

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Agronomía
Área Integrada
Instituto de Investigaciones Agronómicas y Ambientales

Evaluación de medios de cultivo para el crecimiento y desarrollo de *Sphaerellopsis filum* proveniente de *Uromyces phaseoli*, del municipio de Nueva Santa Rosa, Santa Rosa, Diagnóstico y Servicio realizados en el Centro de Diagnóstico Parasitológico de la Facultad de Agronomía (CDP –FAUSAC), Guatemala, C.A.

Roselia del Rosario Solares Barrera

Guatemala agosto de 2017

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ÁREA INTEGRADA

TRABAJO DE GRADUACIÓN

Evaluación de medios de cultivo para el crecimiento y desarrollo de *Sphaerellopsis filum* proveniente de *Uromyces phaseoli*, del municipio de Nueva Santa Rosa, Santa Rosa, Guatemala, C.A.

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

ROSELIA DEL ROSARIO SOLARES BARRERA

**EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO
INGENIERA AGRÓNOMA**

EN

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADA

GUATEMALA, AGOSTO 2017

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

RECTOR

Dr. Carlos Guillermo Alvarado Cerezo

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTA DE AGRONOMÍA

DECANO	Ing. Agr. Mario Antonio Godínez López
VOCAL PRIMERO	Dr. Tomás Antonio Padilla Cámbara
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr. M.A. César Linneo García Contreras
VOCAL TERCERO	Ing. Agr. M. Sc. Eberto Raúl Alfaro Ortiz
VOCAL CUARTO	P. Agr. Walfred Yasmany Godoy Santos
VOCAL QUINTO	P. Agr. Cristian Alexander Méndez López
SECRETARIO	Ing. Agr. Juan Alberto Herrera Ardón

GUATEMALA, AGOSTO DE 2017

GUATEMALA, AGOSTO 2017

Honorable Junta Directiva

Honorable Tribunal Examinador

Facultad de Agronomía

Universidad de San Carlos de Guatemala

Honorables miembros:

De conformidad con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de graduación: **Evaluación de medios de cultivo para el crecimiento y desarrollo de *Sphaerellopsis filum* proveniente de *Uromyces phaseoli*, del municipio de Nueva Santa Rosa, Santa Rosa, Guatemala, C.A.** Como requisito previo a optar al título de Ingeniera Agrónoma en Sistemas de Producción Agrícola en el grado académico de Licenciada.

Esperando que el mismo llene los requisitos necesarios para su aprobación, me es grato suscribirme,

Atentamente,

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

A handwritten signature in black ink, enclosed in a large, irregular oval shape. The signature appears to read 'Roselia' followed by a stylized flourish.

ROSELIA DEL ROSARIO SOLARES BARRERA

ACTO QUE DEDICO

A DIOS: Porque me has dado la vida y sé que sin ti nada es posible, que tus planes son perfectos, soy obra tuya y tú has puesto en mi camino a personas indicadas para culminar mis estudios. Y como dice la santa madre Teresa de Calcuta Da siempre lo mejor de ti y lo mejor vendrá...

A MIS PADRES: Augusto de Jesús Solares Monterroso y Roselia Inés Barrera Donis, este es un logro suyo también padres, ustedes me han enseñado que no hay que desmayar ante la adversidad, que todo es posible, todo esfuerzo tiene su recompensa porque sé que hicieron todo lo posible porque llegara a este pódium, los amo y siempre serán mi ejemplo a seguir.

A MI ESPOSO: Jonathan Joel Interiano González, gracias por cada momento compartido conmigo apoyándome y no dejar desmayar en cada paso que doy, este logro es tuyo también amor gracias por tu paciencia, comprensión, apoyo, cariño y amor brindado que sea un ejemplo para ti; porque este es el primero de muchos logros juntos. Te amo.

A MI HIJO: Leandro de Jesús, mi mayor bendición, mi motor para nuevas metas, este logro es tuyo también mi cielo, espero que esta meta culminada sea un ejemplo para ti a seguir y buscar tus sueños a no desmayar ante la adversidad a luchar por lo que sueñas y deseas, porque si te propones algo se puede cumplir, siempre estaré para apoyarte en todo. Eres y serás mi impulso a culminar todas mis metas **TE AMO MI PEGOSTE.**

A MIS ABUELOS: Manuel de Jesús Barrera Alvares (Q.E.P.D) aunque no te conocí sé que fuiste un luchador siempre buscaste el desarrollo para Nueva Santa Rosa, luchaste para que tus hijos fueran profesionales, seguro allá arriba goces de este triunfo de tu nieta, Doña Julia de Jesús Donis Monterroso (Q.E.P.D) mujer virtuosa y luchadora nunca te

dejaste vencer por la adversidad luchaste para que tus hijos fueran todos profesionales no lograste ver esta meta culminar pero si viste el inicio espero disfrutes este triunfo allá en la gloria con papito Manuel. A mi querido Don José Augusto Solares Sagastume (Q.E.P.D) Hombre trabajador, bondadoso, Humilde, ejemplo a seguir un hombre que ante la adversidad siempre tenía un chiste a la mano para sacar una sonrisa, una persona que su vida fue el campo y dejo su legado más aun en mi padre el cual sigue dejando su semilla en mí, espero goces de este triunfo allá en el cielo. Doña María Celia Monterroso Gonzales, mujer luchadora, virtuosa, bondadosa, siempre disponible un ejemplo de paciencia y sabiduría, gracias por cada momento que has compartido conmigo este triunfo es tuyo abuelita.

A MIS HERMANOS: Andrea Julieta mi segunda madre gracias por el apoyo brindado durante estos 6 años de carrera universitaria, brindarme un hogar en donde compartir como familia y tener un apoyo en los momentos de felicidad y momentos difíciles este triunfo también es tuyo, espero sea un impulso para culminar tu meta. Augusto (tito) este triunfo también es tuyo sé que a la distancia siempre pude contar con vos en las buenas y en las malas, que esta meta culminada sea un impulso para culminar tu carrera. Heimanitos falta muy poco ser profesionales, que este título sea el primero de muchos para la familia. Los amo.

A MI SOBRINOS: Johan Andree, Emmyli Jordani, Jedrik Agustin, mis terremotos, nunca dejaron de alegrar mis días de estudio, este triunfo es para ustedes también, que sea un ejemplo para buscar sus sueños.

A MIS TÍOS: Con cariño y aprecio, gracias por el apoyo brindado de una u otra manera en especial Julia Barrera por siempre animarme a seguir y no desmayar, Maco Solares por brindarme apoyo en información profesional.

A MIS PRIMOS: Con cariño y dedicación espero sea un logro que los llene de orgullo y a la vez un ejemplo para culminar sus metas. En especial a Lucia Barrera por brindar su apoyo para la culminación de tesis, gracias luchis por siempre brindarme tú ayuda.

A MIS AMIGOS: Gracias por el apoyo brindado en estos 5 años de estudio, porque ustedes son mi segunda familia la cual se fue formando en el transcurso de nuestra carrera universitaria, con cariño mi familia Porgustacea: Cristian Lara, Marvin Pec, Humberto Preti, Fredy Franco, Miguel Barrera, Rómulo Sacbaja, Eliseo Salazar, Juan Santos, Alma Santos, Marianna Mendoza, Andrea Guerra, Mynor Marroquín, Daniel Barrios. En especial a Sayury Castillo porque nunca me dejaste a pesar de las adversidades siempre me apoyaste no importando hora ni lugar, Keyla Patzán, Karla Hernandez, Irene Flores su apoyo incondicional, Alba Noj porque siempre estuviste en los buenos y malos momentos, familia porgustacea este logro considérenlo suyo. Lo quiero y siempre los recordare.

A USTEDES: Que hoy me acompaña en esta etapa importante, gracias por estar en este sueño culminado porque sé que hoy que me acompaña usted de una u otra manera forma parte de este logro.

TRABAJO DE GRADUACIÓN QUE DEDICO

A:

Dios porque sin el nada es posible, a Virgen del Rosario cúbreme siempre con tu manto.

Guatemala el país de la eterna primavera de la cual me siento orgullosa de haber nacido

A mí querida Chapas pedacito de tierra que me vio nacer.

Universidad de San Carlos de Guatemala que me brindó la oportunidad para desarrollarme como persona y profesional. Orgullosa de ser 100% San Carlista

Facultad de agronomía Alma Mater de la cual me siento orgullosa de ser egresada porque me formo como una profesional capaz de contribuir al desarrollo de mi país

Familia querida sin su apoyo incondicional esta meta no hubiera sido terminada, gracias por su apoyo incondicional y cariño

Amigos míos este meta es gracias a ustedes.

AGRADECIMIENTOS

A Dios porque me has dado la vida y sin tu bondad no estuviera en este momento.

A mis catedráticos porque las enseñanzas brindadas con dedicación, esmero y experiencia que han sido de ayuda para mi formación profesional, Y con mucho cariño y aprecio Ing. Agr. Alejandro Ruiz, Ing, Agra. Julia Camel por su apoyo incondicional y brindarme los conocimientos en el transcurso de mi carrera.

Mis supervisores Ing. Agr. Gustavo Álvarez por su paciencia, dedicación y motivación para concluir con lo que un día empezó como un sueño, por impulsarme a buscar nuevas oportunidades de trabajo y desarrollar mi carrera no solo como agrónoma sino como investigadora gracias por siempre apoyarme.

Mi asesor: Ing. Agr. Carlos González con mucho cariño y aprecio, gracias por el apoyo brindado paciencia y comprensión, gracias por los conocimientos brindados y su asesoría para la culminación de este documento.

Al Centro de Diagnóstico Parasitológico de la Universidad de San Carlos por permitir el desarrollo de mi Ejercicio Profesional Supervisado –EPS-, a sus colaboradores Luis Centes, Ing. Agra. Carmen Santos, por su apoyo y conocimientos brindados en esta etapa, a mis compañeros de laboratorio Maoly y Antonieta por compartir experiencias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por brinda su aporte económico para desarrollar este proyecto.

A los agricultores productores de frijol del Municipio de Nueva Santa Rosa por brindar su ayuda y permitir que realizara muestreos en sus cultivos, sin su ayuda no hubiera sido posible.

Al Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de San Carlos, por su apoyo y confianza brindados hacia mí en especial a la Dra. María Carlota Monroy por sus conocimientos brindados y por brindarme un apoyo a mi carrera, a la Licda. Antonieta Rodas Retana por brindarme apoyo, cariño y la confianza en mis conocimientos para brindarles apoyo en sus proyectos de investigación, mi cariño y admiración.

A Cooperativa Tonantel R.L. por brindar su apoyo y permitir desarrollarme como profesional en la institución, a mis compañeras de trabajo por brinda su apoyo y cariño hacia mi persona.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO -----	Página
Evaluación de medios de cultivo para el crecimiento y desarrollo de <i>Sphaerellopsis filum</i> proveniente de <i>Uromyces phaseoli</i>, del municipio de Nueva Santa Rosa, Santa Rosa, Guatemala, C.A.....	i
1 CAPÍTULO I DIAGNÓSTICO CENTRO DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA (CDP-FAUSAC).....	1
1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 CENTRO DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO	2
1.2.1 Antecedentes	2
1.2.2 Ubicación	3
1.2.3 Misión.....	3
1.2.4 Visión	3
1.2.5 Administración.....	3
1.2.6 Alcances.....	3
1.3 OBJETIVOS	4
1.3.1 General	4
1.3.2 Específicos.....	4
1.4 METODOLOGÍA.....	5
1.5 RESULTADOS	7
1.5.1 Infraestructura y Equipo	7
1.5.2 Servicios que se prestan	10
1.5.3 Recurso Humano e Insumos.....	11
1.5.4 Investigaciones Realizadas.....	15
1.5.5 Metodología de ejecución de diagnósticos.....	15
1.6 CONCLUSIONES.....	17
1.7 RECOMENDACIONES	18
1.8 BIBLIOGRAFÍA.....	19

CONTENIDO -----	Página
2 CAPITULO II Evaluación de medios de cultivo para el crecimiento y desarrollo de Sphaerellopsis filum proveniente de Uromyces phaseoli, del municipio de Nueva Santa Rosa, Santa Rosa, Guatemala, C.A.	20
2.1 INTRODUCCIÓN	21
2.2 MARCO TEÓRICO	23
2.2.1 Marco conceptual	23
2.2.2 Marco referencial.....	34
2.3 OBJETIVOS.....	40
2.3.1 Objetivo general	40
2.3.2 Objetivos específicos.....	40
2.4 HIPÓTESIS.....	41
2.5 METODOLOGÍA	42
2.5.1 Ensayo experimental	42
2.5.2 Tratamientos a evaluar	42
2.5.3 Modelo estadístico.....	42
2.5.4 Variables de respuesta	43
1.1.1 Índice de velocidad de crecimiento micelial.....	43
2.5.5 Etapas de la investigación	45
2.5.6 Análisis estadístico	50
1.1.2 Capacidad de formación de esporas gemantes en los medios de cultivo.	51
2.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
2.6.1 Tasa de crecimiento micelial a los 36 días después de siembra	53
2.6.2 Capacidad de formación de esporas gemantes en los medios de cultivo.	55
2.6.3 Formación de Picnidios en el tiempo	56
2.7 CONCLUSIONES	59
2.8 RECOMENDACIONES.....	60
2.9 BIBLIOGRAFÍA.....	61

CONTENIDO -----	Página
2.10 ANEXO	66
2.10.1 Agujas de Cristal	66
2.11 GLOSARIO.....	72
3 CAPÍTULO III, Informe de Servicio actualización y remozamiento de la Tabla de Identificación Simplificada de Bacterias Fitopatógenos según Koji Nishiyama (1978)	74
3.1 ANTECEDENTES	75
3.2 OBJETIVOS	76
3.2.1 General	76
3.2.2 Especifico.....	76
3.3 METODOLOGÍA.....	77
3.4 RESULTADOS	78
3.5 CONCLUSIONES.....	81
3.6 RECOMENDACIONES	81
3.7 Bibliografía.....	82
3.8 ANEXOS	83
3.8.1 Colocación de tabla de clasificación de bacterias	83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Área de recepción de muestras.	8
Figura 2: Área de observación de muestras.	9
Figura 3: área de transferencia	9
Figura 4: área de Esterilización	10
Figura 5: Pústulas de roya en hoja de frijol.....	24
Figura 6: Fotografías A y B: Picnidios de <i>S. filum</i>	28
Figura 7: Corte transversal de picnidio <i>S. filum</i> Parasitando <i>U. phaseoli</i>	29
Figura 8: Mapa del municipio de Nueva Santa Rosa.	36
Figura 9: A) Observación de presencia de <i>S. filum</i> en medios de cultivo	44

CONTENIDO -----	Página
Figura 10: Preparación de materiales, I) agujas de vidrio. II) medios de Cultivo.....	45
Figura 11: Toma de muestras de plantas de frijol con presencia de <i>S. filum</i>	47
Figura 12: A) Cámara húmeda de hojas de frijol. B) Arrastre de picnidios en medio	48
Figura 13: Purificación de <i>S. filum</i>	49
Figura 14: Siembra de masa de esporas de <i>S. filum</i> en los medios de cultivo.	50
Figura 15: Micelio <i>S. filum</i>	52
Figura 16: Gráfica del índice de crecimiento micelial	55
Figura 17: Análisis de formación de picnidios. Cp1) Porcentaje de datos relacionados a formación de picnidios. Cp2) Porcentaje restante de datos relacionados a formación de picnidios.	57
Figura 18: Formación de picnidio de <i>S. filum</i> a los 15 días. A) Medio Papa Dextrosa	58
Figura 19A: Procedimiento para la elaboración de Agujas de Cristal.....	66
Figura 20: Aguja ideal (a), aguja muy larga (b), aguja muy corta (c).....	67
Figura 21: Tabla de identificación de bacterias fitopatógenos antes.....	78
Figura 22: Actualización de tabla de Bacterias Fitopatógenos.....	79
Figura 23A: colocación de tabla de bacterias.....	83

Índice de cuadros

Cuadro 1: Análisis de fortalezas, oportunidades, debilidades y amenazas del CDP- FAUSAC.....	5
Cuadro 2: Equipo disponible del Centro de Diagnóstico Parasitológico 2014.....	11
Cuadro 3: Insumos disponibles para el 2014 en el Centro de Diagnóstico Parasitológico.....	13
Cuadro 4: Reactivos disponibles en bodega 2014	14
Cuadro 5: Clasificación taxonómica	23
Cuadro 6: Información toxicológica de productos químicos utilizados en Nueva Santa Rosa.....	25
Cuadro 7: Clasificación taxonómica	28
Cuadro 8: Análisis de varianza de la variable IVCM (mm) del aislamiento de <i>S. filum</i>	53

CONTENIDO -----	Página
Cuadro 9: Comparación de medias para la variable IVCM (mm) de <i>S. filum</i> en diferentes medios de cultivo a una temperatura de 24.5°C.....	54
Cuadro 10A. Toma de datos del Índice de Velocidad de Crecimiento Micelial (IVCM).....	68
Cuadro 11A. Datos de formación de picnidios de <i>Sphaerellopsis filum</i>	70

Evaluación de medios de cultivo para el crecimiento y desarrollo de *Sphaerellopsis filum* proveniente de *Uromyces phaseoli*, del municipio de Nueva Santa Rosa, Santa Rosa, Guatemala, C.A.

RESUMEN

En el trabajo de graduación se especifican los contenidos de las tres fases del Ejercicio Profesional Supervisado (EPSA), los cuales fueron: Diagnóstico, Investigación y Servicios. Que se llevaron a cabo en el Centro de Diagnóstico Parasitológico, Sub-área de Protección de Plantas de la Facultad de Agronomía en la Unidad de Vinculación y Gestión de Recursos (CDP-FAUSAC).

El primer capítulo contiene la información del diagnóstico del CDP-FAUSAC el cual tuvo como finalidad evaluar a detalle el funcionamiento en general de las condiciones que un laboratorio de diagnóstico debe contener según normas internacionales todo esto se llevó a cabo en el año 2014 de febrero a noviembre, en el cual se obtuvo información de los servicios prestados que brinda a la comunidad estudiantil así como también agricultores del país, así como también proyectos de investigación los cuales son de beneficio y desarrollo.

El segundo capítulo consta de la información obtenida en la investigación realizada en el municipio de Nueva Santa Rosa la cual consistió en la evaluación de medios de cultivo para el crecimiento y desarrollo de *Sphaerellopsis filum* provenientes de *Uromyces phaseoli* del municipio de Nueva Santa Rosa, Santa Rosa, en el cual se evaluaron cuatro medios de cultivo y tres variables las cuales fueron índice de crecimiento micelial, capacidad de formación de esporas gemantes y producción de picnidios, los cuales el Extracto de Malta Agar brindó mejores condiciones para el desarrollo micelial, para la formación de esporas gemantes ningún medio de cultivo

brindo las condiciones necesarias para su formación de esporas gemantes y para la producción de picnidios los medios Papa Dextrosa Agar y la mezcla de jugo V8 más Papa Dextrosa Agar proporcionaron mejores condiciones para el desarrollo de dicha estructura.

En el capítulo tres se muestra los servicios brindados en el CDP-FAUSAC el cual consistió en el remozamiento de una tabla de clasificación de bacterias fitopatógenos según Koji Nishiyama (1978), la cual se realizó una investigación de actualización de la clasificación y se logró constatar que hasta la fecha no ha sufrido cambios sin embargo se realizó una nueva tabla la cual tendrá como función brindar información a todos los usuarios del CDP-FAUSAC.



1 CAPÍTULO I
DIAGNÓSTICO CENTRO DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DE LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA (CDP-FAUSAC)

Guatemala, agosto 2017

1.1 INTRODUCCIÓN

El Centro de Diagnóstico Parasitológico (CDP-FAUSAC) es un programa de servicio de la Facultad de Agronomía, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, creado con el fin de prestar asistencia técnica al sector agrícola y forestal de Guatemala, cooperando así con la investigación y desarrollo de la misma con lo referente a Diagnóstico Parasitológico en forma continua.

Entidad no lucrativa de servicios y desarrollo tanto a entidades gubernamentales como privadas, abriendo investigaciones las cuales favorecen el desarrollo de estudiantes y profesionales egresados de la Facultad de Agronomía.

El siguiente diagnóstico presenta las condiciones actuales y estructura administrativa, recursos humanos e insumos con los que cuenta el CDP-FAUSAC durante el periodo de febrero a noviembre del año 2014.

Se estableció que el Centro de Diagnóstico Parasitológico tiene capacidad de realizar diferentes análisis para el diagnóstico de hongos, bacterias, artrópodos, además de prestar servicios de asistencia técnica en muestreos y manejar de plagas y enfermedades, igualmente se desarrollan investigaciones que se llevan a cabo en el laboratorio durante el 2014 las cuales fueron financiadas por diversas entidades tales como la Dirección General de Investigación (DIGI) de la Universidad de San Carlos y la Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología (SENACYT)

1.2 CENTRO DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO

1.2.1 Antecedentes

En 1989 da inició la entidad no lucrativa el Centro de Diagnóstico Parasitológico (CDP) para prestar servicios educativos, científicos y tecnológicos según los artículos de propuestos, fue aprobado oficialmente en 1990 por la Junta Directiva de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos en la Resolución No. 735 -96, punto sexto del acta 46-96, con la finalidad de proyectar y aplicar actividades de investigación y desarrollo de la Facultad de Agronomía y la Universidad así como también hacia la sociedad que necesita apoyo técnico y científico, como una forma de generar recursos para la Universidad y que a la vez permita proyectarse a los diversos sectores de la sociedad guatemalteca, fomentando experiencia que fortalezcan los procesos académicos. El Centro de Diagnóstico Parasitológico (CDP) pertenece a la Sub-Área de Protección de Plantas, Área Tecnológica de la Facultad de Agronomía (Mijangos, R. 2009).

Los servicios brindados por el Centro de Diagnóstico son: determinación de plagas y enfermedades en cultivos a bajo costo en comparación con instituciones privadas que existen en el país. El valor del diagnóstico realizado por el CDP es de Q.75.00 dicha tarifa se orienta a sufragar los gastos de personal, material y equipo, infraestructura, depreciación de equipo entre otros.

El Centro de Diagnóstico Parasitológico es un puente de desarrollo para investigaciones y desarrollo estudiantil ya que ha desarrollado varias tesis con los proyectos obtenidos con las diferentes instituciones que brinda apoyo económico para el desarrollo de investigaciones científicas.

1.2.2 Ubicación

El Centro de Diagnóstico Parasitológico se encuentra ubicado en la ciudad universitaria zona 12, en el edificio de Unidad de Vinculación y Gestión de Recursos (UVIGER) en el tercer Nivel, dicho edificio pertenece a la Facultad de Agronomía.

1.2.3 Misión

Prestar asistencia al agro guatemalteco en todos los niveles, contribuyendo al desarrollo y la investigación agrícola, proporcionando la aplicación adecuada de tecnología apropiada para el manejo de plantas (Centro de Diagnostico Parasitológico, 2012).

1.2.4 Visión

Ser un centro líder en diagnóstico, investigación y referencia de los problemas fitosanitarios para la agricultura guatemalteca y centroamericana (Centro de Diagnostico Parasitológico, 2012).

1.2.5 Administración

La administración del Centro de Diagnóstico Parasitológico está bajo la dirección del Departamento de Contabilidad de la Universidad de San Carlos de Guatemala y la Facultad de Agronomía, el cual pertenece al área Tecnológica, sub área de Protección de Plantas, actualmente es dirigido y administrado por el Ing. Agr. Gustavo Adolfo Álvarez Valenzuela.

El Centro de Diagnóstico cuenta con equipo, material e insumos que son proporcionados por proyectos de investigación que se llevan a cabo en convenios con la Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología (SENACYT), la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos (DIGI) y la Gremial de Exportadores (GEXPORT).

1.2.6 Alcances

El Centro de Diagnóstico Parasitológico presta los servicios de diagnóstico de agentes fitopatógenos como lo son hongos, bacterias, nematodos y análisis entomológico, análisis de pureza y viabilidad de semillas, esto ya que cuenta con una infraestructura completa que hace que los procesos sean eficientes.

Además de brindar apoyo a los diversos proyectos de investigación de las diferentes unidades de la Facultad de Agronomía así como también a nivel institucional, apoyo a la

docencia y retroalimentación docente igualmente brinda el apoyo a estudiantes con los proyectos de investigación (tesis).

Otro de los alcances que posee el Centro de Diagnóstico es brindar asesoría técnica en toma de muestras, manejo de plagas y capacitaciones para entidades que lo requieran.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 General

- Determinar la situación actual del Centro de Diagnóstico Parasitológico

1.3.2 Específicos

- Caracterizar las áreas de trabajo que cuenta el Centro de Diagnostico
- Determinar los servicios prestados por el Laboratorio.
- Analizar el Recurso Humano e insumos con que cuenta el Centro de Diagnóstico

1.4 METODOLOGÍA

En el mes de Febrero a Noviembre del año 2014, se llevó a cabo el diagnóstico como parte del Ejercicio Profesional Supervisado (EPS) en el Centro de Diagnóstico Parasitológico de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos.

Para obtener la información del diagnóstico, fue necesario consultar información de literatura (tesis y formulario), entrevistas del personal de laboratorio así como los que hacen uso de las instalaciones; con la cual se logró ejecutar el listado de las investigaciones que se realizaron durante el año 2014 y para ello se necesitó el apoyo de los Estudiantes del Ejercicio Profesional Supervisado (EPS) para lograr llevar a cabo las investigaciones (muestreos), así como el inventario de insumos y equipo que cuenta el Centro de Diagnóstico en el 2014 y aspectos positivos puntos críticos.

Cuadro 1: Análisis de fortalezas, oportunidades, debilidades y amenazas del CDP-FAUSAC.

FORTALEZA	OPORTUNIDADES
<ul style="list-style-type: none"> • Realiza actividad de servicio, accesible a todo público. • Infraestructura adecuada. • Bajo costo de servicio. • Cuenta con profesionales calificados. • Respaldo institucional. • Manejo de presupuesto propio. • Equipo, material e insumos adecuados para realizar los diagnósticos. • Apoyo con insumos, material y equipo por parte de proyectos con instituciones gubernamentales, privadas que se llevan a cabo en el centro de Diagnostico. • Ejemplo para los centros regionales 	<ul style="list-style-type: none"> • Puede expandirse según la capacidad instalada en el laboratorio. • cobertura a proyectos de investigación a nivel nacional e internacional, con instituciones privadas y estatales. • Documentos sin utilizar que se encuentran en CEMAV • Expandirse a los centros regionales. • Asesoría técnica a productores y empresas. • Crecimiento laboral • Mayor divulgación mediante medios de comunicación tales como

	internet, artículos, panfletos, entre otros.
Debilidades	Amenazas
<ul style="list-style-type: none"> • No posee reactivos especializado para identificar el género de bacterias fitopatógenos y virus. • No posee un técnico de laboratorio estable además que posee diversas actividades tanto apoyo CDP como proyectos.. • La universidad puede ser cerrada y paralizar los servicios por feriados, asuetos, fenómenos políticos, internos y/o externos. • No cuenta con manuales y otros documentos necesarios para procedimientos en la realización de diagnósticos. • Poca Divulgación. 	<ul style="list-style-type: none"> • El laboratorio no se ha promocionado en el sector agrícola. • Mayor divulgación de otros centros privados. • Instituciones privadas cuentan con servicio de diagnóstico de bacterias y virus. • No se cumplen con las normas de Bioseguridad dentro del CDP. • No se cuenta con personal estable.

1.5 RESULTADOS

1.5.1 Infraestructura y Equipo

Las áreas con las que el Centro de Diagnóstico cuenta son seis: área de Oficina, área de recepción y procesamiento de muestras (cuarto sucio), bodega, área de observación, área de Transferencia y área de esterilización.

Los cuales están acomodados de una forma que cuando entren en los ambientes se evite la contaminación y movimientos hacia el área estéril.

A. Área de Oficina:

En esta área se encuentra ubicado todo el mobiliario de oficina: escritorios, archivos y almacenamiento de datos, libros de referencia, control de laboratorio en físico como digital, de los resultados obtenidos de cada muestra ingresada. En el área se lleva a cabo la entrega de resultados y registro de boletas de pago.

B. Área de recepción de muestras y procesamiento:

Denominado también **cuarto sucio** debido a que en el área se lleva a cabo los procesos básicos: revisión de muestra ingresada, cámaras húmedas, proceso de cultivo trampa, extracción de nematodos, toma de fotografía y almacenamiento de material vegetal.



Fuente: Solares R. 2014

Figura 1: Área de recepción de muestras.

C. Bodega:

Se encuentra ubicada dentro del área de recepción de muestras en un anexo del mismo en donde se almacenan insumos de laboratorio, reactivos, cristalería y equipo.

D. Cuarto de observación:

Es el área que se utiliza para la observación de muestras, conteo de nematodos, observación de agentes fitopatógenos tanto *in vivo* e *in vitro*, además realiza montajes, resguardo e incubación de cultivo trampa. En esta área se pueden ubicar estereoscopios, microscopios, cámaras fotográficas de microscopios, computadora, además de contar con una mini biblioteca de libros para la determinación de agentes fitopatógenos.



Fuente: Solares R. 2014

Figura 2: Área de observación de muestras.

E. Cuarto Estéril:

Es utilizado para la realización de medios de cultivos, extracción, inoculación y transferencia de agentes fitopatógenos a medios de cultivo nutritivos y/o selectivos para su desarrollo. Cuenta con una cámara de flujo laminar, gabinetes.

El área se encuentra ubicada en un anexo del cuarto de observación en el cual está aislada para evitar corrientes de aire y polvo que puedan contaminar el área.



Fuente: Solares R. 2014

Figura 3: área de transferencia

F. Cuarto caliente

En esta área se encuentran ubicados los equipos para la realización de medios de cultivo, esterilización de cristalería.

Cuenta con el siguiente equipo: cámaras de incubación, microondas, balanza, autoclave, horno de calor seco, refrigeradora, cristalería y lavadero.



Fuente: Solares R. 2014

Figura 4: área de Esterilización

1.5.2 Servicios que se prestan

El Centro de Diagnóstico presta sus servicios tanto al estudiante de la Facultad de Agronomía y la Universidad de San Carlos, como también a los pequeños y grande agricultores del país, para lo cual brinda los siguientes servicios:

- **Análisis hongos y oomycetos:** se realiza análisis de agentes fitopatógenos, hongos y oomycetos tanto del suelo como en planta.
- **Análisis Nematológico:** realización de analisis de nematodos fitoparasítico filiformes y globosos
- **Análisis Bacteriológico:** análisis diagnóstico de Bacterias
- **Análisis Entomológico:** determinación de artrópodos y molluscos.

- **Asistencia Técnica:**
 - Muestreo de Plagas
 - Manejo de enfermedades
 - Capacitaciones
 - Manejo integrado

1.5.3 Recurso Humano e Insumos

Para el desarrollo de todas las actividades que se llevan a cabo en el Centro de Diagnóstico Parasitológico es necesario contar con Personal calificado para cada una de las mismas, a continuación se presenta el Personal con que cuenta el CDP para el año 2014:

- Profesor Titular de la Facultad de Agronomía y Administrador del CDP: Ing. Agr. Gustavo Adolfo Álvarez Valenzuela
- Estudiante de Ejercicio Profesional Supervisado: Br. Roselia del Rosario Solares Barrera
- Estudiante de Ejercicio Profesional Supervisado: Br. Alba Marilia Noj Suruy
- Técnico de laboratorio: P. Agr. José Miguel Escobar
- Investigador Ing. Agra. María del Carmen Santos Bravo
- Auxiliar de Investigación: P. Agr. Luis Centes Carrillo

Para que toda actividad se lleve a cabo el laboratorio cuenta con el siguiente material y equipo durante el 2014:

Cuadro 2: Equipo disponible del Centro de Diagnóstico Parasitológico 2014

Descripción	Cantidad	Ubicación
Autoclaves de 20 y 40 lts de capacidad	2	Cuarto Estéril

Balanza analítica	2	Cuarto estéril
Cámara de Incubación	2	Cuarto estéril
Cámara de Flujo laminar	1	Área de Transferencia
Cámara Fotográfica	4	área observación y área de recepción (1)
Centrifugadora	2	Área de recepción
Computadora	4	área de oficina 3 y área observación (1)
Estereoscopio	6	Área de observación
Escáner	2	Oficina y área de observación
Horno calor seco	1	Área estéril
Impresora	1	Área oficina
Licuada	1	Área recepción
Macroestereoscopio	1	Área observación
Maquina selladora	1	Bodega
Microondas	2	Área estéril (1) y Bodega
Microscopio	3	Área observación
Refrigerador	4	Área estéril (2), área de recepción (1) y bodega

Fuente: Solares Barrera 2014.

Se realizó inventario de los insumos y reactivos que cuenta el Centro de Diagnóstico en el año 2014.

Cuadro 3: Insumos disponibles para el 2014 en el Centro de Diagnóstico Parasitológico.

Descripción	Cantidad	Unidad de medida
Alcohol en gel	5	Galones
Alcohol etílico al 70%	20	Galones
Alcohol etílico al 95%	25	Galones
Bobina de papel kraft delgada 12"	4	Rollos
Bolsas plásticas negras 30x36	10	Millar
Bolsas plásticas transparentes 15x25x6	10	Millar
Cajas Petri 90x15mm (549 unidades)	20	Caja 500U
Cofias	2	Cajas 100U
Desinfectante en spray Lysol 90 onz.	25	3pack
Guantes de látex talla "M"	10	Caja 50U
Guantes de látex talla "S"	12	Caja 50U
Hojas de afeitar Gillette (5 unidades)	65	Cajas
Mascarillas tipo conchita	10	Caja 50U
Parafilm 10cm x 38m	20	Rollo
Repuestos de bisturí No. 11	8	Caja 100U
Repuestos de bisturí No.21	10	Caja 100U
Toallas de papel para dispensador en rollo de 240 metros	8	Caja 6 U

Fuente: Solares Barrera, 2014

Cuadro 4: Reactivos disponibles en bodega 2014

Descripción	Cantidad	Unidad de medida
Agar agar	06	1kg
Agar patata dextrosa (PDA)	13	500 g
Azul de lactofenol	12	100MI
Carbonato de calcio	02	500g
Corn meal agar	03	500g
Extracto de levadura granulado	02	500g
Extracto de malta	01	500g
Gelatina glicerada	01	100MI
Hidrogenofosfato dipotasico	01	1 Kg
Hidróxido de potasio en pastillas	02	1 kg
Lithium chloride	02	100g
Magnesio sulfato heptahidratado	02	500g
Nitrato de calcio tetrahidratado	02	500g
Nitrato de sodio	01	500g
Potasio hidrogeno fosfato	01	500g
Sacarosa	03	250g
Tween 20	02	1L
Tween 80	01	1L
Xileno	01	2.5L

Fuente: Solares Barrera, 2014

1.5.4 Investigaciones Realizadas

El Centro de Diagnóstico es una entidad no lucrativa la cual busca el desarrollo científico como aporte a la sociedad. Es por ello que año con año se busca el financiamiento de Proyectos de investigación que ayuden a la Facultad de Agronomía con insumos, material y equipo, esto a la vez desarrolle investigaciones (tesis) con los estudiantes y desarrollo de personal calificado de investigación y que a la vez se cuente con apoyo para la administración del mismo.

En el año 2014 el CDP conto con el apoyo de la Dirección General de Investigación (DIGI) de la Universidad de San Carlos, la Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología (SENACYT); a continuación se presentan los proyectos desarrollados:

- Proyecto FODECYT 027-2013, línea Primeros Investigadores, “Bioprospección de Cepas Promisoras de *Sphaerellopsis filum* y su potencial en el control de *Uromyces phaseoli* en los municipios de Nueva Santa Rosa, Casillas y Santa Cruz Naranjo del Departamento de Santa Rosa.
- Proyecto CONCYT 054-2014, Programa Master “Caracterización de Plagas microbianas y de artrópodos en seis cultivos ornamentales de exportación”
- Proyecto DIGI 7.26 “Extracción y Formulación artesanal de *Cladosporium uredinicola* biocontrolador de *Puccinia horiana*”

1.5.5 Metodología de ejecución de diagnósticos

Para la realización de los diagnósticos en el centro de diagnóstico parasitológico de plantas y suelo se lleva a cabo las siguientes metodologías:

G. Recepción de muestras

Consiste en llenar la boleta de ingreso con los datos necesarios del solicitante tales como: nombre del solicitante, nombre de la empresa, número de teléfono, dirección, correo electrónico, cultivo, procedencia de la muestra, signos y síntomas que presenta la planta además del manejo agronómico que se -le está realizando, agroquímicos utilizados, edad de cultivo, variedad y los estudios requeridos.

a. Registro de la muestra

En el centro de diagnóstico se realizan dos formas de registro en físico y digital, para la forma física se inscribe todas las muestras ingresada al laboratorio en el cual se requiere los datos siguientes: número de correlativo asignado, fecha de ingreso, solicitante y/o empresa, cultivo, procedencia, tipo de análisis solicitado, resultados y numero de recibo de pago de la muestra analizada, los mismos datos se trasladaran a la hoja digital.

b. Procesamiento de muestra

Este está en función del análisis solicitado fitopatológico, Nematológico, bacteriológico y/o Nematológico, este procedimiento está a cargo del encargado de laboratorio.

c. Emisión de resultados

Este se lleva a cabo luego de haber realizado todos los análisis solicitados por el cliente, en dicho informe lleva el nombre del patógeno encontrado, parte utilizada para el análisis las cuales pueden ser hojas, tallo, raíces, suelo, fruto, etc. Además de las recomendaciones para atacar el patógeno encontrado, dichas recomendaciones son emitidas por el Ing. Agr. Gustavo Álvarez ya que él es la persona a cargo del Centro de Diagnóstico Parasitológico.

1.6 CONCLUSIONES

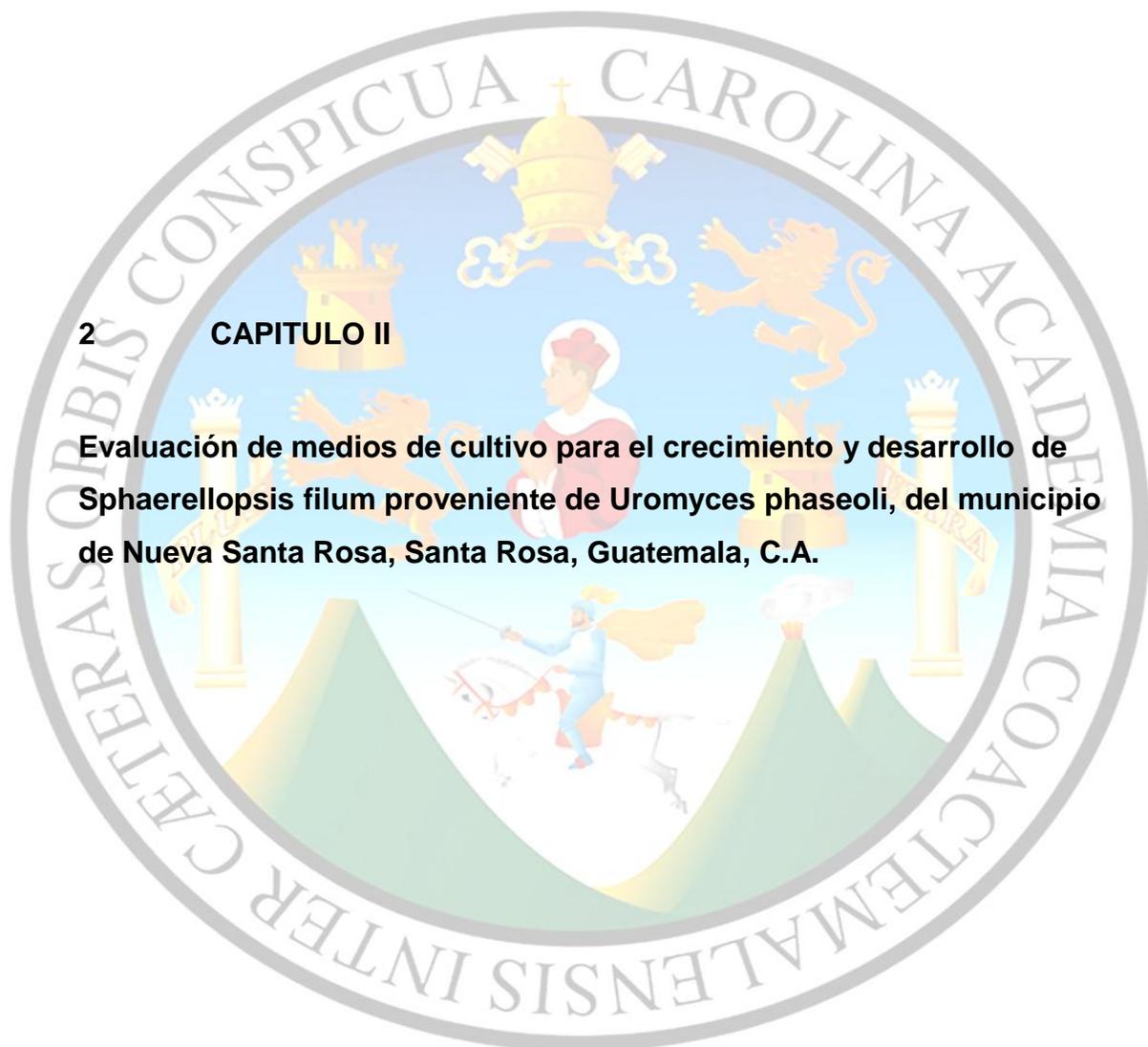
- Actualmente el Centro de Diagnóstico Parasitológico cuenta con tres proyectos en ejecución así como también un analista de laboratorio proporcionado por la AGEXPORT.
- El Centro de Diagnóstico Parasitológico cuenta con seis áreas de trabajo las cuales son las siguientes: oficina, área de recepción de muestras, bodega, área de observación, área de transferencia, área de esterilización.
- El Centro de Diagnóstico Parasitológico actualmente presta los siguientes servicios: análisis fitopatológico, análisis Nematológico, análisis Bacteriológico, asistencia técnica en manejo de plagas y enfermedades, análisis de germinación. Además de llevar a cabo tres proyectos de los cuales dos son financiados por la Secretaria de Nacional de Ciencia y Tecnología (SENACYT) y uno por la Dirección General de Investigación (DIGI).
- El CDP actualmente realiza tres investigaciones una en cultivo de frijol, en plantas ornamentales y la generación de un agente de control biológico a base de *Cladosporium uredinicola*.
- Actualización de información de análisis de bacterias.

1.7 RECOMENDACIONES

- Mantener personal permanente como el técnico de laboratorio ya que esto implica capacitación laboral constante.
- Capacitar al personal constante para brindar un mejor servicio a nuestros clientes.
- Realizar programas de divulgación informativa de los servicios que realiza el Centro de Diagnóstico Parasitológico.

1.8 BIBLIOGRAFÍA.

- Centro de Diagnostico Parasitológico. (2012). Centro de Diagnostico Parasitológico. *Boletín Informativo*. Guatemala: USAC, Facultad de Agronomía, Unidad de Vinculación y Gestión de Recursos.
- Mijangos Chex, R. A. (2009). *Caracterización molecular y diagnóstico patológico de Phytophthora capsici L. en chile pimiento Capsicum annum, en las regiones de Salamá, Baja Verapaz y Laguna de Retana Jutiapa y asistencia técnica a productores, en protección vegetal, en el municipio d.* (Tesis Ing. Agr.). Guatemala: USAC, Facultad de Agronomía.



2.1 INTRODUCCIÓN

Guatemala es un país agrícola, y uno de los productos de mayor consumo es el frijol, que es uno de los cultivos principales para la dieta alimentaria diaria de los guatemaltecos.

Una de las enfermedades que más afecta el cultivo de frijol es la roya, la cual ocasiona pérdidas entre el 18 y 100 por ciento del producto, pues perjudica la calidad y comercialización, debido a que baja el rendimiento del mismo. Según reportes del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (MAGA), a nivel nacional la producción estimada para el año 2014 fue 4,966,700 quintales. El departamento de Santa Rosa ocupa el cuarto lugar a nivel nacional de mayor producción con 335,307 quintales producidos; Nueva Santa Rosa es uno de los municipios del departamento que más frijol produce con un 16.35 % de la producción total. Producto del cambio climático, las enfermedades en este tipo de cultivos –como el frijol- son cada vez más virulentas y provocan pérdidas en la calidad y productividad.

En la producción de frijol, el uso constante de fungicidas químicos para el control de la roya genera contaminación ambiental, contaminación humana, contaminación del suelo y agua, provoca pérdidas debido al rechazo comercial del producto por contener residuos de químicos no autorizados según el ente importador. Por el contrario, el fungicida de agentes de control biológico está contribuyendo a disminuir los diferentes tipos de contaminación, además no genera resistencia en patógenos.

La roya es un hongo *basidiomycete* que afecta a la mayoría de plantas. La producción de frijol está siendo afectada por *Uromyces phaseoli*, que provoca la enfermedad conocida como *roya del frijol*, la cual afecta a la planta desde la fase vegetativa hasta la fase reproductiva, reduciendo la calidad en su cosecha, en forma de vaina y la productividad cuando se cosecha como grano.

Sphaerellopsis filum es un agente de control biológico específico para hongos del orden *uredinales*. En Guatemala, aun no existe investigación alguna respecto a este hongo ni la propagación del mismo. Mientras que en otros países ya se cuenta, a nivel comercial, con un producto formulado con este hiperparásito denominado (ATCC – MYA 2848. 2013). Según los resultados de la bioprospección de *S. filum* en cultivares de frijol en las comunidades de Nueva Santa Rosa (proyecto FODECYT 027-2013), se ha establecido la presencia del hongo hiperparásito en la roya de frijol (*U. phaseoli*). Hasta el momento, según registros de estudios previos, no se ha establecido un medio idóneo para su aislamiento, propagación y la producción de inóculo. Generalmente, el control de *U. phaseoli* es por métodos químicos, por lo que hasta el momento en Guatemala no se tiene un agente de control biológico como alternativa para realizar un manejo integrado de dicha enfermedad.

Se evaluaron medios de cultivo para establecer en cuales *S. filum* pueda propagarse rápidamente y aprovechar así el recurso tiempo y materiales para luego ser utilizado en el aislamiento, propagación y formulación de un fungicida biológico, que permita disminuir la severidad de roya en el cultivo del frijol, tanto en el municipio de Nueva Santa Rosa, como en todas las regiones del país en las cuales se cultiva frijol. Los cuatro medios de cultivo evaluados para el desarrollo del hongo hiperparasitario *S. filum* fueron, el Extracto de Malta Agar (EMA) en cuyo resultado presentó a los treinta y seis días un aumento micelial de 0.42 mm en su diámetro. Con los medios Agar Papa Dextros (PDA) y la mezcla de medio Agar Papa Dextrosa y Agar V8 (PDA+V8), se encontró que son dos medios idóneos para la formación de picnidios a los quince días, siendo cualquiera de estos los que producirán en menos tiempo dicha estructura. Para la producción de esporas gemantes ningún medio proporcionó las condiciones necesarias para su formación.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Marco conceptual

A. Roya en frijol

La roya de frijol (*Uromyces phaseoli* L.) es una enfermedad distribuida a nivel mundial. (Howard, 1982). Se considera uno de los principales problemas más importantes que afecta la producción de frijol. Las plantas afectadas por el hongo durante la floración disminuyen su rendimiento de un 18% al 100% (CESAVEG).

En Guatemala se produce en todo el país y según reportes del MAGA en el 2013, Santa Rosa es uno de los departamentos con mayor producción de frijol el cual obtiene el 4to. lugar en producción con 335,307 quintales, pero las producciones se ven afectadas por la roya la cual reduce rendimientos y la calidad del producto.

a. Clasificación taxonómica

Cuadro 5: Clasificación taxonómica

Categoría	Taxón
Reino	Fungi
Phyllum	Basidiomycota
Sub phyllum	Pucciniomycotina
Clase	Pucciniomycetes
Orden	Pucciniales
Familia	Pucciniaceae

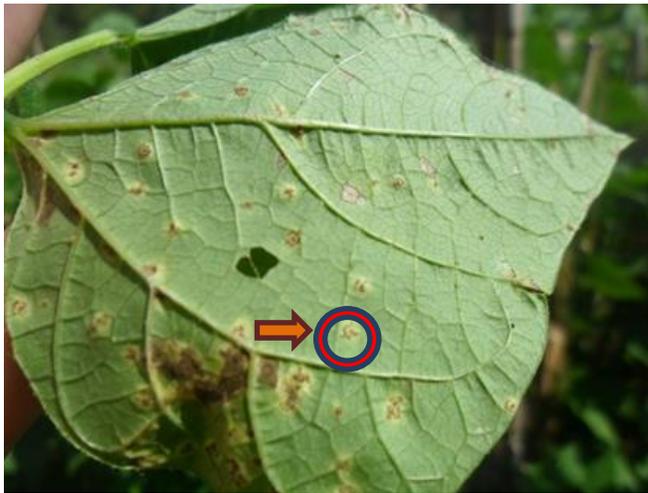
Género	<i>Uromyces</i>
Especie	<i>Uromyces phaseoli</i> (G. Winter, 1880)

Sinónimos: *Uredo appendiculata* var. *Phaseoliprs.*, *caeoma phaseoli* (Pers) Nees, *Uromyces phaseolorum* de Bary, *Uromyces phaseoli* (pers.) G. Winter, 1880

Fuente: (MYCOBANK, 2004)

B. Sintomatología

La roya de frijol (*U. phaseoli*) se puede presentar tanto en las hojas, vainas y en ocasiones en tallos y ramas. (CESAVEG). Se presentan inicialmente como manchas cloróticas o blancas en el haz y envés de la hoja generalmente, los primeros síntomas aparecen en el envés de la hoja, los cuales son pequeñas manchas de color blanco (Ospina H. 1980). Luego de la inoculación las pústulas tienden a tomar un color café rojizo rodeado de un halo amarillento (ver figura 1) (CESAVEG).



Fuente: elaboración propia, 2014.

Figura 5: Pústulas de roya en hoja de frijol

Según la etapa que se encuentre la planta cuando el hongo ataca así será el daño que realizara, por lo tanto dejara perdidas en la producción.

C. Control químico

El control que se le realiza a la roya en frijol generalmente es por fungicidas químico el cual controla la enfermedad pero eleva los costos de producción, sin embargo cuando el ataque llega a ser muy severo se recomienda la aplicación de químicos. (SAGARPA, 2012). En el cuadro 2 se presenta la información toxicológica de los fungicidas utilizados para el control preventivo en Nueva Santa Rosa; Propineb, Mancozeb y Epoxiconazole (Nufar, BASF, BAYER S.A.)

Cuadro 6: Información toxicológica de productos químicos utilizados en Nueva Santa Rosa

Ingrediente Activo	Dosis utilizadas	Clasificación Toxicológica	Información toxicológica
Mancozeb	4 – 6 copas Bayer/bomba 16 l	Clase IV, no ofrece peligro	Inhalación: irritación local Ojos: irritación, lagrimeo Piel: irritación
Propineb	4 – 6 copa Bayer/bomba 16 l	Clase IV, no peligroso	Toxicidad aguda Toxicidad crónico o de largo plazo Efectos locales o sistémicos Sensibilización alérgica
Epoxiconazole	12 cm ³ /bomba 16 l	Clase II, modernamente peligroso	Toxicidad subaguda-crónica Irritabilidad primaria

Fuente: Bayer S.A.(2013), BASF, MEXICANA S.A(2000). Nufarm.(s.f).

La desventaja del control químico es la resistencia que puede generar el hongo al aplicarlos los cuales a largo plazo los productores se verán afectados.

D. Control cultural

Autores recomiendan incluir rotaciones de cultivos, eliminación de residuos de cosechas, la reducción de densidad de plantas que ayuda a reducir la incidencia (CESAVEG). Según Ospina recomienda espaciamiento apropiado entre plantas y mantener libre de malezas para evitar la saturación de Humedad.

E. Control biológico

Se le denomina control biológico a la determinación y evaluación de los agentes o de sus metabólicos presentes en tejidos, secreciones, excretas, aire espirado o cualquier combinación de los mismos con objeto de evaluar la exposición y el riesgo para la salud en comparación con una referencia adecuada. Es una herramienta para la prevención de enfermedades debido a los agentes tóxicos en el ambiente (Alessio)

Este tipo de control está libre de efectos secundarios indeseables asociados a los insecticidas de amplio espectro y es el método de mejor relación entre costo y efectividad (Zerba, 2011).

En Guatemala no se cuenta con investigaciones y/o información sobre el control biológico que se le puede brindar a la roya en frijol para evitar la resistencia y disminuir la incidencia de dicha enfermedad.

a. Tipos de control biológico

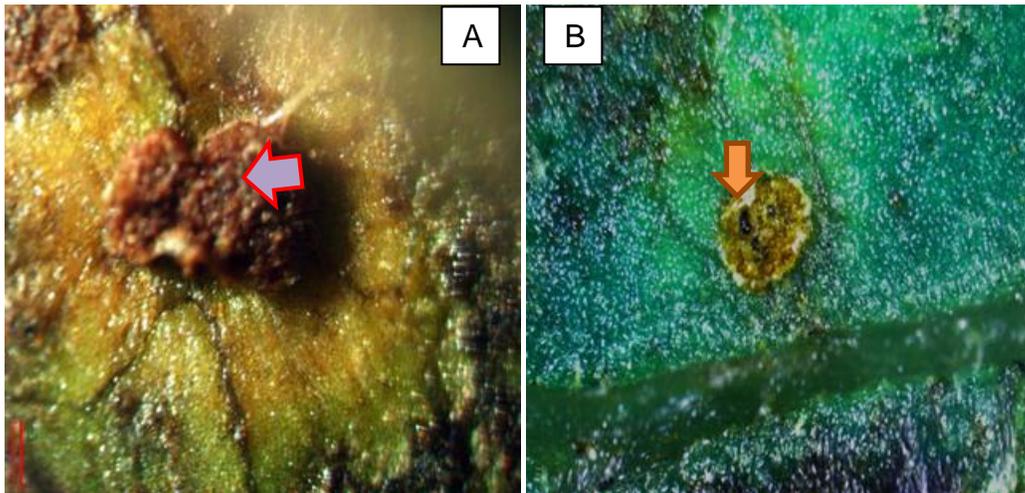
Para la aplicación de control biológico se realizan generalmente la implementación de tres formas diferentes o la combinación de las mismas (Zerba, 2011), a continuación se presentan:

- **Conservativo:** es la alteración de las prácticas culturales en los cultivos para favorecer el desarrollo de los agentes de control biológico natural y sus efectos.
- **Aumentativo:** los agentes de control biológico se producen en forma masiva en los laboratorios y se aplican en forma inoculativa o inundativa para destruir las plagas.
- **Clásico:** es la aplicación compuesta por el descubrimiento, importación y establecimiento de enemigos naturales exóticos.

H. *Sphaerellopsis filum*

Hongo hiperparásito no específico de royas (*Pucciniales*), que forma en el interior de los soros conidiomas (picnidios) errumpentes (figuras 2 y 3), se encuentra asociada con por lo menos 369 especies de 30 géneros de royas en todo el mundo. Una amplia gama tan acogida se plantea la cuestión de si *S. filum* se compone de grupos patológicamente especializados que son equivalentes a las formas específicas en hongos biotróficos como royas y oídios (Hao Pei & McCracken, 2005).

La producción de ascosporas la realiza en su fase perfecta (teleomorfo) el cual es conocido como *Eudarluca caricis*, el cual forma estromas pardos negruzcos en los soros, que presenta a menudo los conidiomas de *S. filum*



Fuente: elaboración propia, 2014.

Figura 6: Fotografías A y B: Picnidios de *S. filum*.

d. Taxonomía de *Sphaerellopsis filum*

Cuadro 7: Clasificación taxonómica

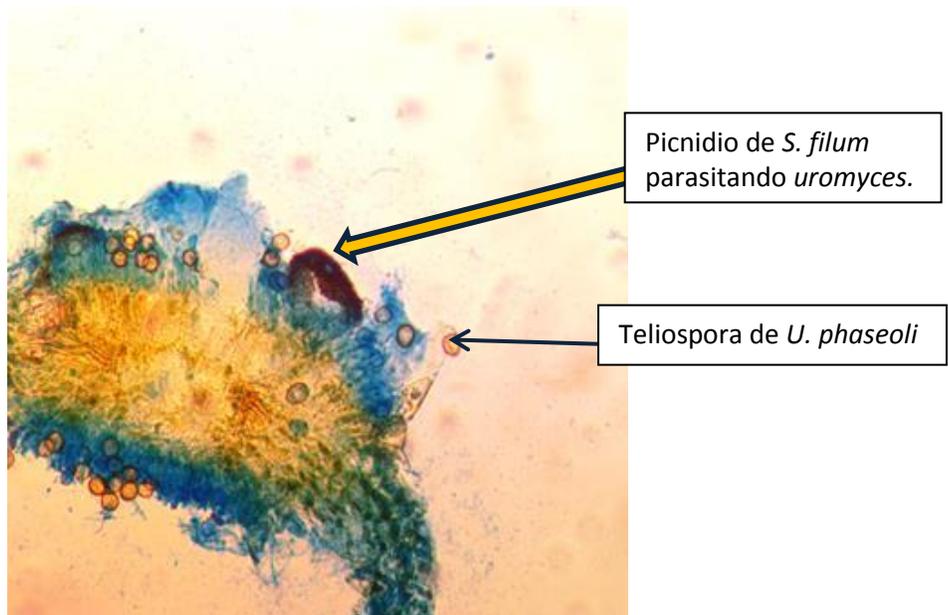
Categoría	Taxón
Reino	Fungi
División	Ascomycota
Subfilum	Pezizomycotina
Clase	Dothideomycetes
Subclase	Pleosporomycetidae
Orden	Pleosporales
Familia	Phaeosphaeriaceae
Genero	<i>Sphaerellopsis</i>
Especie	<i>S. filum</i> (B. Sutton)

Sinónimos: *Sphaeria filum* Biv., *Eudarluka filum* (Biv.) Speg., *Phoma filum* (Biv.) Fr., *Systema Mycologicum*, *Phoma filum* f. *filum* (Biv.), *Darluka filum* (Biv.) Berk., *Outlines of British Fungology*, *Kabathia filum* (Biv.) Nieuwl., *The American Midland Naturalist*, *Ascochyta graminicola* Sacc., *Michelia*. *Sphaerellopsis filum* (Biv.) B. Sutton, *Mycol. Pap.* 141: 196 (1977).

Fuente: (MYCOBANK, 2016)

e. Morfología

Los picnidios (figura 3) son de color negro cuando maduran subglobosos con diámetro aproximado de 90 a 200 μm , con uno o más lóculos y ostilos donde salen los conidios, estos de color pardo pálido o hialinos con formación mucosa en los extremos (Hao Pei & McCracken, 2005)



Fuente: elaboración propia, 2014.

Figura 7: Corte transversal de picnidio *S. filum* Parasitando *U. phaseoli*

f. Hábitat y ecología

Por lo general este hongo parasita uredosoros de especies de royas (*Pucciniales*), el hongo obtiene sus nutrientes por medio de las hifas que penetran las uredosporas (Pachecka, 2005). En condiciones favorables, la teliospora germina sin periodos de latencia, con basidiosporas maduras completamente, las cuales se forman dentro de 3 – 4 horas cuando las telias son expuestas a humedad (Drisessen, 2005). *S. filum* puede establecerse en un rango de temperatura 8°C como mínimo, 22 -24 °C es la temperatura óptima y 30°C como máxima (Hao Pei & McCracken, 2005).

g. Infección de *S. filum* sobre *Uromyces phaseoli*

S. filum para sobrevivir se ubica entre las esporas de la roya en donde obtiene los nutrientes mediante la penetración hifal directa de uredosporas; por dicha característica se dice que *S. filum* puede poseer potencial en el control biológico de royas (Carling, Brown, & Millikan, 1976). *S. filum* presenta capacidad de infectar tanto uredosporas, teliosporas y basidiosporas.

Por ser un hongo hiperparásito de royas es empleado como un agente biológico para controlar la expansión de la roya por todo el cultivo, se dice que *S. filum* es capaz de disminuir la roya en un 94% debido a que no permite la producción de esporas (Pachecka, 2005). Además la formación del picnidio de *S. filum* sobre las pústulas de roya propicia la muerte.

Según Liesebach M citado por Guzmán, V. 2013 indica que la efectividad de *S. filum* se basa en la habilidad en la degradación de *uredios*, lo cual detiene el microciclo de propagación de uredosporas y además evita el desarrollo de nuevas infecciones.

I. Medios de cultivo

Los medios de cultivo es una sustancia o solución la cual permite el desarrollo de microorganismos; estos deben contener los nutrientes suficientes para asegurar el desarrollo y producción de hongo, tales como carbono, nitrógeno, vitaminas entre otros, además de un pH ligeramente ácido (*Cañedo V. & Ames T. 2004*). Estos deben permitir el crecimiento del patógeno que se desee aislar por eso se debe seleccionar con fundamentos para el éxito del aislamiento (Cifuentes D). Los medios de cultivo pueden clasificarse según su composición los cuales pueden ser: Naturales, Semisintéticos, sintéticos (Quinteros Benítez, Apodaca Sánchez, Loredo Vega, & Fierro Corrales, 2008).

a. Medios naturales

Estos medios están compuestos por materiales enteramente naturales, como partes de plantas, malta, levadura etc. Se requieren en forma de Extractos o decocciones o simplemente esterilizando las partes vegetales con calor u otro método.

h. Medios semisintético

Se componen parcialmente por materiales naturales y sintéticos. Estos medios son los más utilizados, acá se pueden incluir los medios Papa Dextrosa Agar (PDA), Agar V8, Harina de Maíz, Agar, entre otros (Quinteros Benítez, Apodaca Sánchez, Loredo Vega, & Fierro Corrales, 2008).

i. Medios sintéticos

Se conocen perfectamente su composición (Quinteros Benítez, Apodaca Sánchez, Loredo Vega, & Fierro Corrales, 2008) Por su consistencia se dividen en:

Para la investigación se utilizan medios de cultivo Semisintéticos. Según el instructivo de microbiología de Espuny los medios de cultivo ricos para el aislamiento general de Hongos son:

- Papa Dextrosa Agar (PDA)
- Harina de Maíz Agar
- Medio Czapek´s
- Extracto de Malta Agar

j. Agar – Agua

El medio de cultivo Agar – agua es un medio pobre en el cual el micelio crece en forma muy rala. De acuerdo a la consistencia que se desea dar al medio dependerá la cantidad de agar que se utilice (Cañedo & Ames, 2004).}

k. Extracto de Malta Agar

El extracto de malta agar es un medio que generalmente es utilizado para la detención, aislamiento y enumeración de levaduras y mohos. Es un medio de cultivo el cual presenta un contenido alto de peptona, extracto de malta y glucosa, lo cual favorece al crecimiento de hongos; este medio permite agregar agentes selectivos de crecimiento (*Marceosan. 2011*).

l. Agar V8

El medio de cultivo agar-v8 es un medio ideal para aislamiento e incrementación de hongos, esto debido a sus compuestos los cuales se derivan de ocho vegetales los cuales son: tomate, zanahoria, apio, remolacha, perejil, lechuga, puerro y espinaca; además contiene sal, vitamina C y ácido cítrico (*Castellanos G., Jara C., Mosquera G*).

m. Agar- Papa- Dextrosa (PDA)

Es un medio muy utilizado para el aislamiento de todo tipo de Hongos (Cañedo & Ames, 2004). Por su fuente carbonada hace que el medio sea selectivo y brinde las condiciones favorables para que el hongo se desarrolle. Es un medio que se utiliza generalmente para el aislamiento de Hongos y Bacterias porque permite el aislamiento y purificación de las cepas.

J. Crecimiento micelial

Es el incremento del número de células por unidad de tiempo es proporcional al número de células presente en el cultivo (Depto. Microbiología General, UPNA), para la medición del Índice se utilizó la fórmula de Maguire, adaptada por Oliveira (1991), citado por (Garcia Túchez, 2012)

Referencia:

IVCM = Índice de velocidad de crecimiento micelial

D = diámetro medio actual (mm)

Da = diámetro medio del día anterior (mm)

N = número de días después de la inoculación en medio de cultivos (días)

K. Esporas gemantes

Las esporas gemantes son formadas por las blastosporas las cuales son características de las modalidades más frecuentes de reproducción asexual; los cuales son conidios formados por gemación o blastogénesis de la célula conidiogena que permanece fija, las cuales se observan aisladas, en racimos o cadenas, como las levaduras (Arenas, 1993)

La importancia de dicha estructura es para utilizarlas en propagación masiva.

L. Análisis multivariado de distancia y similitudes

El análisis multivariado es usado para describir y analizar observaciones multidimensionales obtenidas al relevar información sobre varias variables para cada una de las unidades o casos en estudio. La correlación de distancia y similitudes permite obtener para un conjunto de variables seleccionadas medidas de correlación-asociación y distancias; en muchas aplicaciones, sobre cada unidad de muestreo se mide la presencia o ausencia de p características y las similitudes entre las unidades de muestreo u observaciones deben ser construidas desde la información sobre presencia/ausencia (Balzarini, González, Tablada, Casanoves, Di Rienzo, & Robledo, 2008).

2.2.2 Marco referencial

A. Ubicación del laboratorio

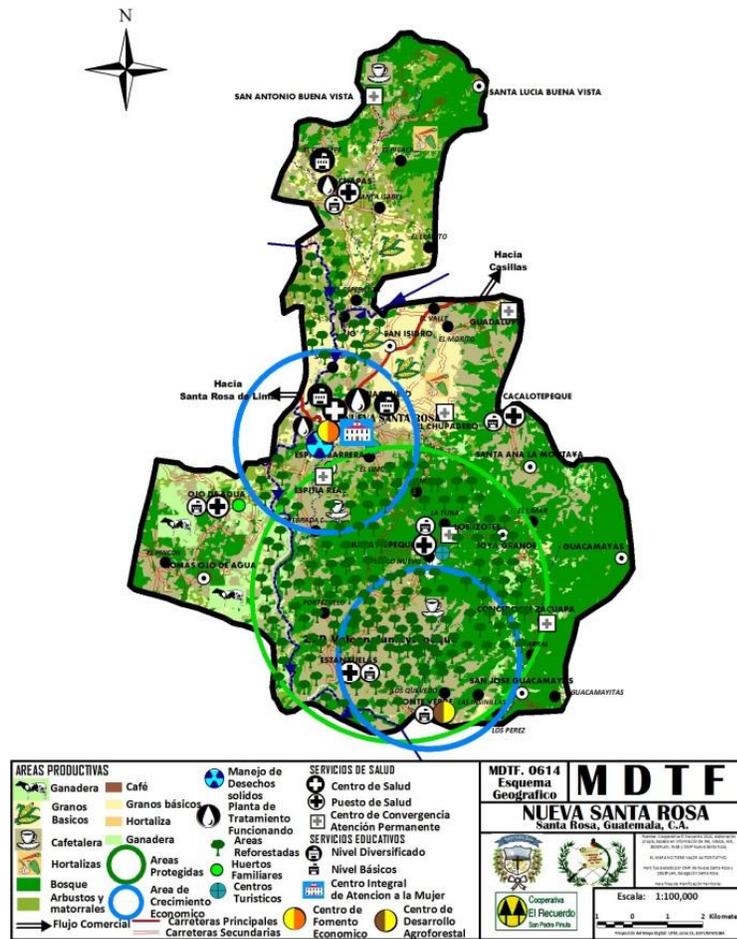
La investigación se realizó en el Centro de Diagnóstico Parasitológico de la Facultad de Agronomía, ubicado en el edificio de Unidad de Vinculación y Gestión de Recursos (UVIGER), en el campus central ciudad Universitaria zona 12.

B. Ubicación de parcelas de muestreo

El municipio de Nueva Santa Rosa, está localizado a una latitud $14^{\circ}22'50''$ y altitud $90^{\circ}17'10''$ constituye el municipio más pujante del área norte del departamento de Santa Rosa ya que se constituye el principal centro comercial. Dista 30 kilómetros de la cabecera departamental y 73 de la ciudad capital. (IGN 2000) Geográficamente, limita al norte con San Rafael Las Flores, Casillas, Santa Rosa y Mataquescuintla, Jalapa; al Este con Casillas, Santa Rosa; al Sur con Cuilapa, Santa Rosa, y al Oeste con Santa Cruz Naranjo, Santa Rosa de Lima, Santa Rosa (deGuate, 2004)

C. Extensión territorial

Según el Instituto Geográfico Nacional (IGN) el municipio tiene una extensión territorial de 67 km^2 (deGuate, 2004). Está constituido por 23 aldeas, de las cuales se realizaron muestreos en las aldeas: Chapas, Santa Isabel, Joya San Isidro, El Chupadero (ver figura 4).



Fuente: SEGEPLAN, 2010.

Figura 8: Mapa del municipio de Nueva Santa Rosa.

D. Medios de cultivo

Para la investigación se utilizaron los medios extracto de Malta, PDA, V8 y una mezcla de V8 + PDA.

a. Extracto de Malta agar

Es un medio de cultivo el cual presenta un contenido alto de peptona, extracto de malta y glucosa, lo cual favorece al crecimiento de hongos, según Liesebach citado por Hao M. 2005, *S. filum* se desarrolla adecuadamente en este medio, con un contenido de 3% de extracto de malta, 0.3% peptona de soja con un pH ajustado de 7.0.

b. Agar V8

El medio de cultivo agar-v8 esta formulado a base de ocho vegetales los cuales son: tomate, zanahoria, apio, remolacha, perejil, lechuga, puerro y espinaca; además contiene sal, vitamina C y ácido cítrico (*Castellanos G., Jara C., Mosquera G.*) según Black J. 2012 en la investigación sobre el micoparásito *S. filum* se reporta como un medio de crecimiento radial rápido, a la concentración de nutrientes que presenta; además es un medio en el cual permite la formación de picnidios rápidamente. Para la investigación se realizó una modificación de agar al 6% para la solidificación del medio.

c. Agar Papa Dextrosa (PDA)

Se caracteriza por presentar una fuente carbonada, lo cual hace que el medio sea selectivo y brinde las condiciones favorables para que el hongo se desarrolle según *Drisessen S. 2005*. Se utilizó el medio de cultivo PDA para el aislamiento del hongo *S. filum* del cual obtuvo la formación de picnidios a partir de los 6 días de inoculación.

d. Agar Papa Dextrosa (PDA) + Agar V8

Según Black J. 2012, realizo una mezcla de estos dos medios propiciando un buen desarrollo del hongo *S. filum* lo cual presento buenos resultados en la producción de

conidios esto debido a que los componentes de ambos medios propician condiciones favorables para el crecimiento de *S. filum*.

E. Producto comercial a base de *Sphaerellopsis filum*

En Estados Unidos se cuentan con producto a base de *S. filum* (ATCC MYA2848. 2013) el cual se realiza un aislamiento en medio extracto de malta agar, para el envasado de la cepa se realiza mediante hielo seco o nitrógeno líquido con condiciones de 70°C. la ampolla del producto comercial presenta suspensión de células del hongo las cuales son viables.

F. Métodos de control en Nueva Santa Rosa

a. Control químico

- **Propineb**

Utilizado como preventivo a los 15 días después de la siembra se aplica 4 copas y como curativo lo utilizan con 6 copas Bayer.

- **Mancozeb**

Los productores de frijol utilizan dicho químico como preventivo y curativo en el cultivo de frijol para atacar la roya.

- **Epoxiconazole**

Los productores de frijol utilizan de forma curativa epoxiconazole en el cultivo de frijol para atacar *U. phaseoli*.

b. Control cultural

Los productores generalmente realizan un asocio de cultivos como lo son maíz y frijol, además de realizar destrucción de residuos al terminar la cosecha.

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 Objetivo general

Establecer el medio de cultivo más eficiente de los 4 evaluados para el crecimiento y desarrollo de *S. filum* proveniente de *U. phaseoli*, en el Municipio de Nueva Santa Rosa.

2.3.2 Objetivos específicos

1. Establecer el medio que genere el mayor índice de velocidad de crecimiento micelial del hongo hiperparásito en el menor periodo de tiempo de desarrollo de *S. filum*.
2. Observar a través de los medios de cultivo la capacidad de producir esporas gemantes del hongo *S. filum* en los medios de cultivos.
3. Estimar el período de tiempo para producir picnidios de *S. filum* en los medios de cultivos

2.4 HIPÓTESIS

Al menos en un medio de cultivo a evaluar se observara mejor desarrollo micelial y formación de estructuras reproductivas de *S. filum* provenientes de *U. phaseoli*.

2.5 METODOLOGÍA

2.5.1 Ensayo experimental

La unidad experimental de la investigación corresponde a cajas Petri con medio a evaluar, los cuales se distribuyeron en un ensayo experimental con un diseño completamente al azar (DCA) constituido por 4 tratamientos y 4 repeticiones.

2.5.2 Tratamientos a evaluar

T1= PDA (papa dextrosa agar)

T2= Agar V8

T3= Agar V8 + PDA

T4= Extracto de Malta

2.5.3 Modelo estadístico

Se utilizó el modelo lineal para el análisis de las variables de respuesta: índice de crecimiento micelial.

$$Y_{ij} = U + T_i + E_{ij}.$$

En donde:

Y_{ij} = Valor del Medio de Cultivo estudiado de la i -ésima observación en la j -ésima repetición.

U = media general del índice de crecimiento micelial.

Ti = efecto del medio de cultivo

Eij = error experimental

i = número de tratamiento

j = número de repeticiones

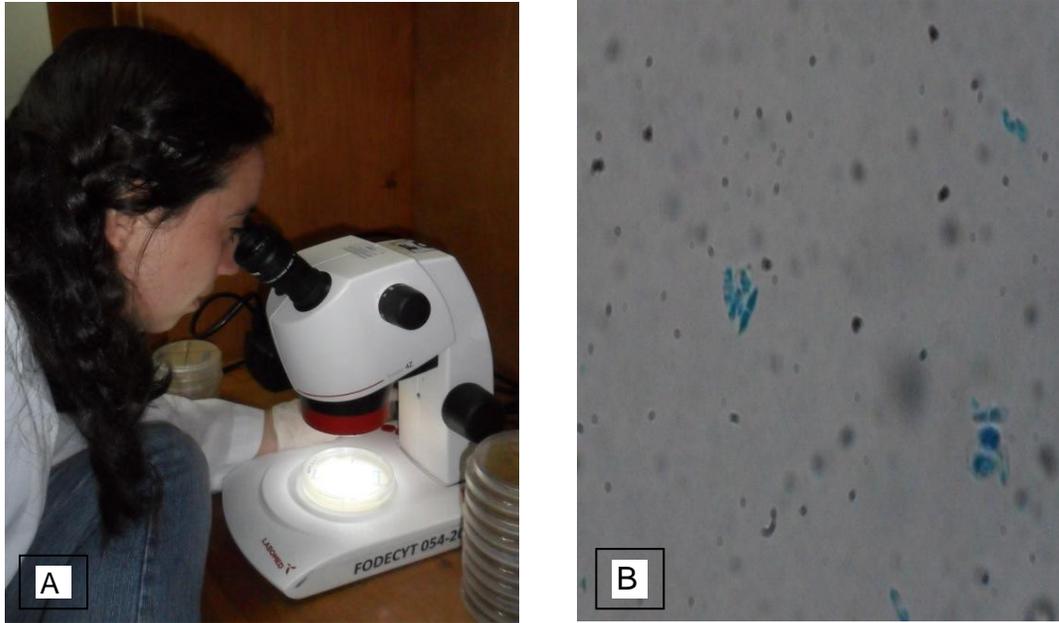
2.5.4 Variables de respuesta

- Índice de velocidad de crecimiento micelial,
- Capacidad de producir esporas gemantes
- Producción de picnidios

1.1.1 Índice de velocidad de crecimiento micelial

El cálculo de esta variable se realizó en función del crecimiento radial que presentó el micelio del hongo en las cajas Petri con respecto al tiempo transcurrido desde la siembra, hasta la toma de datos que se realizó a los 15, 22, 29 y 36 días después de la siembra en el medio a evaluar.

Para ello se realizó la revisión (figura 5) de cada unidad experimental al estereoscopio y microscopio para verificación de la presencia de *S. filum*.



Fuente: elaboración propia, 2015.

Figura 9: A) Observación de presencia de *S. filum* en medios de cultivo

A. Producción de esporas gemantes

Las mediciones para dicha variable se llevaron a cabo a los 3, 6, 8, 15, 24 días después de la siembra, para la evaluación de los medios de cultivo si presentaron crecimiento de esporas gemantes se llevó a cabo revisión de la existencia de crecimiento levaduriforme o crecimiento lechoso (colonias), para luego realizar montajes y con ello verificar si existe presencia de esporas de *S. filum*.

B. Producción de picnidios

Para la evaluación de producción de picnidios se realizaron observaciones al estereoscopio para verificar la presencia de picnidios, con lo cual se estimó el periodo necesario para la formación de dicha estructura. Las observaciones se realizaron a los 15, 22, 29 y 36 días después de la siembra.

2.5.5 Etapas de la investigación

En realización de la investigación se llevaron a cabo varias etapas en las cuales se dividieron de la siguiente manera: muestreo, aislamiento, crecimiento y desarrollo del hongo, para el aprovechamiento de los recursos las cuales se describen a continuación:

A. Etapa I:

En la primera etapa se realizaron todos los procedimientos de laboratorio, esto con el objetivo de obtener todos los materiales necesario para el aislamiento de las postulas de *S. filum*.

Para el aislamiento y esporulación del hongo *S. filum* se utilizó medio de cultivo agar – agua al 3% y con ello se utilizaron agujas de vidrio (ver anexo 1). Para luego ser trasladado al medio de cultivo de crecimiento, los cuales se realizaron en dicha etapa así como también las agujas de vidrio. El medio V8 agar tuvo una modificación del 6% de agar-agar (figura 6).



Fuente: elaboración propia, 2014.

Figura 10: Preparación de materiales, I) agujas de vidrio. II) medios de Cultivo III) solidificación de medios. IV) etiquetado de medios de cultivo.

B. Etapa II:

Se ubicaron parcelas de producción de frijol en las cuales se efectuaron los muestreos, dichas actividades se realizaron en el 10 % de las aldeas de Nueva Santa Rosa esto para obtener muestras de Frijol con presencia de *U. phaseoli*, con la finalidad de obtener cepas de *S. filum* para posteriormente se trasladaron a laboratorio para ser analizadas y proseguir con el aislamiento.

Las localidades muestreadas constaron de seis, las cuales fueron Chapas, Nueva Santa Rosa, El Llanito, San Antonio Buena Vista, Santa Isabel y La Joya.

a. Muestreo

Los muestreos en las plantaciones de frijol se realizaron por el método no probabilístico, muestreo por juicio o selección experta ya que el investigador toma la muestra seleccionando los elementos que a él le parezcan representativos o típicos de la población, por lo que depende del criterio del investigador (Aceituno, 2011).

b. Toma de muestras

La toma de muestras se realizaron en las plantaciones de Frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) con síntomas y signos de roya (*U. phaseoli*), con el fin de obtener cepas de *S. filum*. Se observaron las manchas pardas oscuras sobre roya (figura 7), para luego ser analizadas en laboratorio con el objetivo de verificar la presencia de *S. filum*.



Fuente: elaboración propia, 2014.

Figura 11: Toma de muestras de plantas de frijol con presencia de *S. filum*

C. Etapa III:

En esta etapa se realizó el aislamiento, purificación y crecimiento de las cepas del hongo *S. filum*.

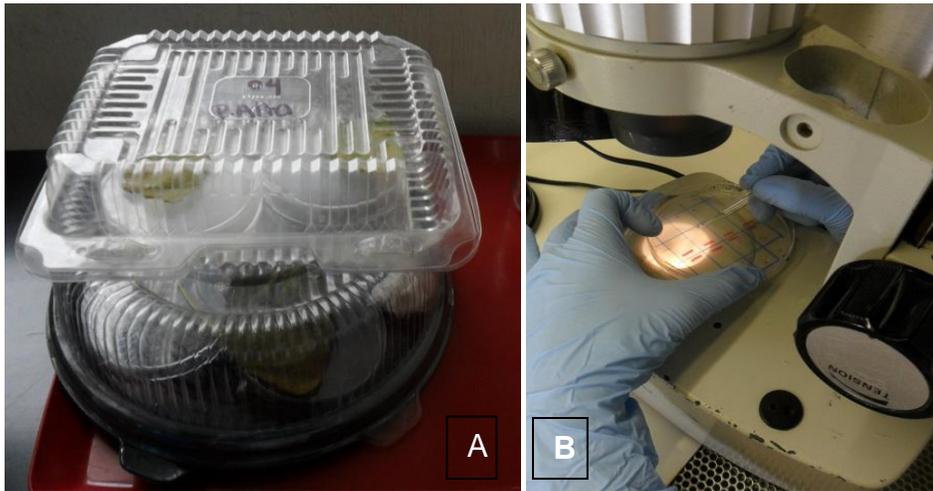
a. Aislamiento

El aislamiento del hongo es un proceso el cual se necesita de asepsia y esterilización completa de todos los materiales a utilizar, con el fin de que el producto a obtener sea puro.

Para el aislamiento del hongo hiperparásito *S. filum* se necesitó de cámaras húmedas (figura 8 A) para permitir la extracción de los picnidios para luego sembrarse en el medio agar – agua el cual permite aislar las esporas que se utilizaron para el crecimiento en el

medio de cultivo PDA (figura 8 B). Los medios se llevaron a la cámara de incubación a una temperatura de 25°C durante un lapso de 12 días para la esporulación del hongo en el medio agar – agua.

Según los aislamientos que se lograron realizar de todas las aldeas que se obtuvieron muestras la única que se desarrolló fue la cepa del arco en Nueva Santa Rosa.



Fuente: elaboración propia, 2014.

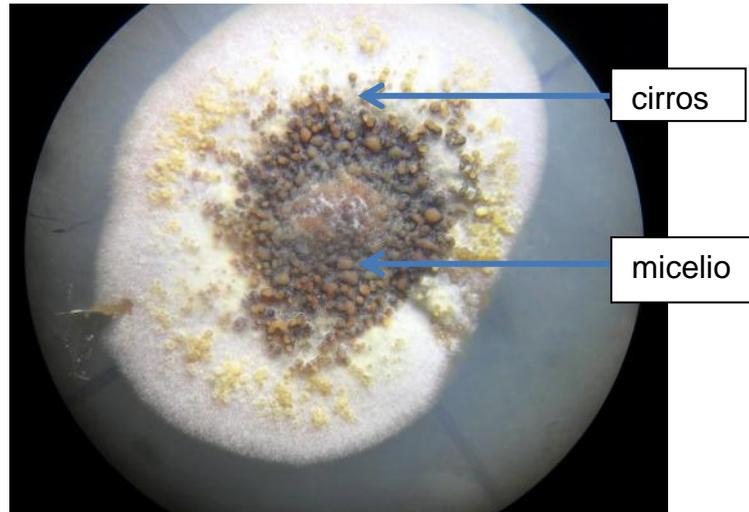
Figura 12: A) Cámara húmeda de hojas de frijol. B) Arrastre de picnidios en medio Agar – Agua

D. Purificación de cepas de *Sphaerellopsis filum*

Para la purificación de cepas de *S. filum* luego de transcurrir los 12 días en el medio agar – agua, se procedió a realizar la siembra de las esporas individuales en el medio de cultivo PDA para su desarrollo.

Luego de la siembra en el medio de cultivo de PDA se procedió a incubar las placas a una temperatura de 25°C durante una semana para inducir la esporulación del hongo (Black,

2012). En este caso se dejó durante 52 días en la incubadora para su desarrollo debido a la lentitud del hongo, después se procedió a recolectar los cirros de esporas de los picnidios de *S. filum* y ser transferidos a cajas Petri con el mismo medio para su purificación (figura 9).



Fuente: elaboración propia, 2015.

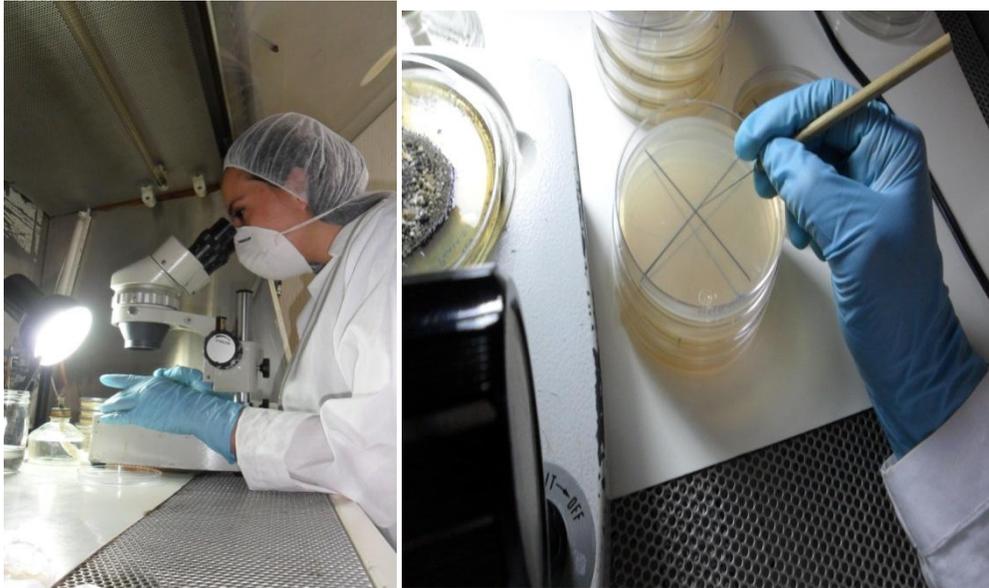
Figura 13: Purificación de *S. filum*

La purificación se realizó en medio PDA debido a que según revisión literaria el aislamiento generalmente se realiza en dicho medio.

E. Desarrollo y crecimiento

Para la evaluación del desarrollo y crecimiento de *S. filum* se realizaron siembras de esporas de los medios PDA que se realizaron las purificaciones.

La producción de cirros se aprovechó para realizar la siembra de *S. filum* a través de masas de esporas para propiciar el desarrollo del hongo (figura 10), y así realizar las evaluaciones de producción de picnidios, índice de crecimiento micelial y producción de esporas gemantes.



Fuente: elaboración propia, 2015.

Figura 14: Siembra de masa de esporas de *S. filum* en los medios de cultivo.

2.5.6 Análisis estadístico

Durante la investigación los resultados obtenidos de los diferentes tratamientos (PDA, Agar- V8, PDA-V8, MAE) fueron analizados mediante una prueba de hipótesis con un nivel de confianza de 95% por medio de análisis de varianza (ANDEVA), los cuales si presentaron diferencia significativa entre tratamientos por lo que fue necesario realizar comparación de medias a través de la prueba de Tukey al 5% en el programa estadístico INFOSTAT el cual permitió estimar las diferencias entre las medias para las variables de respuesta tasa de crecimiento micelial.

Para el análisis de las variables producción de picnidios y producción de esporas gemantes se realizó análisis multivariado de distancias y similitudes en el software estadístico INFOSTAT el cual permite determinar mediante graficas con biplots cuál de los tratamientos presenta formación de picnidios en menor tiempo.

A. Tasa de crecimiento micelial por 36 días después de la siembra

Ho: La media de la tasa de crecimiento micelial a los 36 días después de la siembra en las unidades de muestreo son iguales.

Ha: Existe diferencia significativa en la media de tasa de crecimiento micelial a los 36 días después de la siembra en las unidades de muestreo.

1.1.2 Capacidad de formación de esporas gemantes en los medios de cultivo.

Ho: La capacidad de formación de esporas gemantes en las unidades de muestreo son iguales.

Ha: Existe diferencia significativa en la capacidad de formación de esporas gemantes en a las unidades de muestreo.

B. Formación de picnidios en el tiempo

Ho: La presencia de formación de picnidios en el tiempo en las unidades de muestreo son iguales.

Ha: Existe diferencia significativa en la presencia de formación de picnidios en el tiempo en las unidades de muestreo.

Para la obtención de datos de la investigación se realizaron semanales para poder realizar el análisis estadístico de las tres variables de respuestas, es necesario conocer las estructuras que se desee reproducir para la elección correcta del medio de crecimiento.

2.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La obtención de datos para análisis de las diferentes variables se efectuó mediante el programa toupView el cual permite realizar mediciones con escala en unidades de micra a través de observaciones al estereoscopio para todas las variables evaluadas las cuales fueron: índice de crecimiento micelial, formación de esporas gemantes y formación de picnidios.

Los resultados se obtuvieron hasta los 52 días después de la siembra debido a que el hongo *S. filum* presento desarrollo lento lo cual postergó el tiempo establecido para la investigación, además se determinó la presencia del hongo con la presencia del micelio en el medio de crecimiento PDA (figura 11), es de resaltar también que la cosecha de frijol para el 2014 tuvo un atraso debido a efectos del cambio climático que retrasó la temporada de lluvia que es la época que los agricultores esperan para la siembra de dicho cultivo en el municipio de Nueva Santa Rosa.



Figura 15: Micelio *S. filum*.

Los resultados obtenidos de la investigación sobre el aislamiento de *S. filum* y la formación de picnidios en los medios de cultivo, los datos obtenidos se presentan en La tabla 12.2 de los anexos.

2.6.1 Tasa de crecimiento micelial a los 36 días después de siembra

Para la obtención de datos correspondientes a esta variable se realizaron mediciones a los 15, 22,29 y 36 días a los cuales después de realizado el análisis de varianza($p < 0.0001$) a través del programa estadístico INFOSTAT, cuyo resumen se presenta en el cuadro 4, se concluye que los tratamientos evaluados si presentaron significancia en relación al diámetro de crecimiento micelial en las unidades de muestreo con el cual se obtuvo un coeficiente de variación del 14.26 %, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna planteada la cual nos indica que existe diferencia significativa en la media de la tasa de crecimiento micelial a los 36 días después de la siembra en las unidades de muestreo.

Consiguiente se procedió a realizar una prueba de medias a través de Tukey (cuadro 5) en donde el tratamiento con mayor índice de crecimiento micelial del hongo *S. filum* fue el extracto de malta (T4) el cual presentó un diámetro de 0.42 mm a los 36 días, mientras que el peor tratamiento fue el del medio V8(T2) que no presentó crecimiento micelial a los 36 días de incubación a una temperatura de 24.5°C.

Cuadro 8: Análisis de varianza de la variable IVCM (mm) del aislamiento de *S. filum*

Fuentes de Variación	SC	GL	CM	VALOR F	Pr
Tratamiento	0.40	3	0.13	96.56	0.001*
Error	0.02	12	1.4E-03		
Total	0.42	15			

*Significancia estadística 5%, C.V.= 14.26%.

Cuadro 9: Comparación de medias para la variable IVCM (mm) de *S. filum* en diferentes medios de cultivo a una temperatura de 24.5°C

Tratamiento	IVCM (mm) De diámetro	Grupo Tukey(≤ 0.05)
EXTRACTO DE MALTA	0.42	A
PDA	0.35	A B
V8PDA	0.28	B
V8	0.00	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes.

Según el análisis de la prueba de Tukey el medio extracto de malta agar (T4) es el mejor tratamiento debido a que presentó un mayor diámetro de crecimiento micelial pero estadísticamente también se puede utilizar medio PDA, debido a esto se procedió a realizar un análisis gráfico (figura 12) del crecimiento micelial semanal, el cual permite observar la diferencia entre los medio PDA y Extracto de Malta y que a su vez se observa un crecimiento exponencial en comparación de los otros tratamientos.

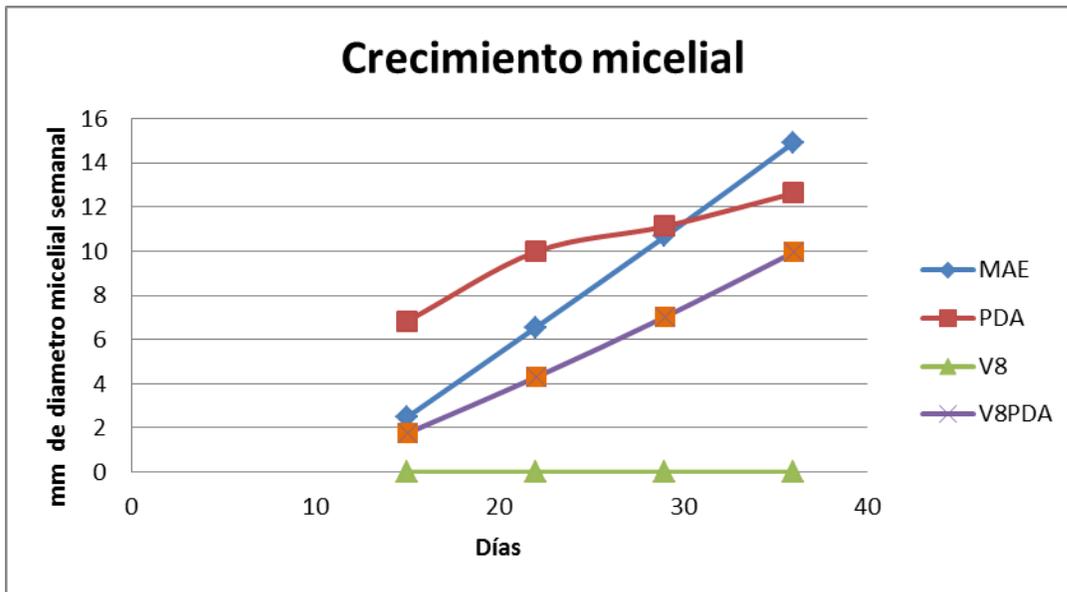


Figura 16: Gráfica del índice de crecimiento micelial

Las evaluaciones realizadas para la cepa encontrada en Nueva Santa Rosa el hongo hiperparásito *S. filum* se desarrolló en medio Agar Extracto de Malta obteniendo un crecimiento de 0.42mm en comparación de los medios PDA, V8, Y V8+PDA. Según Black J. 2012 en la investigación realizada *S. filum* se desarrolló rápidamente en medio V8, aunque Liesebach citado por Hao M. 2005 en su investigación el hongo presentó un desarrollo adecuado en Extracto de Malta y ATCC- MYA 2848. 2013 también utiliza el medio extracto de malta agar para crecimiento del hongo; por lo tanto se recomienda para el aislamiento de *S. filum* realizar la purificación y obtención de micelio para la cepa en dicha región el medio Agar Extracto de Malta.

2.6.2 Capacidad de formación de esporas gemantes en los medios de cultivo.

Se realizaron pruebas con los medios de cultivo V8, PDA, Extracto de Malta (MAE) y V8+PDA, pero en ningún medio se obtuvieron resultados positivos de la capacidad de formación de esporas gemantes, por lo tanto se considera que ninguno de los medios evaluados presenta las condiciones necesarias para su formación; por lo tanto se acepta

la hipótesis nula en la cual se planteó que ninguno de los medio de cultivo presenta condiciones necesarias para la producción de esporas gemantes.

El manejo brindando a los tratamientos se realizó exclusivamente en la incubadora a 24.5°C, indicándose que el único factor adverso que se realizo fue la exposición a la fuente de luz al momento de efectuar las mediciones, lo que no permitió que la formación de esporas gemantes, porque según Hao M. 2005 para la formación de estructuras de *S. filum* se necesita tiempos de luz – oscuridad para obtener mejores resultados.

2.6.3 Formación de Picnidios en el tiempo

Para la variable formación de picnidios se tomó como base la presencia o ausencia de dicha estructura reproductiva del hongo *S. filum* (picnidios) y para comprenderse su análisis se presenta la gráfica con biplot (figura 13) a través del análisis multivariado el cual del 100% de los datos obtenidos al momento el programa solamente acepto 97.3% de los datos y en su primer componente (cp1) el eje X nos analiza un 83.4% de los datos y el segundo componente (cp2) eje Y analiza un 13.9% de los datos relacionados a la formación de picnidios, según dicha gráfica se puede analizar que a los 15 y 22 días de incubación del hongo *S. filum* existe correlación referente a la presencia de picnidios es decir que en a partir de esos días se presenta la presencia mínima de picnidios en los medios de cultivo PDA y V8+PDA, pero al días 29 en dichos medios presento producción de dicha estructura, mientras que para los medios Extracto de Malta (MAE) según se observa en el vértice de los 36 días se presentó producción de picnidios en dicho medio, por lo contrario para el medio V8 no se encuentra correlacionado con ninguna variable del biplots por lo que no presentara producción de picnidios en ningún día.

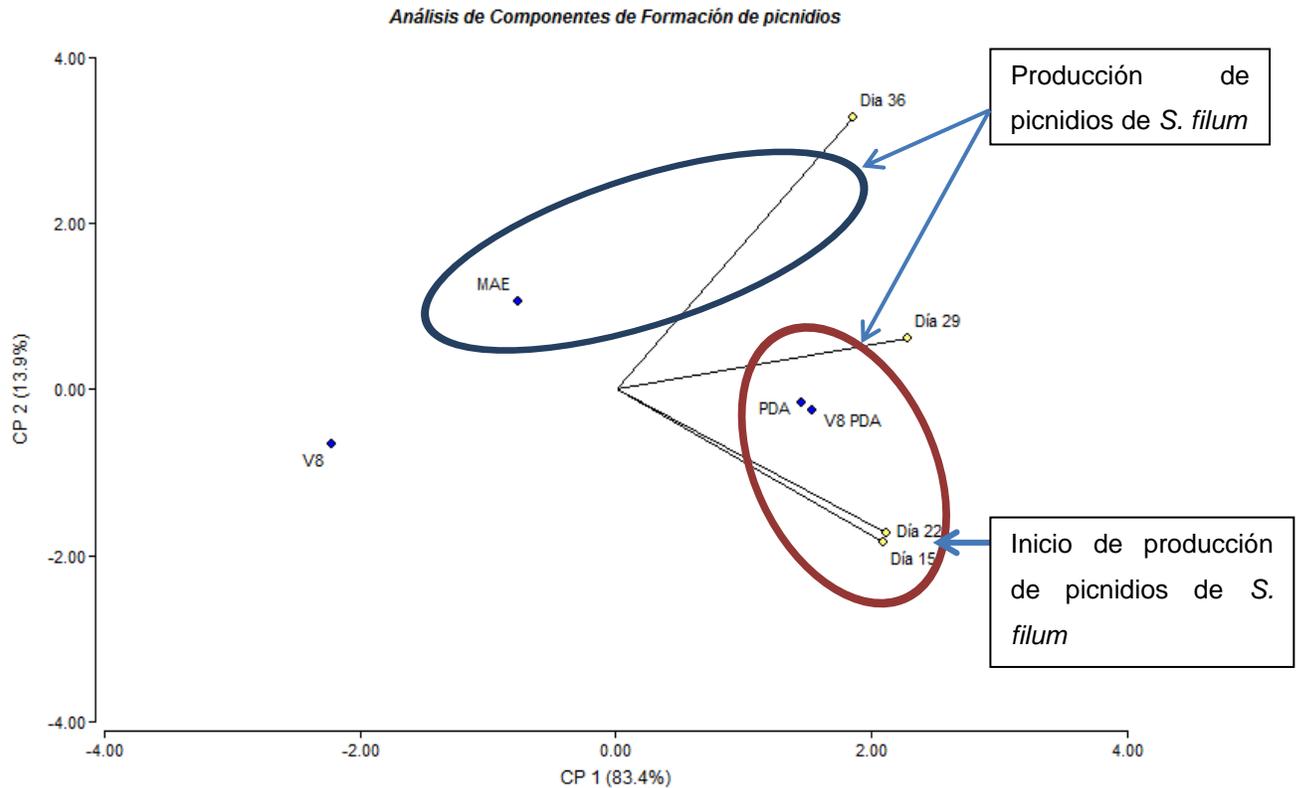


Figura 17: Análisis de formación de picnidios. Cp1) Porcentaje de datos relacionados a formación de picnidios. Cp2) Porcentaje restante de datos relacionados a formación de picnidios.

Según Black J. 2012 el mejor medio para la producción de picnidios fue V8 ya que a las dos semanas presentó formación, pero para la cepa de Nueva Santa Rosa los medios que presentaron formación de picnidios fueron PDA y V8+PDA los cuales a los 15 días ya se podía observar su estructura reproductiva (figura 14) por lo que ambos medios pueden ser utilizados para la producción de *S. filum*, en el medio V8 no se logró la producción de dicha estructura de la cepa encontrada por lo que habría que realizar pruebas de las diferentes marcas de jugo V8 que se comercializan en nuestro país para evaluar el medio; por lo anterior se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alterna ya que si existe diferencia significativa en cuanto a la presencia de formación de picnidios en el tiempo en las unidades de muestreo.

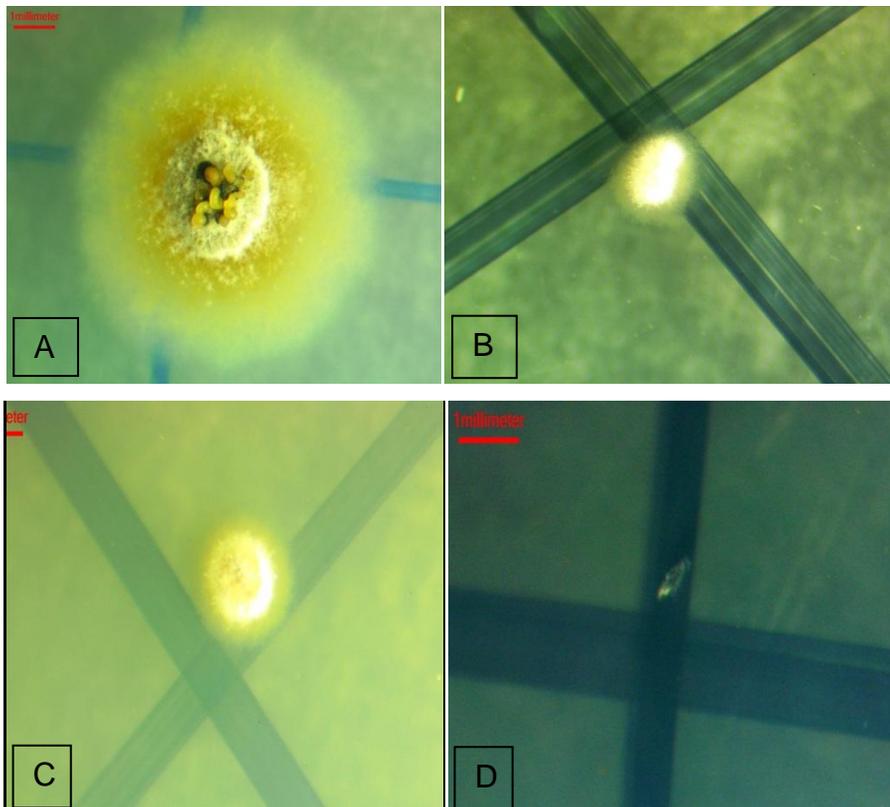


Figura 18: Formación de picnidio de *S. filum* a los 15 días. A) Medio Papa Dextrosa Agar, B) Medio Extracto de Malta Agar, C) Medio V8PDA, D) Agar V8.

2.7 CONCLUSIONES

1. Según los medios de cultivos evaluados se logró establecer que el medio de Extracto de Malta Agar obtuvo la mayor tasa de crecimiento micelial con un índice de 0.42 mm de diámetro a los 36 días, segundo el medio PDA con un índice de 0.35 mm en su diámetro, y tercero la mezcla de V8+PDA con un índice de 0.28 mm en su diámetro y el medio V8 que no presento presencia de micelio.
2. A través de la observación de los medios de cultivos evaluados Extracto de malta, PDA, V8+PDA, V8, se establece que ninguno de los medios es apto para la producción de esporas gemantes.
3. El periodo de tiempo estimado para la producción de picnidios fue a los 15 días en los medios PDA y la mezcla de V8+PDA, mientras que el medio Extracto de Malta Agar (MAE) presento formación de picnidios a los 36 días, y el medio V8 no presento formación de dicha estructura reproductiva de *S. filum*.

2.8 RECOMENDACIONES

1. Evaluar las marcas de jugo V8 para la preparación de medios de cultivo y así poder determinar si brindan un mejor desarrollo de *S. filum*, no se recomienda concentraciones debido a que se deberá aumentar concentración de Agar-Agar.
2. Debido a que no se cuentan con investigaciones sobre el aislamiento de *S. filum* se recomienda realizar pruebas de aislamiento en otros medios de cultivo como Harina de Maíz Agar y Medio Czapek's para determinar si el hongo prefiere estos componentes.
3. Realizar pruebas de transferencia para determinar si el hongo se encuentra en estado de latencia.
4. Para el crecimiento micelial el Extracto de Malta Agar fue el medio que mostro mayor crecimiento en comparación con Papa Dextrosa Agar que fue mínima la diferencia, por lo que se recomienda en cuanto a costos utilizar medio Papa Dextrosa Agar (ver ANEXO 12.4).

2.9 BIBLIOGRAFÍA

- Aceituno Juárez, M. T. (2011). *Población y muestra*. Recuperado el 6 de marzo de 2014, de USAC, Facultad de Ingeniería: http://destadistica.ingenieria.usac.edu.gt/index.php?option=com_content&view=article&id=48&Itemid=66 Tambien en <https://es.scribd.com/doc/314047678/Teoria-Gral-Del-Muestreo>
- Alessio, L. (s.f.). *Control biológico*. Recuperado el 7 de marzo de 2014, de Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo: <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo1/27.pdf>
- Arai, N. (2001). *Procedimiento simplificado para la identificación de bacterias fitopatógenas*. Guatemala: USAC, Facultad de Agronomía.
- Arenas, R. (1993). *Micología médica ilustrada. 4 ed.* Recuperado el 10 de marzo de 2014, de Booksmedicos.org: <http://es.slideshare.net/yotsabeth/micologiamedicailustradaarenas-www-lamedicardiacom>
- ATCC-MYA2848. (2013). Oregon, Estados Unidos.
- Balzarini, M., González, L., Tablada, E., Casanoves, F., Di Rienzo, J., & Robledo, C. (2008). *Manual del usuario InfoStat*. Córdoba, Argentina: Brujas.
- BASF. (2000). *Opus, hoja de información de seguridad del producto*. Recuperado el 14 de marzo de 2014, de BASF Mexicana: sinat.semarnat.gob.mx/dgiraDocs/legamb/OPUS.pdf
- BAYER. (2013). *Antracol 70% WP, hoja de datos de seguridad*. Colombia: Bayer.
- Black, J. A. (2012). *The epidemiology of Puccinia emaculata (Rust) in switchgrass and evaluation of the mycoparasite Sphaerellopsis filum as a potential biological control organism for switch grass rust. (These Master)*. University of Tennessee. Recuperado el 13 de marzo de 2014, de The University of Tennessee: http://trace.tennessee.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2272&context=utk_gradthes

- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). *Manual de laboratorio para manejo de hongos entomopatógenos*. Lima: CIP.
- Carling, D. E., Brown, M. F., & Millikan, D. F. (1976). *Ultra structural examination of the Puccinia graminis Darluca filum parasite relationship*. Recuperado el 14 de marzo de 2014, de Phytopathology 66, 419-422: www.e-bookspdf.org/view/aHR0cDovL2Fwc25ldC5vcmcvcHVibGljYXRpb25zL3BoeXRvcGF0aG9sb2d5L2JhY2tpc3N1ZXMvRG9jdW1lbnRzLzE5NzZBcnRyY2xlc9QaHI0bzY2bjA0XzQxOS5QREY=/UGh5dG82Nm4wNCA0MTkgLSBBbWVyaWNhbiBQaHI0b3BhdGhvbG9naWNhbCBTb2NpZXR5
- Carrillo, L. (s.f.). *Técnicas: los hongos de los alimentos y forrajes*. Recuperado el 22 de febrero de 2014, de Universidad Nacional de Salta Argentina: www.unsa.edu.ar/matbib/hongos/03htextotecnicas.pdf
- Castellanos, G., Jara, C., & Mosquera, G. (2012). Guía práctica no. 6: Phaeoisariopsis griseola: enfermedad: mancha angular. En CIAT, *Guías prácticas de laboratorio para el manejo de patógenos de frijol* (pág. 425). Colombia: CIAT.
- CESAVEG. (2015). *Roya del frijol, Uromyces phaseoli, estrategias de manejo integrado*. Guanajuato, A.C., México: Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato A.C.
- Cifuentes, D. (1990). *Prácticas de patología vegetal*. Recuperado el 22 de febrero de 2014, de Universidad de España: [/books.google.com.gt/books?id=obwClj2YB_wC&pg=PA7&lpg=PA7&dq=medios+de+cultivo+para+hongos&source=bl&ots=xnOI4S50qh&sig=7P1sw2Cxro77ahIGhLV L9PoRyqw&hl=es&sa=X&ei=kZ1WVbDmLcjDggSd5ICQBA&ved=0CBsQ6AEwADgK#v=onepage&q=medios%20de%20cultivo%20para%20hongo](http://books.google.com.gt/books?id=obwClj2YB_wC&pg=PA7&lpg=PA7&dq=medios+de+cultivo+para+hongos&source=bl&ots=xnOI4S50qh&sig=7P1sw2Cxro77ahIGhLV L9PoRyqw&hl=es&sa=X&ei=kZ1WVbDmLcjDggSd5ICQBA&ved=0CBsQ6AEwADgK#v=onepage&q=medios%20de%20cultivo%20para%20hongo)
- DeGuate. (s.f.). *Geografía de Nueva Santa Rosa*. Recuperado el 27 de febrero de 2014, de Directorio Electronico de Guatemala: www.deguate.como/municipios/pages/santa-rosa/nueva-santa-rosa/geografia.php#.UyY4GfI5NqU
- Departamento de Microbiología. (2002). *Cultivo de microorganismos*. Recuperado el 14 de marzo de 2014, de Universidad Pública de Navarra:

www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%2002.-%20Cultivo%20de%20microorganismos.pdf

- Drissen, S. (2005). *Litecycle biology and diversity of Puccinia boroniae in western Australia*. Australia Occidental: Universidad de Murdoch Perth.
- Espuny Gómez, M. R. (s.f.). *Instructivo de microbiología*. Sevilla, España: Universidad de Sevilla.
- García Túchez, J. W. (2012). *Caracterización biológica del hongo Mycena citricolor Berk & Curt, con aislamientos obtenidos de cultivares de café (Coffea arabica L) provenientes de las diferentes zonas cafetaleras de Guatemala. (Tesis Ing. Agr.)*. Guatemala: USAC, Facultad de Agronomía.
- Goh, T. K. (1999). *Single spore isolation using a hand-made glass needle*. Estados Unidos: Fungal Diversity.
- González, M., & García, E. (1996). Evaluación de fungicidas en el control de la roya del frijol (*Uromyces appendiculatus*). *Agronomía Mesomericana*, 7(1), 86-89.
- Hao Pei, M., & McCracken, A. (2005). Rust diseases of willow and poplar. En M. Liesebach, & I. Zepel, *Biology and genetic diversity of Sphaerellopsis filum*. Northern Ireland: Department of Agriculture and Rural Development Northern Ireland.
- Hernández Medina, C. A., & Herrera Isla, L. (2011). *Influencia de diferentes regímenes de iluminación sobre el desarrollo in vitro de Sclerotium rolfsii*. Recuperado el 10 de marzo de 2014, de Centro Agrícola 38(3): <http://cagricola.uclv.edu.cu/index.php/es/volumen-38-2011/numero-3-2011/321-influencia-de-diferentes-regimenes-de-iluminacion-sobre-el-desarrollo-in-vitro-de-sclerotium-rolfsii-sacc>
- MAGA. (2014). *Precios de frijol negro*. Recuperado el 16 de febrero de 2014, de Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación: http://web.maga.gob.gt/wp-content/uploads/pdf/home/diplan/fn/informacion_de_precios_frijol_negro_2013.pdf
- Marceosan. (2011). *Agar malta*. Recuperado el 16 de febrero de 2014, de Marceosan: marceosan.wordpress.com/2011/05/11/agar-malta/

MYCOBANK. (2004). *Uromyces phaesoli*. Recuperado el 3 de marzo de 2016, de Mycobank:

<http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?TableKey=14682616000000067&Rec=117427&Fields=All>

MYCOBANK. (2016). *Sphaerellopsis filum*. Obtenido de Mycobank: <http://www.mycobank.org/name/Sphaerellopsis%20filum>

Nolasco Guzman, V., Ayala Escobar, V., Tovar Pedraza, J. M., Ríos López, E. G., Calyecac Cortero, G. H., & Miranda Rangel, A. (2013). Primer reporte de *Phakopsora arthuriana* en *Jatropha curcas* en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31(1).

NUFARM. (s.f.). *Mancozeb 80, hoja de datos de seguridad*. Recuperado el 15 de marzo de 2015, de NUFARM,: http://www.nufarm.com/assets/22299/1/MANCOZEB80NUFARMHojadeSeguridad_MSDS_.pdf

Ospina, H. F., Correa, F., & Schwartz, H. (1980). *La roya del frijo y su control*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Pachecka, A. (2005). *Microscopical observation of Sphaerellopsis filum a parasite of Puccinia recondita*. México: Agrobotanica.

Quinteros Benítez, J., Apodaca Sánchez, M., Loredó Vega, J., & Fierro Corrales, D. (2008). *Manual de prácticas de micología*. Sinaloa, México: Universidad Autónoma de Sinaloa, Rama de Fitopatología, Departamento de Parasitología.

SAGARPA. (2012). *Principales enfermedades del frijol ejotero (Phaseolus vulgaris L) en las principales regiones productoras del estado de Morelos*. Recuperado el 3 de marzo de 2014, de Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación: <http://producirmejor.net/libros/frijol/Frijolejotero.pdf>

Schaad, N. W., & Jones, J. B. (s.f.). *Plant pathogenic bacteria*. Minnesota, US: The American Phytopathological Society.

Schwartz, H. F. (1982). *Enfermedades del frijol causadas por hongos y su control*. Cali, Colombia: CIAT.

SEGEPLAN. (2010). *Nueva Santa Rosa*. Recuperado el 23 de febrero de 2016, de Secretaria de Planificación y Programación de la Presidencia: http://www.segeplan.gob.gt/2.0/index.php?option=com_k2&view=itemlist&task=category&id=291:nueva-santa-rosa&Itemid=333&&opc=2

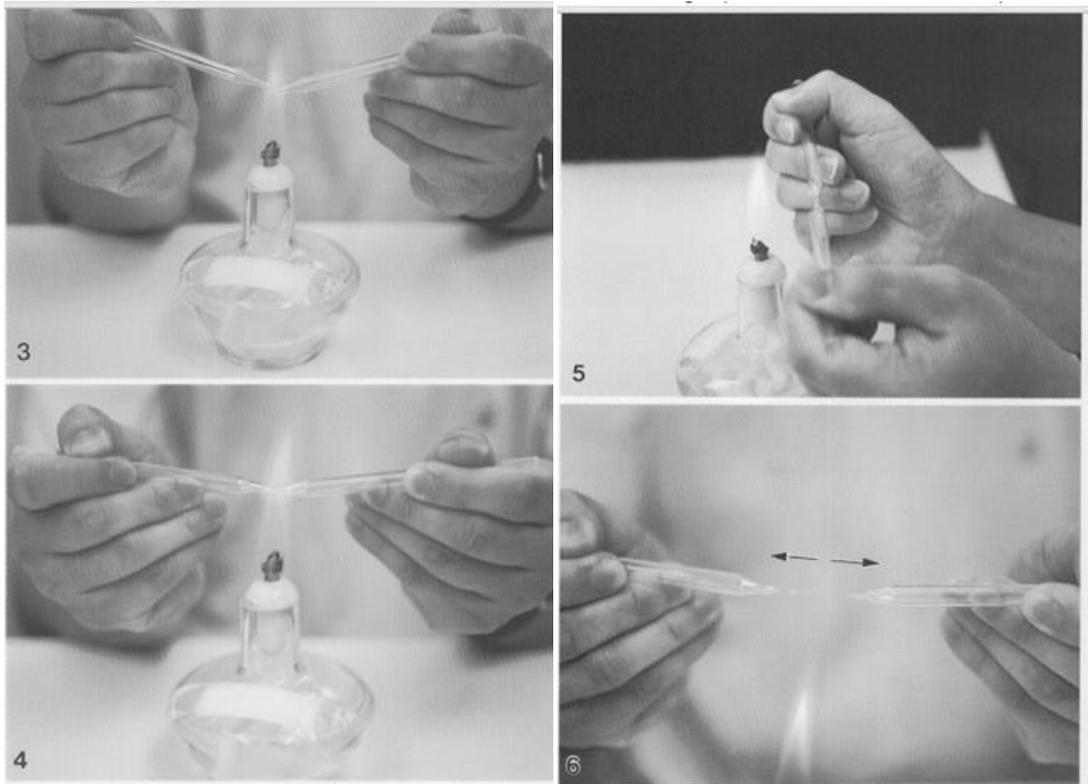
Zerba, M. (2011). *Control biológico*. Recuperado el 28 de febrero de 2016, de Centro Científico Tecnológico Mendoza: www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/ContrBiol.htm

2.10 ANEXO

2.10.1 Agujas de Cristal

Para la realización de las agujas de Cristal se utilizara la metodología de Goh, las cuales son agujas hechas a mano que son utilizadas para el aislamiento de esporas individuales, para ello se necesitan pipetas Pasteur de vidrio.

Para realizar aguja de cristal se necesitan calentar dos agujas punta con punta para fundirlas, al momento de quemarlas y se inicie el procedimiento de fundición se separan las pipetas para formar las puntas (Ver figura 15).

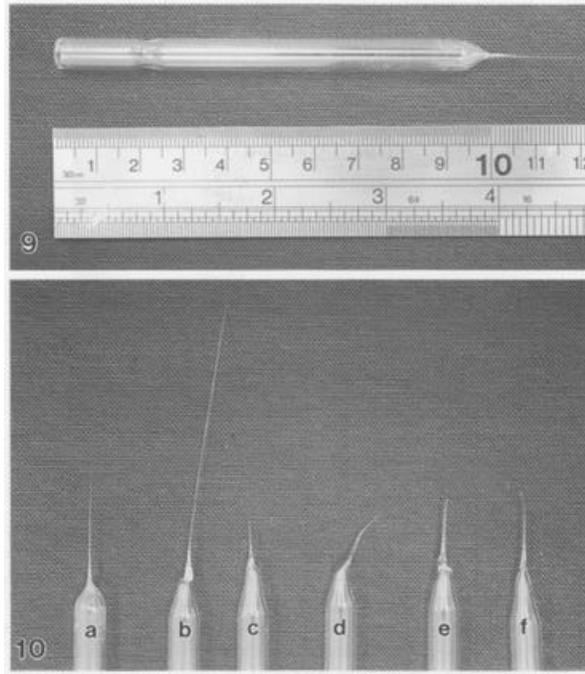


Fuente: Goh, T. 1999

Figura 19A: Procedimiento para la elaboración de Agujas de Cristal.

En la figura 15A se puede observar la metodológica de la preparación de agujas de cristal en la cual se unen las pipetas Pasteur o varillas de vidrio y se calientan en un mechero, tomando en cuenta que la llama para la quema del vidrio es el ápice. (Goh, T. 1999)

En la figura 16A se presentan el largo ideal de la aguja, además se puede observar los diferentes largos los cuales no son recomendables para usarlos.



Fuente: Goh, T. 1999

**Figura 20: Aguja ideal (a), aguja muy larga (b), aguja muy corta (c)
Torcida (d), presentan gancho y puede dañar el medio (e,f).**

Cuadro 10A. Toma de datos del Índice de Velocidad de Crecimiento Micelial (IVCM)

		23-feb	02-mar	09-mar	16-mar						
Tratamiento	Repetición	Día 15	Día 22	Día 29	Día 36	0-P	P-S	S-T	T-C	Sumatoria	IVCM
PDA	1	6.286	9.475	11.054	12.612	6.29	3.19	1.58	1.56	12.61	0.35
	2	6.507	10.243	11.4	13.298	6.51	3.74	1.16	1.90	13.30	0.37
	3	7.125	9.746	11.016	12.907	7.13	2.62	1.27	1.89	12.91	0.36
	4	7.462	10.468	11.053	11.693	7.46	3.01	0.59	0.64	11.69	0.32
V8	1	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	3	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
V8PDA	1	2.242	4.111	6.748	10.271	2.24	1.87	2.64	3.52	10.27	0.29
	2	0.564	2.345	4.752	8.062	0.56	1.78	2.41	3.31	8.06	0.22
	3	2.322	5.707	8.299	11.739	2.32	3.39	2.59	3.44	11.74	0.33
	4	1.913	5.025	8.336	9.771	1.91	3.11	3.31	1.44	9.77	0.27
MAE	1	4.014	8.637	13.469	17.17	4.01	4.62	4.83	3.70	17.17	0.48
	2	1.622	5.864	10.843	15.813	1.62	4.24	4.98	4.97	15.81	0.44

	3	1.845	5.156	8.811	13.362	1.85	3.31	3.66	4.55	13.36	0.37
	4	2.465	6.579	9.571	13.384	2.47	4.11	2.99	3.81	13.38	0.37

Fuente: elaboración propia, 2015.

Cuadro 11A. Datos de formación de picnidios de *Sphaerellopsis filum*

		23-feb	02-mar	09-mar	16-mar
Tratamiento	Repetición	Día 15	Día 22	Día 29	Día 36
PDA	1	0	1	1	1
	2	0	1	1	1
	3	1	1	1	1
	4	1	1	1	1
V8 PDA	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1
	3	1	1	1	1
	4	0	0	1	1
V8	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
MAE	1	0	0	0	1
	2	0	0	0	1
	3	0	0	1	1
	4	0	0	1	1
NOTA: 1 PRESENTE; 0 AUSENTE					

Fuente: elaboración propia, 2015.

Cuadro 8A. Costos de medios de cultivo

Medio de cultivo		Precio/ 250 ml
Extracto de Malta		Q 40.04
Papa dextrosa agar		Q 11.00
V8 agar		Q25.48
Insumo	Costo	
V8	Q 0.43	
Agar –agar	Q24.00	
Sucrosa	Q 1.05	
V8+PDA		Q 25.84
Insumo	Costo	
V8	Q0.43	
PDA	Q1.41	
Agar – agar	Q24.00	

Fuente: elaboración propia, 2015

2.11 GLOSARIO

Basidiospora	espora formada en la superficie del basidio o esporangio de los basidiomicetes.
Biplots	permiten visualizar observaciones y variables en un mismo espacio, así es posible identificar asociaciones entre observaciones, entre variables y entre variables y observaciones.
Cepa	variante genotípica de una especie o incluso, de un taxón inferior usualmente propagada clonalmente debido al interés de las conservaciones de sus cualidades definitorias.
Cirros:	Masa de esporas con forma de cinta o zarcillo.
Conidio	esporas producidas asexualmente.
Conidiomas	cuerpos de fructificación asexual
Micelio	agregación de hifas de un hongo.
Picnidios:	Cuerpos fructíferos que poseen una abertura por la que liberan los conidios producidos en su interior.
Teleomórfico	Fase ascógena, perfecta o sexual en los ascomicetos, en al que se producen ascas.

- Teliospora** espora de resistencia, de pared gruesa, propia de las royas (hongos uredinales) y de los carbones (hongos ustilaginales), en la cual tienen lugar la cariogamia originando posteriormente los basidios.
- Uredosoros** En las royas (*uredinales*), pequeña herida alargada de color rojo – pardusco producida en la epidermis foliar de la planta parasitada y donde se forman uredosporas
- Uredosporas** es una espora unicelular, binucleada, pedunculada o no, de forma más o menos oval y con superficie ornamentada con finas espinas que se forma en los uredosoros, esto en las royas (Uredinales).



3. CAPÍTULO III

Informe de Servicio actualización y remozamiento de la Tabla de Identificación Simplificada de Bacterias Fitopatógenos según Koji Nishiyama (1978)

3.1 ANTECEDENTES

El Centro de Diagnóstico Parasitológico (CDP) de la Facultad de Agronomía es un laboratorio creado para brindar asistencia a la sociedad civil, tanto a entidades públicas como privadas, con el fin de contribuir al desarrollo agrícola del país, brindando diversos servicios tanto de laboratorio como investigación y asesorías agrícolas.

Cuenta con servicios de análisis fitopatológicos, bacteriológico, Nematológico, entomológico, entre otros. El objetivo de remozar y actualizar la tabla de clasificación de bacterias fitopatógenos es facilitar el diagnóstico de las muestras ingresadas.

El procedimiento de identificación de bacterias se llevó a cabo mediante un diagnóstico rápido de las bacterias fitopatógenos basados en la metodología propuesta por Koji Nishiyama (1978). Aunque se han realizado varios cambios en la nomenclatura. En la clasificación se le realizaron modificaciones para facilitar la identificación apoyada con la referencias del libro por N.W Schaad "Laboratory guide for identification of Plant pathogenic bacteria" 2nd edition (1988) y 3rd edition (2000).

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 General

- Facilitar el diagnóstico de bacterias fitopatógenas en el Centro de Diagnóstico

3.2.2 Específico

- Mejorar la visualización de la tabla de clasificación de bacterias fitopatológicas
- Actualizar la clasificación de bacterias fitopatógenas según Koji Nishiyama (1978).

3.3 METODOLOGÍA

Para la actualización de la clasificación de bacterias fitopatógenos basados en la metodología propuestas por Koji Nishiyama (1978), se realizó un diagrama para facilitar su identificación. Sin embargo han hecho varios cambios en la nomenclatura de bacterias.

En el Centro de Diagnóstico Parasitológico ya se contaba con una tabla de clasificación la cual tenía varios años de no se encontraba actualizada y con aspecto deteriorado.

Se procedió a realizar búsqueda de datos recientes del procedimiento simplificado para identificación de bacterias fitopatógenos por Koji Nishiyama, además de mejorar aspecto de la tabla y a la vez del Centro de Diagnóstico Parasitológico.



Figura 22: Actualización de tabla de Bacterias Fitopatógenos

Se realizó una manta vinílica con ello se garantiza que la tabla se mantenga visible y pueda ser accesible tanto para el Centro de Diagnóstico como para los visitantes del laboratorio.

Para utilizar la tabla de clasificación de bacterias es necesario seguir los procedimientos, además se debe tomar en cuenta si la bacteria analizada es fitopatógenos y si ha sido reportada. Cuando la patogenicidad no es confirmada o la bacteria es una nueva especie, no se puede aplicar este procedimiento. Es necesario investigar según el método designado y comprobar el resultado.

El esquema se debe seguir adecuadamente siempre de arriba hacia abajo y nunca se debe de omitir ninguna prueba porque al realizar lo contrario se puede llegar a un resultado erróneo.

Es de recordar que al momento de realizar las pruebas siempre se debe utilizar el cultivo de bacterias joven (24 – 48 horas de incubación), y se debe tener un buen manejo con la asepsia ya que esto también puede alterar los resultados.

3.5 CONCLUSIONES

- Con la actualización y la nueva apariencia de la tabla se mejora la visualización del Centro de Diagnóstico y a la vez facilitará el diagnóstico de bacterias fitopatógenos.
- Se realizó una búsqueda minuciosa de la información proporcionada por Koji Nishiyama en la clasificación simplificada de bacterias fitopatógenos y con ello estar actualizados con la información en el CDP.

3.6 RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar mantenimiento semanalmente a la tabla de clasificación bacteriológica para su adecuada conservación y así garantizar un mayor tiempo de vida útil de la misma.

3.7 Bibliografía

Arai, N. (2001). *Procedimiento simplificado para la identificación de bacterias fitopatógenas*. Guatemala: USAC, Facultad de Agronomía.

Schaad, N. W., & Jones, J. B. (s.f.). *Plant pathogenic bacteria*. Minnesota, US: The American Phytopathological Society.

