

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE C.C.Q.Q. Y FARMACIA  
PROGRAMA EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD  
SUBPROGRAMA BIOLOGÍA

**INFORME FINAL DE LA PRÁCTICA DE EDC**  
HERBARIO BIGUA  
JULIO 2003-JULIO 2004

Estudiante: Manuel Francisco Cano Alfaro  
Profesora supervisora: Licda. M. Eunice Enriquez C.  
Asesor de Unidad de Práctica: Ing. Ag. Mario Esteban Véliz

## INDICE

	<b>Páginas</b>
Introducción	<b>3</b>
Cuadro resumen de las actividades de EDC	<b>4</b>
Actividades de servicio	<b>5</b>
• Creación de una página de Internet para el herbario BIGUA	<b>5</b>
• Base de datos de literatura presente en el herbario BIGUA	<b>5</b>
• Actividades de ingresado, inventariado e intercalado de exsicatas.	<b>5</b>
Actividades de docencia	<b>6</b>
• Curso de Introducción a la fitopatología	<b>6</b>
• Diseño de una página de Internet para la revista científica estudiantil de EDC	<b>6</b>
Actividades de Investigación	<b>6</b>
• Actividades no planificadas	<b>7</b>
• Resumen de Investigación	<b>8</b>

## INTRODUCCIÓN

El programa de prácticas de Experiencias Docentes con la Comunidad –EDC- tiene la función de introducir a los estudiantes al campo de su carrera en relación con la comunidad. El presente informe muestra un resumen de lo que se realizó durante el periodo de prácticas de EDC, el cual se dividió en Investigación, docencia y servicio. En la etapa de investigación se estudio los efectos de la urea y ácido caféico en plantas de *Phaseolus vulgaris* L, inoculadas con *Fusarium solani*, tratando de conocer los efectos que pudiesen tener los tratamientos a tres concentraciones diferentes en la virulencia de *F. solani*. En el área de docencia se recibió un curso semestral de introducción a la Fitopatología estudiando las causas de las enfermedades en plantas y su forma de evitarlas además de conocer las características principales de los organismos que provocan algunas enfermedades en plantas. También se realizo una página de Internet para el programa de experiencias docentes con la comunidad en la cual se pone a la disposición de la población los resúmenes de la quinta edición de la revista científica estudiantil. En la fase de servició se realizo una base de datos para las colecciones de plantas del Herbario BIGUA y una base de datos de literatura, y otros servicios dentro del Herbario BIGUA, como el ingreso, inventariado, intercalado entre otros.

#### 4. CUADRO RESUMEN DE ACTIVIDADES

Programa Universitario	Nombre de la Actividad	Fecha de la Actividad	Horas de EDC ejecutadas
Servicio	1. Página Internet Herbario BIGU 2. Base de datos literatura 3. Base de datos colección Herbario BIGU 4. Actividades de inventariado 5. Actividades de intercalado 6. Horas Obligatorias	Julio – Agosto 2004	360 hrs 100%
Docencia	1. Curso de Introducción a la Fitopatología 2. Página de Internet EDC 3. Horas programadas EDC	1. Julio – Noviembre 2003  2. Junio – Julio 2004	208 hrs 100%
Investigación	Efectos de la urea y ácido caféico en plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. inoculadas con <i>Fusarium solani</i>	Enero – Julio 2004	468 hrs 100%

### 3. ACTIVIDADES DE SERVICIO

#### No.1

##### **Creación de una página de internet para el Herbario BIGUA**

**Objetivos:** Dar a conocer por medio de una página de internet las funciones y servicios que ofrece el Herbario BIGUA.

Brindar información a las personas interesadas en conocer parte de la flora de Guatemala por medio de la Red.

Publicar investigaciones, artículos científicos y fotografías con las que cuenta el herbario BIGUA

**Procedimiento:** Se realizó una página de internet con la supervisión del ing. Ag. Mario Véliz en la cual se pusieron las funciones y servicios que ofrece el herbario BIGUA, así como también se creó un correo exclusivo para dar información. Además la página presenta otras páginas con información del personal, historia y proyectos con el que este cuenta.

**Resultados:** Se concluyo satisfactoriamente con la página del Herbario BIGU, la cual será publicada en un espacio del dominio USAC dentro de la página de la I.I.Q.B.

**Dificultades:** No se obtuvieron muchas dificultades, pero lo que retraso el procedimiento para crear la página fue la disposición de tiempo y la concordancia en el formato de la página.

#### No.2

##### **Base de datos de literatura presente en el herbario BIGUA**

**Objetivos:** Se creo una base de datos de literatura presentes en el Herbario BIGUA, cuya función es poner a disposición a los estudiantes e investigadores la literatura presente en el herbario BIGUA.

**Procedimiento:** Se Ingreso la bibliografía de libros, revistas, artículos y otras literaturas presentes en el herbario BIGUA a la base de datos. También se colocaron palabras claves para el fácil acceso a los documentos.

Luego de haber ingresado toda la literatura presente en el herbario BIGUA a la base de datos, se ordenaron y colocaron los libros, revistas y demás literatura de acuerdo a los códigos utilizados en la base de datos para su fácil acceso. Se espera que la base de datos se siga actualizando ya que todavía hay bastante literatura que debe ser ingresada, ya que hasta el momento se llevan ingresados un total de trescientos cincuenta libros, revistas y artículos científicos. Durante toda esta fase se puso a disposición la búsqueda de información a estudiantes e investigadores, ordenando los libros ya ingresados en la base de datos, con su respectiva codificación, además del etiquetado de libros y revistas ingresadas.

**Resultados:** Se realizó un total de aproximadamente ciento cincuenta nuevos registros todos con resúmenes. Los libros, revistas científicas y demás literatura fueron codificados y ordenados para su fácil acceso. Con esto se sumo un total de aproximadamente trescientos cincuenta registros.

**Dificultades:** Una de las mayores dificultades era la disponibilidad para ingresar los datos a la base de datos, debido a que sólo existe una computadora en el herbario y en ésta misma se realizan otras bases de datos así como otras tareas.

#### No.3

##### **Actividades de ingresado, inventariado e intercalado de exsicatas**

##### **Objetivos:**

Ayudar con el ingreso, inventariado e intercalado de plantas herborizadas a las colecciones de las instalaciones del herbario BIGUA.

##### **Procedimiento:**

Durante el transcurso del año se ingreso, inventario e intercalo material herborizado, en promedio de horas, por lo que no se tiene un registro total del material trabajado.

**Resultados:** Se ingreso nuevo material herborizado y se intercalo en el orden establecido por el herbario. El proceso fue realizado durante el transcurso del año de prácticas de EDC sumando un total de trescientas sesenta horas aproximadamente.

#### 4. ACTIVIDADES DE DOCENCIA

##### No.1

##### Curso de Introducción a la fitopatología

##### Objetivos:

Estudiar las causas de las enfermedades en plantas y su forma de evitarla.

Conocer las características principales de los organismos que provocan enfermedades en plantas.

Diagnosticar y controlar las enfermedades en el campo.

**Procedimiento:** Se Recibió el curso de introducción a la fitopatología dado en la Facultad de Agronomía (FAUSAC), con el cual se llegó a la capacidad de poder diagnosticar enfermedades de plantas a través de sus síntomas así como poder darles un tratamiento adecuado. Asimismo se conocieron diferentes alternativas de manejo de enfermedades en plantas.

**Resultados:** Se recibió el curso de Introducción a la fitopatología perteneciente al octavo semestre de dicha carrera en la Facultad de Agronomía obteniendo una nota de sesenta puntos, aprobando de esta forma el curso.

**Dificultades:** Se presento el problema de tener traslape de horarios entre el curso más el laboratorio y las clases normales del programa de Biología, por lo que fue difícil poder aprobar el curso.

##### No. 2 Diseño de una página Web para la revista científica estudiantil de EDC

##### Objetivos:

Dar a conocer por medio de una página en internet las investigaciones realizadas por los estudiantes, pertenecientes al programa de EDC.

##### Procedimiento:

Se creo una página en internet, en la cual se pusieron los resúmenes de las investigaciones realizadas por los estudiantes de EDC, del año 2004, la cual se publica en la revista científica estudiantil. La página se pondrá en la red por medio de un espacio de la página principal del I.I.Q.B., la cual se encuentra en la página principal de la USAC.

**Resultados:** Se realizó una página de internet y se publicó temporalmente en la página [http://espanol.geocities.com/edc\\_biolo/](http://espanol.geocities.com/edc_biolo/) con correo electrónico con capacidad de 100Mb con el nombre: [edc\\_biolo@yahoo.com](mailto:edc_biolo@yahoo.com) Nombre de usuario: edc\_biolo, Clave: biología.

#### 5. ACTIVIDADES DE INVESTIGACIÓN

##### Investigación:

**Efectos de la urea y ácido caféico en plantas de *Phaseolus vulgaris* L. inoculadas con *Fusarium solani***

**Objetivos:** Poder determinar los efectos del nitrato así como de compuestos fenólicos en la patogenicidad de *Fusarium sp.* en plantas de frijol.

##### Descripción:

En esta investigación se trato de determinar el efecto de la urea y ácido caféico a tres concentraciones diferentes en plantas infectadas con *Fusarium solani*. La colecta del material infectado se traslado al laboratorio de fitopatología FAUSAC en donde se aisló e identifico a *F. solani*. Se realizaron cultivos puros y se inocularon en las plantas sanas de *Phaseolus vulgaris* sembradas en una solución con dos tratamientos: Urea y ácido caféico, a tres concentraciones diferentes en veinte réplicas por tratamiento.

##### Procedimiento:

Se realizó un perfil de investigación, mostrando el planteamiento del problema por el cual se quería realizar la investigación y a raíz de esta se realizó el protocolo de investigación. El material colectado se realizó en el departamento de El Petén y chimaltenango de donde se aisló al hongo y

se efectuaron cultivos puros en agar papa dextrosa, para luego inocularlo en plantas sanas de *P. vulgaris*.

**Dificultades:**

En el desarrollo de la investigación se tuvo el inconveniente de obtener cultivos puros de *Colletotrichum lindemuthianum*, con estructuras reproductivas, por lo cual se decidió a trabajar con *Fusarium solani*. Esto retraso el proceso de investigación ya que se tuvo que aislar y volver a realizar cultivos puros para la realización del proyecto.

## 6. ACTIVIDADES NO PLANIFICADAS

**Proyecto Monte espinoso:** Durante el mes de octubre del 25 al 28 colabore en el proyecto de la diversidad florística del monte espinoso de Guatemala, ayudando en la colecta y herborización de plantas, haciendo un promedio de ocho horas diarias por cuatro días.

**Resultados:** Se ayudo a la colecta y herborizado de plantas para el proyecto de vegetación del Bosque Seco de Guatemala coordinado por el Ing. Ag. Mario Véliz.

**Elaboración de una Base de Datos para la colección del Herbario BIGUA.**

Se creo una base de datos con el programa ACCESS el cual cuenta con veintidós columnas con la información total de cada planta presente en el Herbario BIGUA.

Se ingreso un promedio de ciento cuarenta registros a la base de datos La mayoría de plantas fueron briofitas.

**Resultados:** Se realizó una base de datos con un aproximado de veinte campos en el cual se colocará toda la información detallada de la excicata.

**Ingreso de plantas:** Como tareas no planificadas ingresaron nuevos registros de plantas a la colección del Herbario BIGUA. El total de número de plantas ingresadas a la colección fue un promedio de 200 plantas.

**Resultados:** Se ayudo al ingreso de plantas nuevas a la colección del Herbario.

**Modificación del protocolo:** En base a los resultados obtenidos en la preparación de cultivos puros de *Colletotrichum lindemuthianum*, en la cual no se obtuvo esporulación, se decidió a trabajar con *fusarium solani*, el cual es también un agente infectivo de *Phaseolus vulgaris*.

**Dificultades:** La falta de estructuras reproductivas por parte de *C. lindemuthianum* y en base al tiempo se decidió trabajar con *F. solani*. También se decidió modificar el título a uno que mejor se adaptara a la investigación el cual es: efectos de la urea y ácido caféico en plantas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con *Fusarium solani*

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA  
PROGRAMA DE EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD  
SUBPROGRAMA DE EDC-BIOLOGÍA

**INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN**

EFFECTOS DE LA UREA Y ÁCIDO CAFÉICO EN PLANTAS DE *Phaseolus vulgaris* L.  
INOCULADAS CON *Fusarium solani* (Martius) Sacc.

Estudiante: Manuel Francisco Cano Alfaro  
Profesora Supervisora: Licda. Eunice Enríquez  
Asesor de Unidad de Práctica: Ing. Ag. Mario Esteban Véliz

## INDICE

• Resumen	3
• Introducción	4
• Referente Teórico	5
○ Enfermedades en las plantas	5
○ Enfermedades ocasionadas por hongos	6
○ Características del Patógeno: <i>Fusarium solani</i> .	7
○ Características del Hospedante: <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	9
○ Defensa del Hospedero hacia el patógeno	10
▪ Defensa Bioquímica	10
▪ Defensa Bioquímica inducida por el patógeno	10
○ Función de los compuestos fenólicos	11
○ Nutrición de la planta hospedera	12
○ Efectos del nitrógeno en la planta hospedera	13
• Planteamiento del Problema	14
• Justificación	14
• Objetivos	15
• Hipótesis	15
• Materiales	15
• Metodología	16
○ Colecta del material infectado	16
○ Determinación de <i>Fusarium solani</i>	16
○ Preparación del material infectado	16
○ Desinfección del material	17
○ Cultivo y aislamiento del patógeno	17
○ Conteo de esporas y porcentaje de germinación	17
○ Diseño Experimental	17
▪ Tratamientos	18
▪ Unidad Experimental	18
▪ Réplicas	18
▪ Control	18
▪ Observaciones	19
• Resultados	19
• Discusión de Resultados	20
• Conclusiones	23
• Recomendaciones	23
• Bibliografía	23
• Anexos	25,...

## RESUMEN

### EFFECTOS DE LA UREA Y ACIDO CAFEICO EN PLANTAS DE *Phaseolus vulgaris* L. INOCULADAS CON *Fusarium solani* (Martius) Sacc.

La siguiente investigación tuvo como objetivo principal determinar el efecto de la urea y ácido caféico a tres concentraciones diferentes en plantas inoculadas con *Fusarium solani*, ya que las plantas son atacadas por un abundante número de organismos patógenos, los cuales ocasionan pérdidas a nivel mundial. Se trató de conocer el efecto que tiene el ácido caféico como un mecanismo de defensa bioquímico inducido, ya que este es secretado por la planta en lugares donde ocurre la infección, sirviendo como un componente fungitóxico de defensa de la planta hacia el patógeno. Asimismo se trató de conocer el efecto de la urea como una fuente de nitrógeno, ya que en las plantas redundó en la producción de crecimiento joven y carnosos prolongando la fase vegetativa retardando la madurez y haciéndolas menos susceptibles a los patógenos. La colecta del material infectado se trasladó al laboratorio de fitopatología FAUSAC en donde se aisló e identificó a la especie. Se realizaron cultivos puros y se inocularon en las plantas sanas de *Phaseolus vulgaris* sembradas en una solución con dos tratamientos: urea y ácido caféico, a tres concentraciones diferentes en veinte réplicas por tratamiento.

De acuerdo a los resultados obtenidos, en el tratamiento con urea para las tres concentraciones hubo retraso en aparición de síntomas de la enfermedad. A diferencia de éste, el ácido caféico produjo toxicidad a los hipocotilos de *P. vulgaris* en las tres concentraciones. Esto demostró cualitativamente que los tratamientos aplicados en las tres concentraciones no son eficientes para prevenir la infección de *F. solani*. También se observó que la humedad relativa es un factor determinante para la germinación y viabilidad de conidias de *F. solani*.

Manuel Fco. Cano A.  
Correo electrónico: [manuel\\_cano@msn.com](mailto:manuel_cano@msn.com)

## EFFECTOS DE LA UREA Y ÁCIDO CAFÉICO EN PLANTAS DE *Phaseolus vulgaris* L. INOCULADAS CON *Fusarium solani* (Martius) Sacc.

### INTRODUCCIÓN

Las plantas son atacadas por una gran cantidad de organismos patógenos que causan enfermedades en diferentes tejidos u órganos. Además de las enfermedades causadas por patógenos, también presentan enfermedades debido a condiciones climáticas y disponibilidad de alimento. Es por eso que las plantas presentan diferentes mecanismos de defensa para evitar las enfermedades. El hospedero presenta diferentes tipos de estructuras físicas que limitan la entrada del patógeno, siendo una de estas la superficie, la cual esta constituida por ceras y cutícula, que cubren a las células epidérmicas, además de las estructuras de las paredes celulares, el tamaño y localización de los estomas. También existe otro mecanismo de defensa el cual es a nivel bioquímico en donde la planta exuda una gran cantidad de sustancias toxicas para el patógeno inhibiendo la germinación de esporas, crecimiento de bacterias y otros patógenos que son transportados por el viento y agua que se encuentran depositados en su superficie.

El hongo fitopatógeno *Fusarium solani* tiene un rango hospedero muy amplio. Afecta más de sesenta y cinco familias botánicas. Es encontrado universalmente en suelo causando el ahogamiento de raíz, pudrición de raíz y canchales en tallo en casi cualquier planta. Tienen la capacidad de atacar gran cantidad de tejido débil o combinarse con otras especies patógenas como un invasor secundario, afectando la planta entera, tallos, raíces y órganos vegetativos. *F. solani* tiene una distribución a nivel mundial y predomina en las zonas de clima moderado (CABI, 2001).

La colecta del material infectado se traslado al laboratorio de fitopatología FAUSAC en donde se aisló e identifico a la especie. Se realizaron cultivos puros y se inocularon en las plantas sanas de *Phaseolus vulgaris* sembradas en una solución con dos tratamientos: urea y ácido caféico, a tres concentraciones diferentes en veinte réplicas por tratamiento.

Uno de los propósitos de esta investigación fue determinar el efecto que tiene la urea, como un derivado nitrogenado en plantas inoculadas con *F. solani* debido a que este redundo en la producción de crecimiento joven y carnosos prolongando la fase vegetativa retardando la madurez. También se trató de determinar el efecto del ácido caféico en la patogenicidad de *Fusarium solani*., debido a que la producción en algunas plantas está relacionados con la resistencia a las enfermedades y su síntesis o acumulación al parecer aumenta después de haberse producido la infección.

Al terminar esta investigación se desea conocer los efectos que puedan tener la urea y ácido caféico en la patogenicidad de *Fusarium solani*, basándose en el grado de infección que presente cada tratamiento.

## **REFERENTE TEÓRICO:**

### **Enfermedades en plantas:**

El crecimiento y el rendimiento de las plantas dependen de la disponibilidad del agua y de los nutrientes del suelo donde se desarrollen, así como del medio ambiente como la temperatura, luz y humedad. Dependen también de la protección que tengan contra el ataque de los parásitos. Es muy probable que todo lo que afecta la salud de las plantas influya en su crecimiento y producción, lo cual disminuye de manera notable su utilidad para la naturaleza y para la humanidad. Las causas más comunes del crecimiento deficiente de las plantas son los fitopatógenos, el clima desfavorable, las malas hierbas y las plagas de insectos.

Las plantas se mantienen sanas o normales cuando llevan a cabo sus funciones fisiológicas hasta donde les permite su potencial genético. Esas funciones comprenden su división celular normal, su diferenciación y desarrollo, la absorción de agua y los minerales del suelo y su translocación por toda la planta, la fotosíntesis y la translocación de los productos fotosintéticos hasta los órganos de utilización o almacenamiento, el metabolismo de los compuestos sintetizados, la reproducción y finalmente, el almacenamiento de las reservas alimenticias necesarias a la producción o a la invernación. (Agrios, 1985)

Las plantas se encuentran enfermas cuando una o varias de sus funciones son alteradas por los microbios patógenos o por determinadas condiciones del medio ambiente. Las causas principales de enfermedad en las plantas son los microorganismos patógenos y los factores del medio ambiente físico. Los procesos específicos que caracterizan las enfermedades, varían considerablemente según el agente causal y a veces según la misma planta. (Agrios, 1985)

En un principio, la reacción de la planta ante el agente que ocasiona su enfermedad se concentra en la zona enferma y es de naturaleza química e invisible. Sin embargo, poco tiempo después la reacción se difunde y se producen cambios histológicos que se hacen notables y constituyen los síntomas de la enfermedad. Estas células y tejidos se debilitan o destruyen a causa de los agentes que ocasionan la enfermedad. La capacidad que tienen estas células y tejidos para llevar a cabo sus funciones fisiológicas normales disminuye o se anula por completo; como resultado, la planta muere o merma su crecimiento. Los tipos de células o tejidos que son infectados determinan el tipo de función fisiológica de la planta que será afectada. Así, la infección de la raíz, dificulta la absorción de agua y nutrientes del suelo; la infección de los vasos xilemáticos interfiere en la translocación del agua y los minerales hasta la parte superior de la planta; la infección del follaje afecta la fotosíntesis; la infección de la corteza obstaculiza la translocación, hacia la parte inferior de la planta de los productos fotosintéticos; las infecciones florales interfieren con la reproducción o el almacenamiento de las reservas alimenticias para la nueva planta, o ambas. (Agrios, 1985)

Sin embargo existe otro grupo de enfermedades en las que las células afectadas en vez de ser debilitadas o destruidas, son estimuladas para dividirse con mayor rapidez (hiperplasia), o para crecer mucho más (hipertrofia) que las células normales. Por lo general, las células hipertrofiadas o hiperplásticas dan como resultado el desarrollo de órganos comúnmente no funcionales que se dividen y crecen de manera normal, así como la formación de sobrecrecimientos amorfos sobre los órganos normales en apariencia. (Agrios, 1985)

Las células y tejidos estimulados en exceso no sólo absorben muchos de los nutrientes disponibles en perjuicio de los tejidos normales, sino también, debido a su crecimiento excesivo, pueden presionar a los tejidos normales adyacentes dificultando las funciones fisiológicas de la planta. (Agrios, 1985)

En base a lo descrito anteriormente puede decirse que las enfermedades de las plantas puede definirse como cualquier alteración ocasionada por un agente patógeno o un factor del medio ambiente que afecta la síntesis, translocación o utilización del alimento, los nutrientes minerales y el agua, en tal forma que la planta afectada cambia en apariencia y tiene una producción menor que una planta sana de la misma variedad. (Agrios, 1985)

Los microorganismos patógenos producen enfermedades en las plantas mediante el consumo de los contenidos de las células del hospedero con las que entra en contacto, la alteración o inhibición del metabolismo de las células hospederas debido a la secreción de toxinas, enzimas o sustancias reguladoras del crecimiento; el debilitamiento del hospedero a causa de la absorción continua del alimento para su propio uso y el bloqueo de la translocación de los nutrientes minerales, alimentos y agua, a través de los tejidos conductores. Las enfermedades ocasionadas por los factores del medio ambiente son el resultado de cambios extremos en las condiciones necesarias a la vida (temperatura, luz, humedad, etc.) y en las cantidades de sustancias químicas que absorben o requieren las plantas. (Agrios, 1985)

### **Enfermedades ocasionadas por hongos:**

Casi todas las enfermedades vegetales son infecciosas y estas resultan de la interacción de un organismo vivo, el patógeno, con otro, la planta huésped. La mayoría de los patógenos de las plantas son hongos, bacterias, virus, nemátodos o fanerógamas parásitas. (NAS, 1981 )

La mayoría de las plantas son susceptibles al ataque de hongos en especial las agrícolas y la diversidad de patógenos varía con el tipo de planta hospedera. A escala mundial, los hongos originan pérdidas que ascienden a miles de millones de dólares al año. Cualquier órgano de la planta (raíces, tallos, hojas, flores, frutos o semillas) puede ser atacado. (Agrios, 1985)

El control de los hongos fitopatógenos es muy complicado debido a su diversidad y variabilidad; además, muchos tienen ciclos de vida que abarcan más de una planta huésped; otros pueden vivir indefinidamente como saprófitos, atacando a los huéspedes vivos cuando

surge una oportunidad. Algunos tienen fases de esporas durante las cuales se diseminan en el aire, el agua o el suelo; sin embargo otros hongos producen esporas inactivas, con periodos largos de sobrevivencia en un lugar determinado. (NAS, 1981)

Los síntomas que producen los hongos en sus hospederos son de tipo local o general, produciendo generalmente una necrosis local o general o la muerte de los tejidos vegetales que infectan, hipertrofia o hiperplasia o atrofia de plantas completas o sus órganos e hiperplasia o crecimiento excesivo de ellas o alguno de sus órganos. (Alexopoulos, 1966)

En muchas enfermedades, el patógeno se desarrolla o produce varias estructuras, sobre la superficie de su hospedero. Estas estructuras, que incluye el micelio, esclerocios, esporóforos, cuerpos fructíferos y esporas, se les denomina signos y difieren de los síntomas, los cuales sólo se refieren a la apariencia que toman las plantas o sus tejidos que han sido infectados. (Alexopoulos, 1966)

### **Características del patógeno *Fusarium solani*:**

*Fusarium solani* (Martius) Sacc. [Anamorfo]

### **Posición Taxonómica:**

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

### **Rango Hospedero:**

El Anamorfo de *N. Haematococca* (teleomorfo) tiene un rango hospedero muy amplio, afectando más de sesenta y cinco familias. *F. solani* es encontrado universalmente en suelo causando el ahogamiento de raíz, pudrición de raíz y canchales en tallo en casi cualquier planta. Tienen en común con *F. oxysporum* y otras especies de *Fusarium* la capacidad de atacar gran cantidad de tejido débil o combinarse con otras especies patógenas como un invasor secundario (CABI, 2001).

### **Estadios de la planta afectada:**

Plántula y fase de crecimiento vegetativo

### **Partes de la planta afectada:**

Planta entera, hojas, tallos, raíces y órganos vegetativos.

### **Distribución Geográfica:**

*F. solani* tiene una distribución a nivel mundial y predomina en las zonas de clima moderado.

## **Epidemiología**

La temperatura óptima para la patogénesis causada por *F. solani* es de 26 – 28°C, con niveles de humedad en el suelo de un 15%. Existe un decline mordaz en la enfermedad cuando la humedad del suelo excede del 25%.

Las clamidosporas son estimuladas a germinar por los exudados de las raíces, producidos por numerosos hospederos no parásitos (CABI, 2001).

## **Relación patógeno/ hospedero**

La inhibición de la infección depende de la estimulación temprana de los eventos de defensa antes de herir y después de la invasión. Sustancias con actividad antifúngica como el ácido clorogénico y ácido caféico no aparentan su influencia en reacciones de defensa en tubérculos de papa, una vez la infección ha empezado (CABI, 2001).

Las fitoalexinas, kievitinas, phaseollidinas y pisatinas producidas por legumbres son a menudo detoxificadas o metabolizadas por *Fusarium* sp. Esto puede resultar en la producción de Kievitne hidratasa por *Fusarium* sp. El hospedero secreta flavonoides estimulando la germinación de esporas de *Fusarium solani* formae speciale asociada con la enfermedad en vainas y semillas de frijol. Algunas bacterias rizóforas tienen la habilidad de estimular la formación de fitoalexinas en hipocotilos de frijol (CABI, 2001).

La inoculación de *F. solani* f.sp phaseoli en endocarpos de guisantes, resulta en una respuesta de no resistencia del huésped, causando cesación completa del crecimiento del hongo en un lapso de 6 a 8 horas. En parte esta respuesta se le atribuye a la liberación de DNasa por el hongo que estimula la formación de fitoalexinas. La penetración del hospedero en la cutícula es asistida por una secreción de cutinasa de la hifa invasora. La ruptura del gene cutinasa de *Fusarium solani* f.so pisi reduce drásticamente su virulencia (CABI, 2001).

## **Morfología**

El crecimiento de colonias en cultivos in Vitro es moderadamente rápido, cubriendo toda la superficie de agar en 4 a 6 días, de una forma esparcida, esponjosa y con micelio de coloración rosado. Las microconidias son formadas en abundancia en el micelio aéreo por elongación de fiálides laterales. Las microconidias son hialinas, cilíndricas, con bordes puntiagudos o allantoides, de 9-16 x 2-4 mm y pueden estar uno septadas. Las macroconidias se encuentran muy pocas o ausentes. Cuando son formadas, las macroconidias se desarrollan en 4 a 7 días, iniciando en pequeñas gotas, esparcidas en el micelio aéreo, formando después masas cremosas coloreadas (esporodoquios) en la superficie del agar. Las macroconidias son de cilíndricas a falcadas, a menudo más delgadas hacia el ápice y con un pie bien marcado en el pie de la célula. Son de 40-100 x 5 -7.5mm y típicamente de 3-5 –(7) septadas. La optima temperatura para el crecimiento y la formación de conidias en un cultivo in Vitro es de 28°C (Fig. 1) (CABI, 2001).

Las clamidosporas se pueden formar en cultivos, son globosas a ovales, lisos o de paredes rugosas, 10-11 x 8-9 mm, 1-3 células, desarrollándose intercalada o terminalmente. La formación de las clamidosporas es más frecuente en la oscuridad que en la claridad y pueden ser estimuladas por la presencia de bacterias del suelo adheridas al cultivo (CABI, 2001).

## **Control**

La fumigación química del suelo puede controlar a *F. solani*, pero no es económico en la práctica. Los medios más efectivos para el control es el uso de rotaciones cada 6 a 8 años, que excluyan todas las especies leguminosas (CABI, 2001).

## **Características del hospedante *Phaseolus vulgaris* L.**

Posición taxonómica:

Reino: Plantae  
Subreino: Embriobionta  
Clase: Magnoliopsida  
Subclase: Rosidae  
Orden: Fabales  
Familia: Fabaceae  
Género: *Phaseolus*  
Especie: *vulgaris*

Descripción:

Planta anual originaria de América Central y sur de México. Es una leguminosa de tallo herbáceo, con hojas compuestas de tres folíolos, enteros, ovales, terminados en punta, sus flores reunidas en racimos cortos, de color blanco, violeta, rosado. De acuerdo con la variedad alcanza diferentes alturas, clasificándose en tipo arbustivo (de suelo) y trepador o enredadera (de guía). Su reproducción se hace por semilla, la que conserva su poder de germinación por 3 o 4 años (fig. 2) (Gudiel M. Víctor, Rev. No. 5 1979-1980).

Importancia del cultivo:

En Guatemala el frijol constituye uno de los cultivos básicos, de mucha importancia por ser una fuente de proteínas, indispensable en el alimento. Su cultivo se encuentra distribuido en las diferentes zonas del país, pero los rendimientos promedios son muy bajos debido a los diferentes sistemas de cultivo.

Clima:

El frijol se adapta a las diferentes zonas climáticas del país: cálido, templado y frío, alturas comprendidas entre los 0 a 9,000 pies sobre el nivel del mar, con temperaturas que

oscilen entre los 18 y 24°C, existiendo variedades adecuadas para dichas zonas. Temperaturas mayores a los 27°C provocan la caída de las flores y las bajas temperaturas perjudican el crecimiento. (Gudiel M. Víctor, Rev. No. 5 1979-1980)

### **Defensa del hospedero hacia el patógeno:**

El hospedero presenta diferentes tipos de estructuras físicas que limitan la entrada del patógeno, siendo una de estas la superficie, la cual está constituida por ceras y cutícula, que cubren a las células epidérmicas, además de las estructuras de las paredes celulares, el tamaño y localización de los estomas.

Las ceras de las hojas y de la superficie de los frutos forman una capa repelente al agua que impide que sobre los tejidos se forme una película de agua en la cual los patógenos pudieran depositarse y germinar o bien reproducirse. También se encuentra el grosor de la cutícula, la cual aumenta la resistencia a las infecciones en las cuales el patógeno solo penetra directamente. Sin embargo, basta una cortada o una lesión en la planta para que el patógeno puede penetrar al hospedero y causar infección, razón por la cual existen también mecanismos de defensa de naturaleza química más que estructural a los que a ellos se debe la resistencia a la infección causada por ciertos patógenos. (Agrios, 1985)

### **Defensa Bioquímica:**

Por lo general las plantas exudan una gran variedad de sustancias a través de la superficie de sus raíces y de sus demás órganos aéreos, algunas de las cuales son compuestos fungitóxicos que sirven para inhibir la germinación de ciertas esporas de hongos, que son transportadas por el viento, gotas de lluvia o rocío que se depositan en la superficie de las hojas.

### **Defensa bioquímica inducida por el patógeno.**

Las células y tejidos vegetales responden a los daños ocasionados ya sea por los patógenos o por agentes mecánicos o químicos mediante una serie de reacciones bioquímicas que tienden a aislar al agente causal y a sanar la zona afectada. Con frecuencia esta reacción está relacionada con la producción de sustancias fungitóxicas, en torno a la zona dañada y a la formación de capas de tejidos protectores como los callos y el corcho.

Alguno de los agentes químicos producidos de esa forma se hallan en concentraciones lo bastante altas como para inhibir el desarrollo de la mayoría de hongos y bacterias. Dichos agentes incluyen a la mayoría de los compuestos fenólicos tales como los ácidos clorogénico y caféico, a los productos de la oxidación de los compuestos fenólicos y a las fitoalexinas, que en su mayoría también son compuestos fenólicos. (Agrios, 1985)

## **Función de los compuestos fenólicos**

Alguno de los fenoles comunes relacionados con la resistencia a las enfermedades se encuentran profusamente en las plantas ya sea sanas o enfermas, pero su síntesis o acumulación al parecer aumenta después de haberse producido la infección. Sin embargo existen algunos otros en los cuales los fenoles no se producen en plantas sanas, solo cuando son estimuladas por algún patógeno o por el daño ocasionado por un agente químico o mecánico. A estas sustancias se les denominan alexinas (Agrios, 1985).

Existen algunos compuestos fenólicos comunes que son tóxicos para los patógenos que solo se producen después de haber ocurrido una infección en una variedad resistente que en una susceptible. Aun cuando alguno de esos compuestos fenólicos comunes llegue a alcanzar concentraciones que pudieran ser tóxicas para el patógeno, debe tenerse en cuenta que algunos de ellos aparecen concurrentemente en los mismos tejidos enfermos y que el efecto tóxico combinado de todos los fenoles fungitóxicos presentes, es posiblemente el responsable de la inhibición de las infecciones en las variedades resistentes (Agrios, 1985).

Existen hongos que producen o liberan de los tejidos de las plantas una enzima que hidroliza a moléculas fenólicas complejas, haciendo que uno de sus productos ejerza gran toxicidad sobre el patógeno. La mayoría de las enzimas que oxidan al fenol casi siempre es mayor en la mayoría de tejidos infectados resistentes que en la de plantas susceptibles (Agrios, 1985).

Se hallan enzimas como la polifenoloxidasas que oxidan compuestos fenólicos hasta quinonas, las cuales con frecuencia son mucho más tóxicas para los organismos patógenos que los compuestos fenólicos originales. Estas enzimas se encuentran en concentraciones más altas en plantas resistentes. Sin embargo la resistencia o inmunidad de las plantas ante un patógeno depende de la velocidad y el grado de la síntesis proteínica que inducen los patógenos u organismos similares no patógenos sobre la planta (Agrios, 1985)

En algunas enfermedades en las que el patógeno produce toxinas, la resistencia a la enfermedad es la misma que la resistencia a las toxinas. Las variedades resistentes metabolizan con gran rapidez esas toxinas o las combinan con otras sustancias para formar compuestos no tóxicos (Agrios, 1985).

Después de haberse producido una infección, las variedades resistentes con frecuencia muestran un mayor aumento inicial en su respiración que las variedades susceptibles, pero muestran también una disminución en su respiración al cabo de algunos días de haber sido infectadas, mientras que en las variedades susceptibles no ocurre lo mismo. La elevada respiración de los tejidos infectados indica una aceleración general del metabolismo del hospedero, la cual al parecer es una condición necesaria para el desarrollo de su reacción de defensa (Agrios, 1985).

El daño o infección de las plantas activa una condición fisiológica, los cuales se acumulan en concentraciones que resultan tóxicas para muchos organismos. Sin embargo la reacción hipersensitiva es uno de los mecanismos de defensa más importantes de las

plantas. Estas reacciones se producen sólo en las combinaciones incompatibles entre plantas por un lado y patógeno por otro. En esas combinaciones no se observa diferencia alguna en la forma de penetración del patógeno en la epidermis de las plantas resistentes y susceptibles. Sin embargo después de haber ocurrido la infección, se produce una rápida pérdida de la turgencia, empardecimiento y muerte de las células infectadas en las variedades resistentes, mientras que en las susceptibles sobreviven por más tiempo. Estos cambios en las reacciones hipersensitivas incluyen la pérdida de permeabilidad en las membranas celulares, aumento de la respiración, acumulación y oxidación de los compuestos fenólicos y la producción de fitoalexinas y otros compuestos. El resultado final es siempre la muerte y desintegración de las células que han sido infectadas, quedando aislado el patógeno por los tejidos necróticos, muriendo rápidamente (Agrios, 1985)

### **Nutrición de la planta hospedera:**

La nutrición de una planta influye sobre la velocidad de crecimiento y la rapidez de las plantas para defenderse del ataque por patógenos. (Agrios, 1985) Como resultado de varios estudios se sabe ahora que existen quince elementos esenciales para las plantas, estos son: Carbono, hidrógeno, oxígeno, fósforo, potasio, nitrógeno, azufre, calcio, hierro, magnesio, boro, cobre, manganeso, molibdeno y cinc. Al Carbono, H, O, P, K, N, S, Ca y Mg se les denomina macronutrientes y al Mn, B, Cu, Mo, Z se les denomina micronutrientes. (Miller. V. Erston. 1967)

Un elemento es esencial cuando la ausencia de él origina daño o desarrollo anormal, impide que se complete el ciclo vital o causa la muerte de la planta y ningún otro elemento puede sustituirle. Además un elemento es esencial cuando se demuestra que es un componente normal que participa en una función vital de la planta. (Miller. V. Erston. 1967)

Algunos macronutrientes como el C, H y O provienen del gas carbónico aire y del agua del suelo. La atmósfera es la fuente indirecta de N para la planta y los elementos restantes provienen de las rocas y otros minerales disueltos que se encuentran en el suelo. (Miller. V. Erston. 1967)

Los nutrientes minerales a su vez se clasifican en macroelementos principales (N, P, K), macroelementos secundarios (Ca, Mg, S) y microelementos (Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, B, Cl).

Una demanda relativamente baja de nutrientes se manifiesta en la presencia de síntomas externos e internos. Los síntomas pueden aparecer en cualquiera de los órganos de las plantas incluyendo hojas, tallo, raíces, flores, frutos y semillas. (González V. Francisco. 2002)

Los tipos de síntomas que se deben a la deficiencia de un determinado nutriente depende principalmente de las funciones que desempeñe ese elemento en la planta y es muy probable que esas funciones sean inhibidas u obstaculizadas cuando el elemento sea un factor limitante. Algunos síntomas son bastante semejantes a los producidos por cualquiera de los elementos faltantes o deficientes pero es común que otras características que se

utilizan para hacer el diagnóstico de la enfermedad vayan aunadas a la deficiencia de un determinado elemento. (Agrios, 1985)

### **Efectos del nitrógeno en la planta hospedera:**

Sabemos hasta ahora que la disponibilidad de algunos nutrientes son esenciales para el desarrollo y crecimiento de la planta. La abundancia del nitrógeno en las plantas redundando en la producción de crecimiento joven y carnosos y puede prolongar la fase vegetativa retardando la madurez de las plantas haciéndolas más susceptibles a los patógenos durante períodos prolongados de tiempo que quieran atacar a dichos tejidos. Por lo contrario la falta de nitrógeno hace que las plantas se debiliten, crezcan con más lentitud y envejezcan con mayor rapidez, haciéndolas susceptibles a los patógenos que tienen así más susceptibilidad de atacar a plantas débiles y de crecimiento lento. La disminución de nitrógeno incrementa también la susceptibilidad de algunas plantas a ciertas enfermedades. Sin embargo, existe la posibilidad de que sea la forma del nitrógeno (amonio o nitrato) de que dispone el hospedero o el patógeno lo que en realidad afecte la severidad de la enfermedad o la resistencia de la planta ante ella más que el nitrógeno en sí. (Agrios, 1985)

En condiciones naturales, los nitratos son la principal fuente de nitrógeno para las plantas. En las prácticas agrícolas los fertilizantes nitrogenados suministran nitratos y sales de amonio. Cuando se cultivan plantas en soluciones, éstas absorben nitratos, nitritos, sales de amonio, aminoácidos y otras formas de nitrógeno orgánico. (Miller. V. Erston. 1967)

En la naturaleza el contenido de nitrógeno tiende a permanecer constante en los suelos cubiertos por vegetación natural no perturbada mantenidos en equilibrio por las bacterias fijadoras de nitrógeno. Sin embargo cuando este sistema es perturbado por prácticas agrícolas, el contenido de nitrógeno del suelo se reduce gradualmente. (Miller. V. Erston. 1967)

El nitrógeno es constituyente de un gran número de compuestos en la planta, formando parte estructural de la molécula de clorofila y presente en todas las proteínas. Es el elemento clave para la manipulación de balance de crecimientos vegetativos y reproductivos. Según González V. Francisco, (2002) la respuesta productiva de los otros nutrientes diferentes al nitrógeno es rara, por lo que se debe trabajar por separado al nitrógeno en métodos de fertilizaciones y al resto de los nutrientes como un solo grupo.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las plantas presentan un abundante número de organismos patógenos, los cuales se alimentan de las plantas más susceptibles. *F. solani* es un ascomiceto patógeno cosmopolita que causa ahogamiento de raíz, pudrición de raíz y canchales en tallo en casi cualquier planta además de la capacidad de atacar gran cantidad de tejido débil o combinarse con otras especies patógenas como un invasor secundario.

Se trató de conocer el efecto que tiene el ácido caféico como un mecanismo de defensa bioquímico inducido sobre plantas inoculadas con *F. solani*, ya que este es secretado por la planta en lugares donde ocurre la infección, sirviendo como un componente fungitóxico de defensa de la planta hacia el patógeno, causando una necrosis alrededor de la infección aislando al patógeno del tejido sano.

Asimismo se trató de conocer el efecto de la urea como una fuente de nitrógeno, ya que en las plantas redundante en la producción de crecimiento joven y carnoso prolongando la fase vegetativa retardando la madurez, haciéndolas menos susceptibles a los patógenos. Por lo contrario la falta de nitrógeno hace que las plantas se debiliten, crezcan con más lentitud y envejezcan con mayor rapidez, haciéndolas susceptibles a los patógenos que tienen así más susceptibilidad de atacar a plantas débiles y de crecimiento lento.

## **JUSTIFICACION**

Las plantas presentan un gran número de organismos patógenos, los cuales causan pérdidas millonarias a nivel mundial. Sin embargo existen enfermedades que se dan por cambios climáticos y falta de minerales indispensables para su desarrollo. En la actualidad existen diferentes medios para impedir o evitar las enfermedades en plantas, contando con infinidad de sustancias químicas que afectan los productos derivados de ellas, además de afectar las condiciones de suelo, producto del uso continuo de agroquímicos.

La falta de minerales esenciales para la planta, hacen que ésta se vuelva susceptible a cualquier patógeno. Es por eso que se trató de conocer el efecto que tiene la urea a tres concentraciones diferentes como una fuente de derivados nitrogenados en la resistencia de las plantas a sufrir enfermedades, adjudicando que la planta utiliza el nitrógeno principalmente en sus derivados y no en su forma elemental y que este es un macronutriente principal el cual ayuda a retardar el envejecimiento de los tejidos y por ende haciéndolos menos susceptibles a los patógenos. A raíz de esto se podría evitar el uso continuo de agroquímicos manteniendo las cantidades necesarias de nutrientes minerales en los suelos, haciendo menos susceptibles a las plantas hospederas de sus patógenos.

Asimismo se estudió el efecto que tiene el ácido caféico en la resistencia de la planta hacia el patógeno como un medio de defensa bioquímico inducido ya que este es secretado por la planta en el lugar de infección, sirviéndole como un agente de defensa fungitóxico.

## OBJETIVOS

General:

- Determinar el efecto de la urea y ácido caféico a tres concentraciones diferentes en plantas inoculadas con *Fusarium solani*.

Específicos:

- Obtener cultivos puros de *F. solani* a partir de plantas de *Phaseolus vulgaris* infectadas.
- Comparar los diferentes grados de infección de la planta hospedante en relación a las diferentes concentraciones de nitratos y compuestos fenólicos.

## HIPÓTESIS

### Hipótesis de investigación:

La urea y ácido caféico reducen la infección de *F. solani* en *Phaseolus vulgaris*.

### MATERIALES:

- *Phaseolus vulgaris* infectadas con *F. solani*
- Semillas sanas de *Phaseolus vulgaris*

No bióticos:

- Pinzas
- Cajas de petri
- Agar
- Papa
- Dextrosa
- Mechero Bunsen
- Alcohol
- Autoclave
- Tubos de ensayo
- Algodón
- Rociador
- Agua destilada
- Agua oxigenada
- Libros o manuales de consulta
- Piedra poma
- Urea
- Bolsas de nylon
- Botes plásticos
- Hielera
- Cafeína
- Fertilizantes
- Estereoscopio
- Microscopio
- Azul de lactofenol
- Rojo de lactofenol
- Claro de lactofenol
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Material de Laboratorio
- Materiales de oficina
- Libreta de registro
- Boletas de control

## **METODOLOGÍA**

### **1. Colecta del material vegetativo**

La colecta de *Phaseolus vulgaris* fue realizada en el departamento de El Petén y el departamento de Chimaltenango. En la localidad de El Petén se colectó la planta entera (raíz, tallo, hojas, vainas), en donde se encontraban signos característicos de la enfermedad ocasionada por *F. solani*.

En el departamento de Chimaltenango se consiguieron semillas infectadas en el mercado local. Al material se le identificó con la localidad, fecha y nombre del colector. El material fue llevado al Laboratorio de Fitopatología en la Facultad de Agronomía USAC, en donde se observaron los síntomas externos de la planta al estereoscopio.

### **2. identificación taxonómica de *Fusarium solani*.**

Para la identificación de *F. solani* se tomó tejido infectado y se hicieron cortes finos con ayuda de un estereoscopio. Los cortes fueron puestos en portaobjetos con el colorante rojo de lactofenol. Luego se realizó la marcha correspondiente a la clave para la identificación de hongos mitospóricos. El portaobjetos con el hongo identificado fue sellado con esmalte de uñas, para su preservación.

### **3. Preparación del material infectado**

Con ayuda del estereoscopio se tomaron las vainas de *Phaseolus vulgaris* y se hicieron cortes de medio centímetro cuadrado del tejido donde se mostraban los síntomas de la enfermedad causados por el hospedero. Se hicieron varias repeticiones para obtener diferentes muestras.

### **4. Desinfección del material**

Antes de poder hacer un cultivo puro del patógeno es necesario desinfectar el área de estudio y al mismo hospedante de otros organismos que puedan estar presentes en él.

La desinfección del material se llevó a cabo en una campana de laboratorio la cual fue limpiada y esterilizada antes de colocar el material a evaluar. Los cortes de medio centímetro cuadrado del tejido donde se mostraban los síntomas de la enfermedad causados por el hospedero fueron colocados en un vidrio de reloj. Luego se colocó para cada vidrio de reloj diferente, una concentración de alcohol etílico al 70%, hipoclorito al 5% y Agua esterilizada y destilada respectivamente. El material infectado fue pasado de treinta a cuarenta y cinco segundos por las tres fases del proceso de desinfección en ese mismo orden. Luego el material desinfectado se colocó en papel absorbente esterilizado hasta que estuviera seco.

La desinfección de las semillas de *Phaseolus vulgaris* fue realizada de la misma forma que los tejidos infectados, descritos en el párrafo anterior.

## **5. cultivo y aislamiento del patógeno**

El medio de cultivo utilizado fue el agar papa dextrosa y agar nutritivo. Estos fueron dados por el laboratorio de Fitopatología FAUSAC.

El material desinfectado fue colocado en cajas de petri esterilizadas cerca de un mechero Bunsen para evitar la contaminación del agar por bacterias. Las cajas de petri fueron identificadas y colocadas en incubadora a 22 °C durante siete días aproximadamente, hasta obtener suficiente material. Este procedimiento se repitió varias veces.

Pasado los siete días se retiraron las cajas de petri de la incubadora y se observaron al estereoscopio. Luego las cajas fueron llevadas a la campana para extraer el hongo de interés, con ayuda de un asa de nicromo, tomando una pequeña cantidad de micelio y colocándolo en otra caja de petri, con agar papa dextrosa estéril, identificándola y colocándolas de nuevo en la incubadora por siete días aproximadamente. Se realizó un promedio de cinco repeticiones por cada caja de petri, hasta obtener cultivos puros, con estructuras reproductivas.

## **6. Conteo de esporas y porcentaje de Germinación**

Luego de tener el cultivo puro de *F. solani* se extrajo el micelio de cinco cajas de petri agregándole una pequeña cantidad de agua destilada y raspándose el micelio con un asa de digralski. El micelio fue filtrado mediante una gasa, permitiendo únicamente el paso del agua con conidias al beacker. La solución de conidias se colocó en un beacker y se aforo a 750 ml.

Se tomó 1ml de la solución de *F. solani* con ayuda de una micropipeta y se colocó en un hemacitómetro tipo Neubauer. Se esperó que reposara la solución y se hizo un conteo de conidias en los cuadros marcados como E. (Fig. 3) El procedimiento se repitió cuatro veces.

Para medir la concentración de esporas se utilizó la fórmula para los cuadros marcados como E:  $c \cdot 2,5 \cdot 10^5$ .

Para determinar el porcentaje de germinación se tomó un mililitro de la solución de *F. solani* y se colocó en un portaobjetos de superficie cóncava (cuentagotas). El portaobjetos se colocó dentro de una caja de petri cerrada y se metió en la incubadora durante 24 horas. El conteo de germinación se hace con un contador o contando de uno a cien, escribiendo las conidias que germinaron o no, sacando así un porcentaje.

## 7. Diseño Experimental

Todas las plantas fueron sembradas en piedra poma y seleccionadas al azar para cada tratamiento.

Las variables de respuesta que se midieron fueron los cambios anamórficos que sufrieron las unidades experimentales luego de aplicados los tratamientos.

Todo el equipo y material de laboratorio utilizado fue donado y prestado por el Laboratorio de Fitopatología (FAUSAC). (Fig. 9)

Las concentraciones de los tratamientos se midieron en una balanza electrónica, prestada por el Laboratorio de Fitopatología (FAUSAC).

- **Tratamientos:**

Los tratamientos evaluados fueron la urea y ácido caféico a tres concentraciones diferentes:

Ácido caféico:

Concentración 1: 0.5g/l H<sub>2</sub>O

Concentración 2: 1.0g/l H<sub>2</sub>O

Concentración 3: 1.5g/l H<sub>2</sub>O

Urea:

Concentración 1: 0.5g/l H<sub>2</sub>O

Concentración 2: 1.0g/l H<sub>2</sub>O

Concentración 3: 1.5g/l H<sub>2</sub>O

- **Unidad Experimental:**

Se tomó como unidad experimental (u.e) los hipocotilos de *Phaseolus vulgaris*, a la cual se le aplicaron los tratamientos. (fig. 4)

- **Réplicas:**

Se realizaron veinte réplicas de cada u.e. por tratamiento más los dos controles, haciendo un total de 160. (Fig.5)

- **Control:**

Se tomaron dos controles:

Control 1: El control uno consistió en veinte hipocotilos de *Phaseolus vulgaris*, sembrados en agua destilada e inoculada con *F. solani*.

Control 2: El control dos consistió en veinte hipocotilos de *Phaseolus vulgaris* sembrados en agua destilada.

## 8. Inoculación del patógeno

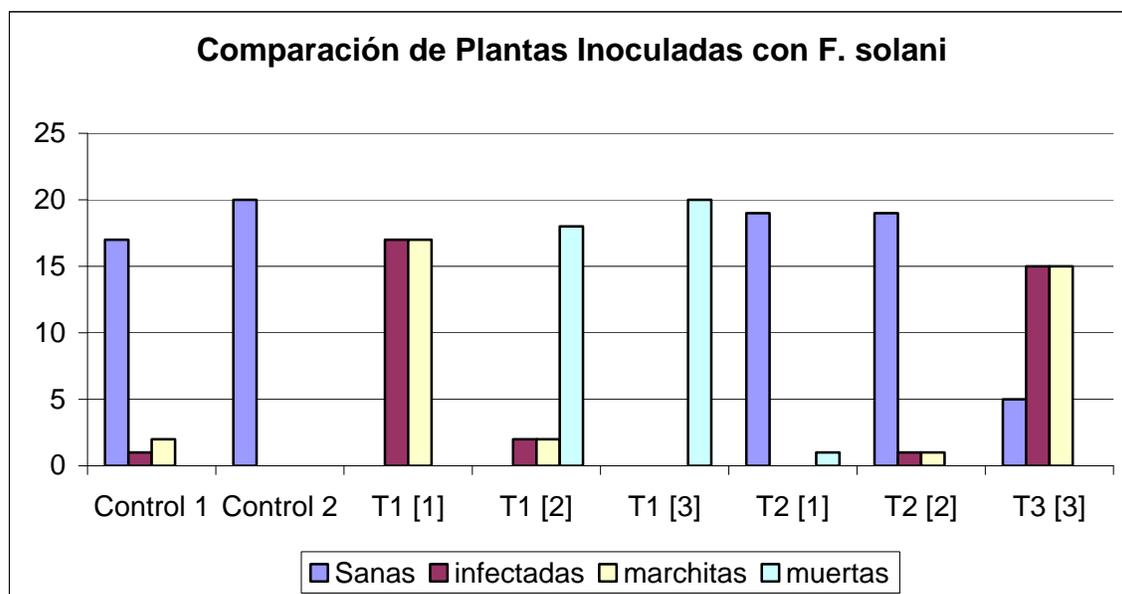
Una vez sembradas las plantas en los tratamientos se colocaron las unidades experimentales y el control 1 dentro de una cámara húmeda, para mantener la humedad relativa y una temperatura más o menos constante, que fuera ideal para el patógeno.

Seguido de esto se aplico la solución de *F. solani* uniformemente a una concentración de  $7.75 \times 10^6$  conidias/ml por toda la cámara húmeda, por medio de un rociador, tratando de abarcar la mayor cantidad posible de tejido vegetal. Luego la cámara húmeda fue sellada y se dejo en observación por quince días (Fig. 6). Las unidades experimentales del control 2 fueron sembradas en agua destilada y dejadas a temperatura ambiente fuera de la cámara húmeda.

## 9. Observación

Se tomo un registro de datos desde el momento de la inoculación durante quince días, para determinar los cambios anamórficos que pudieran ocurrir en las u.e. Se hizo un total de tres registros cada cinco días. En cada observación se registró cada síntoma que mostraban las unidades experimentales.

## RESULTADOS



	CONTROL		Ácido Caféico			Urea		
	Control 1	Control 2	T1 [1]	T1 [2]	T1 [3]	T2 [1]	T2 [2]	T3 [3]
<b>Sanas</b>	17\20	20\20	0	0	0	19\20	19\20	5\20
<b>infectadas</b>	1\20	0	17\20	2\20	0	0	1\20	15\20
<b>marchitas</b>	2\20	0	17\20	2\20	0	0	1\20	15\20
<b>muertas</b>	0	0	0	18\20	20\20	1	0	0

**Tabla 1.** Datos experimentales que muestran el registro de plantas sanas, infectadas, marchitas y muertas luego de ser inoculadas con *F. solani*

Cuadrante	Lecturas			
	L1	L2	L3	L4
1	7	7	10	6
2	9	8	9	7
3	9	8	14	3
4	11	10	5	12
5	5	3	5	7
<b>Media</b>	<b>8.2</b>	<b>7.2</b>	<b>8.6</b>	<b>7</b>

**Tabla 2.** Datos obtenidos del conteo de conidias en un hemacitómetro tipo neubauer para obtener la concentración de conidias/ml.

### Fórmula para el conteo de conidias:

La formula utilizada es específica para el cuadrante marcado como E para el hemacitómetro tipo neubauer (Fig. 3)

$$\text{Conidias/ml} = c * 2,5 * 10^5.$$

$$c = \sum \text{Promedio de conidias por cuadrante por lectura (Tabla 2)}$$

$$\text{Conidias/ml} = 31 * 2,5e^5 = 7.75e^6 \text{ conidias/ml.}$$

## DISCUSION DE RESULTADOS

La colecta de plantas de *Phaseolus vulgaris* infectadas fue realizada en Chimaltenango y San Luis departamento de El Petén, tomando las colectas de este último como material para aislar al hongo, ya que en este lugar las plantas presentaban un grado de infección severo. Los cortes y métodos de tinción utilizados para la identificación de los hongos demostraron que existían diferentes hongos fitopatógenos de *P. vulgaris*, identificando principalmente a *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium solani* y *Diplodia* sp.

Se realizaron varios medios de cultivo para aislar a *C. lindemuthianum*, ya que este era el hongo con el cual se deseaba trabajar, pero se dio el inconveniente de que en los medios de cultivo no producía estructuras reproductoras, debido a que se encontraba en condiciones favorables para su crecimiento vegetativo. En base a esto se realizaron varias técnicas las cuales fueron el rayado de micelio y cambiando las cajas de petri de una temperatura de 28°C a una de 22°C, sin embargo no se obtuvieron resultados positivos. En relación a esto y en base al tiempo se decidió trabajar con el otro hongo patógeno de *P. vulgaris*: *Fusarium solani*.

El aislamiento de *f. solani* se realizo varias veces por presentar contaminación por bacterias y hongos presentes en el ambiente, hasta obtener cultivos puros del hongo. Se

realizaron cinco cultivos puros de *F. solani* y se dejaron por varios días hasta obtener estructuras reproductivas.

Para determinar la viabilidad y germinación del hongo se realizó una prueba de germinación en agua destilada, y se dejó por 24 horas, obteniendo un porcentaje de germinación del patógeno del 99%, por lo que se determinó que la capacidad infectiva del hongo era bastante buena. En relación a esto se decidió sacar la concentración de conidias por mililitro, colocando un mililitro de la solución en un hemacitometro y realizando un conteo de conidias, obteniéndose una concentración de  $7.75 \times 10^6$  conidias por mililitro (Fig. 7).

Antes de inocular las plantas con *Fusarium sp.* se observó que los hipocotilos no estuvieran en mal estado o con algún daño físico, que pudiera afectar la toma de resultados.

Las unidades experimentales se colocaron en orden a las concentraciones de los tratamientos dentro de una cámara húmeda. Dentro de la cámara húmeda se encontraba el control 1 y fuera de la cámara se encontraba el control 2. Los resultados demostraron un cambio físico en los tratamientos y el control 1 con el Control 2.

Las unidades experimentales del control 2 presentaron un crecimiento normal, con hojas mucho más anchas y un crecimiento más rápido que el control uno y los dos tratamientos.

A los cinco días después de la inoculación se observó para los tratamientos con urea una tasa de crecimiento semejante a la del control 1, mientras que en las tres concentraciones diferentes de ácido caféico había una tasa de crecimiento menor a la del control 1.

En la concentración uno de ácido caféico la tasa de crecimiento era más lenta en relación al control 1, mientras que en las concentraciones dos y tres de ácido caféico, las tasas de crecimiento comparada con el control 1 eran muy vagas o nulas, con hojas marchitas.

En este lapso de tiempo no se observó ningún síntoma atribuible a la infección causada por *F. solani*, pero se observó un cambio drástico en el crecimiento de plantas de *P. vulgaris*, sembradas en las concentraciones dos y tres de ácido caféico.

Cinco días después se observó que para el tratamiento de ácido caféico, las plantas sembradas en la concentración 1, presentaban marchites, dieciséis de las cuales con defoliación y tres plantas con crecimiento lento. En la concentración 2, dieciocho de veinte plantas murieron y dos plantas sobrevivieron, con crecimiento lento, mientras que en la concentración tres las veinte plantas murieron. Este tratamiento se comparó con el control 1 el cual presentaba diecisiete plantas con crecimiento sano aparente, una infectada de los cotiledones y dos plantas marchitas. Se determinó que la causa principal de la muerte de las plantas de los tratamientos con ácido caféico, para la concentración dos y tres se debió a

una toxicidad en la planta causada por el ácido caféico. Las tres concentraciones de ácido caféico y el control 1 diferían con el control 2, el cual presentaba un crecimiento normal, con hojas más grandes y de apariencia sana (Fig. 8)

Para el tratamiento dos, la concentración 1 de urea, presentaba diecinueve plantas sanas y una planta muerta, sin infección aparente causada por el hongo, al igual que con la concentración dos, la cual presentaba diecinueve plantas sanas, una de las cuales sin hojas y otra infectada por *F. solani*. En el caso de la concentración tres hubieron quince plantas marchitas y cinco con crecimiento lento, en comparación con el control 1. El tratamiento dos, presentaba una similitud con el control 1, pero difería notablemente con el control 2, el cual presentaba un crecimiento normal, con hojas más grandes y de apariencia sana.

La marchites que presentaban las plantas de *P. vulgaris* en los tratamientos y el control 1 se debió a la infección de la raíz, causada por *F. solani*. Esto afectó la interpretación de los resultados debido a que no se observaron los signos ocasionados en la raíz los cuales servían como variable de respuesta para probar el efecto de los tratamientos a las unidades experimentales ya que *F. solani* es un hongo fitopatógeno que ataca principalmente a la raíz y causa pudrición, ahogamiento y marchites en la planta. En relación a lo anterior no se pudo realizar un análisis estadístico para determinar las similitudes de los tratamientos a diferentes concentraciones en el grado de patogenicidad de *F. solani*. Sin embargo se pudo observar una preferencia de la planta hacia los tratamientos con urea, ya que los resultados observados mostraron para las concentraciones dos y tres un número aparente de 19 plantas sanas.

En el caso de la concentración tres de urea, la saturación de derivados nitrogenados causó cierta toxicidad y por consiguiente debilitamiento de los tejidos, la cual pudo hacer más susceptible la infección por *F. solani*.

En el caso del tratamiento 1, las concentraciones dos y tres demostraron ser tóxicas para las unidades experimentales, ya que en ellas hubo muerte de los hipocotilos del 90 y 100% respectivamente, mientras que la concentración uno presentó infección pudiéndose deber al debilitamiento de los tejidos causados por la concentración del tratamiento o a la virulencia de *F. solani* como agente patógeno.

Un factor importante en la severidad para causar infección del patógeno a las unidades experimentales fue la humedad relativa presente dentro de la cámara húmeda, debido a que esta inhibe el crecimiento de *F. solani* a una humedad mayor al 25% (CABI, 2001). Se pudo observar una semana después de haber tomado las últimas anotaciones y haber desarmado la cámara húmeda, que todas las plantas aún vivas y que no presentaban síntomas de infección las cuales se encontraban dentro de la cámara presentaron marchites, por lo que se cree que la disminución de la humedad relativa en la cual se encontraban las unidades experimentales favoreció al desarrollo, crecimiento e infectividad de *F. solani*.

## CONCLUSIONES:

- Las aplicaciones de urea y ácido caféico en las concentraciones utilizadas no fueron exitosas para evitar la infección de *F. solani* por lo cual no se acepta la hipótesis de investigación planteada.
- Las tres concentraciones de ácido caféico resultaron ser tóxicas para los hipocotilos de *P. vulgaris*.
- La urea retrasa la aparición de síntomas de *F. solani* sin embargo, no es un impedimento para que se de la infección.
- La baja humedad relativa es un factor determinante en la germinación y viabilidad de las conidias del hongo hacia el ataque de las plántulas.

## RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio previo de la biología del hongo a partir de curvas de germinación que muestre cual de los dos tratamientos empleados, causa una disminución en la germinación de conidias.
- Ejecutar ensayos de laboratorio para determinar la concentración de conidias que se debe emplear en los métodos de inoculación.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Agrios. N. George. 1985. **Fitopatología**. Primera Edición. Editorial LIMUSA. Trad. Manuel Guzman Ortiz. México. 756 pp.
2. Ayvar S. Sergio, et al. 1994. **Compendio de enfermedades de algunos cultivos de México**. Vol. 1. Serie Sanidad Vegetal. Editorial SARH. México. 229 pp.
3. CAB *International*, 2001. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB *International*.
4. Commonwealth mycological institute C.A.B. 1986. **Manual para patólogos vegetales**. FAO. Kew Surrey England. 438 pp.
5. Constantine J. Alexopoulos. 1966. **Introducción a la micología**. Editorial Universitaria de Buenos Aires. Argentina. 615pp.
6. French. R. Eduardo, Hebert T. Teddy. 1980. **Métodos de investigación fitopatológica**. Editorial IICA. San José Costa Rica. 289pp.

7. Gonzáles V. Francisco. 2002. **Efecto de la fertilización con N-P-K-Ca en palto** (*Persea americana* mill.) cv. Hass. **Sobre su desarrollo, productividad y postcosecha.** Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. Quillota Chile. 124pp.
8. Gudiel M. Víctor. Rev. No. 5 1979-1980. **Manual Agrícola SUPERB.** Editada por Productos Superb. Guatemala. 291pp.
9. Llarden M. Mario. 1957. **Microbiología de suelos y Técnicas Fitopatológicas.** Volumen 24. Editorial Universitaria. Guatemala. 287pp.
10. Miller. V. Erston. 1967. **Fisiología vegetal.** Prime Edición. Editorial Hispano Americana. Trad. Francisco Latorre. México. 343pp.
11. National Academy of Sciences. 1981. **Control de plagas de plantas y animales** “Desarrollo y Control De Las Enfermedades De Las Plantas” Vol. 1. Primera Edición. Editorial LIMUSA. Trad. Manuel Aragonés. México. 223pp.
12. SAFRINET, the southern african (SADC) LOOP of BioNET INTERNATIONAL. 2000. **Collecting and Preserving fungi** A manual for mycology. CD-ROM.
13. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía (FAUSAC). **Manual de prácticas de laboratorio de Introducción a la Fitopatología.** 2003. Guatemala.

## ANEXOS

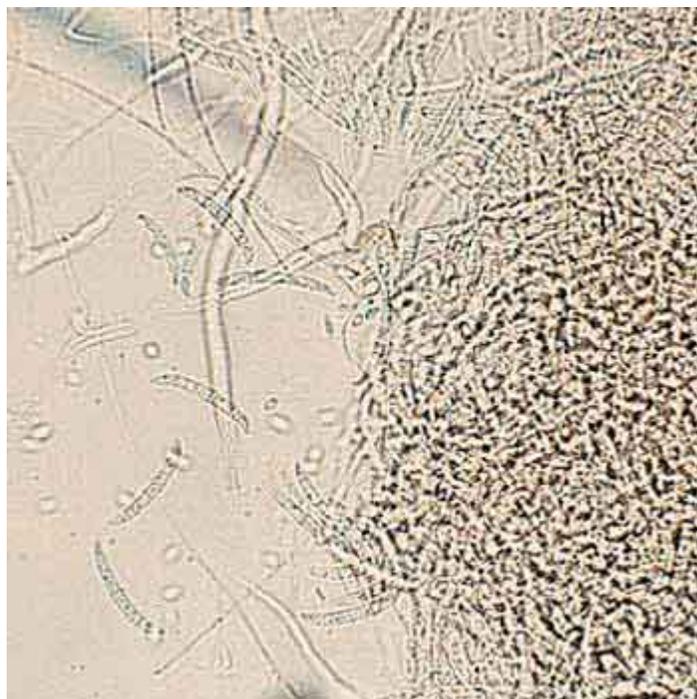
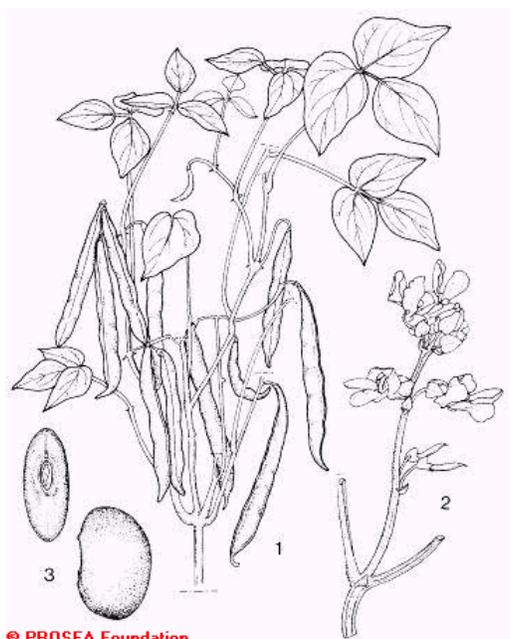


Fig. 1(conidias *F.solani*)



© PROSEA Foundation

Fig. 2 Planta de *P. vulgaris* tomado de CABI

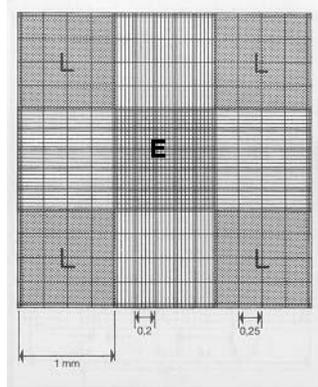


Fig. 3 Cuadros de la cámara de Neubauer utilizados para el conteo de conidias



Fig. 4 Hipocotilos de *P. vulgaris*



Fig. 5 Réplicas de cada unidad experimental por tratamiento.



Fig. 6 Inoculación del patógeno dentro de una cámara húmeda.

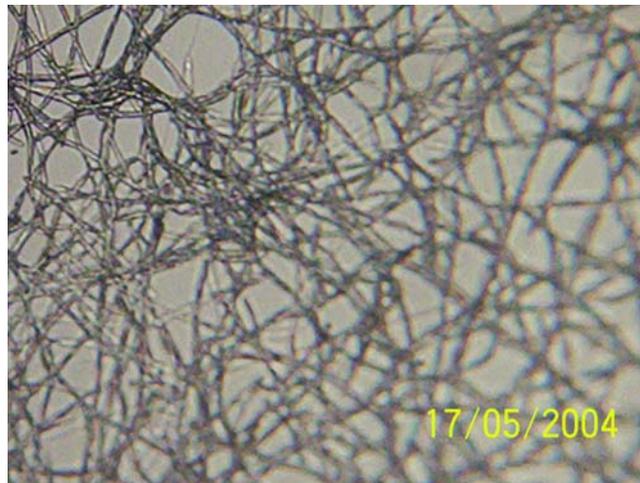


Fig. 7 Germinación de conidias de *F. solani* después de 12 hrs. de sembradas.



Fig. 8 Crecimiento de plantas en los tratamientos con ácido caféico (izquierda) y urea (derecha).



Fig. 9 Área de trabajo de laboratorio prestado por el laboratorio de Fitopatología (FAUSAC).