

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI



UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN
EL CULTIVO DE YUCA (*Manihot esculenta*) EN EL SECTOR LOS
LAURELES CANTON LA MANA- PERIODO 2015.

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

AUTOR: Mónica Paulina Tandazo Medina

DIRECTORA DE TESIS: Ing. Mg. Guadalupe López

Cotopaxi – Ecuador

2015

AUTORÍA

Yo, TANDAZO MEDINA MONICA PAULINA, portadora de la cédula ciudadanía N° 050326710-6, libre y voluntariamente declaro que la tesis titulada: **“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE YUCA (*Manihot esculenta*) EN EL SECTOR LOS LAURELES CANTON LA MANA- PERIODO 2015”**, es original, autentica y personal.

En la virtud declaro que el contenido será de mi sola responsabilidad legal y académica.

Tandazo Medina Monica Paulina

C.I. 0503267106

AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS

Cumpliendo 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 de tema de tesis: “CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE YUCA (*Manihot esculenta*) EN EL SECTOR LOS LAURELES CANTON LA MANA- PERIODO 2015”, debo confirmar que el presente trabajo de investigación fue desarrollado de acuerdo con el planteamiento requerido.

En virtud ante lo expuesto considero que se encuentra habilitada para presentar al acto de defensa de Tesis la cual se encuentra abierta para posteriores investigaciones.

Ing.Mg. Guadalupe López
Directora de tesis

AVAL DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

En calidad de miembros de Tribunal de la Tesis Titulada: **“Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de yuca (*Manihot esculenta*) en el sector Los Laureles Cantón La Maná Provincia De Cotopaxi - 2015”**, De Autoría Del Egresada Tandazo Medina Mónica Paulina CERTIFICAMOS que se ha realizado las respectivas revisiones, correcciones y aprobaciones al presente documento.

Aprobado por:

Ing. Mg. Guadalupe López
DIRECTORA DE TESIS

Ing. Mg. Karina Marín
PRESIDENTA

Ing. Agr. Luis Benavidez
OPOSITOR

Ing. Agr. Santiago Jiménez
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Universidad
Técnica de
Cotopaxi



Centro
Cultural de
Idiomas

CENTRO CULTURAL DE

IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de docente del idioma de Inglés de la Universidad de Cotopaxi: en forma legal CERTIFICO que la traducción del resumen de tesis al Idioma del Inglés presentando por la señorita Egresada de la Carrera de Ing. Agronómica de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales: MONICA PAULINA TANDAZO MEDINA. Cuyo título versa **CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE HONGOS FITOPATOGENOS EN EL CULTIVO DE YUCA (*Manihot esculenta*) EN EL SECTOR LOS LAURELES CANTÓN LA MANÁ-COTOPAXI 2015**, lo realizo bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del idioma.

Es cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer el uso del presente certificado de manera ética que estimaren conveniente.

Latacunga, Enero,2016

Atentamente

.....

Wilmer Collaguazo

C.I:172241757-1

DOCENTE DEL CENTRO CULTURAL DE IDIOMAS UTC

AGRADECIMIENTO

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

Agradezco a mis padres María y Víctor por los valores inculcados, y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida y sobre todo por el excelente ejemplo de vida a seguir.

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

A los docentes de la Unidad Académica de Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales por su tiempo y dedicación y compromiso y sembrar la semilla de conocimiento.

Mi eterno y sincero agradecimiento a la Ing. Guadalupe López Mg. Directora de Tesis por su invaluable dirección en el desarrollo de este trabajo de investigación por compartir sus conocimientos.

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

Muchas Gracias...

MONICA TANDAZO M.

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico con mucho cariño y amor a mis queridos padres Víctor Tandazo y María Medina, quienes me han apoyado moral y económicamente en mi formación académica permitiéndome así alcanzar uno de mis objetivos anhelados a pesar de las dificultades de la vida.

A mis hermanos, Diego, Marco, Diana por mantener y cultivar en todos nosotros el amor, el respeto, la unión familiar por su comprensión y el apoyo incondicional que me han brindado lo cual me ha dado fuerza y voluntad para seguir adelante.

Gracias por todos los quiero mucho...

MONICA TANDAZO M.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Agradecimiento.....	VI
Dedicatoria.....	VII
Índice de Contenidos.....	VIII
Índice de Tablas.....	X
Índice de Imágenes.....	XI
Resumen.....	VII
Abstract.....	VIII
Introducción.....	1
Justificación.....	2
Objetivos.....	3
Pregunta directriz.....	4
1 Fundamento Teórico.....	5
1.1 El Cultivo de la yuca.....	5
1.2 Clasificación Botánica.....	6
1.3 Enfermedades en el cultivo de la yuca.....	7
1.3.1 Pudrición de la raíz (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	7
1.3.1.1 Signos y síntomas.....	7
1.3.1.2 Ciclo de vida.....	8
1.3.1.3 Etimología.....	9
1.4 Hongos fitopatógeno.....	11
1.4.1 Características generales.....	11
1.4.2 Estructuras somáticas.....	11
1.4.3 Hongos como patógenos en las plantas.....	12
1.4.4 Inducción al desarrollo miceliar.....	13
1.4.5 Lavado de tejidos afectado.....	13
1.4.6 Identificación de hongos.....	14
1.5 Signos y síntomas de hongos patógenos en la planta.....	14
1.5.1 Calidad de la muestra.....	17
1.5.2 Recomendaciones para toma de muestras - sanidad vegetal.....	18

1.6 Pasos para el aislamiento de patógenos.....	18
1.6.1 Métodos de aislamiento.....	19
1.6.2 Aislamiento de hongos.....	19
1.6.3 Aspectos a contar en el estudio de los hongos en laboratorio.....	20
1.6.4 Medios de cultivos usados en el aislamiento de hongo.....	20
1.7 hongos inferiores y pseudohongos.....	21
1.7.1 Hongos superiores.....	22
2. diseño de la investigación	23
2.1 Materiales.....	23
2.1.1 Recursos humanos.....	23
2.1.2 Materiales de campo.....	23
2.1.3 Recursos tecnológicos.....	24
2.1.3 Material de laboratorio.....	24
2.1.5 Reactivos.....	24
2.2 Ubicación del ensayo.....	25
2.3 Características del lugar.....	26
2.4 Diseño metodológico.....	27
2.4.1 Investigación descriptiva.....	27
2.5 Método.....	27
2.6 Técnicas.....	28
2.7 Metodología	29
3. Resultados y discusión.....	37
3.1 Observación en campo	37
3.1.1 Hongo fitopatógeno de mayores pérdidas económicas en el cultivo.....	38
3.3 Macro y microestructuras de los hongos.....	41
3.4 Ciclo de vida de (<i>Fusarium oxysporum</i>) en yuca (<i>Manihot esculenta</i>).....	50
3.4.1 Descripción del ciclo de vida del patógeno.....	51
Conclusiones.....	52
Recomendaciones.....	54
Glosario.....	55
Referencias Bibliográficas.....	57
Anexos.....	59

ÍNDICE DE TABLAS

CUADRO 1. Clasificación taxonómica de la yuca.....	6
CUADRO 2. Clasificación taxonómica (<i>Fusarium oxysporum</i>) de la yuca.....	10
CUADRO 3. Coordenadas geográficas de lugar.....	25
CUADRO 4. Coordenadas geográficas laboratorio.....	25
CUADRO 5. Condiciones climáticas.....	26
CUADRO 6. Aspectos físicos.....	26
CUADRO 7. Límites.....	26

ÍNDICE DE IMÁGENES

IMAGEN N°1 Signos y síntomas (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	41
IMAGEN N°2 Signos y síntomas (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	41
IMAGEN N°3 Signos y síntomas (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	42
IMAGEN N°4 Signos y síntomas (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	43
IMAGEN N°5 Signos y síntomas (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	43
IMAGEN N°6 Reproducción en laboratorio (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	44
IMAGEN N°7 Reproducción en laboratorio (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	45
IMAGEN N°8 Reproducción en laboratorio (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	46
IMAGEN N°9 Reproducción en laboratorio (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	47
IMAGEN N°10 Reproducción en laboratorio (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	48
IMAGEN N°11 Reproducción en laboratorio (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	49
IMAGEN N°12 Reproducción en laboratorio (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	50
IMAGEN N°13 Reproducción en laboratorio (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	51
IMAGEN N°14 Reproducción en laboratorio (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	52

RESUMEN

La presente investigación “CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HONGOS DE FITOPATÓGENOS EN EL CULTIVO DE YUCA (*Manihot esculenta*)” se realizó en el Sector Los Laureles, Cantón La Maná, Provincia de Cotopaxi localizada a N 0706198 S9889232 y a 586 msnm, con un Temperatura de 23°C y una Humedad relativa del 92 % con el objetivo de caracterizar morfológicamente al hongo fitopatógeno de mayor impacto en la producción del cultivo de yuca (*Manihot esculenta*), mediante la identificación de los signos y síntomas en campo, caracterizar su macro y microestructuras, el ciclo de vida en condiciones de laboratorio y elaborar una guía didáctica del hongo en estudio. Para el desarrollo de esta investigación se visitó el lugar donde se tomó muestras de hojas y raíces infectadas con características similares posteriormente se etiquetó y se transportó al laboratorio. Dentro del laboratorio para su reproducción en primer lugar se elaboró el agar en un lapso de 3 horas, se tomó 3 mm de tejido enfermo, se desinfectó con una solución de 2:1 de clorox luego se inoculó en el medio de cultivo y se selló con papel parafilm. Para su incubación se requirió una temperatura de 24°C con una humedad relativa del 70% por un lapso de 5 días. En conclusión durante el transcurso de la investigación se observó que el ciclo de vida del hongo que duró 5 días en los primeros 2 días se observó la presencia de un micelio algodonoso aéreo de color blanquecino de 2 cm y al quinto día se presentó un micelio de color grisáceo, y a través de un microscopio olympus trinocular con lente 40x se identificó hifas alargadas y ramificadas de 20 μm clamidiosporas globosas de 7 μm macronidios semicurvos de 3 a 5 septos, micronidios hialinos con cabeza falsa de uno a dos septos de 3,08 μm . luego de los resultados obtenidos se elaboró un guía didáctica como precedente para futuras investigaciones.

AGRADECIMIENTO

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

Agradezco a mis padres María y Víctor por los valores inculcados, y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida y sobre todo por el excelente ejemplo de vida a seguir.

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

A los docentes de la Unidad Académica de Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales por su tiempo y dedicación y compromiso y sembrar la semilla de conocimiento.

Mi eterno y sincero agradecimiento a la Ing. Guadalupe López Mg. Directora de Tesis por su invaluable dirección en el desarrollo de este trabajo de investigación por compartir sus conocimientos.

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

Muchas Gracias...

MONICA TANDAZO M.

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico con mucho cariño y amor a mis queridos padres Víctor Tandazo y María Medina, quienes me han apoyado moral y económicamente en mi formación académica permitiéndome así alcanzar uno de mis objetivos anhelados a pesar de las dificultades de la vida.

A mis hermanos, Diego, Marco, Diana por mantener y cultivar en todos nosotros el amor, el respeto, la unión familiar por su comprensión y el apoyo incondicional que me han brindado lo cual me ha dado fuerza y voluntad para seguir adelante.

Gracias por todos los quiero mucho...

MONICA TANDAZO M.

ABSTRACT

This research MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF PHYTOPATHOGENIC FUNGI INTO YUCCA CROPS (*Manihot esculenta*) AT LOS LAURELES SECTOR, LA MANÁ CANTON DURING 2015 PERIOD located at N 0706198 S9889232 and 586 MSL with a temperature of 23 °C and a relative humidity of 92% in order to characterize morphologically the pathogenic fungus with the greatest impact in the production of yucca (*Manihot esculenta*), by identifying the signs and symptoms in fields, characterizing their macro and microstructures; and the life cycle in laboratory conditions, a teaching guide of fungus on study was developed. For the development of this research, the researcher visited the place where samples of infected leaves and roots with similar characteristics were taken; subsequently, they were labeled and transported to the laboratory. At the laboratory to reproduce it, first agar was prepared in a period of 3 hours, 3 mm of diseased tissue was taken and it was disinfected with a solution of 2:1 Clorox; then it was inoculated in the culture and sealed with paper parafilm. For its incubation temperature of 24 °C was required with a relative humidity of 70% for a period of 5 days. In conclusion; during the investigation, it was found that the life cycle of the fungus which lasted 5 days, in the first 2 days the presence of air cottony mycelium whitish 2 cm was observed and the fifth day showed a mycelium of grayish, and through a trinocular microscope: Olympus 40x lens, elongated and branched hyphae of 20 microns “globosas chlamydospores” of 7 microns semi-curved “macronidios” of 3-5 septa, hyaline “micronidios” with false head from one to two septa of 3.08 microns were identified. After, the results obtained, the researcher did an educational guide to precedent that encourages further research that was developed.

INTRODUCCIÓN

La pudrición de la raíz causada por el hongo (*Fusarium oxysporum*) es probablemente la enfermedad de la yuca de mayor importancia económica a nivel mundial. Se puede decir que este es el problema de hongos patógenos más crítico que afecta la producción de este tubérculo que merma el rendimiento de 20 a 40% total de la cosecha

En el Ecuador esta enfermedad ha presentado una pérdida del 60 % en las cosechas provocando la obtención de un producto de mala calidad y malos ingresos económicos para los agricultores.

El hongo fitopatógeno (*Fusarium oxysporum*) es el agente que causa la enfermedad de la pudrición de raíz o marchitamiento por que invade y deteriora el sistema vascular de la planta, que por ello se marchita y, finalmente, muere

El hongo penetra en la planta por las raíces, invade luego algunos vasos del xilema y pronto tapona todo el sistema vascular. El primer síntoma es un amarillamiento, más adelante se observa la marchitez de las hojas por falta de nutrientes y, por último, la defoliación de la planta.

JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se realiza por que el cultivo de yuca en el Ecuador representa el 23,38% del área total cultivado en todo el país, ya que es un producto indispensable para la alimentación humana, animal y parte de los procesos agroindustriales caracterizado, por la práctica en casi todas las regiones del país, debido a que produce en casi todas las zonas rurales por presentar pocas exigencias para su producción.

La presencia de este hongo fitopatógeno puede ocasionar una pérdida del 60% de su productividad, motivo por el cual se propone la siguiente investigación, que pretende brindar una base de información que servirá al agricultor para tomar decisiones oportunas y tener una guía para el control de enfermedades producidas por hongo fitopatógeno, mediante el reconocimiento de los signos, síntomas y el ciclo de vida lo cual permitirá reducir los costos e incrementar la producción, elaborando una guía didáctica para un mejor conocimiento del patógeno lo cual coadyuvara a un adecuado conocimiento de la enfermedad para obtener un producto de mejor calidad.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar Morfológicamente el hongo fitopatógeno en el cultivo de yuca (*Manihot esculenta*), Sector Los Laureles, Cantón La Maná - Cotopaxi. 2015.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Determinar el hongo fitopatógeno de mayor impacto en la producción del cultivo de yuca (*Manihot esculenta*).
- Identificar signos y síntomas del hongo fitopatógeno del yuca (*Manihot esculenta*) 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

PREGUNTA DIRECTRIZ

¿Se podrá caracterizar morfológicamente sus macros y microestructura y ciclo de vida del hongo fitopatógeno (*Fusarium oxysporum*) en condiciones de laboratorio?

CAPÍTULO I

1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1. El Cultivo de yuca

La yuca o mandioca es una especie de origen americano, que se ha extendido en una amplia área de los trópicos americanos desde Venezuela y Colombia hasta el Noroeste de Brasil, con predominio de los tipos de yuca dulce en el norte y en la zona de Brasil los amargos, las especies silvestres del género *Manihot* tienen dos centros de origen: uno en México y América Central y el otro en el noroeste de Brasil. (Infoagro, 2007)

A pesar de que la yuca es un cultivo originario de América Latina y el Caribe, esta región aporta solo el 18,3 % de la producción mundial. El mayor productor de yuca en el mundo, Nigeria, siguió la tendencia de crecimiento bajo, reflejado en un incremento de 0,5 % durante los últimos cinco años. Ghana, por su parte, registra el mayor crecimiento del periodo: 5,6%. El 70% de la producción yuca, tal como ocurre actualmente, seguirá concentrada en cinco países: Nigeria, Brasil, Tailandia, Indonesia y República Dominicana del Congo. (Iniap, 2007)

En el Ecuador Manabí es la principal provincia que cultiva yuca, desde el año 2002 ha incrementado la superficie cosechada de 4.233 hectáreas a 6.076 en el año 2006 mientras que los años anteriores se mantenía un equilibrio la cosecha, Morona Santiago es la segunda provincia en cosechar yuca a pesar que en los últimos años ha descendido significativamente, al contrario Pichincha que siendo la tercera provincia en cosechar yuca, conjuntamente con la provincia Cotopaxi desde 2003 hasta la actualidad (Iniap,2007)

1.2 Clasificación Botánica

Según (Álvarez, 2002) dice que la yuca es un arbusto perenne de tamaño variable que puede alcanzar hasta los 3 m de altura.

Cuadro. 1: CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA YUCA

Reino:	Plantae
División:	Fanerógama
Subdivisión	Angiosperma
Clase:	Dicotiledónea
Subclase:	Aspiales
Orden:	Gerenciales
Familia:	Euphorbiaceae
Género:	<i>Manihot</i>
Especie:	<i>esculenta</i>
Nombre Común:	Yuca
Nombre científico	<i>Manihot esculenta</i>

Fuente: DE LA CRUZ

1.3 ENFERMEDADES EN EL CULTIVO DEL YUCA.

1.3.1 Pudrición de la raíz (*Fusarium oxysporum*)

1.3.1.1 Signos y síntomas

Invade la planta bien sea de forma activa a través de las raíces o pasivamente a través de orificios en la zona callosa de esquejes jóvenes. Después de la penetración el patógeno se desarrolla dentro del sistema vascular de la planta. Los vasos, en especial del xilema son bloqueados y destruidos de manera que el transporte del agua y nutrientes del agua se dificulta, lo que conduce al marchitamiento, con frecuencia parcial de la planta. (Cárdenas, 2002)

Externamente los síntomas comprenden decoloración de las hojas, sobre todo de un lado de la planta, donde el patógeno ha penetrado. Las hojas se tornan amarillas y la parte superior de la planta se enrolla hacia abajo. En estados posteriores la planta se marchita totalmente, se amarilla y finalmente mueren. 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. (Cárdenas, 2002)

1.3.1.2 Ciclo de vida

Forma parte del complejo de hongos del suelo y puede encontrarse habitando como saprofito, sobre restos vegetales en descomposición o como estructura de resistencia (clamidospora) en las partículas del suelo. Al establecerse un cultivo y si las condiciones medioambientales son favorables para el hongo, pueden provocar una serie de problemas en las plantas en desarrollo. (Cárdenas, 2002)

El ingreso de *Fusarium spp.* A la planta, se ve facilitada cuando los propágulos presentan lesiones o cuando las raíces se están alongando, se producen pequeñas heridas. Cuando el hongo entra en la raíz. Al establecerse un cultivo y si las condiciones medioambientales son favorables para el hongo, pueden provocar una serie de problemas en las plantas en desarrollo. Producir micelio y microconidias que se van extendiendo en forma ascendente a través de los vasos xilemáticos de la planta, esta responde frente a éste agente invasor, liberando polisacáridos (gomastilosas) que taponan los haces vasculares para impedir el avance del hongo. Libera toxinas y los síntomas característicos que presenta la planta, son marchitez vascular, clorosis de hojas, enanismo y pudrición seca de túberos. Al morir la planta, el hongo queda en los restos de los tejidos vegetales invernando como espora, micelio o clamidospora; éstas se dispersan a otras áreas por: el viento, propágulos vegetales o semilla infectada, lluvia, maquinaria o implementos agrícolas. Al cosechar tubérculos contaminados. (Rodríguez, 2005)

Las condiciones climáticas, más importantes para el desarrollo de las especies de *Fusarium* son: altas temperaturas en el rango de los 20-25° C, alta intensidad lumínica, elevada humedad relativa del ambiente (75-95%) y alta densidad de plantas. En el manejo del cultivo, las altas dosis de fertilización nitrogenada, predisponen a las plantas a un ataque de *Fusarium spp* (Cullison, 2003)

Esto último, condiciona que las plantas estén más turgentes y sus barreras naturales no están muy lignificadas, lo que las hace más susceptibles al ataque de las plagas. Pero según la ocurrencia de enfermedad, no tiene que ver con la cantidad de nitrógeno que se le aplique, sino que de la forma química que se adicione. Para *Fusarium spp*, el nitrógeno aplicado como amoniaco incrementa el ataque de este hongo en el cultivo y se ve disminuido cuando se aplica en forma de Nitrato. (Cullison, 2003)

1.3.1.3 Epidemiología

La temperatura es uno de los factores ambientales de mayor influencia en el desarrollo de la enfermedad y en la expresión de los síntomas al igual que la nutrición de la planta. La temperatura óptima para el desarrollo del patógeno esta entre 25 y 30°C con 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 60.0°C durante 30 minutos. La esporulación óptima ocurre entre 20 y 25°C, con 12 horas de luz y 12 de oscuridad. El pH óptimo es de 7,7 y puede desarrollarse entre 2,2 y 9,0. (Cárdenas, 2002)

La adición de materia orgánica parece ser un factor que predispone la planta al ataque de patógeno el hongo es bastante aeróbico y sus poblaciones se reducen con la saturación del aire. (Cárdenas, 2002)

La densidad de inóculo determina la rapidez y severidad del desarrollo de la enfermedad. Sin embargo la introducción de una sola espora puede conducir a problemas a largo plazo. Los factores externos, en particular la humedad y la temperatura, influyen sobre el desarrollo de la enfermedad y la expresión de síntomas. (Cullison, 2003)

La temperatura define el desarrollo del patógeno en sí. La temperatura óptima del crecimiento de *Fusarium oxysporum* es de 27.5°C pero el hongo puede desarrollarse satisfactoriamente a temperaturas entre 15 y 30°C. (Rodríguez, 2005)

Cuadro 2: Clasificación taxonómica de *Fusarium oxysporum*.

Reino	Fungi
División	Eumycota
Clase	Deuteromycete
Orden	Mononiales
Familia	Monoliacea
Genero	Fusarium
Especie	<i>F.oxysporum</i>

Fuente: (RODRIGUEZ, 2005)

1.3 Hongos fitopatógenos

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. (Herrera, 1994)

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, 1994)

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

1.3.2 Estructuras somáticas

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, 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, 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. (Agris, 2005)

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(Agris, 2005)

. 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 planta. (Agrios, 2005)

1.3.4 Inducción al desarrollo miceliar

Utilizar un trozo del hospedante para inducir al desarrollo miceliar aquellos hongos biótropos 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. (Agrios, 2007)

Este método es el más usado cuando se quiere tener a un hongo en cultivo puro.

- Lavar el material enfermo con agua corriente y secar.
- Seleccionar el tejido vegetal afectado procurando que los trocitos queden de 0,3 a 0,5 cm de longitud.
- Enjuagar los trocitos en 3 pasos de agua destilada y secarlos perfectamente, al secar bien, disminuyen las contaminaciones pasar 4 a 5 secciones a una caja de Petri con PDA, selle la caja con cinta adhesiva e incube de 20 a 25 °C.

1.3.5 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. (French, 1980)

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, 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, 1980)

1.3.6 Identificación de hongos

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. (Calzada, 2002)

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. (Calzada, 2002)

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. (Calzada, 2002)

1.4 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 almacigo.
- 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.

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 vellosos y blanquizcos 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)

1.4.1 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. (Herrera, 1994)

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, 1994)

1.4.2 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. Con su correspondiente código de identificación. (Iniap, 2009)

1.5 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, 1994).

Las técnicas y métodos de laboratorio empleados para el diagnóstico de microorganismos fitopatógenos requieren personal calificado, equipos e instrumentos de precisión, reactivos y cristalería variada, así como una alta laboriosidad. (Herrera, 1994).

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

1.5.1 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. (Herrera, 1994)

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. Por lo que para su identificación hay que prescindir de métodos de aislamientos. Un caso particular de esta naturaleza son los hongos de la clase Ascomycetes que raramente producen sus cuerpos fructíferos sobre medios artificiales. (Herrera, 1994)

El aislamiento de los hongos productores de micelio aéreo 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 (Herrera, 1994)

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. (Herrera, 1994)

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. (Herrera, 1994)

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, 1994)

1.5.2 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. (HERRERA, 1994)

1.5.3 Medios de cultivos usados en el aislamiento de hongos

Muchos de los hongos fitopatógenos pueden cultivarse en medios de cultivos artificiales. La mayoría de los hongos crecen en medios de cultivos de alto contenido de carbohidratos con un pH que fluctúa entre 5 y 6 ya que la exigencia de las diferentes especie varían considerablemente. (Ciampi, 2002)

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. (Echandi, 2001)

Este medio de cultivo se puede preparar con papas naturales o con el producto comercial deshidratado. Para preparar este medio de cultivo es a partir de papas naturales se procede de la siguiente manera se lavan de 200 a 300 gramos de papas no es necesarios pelarlas, rebanarlas y hervirás hasta que estén suaves y exprimirlas a través de tres capas de materia delgada. Reciba el filtrado en un matraz añada 20 gr de dextrosa y 20 gr de agar afore a un litro. Esterilice los medios 20 minutos a 15 libras de presión. Cuando el medio este casi frio (40°C) viértalo en las cajas Petri Los conidios formados en PDA no son consistentes en tamaño y forma además de que son menos confiables para utilizarse con fines de investigación. (Ciampi, 2002)

Sin embargo la morfología de la colonia pigmentación del medio y rango de crecimiento. La mayoría de especies de *Fusarium* en pida son consistentes si el medio es preparado de una manera consistente, y las cepas provienen de un inóculo estándar y han sido incubadas bajo condiciones estándar. (Echandi, 2001)

Estas características son utilizadas por lo regular como criterio secundario para la identificación. En el cultivo de PDA es utilizado por varios investigadores para el aislamiento de especie *Fusarium* presentes. Se utiliza para recuperación de hongos provenientes de las plantas entonces se debe reducir la concentración de papa dextrosa entre un 50 a 75% para inhibir el crecimiento de bacterias. (Echandi, 2001)

1.6 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: (Ficomicetes) 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. (Herrera, 1994)
- Clase: Zigomycetes: Esta clase de hongos produce esporas asexuales no móviles contenidas en cuerpos fructíferos denominados esporangios. Sexualmente producen esporas denominadas zigosporas. (Herrera, 1994)

1.6.1 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. (Herrera, 1994)
- Estructuras representativas de la clase Basidiomycetes: La clase basidiomycetes se caracteriza por tener micelio tabicado y reproducirse sexualmente mediante la producción de basidioporas. Estas son producidas exógenamente sobre una estructura llamada basidio. Los basidios pueden ser septados o no. (Herrera, 1994)
- 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. aún. Estos hongos se reproducen de forma asexual formando esporas denominadas conidios. Estos conidios pueden producirse en forma libre o dentro de cuerpos fructíferos. (Herrera, 1994)

CAPÍTULO II

2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Materiales

2.1.1 Recursos Institucionales

- Universidad Técnica de Cotopaxi
- Unidad Académica Caren
- Carrera de Ing. Agronómica
- Laboratorio de Microbiología
- Autor : Mónica Paulina Tandazo Medina
- Director de tesis: Ing. Guadalupe López Mg.
- Miembros del tribunal:

Ing. Karina Marín Msc.

Ing. Agr. Santiago Jiménez

Ing. Agr. Luis Benavides

2.1.2 *Materiales De Campo*

- Muestra de raíz de yuca (*Manihot esculenta.*)
- Muestra de hoja de yuca (*Manihot esculenta.*)
- Tijeras
- Fundas de papel
- Fundas de plástico
- Bisturí

2.1.3 *Recursos tecnológico*

EQUIPOS

- Cámara de crecimiento o incubadora
- Balanza de precisión
- Estufa de 2 quemadores
- Estereoscopio
- Refrigeradora
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Cuenta colonias
- Microondas
- Desecador con mallas

2.1.4 Materiales

- Micro tubos
- Goteros de plástico
- Papel aluminio
- Pizeta
- Aguja de disección
- Asa de siembra
- Reposeros plásticos con tapa
- Cajas Petri
- Papel absorbente
- Parafilm de laboratorio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Vaso de precipitación de 50-100-500-1000 ml
- Erlenmeyer de 500-1000 ml
- Tubos de ensayo de 10 ml
- Algodón
- Tarrinas de ½ litro transparente
- Tanque de gas
- Cinta adhesiva transparente de 1,5 cm de ancho
- Pinzas
- Bisturí
- Tijeras

2.1.5 Reactivos

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

2.2 Ubicación del ensayo en campo

La presente investigación se llevó a cabo en la Provincia de Cotopaxi, Cantón La Mana Parroquia La Matriz Sector, Los Laureles mismo que se encuentra ubicado en la parte sureste del Cantón La Mana.

CUADRO: 3 COORDENADAS GEOGRÁFICAS

Ubicación	ECUADOR
Coordenadas UTM	07° 06' 19" 98° 89' 23"
Altitud	586 msnm

Fuente: Directa el Investigador

2.2.1 Ubicación del ensayo en laboratorio

La investigación en laboratorio se realizó se llevó a cabo en la Provincia de Cotopaxi, Cantón Latacunga, Parroquia La Matriz, Avenida Eloy Alfaro la misma que se encuentra ubicado en la parte norte del Cantón Latacunga.

CUADRO: 4 COORDENADAS GEOGRÁFICAS DEL LABORATORIO

Ubicación	Ecuador
Coordenadas	56° 56' 00" S
	78° 37' 00" W
Altitud	2650 msnm
Temperatura	13°C

Fuente: Directa el Investigador

2.3 Características del lugar

CUADRO: 5 CONDICIONES CLIMÁTICAS

Condiciones edafoclimáticos	
Temperatura anual media	23°C
Humedad Relativa	92%
Precipitación anual	549.5

FUENTE: GAD Municipal del Cantón La Maná

CUADRO: 6 ASPECTOS FÍSICOS

País	Ecuador
Provincia	Cotopaxi
Capital	Latacunga
Cantón	La Mana
Altitud	588 msnm
Ubicación	Sur este del Cantón La Mana

Fuente: GAD Municipal del Cantón La Maná

CUADRO: 7 LÍMITES

NORTE	Con el Recinto San Pedro
SUR	Con el Recinto San Pablo
ESTE	Con el Río San Pablo
OESTE	Con el Cantón Pangua

Fuente: GAD Municipal del Cantón La Maná

2.4 DISEÑO METODOLOGICO

2.4.1 *Investigación Descriptiva*

Esta investigación se realizó mediante revisiones de materiales bibliográficos ya necesita ser descrito sigilosamente para recopilar información de las característica morfológicas que presentan el hongo permitiendo identificar al patógeno que causa más perdidas económicas 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.

La investigación se direccionó en un diseño no experimental, pues no se realizó la manipulación de ninguna variables, es decir no se cambió la realidad del cultivo de yuca en contrario lo que se intenta con la investigación es mejorarla, gracias a la Caracterización morfológica de hongo fitopatógeno de mayor impacto económico.

2.5 Método

2.5.1 Descriptivo analítico

Utilizamos este método en la investigación para describir el hongo de fitopatógeno de mayor pérdida económica mediante la bibliografía consultada y la muestra recogida en el cultivo para analizarla y poder confirmar los signos y síntomas en campo y su morfología (formas y estructuras) en el laboratorio del hongo identificado.

2.5.1.1 Deductivo.

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

2.5.1.2 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 que mayor perdida en el cultivo y su forma de reproducción.

2.6 Técnicas

Se utilizó la técnica observación lo cual nos permitió conocer la realidad del medio que se desarrolla el hongos además reconocimos los signos y síntomas que presentan en el cultivo obteniendo la mejor muestra para el laboratorio. Como instrumento se utilizó un cuaderno de campo con el fin de apuntar todos los sucesos que se observaron.

2.7 Metodología

2.7.1 Reconocimiento del Lugar

Se realizó un viaje al Sector Los Laureles perteneciente al Cantón La Maná, 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 cultivo

- Se Identificó planta hospedante: en mi caso es la planta de la yuca (*Manihot esculenta*) utilizamos la información propia y del productor, obteniendo el tipo de suelo, practicas e riego, fertilización y aplicación de fungicidas.
- Se observó los signos y síntomas de la enfermedad de manchas, añublo foliar, pudriciones, chancros, marchitamientos.

- Se realizó una observación con una lupa en campo de alto aumento en el campo y el microscopio olympos trinocular CX 300 en laboratorio de la superficie de las lesiones o tejidos muertos; esto nos permitió observar la presencia de esporas, cuerpos fructíferos del hongo.

2.7.3 Toma de muestras

El método utilizado en esta actividad es por cuotas, en la cual se fijan unas “cuotas” que consistió en un número de individuos que reúnen las características homogéneas para su elección en determinadas condiciones.

2.7.3.1 Procedimientos en la toma de muestras

Se extrajeron 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, posteriormente se procedió a colocar en una funda ziplok con su respectiva codificación y se trasladó en una hielera para evitar la deshidratación de las muestras

2.7.4 Preparación de los materiales en laboratorio para la propagación del hongo

a) Preparación de medio de cultivo

- 1 olla 2 vasos de precipitación 100ml
- 1 vaso de precipitación de 1000 ml
- 2 matraces de 500 ml
- 1 varilla de agitación
- Cocina eléctrica
- 1 olla
- 1cuchillo
- 1 balanza digital
- Tamiz
- 1 cucharada de cocina
- 7 papeles filtro
- Papel aluminio
- Papel absorbente
- 5 cajas Petri
- Papel absorbente
- Papel para film de laboratorio

Reactivos:

- | | |
|----------------------|-------------------|
| • 30 g. de agar | • 350 g. de papa |
| • 35 g. de glucosa | • 955 ml. de agua |
| • 3,5 g. de levadura | desmineralizada |

Equipos

- Autoclave

b) Metodología de la elaboración del agar papa dextrosa

1. Se procedió a pelar y a lavar las papas, luego se las corto en pedazos pequeño para que se nos facilite el pesaje en la pesa digital hasta obtener los 350 g.
2. Seguidamente colocamos las papas en la olla con 800 ml, de agua desmineralizada para la cocción que se realizó en la estufa eléctrica.
3. Retiramos de la estufa y procedimos a tamizar el contenido en un vaso de precipitación de 1000ml medimos la cantidad de agua que sobro y a esto le añadimos la cantidad que perdió de la cocción la cual fue de 200 ml
4. Seguidamente para diluir la levadura y la glucosa ocupamos 8ml de agua desmineralizada caliente
5. Colocamos en el vaso de precipitación de 100 ml a baño de maría y agregamos 30 g de agar y la solución disuelta 80 ml de glucosa y levadura
6. Mezclamos la solución con la varilla agitación en un tiempo de 2 a 2 minutos hasta obtener el resultado deseado.
7. La solución obtenida vertimos en 2 matices de 500 ml equitativamente procedemos a tapar con algodón y papel absorbente en forma de corcho y el recubrimos con papel aluminio.
8. Colocamos los matraces en la autoclave para su respectiva esterilización con un temperatura de 120 °C durante un a 1hora.
9. Se esperó que se enfrié durante 30 minutos y se procedió a poner la solución en las cajas Petri en una forma equitativa en la base de la misma.

2.7.5 Aislamiento

Se procedió a tomar porciones de tejido enfermo a continuación se lavó en agua corriente, se procedió a secar los tejidos con papel absorbente, y por último se desinfectó en una solución 2:1 de clorox, se lavó dos veces con agua destilada estéril y se eliminó el exceso 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, caracterice al patógeno que se desarrolla durante este tiempo de observación

2.7.6 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.

2.7.7 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.

2.7.8 Incubación

Para la incubación la caja Petri se colocó a en la incubadora a 24 °C y 70% de humedad relativa, durante 5 días aproximadamente según tengamos el desarrollo de los micelios del hongo

2.7.9 Identificación

Se procedió a realizar un dobléz de una tira de cinta de 4 cm, con el lado adhesivo hacia fuera y se sostendrá con una pinza. Con el lado adhesivo se tomó con mucho cuidado una pequeña muestra de la colonia del hongo a estudiar, después colocamos una gota de agua destilada sobre el portaobjetos y se procede a pegar la cinta sobre el portaobjetos para luego ser observado en el microscopio con un aumento de 40x.

Con la ayuda de un bisturí estéril se cuadricula el medio de cultivo de la caja de Petri con PDA en cuadros de aproximadament2cm², 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 micro cultivo para mantener la humedad, sin mojar el área de crecimiento del hongo.
5. Se selló la caja Petri del micro cultivo 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 más micro cultivos, y detener su desarrollo a la 48, 72 y 96 horas. Respectivamente.

2.7.10 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 conidiosporo, esporangiosporos, forma y tamaño de las esporas o conidios.

Para realización 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 los objetivos 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.
- Se realizó un cuadro comparativo con los hongos aislados, para poder identificarlos.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Observación en campo

3.1.1 Determinación del hongo fitopatógeno de mayor pérdidas económicas en el cultivo de yuca (Manihot esculenta)

Mediante la observación y apoyados en la revisión bibliográfica la investigación realizada en la provincia de Cotopaxi cantón, La Maná sector, Los Laureles, se pudo determinar que la que el hongo fitopatógeno de mayor pérdida económica en el cultivo de yuca (*Manihot esculenta*) es *Fusarium oxysporum* por que produce una pérdida del 70 % del total de su producción. A partir de los primeros meses de edad es cuando el hongo fitopatógeno empieza a afectar al cultivar presentándose sus primeros signos y síntomas. La pérdida producida por este hongo es de cada 10 toneladas sembradas se pierde 7 toneladas, provocando bajos ingresos económicos.

3.2 Identificación signos y síntomas del hongo fitopatógeno (*Fusarium oxysporum*) en yuca (*Manihot esculenta*)

El hongo *Fusarium oxysporum* invade la planta bien sea de forma activa a través de las raíces o pasivamente a través de orificios en la zona callosa de esquejes jóvenes. Después de la penetración el patógeno presenta plantas enanas, pudrición en el tubérculo.



Imágenes N°1 y N°2: Signos y síntomas (*Fusarium oxysporum*)

A: Pudrición del tubérculo

B: Plantas enanas

Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

Según (ÁLVAREZ, 2002) afirma que el hongo ataca invadiendo a la planta bien sea de forma activa a través de las raíces o pasivamente a través de orificios en la zona callosa de esquejes. Después de la penetración el patógeno se desarrolla dentro del sistema vascular de la planta y presenta plantas enanas, pudrición en el tubérculo.

El hongo bloquea los vasos en especial el xilema causando marchitamiento parcial de la planta.



Imagen N°: 3 Signos y síntomas (*Fusarium oxysporum*)
A: Marchitez parcial de planta.
Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

(ÁLVAREZ 2002), afirma el que en especial del xilema son bloqueados y destruidos de manera que el transporte del agua y nutrientes del agua se dificulta, lo que conduce al marchitamiento, con frecuencia parcial de la planta

Las hojas se tornan amarillas y la parte superior de la planta se enrolla hacia abajo En estados posteriores la planta se marchita totalmente, se amarilla y finalmente muere.



Imágenes N°4 y N°5: Signos y síntomas (*Fusarium oxysporum*)

A: Hojas amarillas enrolladas.

B: Plantas muertas

Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

(ÁLVAREZ 2002), afirma que las hojas se tornan de color amarillas y en la parte superior de la planta se enrolla hacia abajo En estados posteriores la planta se marchita totalmente, se amarilla y finalmente muere.

3.3 Caracterización de Macro y microestructuras del hongo

La siembra se realizó en 3 cajas Petri de plástico esterilizadas de 9cm de diámetro los mismos que contenían el medio de cultivo realizados con PDA papa dextrosa, para ello se colocó un disco micelial de 5 mm de diámetro extraídas del cultivo infectado de una edad de 7 meses, posteriormente la caja fue sellado con papel parafinado (parafilm) y llevada a la incubadora a una temperatura de 23 a 24 °C y con una Humedad relativa del 70%. El tipo de reproducción realizada es asexual porque se utilizó muestras extraídas de hojas y raíces infectadas del cultivo en el campo el mismo que fue realizado, en un laboratorio por un periodo de 5 días

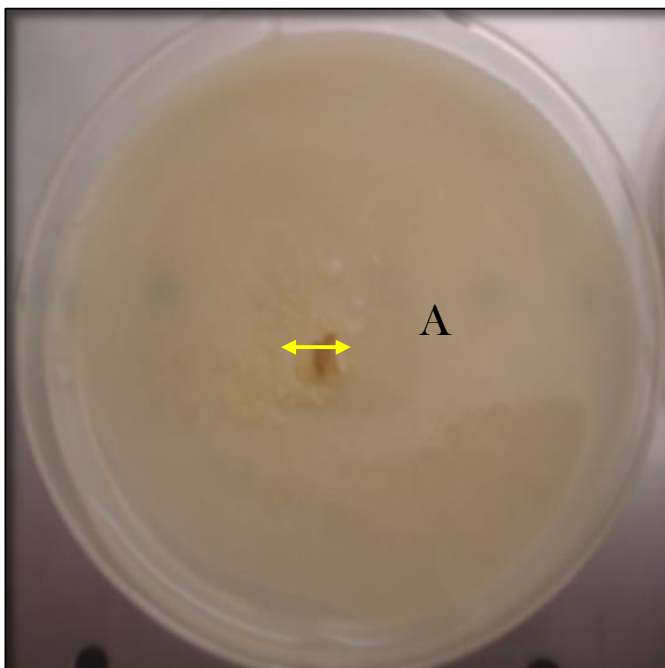


Imagen N°6: Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*)
A: Tejido enfermo
Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

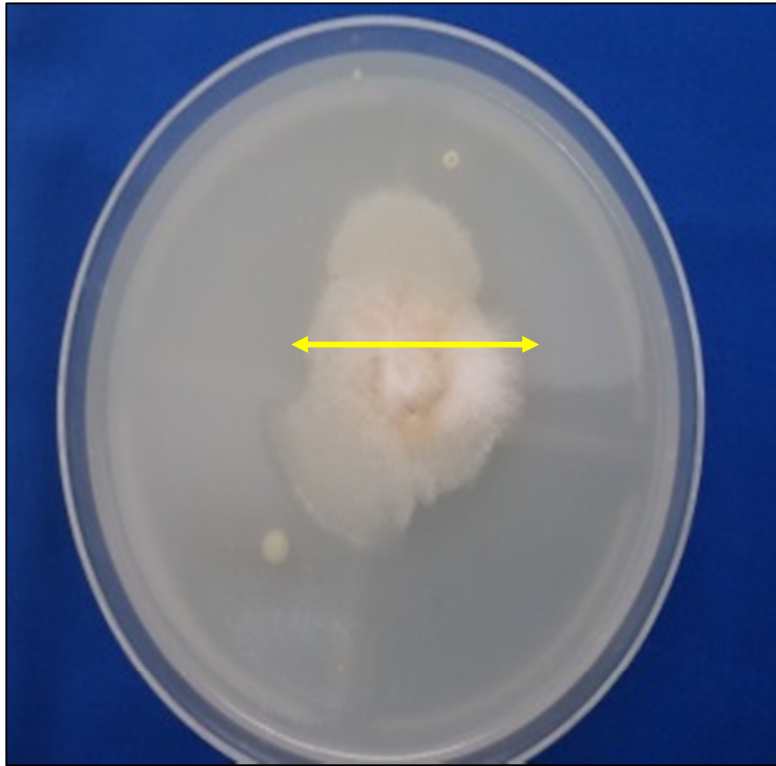


Imagen N°7: Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*)
A: micelio algodonoso blanquecino de 3cm
Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

Se obtuvieron colonias del hongo *Fusarium oxysporum* en medio de cultivo PDA utilizando papa dextrosa inicialmente se presentó un crecimiento moderado de micelio aereo algodonoso de color blanquecino con un diámetro de 3 cm a los 2 días despues de haber realizado la inoculación.(Imagen N°7)

Corroborando lo observado (ARBELÁEZ, 2000) afirma que después de 2 días de haber realizado la inoculación presenta un crecimiento moderado de micelio algodonoso de color blanquecino de 3cm de diámetro

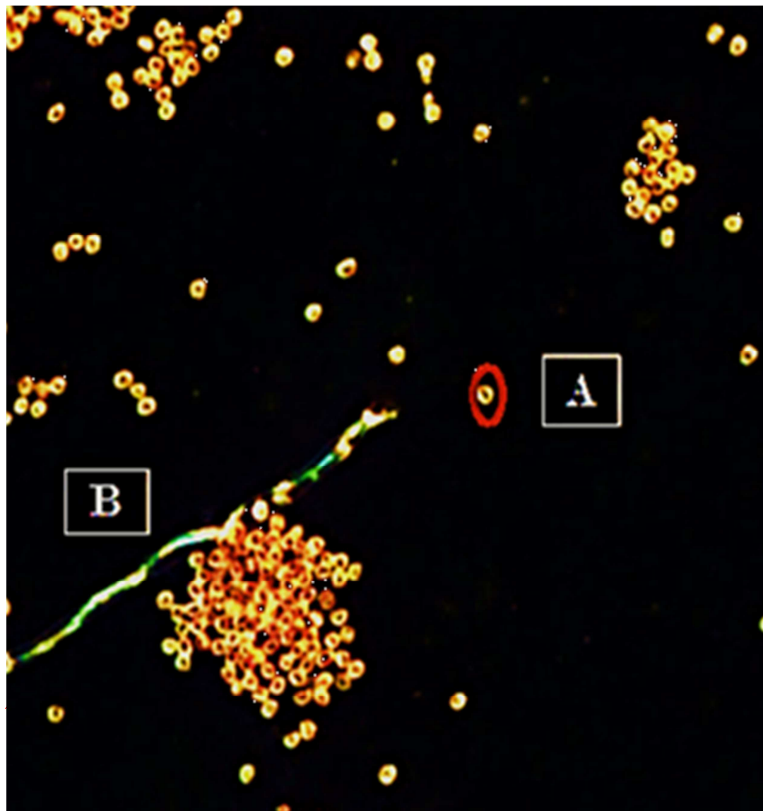


Imagen N°8: Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*) 400x

A: Clamdiosporas de 7 μm

B: Hifas de 20 μm

Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

Mediante la observación realizada se pudo determinar la presencia de hifas simples, semi curvas 20 μm con la presencia de clamdiosporas de 7 μm de diámetro. (Imagen N°7)

Corroborando lo observado, (ARBELÁEZ, 2000) afirma las hifas de 25 μm , inicialmente simples y semi curvas, clamdiosporas esféricas e globosas 6,6-10,19 μm .

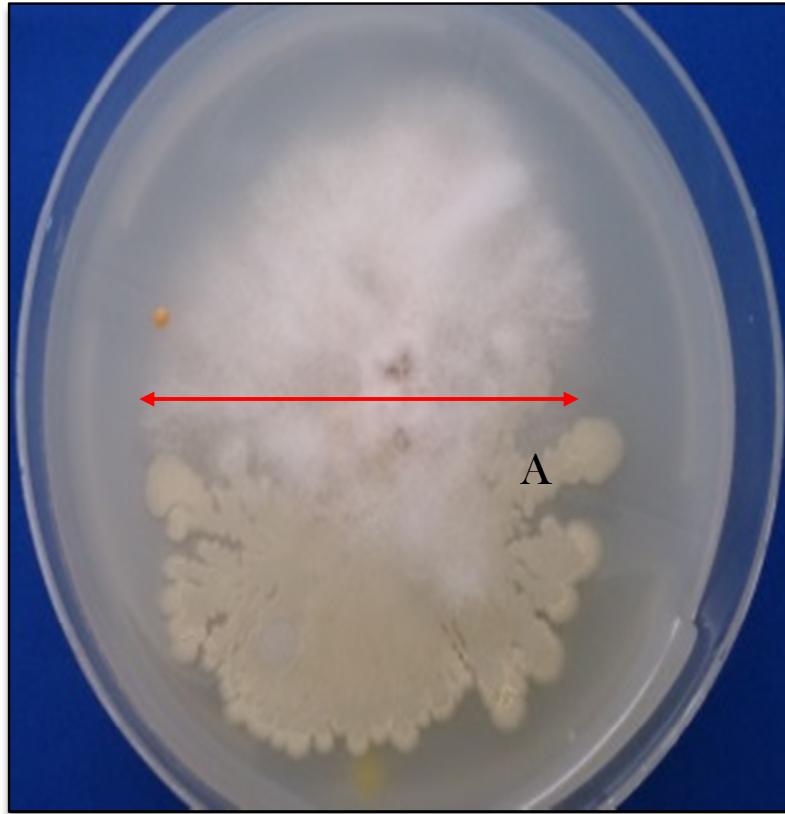


Imagen N°9: Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*)

A: micelio algodonoso blanquecino de 8 cm
Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

A los 3 días se observó la presencia micelio aéreo algodonoso de color blanquesino de 7 cm de diametro. (Imagen N° 9)

Corroborando lo observado, (ARBELÁEZ, 2000) afirma que se la observa presencia de un micelio aéreo de color blanquecino de 7cm de diámetro a los 3días.

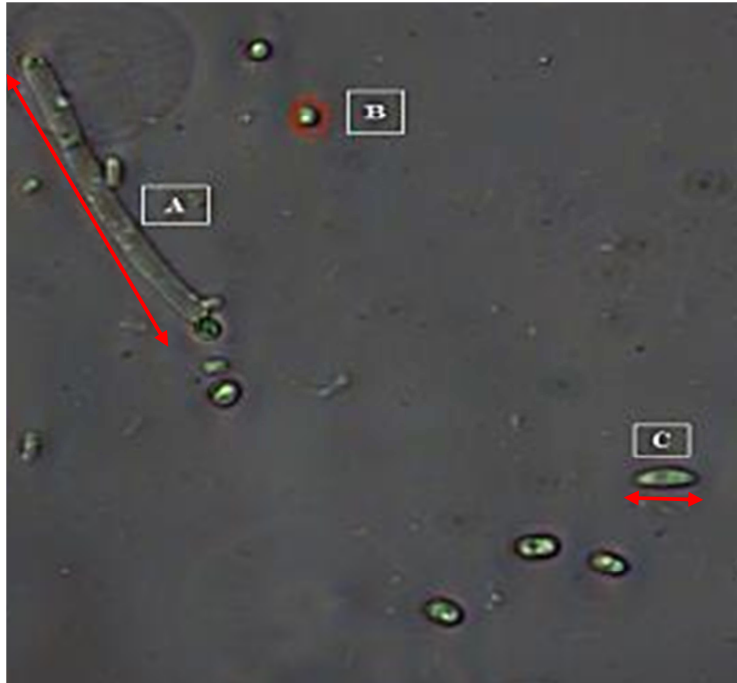


Imagen N°10: Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*) 400X

A: Conidióforo de 20 μm

B: Clamidiosporas de 7 μm

C: Micronidios de 3.08 μm

Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

En la (Imagen N°10) se puede observar la presencia de conidióforos laterales de 20 μm con presencias de clamidiosporas de tamaño de 7 μm , esféricas, globosas, de paredes lisas, terminales o intercalares y dispuestas individualmente o pares y micronidios de 3.08 μm .

Corroborando lo observado (ARBELÁEZ, 2000) a presencia de conidióforos de 23 μm clamidiosporas de 6,6-10,19 μm de tamaño, abundantes, esféricas (globosas), subglobosas, de paredes lisas, terminales o intercalares y dispuestas individualmente o en pares a lo largo y micronidios de 2,5-3,8 μm .

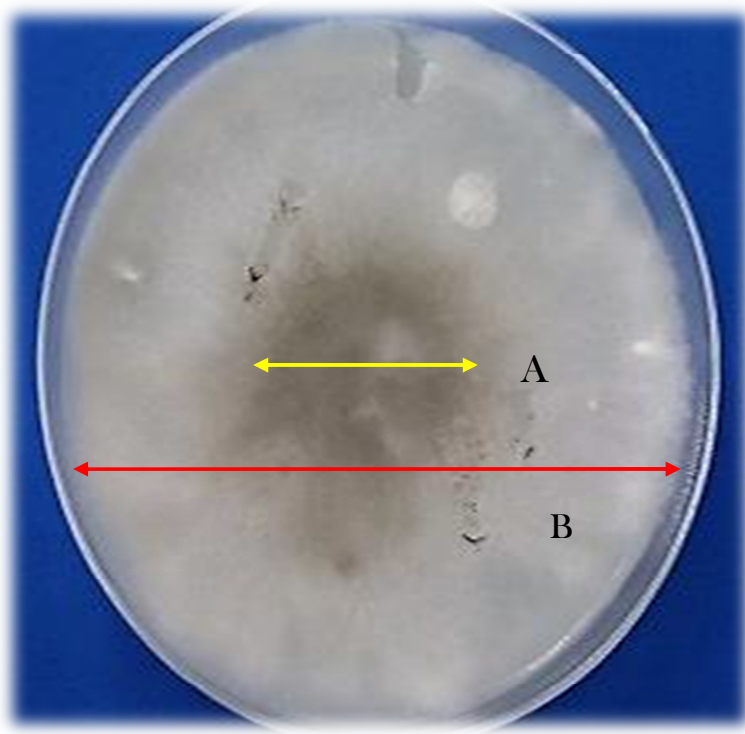


Imagen N°11: Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*)
A: Halo concéntrico de 3cm de color marrón
B: Micelio algodonoso de 9cm de color cenizo
Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

A los 4 días se observó la presencia micelio aereo algodonoso de color cenizo de 9 cm de diámetro con un halo concéntrico de color marrón de 3cm diámetro. (Imagen N° 11)

Corroborando lo observado (ARBELÁEZ, 2000), afirma la presencia de un micelio cenizo de 9 cm con un halo concéntrico marrón de 3 cm.

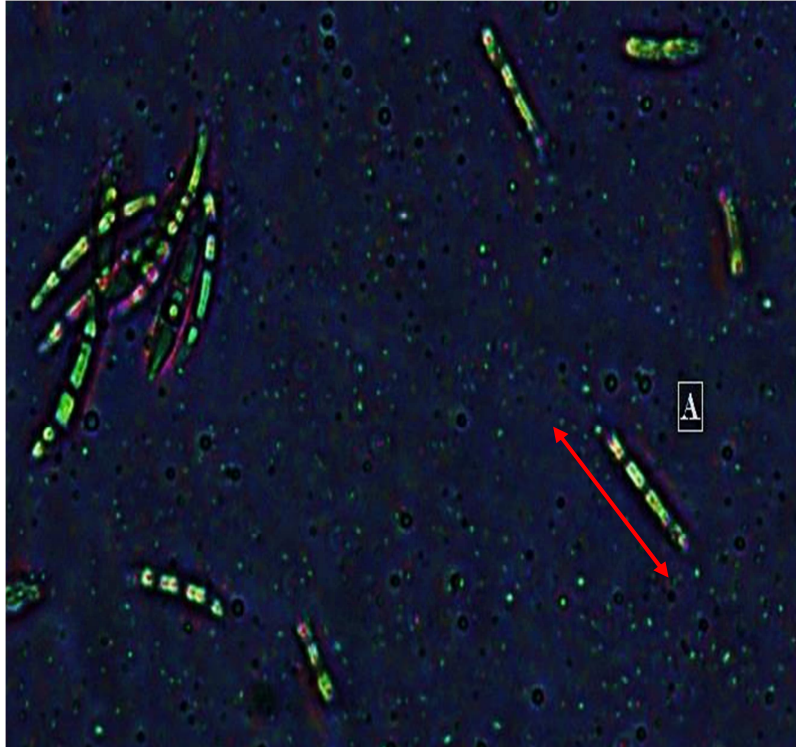


Imagen N°12: Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*) 400X

A: Macronidios de 26,5 μm

Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

Mientras que en la (Imagen N°12), se puede identificar la presencia de macronidios semicurvos, generalmente de tres a cinco septos, de 26,5 μm .

Corroborando lo observado (ARBELÁEZ, 2000). Macronidios hialinos, semicurvos o casi rectos de tres a cinco septos de 20,5 - 58,3 μm

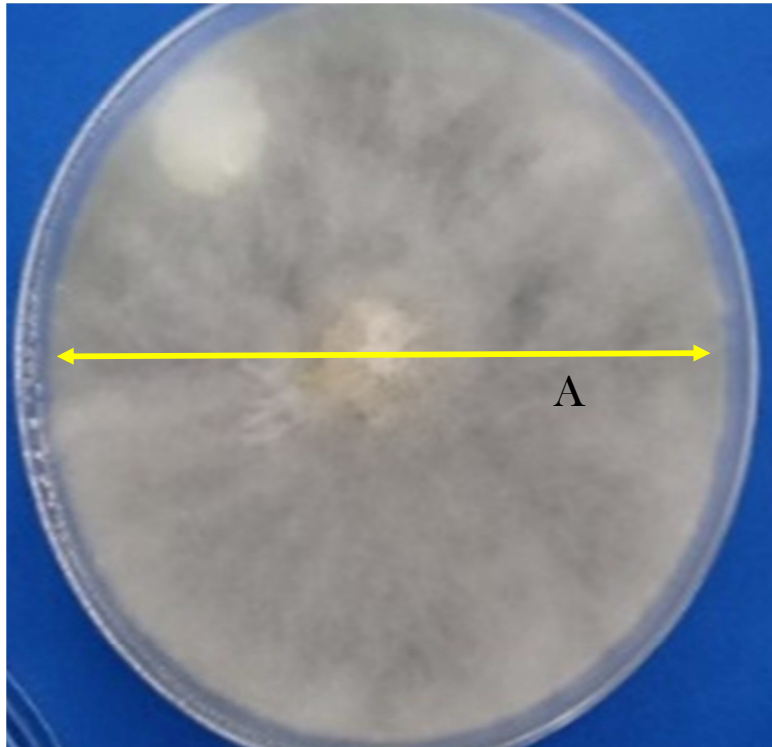


Imagen N°13: Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*)

A: Micelio algodonoso de 9cm de color cenizo
Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

A los 5 días se observó la presencia de micelio aéreo algodonoso de color cenizo de 9 cm. (Imagen N°13)

Corroborando lo observado (ARBELÁEZ, 2000) afirma que al quinto día se observa la presencia del micelio aéreo de color cenizo de 9cm.

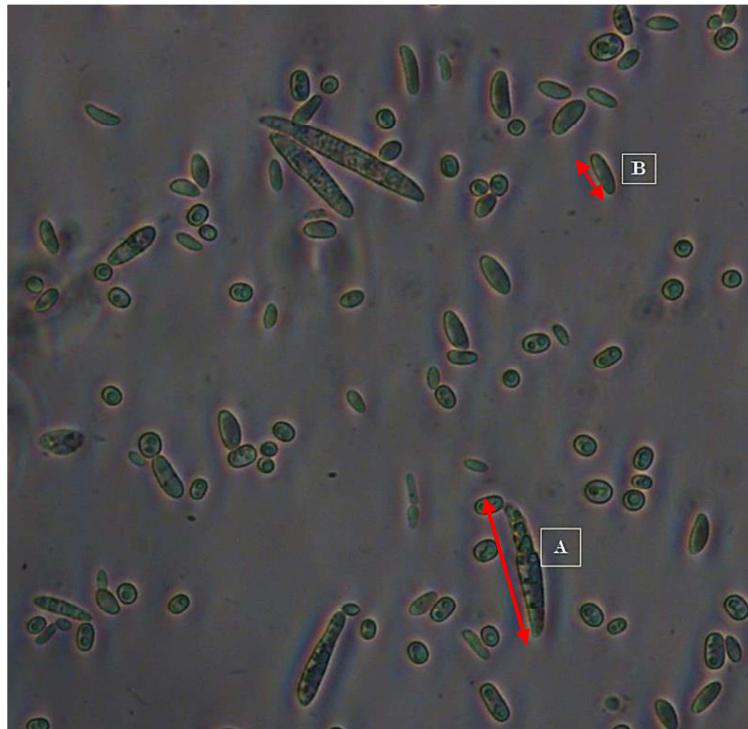
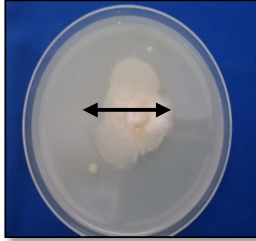
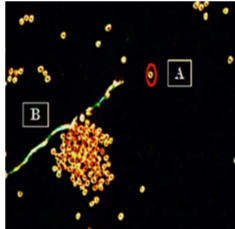

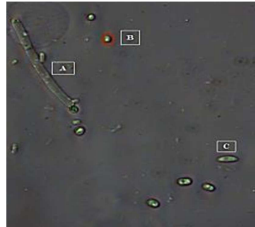
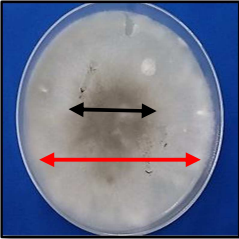

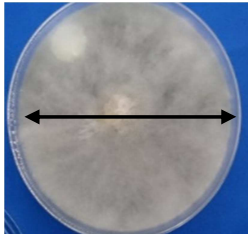
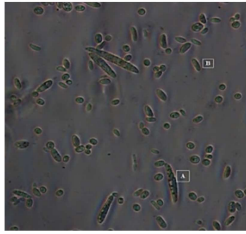


Imagen N°14: Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*) 400X
A: Macronidios de 26,5 μm
B: Micronidios de 3,08 μm
Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

Mientras que en la (Imagen N°14), se puede identificar la presencia de macronidios abundantes de 26,5 μm hialinos, semicurvos o casi rectos a curvados puntiagudos a sus extremos con tres o cinco septos con presencia de micronidios hialinos de forma de falsas cabezas y abundantes de oval a elíptica, con uno o dos septos de 3,08 μm

(ARBELÁEZ, 2000). Macroconidios hialinos, de semicurvos o casi rectos (falcados) a curvados, puntiagudos en sus extremos, con tres a cinco septos de 20,5 - 58,3 μm y Micronidios hialinos formados en falsas cabezas y abundantes, de forma oval a elíptica, con uno o dos septos de 2,5-3,8

3.4 Ciclo de vida de (*Fusarium oxysporum*) en yuca (*Manihot esculenta*) en laboratorio.

ACIVIDAD	TIEMPO TEMPERATURA °C	IMAGEN	OBSERVACION MICROSCOPICA	AUMENTO Y ACTIVIDAD
A: micelio algodonoso blanquecino de 3cm	2 días a 23.5 °C			40X A: Clamydiosporas de 7 µm B: Hifas de 20 µm
A: micelio algodonoso blanquecino de 8 cm	3 días 23.5 °C			40X A: Conidióforo de 20 µm B: Clamydiosporas de 7 µm C: microconidios de 3.08 µm
A: Halo concéntrico de 3 cm de color marrón B: micelio algodonoso de 9 cm de color cenizo	4 días 23.5 °C			40X A: Macronidios de 26,5 µm
A: micelio algodonoso de 9cm de color cenizo	5 días 23.5 °C			40X A: Macronidios de 26,5 µm B: Microconidios de 3.08 µm

3.4.1 Descripción del ciclo de vida del patógeno

La fase parasitaria se inicia con la penetración de los tejidos del huésped y entra al sistema radicular de la planta con presencia de los síntomas de senescencia y a morir en la planta comienza su afectación por medio del tejido vascular y comienza invadiendo las células del parénquima cortical generando una sustancia de biomasa formando la clamidiosporas estas son estructuras que permite las formas patógenas en el suelo por mucho más tiempo. La formación de las clamidiosporas empieza cuando los carbohidratos descienden en los tejidos moribundos del huésped.

Se forman a terminar o intercaladamente de los macronidios generalmente estas se encuentran aisladas aunque forman pares o cadenas. Conformen los tejidos del huésped se desintegran las clamidiosporas son liberadas con base de crecimiento esporádicas mientras estas disponga de una sustancia de nutrientes adecuadas estos desechos estimulan el crecimiento de las clamidiosporas. Cuando la fuente de nutrientes se agota se forman nuevas clamidiosporas y después los macronidios y por último la presencia de los micronidios. Esto se presenta a los 5 días.

CONCLUSIONES

- ✓ Mediante la observación y la bibliografía consultado se pudo identificar que el hongo que causa mayor impacto económico en el cultivo de la yuca (*Manihot esculenta*) causada por el hongo *Fusarium oxysporum* más conocido por el medio como pudrición de la raíz.
- ✓ Mediante la observación realizada en campo se pudo constatar que los signos y síntomas característicos del hongo *Fusarium oxysporum* son: necrosamiento y pudrición en la raíz y tallo, hojas amarillentas, enrolladas y muerte de la misma. Presentando similares características que han mencionado las citas bibliográficas mencionadas anteriormente.
- ✓ En la siembra realizada en el laboratorio mediante el uso del cultivo PDA papa destroxa se observó las macroestructuras del hongo *Fusarium oxysporum*, se dónde presento: micelio aéreo algodonoso de color blanquecino a los primeros días de haber realizado la siembra y en su etapa final se tornó a un color cenizo. Las microestructuras identificadas el hongo *Fusarium oxysporum* son: hifas simples y ramificadas de 20 μm , clamidospora 7 μm , esféricas, globosas, de paredes lisas, terminales o intercalares macroconidios semicurvos, generalmente de tres a cinco septos, de 26,5 μm con tres o cinco septos, micronidios hialinos de forma de falsas cabezas y abundantes de oval a elíptica, con uno o dos septos de 3,08 μm .
- ✓ En la investigación realizada en laboratorio se pudo observar que el hongo se desarrolla normalmente en una temperatura de 22 a 24 °C .y que su ciclo de vida se cumplió a los 5 días después de haber realizado el cultivo.

- ✓ Luego de la investigación realizada se pudo elaborar una guía didáctica de la caracterización morfológica del hongo en estudio para dar a conocer las macroestructuras y ciclo de vida del hongo investigado.

RECOMENDACIONES

- ✓ Para la identificación correcta del hongo se debe llevar consigo material bibliográfico (fotos a color) para poder analizar si presenta las mismas características del patógeno.

- ✓ Para visualizar de mejor manera las características micro estructurales del hongo *Fusarium oxysporum* se recomienda utilizar el microscopio trinocular con el lente 40X, utilizando una gota de azul de metileno en la muestra, no se recomienda el uso agua destilada porque presenta burbujas que impide observar de forma adecuada al hongo.

- ✓ Se recomienda que la presente investigación sirva como fuente de información, para el estudio del hongo y determinar los factores que favorecen al desarrollo, para de esta manera poder garantizar menor porcentaje de infestación en el cultivo.

- ✓ Para evitar contaminación del laboratorio es necesario usar vestimenta esterilizada destinada para el uso del mismo. Durante todo el proceso que dura la reproducción del cultivo se recomienda utilizar equipos y materiales bien esterilizados al momento de su manipulación

GLOSARIO

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

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

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

Clamidospora: Espora asexual de pared gruesa que se forma por la modificación de una célula de las hifas de un hongo

Conidio: espora asexual de un hongo formada en el extremo de un conidióforo.

Cuerpo fructífero: estructura compleja de los hongos que contienen esporas.

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

Enfermedad: cualquier mal funcionamiento de las células y tejidos del hospedante, que resulta de la irritación continua por un agente patogénico

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

Fitopatógenos: termino que se aplica a los microorganismos que producen enfermedades en las plantas.

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

Hifa: ramificación simple de un micelio.

Hialino: Incoloro, transparente

Hospedante: planta que es invadida por un paracito y de la cual este obtiene sus nutrientes.

Marchitez: Pérdida de rigidez y caída de los órganos de la planta

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

Micelio: hifa o masa de hifas que constituyen el soma de un hongo

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

Septado: Que tiene tabiques o septos

Septo: Paredes transversales de las hifas o esporas

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

Síntoma: reacciones o alteraciones internas y externas que sufre una planta como resultado de una enfermedad o factor ambiental y que lleva al desarrollo de síntomas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Agrios, G. (1999). Fitopatología . Mexico: LIMUSA.
2. Agrios, G. (2005). Plant Pathology. Nueva York: Academic Press.
3. Agrios, G. (2007). Fitopatología. Mexico: LIMUSA.
4. Alvarez, LL (2002). Enfermedades de la yuca y metodos de control ,capitulo 8.
5. Arbelaez ,G.(2000) Algunos aspectos de los hongos del género Fusarium y de la especie Fusarium oxysporum. Agronomía colombiana.
6. Calzada, B. (2002). Frutales nativos. Lima, Perú: El Estudiante.
7. Cardenas,(2002). Enfermedades en el cultivo de la yuca .Ciclo de vida del .fusarium oysporum. Agronomia colombiana.
8. Ciampi, I. (2002). Universidad Austral de Chile, Introducción a la patología vegetal. Valdivia, Chile. Nuova Firenze. 232p.
9. Cullison, W. (2003). Fusarium soil microbiology. Department of Crop and Soil. Environmental Sciences
10. Cruz, (2002). La Yuca en el Tercer Milenio: Sistemas Modernos de Producción, Procesamiento . Cali Colombia ,Cia .
11. Echandi ,(2001) Fusarium laboratory guide to identification of the major species. Ferry Lane, Kew y Surrey. Inglaterra. Commonwealth Mycological Institute. 58 p.
12. French, & Hebert, T. (1980). Métodos de investigación fitopatológica. San José, Costa Rica: IICA.
13. Herrera, & Mayea, S. (1994). Fitopatología General. La Habana, Cuba: Felix Varela..
14. Infoagro. (2007). Plan de investigacion de la yuca en Portoviejo, datos estadisticos
15. Iniap. (2007). Plan de investigacion de la yuca en Quevedo, Los Rios-Ecuador
16. Kenada.(2004). Fitopatología general, Universidad Católica Agropecuaria del Tópico seco, unid 5.
17. Rodríguez, (2005). Identification and pathogenic characterization of entophytic Fusarium species from cowpea seeds. Mycopathologia 159:79-85.



**Universidad
Técnica de
Cotopaxi**

UNIDAD ACADÉMICA DE RECURSOS AGROPECUARIOS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**GUÍA DIDÁCTICA DE LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE
(*Fusarium oxysporum*) EN EL CULTIVO DE YUCA (*Manihot esculenta*)**

Autor: Mónica Paulina Tandazo Medina

Ingeniería
Agronómica

ÍNDICE

Introducción

Fundamentación

Objetivo

Ubicación

Bloque I. Metodología

Bloque II. Resultados

Material de consulta sugerido

ANEXO 1

INTRODUCCIÓN:

La yuca (*Manihot esculenta*) es afectada por varias enfermedades fungosas que causan manchas foliares, necrosis del tallo o pudriciones radicales con consecuentes pérdidas en el rendimiento del cultivo. El hongo fitopatógeno (que causa más pérdidas económicas en el cultivo es (*Fusarium oxysporum*) más conocido en la zona por sus agricultores como pudrición de la raíz, La presente guía didáctica realizada en el laboratorio es un documento describe la enfermedad mayor de importancia económica en el cultivo de yuca. Lo cual facilitara al usuario la descripción detallada de la morfología de hongo (*Fusarium oxysporum*).

La descripción del patógeno se hace detalladamente y se complementara con fotografías de las macro y microestructuras del agente causal.

Se espera que este documento sea una valiosa fuente de consulta para el reconocimiento y el manejo adecuado del hongo.

FUNDAMENTACIÓN:

La yuca o mandioca es una especie de origen americano, que se ha extendido en una amplia área de los trópicos americanos desde Venezuela y Colombia hasta el Noroeste de Brasil, con predominio de los tipos de yuca dulce en el norte y en la zona de Brasil los amargos. Según Rogers, las especies silvestres del género *Manihot* tienen dos centros de origen: uno en México y América Central y el otro en el noroeste de Brasil. (INFOAGRO 2007)

A pesar de que la yuca es un cultivo originario de América Latina y el Caribe, esta región aporta solo el 18,3 % de la producción mundial. El mayor productor de yuca en el mundo, Nigeria, siguió la tendencia de crecimiento bajo, reflejado en un incremento de 0,5 % durante los últimos cinco años. (INFOAGRO, 2007)

Ghana, por su parte, registra el mayor crecimiento del periodo: 5,6%. El 70% de la producción yuca, tal como ocurre actualmente, seguirá concentrada en cinco países: Nigeria, Brasil, Tailandia, Indonesia y Republica Dominicana del Congo. (INFOAGRO, 2007)

En el Ecuador Manabí es la principal provincia que cultiva yuca, desde el año 2002 ha incrementado la superficie cosechada de 4.233 hectáreas a 6.076 en el año 2006 mientras que los años anteriores se mantenía un equilibrio la cosecha, Morona Santiago es la segunda provincia en cosechar yuca a pesar que en los últimos años ha descendido significativamente, al contrario Pichincha que siendo la tercera provincia en cosechar yuca, conjuntamente con la provincia Cotopaxi desde 2003 hasta la actualidad (INFOAGRO,2007)

Morfología:

La yuca es un arbusto perenne de tamaño variable, que puede alcanzar los 3 m de altura.

Hoja: Formada por pecíolo y limbo, en espiral en relación con la posición que ocupa en el tallo, el limbo se divide en varios lóbulos.

Tallo: Los tallos pueden ser erectos, decumbentes o acostados, sin ninguna ramificación,

Flor: La inflorescencia se presenta en forma de racimos

Fruto: El fruto de la yuca es en cápsula, drupácea, trilocular, provista de seis alas en la maduración.

Semillas: De forma elipsoidal, superficie lisa y brillante, de testa dura presenta jaspeado de manchas negras o pardas.

Raíz: El sistema radicular de la yuca es fibroso.

Síntomas: necrosamiento y pudrición en la raíz y tallo, hojas amarillentas, enrolladas y muerte de la misma.

Diseminación: Las clamidiosporas son diseminadas por el suelo.

Sobrevivencia: el patógeno forma esporas resistentes conocidas como clamidiosporas, que pueden permanecer inactivas en el suelo durante periodos de

Control: Se recomienda seleccionar terrenos con suelos livianos, con una buena de capacidad de drenaje. En suelos pesados se debe evitar dar riegos en exceso.

A fin de cortar los ciclos de patógenos que quedan en el suelo de un año a otro, se debe considerar la rotación de cultivo.

Morfología: Las principales características morfológicas de (*Fusarium oxysporum*) son hifas simples y ramificadas de 20 μm , clamidospora 7 μm , esféricas, globosas, de paredes lisas, terminales o intercalares macroconidios semicurvos, generalmente de tres a cinco septos, de 26,5 μm con tres o cinco septos, micronidios hialinos de forma de falsas cabezas y abundantes de oval a elíptica, con uno o dos septos de 3,08 μm (ARBELÁEZ, G. 2000)

OBJETIVO:

- Brindar información detallada sobre el hongo (*Fusarium oxysporum*) que ha causado mayor pérdida económica en el cultivo de yuca
- Conocer detalladamente la macro y microestructura que presenta el hongo durante su ciclo biológico (*Fusarium oxysporum*).
- Dar a conocer formas y tamaños de diferentes partes que está constituido del hongo en sus diferentes etapas.

UBICACIÓN:**Tabla 1.** Ubicación del laboratorio.

Sitio:	Salache Bajo
Parroquia:	Eloy Alfaro
Cantón:	Latacunga
Provincia:	Cotopaxi
Coordenadas cuadrícula mercator utm:	N: 9888.749,37. E: 764.660,386.
Altitud:	2757,59 msnm.




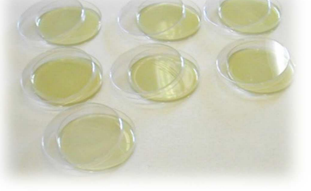
Fuente: el investigador

BLOQUE I. METODOLOGÍA:

Cuadro 2. Recolección de la muestra en campo y tratamiento en laboratorio.

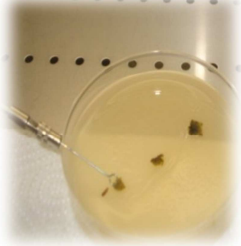



	<p>En cultivares de yuca (<i>Manihot esculent</i>) ubicados en sector Los Laureles del Cantón La Mana de la Provincia de Cotopaxi, a una altura de 586 m.s.n.m, se tomó muestras de hojas y tubérculos que presentaban signos y síntomas de estar afectados por (<i>Fusarium oxysporium</i>)</p>
	<p>Utilizando métodos más apropiados para recolección de material en campo se recolecto los órganos (hojas y tubérculos) enfermos, luego fueron almacenados en fundas tetrapac en una hielera para ser transportados hacia el laboratorio</p>
	<p>En un refrigerador a una temperatura entre 6 y 8°C fueron almacenadas las muestras tomadas en campo en las fundas de tetrapac, esto con la finalidad de que el patógeno se mantenga vivo. Las muestras deben estar rotuladas para evitar que se mesclen, tomando en cuenta que el tiempo de almacenado no sea mayor a 8 días.</p>

Cuadro 3. Preparación del medio de cultivo, papa - destroza - agar (PDA),

	<p>Primero.- pesamos 350 gr. de papa pelada picada en cuadritos, poner en una olla para cocinarlas por 15 minutos con 800 ml de agua con un pH de 6.5 que lo bajamos con ácido cítrico, esto para evitar la propagación de bacterias.</p>
	<p>Segundo.- pasamos por el colador la sustancia obtenida para liberarla de impurezas, la regresamos a fuego lento completando con agua lo que se evaporo, procedimos a añadir 30 gr. de agar, 30 gr. glucosa y 3,5 gr. de levadura.</p>
	<p>Tercero.- una vez que ya tuvimos una solución homogénea procedimos a trasladarla a un Erlenmeyer lo tapamos bien con papel aluminio para evitar que se derramé lo colocamos en el Autoclave por un lapso de 60 min con T°120 de para esterilizarlo.</p>
	<p>Cuarto.- una vez que obtuvimos el medio de cultivo esterilizado procedimos a ponerlo en cada caja Petri con mucho cuidado para evitar contaminaciones, fue necesario esperar de 5 a 10 minutos para que se gelatinice.</p>

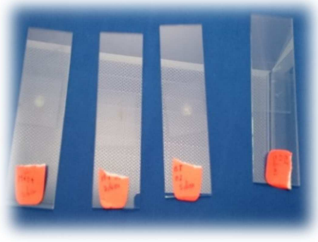
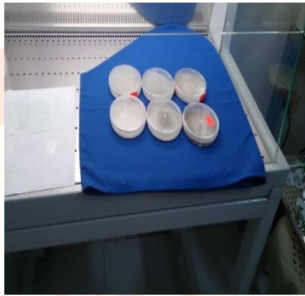

Fuente: El investigador

Cuadro 4. Siembra y cultivo del hongo

	<p>Las cajas Petri con el medio de cultivo PDA fueron trasladadas a la cámara de flujo laminar al igual que las muestras para ahí realizar la inoculación, con la ayuda de aza de siembra para evitar que se contamine el trabajo.</p>
	<p>Con un bisturí se procedió a cortar un pedazo de tejido contaminado de 3 mm y lo desinfectamos con una solución de 2:1 de clorox y lo colocamos en el centro de cada caja Petri con ayuda de una pinza y aza de siembra, de inmediato sellamos las cajas con parafilm y etiquetamos.</p>
	<p>Las cajas Petri ya sembradas las colocamos en la incubadora a una temperatura de 24°C y con una Hr del 70% para que el hongo se propague de una manera más rápida.</p>
	<p>En esta etapa tuvimos que estar pendientes de las muestras observándolas cada 24 horas de una manera minuciosos para observar todo los cambios que suceda en las cajas, con la colonia del hongo obtenidas.</p>

Fuente: El investigador

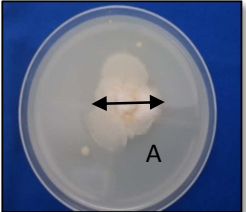
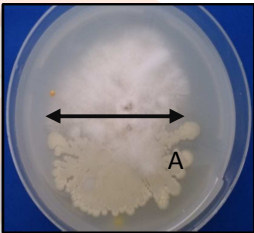
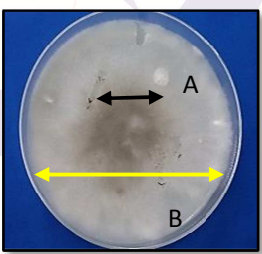
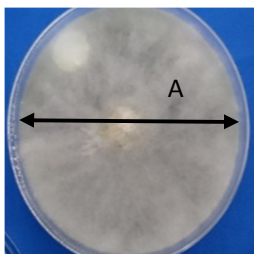
Cuadro 5. Identificación y Aislamiento

	<p>Se llevó las cajas Petri a la cámara de flujo laminar en donde las abrimos para coger muestras con la ayuda de un bisturí y lo colocamos en el porta objetos, la mejor manera de coger las muestras y para que sea observado.</p>
	<p>Observamos al microscopios para poder diferenciar las estructuras de los diferentes hongos que se propagaron en la caja hasta encontrar utilizando los lentes de 40x.</p>
	<p>Se diferencia la caja Petri que contenga(<i>Fusarium oxysporum</i>) Preparamos nuevamente medio de cultivo PDA, llevamos a la cámara de flujo laminar para volver a sembrar. Ya todo en la cámara de flujo laminar se obtiene una porción de micelio y se lo siembra en la caja Petri con el medio de cultivo, la llevamos a la incubadora y continuamos con las observaciones cada 24 horas.</p>

Fuente: el investigador

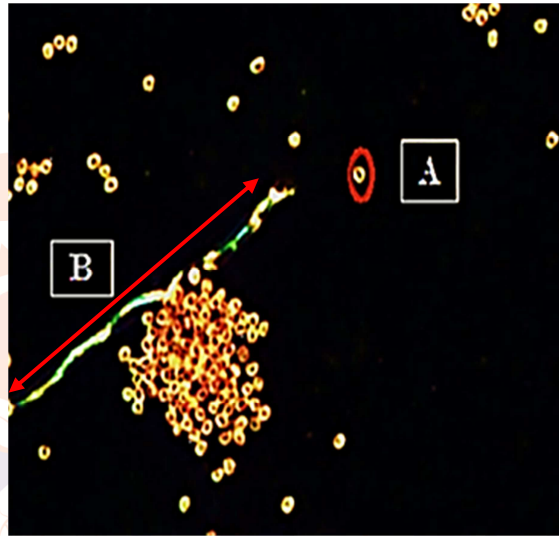
BLOQUE II. RESULTADOS:

Cuadro 6 Macroestructuras de hongo (*Fusarium oxysporum*)

	<p>A: micelio algodonoso blanquecino de 3 cm después 2 días de haber realizado la siembra.</p>
	<p>A: micelio algodonoso blanquecino de 8 cm a los 3 días de haber realizado la siembra.</p>
	<p>A: Halo concéntrico de 3 cm de color marrón B: micelio algodonoso de 9 cm de color cenizo al 4 día de haber realizado la siembra</p>
	<p>A: micelio algodonoso de 9 cm de color cenizo 5 día de haber realizado la siembra</p>

Microestructuras observadas en el Microscopio Trinocular CX31

La imagen fue obtenida con ayuda de un microscopio con el lente de 40, en campo oscuro Ph1 y con intensidad de luz de 5.



Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*)

A: Clamidiosporas de 7 μm

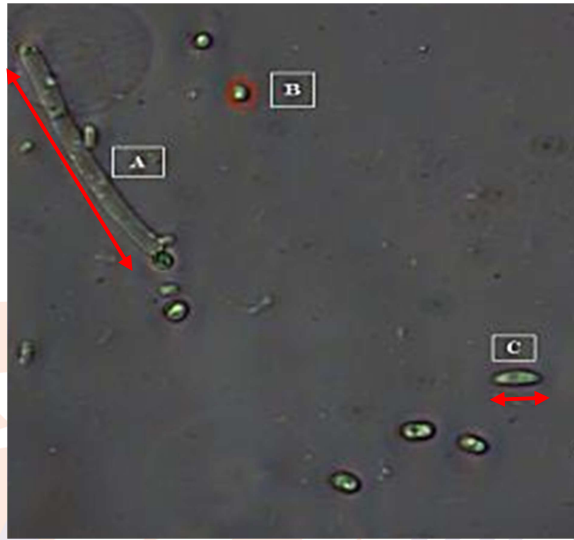
B: Hifas de 20 μm

Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

Mediante la observación realizada se pudo determinar hifas 15 μm septadas, hialinas y ramificadas de manera irregular con presencia de esporas globosas

Corroborando lo observado afirma ARBELÁEZ, 2000 hifas septadas y hialinas de 15 μm con presencia de esporas globosas.

La imagen fue obtenida con ayuda de un microscopio con el lente de 40x, en campo oscuro Ph2 y con una intensidad de luz de 5



Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*)

A: Conidióforo de 20 μm

B: Clamidiosporas de 7 μm

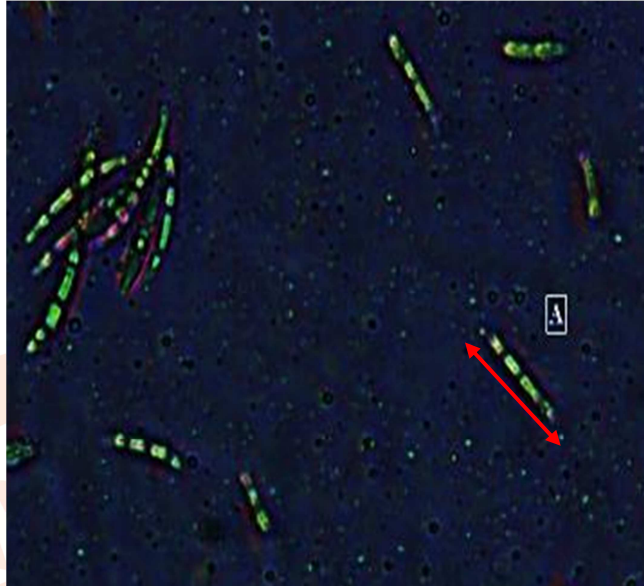
C: microneidios de 3.08 μm

Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

Se puede observar la presencia de conidióforos laterales de 20 μm con presencias de clamidiosporas de tamaño de 7 μm , esféricas, globosas, de paredes lisas, terminales o intercalares y dispuestas individualmente o pares y microneidios de 3.08 μm

Corroborando lo observado ARBELÁEZ, G. 2000 a presencia de conidióforos de 20 μm clamidiosporas de 7 μm de tamaño, abundantes, esféricas (globosas), subglobosas, de paredes lisas, terminales o intercalares y dispuestas individualmente o en pares a lo largo y microneidios de 3.08 μm

La imagen fue obtenida con ayuda de un microscopio con el lente de 40x, en campo oscuro Ph2y con intensidad de luz de 5



Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*)

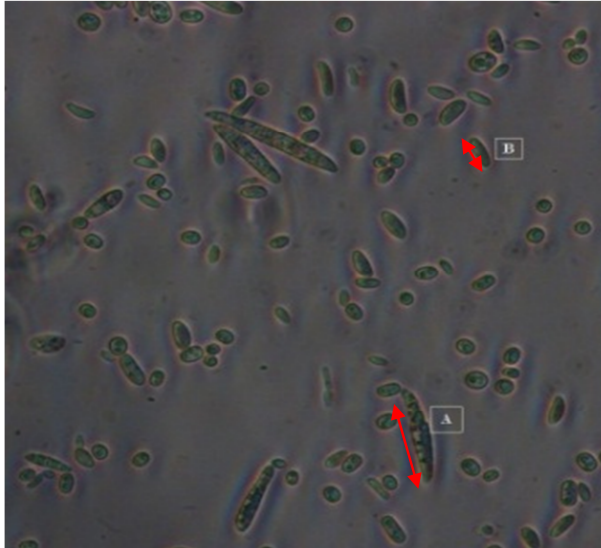
A: Macronidios de 26,5 μm

Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015

Se puede identificar la presencia de macronidios semicurvos, generalmente de tres a cinco septos, de 26,5 μm .

Corroborando lo observado ARBELÁEZ, G. 2000. Macroconidios hialinos, semicurvos o casi rectos de tres a cinco septos de 26.5 μm .

La imagen fue obtenida con ayuda de un microscopio con el lente de 40x, en campo oscuro Ph2y con intensidad de luz de 5



Reproducción en laboratorio (*Fusarium oxysporum*)

A: Macronidios de 26,5 μm

B: Micronidios de 3,08 μm

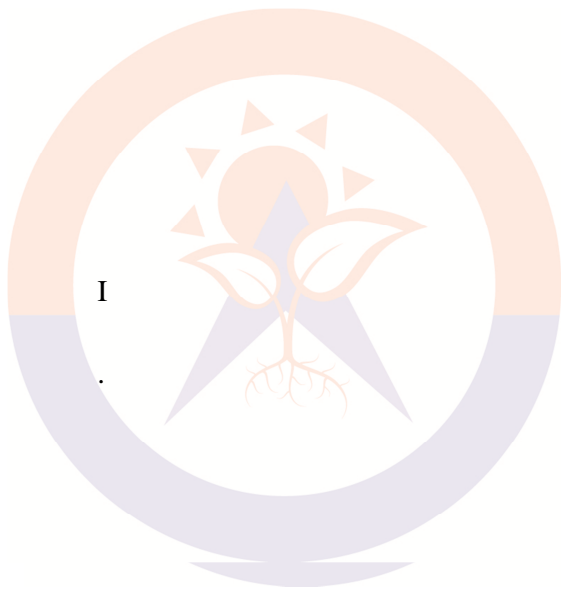
Elaborado por: TANDAZO, Mónica, 2015.

Se puede identificar la presencia de macronidios abundantes de 26,5 μm hialinos, semicurvos o casi rectos a curvados puntiagudos a sus extremos con tres o cinco septos con presencia de micronidios hialinos de forma de falsas cabezas y abundantes de oval a elíptica, con uno o dos septos de 3,08 μm

ARBELÁEZ, G. 2000. Macroconidios hialinos, de semicurvos o casi rectos (falcados) a curvados, puntiagudos en sus extremos, con tres a cinco septos de 26,5 μm y Micronidios hialinos formados en falsas cabezas y abundantes, de forma oval a elíptica, con uno o dos septos de 3,08 μm

MATERIAL DE CONSULTA SUGERIDO:

1. AGRIOS, G. (1999). Fitopatología 2 ed. Mexico: Limusa.
2. ARBELAEZ, G. (2000) Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. Agronomía colombiana.
3. INFOAGRO. (2007). Plan de investigación de la yuca en Portoviejo, datos estadísticos



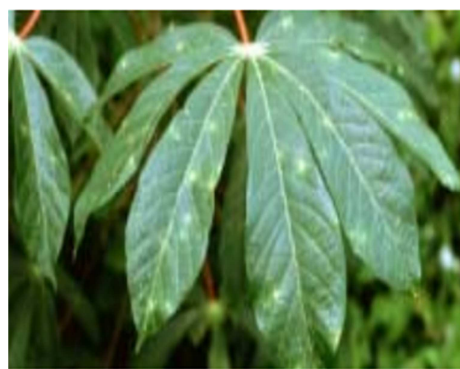
Ingeniería
Agronómica

ANEXO N 2 Enfermedades de la yuca

Mancha parda de la hoja. Causada por *Cercospora henningsii*. Es una de las enfermedades más importantes de la yuca. Los síntomas que provoca son manchas marrones, más definidas en el haz y menos en el envés. Las venas cercanas a las lesiones circulares pueden aparecer de color negro. Las hojas situadas en la parte baja de la planta son más susceptibles de ser atacadas. Para controlar la enfermedad, lo mejor es utilizar variedades resistentes al hongo.



Mancha blanca de la hoja. Causada por *Cercospora caribae*. Es una enfermedad frecuente en los periodos húmedos y frescos. Los daños que causan estas especies comienza por un amarilleamiento en la hoja, en el centro aparece un color pardo en cuyo borde en ocasiones aparece una línea irregular pardo-violeta. En las hojas produce manchas irregulares, primero amarillas y posteriormente pardas de unos 5 - 10 mm. El hongo penetra en la planta a través de los estomas, invadiendo posteriormente los espacios intercelulares. El hongo sobrevive en la época seca sobre los tejidos viejos infectados.



Ceniza o mildiu. Causada por *Oidium* sp. Esta enfermedad aparece en la época seca. La ceniza de la yuca está causada por *Oidium manihotis*. Ataca preferentemente a las hojas más desarrolladas. Provoca lesiones amarillentas en las que en ocasiones aparecen áreas necróticas de color marrón. Pudiendo llegar hasta provocar la defoliación de la planta. También se recomienda la aplicación de productos a base de azufre por aspersión



Añublo pardo fungoso. Causada por *Cercospora vicosae*. Suele presentarse donde aparece la mancha parda. Los síntomas son manchas grandes de color marrón, siendo marrón grisáceo en el envés. Puede ocasionar defoliaciones severas en variedades susceptibles. No obstante, no es una enfermedad que ocasione grandes pérdidas. Para controlar la enfermedad se recomienda excesiva humedad en el suelo.



ANEXO N° 3 Campo visita al sitio de recolección de muestras.



Fotografía N° 1 Sitio de recolección



Fotografía N°2 Monitoreo del cultivo



Fotografía N° 4 Recolección de muestras.

ANEXO N° 4 Laboratorio equipos



Fotografía N° 5 Incubadora



Fotografía N° 6 Cámara de flujo laminar



Fotografía N°7 Autoclave



Fotografía N°8 Microscopio trinocular



Fotografía N° 9 Microondas y

Fotografía N° 10 Destilador de agua



Fotografía N°11 Cocina eléctrica

ANEXO N° 5 Preparación del agar papa destroxa



Fotografía N° 12 Limpieza y cocion de papas 350 gr



Fotografía N° 13 Se utilizo 30gr de agar



Fotografía N° 14 35 gr. de glucosa



Fotografía N°15 3,5 de levadura

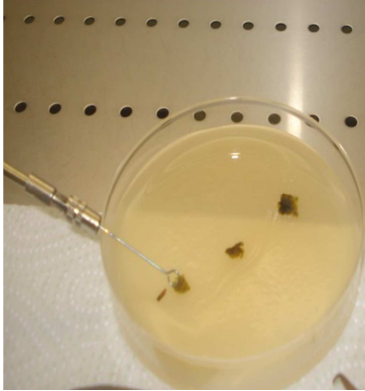


Fotografía N° 16 Mezcla la preparacion por 2 minutos
hora



Fotografía N 17°Desifeción del agar por 1

ANEXO N° 6 Siembra del hongo (*Fusarium oxysporum*)



Fotografía N°18 Siembra del tejido



Fotografía N° 19 Sellada de la muestra

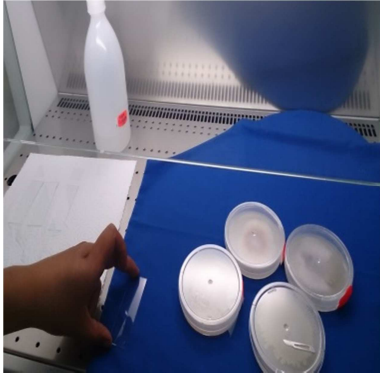


Fotografía N° 20 T° de inoculación del hongo incubadora

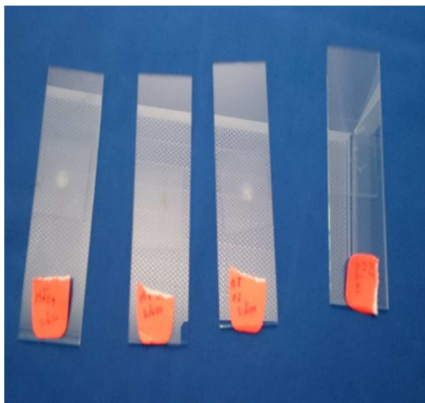


Fotografía N° 21 Muestra en la

ANEXO N°7 Macroestructuras del hongo (*Fusarium oxysporum*)

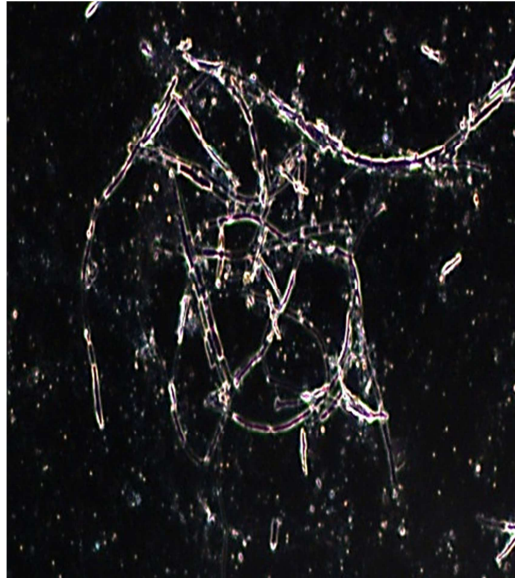


Fotografía N° 22 Macroestructura de hongo (*Fusarium oxysporum*)

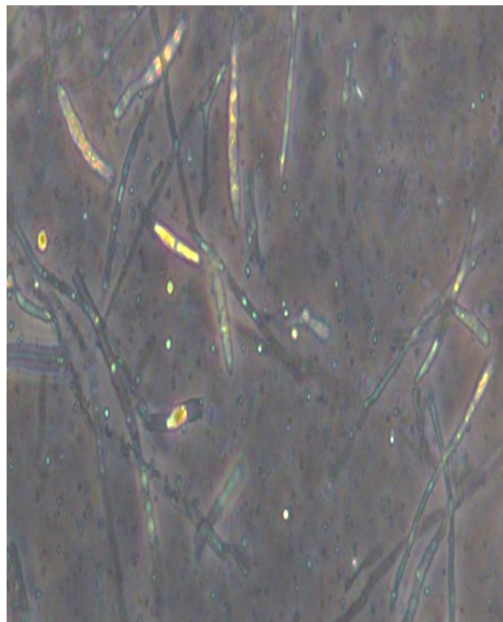


Fotografía N° 23 Muestra de micelio para ser observado en microscopio

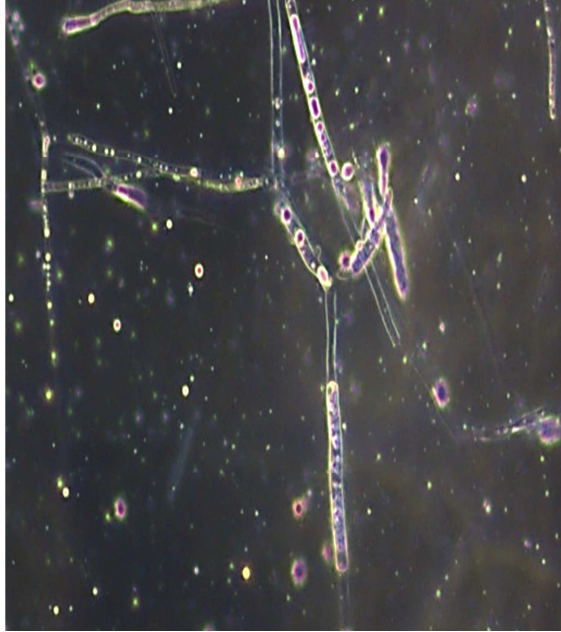
ANEXO N° 8 Identificación microestructuras hongo (*Fusarium oxysporum*)



Fotografía N° 24 Microestructura observada con el lente 10X



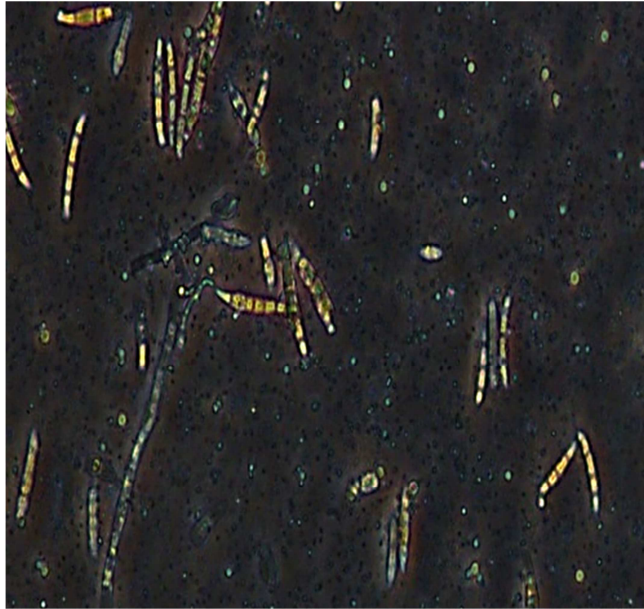
Fotografía N° 25 Microestructura observada con el lente 20X



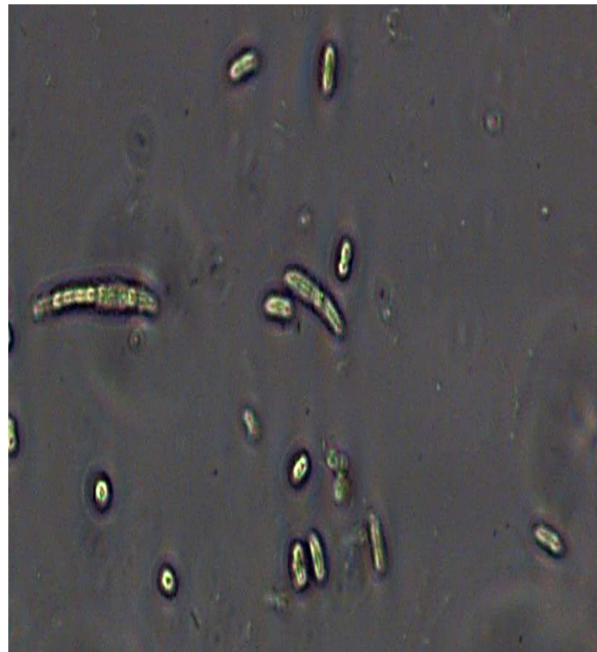
Fotografía N° 26 Microestructura observada con el lente 20X



Fotografía N° 27 Microestructura observada con el lente 10X



Fotografía N° 27 Microestructura observada con el lente 40X



Fotografía N° 28 Microestructura observada con el lente 40X

