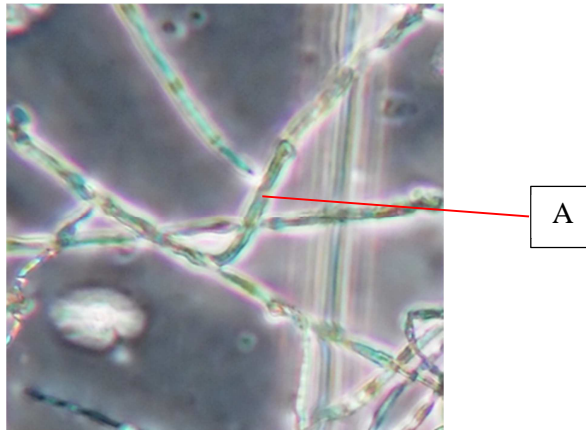


Gráfico 11. A. Micelio septado de *A. dauci*.

FUENTE: Cristian Yauli.

Alternaria sp. Tiene un micelio de color oscuro y en los tejidos viejos infectados produce conidióforos cortos, simples y erectos que dan origen a cadenas simples o ramificadas de conidios como lo obtuvimos en laboratorio y concuerda lo dicho por (KONSTANTINOVA, 2002). Las hifas de los hongos de *A. dauci* son desde hialino, marrón hasta marrón oscuro con la edad, y los septos, ratificado por (PLANTPRO, 2015).

3.4.3 Conidióforo

En el grafico 7 se puede apreciar el conidióforo de *Alternaria dauci*, obtenida en laboratorio en medio PDA. La imagen fue obtenida con la ayuda de un Microscopio trinocular CX31, con el lente de 100x.

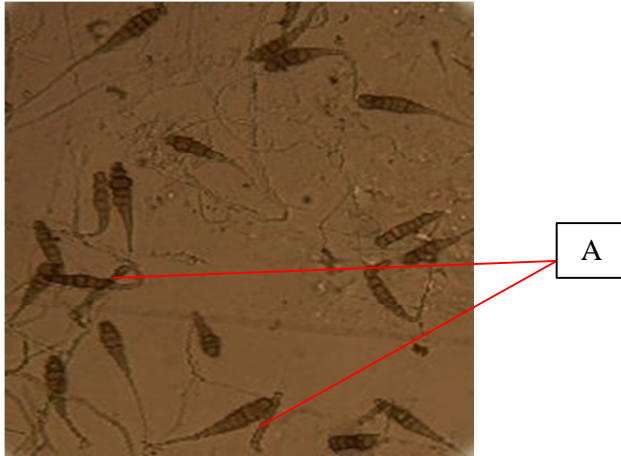


Grafico 12. A. Conidióforo de *A. dauci*.

FUENTE: Cristian Yauli.

Los conidióforos de *A. dauci* son marrón oscuro, septos y no ramificados. Los conidióforos son color café-olivo (6-10 x 30-100 μm) solos o en pequeños grupos; son rectos, con un solo sitio conidiógeno terminal o algunas veces geniculadas con 2 ò 3 sitios conidiógenos, concuerda como lo dicho por (KONSTANTINOVA, 2002).

Los Conidióforos son marrón oscuro, con septos y no ramificados, de 30-100 μm de largo. (PLANTPRO, 2015).

3.4.4 Conidio

En el grafico 8 se puede apreciar las conidias de *Alternaria dauci*, obtenida en laboratorio en medio PDA. La imagen fue obtenida con la ayuda de un Microscopio trinocular CX31, con el lente de 100x.

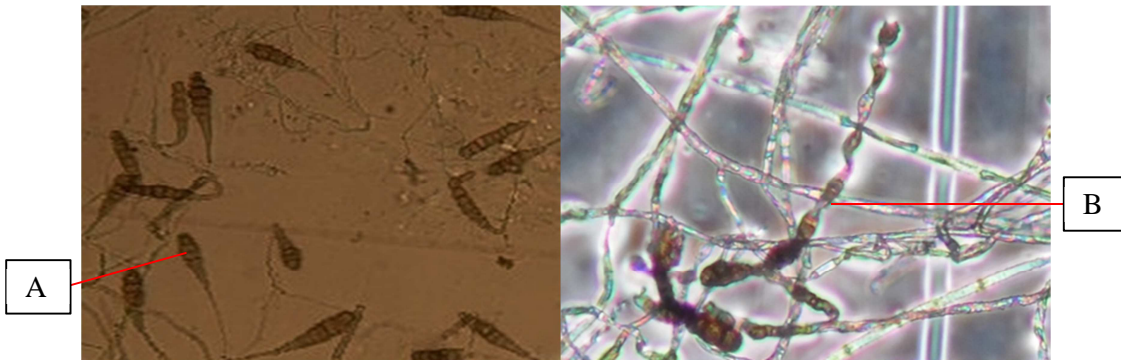


Grafico 13. A. Conidios solitarios de *A. dauci*. B. Conidios en cadena de *A. dauci*.

FUENTE: Cristian Yauli.

Los conidios de *Alternaria dauci* tienen septos transversales y longitudinales y se los conoce como dictiosporas, además son pardos y picudos. Nacen por la brotación apical de una célula conidiógena o de la espora anterior, dando lugar en este último caso a una cadena que puede ramificarse si una espora produce más de un brote como se obtuvo en laboratorio ratificado lo dicho por (AGRIOS, 1999).

Las especies de este grupo forman conidias solitarias con grandes picos o proyecciones filamentosas. Rara vez se desarrollan en cadenas de 2 o 3 conidias (ROBERT, STEGEHUIS, & STALPERS, 2005).



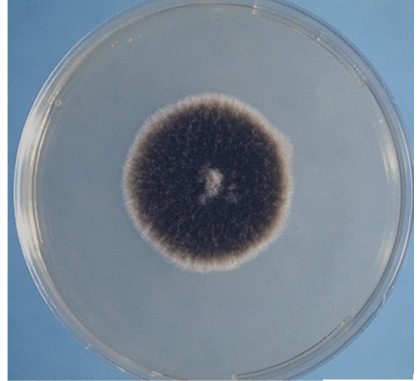
El Conidio de la *Alternaria dauci* posee de 1-3 septos a lo largo, medido por 150 x 15-25 μm , sola o muy raramente en cadena, con un pico terminal filamentosos tres veces el largo del cuerpo de la conidia; de color café-olivo. (KONSTANTINOVA, 2002).

3.4.5 Reproducción

Los hongos imperfectos se reproducen por medio de unas esporas especiales llamadas conidios; se trata de esporas asexuales, no flageladas, que se forman en el ápice o en los laterales de una célula esporógena. Son catenulados si se forman en cadenas, llamándose artrospora a cada eslabón de la cadena. (ASTURNATURA, 2015). La reproducción de la *Alternaria dauci* es de forma asexual por medio de conidios (AGRIOS, 1999) y (KONSTANTINOVA, 2002).

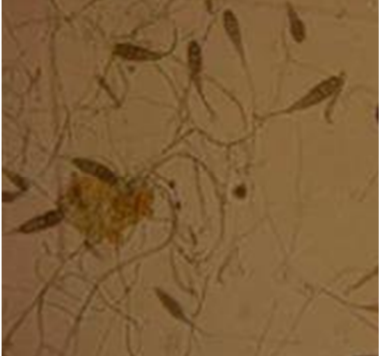

3.5 DESCRIPCIÓN DEL CICLO DE VIDA DEL PATÓGENO EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

Tabla 7. Ciclo de vida del patógeno.

Actividad	Tiempo	°C	Fotografía
Siembra del hongo	15 min.	23°C	
Producción de micelio	24 h	23°C	
Formación de micelio purificado	36 h	23°C	

Continua

Continua

Formación de conidióforo	48 h	23°C	
Formación de conidias	48h	23°C	

Fuente: Cristian Yauli.

3.6 GUÍA DIDÁCTICA.

La guía didáctica se encuentra detallada en el (Anexo 1).

CONCLUSIONES

- De acuerdo a investigación bibliográfica realizada el porcentaje de pérdidas ocasionado por la quemadura o tizón de la hoja de zanahoria se sitúa entre 40 y 99% en el rendimiento del cultivo de esta manera se determinó que la *Alternaria dauci* es el agente causal de importancia económica en la producción de la zanahoria.
- Se determina los signos de la quemadura o tizón de la hoja de zanahoria formando conidias que aparecen típicamente de color gris oscuro con micelio esponjado y los síntomas constituyen lesiones con formas irregulares que van desde el marrón oscuro hasta el negro en los filos de las hojas y peciolas, las manchas están rodeadas de un margen amarillo y a menudo comienza en las hojas más viejas. En el tubérculo las lesiones son irregulares van desde el marrón oscuro al negro y aparecen como un área de pudrición superficial firme. Luego del análisis de muestras tomadas en campo y comparándolas con la literatura que lo describe corresponde a (*Alternaria dauci*).
- Utilizando protocolos de laboratorio se pudo aislar, purificar y reproducir el hongo y mediante comparaciones bibliográficas se pudo caracterizar macro (micelio) y micro (hifa, conidióforo y conidio) estructuras del patógeno (*Alternaria dauci*).
- Bajo condiciones controladas en laboratorio y con la ayuda de una incubadora a una temperatura de 23 °C (*Alternaria dauci*) completo su ciclo de vida en 48 horas, permitiendo documentar y describir el avance del desarrollo de cada macro (micelio) y microestructura (hifa, conidióforo y conidio) del hongo en estudio.
- Los datos obtenidos en la investigación se sintetizaron en una guía didáctica, detallando la caracterización morfológica de (*Alternaria dauci*).

RECOMENDACIONES

- Para caracterizar macro (micelio) y micro (hifa, conidio, conidióforo) estructuras es de mucha importancia investigar sobre claves taxonómicas actualizadas que permitan dar con el agente causal en estudio.
- Se recomienda tener mucho cuidado con los protocolos de asepsia en laboratorio para evitar la contaminación y poder identificar el hongo en estudio.
- Los resultados obtenidos en la presente 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.
- Cuando se cultiva *Alternaria* en un medio no estandarizado y sin control de las condiciones de crecimiento, se produce un crecimiento excesivo de micelio aéreo que impide observar el patrón de esporulación.
- Se recomienda continuar con esta investigación para profundizar más en el estudio del hongo *Alternaria dauci*.

GLOSARIO

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

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

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

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

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

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

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

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

Fitopatógeno. Término que se aplica a los microorganismos que produce enfermedades en las plantas.

Hifa. Ramificación simple de un micelio.

Hongo. Pequeños organismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que contienen quitina, celulosa, o ambos componentes.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

BIBLIOGRAFIA

- AGRIOS, G. (1999). *Fitopatología*. México: LIMUSA.
- AGRIOS, G. (2005). *Plant Pathology*. Nueva York: Academic Press.
- AGRIOS, G. (2007). *Fitopatologia*. Mexico: LIMUSA.
- AGROECUADOR. (2005). *Produccion de zanahoria en el Ecuador*. Recuperado el 5 de Agosto de 2014, de <http://www.agroecuador.com/HTMLangendaInterestcebollazanahoriaCeboIla%20y%20Zanahoria.pdf>
- AGRONEGOCIOSECUADOR. (2015). *Produccion Agricola 2009*. Recuperado el 4 de febrero de 2015, de <http://agronegociosecuador.ning.com/page/produccion-agricola-2009>
- ANDERSEN, B., KROGER, E., & ROBERTS, R. (2001). *Chemical and morphological segregation of Alternaria alternata*. Mycological research.
- ASTURNATURA. (2015). *Caracteristicas Generales de los Hongos*. Recuperado el 6 de Octubre de 2015, de <http://www.asturnatura.com/articulos/hongos/caracteristicas-generales-hongos.php>
- BARAHONA, E. (2003). *Manual de Horticultura*. Quito, Ecuador.
- BAYER. (2014). *Problemas biologicos: Tizón de la hoja de la zanahoria*. Recuperado el 11 de Agosto de 2015, de www.bayercropscience-ca.com
- BEN-NOON, E., SHTIENBERG, D., SHLEVIN, E., VINTAL, H., & DINOOR, A. (2001). *Optimization of chemical suppression of Alternaria dauci, the causal agent of Alternaria leaf blight in carrots*. Israel.: Plant Dis.
- CALZADA, B. (2002). *Frutales nativos*. Lima, Perú: El Estudiante.
- CARRILLO, L. (2009). *Los hongos de los alimentos y forrages*. Quito.

- CASSERES, E. (1966). *Producción de hortalizas*. Lima Perú: Edit. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA.
- CHARLES, V. (2008). *Génesis y evolución de los postulados de Koch y su relación con la fitopatología* (Vol. 26). Medellín, Colombia: Revista "Agronomía Colombiana" de la Universidad Nacional de Colombia.
- COLOMBO, M. (2002). *MANEJO DE ENFERMEDADES EN CULTIVOS PROTEGIDOS DE TOMATE*. Bella Vista. Argentina: INTA EEA.
- FALCONÍ, C. (2014). Control biológico de enfermedades de plantas en Ecuador-control biológico de alternaria en zanahoria. En W. BETTIOL, M. RIVERA, P. MONDINO, J. MANTEALEGRE, & Y. COLMENÁREZ, *Control Biológico de Enfermedades de Plantas en América Latina y el Caribe*.
- FAO. (2009). *Zanahoria Producción y consumo*. Recuperado el 31 de Enero de 2015, de <http://www1.etsia.upm.es/departamentos/botanica/fichasplantas/zanprod.pdf>
- FARRAR, J., PRYOR, B., & DAVIS, R. (2004). *Alternaria enfermedades de la zanahoria*. Plant Diseases.
- FERRER, J. (2010). *Conceptos Básicos de la Metodología de la Investigación*. Recuperado el 25 de Agosto de 2015, de <http://metodologia02.blogspot.com/p/metodos-de-la-investigacion.html>
- FHIA. (2007). *Deterioro poscosecha de las frutas y hortalizas frescas por hongos y bacterias*. Recuperado el 4 de Julio de 2014, de <http://fhia.org.hn/downloads/fhiainfdic2007.pdf>
- FRENCH, E., & HEBERT, T. (1980). *Métodos de investigación fitopatológica*. San José, Costa Rica: IICA.
- GARCÍA, A. (1980). *Patología vegetal práctica*. México: Editorial Limusa.

- GAVIOLA, J. (2013). *Manual de Producción de Zanahoria*. Buenos Aires, Argentina: INTA.
- GUGINO, B., CARROLL, J., CHEN, J., LUDWING, J., & ABAWI, G. (2004). *Carrot Leaf Blight Diseases and their Management in New York*. Recuperado el 12 de Noviembre de 2015, de http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/factsheets/Carrot_Leaf_Blight.pdf
- HERRERA , T., & ULLOA, M. (1990). *El Reino de los Hongos*. Recuperado el 15 de Septiembre de 2015, de <http://www.geocities.ws/hongosgratis/fungi.html>
- HERRERA, L., & MAYEA, S. (1994). *Fitopatología General*. La Habana, Cuba: Felix Varela.
- HOLLE, M., & MONTES, A. (1981). *Hortalizas*. San José de Costa Rica: L.I.C.A.
- IMAR, C. (2010). *Estudio de Mercado de Zanahoria*. Recuperado el 8 de Septiembre de 2015, de <http://es.scribd.com/doc/57464491/Estudio-de-Mercado-de-Zanahoria#scribd>
- INFOAGRO. (2008). *Hortalizas/Cultivo de zanahoria*. Recuperado el 7 de Julio de 2014, de <http://www.infoagro.com/hortalizas/zanahoria.htm>.
- INFOJARDIN. (2005). *Cultivo de zanahoria*. Recuperado el 12 de Julio de 2014, de <http://www.articulos.infojardin.com/hortalizas/2005/cultivo-zanahoria-zanahorias.htm>
- INIAP. (2009). *Sanidad Vegetal: Recomendaciones para la toma de muestras*. Quito, Ecuador.
- KIRSOP, B., & DOYLE, A. (1991). *Maintenance of microorganisms and cultured cells. A manual of laboratory methods*. San Diego - California: Academic Press Inc.

- KONSTANTINOVA, P. (2002). *Development of specific primers for detection and identification of Alternaria spp. in carrot material by PCR and comparison with blotter and planting assays*. Mycological Research.
- LEBOVIC, J., & LEBOVIC, W. (2007). *DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY - MYCOLOGY IMAGE GALLERY*. Recuperado el 9 de Agosto de 2015, de <http://microbiology.mtsinai.on.ca/mig/defungi/demfig39.shtml>
- LOPEZ, A. (1979). *Manejo de Hongos Fitopatogenos*. Mexico: Universidad Autónoma de Chapingo.
- LOPEZ, M. (1994). *Horticultura*. México: Trillas.
- MESSIAEN, C. (1979). *Las Hortalizas*. Editorial Blume S.A.
- NEERGAARD, P. (1945). *Danish species of Alternaria and Stemphylium*. London, UK.: Oxford University Press.
- OJILVIE, L. (1964). *Enfermedades de las hortalizas*. Aeribia Zaragoza España.
- PAYÁN, J. (1995). *Cultivo de Zanahoria* (Vol. 1). Santo Domingo, Republica Dominicana: Centro de Información FDA.
- PLANTPRO. (2015). *Quemadura de la hoja de la zanahoria*. Recuperado el 21 de Mayo de 2015, de www.plantprotection.hu/modulok/spanyol/root_veg/alternaria_root.htm
- POISSONNIER, J., REULET, P., GUERY, B., & TISON, P. (1995). *L'Alternaria of the carotte*. Paris: Infos-Paris.
- RICHARDSON, M. (1990). *An Annotated List of Seed-borne Diseases. 4th ed.* Zurich, Switzerland: International Seed Testing Association.
- ROBERT, V., STEGEHUIS, G., & STALPERS, J. (2005). *The MycoBank engine and related databases*. Recuperado el 8 de Agosto de 2015, de <http://www.mycobank.org/>

- ROMANAZZI, G., NIGRO, F., HIPOLITO, A., DI VENERE, D., & SALERNO, M. (2002). *Effect of pre and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes*. J of Food Science.
- RUBATZKY, V., QUIROS, C., & SIMON, P. (1999). *Carrots and Related Vegetable Umbelliferae*. New York: CABI Publishing.
- SERDANI, M. (2002). *Characterisation of Alternaria species-groups associated with core rot apples in South Africa*. Mycological Research.
- STRANDBERG, J. (1977). *Spore production and dispersal of Alternaria dauci*. Phytopathology.
- TAMARO, D. (1968). *Manual de horticultura*. Espuma: Gili.
- TAY, K., & SEPÚLVEDA, P. (2011). *Alternaria spp., UNA ENFERMEDAD IMPORTANTE EN EL CULTIVO DE LA ZANAHORIA PARA EL ALTO LOA*. Recuperado el 18 de Mayo de 2015, de http://platina.inia.cl/antofagasta/docs/Informativo_7_INIA_Calama.pdf
- TERRANOVA. (1995). *Produccion Agricola 2*. Santa Fe, Colombia: Edición Agropecuaria.
- URBINA, M. (2011). *Fitopatologia general - Enfermedades causadas por hongos*. Esteli.
- VINTAL, H., BEN-NOON, E., SHLEVIN, E., YIRMEYAHU, U., SHTIENBERG, D., & DINOOR, A. (1999). *Influence of rate of soil fertilization on alternaria leaf blight (Alternaria dauci) in carrots*. Israel: Phytoparasitica.

ANEXOS

ANEXO 1. GUÍA DIDÁCTICA DE *Alternaria dauci* EN EL
CULTIVO DE ZANAHORIA (*Daucus carota* L.).



**Universidad
Técnica de
Cotopaxi**

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

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**GUÍA DIDÁCTICA DE LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE
Alternaria dauci EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA (*Daucus carota*).**

Autor: Cristian Paul Yauli Llumiquina

ÍNDICE

Introducción

Fundamentación

Objetivo

Ubicación

Bloque I. Metodología

Bloque II. Resultados

Material de consulta sugerido

Ingeniería
Agronómica

INTRODUCCIÓN:

En el Ecuador los hongos fitopatógenos son culpables de elevadas pérdidas económicas debido a la reducción en el rendimiento del cultivo. El sector San Buenaventura no es la excepción debido a la enfermedades fungosas presentados en el cultivo de zanahoria principalmente causado por *Alternaria dauci* (Kühn) más conocido como Quemazón o Alternariosis, por lo cual en la presente Guía Didáctica se redactan los pasos más prácticos para la reproducción de dicho hongo en condiciones de laboratorio, con el objetivo de aislar, propagar y estudiar el fitopatógeno para poder a futuro recomendar un control adecuado, teniendo muy en claro el ciclo de vida, y la morfología del patógeno.

FUNDAMENTACIÓN:

La zanahoria es una especie originaria del Centro Asiático y del Mediterráneo. Ha sido cultivada y consumida desde antiguo por griegos y romanos. Durante los primeros años de su cultivo, las raíces eran de color violáceo. El cambio de estas a su actual color naranja se debe a las selecciones ocurridas a mediados de 1700 en Holanda. El cultivo de la zanahoria ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años, tanto en superficie, como en producción, ya que se trata de una de las hortalizas más producidas en el mundo. Actualmente Asia es el mayor productor (INFOAGRO, 2008).

En Ecuador la superficie cultivada de zanahoria (*Daucus carota*) es de alrededor de 5000 hectáreas, de la cuales 581 hectáreas se siembran en Cotopaxi, con una producción total de 4,980 toneladas y un rendimiento de 8,571.43 kilogramos por hectáreas (AGRONEGOCIOSECUADOR, 2015).

Los hongos son los organismos más frecuentes como patógenos de plantas. Producen síntomas muy diversos en las diferentes plantas son productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo

filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que tienen quitina, celulosa (AGRIOS, 1999).

El género *Alternaria* se caracteriza por ser un hongo cosmopolita que puede encontrarse en un amplio rango de organismos. Como saprófito causa deterioro de alimentos y produce micotoxinas; como patógeno provoca serios problemas en la agricultura porque reduce el rendimiento de los cultivos y de los productos almacenados. En las plantas cultivadas este patógeno provoca manchas y tizones foliares, ocasionando también, pudriciones de frutos y tubérculos (AGRIOS, 1999).

Los síntomas se presentan primero en forma de pequeñas manchas parduzcas, aureoladas de amarillo y diseminadas por el borde de la hoja. Al aumentar el número de manchas mueren los tejidos intermedios, con lo que deseca el foliolo completo. La planta aparece como quemada por el sol o por un tratamiento mal efectuado. Los ataques severos de la enfermedad cuando la planta es joven pueden producir su muerte y en las adultas tiende a producir putrefacciones radiculares (TERRANOVA, 1995).

La *Alternaria* sobrevive en las semillas y puede pasar el invierno en los residuos de cosechas enfermas dejadas en el campo al igual que en plantas de zanahorias salvajes o semillas de zanahoria. El viento, los insectos, las salpicaduras de agua, la maquinaria agrícola y los agricultores pueden difuminar la espora del hongo (PLANTPRO, 2015).

Una vez detectada la enfermedad se debe realizar aplicaciones químicas al follaje a fin de frenar la evolución de la enfermedad tratando con fungicidas de contacto (TAY & SEPÚLVEDA, 2011).

OBJETIVO:

La presente guía didáctica sobre la caracterización morfológica del hongo *Alternaria dauci* (Kühn) cuya finalidad es complementar los conocimientos y fomentar el autoaprendizaje en el aula.

UBICACIÓN:

Tabla 1. Ubicación del laboratorio.

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

FUENTE: GPS eTrex H.

BLOQUE I. METODOLOGÍA:**TOMA DE MUESTRAS**

Se realizó la toma de la muestra por conveniencia colectando hojas en el cultivo de zanahoria (*Daucus carota*) que presentaban síntomas típicos del ataque del hongo fitopatógeno (*Alternaria dauci* Kühn), recogiendo 5 muestra (foliolos).

Tabla 2. Recolección de muestras.

	<p>En el cultivo de Zanahoria (<i>Daucus carota</i>) ubicado en el sector San buenaventura – Latacunga Provincia de Cotopaxi, a una altura de 2810 msnm, se tomó muestras de la planta que presentaba síntomas característicos de <i>Alternaria dauci</i> (Kühn).</p>
---	---

Continúa

Continua

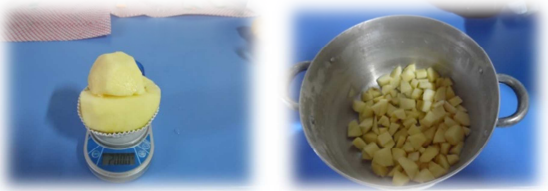
	<p>Se recolecto plantas enfermas, fueron almacenados en fundas ziploc con su respectiva identificación (rotuladas) para luego ser transportados hacia el laboratorio en un tiempo estimado de 45 minutos en vehículo.</p>
	<p>Una vez llegado al laboratorio las muestras tomadas en campo fueron almacenadas en refrigerador a una temperatura entre 6-8°C, con la finalidad de que el patógeno se mantenga vivo teniendo en cuenta de no almacenar por más de 15 días.</p>

FUENTE: Cristian Yauli, 2015.

ELABORACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO




Se elaboró el medio de cultivo PDA (papa – dextrosa - agar), ya que es uno de los medios de mayor uso en los estudios fitopatológicos tiene la infusión de papa como fuente de almidones y la dextrosa son la base para el crecimiento de los hongos con los siguientes pasos:

Tabla 3. Elaboración del medio de cultivo.

	<p>Primero.- pesamos 200 gr. de papa pelada y picamos en cuadritos, ponemos en una olla para cocinarlas por 15 min. con 500 ml. de agua</p>
---	--

Continua

Continua

	<p>Segundo.- colamos la sustancia obtenida para liberar de impurezas, regresamos a fuego lento completando con 500 ml de agua más para compensar lo que se evaporo, procedimos a añadir 15 gr. de agar, 20 gr. de dextrosa y 2 gr. de levadura, y ajustamos el pH a 6.5 con ácido cítrico para evitar la proliferación de bacterias.</p>
	<p>Tercero.- una vez obtenida la solución homogénea procedimos a trasladar a un Erlenmeyer tapamos bien con papel aluminio para evitar que se derrame y autoclavamos a 121 °C por 35 min. y 15 lbs. de presión.</p>
	<p>Cuarto.- una vez obtenido el medio de cultivo esterilizado procedimos a distribuir en cajas petri con mucho cuidado, esperamos entre 5-10 min. para que se gelatinice, por ultimo sellamos con parafilm para evitar contaminaciones.</p>

FUENTE: Cristian Yauli, 2015.


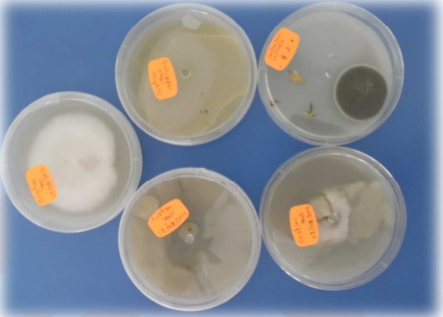
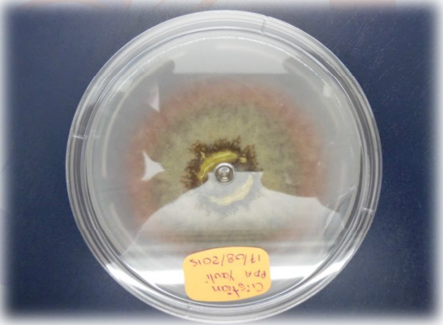
SIEMBRA

Tabla 4. Siembra de las muestras.

	<p>La siembra se realizó en cajas Petri previamente ya colocadas el medio de cultivo PDA la misma que se realizó tomando pequeños trozos de (hojas) que fueron llevadas a la cámara de flujo laminar para que no haya contaminación.</p>
	<p>Con un bisturí se procedió a realizar cortes pequeños de 5 a 10 mm² a partir del borde de la lesión infectada, estos cortes contenían tejidos enfermos y tejidos al parecer sanos, los mismos fueron colocados en una gasa para posteriormente realizar la desinfección superficial para lo cual se sumergió en clorox al 20% durante 45 segundos, seguidamente se enjuagaron en agua destilada por tres veces con intervalos de 10 a 15 segundos.</p>
	<p>Con la ayuda de una pinza y aza de siembra los trazos fueron colocados en el centro de cada caja petri de inmediato sellamos las cajas con parafilm y lo etiquetamos.</p>

Continua

Continúa

	<p>Las cajas Petri ya sembradas las colocamos en la incubadora a una temperatura de 23°C para que el hongo se propague de manera más rápida.</p>
	<p>Una vez obtenido el hongo fitopatógeno (<i>Alternaria dauci</i> (Kühn)) se procedió a la identificación mediante observaciones microscópicas, también se tuvo en cuenta la proliferación de bacterias contaminantes. Para lo cual fue necesaria la purificación.</p>
	<p>Proliferación del Hongo fitopatógeno (<i>Alternaria dauci</i>) en medio de cultivo PDA.</p>

FUENTE: Cristian Yauli, 2015.

BLOQUE II. RESULTADOS:

Para la identificación del hongo realizamos observaciones microscópicas utilizando la siguiente técnica:

Técnica de cinta pegante: en un cubreobjetos colocamos una gota de agua, cortamos un fragmento de cinta adhesiva, esterilizamos la punta de aza

micológica y dejamos enfriar, posteriormente adherimos a la aza micológica la cinta adhesiva transparente, en condiciones asépticas abrimos la placa de la colonia del hongo (*Alternaria dauci* (Kühn)), presionamos ligeramente en el micelio con la parte adhesiva de la cinta y colocamos la muestra sobre la gota de agua y utilizamos una pinza para extender la cinta, finalmente colocamos la preparación sobre el microscopio y observamos con una aumento de 40x, posteriormente observamos los detalles de las estructuras con el objetivo de 100x.

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

Tabla 5. Caracterización de macro y micro estructuras

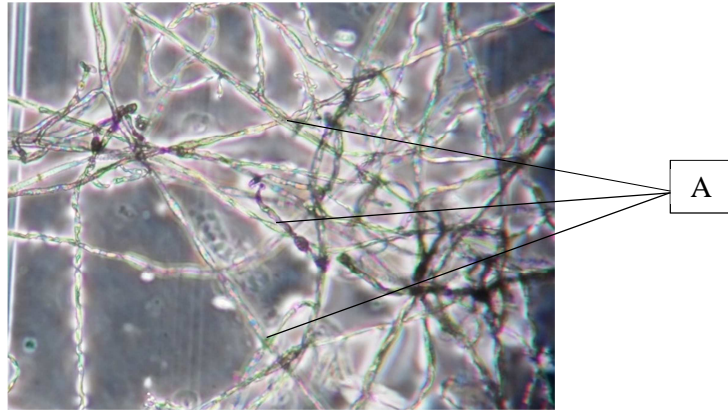
CONCEPTUALIZACIÓN	INDICADOR	INDICE	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de Zanahoria	Talo	Tipo	Observación	Microscopio
	Micelio	Tipo		
	Conidio	Tipo		
	Conidióforo	Tipo		
	Reproducción	Tipo		

FUENTE: Cristian Yauli, 2015.

Observación del hongo en el microscopio

Talo

En esta imagen se puede apreciar el talo de *Alternaria dauci*. Obtenido en laboratorio en medio de cultivo PDA. La imagen fue obtenida con la ayuda de un Microscopio Trinocular CX31 con lente de 20x, en campo oscuro Ph1.



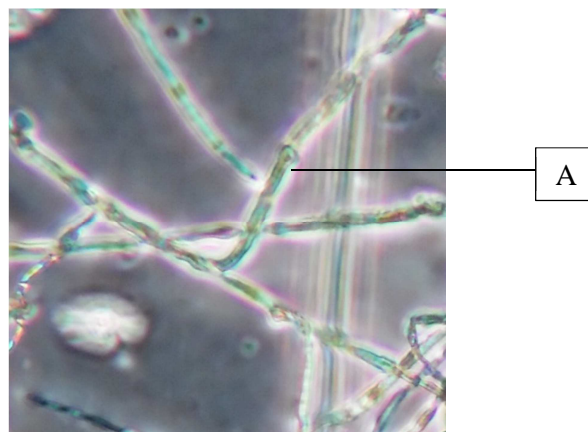
A. Talo de *Alternaria dauci*.

FUENTE: Cristian Yauli.

En malta agar o PDA, las colonias típicamente aparecen de color gris oscuro con el micelio esponjado. En algunos casos se produce un distintivo pigmento púrpura de la colonia rodeando al medio, tal como se obtuvo en el laboratorio y se ratifica lo dicho por (KONSTANTINOVA, 2002). Esto es corroborado por (PLANTPRO, 2015), en la cual menciona que las hifas de los hongos son desde hialino, marrón hasta marrón oscuro con la edad, y septos

Micelio

En esta imagen se puede apreciar el micelio de *Alternaria dauci*, obtenida en laboratorio en medio PDA. La imagen fue obtenida con la ayuda de un Microscopio trinocular CX31, con el lente de 100x.



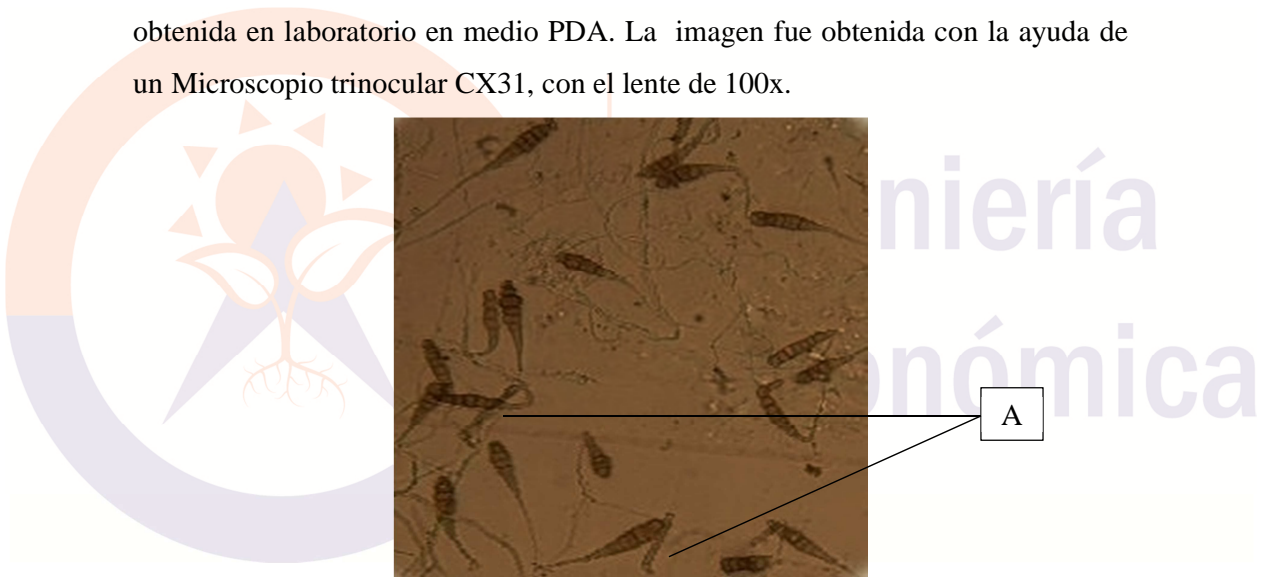
A. Micelio septado de *Alternaria dauci*

FUENTE: Cristian Yauli.

Alternaria sp. Tiene un micelio de color oscuro y en los tejidos viejos infectados produce conidióforos cortos, simples y erectos que dan origen a cadenas simples o ramificadas de conidios como lo obtuvimos en laboratorio y concuerda lo dicho por (KONSTANTINOVA, 2002). Las hifas de los hongos de *A. dauci* son desde hialino, marrón hasta marrón oscuro con la edad, y los septos, ratificado por (PLANTPRO, 2015).

Conidióforo

En la imagen se puede apreciar el conidióforo y el conidio de *Alternaria dauci*, obtenida en laboratorio en medio PDA. La imagen fue obtenida con la ayuda de un Microscopio trinocular CX31, con el lente de 100x.



A. Conidióforo de *Alternaria dauci*

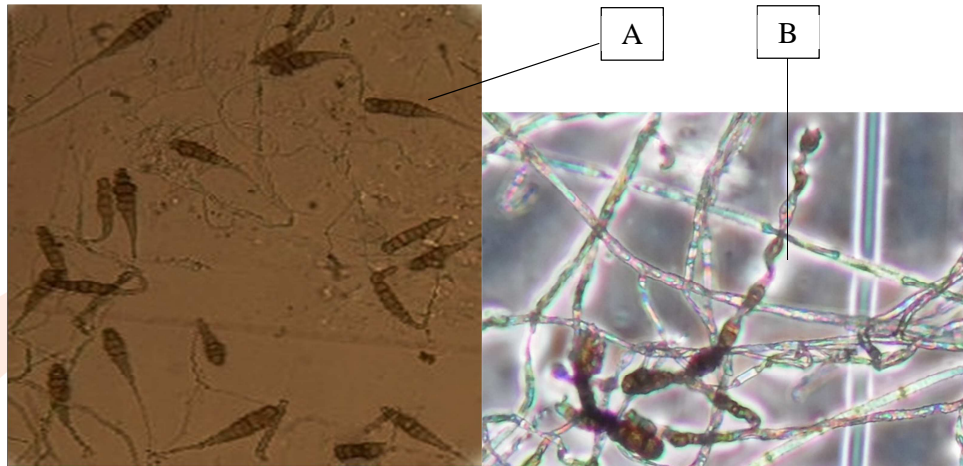
FUENTE: Cristian Yauli.

Los conidióforos de *A. dauci* son marrón oscuro, septos y no ramificados. Los conidióforos son color café-olivo (6-10 x 30-100 μm) solos o en pequeños grupos; son rectos, con un solo sitio conidiógeno terminal o algunas veces geniculadas con 2 ò 3 sitios conidiógenos, concuerda como dicho por (KONSTANTINOVA, 2002).

Los Conidióforos son marrón oscuro, con septos y no ramificados, de 30-100 μm de largo. (PLANTPRO, 2015).

Conidio

En la imagen se puede apreciar las conidias de *Alternaria dauci*, obtenida en laboratorio en medio PDA. La imagen fue obtenida con la ayuda de un Microscopio trinocular CX31, con el lente de 100x



A. Conidios solitarios de *Alternaria dauci* B. Conidios en cadena de *Alternaria dauci*

FUENTE: Cristian Yauli.

Los conidios de *Alternaria dauci* tienen septos transversales y longitudinales y se los conoce como dictiosporas, además son pardos y picudos. Nacen por la brotación apical de una célula conidiógena o de la espora anterior, dando lugar en este último caso a una cadena que puede ramificarse si una espora produce más de un brote como se obtuvo en laboratorio ratificado lo dicho por (AGRIOS, 1999).

Las especies de este grupo forman conidias solitarias con grandes picos o proyecciones filamentosas. Rara vez se desarrollan en cadenas de 2 o 3 conidias (ROBERT, STEGEHUIS, & STALPERS, 2005).

El Conidio de la *Alternaria dauci* posee de 1-3 septos a lo largo, medido por 150 x 15-25 μm , sola o muy raramente en cadena, con un pico terminal filamentosos tres veces el largo del cuerpo de la conidia; de color café-olivo. (KONSTANTINOVA, 2002)

Reproducción

Los hongos imperfectos se reproducen por medio de unas esporas especiales llamadas conidios; se trata de esporas asexuales, no flageladas, que se forman en el ápice o en los laterales de una célula esporógena. Son catenulados si se forman en cadenas, llamándose artrospora a cada eslabón de la cadena. (ASTURNATURA, 2015).

La reproducción de la *Alternaria dauci* es de forma asexual por medio de conidios (AGRIOS, 1999) y (KONSTANTINOVA, 2002).

MATERIAL DE CONSULTA SUGERIDO:

AGRIOS, G. (1999). *Fitopatología*. México: LIMUSA.

AGRONEGOCIOSECUADOR. (2015). *Produccion Agricola 2009*. Recuperado el 4 de febrero de 2015, de <http://agronegociosecuador.ning.com/page/produccion-agricola-2009>

ANDERSEN, B., KROGER, E., & ROBERTS, R. (2001). *Chemical and morphological segregation of Alternaria alternata*. Mycological research.

ASTURNATURA. (2015). *Características Generales de los Hongos*. Recuperado el 6 de Octubre de 2015, de <http://www.asturnatura.com/articulos/hongos/caracteristicas-generales-hongos.php>

INFOAGRO. (2008). *Hortalizas/Cultivo de zanahoria*. Recuperado el 7 de Julio de 2014, de <http://www.infoagro.com/hortalizas/zanahoria.htm>.

KONSTANTINOVA, P. (2002). *Development of specific primers for detection and identification of Alternaria spp. in carrot material by PCR and comparison with blotter and planting assays*. Mycological Research.



- LEBOVIC, J., & LEBOVIC, W. (2007). *DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY - MYCOLOGY IMAGE GALLERY*. Recuperado el 9 de Agosto de 2015, de <http://microbiology.mtsinai.on.ca/mig/defungi/demfig39.shtml>
- PLANTPRO. (2015). *Quemadura de la hoja de la zanahoria*. Recuperado el 21 de Mayo de 2015, de www.plantprotection.hu/modulok/spanyol/root_veg/alternaria_root.htm
- ROBERT, V., STEGEHUIS, G., & STALPERS, J. (2005). *The MycoBank engine and related databases*. Recuperado el 8 de Agosto de 2015, de <http://www.mycobank.org/>
- TAY, K., & SEPÚLVEDA, P. (2011). *Alternaria spp., UNA ENFERMEDAD IMPORTANTE EN EL CULTIVO DE LA ZANAHORIA PARA EL ALTO LOA*. Recuperado el 18 de Mayo de 2015, de http://platina.inia.cl/antofagasta/docs/Informativo_7_INIA_Calama.pdf
- TERRANOVA. (1995). *Produccion Agricola 2*. Santa Fe, Colombia: Edición Agropecuaria.

ANEXO 2. FASE DE CAMPO

Gráfico 1. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS



Gráfico 1. SIGNOS DE LA ENFERMEDAD



Gráfico 2. SINTOMAS DE LA ENFERMEDAD



ANEXO 3. FASE DE LABORATORIO

. Gráfico 1. REALIZANDO EL MEDIO DE CULTIVO



Gráfico 2. PDA MODIFICADO



Gráfico 3. DISTRIBUYENDO EL PDA EN CAJAS PETRI

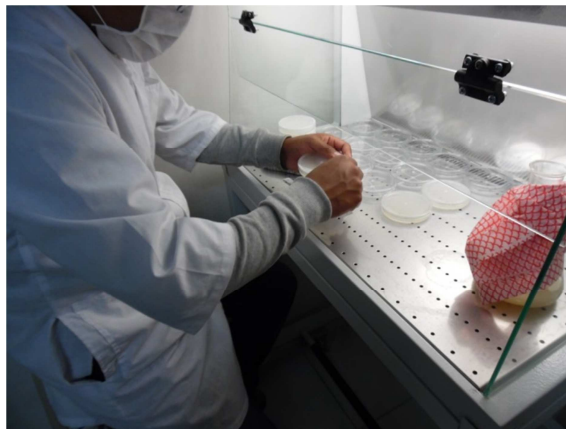


Gráfico 4. SIEMRA DE MUESTRAS



Gráfico 5. SIEMBRA Y ETIQUETADO DE LA MUESTRA



Gráfico 6. DESARROLLO DE MICELIO

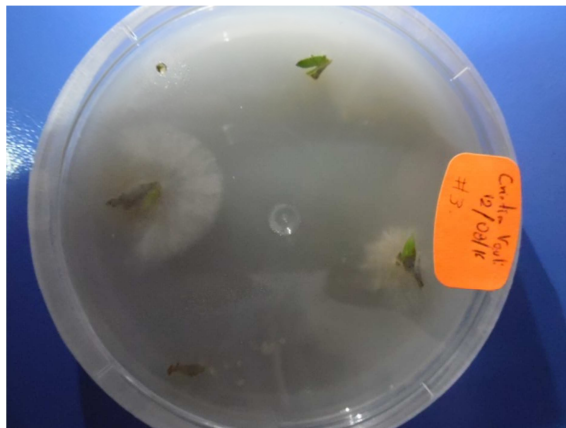


Gráfico 7. AISLAMIENTOS DE MUESTRAS

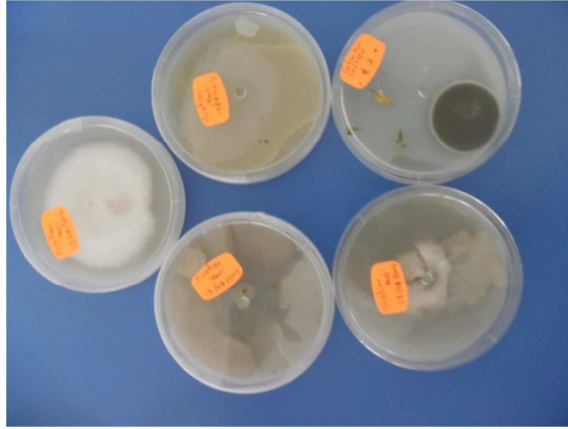


Gráfico 8. AISLAMIENTOS DE MUESTRAS

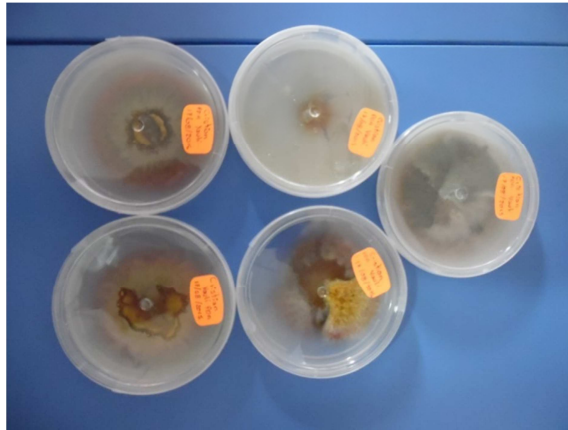
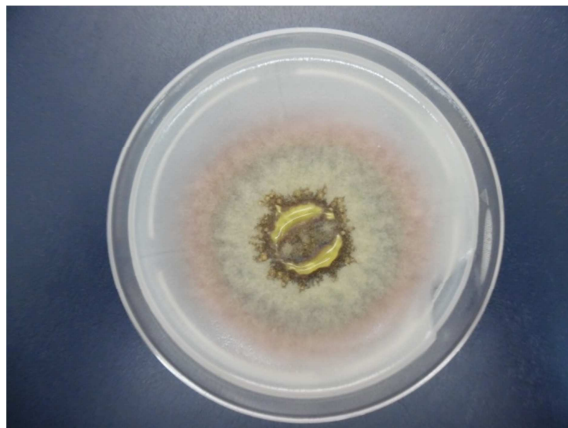


Gráfico 9. CULTIVO PURO



ANEXO 4. COSTOS

DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	COSTO UNITARIO	COSTO TOTAL
Materiales de aseo			
Escoba	1	2	2
Trapeador	2	3	6
Franela	2	4,5	9
Papel de cocina	2	3,5	7
Zapatones	15	0,35	5,25
Guantes	15	0,25	3,75
Mascarilla	15	0,25	3,75
Cofias	15	0,30	4,5
Reactivos de aseo			
Kalipto	1	4,3	4,3
Alcohol	1	5,5	5,5
Yodo	1	3,6	3,6
Materiales de laboratorio			
Pinzas	1	2,08	2,08
Lámpara de alcohol	3	3,99	11,97
Laminas porta-objetos	1	2,99	2,99
Cubreobjetos	1	2,5	2,5
Hojas de bisturí estéril	10	0,04	0,40
Vasos de precipitación de 50 ml, 100 ml, 600 ml y 1000 ml.	4	2,5	10
Erlenmeyer de 500 ml y 1000 ml.	3	5	15
Asa de inoculación de cromo	2	3,6	7,2
Cajas mono petri descartables	40	0,21	8,4
Papel parafilm	0,5	49	24,5
Juego de botellón de agua	1	28	28
Papel aluminio	1	3	3
Cajoneras de plástico	1	7,5	7,5

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

