

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS
FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE BABACO (*Carica pentagona*) EN
EL SECTOR SALCEDO - PERÍODO 2015.

AUTORA:

Mayra Elizabeth Chile Caiza

DIRECTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

Ing. Karina Marín Mg.

Cotopaxi – Ecuador

2016

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, **CHILE CAIZA MAYRA ELIZABETH**, con cédula de ciudadanía N° 172345705-5, actuando en calidad de autor del proyecto de investigación denominado **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE BABACO (*Carica pentagona*) EN EL SECTOR SALCEDO – PERÍODO 2015**. Declaro que el contenido de la presente tesis, es original, auténtica y académica, así como sus comentarios y discusiones emitidas son de exclusiva responsabilidad del autor.

Chile Caiza Mayra Elizabeth

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 del proyecto de investigación: **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE BABACO (*Carica pentagona*) EN EL SECTOR SALCEDO – PERÍODO 2015**, 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 encuentre habilitado para presentarse al acto de Defensa de Proyecto de Investigación, la cual se encuentra abierta para posteriores investigaciones.

.....
Ing. Karina Marín Mg.

AVAL DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL

En calidad de miembros de Tribunal del Proyecto de Investigación Titulado **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE BABACO (*Carica pentagona*) EN EL SECTOR SALCEDO - PERÍODO 2015.”** De autoría de la egresada Mayra Elizabeth Chile Caiza, **CERTIFICAMOS** que se ha realizado las respectivas revisiones, correcciones y aprobaciones al presente documento

Ing. Karina Marín Mg.

DIRECTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Ing. Agr. Santiago Jiménez

PRESIDENTE

Ing. Agr. Luis Benavides

MIEMBRO DE TRIBUNAL

Ing. Edwin Chancusig Mg.

OPOSITOR

ÍNDICE

RESUMEN	12
SUMMARY	13
INTRODUCCIÓN	14
JUSTIFICACIÓN	15
OBJETIVOS	16
CAPÍTULO I	17
1. Fundamentación teórica	17
1.1 El cultivo de Babaco	17
1.1.1 Clasificación botánica	18
1.1.2 Morfología	19
1.2 Enfermedades en el cultivo de babaco	20
1.2.1 Alternariosis	20
1.2.2 Fusariosis	21
1.2.3 Oidio	24
1.2.4 Peca del babaco	25
1.2.5 Antracnosis	25
1.2.6 Foma	25
1.2.7 Enfermedades de la raíz	26
1.3 Hongos fitopatógenos	26
1.4 Delimitación de la zona de muestreo	34
1.5 Pasos para la recolección de muestras	35
1.6 Pasos para el aislamiento de patógenos	40
1.7 Pasos para la identificación de los hongos fitopatógenos	44
1.8 Estructuras reproductivas	45

CAPÍTULO II.....	47
2 Materiales y métodos	47
2.1 Materiales	47
2.1.1 Institucionales	47
2.1.2 Recursos humanos	47
2.1.3 Material de campo	48
2.1.4 Recursos tecnológicos	48
2.1.4.1 Equipos	48
2.1.4.2 Materiales de laboratorio	49
2.1.4.3 Materiales de aseo	50
2.1.4.4 Reactivos	50
2.1.4.5 Materiales de oficina	51
2.2 Diseño de la investigación	51
2.2.1 Preguntas directrices	51
2.2.2 Operacionalización de las variables	52
2.3 Diseño metodológico	52
2.3.1 Investigación descriptiva	52
2.4 Método	53
2.5 Métodos y técnicas	53
2.5.1 Métodos lógicos	53
2.5.2 Técnica	55
2.6 Delimitación del lugar	55
2.6.1 Ubicación ensayo	55
2.6.2 Ubicación geográfica	55
2.6.3 Ubicación política	56

2.6.4 Características del lugar	56
2.7 Metodología	58
2.7.1 Reconocimiento del lugar	58
2.7.2 Diagnóstico del sector	58
2.7.3 Diagnóstico del cultivo	59
2.7.4 Toma de muestras	59
2.8 Delimitación de laboratorio	60
2.8.1 Ubicación política	60
2.8.2 Ubicación geográfica	60
2.8.3 Preparación del medio de cultivo	60
2.8.4 Aislamiento	62
2.8.5 Purificación	62
2.8.6 Inoculación	62
2.8.7 Incubación	63
2.8.8 Caracterización	63
2.8.9 Descripción	64
CAPÍTULO III	66
3 Resultados y discusión	66
3.1 Determinación del hongo fitopatógeno de mayor impacto en el cultivo de Babaco (<i>Carica pentagona</i>)	66
3.1.1 Observación en campo	66
3.2 Signos y síntomas del Fusarium (<i>Fusarium oxysporum</i>) en el cultivo de Babaco (<i>Carica pentagona</i>)	68
3.2.1 Signos y síntomas del hongo Fusarium (<i>Fusarium oxysporum</i>) bibliográficamente.	68

3.2.2 Signos y síntomas observados en campo del hongo	
<i>(Fusarium oxysporum)</i>	69
3.3 Caracterización de macro y micro estructuras de Fusarium	
<i>(Fusarium oxysporum)</i>	72
3.3.1 Macro estructuras	72
3.3.2 Micro estructuras	74
3.4 Descripción del ciclo de vida del hongo Fusarium	
<i>(Fusarium oxysporum)</i> , en condiciones de laboratorio	77
CONCLUSIONES	78
RECOMENDACIONES.....	79
Elaboración de una guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo <i>Fusarium (Fusarium oxysporum)</i>	80
GLOSARIO.....	94
BIBLIOGRAFÍA.....	96
INDICE DE TABLAS	
Tabla 1. Clasificación taxonómica del babaco	19
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>(Fusarium oxysporum)</i> del babaco	24
Tabla 3. Operacionalización de las variables	52
Tabla 4. Coordenadas geográficas	56
Tabla 5. Condiciones edafoclimáticas	56
Tabla 6. Aspectos físicos	57
Tabla 7. Límites	57
Tabla 8. Análisis agroclimáticos	58
Tabla 9. Ciclo de vida de <i>Fusarium oxysporum</i> en condiciones de laboratorio ..	77

INDICE DE IMÁGENES

Gráfico 1. Inicio de <i>Fusarium oxysporum</i> en el cultivo de babaco	66
Gráfico 2. Marchitez completa que causa <i>Fusarium</i> en la planta	67
Gráfico 3. Clorosis y marchitamiento de hojas	70
Gráfico 4. Marchitez completa de la planta	70
Gráfico 5. Corte longitudinal podredumbre vascular	71
Gráfico 6. Destrucción de raíces	71
Gráfico 7. Siembra en PDA	73
Gráfico 8. Micelio algodonoso y blanco	73
Gráfico 9. Micelio color rosa durazno al fondo	74
Gráfico 10. Micelio rosa y gris a los 7 días	74
Gráfico 11. Estructura microscópica	74
Gráfico 12. Descripción de micro estructuras de (<i>Fusarium oxysporum</i>) vista con aumento de 20.	76

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado con todo mi corazón a todas las personas que me vieron luchar y sacrificarme por lograr este, un sueño que poco a poco se fue haciendo realidad.

A mis padres Luis Alfonso y María Beatriz, que han estado con migo apoyándome incondicionalmente, son el pilar fundamental que un hijo necesita, gracias por esas palabras de aliento que día a día me brindan.

A mi enamorado hoy esposo Juan Carlos, luego de tantos sacrificios me ayudo con este trabajo y está con migo en las buenas y malas siendo mi fuerza y apoyo.

A mi hijo Juan Matías, tu sonrisa basta para ser mi razón de ser.

A mis hermanas/o Nancy, Nelly, Luis y Anita

AGRADECIMIENTOS

A Dios porque me ha permitido vivir, me ha dado inteligencia y sabiduría para poder levantarme día a día a luchar por este sueño.

A mi directora de tesis, Ing. Karina Marín Mg. gracias por su estima, su paciencia y por toda su entrega.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi por haberme abierto sus puertas y poder obtener esta mi profesión.

A todos los docentes de la carrera de Ingeniería Agronómica.

A mis padres Luis Alfonso y María Beatriz, por su apoyo.

A mi esposo Juan Carlos.

Gracias a todos

RESUMEN

El fusarium o muerte descendente de la planta, en el cultivo de Babaco (*Carica pentagona*) es la enfermedad que más daño causa provocando complejas pérdidas por parte de este hongo fitopatógeno.

Durante los primeros ciclos de vida aparecen los síntomas como clorosis y/o flacidez foliar, marchitamiento completo de la planta y decoloración vascular conjuntamente de pudrición total o parcial de las raíces. Observados en los invernaderos del cantón Salcedo sector San Francisco.

Los objetivos de este estudio fueron identificar el hongo que más daño causa al cultivo, identificar signos y síntomas de fusariosis, caracterizar macro y micro estructuras en laboratorio, describir el ciclo de vida del hongo fitopatógeno y elaborar una guía didáctica.

Las muestras de las plantas enfermas con síntomas de fusariosis se recolectaron en el cantón Salcedo sector San Francisco. La determinación del agente causal de esta enfermedad se realizó en campo, observando los signos y síntomas, y la otra en el laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi utilizando como medio de cultivo PDA (Agar Papa Dextrosa). Unidos los dos métodos se identificó a *Fusarium (Fusarium oxysporum)* como causante de la fusariosis o muerte descendente del cultivo de Babaco.

Las macroestructuras de este hongo, presenta micelio blanquecino y en el fondo del medio de cultivo se torna un color rosa durazno, estas características se demostró en laboratorio macroscópicamente siendo comparadas con la bibliografía para mayor certeza. Mientras que en su microestructura *Fusarium* desarrolla microconidias, macroconidias y clamidosporas.

La importancia de este estudio es determinar como causa daño esta enfermedad, permitiéndonos así elaborar una guía didáctica caracterizada de *Fusarium oxysporum* que servirá a los agricultores de la zona y del país.

SUMMARY

Fusarium or dieback of the plant, in the Babaco grow (*Carica pentagona*) is the most damaging disease causing losses complex part of this phytopathogenic fungus.

During the early life cycles symptoms as chlorosis and / or foliar sagging, complete wilting of the plant and vascular discoloration together totally or partially root rot putrescence. Observed in the greenhouses of Canton Salcedo San Francisco area.

The objectives of this study were to identify the fungus that causes more damage to the crop, identify signs and symptoms of fusarium characterize macro and micro structures laboratory, describe the life cycle of the plant pathogenic fungus and to develop a tutorial.

Samples of diseased plants with symptoms of Fusarium were collected in the Canton Salcedo San Francisco area. Determining the causal agent of this disease it was made in the field, observing signs and symptoms, and the other in the microbiology laboratory at the Technical University of Cotopaxi used as a mean of cultivation PDA (Potato Dextrose Agar). States the two methods Fusarium (*Fusarium oxysporum*) was identified as causing of the fusariosis or death descending from the Babaco grows.

The macrostructures of this fungus presents white mycelium and in the background mean of cultivation color turns peach pink, these features were demonstrated in laboratory macroscopically being compared with the bibliography for greater certainty. While in his fusarium microstructure develops microconidia, macroconidia and chlamydospores.

The importance of this study is to determine how the disease causes damage, allowing us to develop a teaching guide *Fusarium oxysporum* characterized that serve the farmers in the area and the country.

INTRODUCCIÓN

El babaco (*Carica pentagona*) es una especie originaria del Ecuador, que a más de poseer muy buenas características de sabor, aroma y contenido nutricional, tiene alto potencial de rendimiento que lo convierten en un cultivo competitivo para los mercados interno y de exportación. El Ecuador, cuenta con numerosas áreas adecuadas para su explotación por sus condiciones climáticas y de suelos. Las provincias de mayor cultivo son: Pichincha, Tungurahua, Azuay y Cotopaxi. Sin embargo, en muchas de estas zonas las condiciones de fertilidad del suelo son bajas, lo que limita el desarrollo de la planta y se alcancen niveles óptimos de producción. (INIAP J. L., 2004)

Ochoa, J. y Fonseca, G (1997) citado por APROBAYA (2009) dicen que en su investigación se encontraron plantaciones de babaco en los sectores de Baños, Patate, Tumbaco y otras del norte del país, en las que se determinó que la pudrición radicular era causada por el hongo *Fusarium oxysporum*, el mismo que bajo condiciones óptimas para su desarrollo pueden producir la destrucción de toda las plantas debido a su rápida dispersión y difícil control. Existen aproximadamente 180 hectáreas sembradas con esta fruta bajo invernadero y a cielo abierto, en varias provincias de la Sierra Ecuatoriana. Tungurahua ocupa el primer lugar con el 60% de la producción nacional (Asociación de Agrónomos Indígenas de Cañar, 2003).

El babaco (*Carica pentagona*) es atacada por algunos agentes causantes de enfermedades de este cultivo son: hongo que ataca principalmente a las hojas, provoca la pudrición de las raíces y el marchitamiento de la planta, ataca al sistema radical y produce el marchitamiento de la planta, aparecen manchas cloróticas en las hojas y se deforman, a nivel floral provoca la caída de la flor, provoca necrosamiento del tejido y caída de las hojas, produce pudrición radicular y muerte de la planta. (Carmen Salinero Corral., 2005)

JUSTIFICACIÓN

Las pérdidas económicas que causan en el cultivo de Babaco (*Carica pentagona*), es causada por microorganismos fitopatógenos a través de varios años, mediante esta determinación surge la necesidad de buscar estrategias para el control de hongos que atacan a una gama de cultivos. Este trabajo se determinó con la observación macro y microscópica del hongo *Fusarium*, su ciclo de vida y se brindará información al agricultor para que pueda tomar decisiones adecuadas y tener una guía para control de enfermedades producidas por el o los hongos fitopatógenos, permitiendo así reducir los costos e incrementar la producción agrícola.

En la actualidad en el Ecuador, la actividad agrícola tiene mucha importancia y trascendencia, se ha convertido en una actividad económica que se proyecta muy fuertemente, y que marca índices y pautas muy importantes en nuestra economía.

Tomado en cuenta el nuevo auge que existe en la producción de productos agrícolas exóticos y no tradicionales, uno de éstos es el babaco, considerado desde épocas pasadas como una fruta de óptimas características ya que posee ventajas como el no poseer semillas, tener una cáscara delgada y el agradable sabor de su pulpa.

El babaco representa un cultivo de interés comercial en el Ecuador, gracias a la calidad gustativa de la fruta, bajo contenido en azúcares y calorías y alto contenido de vitaminas y minerales, lo que ha despertado el interés de productores y consumidores.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar morfológicamente el hongo fitopatógeno que causa mayor pérdida económica en la producción en el cultivo de babaco (*Carica pentagona*), Sector. Salcedo. Cotopaxi, 2015.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

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

CAPÍTULO I

1. Fundamentación teórica

1.1. El cultivo de babaco

Se cree que el babaco es una planta originaria de los valles templados de la Provincia de Loja. En la actualidad, en el cantón Cañar y en varias provincias de la Sierra Ecuatoriana, se lo viene cultivando bajo cubierta plástica, con un interés comercial creciente gracias a la calidad gustativa de la fruta, sus bajos contenidos de azúcares y calorías y su alto contenido de vitaminas y minerales, lo que ha despertado interés entre productores y consumidores que lo utilizan para la elaboración de jugos, conservas, jaleas y mermeladas (AAIC- PROMSA-MAGAP, 2004).

El Ecuador cuenta con numerosas áreas adecuadas para su explotación por sus condiciones climáticas y de suelos, las provincias de mayor cultivo son: Pichincha, Tungurahua, Azuay, Cotopaxi y Cañar. Sin embargo en muchas de estas zonas las condiciones de fertilidad del suelo son bajas, lo que limita el desarrollo de la planta y que alcancen niveles óptimos de producción (INIAP, 2004).

Según Datos investigados por el Diario el Comercio (2011), en el Ecuador hay 180 hectáreas sembradas de babaco bajo invernadero y a cielo abierto. La revista Química Peruana 2009, calcula que la superficie sembrada de babaco en el Ecuador puede estar entre 150 y 200 ha, la gran mayoría en cultivos bajo invernadero. Siendo una fruta sin semilla, es posible consumirla en su totalidad; la cáscara, que es fina y suave, también se puede aprovechar por sus importantes beneficios nutricionales, su componente mayoritario es el agua, tiene un moderado valor calórico, a expensas de su aporte de hidratos de carbono. Entre las principales cualidades nutricionales de la fruta destaca su contenido de vitaminas A, C y E, y su acción antioxidante. Según The Natural Food Hub (HUB 2001), los frutos por su contenido en vitamina C pueden clasificarse como “buena” fuente a aquellos que contienen de 6 – 14mg de vitamina C/100g, “muy buena” fuente de 15 – 30mg y “excelente” fuente, cuando el contenido de vitamina C es mayor a 30mg. Según esta fuente el babaco recibe la calificación de muy bueno ya que contiene entre 21 y 32mg de vitamina C/100g.

En el país existen unas 240 hectáreas de babaco, de las cuales 140 hectáreas están en la provincia de Tungurahua repartidas en los cantones de Baños, Píllaro, Patate. En la Provincia de Tungurahua se cultiva el babaco desde 1200 msnm en la zona de Río Negro. El babaco principalmente se cultiva bajo invernadero aunque también existen cultivos a campo abierto. La mayoría de los invernaderos van de 500 a 1000 m² y algunos sobrepasan esta cantidad. El marco de plantación en invernadero es de 2 m x 1 m, es decir que en 1000 m² entran 500 plantas (Fabara, J. 2012).

1.1.1. Clasificación Botánica

Planta arbustiva, cultivo semi-perenne; de tallo de más de 3m de altura.

Tabla 1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino	Plantae
División	Dicotiledóneas
Clase	Angiospermae
Orden	Parietales
Familia	Caricacea
Género	Carica
Especie	Pentágona

Fuente: (Noreña Jorge Mario, 1985)

Es originaria de las zonas altas de Ecuador y Colombia, en forma natural, se encuentra desde hace varios decenios en los valles abrigados del callejón interandino y lugares secos de la costa, es un híbrido natural proveniente de las especies *Carica stipulata* B.(toronche) y *C. pubescens*. (chamburo). Esta especie debe encontrarse en zonas donde no exista una presencia fuerte de vientos y heladas. (Noreña Jorge Mario, 1985)

1.1.2 Morfología:

La planta es un arbusto perenne con tallo subherbáceo que alcanza alturas a campo abierto hasta de 2 metros, que puede ser superado en el cultivo bajo invernadero.

Las hojas son grandes con 5 lóbulos y se ubica en forma alterna. La planta es dioica y presenta únicamente flores femeninas que producen frutos partenocárpicos casi ausentes de semillas de tamaño grande de 20 – 40cm de largo

y 10 – 15cm de diámetro, 5 aristas y 5 lados característicos. (Camacho y Rodríguez, 1982)

La planta de babaco es muy apetecida a la planta de papaya, con hojas grandes y frondosas y una exuberante capacidad productiva.

1.2 Enfermedades en el cultivo del babaco.

Términos generales, las enfermedades foliares causadas por hongos se caracterizan por aparición de manchas sobre la lámina foliar que pueden ser de diferentes formas (angular, redondeada, con anillos concéntricos o de bordes indefinidos) y de colores (amarillo, marrón o blanco). En manchas sobre las nervaduras y los peciolo se observan chancros con borde marrón y de centro blanco lo mismo que distorsión foliar. También se pueden presentar pústulas marrones o negras en el haz y envés de las hojas. (Angel, 2002).

1.2.1 Alternariosis (*Alternaria sp.*)

La alternariosis es un enfermedad presente en todos los cultivos de babaco, el agente causal de la enfermedad es *Alternaria sp.*; ataca principalmente a las hojas, siendo más nocivo su ataque en las hojas que son más jóvenes. Al principio aparecen manchas de color amarillo polvoriento, conforme el hongo va envejeciendo se torna de un color castaño oscuro; en estas manchas se acostumbra distinguir unos anillos concéntricos en la zona necrosada, que disminuyen notablemente la superficie foliar y por ende la capacidad fotosintética; llegando inclusive a causar la defoliación de la planta y la caída de las partes reproductivas. También a la alternariosis se le conoce con el nombre de lancha temprana. (Fabara, J. Bermeo, N. y Barberan, C, 1980)

1.2.2. Fusariosis (*Fusarium oxysporum*)

Conocida también como la pudrición de las raíces, debido a que por ahí inicia su ataque causando el marchitamiento de la planta. Presenta síntomas muy similares a la muerte descendente.

Los principales agentes causales de esta enfermedad son: *Phytophthora sp.*, *Pythium sp.*, *Rhizoctonia sp.*, y *Fusarium sp.*, ocasiona la destrucción del sistema radical del babaco. Al nivel de la corona, el tejido se torna de un color café que conforme avanza la enfermedad su consistencia se forma acuosa, las hojas se vuelven cloróticas, se marchitan hasta que se caen, los frutos caen también hasta que muere toda la planta. (Fabara, J. Bermeo, N. y Barberan, C, 1980).

1.2.2.1. Etiología

Fusarium

Fusarium oxysporum es un hongo cosmopolita que existe en muchas formas patogénicas, parasitando más de 100 especies de plantas Gimnospermas y Angiospermas, gracias a los diversos mecanismos que tiene el hongo para vencer las defensas de muchas plantas (Bosland, 1988). Se caracteriza por producir colonias de rápido crecimiento, con una tasa diaria cercana a un centímetro en medio papa dextrosa agar (PDA) a 25°C. La morfología de las colonias es muy variable y puede presentar dos tipos: una de tipo micelial caracterizada por la producción de abundante micelio aéreo, algodonoso, con una coloración variable, de blanco a rosado durazno, pero usualmente con un tinte púrpura o violeta más intenso en la superficie del agar y pocas microconidias (Booth, 1970) y una de

tipo pionotal con la formación de poco o ningún micelio aéreo y abundantes microconidia.

El hongo produce tres clases de esporas:

Microconidias: Esporas generalmente unicelulares, sin septas, hialinas, elipsoidales a cilíndricas, rectas o curvadas; se forman sobre fiálides laterales, cortas, simples o sobre conidióforos poco ramificados. Las microconidias tienen 5- 12 μm de largo por 2.5- 3.5 μm de ancho (Nelson, 1981).

Macroconidias: Esporas de paredes delgadas, fusiformes, largas, moderadamente curvadas en forma de hoz, con varias células y de 3 a 5 septas transversales, con la célula basal elongada y la célula apical atenuada; las macroconidias tiene un tamaño de 27 a 46 μm de largo por 3.0 a 4.5 μm de ancho (Nelson, 1981).

Clamidosporas: Esporas formadas a partir de la condensación del contenido de las hifas y de las conidias, de paredes gruesas. Se forman simples o en pares, terminales o intercalares: poseen un tamaño de 5 a 15 μm de diámetro (Nelson, 1981). Gracias a ellas el hongo sobrevive en condiciones ambientales desfavorables y en el suelo como saprófito de vida libre en ausencia de plantas hospedantes (Garret, 1977). Hasta el momento no se conoce la fase perfecta del hongo (Nelson et al., 1983).

1.2.2.2 Síntomas y epidemiología.

La enfermedad se caracteriza por la aparición unilateral de los síntomas de marchitamiento, acompañada del amarillamiento parcial de las hojas y el doblamiento hacia el lado de la planta enferma, a causa de la interferencia en el crecimiento; en estados iniciales en las hojas puede observarse la mitad clorótica y la mitad de un color verde normal. Se observa además un enanismo de los brotes y disminución del crecimiento de la planta. Los síntomas de la enfermedad avanzan afectando la planta hacia arriba hasta causar un marchitamiento generalizado y la muerte (Garcés de G. et al., 1999b). Un aspecto muy importante para el diagnóstico de la enfermedad que la diferencia fácilmente de otras enfermedades vasculares es una coloración blanquecina, amarillenta o marrón en los haces vasculares y deshilachamiento de los tejidos sin afectar la médula (Baker, 1980).

Epidemiología

La temperatura es uno de los factores ambientales que mayor influencia tienen en el desarrollo de la enfermedad y en la expresión de los síntomas, así como la nutrición de la planta (Baker, 1988). La temperatura óptima para el desarrollo del patógeno está entre 25 y 30° C, una temperatura mínima de 5°C y una temperatura máxima de 37°C, el punto termal de muerte en el suelo es de 57.5 a 60°C durante 30 minutos. La esporulación óptima ocurre entre 20 y 25°C, con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. El pH óptimo es de 7.7 y puede desarrollarse entre 2.2 y 9.0. (Fletcher y Martín, 1972; Nelson, 1981; Tramier et al., 1983). El hongo es aerobio y sus poblaciones se reducen con la saturación de agua en el suelo. (Baker, 1980; Arbeláez, 1989).

Tabla 2: Clasificación taxonómica (*Fusarium oxysporum*) del Babaco

Reino	Fungí
Clase	Deuteromicete
Orden	Moniliales
Familia	Tuberculariaceae
Genero	<i>Fusarium</i>
Especie	<i>Fusarium oxysporum</i>

Fuente: (Según Orellana)

1.2.2.3 Manejo y control

Control cultural

La rotación de cultivos reduce paulatinamente patógenos en suelos infectados. Eliminar plantas enfermas y los restos de los cultivos. Utilizar semillas certificadas y plántulas sanas.

Desinfectar las herramientas de trabajo con hipoclorito de sodio al 2% o con cloro. Evitar el exceso de agua altas densidades de siembra. Ventilar en forma adecuada para evitar el aire enrarecido. Realizar solarización. (Gestión Técnica – Química OMA S.A. 2005)

Control químico

Un adecuado control de este patógeno se logra utilizando mezclas como: Fosetil-Aluminio, en dosis de 400 g / 200 l de agua quince días antes de la plantación; Metalaxyl + Mancozeb, Benomyl y como curativo un Carbendazim + hidróxido de cobre, en dosis de 200g + 200 g en 200 l de agua. Otro método para el control es mediante la rotación de cultivos por largos periodos de tiempo o la implementación de las nuevas áreas de siembra (Fabara, J. Bermeo, N. y Barberan, C, 1980).

1.2.3 Cenicilla (*Oidium sp.*)

Se conoce como la cenicilla, su agente causal es *Oidium sp.* Se presenta un polvillo de color blanco con manchas irregulares en las hojas, específicamente en el envés; en el haz, aparecen manchas cloróticas que se agrandan y agrupan, reduciendo notoriamente el área fotosintética de la planta. Los órganos atacados se deforman y abarquillan. Su máximo daño es cuando su ataque se encuentra situado a nivel floral donde no produce fruto por la caída de la flor. (Fabara, J. Bermeo, n. y Barberan, c, 1980)

1.2.4 Peca del babaco (*Asperosporium sp*)

El agente causal de esta enfermedad es *Asperosporium sp.* Se producen pequeñas manchas circulares y de bordes uniformes, de color blanco amarillento que se da tanto en el haz como en el envés, rodeadas de un fino halo oscuro, el tamaño máximo que puede alcanzar es de 5mm. En las lesiones en el envés se pueden observar un elevado número de pústulas de color negro oscuro. (Fabara, J. Bermeo, N. y Barberan, C, 1980)

1.2.5 Antracnosis (*Mycosphaerella sp.*)

El agente causal es *Mycosphaerella sp.*, esta es una enfermedad muy generalizada en la familia Caricaceae; presenta manchas de color marrón irregulares y los bordes foliares amarillos debido al necrosamiento del tejido; el tamaño de la mancha puede alcanzar como máximo 3 cm de diámetro y se presenta tanto en el haz como en el envés. Cuando el ataque es fuerte se caen las hojas. En las manchas se observan pequeños puntos de color negro que son los peritecios del agente causal. (Fabara, J. Bermeo, n. y Barberan, c, 1980)

1.2.6 Foma (*Phoma sp* y *Phyllosticta sp.*)

El agente causal es *Phoma sp.* Los síntomas más comunes que presenta esta enfermedad son manchas redondas claras y aisladas, que pueden alcanzar un diámetro de 2 cm con anillos concéntricos que inician en el centro y luego cubren toda la mancha. Es una enfermedad a nivel foliar y se pueden divisar pequeñas esferas de color negro que son los cuerpos fructíferos del hongo (picnidios). (Fabara, J. Bermeo, N. y Barberan, C, 1980)

1.2.7 Enfermedades de la raíz

Las pudriciones suaves más importantes son las causadas por *Phytophthora spp.* y *Pythium spp.* Las cuales se presentan durante las épocas de lluvias especialmente en suelos pesados, mal drenados y con alto contenido de materia orgánica *Phytophthora drechsleri* la especie más común e importante, causa pérdidas que llegan hasta el 80%. (Álvarez y otros 2002),

1.2.7.1 Pudrición radicular (*Erwinia Carotovora*)

Se da por el agente causal *Erwinia carotovora*, es un habitante del suelo, su ataque es aisladamente y sus consecuencias fatales para la plantación (produce la muerte de la planta) especialmente durante los primeros estadios. Produce una pudrición suave que color negro o pardo oscuro a nivel de la base del tallo, como consecuencia el follaje se torna flácido, amarillento y finalmente muere la planta. El control en este tipo de enfermedades más que curativo es preventivo se debe tratar de realizar adecuadamente las desinfecciones del suelo y de procurar utilizar material garantizado, es decir, libre de estos agentes, cuando se compra las estacas (Fabara, J. Bermeo, N. y Barberan, C, 1980)

1.3 Hongos fitopatógenos

(Herrera M.y 1994) Manifiesta que los biólogos utilizan el término hongo para incluir organismos eucarióticos, esporógenos, sin clorofila. Los hongos son pequeños organismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que tienen quitina, celulosa, o ambos componentes.

1.3.1 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).

1.3.2 Estructuras somáticas

El talo de los hongos consiste típicamente en filamentos microscópicos ramificados hacia todas partes y que se extienden sobre o dentro del sustrato que se utiliza como alimento. Estos filamentos se denominan hifas. El conjunto de hifas constituyen el micelio de los hongos. (Herrera & Mayea, 1994).

Las hifas pueden ser septadas o sin septos (lisas o cenocíticas) este último tipo de hifa es característico de los hongos inferiores y cuando envejecen pueden formarse septos en varios lugares. Los septos varían en su estructura y pueden ser simples o complejos. (Herrera & Mayea, 1994).

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

1.3.3 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 biótropos, pueden crecer y multiplicarse manteniéndose durante todo su ciclo de vida en la planta huésped, viviendo y obteniendo nutrientes sin causar la muerte. Otros son necrótrofos, en una parte de su ciclo vital requieren una planta huésped pudiendo crecer sobre tejido muerto o producir la muerte celular para absorber los nutrientes del tejido muerto. Muchas infecciones empiezan con una fase biotrófica

que se convierte más tarde en necrotrófica. Algunos hongos son simbioses facultativos, creciendo tanto libres como asociados a plantas, y otros son simbioses obligados, creciendo sólo si están asociados a plantas. (Agrios, 2005).

1.3.4 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, 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, 1979)

1.3.5 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)

Agrios, 2005 indica que 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.

1.3.6 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).

1.3.7 Inducción al desarrollo miceliar

Agrios (2007), recomienda utilizar una trozo del hospedante para inducir al desarrollo miceliar aquellos hongos biótrosos para que el hongo crezca y

esporule sobre medios de cultivos recomendables para hongos que esporule poco en el tejido, tales como hongos de la raíz.

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.

1.3.8 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 o el uso de detergente líquido como “Tween” (unas 2-3 gotas por litro) generalmente resuelve el problema. Los tejidos aparentemente limpios no necesitan lavado, excepto el que se hace durante la desinfección. (French & Hebert, 1980).

1.3.9 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).

1.3.10 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 varia 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. (Agrios, 2007).

1.3.11 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.

1.4 Delimitación de la zona de muestreo

1.4.1 Georreferenciación

La georreferenciación, en primer lugar, posee una definición tecnocientífica, aplicada a la existencia de un objeto en un espacio físico, mediante el establecimiento de relaciones entre las imágenes de rastreo o vector sobre una proyección geográfica o sistema de coordenadas. Por ello la georreferenciación se convierte en central para los modelados de datos realizados por los Sistemas de Información Geográfica (SIG). (Cerde, 2005).

1.4.2 Cuadrantes de muestreo

El método de los cuadrantes es una de las formas más comunes de muestreo de vegetación. Los cuadrantes hacen muestreos más homogéneos y tienen menos impacto de borde en comparación a los transeptos. (Móstacedo & Todd, 2000).

Los cuadrantes de muestreo es la que marca la distancia a un punto es una forma de medición de la disposición espacial horizontal y de abundancia de la vegetación de un lugar en estudio. El método consiste en localizar puntos al azar dentro del área de muestreo. (Cerde, 2005).

1.4.3 Muestreo por cuotas

También denominado en ocasiones “accidental”. Se asienta sobre la base de un buen conocimiento de los estratos de la población y/o de los individuos más “representativos” o “adecuados” para los fines de la investigación. Mantiene, por tanto, semejanzas con el muestreo aleatorio estratificado, pero no tiene carácter de

aleatoriedad de aquel. En este tipo de muestreo se fijan unas “cuotas” que consisten en un número de individuos que reúnen unas determinadas condiciones. Una vez determinada la cuota se eligen los primeros que se encuentren que cumplan esas características. (Carrasco, 2008).

1.5 Pasos para la recolección de muestras

1.5.1 Muestreo por cuotas

En este tipo de muestreo se fijan unas “cuotas” que consisten en un número de individuos que reúnen unas determinadas condiciones. Una vez determinada la cuota se eligen los primeros que se encuentren que cumplan esas características. (Carrasco, 2008).

1.5.2 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).

1.5.3 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:

- **Ahogamiento o secadera:** Muerte rápida y colapso de plántulas muy jóvenes que se cultivan en el campo o en el almácigo.
- **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.
- **Cancro:** Herida localizada o lesión necrótica; con frecuencia sumida bajo la superficie del tallo de una planta leñosa.
- **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.
- **Manchas foliares:** Lesiones localizadas en las hojas de los hospedantes que constan de células muertas y colapsadas.
- **Muerte descendente:** Necrosis generalizada de las ramitas de las plantas que se inicia en sus puntas y avanza hacia su base.
- **Pudrición basal del tallo:** Desintegración de la parte inferior del tallo.
- **Pudrición de la raíz:** Pudrición o desintegración de todo el sistema radical de una planta o parte de él.

- **Pudriciones blandas y pudriciones secas:** Maceración y desintegración de frutos, raíces, bulbos, tubérculos y hojas carnosas de las plantas.
- **Sarna:** Lesiones que se producen sobre el fruto, hojas, tubérculos y otros órganos de las plantas hospedantes, por lo común ligeramente realizadas o bien profundas y agrietadas, lo cual les da una apariencia costrosa.
- **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.

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

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

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.

- **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.
- **Roya:** Muchas lesiones pequeñas, por lo común de color rojizo, que aparecen sobre las hojas o el tallo de las plantas.

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 blancuzco 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).

1.5.4 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).

1.5.5 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).

1.6 Pasos para el aislamiento de patógenos

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

Charles (2008), 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).

1.6.1 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).

Herrera & Mayea (1994), menciona que 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.

1.6.2 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 aislamiento. 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).

1.6.3 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.

1.6.4 Medios de cultivos usados en el aislamiento de hongos

French & Hebert (1980), manifiestan que el medio de cultivo utilizado habitualmente que se encuentran en el mercado es:

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

“La temperatura habitual de incubación de los hongos es entre 25 y 28 °C” (Camacho, 2009)

1.6.5 Métodos de conservación de hongos

La gran diversidad genética del Reino Fungí ha creado la necesidad de establecer estrategias de conservación a largo plazo, dichas estrategias no se deben restringir a coleccionar y conservar el germoplasma, sino que debe incluir un manejo eficiente del material para documentar, caracterizar y evaluar la variabilidad (Fernández, Martínez, Perurena, & Valdez, 2005).

Para el establecimiento de una estrategia de conservación de hongos. Se debe considerar que: todos los cultivos se mantengan vivos y puros, que cada cepa permanezca estable morfológicamente y genéticamente. Además, se debe tomar en cuenta los objetivos de la conservación, las metodologías propuestas y los recursos económicos disponibles, por último, es importante considerar que cada cepa debe conservarse al menos por dos métodos de preservación, uno de los cuales debe ser a largo plazo.

La técnica, más usual de conservación es:

Cultivos en cuñas de agar: También llamado tubos con agar inclinado, consiste en simular las condiciones naturales para lograr un desarrollo completo del hongo. Esto se logra mediante la preparación de medios de cultivo estériles a base de agar, con la adición de nutrientes como los jugos vegetales y extractos naturales, así como también compuestos sintéticos de composición conocida. (Kirsop & Doyle, 1991)

Los tubos llenos con medio de cultivo esterilizado, todavía líquido, se colocan en una posición inclinada, de tal forma que se forme una capa de aproximadamente 3 cm y una superficie inclinada de iguales dimensiones. El medio de cultivo se deja solidificar en la posición lograda. (Merck, 2007)

1.7 Pasos para la identificación de los hongos fitopatógenos.

1.7.1 Observaciones de hongos.

Herrera & Mayea (1994). 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.

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).

1.7.2 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 30, 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 cuerpos 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)

1.8 Estructuras reproductivas

1.8.1 Hongos inferiores y pseudohongos

Los hongos inferiores se caracterizan por poseer micelio cenocítico. Según su reproducción sexual estos hongos pueden pertenecer a dos diferentes clases:

- Clase: Oomycetes: (Ficomycetes) Esta clase de hongos producen oosporas, las que se originan por la unión de dos gametos diferentes, el oogonio y el anteridio. Estas oosporas son esféricas y de pared gruesa. Estos hongos se reproducen asexualmente por medio de esporas flageladas, denominadas zoosporas. Estas zoosporas se encuentran contenidas en cuerpos fructíferos denominados zoosporangios. (Esteli, 2011)
- Clase: Zigomycetes: Esta clase de hongos produce esporas asexuales no móviles contenidas en cuerpos fructíferos denominados esporangios. Sexualmente producen esporas denominadas zigosporas. ((Esteli, 2011)

1.8.2 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. (Esteli, 2011)
- **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. (Esteli, 2011)
- **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. (Esteli, 2011)

CAPÍTULO II

2. Materiales y métodos

2.1 Materiales

2.1.1 Institucionales

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

2.1.2 Recursos humanos

- Autora : Mayra Elizabeth Chile Caiza
- Directora de Proyecto de Investigación: Ing. Karina Marín Mg.
- Miembros del tribunal:

Ing. Agr Santiago Jiménez

Ing. Agr. Luis Benavides

Ing. Edwin Chancusig Mg.

2.1.3 Materiales de campo

- Muestra de raíz de babaco (*Carica pentagona.*)
- Muestra de tallo de babaco (*Carica pentagona.*)
- Muestra de hoja de babaco (*Carica pentagona.*)
- Tijeras
- Fundas de papel
- Fundas de plástico
- Bisturí
- Cámara SONY 16.1 MP
- Libro de campo

2.1.4 Recursos tecnológicos

2.1.4.1 Equipos

- Cámara de crecimiento o incubadora
- Balanza digital
- Estufa eléctrica
- Refrigeradora R1-425 QUARZO INDURAMA
- Cámara de flujo laminar aurora mini con base
- Autoclave semiautomática 2540-23 litros
- Cámara científica INFINITY
- Desmineralizador de agua WATER WISE 9000
- Microscopio Trinocular OLYMPUS CX31
- Incubadora IN110

2.1.4.2 Materiales de laboratorio

- Micro tubos
- Goteros de plástico
- Papel aluminio
- Pipeta
- Marcadores permanentes
- Asa de siembra
- Reposeros plásticos con tapa
- Cajas Petri
- Papel absorbente
- Parafilm de laboratorio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Vaso de precipitación de 50-100-500-1000 ml
- Erlenmeyer de 500-1000 ml
- Algodón
- Cinta adhesiva transparente de 1,5 cm de ancho
- Pinzas
- Bisturí
- Botellón de agua y soporte
- Cintas para etiquetar
- Cintas para medir el pH
- Cofias
- Mandil
- Mascarillas
- Guantes
- Protectores para calzado
- Cucharas de plástico
- Cucharas de cocina

- Encendedor
- Esferos
- Material didáctico
- Mechas para mechero
- Mechero de alcohol
- Olla
- Pinzas
- Taburetes
- Varilla de agitación

2.1.4.3 Materiales de aseo

- Pala para basura
- Escoba
- Trapeadores
- Detergente
- Limpiones
- Lavacaros
- Baldes de 10 l
- Basureros
- Fundas de basura
- Jabón de cocina

2.1.4.4 Reactivos

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

- Levadura
- Glucosa

2.1.4.5 Materiales de oficina

- Computadora
- Internet
- Flash Memory
- Impresora

2.2 Diseño de la investigación

2.2.1 Preguntas Directrices

- ¿Cuál es el principal hongo fitopatógeno que afecta económicamente el cultivo de babaco (*Carica pentagona*) en el sector Salcedo?
- ¿Cuáles son las características de los hongos fitopatógenos encontrados?
- ¿Cuáles son las macro y microestructuras del hongo fitopatógeno?
- ¿Cuál es el ciclo de vida del hongo fitopatógeno en condiciones de laboratorio?
- ¿Cómo es una guía didáctica para la caracterización morfológica del hongo en estudio?

2.2.2 Operacionalización de las variables

Tabla 3. Operacionalización de las variables

CONCEPTUALIZACIÓN	INDICADOR	ÍNDICE	TÉCNICAS	INSTRUMENTO
Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de Babaco	Talo	Tipo	Observación Microscópica Estereoscópica	Estereoscopio/ microscopio
	Reproducción	Tipo		
	Espora	Tipo		
	Micelio	µm		

2.3 Diseño metodológico

2.3.1 Investigación Descriptiva

La metodología descriptiva puntualiza como se ocasionaron los fenómenos que se investigaron, también se ocupó la descripción de datos y características de una población.

Esta investigación se realizó dentro del tipo descriptivo mediante revisiones de materiales bibliográficos ya que necesita ser descrito sigilosamente para recopilar información de las característica morfológicas que presentan el hongos permitiendo identificar al patógeno que causa más daño causa en el cultivo para analizar sus signos y síntomas que presentan en la planta en campo y su ciclo de vida en mediante las muestras obtenidas en laboratorio; permitiéndonos analizar, discutir y puntualizar los datos obtenidos en laboratorio y así determinar los aspectos más relevantes de esta investigación.

2.4 Método

El diseño no experimental es aquel que se realiza sin manipular deliberadamente las variables. Es observar fenómenos tal y como se dan en su contexto natural, es decir que el investigador no podrá realizar ningún cambio en las variables que influyen en el hecho el cual va analizar, verificando únicamente los efectos, para alcanzar sus objetivos de estudio y que las interrogantes planteadas tengan respuesta.

La investigación se direcciona en un diseño no experimental, pues no se realizó manipulación de ninguna variable, es decir no se cambió la realidad del cultivo de Babaco en el sector.

2.5. Métodos y técnicas

2.5.1 Métodos lógicos

2.5.1.1 Descriptivo analítico

Utilizamos este método en la investigación para describir el hongo Fito patógeno encontrado en la muestra recogida en el cultivo y analizamos la muestra recogida para poder confirmar los signos y síntomas el hongo identificado.

2.5.1.2 Deductivo.

Para el avance de la investigación se empleó este método porque nos permito recopilar la información de las característica morfológica que presentan el hongo permitiendo identificar al hongo fitopatógeno de mayor pérdida económica en el cultivo de babaco (*Carica pentágona*).

2.5.1.3 Comparativo.

Es un procedimiento donde se realizó una de búsqueda sistemática de similitudes con el objeto de estudiar su parentesco entre la identificación de los hongos y para encontrar el patógeno de mayor pérdida en el cultivo y con su forma de reproducción.

2.5.2 Técnicas

2.5.2.1 Observación

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

La observación permitirá conocer la realidad en la que se desarrollan los hongos, además permitirá observar los signos y síntomas que presentan en el cultivo. Como instrumento se utilizó un cuaderno de campo con el fin de apuntar todos los sucesos observados.

2.5.2.2 Fichaje

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

Observación científica, fichaje, permitió conocer la realidad en la que se desarrollan los Hongos, además permitió observar los signos y síntomas que presentan en el cultivo y poder confirmar en una planta sana.

2.6 Delimitación del lugar

2.6.1 Ubicación del ensayo

La presente investigación se llevó a cabo en la Provincia de Cotopaxi, Cantón Salcedo mismo que se encuentra ubicado en la parte sur del Cantón Latacunga.

2.6.2 Ubicación Política

- **País:** Ecuador
- **Provincia:** Cotopaxi
- **Cantón:** Salcedo
- **Ciudad:** Salcedo

2.6.3 Ubicación Geográfica

Tabla 4. Coordenadas geográficas

Ubicación	Ecuador
Latitud	1° 03'00" S
Longitud	78° 35'00" W
Altitud	2800 msnm

Fuente: INAMHI 2013

Elaborado por: Mayra Chile

2.6.4 Características del lugar

Tabla 5. Condiciones edafoclimáticas

Condiciones edafoclimáticas	
Temperatura anual media (°C)	17 - 15°C
Humedad Relativa (%)	80 %
Precipitación anual (mm)	500 – 1500

Fuente: INAMHI 2013

Elaborado por: Mayra Chile

Tabla 6. Aspectos físicos

País	Ecuador
Provincia	Cotopaxi
Capital	Latacunga
Cantón	Salcedo
Altitud	2800 msnm
Ubicación	Sur del Cantón Latacunga

Fuente: Datos Internet

Elaborado por: Mayra Chile

Tabla 7. Límites

NORTE	Barrio San Francisco
SUR	Barrio Yachil
ESTE	Barrio San Marco
OESTE	Barrio Culua

Fuente: GAD Municipal del Cantón Salcedo

Elaborado por: Mayra Chile

2.7 Metodología

2.7.1 Reconocimiento del Lugar

Se realizó un viaje al Sector San Francisco perteneciente al Cantón Salcedo, Provincia de Cotopaxi donde se eligieron las mejores muestras de la parte de la planta afectada por el hongo para el procedimiento en el laboratorio tomando en cuenta el ciclo de vida del patógeno.

2.7.2 Diagnóstico del Sector Escogido

Basándose en el análisis agroclimático del sitio a través de observaciones y con la ayuda de un GPS se determinó lo siguiente.

Tabla 8. ANÁLISIS AGROCLIMÁTICOS

Altitud	2800 msnm
Temperatura	17 °C
Suelo	Arcilloso
Ph	8
Humedad relativa	92%

Fuente: El investigador

Elaborado por: Mayra Chile

2.7.3 Diagnóstico del cultivo

- Se Identificó planta hospedante: en este caso es de babaco (*Carica pentagona*) utilizamos información propia y del productor, obteniendo el tipo de suelo, prácticas de riego, fertilización y aplicación de fungicidas.
- Se observó los signos y síntomas de la enfermedad de manchas, añublo foliar, pudriciones, canchales o agallas.
- Se realizó una observación con una lupa en campo de alto aumento en el campo y un estereoscopio en laboratorio de la superficie de las lesiones o tejidos muertos; esto nos permitió observar la presencia de esporas, cuerpos fructíferos del hongo.

2.7.4 Toma de muestras

El método utilizado para esta actividad será por cuotas, en la cual se fijan unas “cuotas” que consistió en un número de individuos que reúnen unas determinadas condiciones se eligieron los primeros que se encuentren que cumplan esas características.

2.7.4.1 Procedimientos en la toma de muestras

Se extrajeron diferentes partes de plantas afectadas utilizando un bisturí o tijeras en cada corte se procedió a esterilizar los materiales con alcohol y las muestras vegetales se envasaron en bolsas de papel para que el exceso de humedad sea absorbido por el papel las muestras, posteriormente se procedió a colocar en una funda ziploc con su respectiva codificación y se trasladó en una hielera para evitar la deshidratación de las muestras.

2.8 Delimitación de laboratorio

El laboratorio está ubicado a 300m al sur de la Maltería Plaza, entre la calle General Montero y la carretera Panamericana Sur, en el Cantón Latacunga.

2.8.1 Ubicación política

- **País:** Ecuador
- **Provincia:** Cotopaxi
- **Cantón:** Latacunga
- **Ciudad:** Latacunga

2.8.2 Ubicación geográfica

- **Latitud:** 0°55'44.8''S
- **Longitud:** 78°37.24.2''W
- **Altitud:** 2850 msnm

2.8.3 Preparación del medio de cultivo

2.8.3.1 Materiales

- Cuchillo
- Olla
- Cernidor
- Erlenmeyer
- Vasos de precipitación
- Varilla
- Cajas Petri
- Papel parafilm

2.8.3.2 Reactivos

- 15g de Agar
- 20g de dextrosa o sacarosa
- 2 g de levadura
- 500ml de agua destilada
- 200ml de almidón

2.8.3.3 Equipos

- Auto clave
- Cocina eléctrica
- Cámara de flujo laminar
- Incubadora

2.8.3.4 Preparación del AGAR

1. Lavar y pelar las papas
2. Poner a hervir las papas en 500ml de agua destilada o purificada durante 10 o 15 minutos
3. Filtrar el extracto
4. Adicionar agua destilada hasta completar lo que se evaporó
5. Agregar los otros ingredientes (glucosa o sacarosa, agar y levadura)
6. Calentar a fuego lento la mezcla por 1o 2 minutos
7. Colocar en dos Erlenmeyer en cantidades iguales (250 ml)
8. Tapar bien con algodón y papel aluminio para que no se riegue
9. Colocar en el autoclave durante 60 minutos y a 250 grados
10. Dejar enfriar por 20 minutos más o menos.
11. Colocar la preparación de manera equitativa en las cajas Petri

2.8.4 Aislamiento

Tomamos porciones de las muestras con tejido enfermo, se procedió a lavar en agua corriente, secamos los tejidos con papel absorbente y por último se desinfectó en una solución 2:1 de cloro, se lavó dos veces con agua destilada estéril y se eliminó excesos de agua, colocamos el interior de una caja de Petri estéril que contenga papel filtro esterilizado, este material lavado, desinfectado y seco se coloca en cajas con PDA. Se incubó a 24°C y se observa durante los siguientes 5 días, Se caracterizó al patógeno que se desarrolló durante este tiempo de observación.

2.8.5 Purificación

Se cortó puntas de micelio del borde de la colonia en crecimiento, mediante agujas de disección flameadas. Esta pequeña porción del hongo y agar se depositaron en otras cajas con medios de cultivo estéril y de esta forma se obtienen cultivos puros.

2.8.6 Inoculación

Se procedió a inocular el hongo fitopatógeno en el medio de cultivo, bajo condiciones controladas de esterilidad y asepsia. Se esterilizaron los materiales a utilizar.

Para este proceso realizamos un raspado del medio de cultivo, luego se procedió a la siembra de esporas o haustorios y por último realizamos el cierre hermético de la caja petri con cintas parafilm.

2.8.7 Incubación

Para la incubación se usó cajas Petri, las mismas que luego de la siembra se colocó a en la incubadora a 24 °C y 70% de humedad relativa, durante 7 días aproximadamente según tengamos el desarrollo de los micelios del hongo.

2.8.8 Caracterización

Observación microscópica

Se tomó con mucho cuidado una pequeña muestra de la colonia del hongo a estudiar con un bisturí, después colocamos una gota de agua destilada sobre el portaobjetos y se procede a poner la muestra sobre el portaobjetos para luego colocar el cubreobjetos y sea observado en el microscopio con un aumento de 20x.

Con la ayuda de un bisturí estéril se cuadricula el medio de cultivo de la caja de Petri con PDA en cuadros de aproximadamente 1 cm², este paso se realizó en el interior de una campana de flujo laminar preparada para trabajar bajo condiciones asépticas.

1. Dentro de la cámara de flujo laminar, con la ayuda de un bisturí estéril, uno de los cuadros de PDA se transfirió al portaobjetos que está en la cámara de microcultivo; este portaobjetos debe de estar sobre el triángulo de vidrio.
2. Con la aguja de disección estéril o con un asa bacteriológica estéril se lleva el inóculo a las orillas superiores e inferiores del cuadro de PDA.

3. Se colocó el cubre objetos sobre el cuadro de PDA inoculado, procurando que quede bien centrado.
4. Se agregó 2ml de agua estéril, en el fondo de la cámara de microcultivo para mantener la humedad, sin mojar el área de crecimiento del hongo. Los pasos 1-5 se llevan a cabo en el interior de una campana de flujo laminar o en mesas de trabajo en condiciones asépticas.
5. Se selló la caja Petri del microcultivo con el parafilm y se rotuló.
6. El crecimiento del hongo se detiene cada 24 horas.
7. Se repiten los pasos del 1 al 7 para más microcultivos, y detener su desarrollo a la 48, 72 y 96 horas. Respectivamente.

2.8.9 Descripción

Para esto se utilizó el método comparativo a través de fotos microscópicas y macroscópicas y el uso de claves taxonómicas.

De las cepas aisladas se hizo observaciones macroscópicas tales como: forma de la colonia del hongo, color característico del medio de cultivo, halo de crecimiento de cada una de las colonias.

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

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

- Se prepararon las cajas Petri con las cepas de hongos aislados, una en cada caja Petri.

- Se tomaron un trozo de cinta masking transparente de seis cm de largo y se fijaron en el cuerpo fructífero, tomando directamente de la caja Petri, donde se encuentran las cepas puras.
- Se observaron al microscopio con objetivo de adecuados y se procedió a tomar fotografías microscópicas de las diferentes estructuras con una cámara.
- Se creó un archivo fotográfico de las cepas, luego se realizó una resiembra, la cual nos permitió rectificar el desarrollo del hongo en estudio.
- Se realizó un cuadro comparativo con los hongos reaislados, para ver si eran el mismo hongo que se inoculó.

CAPÍTULO III

3.- Resultados y conclusiones

3.1 Determinación del hongo fitopatógeno de mayor impacto en el cultivo de Babaco (*Carica pentagona*)

3.1.1 Observación en campo

Mediante observación investigada realizada en la provincia de Cotopaxi cantón Salcedo sector San Francisco , se pudo determinar que el hongo fitopatógeno de mayor pérdida económica en el cultivo de Babaco (*Carica pentagona*) es *Fusarium oxysporum* por que produce una pérdida del 40 % del total de su producción ya que a partir de los primeros meses sus hojas presentan una clorosis y/o flacidez de sus hojas bajas, como se ve en el gráfico 1. Presentando una pérdida 80% total en época de cosecha del cultivo.



Gráfico 1: Inicio de *Fusarium* en el cultivo de Babaco
Fuente: Mayra Chile

La Fusariosis es causado por el hongo *Fusarium Oxysporum* es probablemente la enfermedad del Babaco más común. Esta es una de las especies de mayor importancia fitopatológica, una de las que cuenta con mayor número de plantas hospedantes y una de las especies que mayor daño económico ocasiona entre los patógenos de plantas. La especie tiene la capacidad de atacar un gran número de plantas de importancia agrícola y ocasiona principalmente marchitamientos vasculares, seguidos de la muerte ascendente de la planta (Nelson, 1981).

Fusarium actualmente representa el segundo hongo más frecuente en los cultivos de babaco según conversaciones con los agricultores del sector, es el causante de infección fúngica invasiva en la planta, frecuentemente con resultados letales como muerte total. (Bushelman et al., 1995; Ortoneda et al., 2004)

El ciclo de vida del patógeno progresa hasta la marchitez completa de las plantas, como se ve en el gráfico 2.



Gráfico 2: Marchitez completa que causa *fusariosis* en la planta.
Fuente: Mayra Chile

3.2 Signos y síntomas del hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* en el cultivo Babaco (*Carica pentagona*).

3.2.1 Signos y síntomas del hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* bibliográficamente.

Fusariosis o Fusarium conocida también como la pudrición de las raíces, debido a que por ahí inicia su ataque causando el marchitamiento de la planta. Presenta síntomas muy similares a la muerte descendente.

Ocasiona la destrucción del sistema radical del babaco. A nivel de la corona, el tejido se torna de un color café que conforme avanza la enfermedad su consistencia se torna acuosa, las hojas se vuelven cloróticas, se marchitan hasta que se caen, los frutos caen también hasta que muere toda la planta.

El género Fusarium es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y plantas. Debido a su capacidad de crecer a 37°C, son considerados oportunistas.

De las más de 100 especies de Fusarium descritas, sólo 12 de ellas pueden considerarse patógenas para el humano, entre ellas destacan *F. solani*, *F. oxysporum* y *F. verticilloides*, en orden decreciente de frecuencia.

La taxonomía para este género es bastante compleja y ha sufrido diversos cambios desde las primeras descripciones hechas por Link en 1803. A pesar de los avances en la taxonomía molecular, y la aparición de metodologías como MALDI-TOF, la taxonomía clásica continúa vigente, aunque requiere de la experiencia del observador.

Al microscopio, la fiálide es generalmente fina, con forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas; monofialídica (que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros).

Las microconidias son esporas unicelulares, sin septas, hialinas, de elipsoidales a cilíndricas, rectas o curvadas.

Las macroconidias, son esporas de pared delgada, fusiformes, largas, moderadamente curvadas, con varias células y de tres a cinco septas transversales, con la célula basal elongada y la célula basal atenuada.

Las clamidosporas son esporas formadas a partir de la condensación de células de las hifas o de las macroconidias y se caracterizan por poseer paredes bastante gruesas, lo que las hace muy resistentes a condiciones ambientales desfavorables o a la ausencia de plantas hospedantes. Las clamidosporas se forman simples o en pares, son terminales o intercalares y son las principales responsables de la sobrevivencia del hongo en tejidos muertos de plantas hospedantes o en el suelo (Nelson, 1981).

Existen distintos medios que permiten su crecimiento; entre ellos, agar papa dextrosa (PDA), agar Sabouraud, agar Clavel (CLA), agar de Spezieller Nährstoff-farmer (SNA) y agar avena. Los agares PDA y Sabouraud permiten observar el diámetro de la colonia, morfología y pigmento (café, rojo, violeta, naranja, gris, blanco) difusible al medio, mientras que el agar CLA, permite observar el desarrollo de cadenas de microconidios y morfología en detalle de macroconidios. (Leslie J F, 2006, Piontelli, E. 2011)

3.2.2 Signos y síntomas observados en campo de *Fusarium oxysporum*

Mediante la observación realizada en campo para determinar los signos y síntomas del hongo fitopatógeno que más daño causa visitamos los cultivos de Babaco en invernadero y se observó que había muchas plantas que presentaban muerte descendente con clorosis y amortiguamiento de hojas y tallo, de la misma

manera otras ya sin hojas y con pocos frutos que colgaban del tallo pero de la misma forma amortiguados con los cuales se determinó que estas plantas han sido afectadas por el hongo *Fusarium oxysporum*.

Se observan plantas cuyas hojas inicia clorosis y/o flacidez de las hojas bajas, se marchitan y se secan desde la punta hasta la base, gráfico 3.



Gráfico 3: Clorosis y marchitamiento en hojas
Fuente: Mayra Chile

La enfermedad progresa hasta la marchitez completa de la planta, gráfico 4. Los síntomas se presentan con frecuencia a lo largo de un lado de la planta. La marchitez es principalmente causada por la colonización de los haces vasculares por lo que un síntoma característico de la enfermedad es la decoloración vascular.



Gráfico 4: Marchitez completa de la planta
Fuente: Mayra Chile

Dado que este tipo de síntoma puede ser causado por otras enfermedades, hay que inspeccionar el tallo y cortarlo en forma longitudinal gráfico 5 para completar el diagnóstico: la podredumbre basal por *Fusarium* se confirma si observamos la decoloración castaña y la destrucción parcial o total de las raíces, gráfico 6 así como una pudrición parda (Sinavimo, 2010).



Gráfico 5: Corte longitudinal y podredumbre vascular
Fuente: Mayra Chile



Gráfico 6: Destrucción de la raíz
Fuente: Mayra Chile

Las hojas infectadas o las partes de la planta infectadas pierden su turgencia, se debilitan, adquieren una tonalidad que va del verde claro al amarillo verdoso, decaen y finalmente se marchitan y mueren.

En los vasos xilemáticos de tallos, raíces y otros órganos afectados, puede haber micelio y esporas del hongo. Algunos de los vasos xilemáticos son obstruidos por el micelio, las esporas o bien los polisacáridos que produce el hongo (Agrios, 1996; citado por Rueda, 2010).

Fusarium oxysporum infecta a la planta a través de las raíces y una vez que alcanza el sistema vascular coloniza toda la planta causando la marchitez por la colonización vascular. El patógeno luego se reproduce produciendo microconidias, macroconidias y clamidiosporas.

3.3 Caracterización de macro y micro estructuras de *Fusarium oxysporum*.

3.3.1 Macro estructuras

En el laboratorio se realizó una observación detallada de la muestra recolectada, observando en la misma una decoloración y marchitamiento del tallo.

Fusarium es un hongo que crece rápidamente en agar papa dextrosa gráfico 7, a 25 °C, produciendo un micelio algodonoso e incoloro al principio gráfico 8, pero conforme madura adquiere un color crema o blanquecino y bajo ciertas condiciones adquiere una tonalidad rosa pálido, rojo o púrpura gráfico 9. (Días de Castro Et Al., 2007)

Este patógeno produjo un micelio septado hilado donde se pueden observar tres tipos de diferentes esporas axesuales:

Se formó primero microconidias esporas que crecieron en el micelio de forma elipsoidal y cilíndrica, curvada.

Luego los macroconidios esporas típicas del *fusarium* que se produjeron en el micelio aéreo solo y algunos en cadenas y con una o dos células son esporas de pared delgada, algunas largas y moderadamente curvadas, Según (Díaz de Castro Et Al., 2007) estas son las esporas que el hongo produce con mayor frecuencia y abundancia en todas las condiciones.

Estas esporas son las que el hongo forma con más frecuencia en el interior de los vasos de las plantas infectadas, o en el torrente sanguíneo en el caso de animales y humanos (Díaz de Castro Et Al., 2007).

También se observó el último tipo de espora que son las clamidiosporas, que están constituidas por una o dos células, son terminales y las responsables de la sobrevivencia del hongo por más tiempo. (Nelson, 1981).

Estos tres tipos de esporas se formaron en el medio de cultivo de PDA de hongo durante el proceso práctico de esta investigación.

Las colonias presentaron un aspecto veloso en el centro y difuso a su alrededor, el crecimiento lento de 2.5cm a los siete días gráfico 10, inicialmente se presentó de color blanco y luego en el fondo de la siembra se tornó gris.

Internamente puede observarse una decoloración café en los tejidos vasculares cuando la planta es atacada por *Fusarium oxysporum* las raíces permanecen inicialmente intactas, en contraposición a los ataques por otras especies de *Fusarium* que destruyen la base del tallo o las raíces. (Cardenas, 2002)



Gráfico 7: Siembra en PDA.
Fuente: Mayra Chile

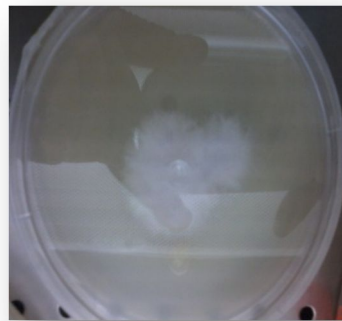


Gráfico 8: Micelio algodónoso y blanco.
Fuente: Mayra Chile

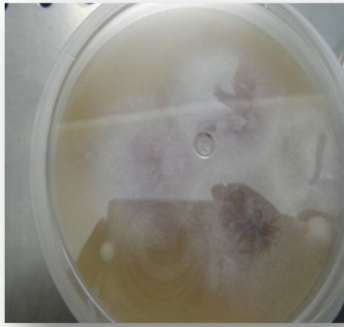


Gráfico 9: Micelio de color rosa durazno al fondo.
Fuente: Mayra Chile



Gráfico 10: Micelio rosa y gris a los 7 días.
Fuente: Mayra Chile

3.3.2 Microestructuras

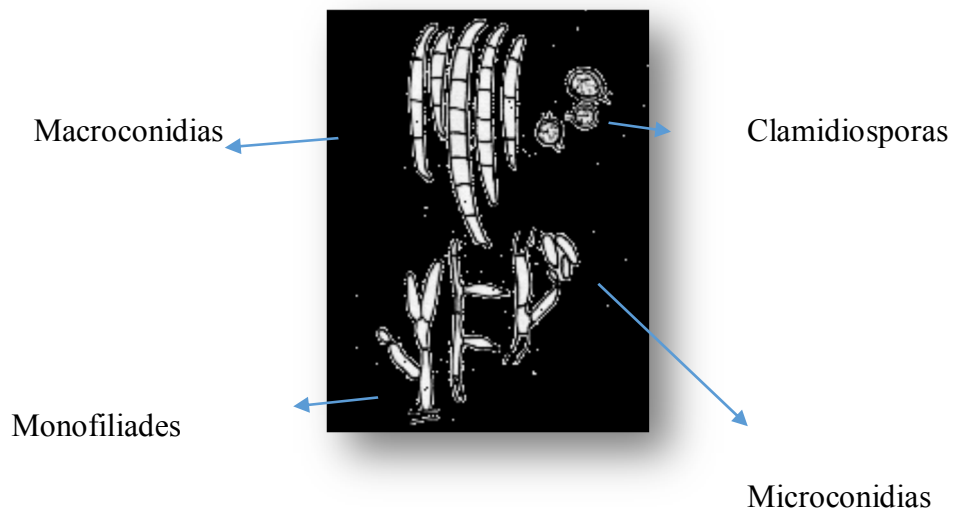


Gráfico 11.- Estructura microscópica de *fusarium oxysporum*

Fuente: Araceli Monzón y Juan Luis Rodríguez.

3.3.2.1 Infección

Se forma mediante una planta susceptible que por condiciones climáticas favorables para el patógeno ya sea por exceso de agua, plantas contaminadas o por haber utilizado herramientas sin desinfectar, este hongo se empieza a desarrollar

en la raíz, causando taponamiento en los haces vasculares de la planta, impidiendo que las sustancias circulen por el xilema, provocando así muerte de tejidos del tallo y provocando la muerte descendente de la planta.

3.3.2.2 Formación de microconidias

Luego de la infección se empiezan a formar los microconidias, donde según la literatura del investigador Luis Pérez Vicente del Instituto de Investigación de Sanidad Vegetal (INISAV) de Santa Marta - Colombia ratifica que los microconidias cumplen el papel de invasión sistémica de los tejidos huésped los cuales se transportan fácilmente por el agua y los nutrientes.

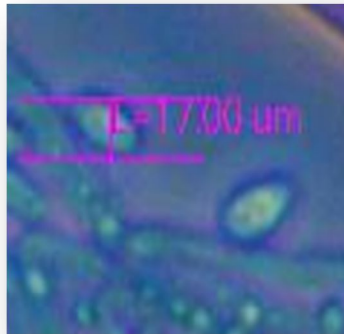
3.3.2.3 Formación de macroconidias

Según el investigador del (INISAV) este tipo de esporas son las encardadas de provocar la infección en campo.

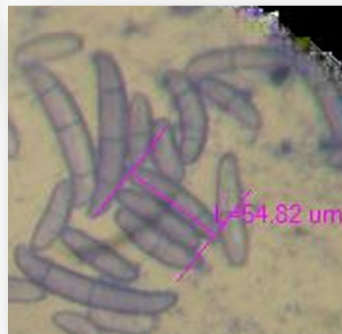
3.3.2.4 Formación de clamidosporas.

Es la última fase del ciclo de vida del *Fusarium* pudiendo ser esta no la más importante, este se forma por una o dos células, tiene una pared gruesa, se puede formar solitario o en cadenas y puede sobrevivir muchos períodos en el suelo con o sin la planta huésped susceptible.

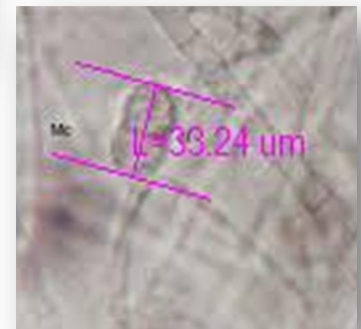
Gráfico 12. Descripción de micro estructuras de *Fusarium oxysporum* vista con un lente de 20x.



A



B




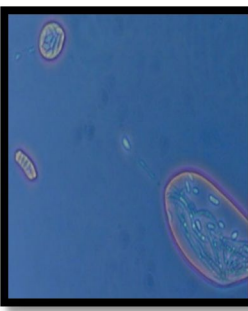






C

Gráfico 12: Figura A. observamos la microconidia con una longitud de 17,00 μm ; Figura B. tenemos la macroconidia que tiene una longitud de 54,32 μm ; Figura C. La clamidospora es tiene una longitud de 33.24 μm . Todas las imágenes fueron tomadas en laboratorio con el microscopio Infinity Capture y medidas con el programa Infinity Analyce.

3.4 Descripción de ciclo de vida del hongo *Fusarium oxysporum*, en condiciones de laboratorio.

Tabla 9. Descripción del ciclo de vida

Actividad	Tiempo/Temperatura	Imagen	Observación Microscopio	Aumento
Inoculación del hongo	10 min. a 19 °C			
Presencia de microconidias	3 días a 24 °C			20x 0.40 pH 1
Formación de macroconidias	5 días a 24 °C			20x 0.40 pH 1
Liberación de clamidosporas	7 días a 24 °C			20x 0.40 pH 1

CONCLUSIONES

- ✓ Se logró determinar en campo a *Fusarium oxysporum* como hongo fitopatógeno que causa mayor pérdida económica en la producción del cultivo de babaco.

- ✓ Los signos y síntomas que presenta *Fusarium oxysporum* en la planta fue clorosis foliar, marchitamiento, desdoblamiento vascular y pudrición radicular, síntomas observados en campo.

- ✓ La caracterización de macro y micro estructuras obtenidas en el medio de cultivo PDA nos permitió observar micelio blanquecino que produce este hongo e identificar microscópicamente macroconidias, microconidias y las clamidosporas, las cuales fueron comparadas con la bibliografía.

- ✓ El ciclo de vida fue de 7 días primero formando un micelio blanquecino donde pudimos observar microconidias a los 3 días, las macroconidias a los 5 y observando clamidospora a los 7 días, dándonos un total de 7 días y corroborando con lo escrito.

- ✓ La guía didáctica nos permite dar información detallada y de mucha importancia a cerca de este hongo fitopatógeno que servirá a los productores de babaco.

RECOMENDACIONES

- ✓ Una investigación previa acerca de las enfermedades que causan daño en el cultivo para determinar el hongo que más acata al cultivo.

- ✓ Observar los signos y síntomas que presenta la enfermedad en campo, y comparar bibliográficamente para identificar con exactitud el hongo que vamos a investigar.

- ✓ Caracterizar las macro y micro estructuras utilizando el lente 20, el cual nos permitió observar con más claridad las estructuras del hongo.

- ✓ Determinar el ciclo de vida del hongo con la ayuda de la caracterización de macro y micro estructuras, para saber la fase que se puede controlar este patógeno.

- ✓ Compartir la presente investigación utilizando la guía didáctica como medio de información para que los agricultores puedan dar un mejor control a los hongos fitopatógenos.

Elaboración de la guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo fusarium (*Fusarium oxysporum*).

Resumen

Fusarium o muerte descendente de la planta, en el cultivo de Babaco (*Carica pentagona*) es la enfermedad que más daño causa provocando complejas pérdidas por parte de este hongo fitopatógeno.

Durante los primeros ciclos de vida aparecen los síntomas como clorosis y/o flacidez foliar, marchitamiento completo de la planta y decoloración vascular conjuntamente de pudrición total o parcial de las raíces. Observados en los invernaderos del cantón Salcedo sector San Francisco.

Los objetivos de este estudio fueron identificar el hongo que más daño causa al cultivo, identificar signos y síntomas de fusariosis, caracterizar macro y micro estructuras en laboratorio, describir el ciclo de vida del hongo fitopatógeno y elaborar una guía didáctica.

Las muestras de las plantas enfermas con síntomas de fusariosis se recolectaron en el cantón Salcedo sector San Francisco. La determinación del agente causal de esta enfermedad se realizó en campo, observando los signos y síntomas, y la otra en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi utilizando como medio de cultivo PDA (Agar Papa Dextrosa). Unidos los dos métodos se identificó a *Fusarium oxysporum* como causante de la fusariosis o muerte descendente del cultivo de Babaco.

Las macroestructuras de este hongo, presenta micelio blanquecino y en el fondo del medio de cultivo se torna un color rosa durazno, estas características se demostró en laboratorio macroscópicamente siendo comparadas con la bibliografía para mayor certeza. Mientras que en su microestructura *Fusarium oxysporum* desarrolla Microconidias, Macroconidias y Clamidosporas.

La importancia de este estudio es determinar como causa daño esta enfermedad, permitiéndonos así elaborar una guía didáctica caracterizada de *Fusarium oxysporum* que servirá a los agricultores de la zona y del país.

Introducción

Según entrevistas realizadas a los agricultores del sector Salcedo el problema de más incidencia es el patógeno *Fusarium oxysporum* el cual provoca la enfermedad conocida comúnmente como Marchitez o muerte de la planta debido a que ataca los tejidos de la misma impidiendo el paso de los nutrientes. *Fusarium oxysporum* permanece en el suelo por largos periodos considerado así como un saprófito, sin embargo, tienen la capacidad para ingresar a la planta por medio de la raíz y tapando los haces vasculares y provocando la muerte tejidos. Sus fases de crecimiento son los microconidios los cuales son los encargados de invasión de tejidos, los macroconidios se consideran los más peligrosos porque son los encargados de la infección y las clamidosporas son las que sobreviven muchos periodos, en el suelo.

Materiales y métodos

Toma de muestras

El método utilizado para esta actividad será por cuotas, en la cual se fijan unas “cuotas” que consistió en un número de individuos que reúnen unas determinadas condiciones se eligieron los primeros que se encuentren que cumplan esas características.

Procedimientos en la toma de muestras

Se extrajeron diferentes partes de plantas afectadas utilizando un bisturí o tijeras en cada corte se procedió a esterilizar los materiales con alcohol y las muestras vegetales se envasaron en bolsas de papel para que el exceso de humedad sea absorbido por el papel las muestras, posteriormente se procedió a colocar en una funda ziplop con su respectiva codificación y se trasladó en una hielera para evitar la deshidratación de las muestras.

Laboratorio

Preparación del medio de cultivo PDA

Materiales

- Cuchillo
- Olla
- Cernidor
- Erlenmeyer
- Vasos de precipitación
- Varilla
- Cajas Petri
- Papel parafim

Reactivos

- 15g de Agar
- 20g de dextrosa o sacarosa
- 2 g de levadura
- 500ml de agua destilada
- 200ml de almidón

Equipos

- Auto clave
- Cocina eléctrica
- Cámara de flujo laminar
- Incubadora

Preparación

1. Lavar y pelar las papas
2. Poner a hervir las papas en 500ml de agua destilada o purificada durante 10 o 15 minutos
3. Filtrar el extracto
4. Adicionar agua destilada hasta completar lo que se evaporo
5. Agregar los otros ingredientes (glucosa o sacarosa, agar y levadura)
6. Calentar a fuego lento la mezcla por 1 o 2 minutos
7. Colocar en dos Erlenmeyer en cantidades iguales (250 ml)
8. Tapar bien con algodón y papel aluminio para que no se riegue
9. Colocar en el autoclave durante 60 minutos y a 250 grados
10. Dejar enfriar por 20 minutos más o menos.
11. Colocar la preparación de manera equitativa en las cajas Petri

Aislamiento

Tomamos porciones de las muestras con tejido enfermo, se procedió a lavar en agua corriente, secamos los tejidos con papel absorbente y por último se desinfecto en una solución 2:1 de cloro, se lavó dos veces con agua destilada estéril y se eliminó excesos de agua, colocamos el interior de una caja de Petri estéril que contenga papel filtro esterilizado, este material lavado, desinfectado y seco se coloca en cajas con PDA y/o Jugo v8 agar solidificado. Se incubo a 24°C y se observa durante los siguientes 5 días, caracterice al patógeno que se desarrolla durante este tiempo de observación.

Purificación

Se cortó puntas de micelio del borde de la colonia en crecimiento, mediante agujas de disección flameadas. Esta pequeña porción del hongo y agar se depositaron en otras cajas con medios de cultivo estéril y de esta forma se obtienen cultivos puros.

Inoculación

Se procedió a inocular el hongo Fitopatógeno en el medio de cultivo, bajo condiciones controladas de esterilidad y asepsia. Se esterilizaron los materiales a utilizar.

Para este proceso realizamos un raspado del medio de cultivo, luego se procedió a la siembra de esporas o haustorios y por último realizamos el cierre hermético de la caja Petri con Parafilm.

Incubación

Para la incubación se usó cajas Petri, las mismas que luego de la siembra se colocó a en la incubadora a 24 °C y 70% de humedad relativa, durante 7 días aproximadamente según tengamos el desarrollo de los micelios del hongo.

Caracterización

Observación microscópica

Se tomó con mucho cuidado una pequeña muestra de la colonia del hongo a estudiar con un bisturí, después colocamos una gota de agua destilada sobre el portaobjetos y se procede a poner la muestra sobre el portaobjetos para luego colocar el cubreobjetos y sea observado en el microscopio con un aumento de 20x.

Con la ayuda de un bisturí estéril se cuadrícula el medio de cultivo de la caja de Petri con PDA en cuadros de aproximadamente 1 cm², este paso se realizó en el interior de una campana de flujo laminar preparada para trabajar bajo condiciones asépticas

1. Dentro de la cámara de flujo laminar, con la ayuda de un bisturí estéril, uno de los cuadros de PDA se transfirió al portaobjetos que está en la cámara de microcultivo; este portaobjetos debe de estar sobre el triángulo de vidrio.
2. Con la aguja de disección estéril o con un asa bacteriológica estéril se lleva el inóculo a las orillas superiores e inferiores del cuadro de PDA.
3. Se colocó el cubre objetos sobre el cuadro de PDA inoculado, procurando que quede bien centrado.
4. Se agregó 2ml de agua estéril, en el fondo de la cámara de microcultivo para mantener la humedad, sin mojar el área de crecimiento del hongo. Los pasos 1-5 se llevan a cabo en el interior de una campana de flujo laminar o en mesas de trabajo en condiciones asépticas.
5. Se selló la caja Petri del microcultivo con el Parafilm y se rotulo.
6. El crecimiento del hongo se detiene cada 24 horas.
7. Se repiten los pasos del 1 al 7 para mas microcultivos, y detener su desarrollo a la 48, 72 y 96 horas. Respectivamente.

Descripción

Caracterización de hongos fitopatógenos: para esto se utilizó el método comparativo a través de fotos microscópicas y macroscópicas y el uso de claves taxonómicas

De las cepas aisladas se hizo observaciones macroscópicas tales como: forma de la colonia del hongo, color característico del medio de cultivo, halo de crecimiento de cada una de las colonias.

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

Para realización de las placas fijas se procedieron de la siguiente manera:

- Se prepararon las cajas petris con las cepas de hongos aislados, una en cada caja Petri.
- Se tomaron un trozo de cinta masking transparente de seis cm. De largo y se fijaron en el cuerpo fructífero, tomando directamente de la caja Petri, donde se encuentran las cepas puras.
- Se observaron al microscopio con objetivo de adecuados y se procedió a tomar fotografías microscópicas de las diferentes estructuras con una cámara.
- Se creó un archivo con las fotografías tomadas de las cepas para luego realizar los postulados de Koch y cumplió con el cuarto ítem.
- Este, se realizó un cuadro comparativo con los hongos re-aislados, para ver si eran el mismo hongo que se inoculo.

Resultado y discusión

Signos y síntomas del hongo *Fusarium oxysporum*.

Fusarium conocida también como la pudrición de las raíces, debido a que por ahí inicia su ataque causando el marchitamiento de la planta. Presenta síntomas muy similares a la muerte descendente.

Ocasiona la destrucción del sistema radical del babaco. A nivel de la corona, el tejido se torna de un color café que conforme avanza la enfermedad su consistencia se torna acuosa, las hojas se vuelven cloróticas, se marchitan hasta que se caen, los frutos caen también hasta que muere toda la planta.

El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y plantas. Debido a su capacidad de crecer a 37°C, son considerados oportunistas.

De las más de 100 especies de *Fusarium* descritas, sólo 12 de ellas pueden considerarse patógenas para el humano, entre ellas destacan *F. solani*, *F. oxysporum* y *F. verticilloides*, en orden decreciente de frecuencia.

La taxonomía para este género es bastante compleja y ha sufrido diversos cambios desde las primeras descripciones hechas por Link en 1803. A pesar de los avances en la taxonomía molecular, y la aparición de metodologías como MALDI-TOF, la taxonomía clásica continúa vigente, aunque requiere de la experiencia del observador.

Al microscopio, la fiálide es generalmente fina, con forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas; monofialídica (que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros).

Los macroconidios presentan forma de medialuna, hialinos y septados. Para su correcta clasificación es importante el largo, ancho, curvatura, septos, agrupaciones mucoides (esporodoquios) y detalles de las células de los extremos (célula apical y pie).

Los microconidios, ausentes en algunas especies, poseen variadas formas (fusiformes, ovals, clavadas, entre otras), agrupaciones (estructuras mucoides llamadas “falsas cabezas”), en cadenas largas o cortas; todas observables a la lupa (40x). Otro tipo de conidios son los mesoconidios, que son similares pero de menor tamaño que los macroconidios y nunca forman estructuras mucoides.

Por último, pueden observarse las clamidosporas características con doble pared gruesa, lisa o rugosa; de manera aislada, en pareja o en grupo.

Signos y síntomas observados en campo del hongo *Fusarium oxysporum*.

Mediante la observación realizada en campo para determinar los signos y síntomas del hongo fitopatógeno que más daño causa visitamos los cultivos de Babaco en invernadero y se observó que había muchas plantas que presentaban

muerte descendente con clorosis y amortiguamiento de hojas y tallo, de la misma manera otras ya sin hojas y con pocos frutos que colgaban del tallo pero de la misma forma amortiguados con los cuales se determinó que estas plantas han sido afectadas por el hongo *Fusarium oxysporum*.

Se observan plantas cuyas hojas inicia clorosis y/o flacidez de las hojas bajas, se marchitan y se secan desde la punta hasta la base.



Gráfico 1: Clorosis y Marchitamiento en hojas
Fuente: Mayra Chile

La enfermedad progresa hasta la marchitez completa de la planta. Los síntomas se presentan con frecuencia a lo largo de un lado de la planta. La marchitez es principalmente causada por la colonización de los haces vasculares por lo que un síntoma característico de la enfermedad es la decoloración vascular.



Gráfico 2: Marchites completa de la planta
Fuente: Mayra Chile

Dado que este tipo de síntoma puede ser causado por otras enfermedades, hay que inspeccionar el tallo y cortarlo en forma longitudinal para completar el diagnóstico: la podredumbre basal por *Fusarium* se confirma si observamos la decoloración castaña y la destrucción parcial o total de las raíces, así como una pudrición parda (Sinavimo, 2010).



Gráfico 3: Corte longitudinal y podredumbre vascular
Fuente: Mayra Chile



Gráfico 4: Destrucción de la raíz
Fuente: Mayra Chile

Las hojas infectadas o las partes de la planta infectadas pierden su turgencia, se debilitan, adquieren una tonalidad que va del verde claro al amarillo verdoso, decaen y finalmente se marchitan y mueren.

En los vasos xilemáticos de tallos, raíces y otros órganos afectados, puede haber micelio y esporas del hongo. Algunos de los vasos xilemáticos son obstruidos por el micelio, las esporas o bien los polisacáridos que produce el hongo (Agrios, 1996; citado por Rueda, 2010).

Fusarium oxysporum infecta a la planta a través de las raíces y una vez que alcanza el sistema vascular coloniza toda la planta causando la marchitez por la colonización vascular. El patógeno luego se reproduce produciendo microconidias, macroconidias y clamidiosporas.

Caracterización de macro y micro estructuras de *Fusarium oxysporum*

Macro estructuras

En el laboratorio se realizó una observación detallada de la muestra recolectada, observando en la misma una decoloración y marchitamiento del tallo.

Fusarium es un hongo que crece rápidamente en agar papa dextrosa a 25 °C, produciendo un micelio algodonoso e incoloro al principio, pero conforme madura adquiere un color crema o blanquecino y bajo ciertas condiciones adquiere una tonalidad rosa pálido, rojo o púrpura. (Díaz de Castro et al., 2007)

Estas esporas son las que el hongo forma con más frecuencia en el interior de los vasos de las plantas infectadas, o en el torrente sanguíneo en el caso de animales y humanos (Díaz de Castro et al., 2007).

Las colonias presentaron un aspecto veloso en el centro y difuso a su alrededor, el crecimiento lento de 2cm a los 3 días, inicialmente se presentó de color blanco y luego en el fondo de la siembra se tornó rosa durazno.

Desarrollo en medio de cultivo PDA de *Fusarium oxysporum*



Gráfico 5: Siembra en PDA.
Fuente: Mayra Chile

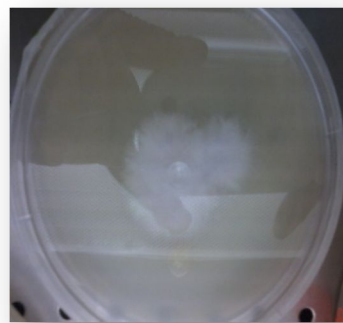


Gráfico 6: Micelio algodonoso y blanco.
Fuente: Mayra Chile

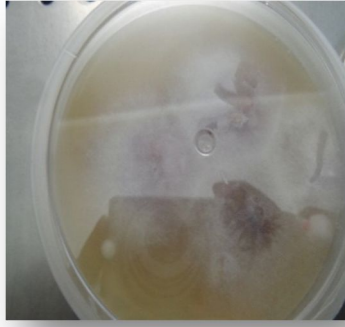


Gráfico 7: Micelio de color rosa durazno al fondo.
Fuente: Mayra Chile

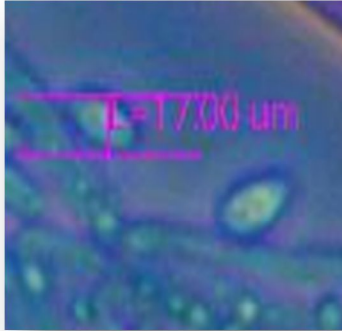


Gráfico 8: Micelio rosa y gris a los 7 días.
Fuente: Mayra Chile

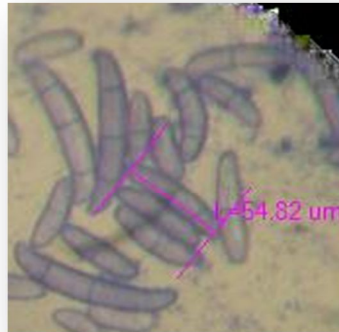
La morfología de las colonias es muy variable y puede presentar dos tipos: una de tipo micelial caracterizada por la producción de abundante micelio aéreo, algodonoso, con una coloración variable, de blanco a rosado durazno, pero usualmente con un tinte púrpura o violeta más intenso en la superficie del agar y pocas microconidias (Booth, 1970; citado por Garcés et al., 2001) y una de tipo pionotal con la formación de poco o ningún micelio aéreo y abundantes microconidias. El hongo produce tres clases de esporas: microconidias, macroconidias y clamidosporas (Nelson et al., 1981; citado por Garcés et al., 2001).

Microestructuras

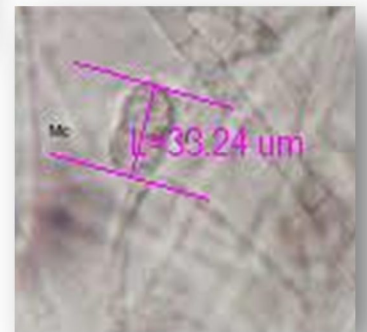
Descripcion de microestructuras de *Fusarium oxysporum* vista con un lente de 20x.



A











B



C

Grafico 9: Figura A. observamos la microconidia con una longitud de 17,00 μm ; Figura B. tenemos la macroconidia que tiene una longitud de 54,32 μm ; Figura C. La clamidiospora es tiene una longitud de 33.24 μm . Todas las imágenes fueron tomadas en laboratorio con el microscopio Infinity Capture y medidas con el programa Infinity Analyce.

Descripción del ciclo de vida del hongo *Fusarium oxysporum* en condiciones de laboratorio.

Actividad	Tiempo/Temperatura	Imagen	Observación Microscopio	Aumento
Inoculación del hongo	10 min. a 19 °C			
Presencia de microconidias	3 días a 24 °C			20x 0.40 pH 1
Formación de macroconidias	5 días a 24 °C			20x 0.40 pH 1
Liberación de clamidosporas	7 días a 24 °C			20x 0.40 pH 1

GLOSARIO

- **Fitopatógeno:** Es un organismo, en general microorganismo, que causa enfermedades en las plantas por medio de disturbios en el metabolismo celular causado por la secreción de enzimas, toxinas, fitoreguladores y otras sustancias y, además, por la absorción de nutrientes de la célula para su propio crecimiento. Algunos fitopatógenos pueden causar también enfermedades por crecer y multiplicarse en el xilema y en el floema de la planta y, por ende, por bloquear el transporte de agua y nutrientes desde la raíz hacia las hojas o el flujo de savia desde las hojas hacia el resto de la planta.
- **Ahogamiento o secadera:** Muerte rápida y colapso de plántulas muy jóvenes que se cultivan en el campo o en el almácigo.
- **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.
- **Cancro:** Herida localizada o lesión necrótica; con frecuencia sumida bajo la superficie del tallo de una planta leñosa.
- **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.
- **Manchas foliares:** Lesiones localizadas en las hojas de los hospedantes que constan de células muertas y colapsadas.
- **Muerte descendente:** Necrosis generalizada de las ramitas de las plantas que se inicia en sus puntas y avanza hacia su base.
- **Pudrición basal del tallo:** Desintegración de la parte inferior del tallo.
- **Pudrición de la raíz:** Pudrición o desintegración de todo el sistema radical de una planta o parte de él.
- **Pudriciones blandas y pudriciones secas:** Maceración y desintegración de frutos, raíces, bulbos, tubérculos y hojas carnosas de las plantas.
- **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.

- **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.
- **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.
- **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.
- **Roya:** Muchas lesiones pequeñas, por lo común de color rojizo, que aparecen sobre las hojas o el tallo de las plantas.
- **Microconidias:** Esporas unicelulares, sin septas, hialinas, elipsoidales a cilíndricas, rectas o curvadas; se forman sobre fiálides laterales, cortas, simples o sobre conidióforos poco ramificados.
- **Macroconidias:** Esporas de paredes delgadas, fusiformes, largas, moderadamente curvadas en forma de hoz, con varias células y de 3 a 5 septas transversales, con la célula basal elongada y la célula apical atenuada; las macroconidias tiene un tamaño de 27 a 46 micras .
- **Clamidosporas:** Esporas formadas a partir de la condensación del contenido de las hifas y de las conidias, de paredes gruesas. Se forman simples o en pares, terminales o intercalares.

BIBLIOGRAFÍA

- AAIC-PROMSA-MAGAP (2004). Cultivo de babaco. Origen
- Agrios, G. (1999). *Fitopatología*. Mexico: LIMUSA.
- Agrios, G. (1999). *Fitopatología 2 ed.* Mexico: LIMUSA.
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. Nueva York: Academic Press.
- Agrios, G. (2007). *Fitopatología*. Mexico: LIMUSA.
- Agronegociosecuador. (2015). Recuperado el 4 de febrero de 2015, de Produccion Agricola 2009: <http://agronegociosecuador.ning.com/page/produccion-agricola-2009>.
- Alvarez y otros, (2002.) Enfermedades de la raiz.
- Angel, (2002) También causan tizón..
- Aracely Monzón y Juan Luis Rodríguez. Estructura microscópica.
- Araujo, J. (2009). *Clasificación botánica sistemática*. Riobamba, Ecuador.
- Barker, (1980) Diagnostico de la enfermedad.
- Barker, (1980); Arbelaez, (1989) Epidemiología de fusarium.
- Bosland, (1980) Fusarium oxysporum es un hongo cosmopolita.
- Booth, (1970) La morfología de las colonias.
- Bushelman Et Al., (1995); Otomeda Et Al., (2004) El hongo en el cultivo de babaco.
- Calzada, B. (2002). *Frutales nativos*. Lima, Perú: El Estudiante.
- Carrasco. (2008). *Muestreo por cuotas*. Quito, Ecuador.
- Cardenas, (2002) Descripción macroscópica de fusarium en pda.
- Cerda, D. (2005). Recuperado el 04 de Junio de 2014, de El mundo según Google, Google Earth y la creación del dispositivo GeoSemantico Global: <http://geosemanticagearth>

- 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.
- Díaz de Castro Et, Al., (2007) Ciclo de vida descriptivo para fusariosis.
- Elizabeth Alvarez, A. B. (2002). *Guía práctica para el manejo de las enfermedades, las plagas y las enfermedades de la yuca*. Cali Colombia : clayuca.
- Fabara, J (2009). Existen 240 hectáreas de babaco.
- Fabara, J Bermeo, N. Y Barberan, C. (1980) Enfermedades foliares en el cultivo de Babaco.
- Fernández, C., Martínez, G., Perurena, M., & Valdez, I. (2005). *La colección de cultivos de hongos del instituto de medicina tropical "Pedro Kouri". Funciones y Retos* (Vol. 57). Revista Cubana de Medicina.
- French, E., & Hebert, T. (1980). *Métodos de investigación fitopatológica*.
- Garret, (1977) Es un hongo saprofito.
- Gardes de G. Et Al., (1999) Signos y síntomas
- Herrera, L., & Mayea, S. (1994). *Fitopatología General*. La Habana, Cuba: Felix Varela.
- Herrera, M. y. (1994). *Fitopatología General*. La Habana - Cuba: Felix
- <http://www.huaral.org/Manejocultivodezanahoria/2003/articulo.htm>
- HUB (2001). Según the Natural Food Hub. Contenido Nutricional
- INAMHI. (2014). *Anuario meteorológico Nro. 51-2011*. Quito, Ecuador.
- INIAP. (2004). Ecuador cuenta con numerosas hectáreas de Babaco.
- INIAP. (2007). *Plan de investigación de la yuca en portoviejo*. Portoviejo .
- INIAP. (2009). *Sanidad Vegetal: Recomendaciones para la toma de muestras*. Quito, Ecuador.
- Interet1. (s.f.). Obtenido de www.sica.gov.ec.
- INISAV Formación de estructuras microscópicas de fusarium oxysporum.

- Kirsop, B., & Doyle, A. (1991). *Maintenance of microorganisms and cultured cells. A manual of laboratory methods*. San Diego - California: Academic Press Inc.
- Leslie J F. (2006), Piontelli, E. (2011) Medios de cultivo que permiten el crecimiento de hongos.
- Lopez, A. (1979). *Manejo de Hongos Fitopatogenos*. Mexico: Universidad Autónoma de Chapingo.
- Merck. (2007). *Indicaciones generales para el empleo de medio de cultivos deshidratados*. Recuperado el 10 de Junio de 2012, de <http://www.merck.de/serviet/PB/menu/1660270/index.html>.
- Móstacedo, B., & Todd, F. (2000). *Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal*. Santa Cruz, Bolivia.
- Noreña Jorge Mario, (1985) Clasificación taxonómica del Babaco.
- Nelson, (1981) Microconidias, macroconidias, clamidiosporas.
- Nelson, (1983) No se conoce la fase perfecta del hongo.
- Orellana (47) Clasificación de *Fusarium oxysporum* del Babaco.
- SINAGAP. (2015). *Visualizador de precios*. Recuperado el 12 de Febrero de 2015, de Sistema de información de precios a nivel nacional: <http://sinagap.agricultura.ec/visualizador>.
- Sinavimo, (2010) Sintomatología de *Fusarium oxysporum*.
- Stainer, K. (1996). *Microbiología*. Barcelona, España: Revert.
- Streets, R. (1972). *The diagnosis of plant disease. A field and laboratory manual emphasizing the most practical methods for rapid identification*. Tucson, Arizona.
- Terranova. (1995). *Producción Agrícola 2*. Santa Fe, Colombia: Edición Agropecuaria.
- Carmen Salinero Corral, Pilar Vela Fernández (EFA 25/05 Babaco) Estación Fitopatológica do Areiro. Servicio Agrario. Excma. Diputación Provincial de Pontevedra Depósito legal: PO-171-05

Internet2http://www.efadip.org/comun/publicaciones/FTecnicas/Download/Ficha25_Carica_pentagona.pdf

INIAP. Programa de Fruticultura.GET. Guia para la determinacion de deficiencias de babaco:http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/GUIA_%20DETE5RM INACION_DEFICIENCIAS_BABACO.pdf

Internet 3 <http://web.entomology.cornell.edu/shelton/veg-insects-global/spanish/eblight.html>

(Nishimura, 1983; Cotty y Misaghi, 1984; Ozcelik, 1996, citados por Pérez, 2003).

Internet5<http://monografias.umcc.cu/monos/2006/Agronomia/Tcnicas%20para%20el%20diagnostico%20y%20determinacin%20de%20variabilidad%20genetica%20de%20fitopatgenos.pdf>

Acta Biológica Colombiana, Vol. 6 No. 1, 2001 13

<http://www.virtual.unal.edu.co/revistas/actabiol/PDF's/V6N1/Art1V6N1.pdf>

<http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/7684/1/Tesis75%20%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20258.pdf>

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2194/1/T-UCE-0005-360.pdf>

Agronomía Colombiana, 2000.17: 11-22 ALGUNOS ASPECTOS DE LOS HONGOS DEL GENERO Fusarium Y DE LA ESPECIE Fusarium oxysporum
<http://www.bdigital.unal.edu.co/24385/1/21538-73639-1-PB.pdf>

<http://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/8231/1/tesis224.pdf>

<http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/129562/Genero-Fusarium.pdf?sequence=1>