

Universidad Internacional SEK
Facultad de Ciencias Ambientales
Carrera de Ingeniería Ambiental

Tesis de Grado previa a la obtención del título de Ingeniera Ambiental

**Evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que
causa la lancha en hojas de Papa**

Autora: Andrea Rodríguez Moscoso
Directora: Alma Koch Kaiser

Quito – Ecuador
2004

**Evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al
hongo que causa la lancha en hojas de Papa.**

Andrea Rodríguez Moscoso - 2004

**Dedico a la gente que ha estado cerca de mí en los momentos buenos y los más difíciles
a Dios, a la Vida, a mi Familia y a Orlando.**

**Agradezco a Alma Koch, por su apoyo en la realización de esta investigación,
al Ing. José Ochoa y al Centro Internacional de la papa por
su colaboración en el estudio.**

**De igual forma agradezco a todas las personas que me ayudaron
durante el curso de mi carrera entre ellas; Ing. Katty Coral, Sandra Moscoso,
Susana Moscoso, Jennifer Rodríguez y Orlando Pavón.**

**Y un especial agradecimiento a mis Padres por el apoyo constante
y la fuerza que me han dado para seguir adelante
en todo lo que me he propuesto.**

ÍNDICE

	Pág.
Resumen.....	1
Abstract.....	2
CAPÍTULO 1	
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPÍTULO 2	
MARCO TEÓRICO	
2.1 <u><i>Phytophthora Infestans</i></u>	6
2.1.1 <i>Phytophthora infestans</i> en Ecuador.....	7
2.1.2 Distribución Geográfica.....	8
2.1.3 Clasificación Taxonómica.....	9
2.1.4 Epidemiología.....	9
2.1.5 Ciclo de la Enfermedad.....	10
2.1.6 Síntomas.....	11
2.1.6.1 En el follaje.....	11
2.1.6.2 En el tallo.....	12
2.1.6.3 En los tubérculos.....	12
2.1.7 Control de la Enfermedad.....	12
2.1.7.1 Control Cultural.....	13
2.1.7.2 Control Químico.....	14
2.1.7.2.1 Problemática del Control Químico.....	14
2.1.7.3 Lancha y Control Biológico.....	15

2.2 <u>Pseudomonas</u>	17
2.2.1 Características Generales	17
2.2.2 Requerimientos Nutricionales y Condiciones	
Físicas para su crecimiento	18
2.3 Antagonismo Bacteriano	18

CAPÍTULO 3

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 <u>Materiales, Procedimientos y Métodos</u>	20
3.1.1 Materiales	20
3.1.2 Procedimientos: Métodos de Ensayo	21
a) Preparación Agar- Centeno	21
b) Cultivo de la bacteria <i>Pseudomonas fluorescens</i> y el patógeno <i>P. infestans</i>	21
c) Preparación de la Suspensión de zoosporangios	22
d) Preparación de la Suspensión de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	22
e) Pruebas de Antagonismo	22
3.1.3 Datos Experimentales	26
3.1.4 Cálculos, Resultados y Discusión	31

CAPÍTULO 4

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones	35
4.2 Recomendaciones	35

CAPÍTULO 5

BIBLIOGRAFÍA	37
---------------------	-----------

PARTE COMPLEMENTARIA

Glosario.	42
Anexos.....	45

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
CUADRO 1.	
Relaciones entre antagonistas y patógenos de papa y su probable mecanismo de acción.	16
CUADRO 2.	
Esquema del análisis de la varianza en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.	25
CUADRO 3.	
Tratamiento 1. Variación en mm² del área de lesión por <i>Phytophthora infestans</i> en hojas de papa de la variedad Gabriela, tomados por día en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.	27
CUADRO 4.	
Tratamiento 2. Variación en mm² del área de lesión por <i>Phytophthora infestans</i> y <i>Pseudomonas fluorescens</i> cepa 2 (testigo) en hojas de papa de la variedad Gabriela tomados por día en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.	28
CUADRO 5(a).	
Tratamiento 3. Variación en mm² del área de lesión por <i>Phytophthora infestans</i> y <i>Pseudomonas fluorescens</i> cepa 1 (parásita) en hojas de papa de la variedad Gabriela tomados por día en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.	29

CUADRO 5(b).	Tratamiento 3. Variación en mm² del área de lesión por <i>Phytophthora infestans</i> y <i>Pseudomonas fluorescens</i> cepa 1 (parásita) en hojas de papa de la variedad Gabriela tomados por día en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.	30
CUADRO 6.	Promedio del área de lesión en mm² a los 7 días de medición en los tres tratamientos en hojas de papa de la variedad Gabriela en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.	31
CUADRO 7.	Análisis de la varianza para la variable tasa de crecimiento de la lesión de los tres tratamientos en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.	32
CUADRO 8.	Prueba de Tukey al 5% y rangos de significancia para los promedios de tasa de crecimiento de la lesión de los tres tratamientos en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1.	
Esquema de inoculación del patógeno <i>Phytophthora infestans</i> en hojas de papa de la variedad Gabriela en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.	23
Figura 2.	
Esquema de la medición del crecimiento de la lesión en hojas de papa de la variedad Gabriela en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.	26
Figura 3.	
Área de lesión en mm ² a los 7 días de medición en cada Tratamiento, en hojas de papa variedad Gabriela en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.	31

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1.	
Cultivo de las bacterias <i>Pseudomonas fluorescens</i> cepa 1 (parásita) y cepa 2 (testigo). Fotos tomadas en el laboratorio de la Universidad Internacional Sek.	45
ANEXO 2.	
Cultivo del patógeno <i>Phytophthora infestans</i>. Fotos tomadas en el laboratorio de la Universidad Internacional Sek.	46
ANEXO 3.	
Incubación de hojas de papa de la variedad Gabriela inoculadas con <i>Phytophthora infestans</i>. Fotos tomadas en el laboratorio de la Universidad Internacional Sek.	47
ANEXO 4.	
Hojas de papa de la variedad Gabriela inoculadas con <i>Phytophthora infestans</i>, presentando lesión. Fotos tomadas en el laboratorio de la Universidad Internacional Sek.	48

Resumen.

El estudio se realizó en los laboratorios de la Universidad Internacional SEK en la facultad de Ciencias Ambientales, con el objeto de determinar si la cepa de *Pseudomonas fluorescens* identificada como parásita de *Phytophthora infestans* presenta potencial como controlador biológico.

Se realizaron tres tratamientos con la metodología establecida en el Centro Internacional de la Papa.

El tratamiento 1 se lo realizó con suspensiones de zoosporangios de *Phytophthora infestans*, en el tratamiento 2 se utilizó *Pseudomonas fluorescens* cepa 2 (testigo) frente a *Phytophthora infestans*, y el tratamiento 3 se inoculó *Pseudomonas fluorescens* cepa 1 (parásita) frente a *Phytophthora infestans*.

Con los datos obtenidos se realizó el análisis de Tukey al 5% y un análisis del área de lesión, utilizando datos tomados hasta los 7 días en mm².

De estos análisis se determinó que la cepa 1 de *Pseudomonas fluorescens* identificada como parásita no presentó capacidad antagonista eficiente frente a *Phytophthora infestans*.

Descriptores: Antagonista, parásita, *Phytophthora infestans*, *Pseudomonas*, control biológico, fungicidas.

Abstract.

The study took place at the SEK International University laboratories at the college of environmental sciences, with the objective to determine if the strain of the *Pseudomonas fluorescens* identified as a parasite of the *Phytophthora infestans* presents potential as a biological controlling agent.

Three treatments took place with the methodology established at the International Centre of the potato.

The first treatment took place with the suspension of *Phytophthora infestans*, in the second treatment, we used *Pseudomonas fluorescens* strain 2 (control) in front of *Phytophthora infestans*, and in the last one treatment were inoculate with *Pseudomonas fluorescens* strain 2 (parasitic) was placed with *Phytophthora infestans*.

According to the data obtained, we analyzed with tukey at 5% and an analysis of the area of the lesion, using data obtained at mm² from up to 7 days.

With the data of each analysis , it was determined that strain 1 of *Pseudomonas fluorescens* identified as a parasite did not show efficient antagonism capacity in front of *Phytophthora infestans*.

Key words: Antagonist, parasite, *Phytophthora infestans*, *Pseudomonas*, biological control, fungicides.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La papa es uno de los productos más importantes del país y, sin duda uno de los de mayor significación en la alimentación mundial, ya que junto a la yuca y al camote, contribuye a satisfacer los requerimientos energéticos de más de dos millones de personas (Oyarzún, *et al.*, 2000).

La papa es originaria de los Andes, posee una impresionante diversidad genética, de formas, colores y aptitudes. Su gran capacidad de adaptación ecológica le ha permitido diseminarse por todo el mundo: desde zonas desérticas a climas húmedos; desde zonas altas a regiones costeras y desde el trópico a las regiones próximas a los polos. Actualmente, es, sin duda, uno de los productos de mayor significación en la alimentación mundial. Aunque es importante en la agricultura de muchos países ricos, la papa constituye una fuente importante de empleo e ingresos en zonas rurales, a menudo marginales de los países en desarrollo (Oyarzún, *et al.*, 2000).

En Ecuador, el número de familias dedicadas a la producción de papa es de aproximadamente 42.000. No hay un consenso sobre la productividad en el país. De las 66.000 hectáreas dedicadas a la papa, el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEN) reporta una producción promedio de 480.000 toneladas y un rendimiento por hectárea de 7.7 toneladas. Sin embargo, estudios realizados por el INIAP revelan un rendimiento promedio de 14 t/ha. Con un valor total bruto de 60 millones de dólares anuales, la papa es una importante fuente de ingresos para las comunidades rurales y su componente fundamental de la economía nacional (Andrade *et al.*, en Pumisacho y Sherwood, 2002).

El principal problema sanitario de este cultivo es la enfermedad conocida como tizón tardío o lancha, producida por el hongo *Phytophthora infestans*, la cual puede ocasionar pérdidas que varían del 28% al 100% dependiendo de la variedad de papa y de la época de infección (Morales, 1994). Ataca tubérculos y follaje en cualquier estado de desarrollo. Con temperaturas cercanas a 20°C y una humedad relativa superior a 95% el hongo penetra la epidermis de los

tejidos en ocho horas, en las que debe haber un mínimo de dos horas con una película de agua libre (lluvia o rocío). En condiciones óptimas, en tres días puede completarse un ciclo de la enfermedad. Generalmente la enfermedad se presenta entre los 2800 y los 3400 msnm (Oyarzún *et al.*, en Pumisacho y Sherwood, 2002).

El ingreso en el país, establecido en 1993, de una nueva población de *P. infestans* renovó el interés por estudiar este hongo fitopatógeno (Escobar, 1994; Programa Nacional de Raíces y Tubérculos-Papa- FORTIPAPA-INIAP, 1995, Forbes *et al.*, 1997). Desde entonces, la estructura poblacional del hongo ha sido objeto de varios estudios por parte de los investigadores del CIP y del INIAP.

Los fungicidas han sido la principal herramienta para el control del tizón tardío aunque estos pierden poco a poco su eficacia debido a que el patógeno aumenta su resistencia necesitando dosis cada vez mayores que van acompañados de riesgos para la salud y el medio ambiente. Como en muchos otros países, está creciendo una preocupación generalizada sobre los impactos del uso de agroquímicos en el ambiente y en la salud. Pruebas de residuos en verduras frescas en el Ecuador demostraron la existencia de niveles superiores a los recomendados por la guía de seguridad alimentaria de la FAO-OMS y por el Código Alimentario (Crissman, 1998b).

Existe una ignorancia generalizada sobre el uso de implementos de protección personal entre los agricultores y trabajadores agrícolas. Con el uso de bombas de mochila (en comparación con las fumigaciones realizadas utilizando tractores o las aplicaciones aéreas en los países desarrollados), estos grupos tienen mucha probabilidad de estar en riesgo por la exposición excesiva sin fungicidas la mayoría de agricultores sufrirían graves pérdidas en los rendimientos (Crissman, 1998b).

La salud humana es perjudicada cuando se efectúan las curas directas, puesto que los productos químicos penetran en la ropa o por el contacto directo con la piel y por el gas que desprende algunos de ellos, afectando también al aparato respiratorio. Contaminan las aguas naturales debido a lluvias o riegos que arrastran estos productos acaban en los ríos, lagos, aguas

subterráneas y mares contaminándolos. Los envenenamientos agudos causan la pérdida de trabajo y considerables costos privados para el tratamiento de la salud. La dermatitis crónica puede reducir la capacidad de trabajo, así como reducir sustancialmente la calidad de vida. Los daños crónicos al sistema nervioso central, pueden menoscabar la capacidad para la toma de decisiones del agricultor y del trabajador agrícola. Ambas cosas pueden reducir la productividad (Crissman, *et al.*, 1994).

Los costos de protección de los cultivos están entre los diez y veinticinco millones de dólares anuales en el país. En las condiciones actuales del Ecuador, los fungicidas son muy costosos y por ello su uso y aplicación es ineficiente. Aparte del costo económico que implica la utilización de fungicidas, esta situación afecta directamente la salud del productor y de su medio ambiente por la sobre utilización que se les da (Crissman, 1998a). El control biológico dentro del manejo integrado de la enfermedad considerado junto a otras medidas de control constituiría una alternativa prometedora por su bajo impacto ambiental (Oyarzún *et al.*, en Pumisacho y Sherwood, 2002)

Objetivo:

- Determinar si la cepa 1 de la especie *Pseudomonas fluorescens* aislada como parásita de *Phytophthora infestans* en el Laboratorio de Sanidad Vegetal del INIAP por el Ing. José Ochoa presenta potencial como antagonista del hongo en hojas de papa.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 *Phytophthora infestans*.

Phytophthora Infestans (Mont) De Bary es el patógeno que causa el tizón tardío o lancha en la papa. El nombre de *Phytophthora Infestans* se deriva de dos voces griegas: Phyto = planta y phthora = destructor, por lo que *Phytophthora* significa destructor de plantas (Henfling, 1980).

El tizón tardío de la papa (*Solanum tuberosum* L.) causado por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary es la más devastadora de las enfermedades de plantas reportadas en la historia de la humanidad (Abad y Abad,1995). Está presente en todas las área paperas del mundo y es la enfermedad considerada como la más importante del cultivo de papa, porque si los campos no están protegidos adecuadamente con aplicaciones planificadas de fungicidas y por otra parte, las condiciones ambientales, son al mismo tiempo óptimas para el desarrollo del patógeno, los sembríos de papa pueden ser destruidos en 10 a 15 días (Henfling, 1980).

Existen dos teorías que explican el centro de origen de *P. infestans* descritas a continuación:

- a) **México, centro de origen.** Reddick (1928) encontró plantas de la especie de papa *Solanum antivoczi* afectadas con lancha en una localidad situada 59 km de la ciudad de México. Basándose en este hecho de que la enfermedad se encontraba en forma natural en especies silvestres. Reddick en 1932, reportó que la enfermedad se encuentra en esa área desde tiempos muy remotos y por lo tanto en 1939, postuló que el centro de origen era México. Esta tesis es apoyada porque en México se encontró por primera vez la fase sexual y porque los grupos de apareamiento A1 y A2 se encuentran en proporción de 1 a 1. La forma de luchar contra esta plaga ha consistido en la utilización conjunta de fungicidas y de medios biológicos (utilización de variedades del tubérculo más resistentes). Pero a principios de los años ochenta se comprobó que estaban aumentando

mucho en Europa las pérdidas agrícolas relacionadas con *P. infestans*, al tiempo que se descubrían nuevas cepas formadas por hongos de los dos tipos (Reddick, 1939).

- b) Los Andes del Perú.** Abad *et al.*, en 1995, argumentaron que la racha o tizón tardío estuvo presente en los países de la región andina, mucho antes de 1845. Ellos refieren que la enfermedad fue descrita en Perú, Bolivia y Colombia en manuscritos o informes publicados en años anteriores a 1845. Otras evidencias científicas, como la resistencia encontrada en variedades nativas y en especies silvestres de papa, resistencia en especies silvestres de tomate; amplio rango de hospedantes entre los cuales se encuentran muchas especies silvestres de papa infectadas naturalmente en su hábitat, así como también de tomate y una diversidad de marcadores moleculares similares a los encontrados en las poblaciones de EUA y Europa, son evidencias, para afirmar que el centro de origen de *Phytophthora infestans* son los Andes del Perú.

2.1.1 *Phytophthora infestans* en el Ecuador.

En la Sierra Ecuatoriana se cultivan aproximadamente entre 55 000 y 60 000 ha, de papa (Andrade y Oyarzún, 1999). Su principal limitante biótica en los rendimientos de papa es el tizón tardío. (Crissman *et al.*, 1998b; Programan Nacional de Raíces y Tubérculos- Papa-FORTIPAPA- INIAP, 1996; Uquillas *et al.*, 1992).

El tizón tardío es sin duda la enfermedad que más seriamente afecta al cultivo de papa en el país y, por consiguiente, la de mayor riesgo. Es por eso que tiene mayor peso en el costo de protección (Oyarzún *et al.*, en Pumisacho y Sherwood, 2002).

La reproducción sexual del patógeno hace posible la formación de oosporas. Estas pueden sobrevivir por varios años e infectar la planta desde el suelo. Sin embargo, la forma más general de reproducción del patógeno es vegetativa. En otros países del continente han aparecido formas sexualmente compatibles. Aunque recientemente se han detectado formas sexualmente compatibles del hongo en el Ecuador, hasta la fecha éstas parecen no tener significación epidemiológica para la papa (Oyarzún *et al.*, en Pumisacho y Sherwood, 2002).

La continua presencia de epidemias en distintos estadios de desarrollo genera una presión alta y constante de “lancha” nombre con el que se conoce en Ecuador, por lo que el cultivo es expuesto al inóculo inmediatamente después de la emergencia. Como una forma de escape a la enfermedad, un porcentaje de campesinos especialmente en el sur del callejón interandino, hace coincidir su cultivo con la época seca por lo que su producción es más baja que el promedio nacional ya que solo un 25% de los productores disponían de riego en 1993 (Oyarzún *et al.*, 2001)

2.1.2 Distribución Geográfica.

P. infestans causa serias pérdidas de cosechas de papa por todo el mundo y es probablemente el patógeno más importante de la papa y el tomate hoy en día. Es un patógeno filamentoso que causa el tizón tardío de papas y del tomate (Stephen, 1997).

Un acontecimiento bien conocido del tizón tardío en los cultivos de papa fue la causa del hambre irlandesa en el 1840's que dio lugar a cerca de un millón muertes y la emigración cerca de 1,5 millones de personas de a otras partes del mundo, particularmente los Estados Unidos incluso ahora, las pérdidas y los costes anuales del fungicida asciende alrededor a los \$3 mil millones a través del mundo. El tizón tardío de la papa es más mortal cuando el ambiente está mojado y húmedo, ya que favorece la difusión y la germinación de las esporas el patógeno. El ápice apical, las flores, y los tallos jóvenes son muy susceptibles. Las secciones grandes de la planta se descomponen y las plantas mueren eventual (Niklaus, 2002).

El tizón tardío de la papa ha sido un problema por más de 150 años, y muchos acercamientos se han desarrollado para controlarlo. Una táctica inicial es eliminar el patógeno del agro ecosistema de papa y tomate. El segundo interés de la investigación es utilizando los cultivos que tienen resistencia durable al patógeno (Niklaus, 2002).

2.1.3 Clasificación Taxonómica.

Dick (1995), señala la siguiente clasificación:

REINO: Cromista
DIVISION: Herokonta
PHYLUM: Oomycota
CLASE: Heteromycotina
SUBCLASE: Saprolegniomycetidae
ORDEN: Pythiaceae
GENERO: *Phytophthora*
ESPECIE: *infestans*
N.C: *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary.

2.1.4 Epidemiología.

El desarrollo de la enfermedad ocurre en períodos húmedos, después de lluvias abundantes, con humedad relativa superior a 90% y con temperaturas promedio entre 15 y 20°C. En condiciones favorables, los esporangios del agente causal son dispersados por el viento o las zooporas son arrastradas por el agua de riego o por el salpicado producido por las gotas de lluvia, para tomar contacto con nuevos tubérculos en el suelo, los que desarrollarán la enfermedad en bodegas o en campos sembrados con tubérculos infectados. Cuando los esporangios llegan a un campo de cultivo de papa, se posan y establecen en las hojas y/o en el lugar de inserción de la hoja con el tallo. Generalmente la infección en las hojas se produce en el ápice y en los bordes de los foliolos, donde casi siempre existe una película de agua. Dependiendo de la presión de inóculo existente en una zona, los puntos de infección pueden variar entre uno y veinte. Una mañana lluviosa y una tarde de sol crean un ambiente adecuado para el desarrollo de la lancha (Henfling, 1980).

2.1.5 Ciclo de la enfermedad.

Los esporangios sólo se forman cuando la humedad relativa dentro del follaje es superior a 95% y cuando la temperatura está alrededor de 21°C. Para la producción liberación y penetración de zoosporas se requieren ocho horas de alta humedad y es necesario que exista agua libre (rocío, lluvia) en la superficie de las hojas durante un mínimo de dos horas. Posteriormente se inicia el proceso de penetración que puede ser directa o a través de los estomas, el micelio coloniza el tejido inter e intra celularmente, luego emergen a través de los estomas esporangióforos cargados de innumerables esporangios que son liberados con el viento. Bajo condiciones ambientales favorables el hongo se mantiene vivo en tejidos hospedantes a temperaturas entre 0 y 28°C (Anon, 2001).

El patógeno sobrevive de una campaña a otra, por medio del micelio presente en los tubérculos infectados que han sido eliminado y/o abandonados en el campo o que no fueron cosechados por el agricultor porque el campo fue destruido por la enfermedad. El micelio presente en los tubérculos infectados bajo condiciones ambientales favorables, produce esporangios, los cuales se diseminan por el aire o por la neblina a otros campos de papa en desarrollo. Cuando se almacenan tubérculos infectados (aparentemente sanos) junto con tubérculos cosechados en días lluviosos, el patógeno inicia su desarrollo y produce esporangios que pueden infectar los tejidos suculentos de los tubérculos sanos. Los esporangios que se incrementan bajo estas condiciones son llevados por el aire y diseminados hacia los campos de papa en desarrollo (Henfling, 1980).

Si el agricultor siembra tubérculos infectados (aparentemente sanos), el micelio del patógeno que se encuentra en el interior de los tubérculos, paralelamente al crecimiento de las plantas, invade el interior de los tallos. En este caso, aún cuando las condiciones ambientales no sean favorables para el desarrollo del patógeno, los síntomas se observan en algunas plantas dentro de un campo de cultivo y se presentan solamente en uno o algunos tallos de una planta. El patógeno se incrementa en las plantas infectadas, luego invade plantas del mismo campo y posteriormente, constituyen un foco de infección para otros campos de cultivo (Henfling, 1980).

2.1.6 Síntomas.

La lancha afecta a las hojas, tallos y tubérculos de la planta de papa (Thurston y Schultz, 1981). Inicialmente la infección por *P. infestans* se manifiesta en pequeñas manchas amarillas o verde oscuras de forma irregular que se expanden rápidamente, formando grandes lesiones necróticas de color café oscuro. Las infecciones al tallo son las más graves porque pueden acabar rápidamente con la planta. Es común observar un halo que va del amarillo al verde claro alrededor de la zona necrótica de la lesión. Cuando hay suficiente humedad en el envés de la hoja ocurre un crecimiento fungoso blanco de esporangios y esporangioforos en los límites de la lesión. En variedades muy susceptibles se desarrolla micelio y esporangios en tejidos aparentemente sin síntomas. Las lesiones se desarrollan cerca de los bordes donde el rocío se detiene y las manchas que antes eran amarillas o cafés se tornan amarillas o negras con aspecto grasoso (Orr *et al*, 1997).

En el campo las plantas infectadas despiden un olor característico muy similar al que provoca la quema química o una helada, como resultado de la muerte rápida y descomposición bacteriana del tejido. Para identificar al *P. infestans* es necesario confirmar la presencia de esporangios a través de la observación directa o luego de un periodo de incubación del tejido enfermo en cámara húmeda (Oyarzún *et al.*, en Pumisacho y Sherwood, 2002).

En los países andinos del sur el tizón comúnmente afecta el tubérculo en el suelo, causando una pudrición seca de color café oscuro. La infección de tubérculos no es usual en el Ecuador, probablemente debido al alto contenido de aluminio en los suelos andisoles y la práctica de altos aporques (Oyarzún *et al.*, en Pumisacho y Sherwood, 2002).

2.1.6.1 En el follaje.

Aparecen lesiones necróticas de color café con aspecto irregular las que comprometen rápidamente los folíolos provocando un aspecto de quemado en la superficie. En condiciones de alta humedad ambiental, aparece un halo blanquecino en el borde de la mancha que

ocasionalmente toma una tonalidad púrpura, especialmente en el envés de las hojas (Anon, 2001).

2.1.6.2 En tallo.

Las infecciones del tallo son las más graves porque pueden acabar rápidamente con la planta. Los tallos de papa afectados por tizón tardío se tornan frágiles y quebradizos, aparecen manchas pardas que se van agrandando y que suelen rodearlo. Afecta a frutos inmaduros, manifestándose como grandes manchas pardas de contorno irregular. Las infecciones suelen producirse a partir del cáliz, por lo que los síntomas cubren la mitad superior del fruto. La dispersión se realiza por lluvias y vientos, riegos por aspersión, rocíos y gotas de condensación (Strömberg A, 1995).

2.1.6.3 En los tubérculos.

En la parte externa de los tubérculos infectados se observan depresiones muy superficiales e irregulares, de tamaño variable y de consistencia dura. Al hacer un ligero raspado, debajo de la piel afectada el tejido es de color café. En los tubérculos afectados que aparentemente se muestran sanos al momento de almacenamiento, la enfermedad desarrolla lentamente y el patógeno esporula, sin embargo, los tubérculos infectados pueden destruirse completamente. Se desarrollan lesiones necróticas las que eventualmente pudren el tubérculo (Anon, 2001).

2.1.7 Control de la enfermedad.

El control de la lancha se realiza mediante un Manejo Integrado y éste es el uso adecuado de todas las formas de control que se conoce (Anon, 2001).

El Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades (MIP) es un método que involucra a todos los procedimientos aceptables económicos, ecológicos y toxicológicos, que permite mantener las poblaciones de organismos nocivos, por debajo del umbral económico, especialmente con base en factores naturales, los cuales limitan la propagación de dichos organismos (SESA-MAG *et al.*, 1996). Estos son:

2.1.7.1 Control cultural.

La práctica cultural es la primera línea de defensa contra esta enfermedad. Hay varias medidas definidas por Fry en 1978 a tomar como:

- Usar semillas de tubérculos sanos.
- Mantener cubiertos los tubérculos para protegerlos del contacto con las esporas del hongo.
- Cosechar los tubérculos maduros, cuando la piel ya no se desprende al frotarla.
- Iniciar la cosecha alrededor de 10 días después que el follaje se ha secado naturalmente. El tizón tardío no sobrevive en la vegetación muerta y los tubérculos expuestos en la recolección tienen menos probabilidades de ser infectados. Los tubérculos ya infectados tienen tiempo para desarrollar la pudrición, facilitando su descarte.
- Cuando la infección sobrepasa el 5% de la cosecha no se debe guardar las papas, siendo preferible consumirlas o procesarlas a la brevedad. Los tubérculos almacenados deben estar secos.
- Ninguna variedad cultivada es inmune al tizón tardío, pero algunas tienen resistencia parcial que permite controlar la enfermedad con un menor uso de fungicidas. Entre las variedades medianamente resistente están Cardinal, Ultimus, Romano y Yagana, y con mayor resistencia, Desiree.
- Mantener el pH del suelo entre 5 y 5,3 mediante aplicaciones de azufre reduce el desarrollo de esta enfermedad.
- Para el control cultural también se lleva a cabo lo que se denomina aporque, esta práctica se ejecuta manualmente o con el cultivador para arrimar tierra bajo la planta, esta a su vez proporciona un mayor sostén a la planta y favorece la formación de tubérculos, dentro del suelo. Esta práctica debe realizarse en forma oportuna antes de la floración para evitar daños al cultivo (Andrade, *et al.*, 1991).
- Otra práctica es el de *wachu rozado* que significa “camellón cortado”, y hoy en día es practicado por un 20% de agricultores de la provincia del Carchi y un menor porcentaje en Bolívar. El wachu rozado consiste en construir un camellón de chambas cortadas y viradas. De siete a quince días se siembra la semilla de papa colocándola entre las chambas, donde la semilla germina y las raíces crecen dentro de una cobertura vegetal en estado de

descomposición. Es un sistema tradicionalmente manual, que conserva la cobertura del suelo, previene la erosión y compactación del suelo (Sherwood, 1998).

2.1.7.2 Control químico.

Los fungicidas para el control del tizón tardío se dividen en dos grupos: protectantes o preventivos conocidos también de contacto, y los sistémicos conocidos también como curativos (Egan *et al.*, 1995).

Los fungicidas sistémicos son todos los productos químicos que al ser aplicados al follaje, ingresan a los tejidos de la planta. Tienen un efecto residual largo de 10 a 15 días y se traslocan dentro de la planta. Los fungicidas sistémicos actúan sobre la esporulación del patógeno, el crecimiento miceliano, la germinación de esporangios, la germinación y movilidad de zoosporas y la producción de esporangios y oosporas. El fungicida sistémico solo debe usarse hasta tres aplicaciones, luego se recomienda utilizar en forma alternada fungicidas de contacto (Egan *et al.*, 1995).

Los fungicidas de contacto son aquellos productos químicos que actúan en la superficie de las hojas (no ingresan al interior del tejido foliar), tienen efecto residual corto y para que sean eficientes deben cubrir toda la superficie foliar y eso no siempre se consigue en el campo, debido a una aplicación deficiente, lavado por la lluvia del producto aplicado. Dependiendo de las condiciones ambientales, las aplicaciones con estos productos pueden realizarse cada 3 a 7 días. Actúan inhibiendo el crecimiento miceliano y germinación de las zoosporas, inhibiendo la movilidad de las zoosporas como antiesporulantes para reducir la diseminación (Egan *et al.*, 1995).

2.1.7.2.1 Problemática del Control Químico.

En los Andes, la producción de papa constituye un esfuerzo riesgoso y de alto costo, que requiere muchos días de trabajo e insumos comprados. Las heladas, las sequías y la caída de granizo constituyen riesgos climáticos incontrolables, mientras que algunas plagas y

enfermedades si pueden ser controladas. Los insecticidas y fungicidas constituyen una parte clave de la actual tecnología de producción de la papa. La lancha tardía (*Phytophthora infestans*) es la enfermedad más importante de la papa en el mundo y en el Ecuador. Por cuanto no existe resistencia varietal efectiva contra esta enfermedad, los agricultores recurren a los fungicidas para proteger el cultivo. Sin fungicidas, la mayoría de agricultores en el sitio de estudio sufrirían graves pérdidas en los cultivos (Crissman, *et al.*, 1994).

La contaminación del medio ambiente es un problema por la utilización de estos productos químicos que dejan unas sustancias químicas residuales que suelen ser tóxicas. Tras el uso prolongado de los productos químicos se producen resistencias en las plagas las cuales es difícil de eliminarlas con un producto químico o con otros que tengan la misma materia activa (Dannaker, *et al.*, 1993).

2.1.7.3 Lancha y Control Biológico.

La utilización de microorganismos antagonistas es una alternativa para mejorar la nutrición y resistencia de las plantas así como disminuir la incidencia de enfermedades. La aplicación de antagonistas microbianos para el control biológico de fitopatógenos ha sido catalogada como un componente importante en el manejo integrado de las enfermedades de las plantas y como una alternativa viable a los pesticidas químicos (Falconí, 1997).

Una gran cantidad de microorganismos benéficos (parásitos, comensalistas, depredadores, competidores y promotores de crecimiento) han sido identificados, multiplicados y formulados para su uso comercial. Por ejemplo, existen al menos cinco productos comerciales basados en *Trichoderma spp.*, al menos dos en *Gliocladium spp.*, cuatro en *Bacillus subtilis* y una docena en *Pseudomonas fluorescens* y *P. siringae*, además de preparados para *Streptomyces griseoviridis* y *Agrobacterium*. No obstante su utilización para el manejo de enfermedades en papa no ha sido explotada mayormente. Para el manejo de enfermedades presentes en el suelo, el productor puede decidirse por dos tácticas: directamente, con la introducción de algún organismo benéfico, o indirectamente, modificando las condiciones del suelo a favor de los organismos antagónicos naturales, por ejemplo mediante aplicaciones de enmiendas orgánicas.

El problema central de los agentes biológicos (no de sus derivados) es que, como todo organismo vivo, necesitan de un ecosistema receptivo para realizar sus funciones. Por lo tanto, su uso requiere consideraciones específicas, tanto para el control de la enfermedad, como para la sobre vivencia de la antagonista (Oyarzún *et al.*, en Pumisacho y Sherwood, 2002).

En el Cuadro 1 se presenta varios antagonistas disponibles en el mercado.

Cuadro 1. Relaciones entre antagonistas y patógenos de papas y su probable mecanismo de acción.

Enfermedad	Organismo	Especie antagonista	Mecanismo de acción
Sarna común	<i>S. scabies</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>P. no-fluorescentes</i> <i>Enterobacter agglomerans</i> <i>Acinetobacter sp.</i>	Antibiosis Antibiosis Antibiosis Antibiosis
Rhizoctoniasis	<i>R. solani</i>	<i>Verticillium biguttatum</i> <i>Trichoderma sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>G. viridens</i> <i>Rhizoctonia binucleata</i> <i>Actinomyces sp.</i> <i>Enterobacter</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Hiperparasitismo Hiperparasitismo Hiperparasitismo Hiperparasitismo Competencia Competencia Antibiosis Antibiosis
Pie negro	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E. agglomerans</i> <i>Acinetobacter spp.</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas putida</i>	
Fusarium rot	<i>Fusarium spp.</i>	<i>Fusarium</i> no-patógeno <i>Pseudomonas spp. flourecentes.</i>	Competencia Protección cruzada. Promotoras de crecimiento
Sclerotinia	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>Coniothyrium minitans</i>	Hiperparasitismo
Lancha	<i>P. infestans</i>	<i>Scytalidium spp</i> <i>Scytalidium spp</i> <i>Bacillus subtilis IMP215</i> <i>Pseudomonas putida AR33</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichoderma harzianum</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>MT0062</i> <i>Streptomyces spp</i> <i>Phytophthora criptogea</i>	Hiperparasitismo Antibiosis Antibiosis Antibiosis Antibiosis Antibiosis Induce resistencia en planta (RSA) RSA RSA

Fuente: (Oyarzún *et al.*, en Pumisacho y Sherwood, 2002).

2.2 *Pseudomonas*.

Pseudomonas ssp. es un género de bacteria considerado, por la mayoría de investigadores, como uno de los agentes de control biológico más selectivos de enfermedades radiculares, especialmente las dos especies de bacterias fluorescentes: *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas putida*. Son bacterias fácilmente aislables, crecen sin dificultad en condiciones de laboratorio y son mutacionalmente versátiles, pueden ser caracterizados taxonómicamente sin dificultad. Son organismos residentes del suelo especialmente de la rizosfera. Se conoce además que son capaces de producir una variedad de antibióticos y sideróforos. Estas bacterias son hasta el momento las más promisorias para el control biológico de enfermedades de las plantas; varios aislados y metabolitos secundarios han empezado a ser patentados y comercializados especialmente para uso en el control en la pudrición de las raíces (Falconí, 1997).

2.2.1 Características generales.

Los miembros del género *Pseudomonas* pertenecen a un gran grupo de bacilos gram negativos aerobios, activamente móviles y no fermentadores. Las *Pseudomonas* son microorganismos fuertes de crecimiento rápido que pueden persistir en ambientes marginales. Estos organismos obtienen su energía de la oxidación de azúcares. Aun así, muchas cepas pueden crecer en forma anaerobia utilizando nitrato como un aceptor de electrones terminal. Las pseudomonas tienen requerimientos nutricionales mínimos ya que necesitan solo acetato y amoníaco como fuentes de carbono y nitrógeno. Estas simples necesidades son cubiertas por un gran número de compuestos orgánicos, de modo que crecen en los medios simples, incluyendo el agar nutritivo y los medios usados para las bacterias entéricas. El hecho de ser casi omnívoras las convierte en candidatos populares para usos industriales y ambientales como la eliminación de desechos tóxicos (Palleroni, 1984).

Pseudomonas fluorescens abarcan un grupo común de saprofitos no patógenos, que colonizan ambientes superficiales de suelo, agua y plantas. Como su nombre mismo lo dice, produce un

pigmento fluorescente soluble, verdoso que se presenta particularmente en condiciones de baja disponibilidad de hierro (Compeau, *et al.*, 1988).

2.2.2 Requerimientos nutricionales y condiciones físicas para su crecimiento.

Pseudomonas fluorescens tiene requerimientos nutricionales simples. En el laboratorio crecen bien en medios con poca materia orgánica en solución, en un pH neutral y a temperaturas entre los 28 y 30°C. Muchas especies de *Pseudomonas* crecen en medios químicamente definidos sin la adición de elementos para su crecimiento y pueden utilizar más de 150 componentes orgánicos diferentes como único recurso de carbón o energía, esta diversidad catabólica las hace extraordinarias y que su observación sea mayor (Todar, 2004).

2.3 Antagonismo Bacteriano.

El uso de agroquímicos (pesticidas y fertilizantes) en agricultura contribuye a la acumulación de residuos tóxicos en las cosechas y en el ambiente, con serias consecuencias para la salud humana. La utilización de microorganismos antagonistas o enmiendas orgánicas es una alternativa para mejorar la nutrición y resistencia de las plantas así como disminuir la incidencia de enfermedades (Falconí, 1997).

La aplicación de antagonistas microbianos para el control biológico de fitopatógenos ha sido catalogada como un componente importante en el manejo integrado de las enfermedades de las plantas y como una alternativa viable a los pesticidas químicos. Las bacterias pertenecientes al género *Pseudomonas* han resultado ser las más estudiadas debido a que son capaces de colonizar un amplio rango de cultivos y son antagonistas de varios patógenos (Falconí, 1997).

Pseudomonas fluorescens posee un comportamiento antagónico por ser de rápido crecimiento y poco exigente de elementos nutricionales y ambientales y no es tóxico para los seres humanos.

Estas bacterias y las del género *Bacillus* son consideradas las más eficaces para controlar enfermedades foliares y de las raíces. Estas bacterias se han evaluado para el control de enfermedades fungosas, determinándose que las aplicaciones de *Bacillus subtilis* pre y post-cosecha en aguacate tienen un efecto similar al de los fungicidas comerciales (Korsten *et al.* 1997).

CAPÍTULO III

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiales, Procedimientos y Métodos.

3.1.1 Materiales.

a) Equipo de laboratorio.

- Incubadora
- Autoclave
- Mechero
- Microscopio
- Refrigeradora
- Cajas petri
- Asa bacteriológica
- Portaobjetos
- Cámara de Neubauer
- Cubreobjetos
- Vasos de Precipitación
- Pipetas
- Gotero
- Papel absorbente
- Papel Filtro
- Plástico

b) Medio de cultivo y reactivos.

- Agar Centeno
- Agar- Agar

- Agua Destilada
- Alcohol
- Sucrosa
- Hojas de Papa variedad Gabriela

3.1.2 Procedimientos. Métodos de ensayo.

La metodología usada siguió los procedimientos señalados en el protocolo del Centro Internacional de la Papa (Casten y Jimks, 1968).

a) Preparación de Agar- Centeno (Rye B).

El Agar Centeno se prepara con 60 g de Centeno remojado en agua destilada por 36 horas. Si se usa menos agua los granos parecen germinar más rapido (24 – 30 h) más o menos 100ml. Se guarda el sobrenadante. Una vez remojado el centeno se lo licua por dos minutos y se lo cocina durante tres horas a una temperatura de 50°C. Se lo filtra a través de 6 gasas, desechando el sedimento. Combinar con el sobrenadante original y agregar 15 gramos de agar y 20 gramos de azúcar y ajustar el volumen de 1 litro. Finalmente autoclavar por 15 minutos a 15 psi.

b) Cultivo de la bacteria (*Ps. fluorescens* cepa 1, cepa 2 y el patógeno (*P. infestans*)).

Los cultivos se lo realizaron en medio Agar Centeno (Rye B) suplementado con sacarosa. El patógeno se obtuvo del CIP, y su incubación se lo hizo a una temperatura ambiente de 18°C y para la bacteria a una temperatura de 36°C lo cual se realizó cada 15 días para mantener y reproducir el cultivo. *Pseudomonas fluorescens* fue proporcionada por el Ing. Jose Ochoa del Laboratorio de Sanidad Vegetal del INIAP (Anexo1 y 2).

c) Preparación de la suspensión de zoosporangios para la inoculación.

Las cajas petri con el cultivo del patógeno fueron lavadas con agua destilada y se para remover el micelio. Mediante un nuevo tamizado se atraparon los esporangios, que fueron lavados varias veces con agua. Los esporangios fueron recogidos del filtro en una pequeña cantidad de agua destilada. La suspensión obtenida fue incubada a 9°C por dos horas para promover la liberación de zoosporas.

d) Preparación de la suspensión de *Pseudomonas fluorescens* para la inoculación.

La suspensión de las bacterias se las realizó humedeciendo la caja petri con agua destilada y raspándole con un porta objetos. Finalmente el raspado se lo filtró con la ayuda de agua destilada, esta solución se la diluyo hasta obtener una solución final de 10^{-8} esporas/ml.

e) Pruebas de antagonismo.

- Antagonismo en hojas de papa.

Se realizó la prueba con los inóculos del patógeno (*P. infestans*) y bacteria (*P. fluorescens* cepa 1 y cepa 2) descritos anteriormente.

- Realización de la Cámara Húmeda.

Para la realización de la cámara húmeda se uso cajas petri plásticas esterilizadas, a las cuales se le colocó papel absorbente y humedeciéndole con agua destilada, se tapó con plástico previamente desinfectado con alcohol. Una vez realizada la cámara se procedió a la toma de hojas para la realización de las pruebas.

- Inoculación en Hojas.

Se realizó tres tratamientos para los cuales se utilizaron hojas de papa obtenidas en la provincia de Pichincha en el cantón Rumiñahui de la variedad Gabriela con 42 y 56 días de desarrollo con un tamaño aproximado de 40 mm x 30mm.

Las hojas de papa utilizadas son de una variedad susceptible a *P. infestans* lo que aseguró la infección por el hongo.

Tratamiento 1 (t1). Hojas variedad Gabriela + *Phytophthora infestans*

Tratamiento 2 (t2). Hojas variedad Gabriela + *Phytophthora infestans* + *Ps. fluorescens* cepa 2

Tratamiento 3 (t3). Hojas variedad Gabriela + *Phytophthora infestans* + *Ps. fluorescens* cepa 1

Tratamiento 1. Inoculación con patógeno (*P. infestans*). Para este tratamiento se cortaron hojas de plantas de papa de la variedad Gabriela saludables con ningún signo de enfermedad o estrés, las mismas que fueron lavadas y secadas con papel absorbente. Las hojas se colocaron en la cámara húmeda del lado abaxial y se inoculó con dos gotas con una suspensión de 3×10^3 – 5×10^4 zoosporangios/ml de *P. infestans* como se presenta en la Figura 1. Finalmente se incubó a una temperatura de 16-21°C , con un ciclo de 14 horas de luz empezando el segundo día después de la inoculación (Anexo 3 y 4).

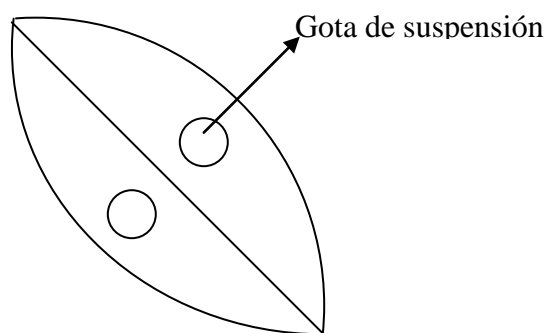


Figura 1. Esquema de inoculación del patógeno *Phytophthora infestans* en hojas de Papa de la variedad Gabriela en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.

- 1. Tratamiento 2.** Inoculación patógeno (*P. infestans*) – bacteria (*Ps. fluorescens* cepa 2, testigo) Para este tratamiento se cortaron hojas de plantas de papa de la variedad Gabriela saludables sin ningún signo de enfermedad o estrés, las mismas que fueron lavadas y secadas con papel absorbente. Las hojas se colocaron en la cámara húmeda del lado abaxial y se inocularon con dos gotas de la suspensión del patógeno y dos gotas de la suspensión de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* cepa 2

En un estudio realizado paralelamente a esta investigación por el Ing. José Ochoa se determinó que la cepa 2 de *Ps. fluorescens* es antagonista de *Phytophthora infestans*.

- 2. Tratamiento 3.** Inoculación patógeno (*P. infestans*) – bacteria (*Ps. fluorescens* cepa 1) Para este tratamiento se cortaron hojas de plantas de papa de la variedad Gabriela saludables sin ningún signo de enfermedad o estrés, las mismas que fueron lavadas y secadas con papel absorbente. Las hojas se colocaron en la cámara húmeda del lado abaxial y se inocularon con dos gotas de la suspensión del patógeno y dos gotas de la suspensión de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* cepa 1.

- Diseño experimental.

El ensayo se dispuso en un diseño completamente al azar (DCA), con 40 repeticiones. Cada unidad experimental consistió en una caja petri.

- Análisis estadístico.

- Análisis de la varianza.

Se realizó el análisis de variancia para la variable tasa de crecimiento de la lesión con todos los datos del tratamiento. En el Cuadro 2 se muestra el esquema del análisis de la varianza.

<u>F de V</u>	<u>Gl</u>
Total	118
Tratamientos	2
Error	116

Cuadro 2. Esquema del análisis de la varianza en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.

- Análisis funcional.

Se realizó la prueba de Tukey al 5% para determinar la tasa de crecimiento de la lesión y capacidad antagonica de la bacteria del género *Pseudomonas fluorescens*.

- Datos tomados y métodos de evaluación.

Se midió a partir del tercer día de inoculación a lo largo y ancho de la lesión en mm hasta la muerte total de las hojas.

- Cálculo de la tasa de crecimiento.

La tasa de crecimiento de la lesión se calculó mediante la formula:

$$tcl = \text{Suma} (\text{Día}_n - \text{Día}_{n-1}) / n-1.$$

- Cálculo del área de lesión.

El área de lesión se calculó sacando un promedio en mm², a los 7 días de medición, en los tres tratamientos.

3.1.3 Datos Experimentales.

Los datos de cada tratamiento se tomaron a partir del tercer día de inoculación, midiéndose diariamente el área de lesión en mm^2 , evaluando a lo ancho y largo de la lesión como se muestra en la Figura 2 que presentaba cada hoja lo que permitió comparar entre cada tratamiento.

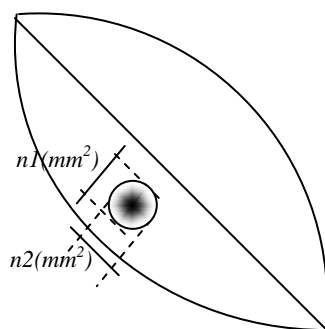


Figura 2. Esquema de la medición del crecimiento de la lesión en hojas de papa de la variedad Gabriela en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.

En los Cuadro 3, 4, 5(a) y 5(b) se encuentran las medidas tomadas de cada hoja, el número de pruebas se encuentran en el eje y de la tabla y los días en el eje x.

Cuadro 3. Variación en mm² del área de lesión por *Phytophthora infestans* en hojas de papa de la variedad Gabriela, tomados por día en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.

Tratamiento 1. Inoculación con patógeno: *Phytophthora infestans*

	D I A S											
Num	dia1	dia2	dia3	dia4	dia5	dia6	dia7	dia8	dia9	dia10	dia11	dia12
1	100	108,5	109	110	110,5	524,5	752	752	-	-	-	-
2	8	18,5	24	24,5	25	35	75	155	301,5	540	-	-
3	20	52,5	383	383,5	384	-	-	-	-	-	-	-
4	20	25	30	85	90	520	520	540	-	-	-	-
5	2,7	8,5	16	16,5	17	125	237	252	521,5	-	-	-
6	20	25	30	35	40	45	100	103	502	-	-	-
7	20	25	50	105	110	325	750	800	965	-	-	-
8	20	45	90	95	100	636	901,5	-	-	-	-	-
9	20	25	30	95	100	304	452	452	-	-	-	-
10	20	25	50	135	140	750	-	-	-	-	-	-
11	10	10	10	25	30	30	48,5	48,5	98,5	-	-	-
12	10	10,7	10,9	25	30	153	329,5	329,5	600	600	660	960
13	30	70	70	270	280	280	737	737	-	-	-	-
14	15	75	75	85	85	85	90	90	402	602	914	-
15	152	212,5	212,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	20	20	20	25	30	35	40	40	90	-	-	-
17	10	10	10	60	65	70	403,5	403,5	700	700	900	-
18	5	5	5	20	80	102	243	243	300	1100	-	-
19	0	30	80	80	150	180	190	200	225	645	703,5	720
20	0	3	13	55	171	-	-	-	-	-	-	-
21	5	15	30,05	78	98,05	440,12	-	-	-	-	-	-
22	1	5	20,05	32,17	53	210,12	255,77	285	398	525	649,6	737,58
23	2	4	19,05	39,12	60,27	250	295,65	321	480	-	-	-
24	7	10	35	47,12	67,17	276	321,65	341	410	697,56	820,56	-
25	10	25	40,05	52,17	78	366,76	498,34	-	-	-	-	-
26	0	5	20,05	47	67,05	250	295,65	310	380	427,8	1057,8	-
27	1	4	19,05	44,4	66	246	291,65	336,89	-	-	-	-
28	3	6	21,05	33,17	53,22	198	243,21	321,53	420	707,56	-	-
29	9	15	60	112,12	132,17	378,8	649	-	-	-	-	-
30	8	12	27,05	39,17	59,22	198	243,65	250	370	480,6	603,6	905
31	4	10	30	42,12	72	234,46	280,11	300	410,1	697,66	952	-
32	25	39	56,6	98,15	118,2	489,8	-	-	-	-	-	-
33	100	125	140,05	200	219,8	-	-	-	-	-	-	-
34	25	35	50,05	62,17	82,22	267	312,65	340,67	575,23	-	-	-
35	4	10	25,05	45,76	65,81	145,56	191,21	213	250	537,56	660,56	-
36	60	80	100	200	220,05	-	-	-	-	-	-	-
37	6	10	25,05	55	76,2	234,56	280,21	300	452,2	-	-	-
38	12	16	31,05	43,17	63,22	234,78	383,2	461,52	-	-	-	-
39	1	3	22	69	90	305,67	660	-	-	-	-	-
40	1	3	18,05	30,17	50,22	198,56	244,21	270	320	400	652	739,98

Cuadro 4. Variación en mm² del área de lesión por *Phytophthora infestans* y *Pseudomonas fluorescens* cepa 2 (testigo) en hojas de papa de la variedad Gabriela, tomados por día en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.

Tratamiento 2. Inoculación con *Phytophthora infestans* y *Pseudomonas fluorescens* cepa 2 (testigo).

num	dia1	dia2	dia3	dia4	dia5	dia6	dia7	dia8	dia9	dia10	dia11	dia12
1	200	200,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	250	250,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	83	83,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	20	40	160	252	365,25	365,3	-	-	-	-	-	-
5	53	53,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	2	4	29	70	70,1	70,15	172,5	177,5	490	490,05	490,1	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	2	4	200,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	10	13	18	23	28	38	48		500,2	720,65		-
12	20	25	30	35	40	50	200,4	200,5	450,5	600,65	900,7	-
13	3	13,5	50,2	50,25	50,3	54,4	54,5	175	-	-	-	-
14	15,3	15,35	15,4	15,45	90	100	115	240,5	-	-	-	-
15	2	2,5	2,55	2,6	2,65	3	130,4	537,5	900	960	960,65	-
16	60	70	120	125	270	500	650,4	700	-	-	-	-
17	20	70	120	170	176	240,1	285	626	-	-	-	-
18	10	15	20	25		600,35	600,4	626,5	960	-	-	-
19	14	26,5	27	27,5	30	30	44	-	350	640,65	700	900,2
20	14	26,5	27	27,5	30	31	32	-	-	-	-	-
21	15	18	24,8	24,8	120	343	350	765	891	1024	-	-
22	300	322,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	200	235	237,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	135	135,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	60	71	145	166,1	234	412	420	568,3	654	875	1089	1100
26	112	145	245	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	142	142,44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	28	29	38,67	38,67	45	123	130	234	345	735	-	-
29	8	8,1	90	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	41,3	41,4	180,45	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	76,4	76,5	123	123	359,2	549,2	560	789	864	1078	1078	-
33	40	41	112,34	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	40	46,6	68,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	45	45,1	236	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	25	26,87	145,88	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	40	42	101,3	145,3	456	513	520,43	-	-	-	-	-
40	43	43,4	199	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Cuadro 5(a). Variación en mm² de área de lesión por *Phytophthora infestans* y *Pseudomonas fluorescens* cepa 1 (parásita) en hojas de papa de la variedad Gabriela, tomados por día en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.

Tratamiento 3. Inoculación con *Phytophthora infestans* y *Pseudomonas fluorescens* cepa 1(parásita).

	D I A S									
Num	Dia1	dia2	dia3	dia4	dia5	dia6	dia7	dia8	dia9	dia10
1	0	10	20	20,4	35	45	150,6	198,7	665	
2	10	20,1	30	40	10,5	20,5	22,1	60,1	70	70,1
3	10	20	50	50,1	70	90	90,1	225,2	230	327
4	29,1	29,2	90,3	162,4	300	310	335,6	480	-	-
5	251	251,1	525	600	-	-	-	-	-	-
6	10	20,1	253	268	480	490	-	-	-	-
7	20	20,1	40	80	100	110	120	126	134	135
8	30	40,1	37,3	61	500	510	460	660	-	-
9	454	454,1	826	-	-	-	-	-	-	-
10	10	20	50,3	100,4	471,5	481,5	-	-	-	-
11	10	6	6,1	6,2	66,25	125,3	125,4	670	-	-
12	10	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	120	120	121
13	0	10	20	30	40	90	90,1	100	102	103
14	100	101	600,25	600,35	-	-	-	-	-	-
15	30	30,5	31	32	32,3	35	35,1	55	85	125
16	10	20	50	50,1	70	90	90,1	225,2	326	327
17	100	170	170,1	170,2	210	484,35	484,45	645	-	-
18	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	20	50	50,1	50,2	50,2	100,2	100,3	351	650	-
20	0	100	200	200,1	300	450,3	450,4	460,05	-	-
21	91,1	100	690	713,45	813,65	204	310	-	-	-
22	50	60	63	63,1	79	79,1	79,2	89,3	99,4	50
23	178	177	544,13	567,58	-	-	-	-	-	-
24	10	20	90	90,1	190,3	294	-	-	-	-
25	30	40	110	144,1	244,3	245	265	275,1	412	538
26	100	111	135	158,45	514	-	-	-	-	-
27	40	50	70	93,45	193,65	220	280	320	-	-
28	12	22	30	40	140,2	220,7	260	789	-	-
29	167	190	-	-	-	-	-	-	-	-
30	34	44	130	153,45	253,65	256	269	279,1	679	720
31	14	24	70	70,1	105,1	105,1	107	117,1	127,2	145
32	260	280	525,34	548,79	661	-	-	-	-	-
33	10	11	13	36,45	136,65	144	160	170,1	312	360
34	43	43,1	80	103,45	451	513	711,1	721,2	-	-
35	345	396	641,34	664,79	-	-	-	-	-	-
36	40	50	60	80	100	101,1	101,3	111,4	412	431
37	60	70	50	50,1	59	70	70,1	80,2	242	290
38	14	14,1	45	68,45	324	324	334	344,1	766	-
39	10	11	35,1	58,55	158,75	223	246	590	-	-
40	10	11	37	60,45	160,65	193	205	215,1	594,6	622

Cuadro 5(b). Variación en mm² de área de lesión por *Phytophthora infestans* y *Pseudomonas fluorescens* cepa 1 (parásita) en hojas de papa de la variedad Gabriela, tomados por día en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.

	D I A S								
Num	dia11	dia12	dia13	dia14	dia15	dia16	dia17	dia18	dia19
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	70,2	105	164	164,1	290	465	600	720	1060
3	327,1	600	650	660					
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	135,1	135,7	138	139	200	225	300	454	554
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	200,3	500,3	600	-	-	-	-	-	-
13	103,6	540,1	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	200	540	-	-	-	-	-	-	-
16	327,1	600	650	700	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	59	110	201	201,1	301	411	813	914	1004
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	540	653	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	750	-	-	-	-	-	-	-	-
31	150	246	290	333	380	380	414	614	700,1
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	429	450	501	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	490	513	-	-	-	-	-	-	-
37	350	431	450	578	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	641,2	-	-	-	-	-	-	-	-

3.1.4 Cálculos, Resultados y Discusión.

En el Cuadro 6 se realizó el promedio del área de lesión en mm² a los 7 días de lectura.

Cuadro 6. Promedio del Área de lesión en mm² a los 7 días de medición en los tres tratamientos en hojas de papa de la variedad Gabriela en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.

Tratamientos	Días
	7
<i>Phytophthora infestans</i>	272,30
<i>P. infestans</i> y <i>Ps.fluorescens</i> cepa 2 (testigo)	97,80
<i>P. infestans</i> y <i>Ps. fluorescens</i> cepa 1 (parásita)	160,54

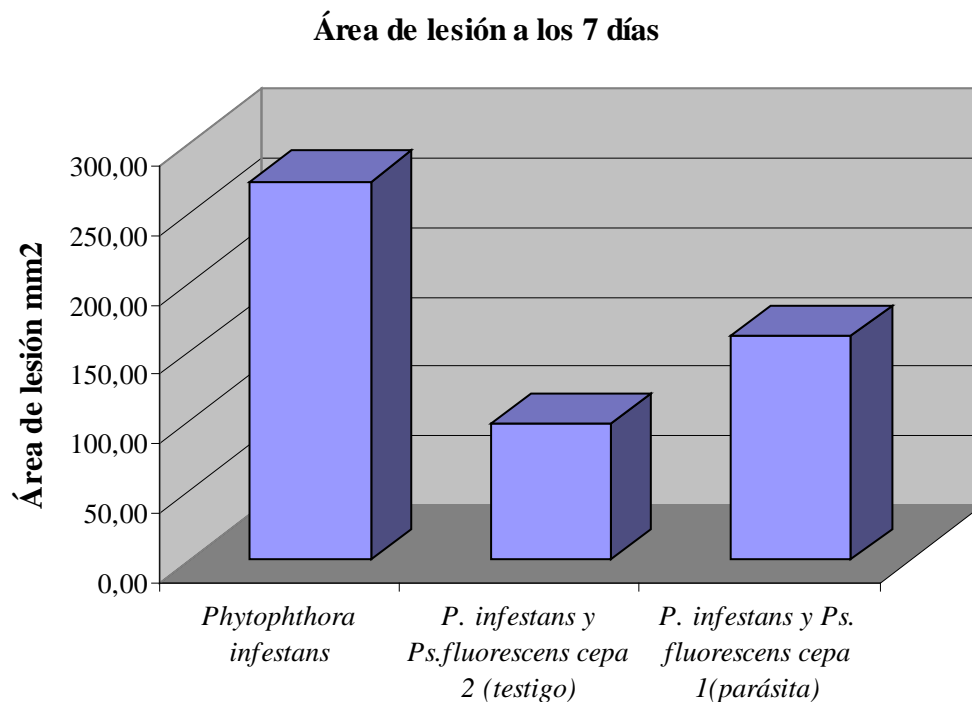


Figura 3. Área de lesión en mm² a los 7 días de medición en cada tratamiento, en hojas de papa de variedad Gabriela en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.

En la Figura 3 se observa el área de lesión por cada tratamiento (datos tomados del Cuadro 6). Se puede observar que el tratamiento *Ps. fluorescens* cepa 2 (testigo) frente a *P. infestans* obtiene una lesión menor comparado al tratamiento 3 realizado con la cepa 1 de *Ps. fluorescens* parásita a *P. infestans*.

Comparando los tres tratamientos el tratamiento 1 (*Phytophthora infestans*) se observa que la lesión producida es mayor a los tratamientos en los que se aplicó la cepa de bacterias del genero *Pseudomonas fluorescens*.

Para el análisis de la varianza y la prueba de tuckey al 5% debido a la alta variabilidad se resolvió depurar la información, detectando primero datos fuera de rango, excluyéndolos de las operaciones. Se consiguió así reducir la variabilidad.

Cuadro 7. Análisis de variancia para la variable tasa de crecimiento de la lesión de los tres tratamientos en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrados medios	F calculada	Significancia
Total	118			
Tratamientos	2	16040.04	11.53	**
Error	114	1391.22		
C. V.	38.38			
Promedio	97.14			

Los resultados de los cálculos estadísticos determinaron una alta significación para los tratamientos, esto se refiere a que los tratamientos tuvieron diferentes comportamientos entre ellos, debido a su diferencia en su actividad y por su cepa.

El promedio general para la tasa de crecimiento de la lesión es de 97.14 mm con un coeficiente de variación 38.38%.

Las pruebas de Tukey al 5% para los tratamientos realizados constan en el Cuadro 8, donde se puede observar dos rangos de significancia a y b.

El primer rango lo ocupó el tratamiento 2 (*Ps. fluorescens* cepa 2 (testigo) + *P. infestans*), seguido por el tratamiento 3 (*Ps. fluorescens* cepa 1 + *P. infestans*) y el tratamiento 1 (*P. infestans*) que ocuparon el mismo rango de significancia.

El tratamiento 3 (*Ps. fluorescens* cepa 1 + *P. infestans*) al encontrarse en diferente rango de significancia al tratamiento 2 (*Ps. fluorescens* cepa 2 testigo + *P. infestans*), quiere decir que la tasa de crecimiento es diferente en los dos tratamientos, por lo que la cepa 1 de *Pseudomonas fluorescens* no presentó capacidad antagónica eficiente frente a *Phytophthora infestans*.

El tratamiento 1 (*P. infestans*) con el tratamiento 3 (*Ps. fluorescens* cepa 1 + *P. infestans*), por encontrarse en el mismo rango significa que la tasa de crecimiento es igual en ambos casos, por lo que la acción de *Ps. fluorescens* cepa 1 no es eficiente.

Cuadro 8. Prueba de Tukey al 5% y rangos de significación para los promedios de tasa de crecimientos de la lesión de los tres tratamientos en la evaluación del antagonismo de una bacteria parásita al hongo que causa la lancha en hojas de Papa.

Tratamientos	Tasa de crecimiento	Rango de significancia
<i>P. infestans</i> + <i>Ps. fluorescens</i> cepa 2(t2)	80.41	a
<i>Phytophthora infestans</i> (t1)	113.55	B
<i>P. infestans</i> + <i>Ps. fluorescens</i> cepa 1(t3)	118.71	B

Se han realizado estudios como el de Benalcazar (1998) en su tesis “Utilización de bacterias y hongos de la filósfera como control biológico de la lancha de la papa (*P. infestans*)” donde se ha reportado resultados promisorios para *Ps. fluorescens* como antagonista de *P. infestans*.

Pérez y de la Vega en su tesis “Selección, dosificación y tolerancia a fungicidas *Pseudomonas fluorescens* en el manejo integrado de *Phytophthora infestans* en el cultivo de papa” reportaron que: De cuatro cepas de *Pseudomonas fluorescens* utilizadas dos (1 y 2) de ellas determinaron la formación de lesiones más pequeñas, por lo que se las consideró más eficientes en el control de *Phytophthora infestans*. Mientras que la cepa 3 permitió un mayor

grado de infección desde el inicio, y la cepa 4 manifestó un incremento de la severidad de la enfermedad a partir del tercer día, respectivamente.

En esta tesis se determinó que la cepa *Pseudomonas fluorescens* evaluada no mostró potencial biológico de control de la lancha.

CAPÍTULO IV.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusión.

- En los análisis realizados el área de lesión a los siete días de medición y en el análisis de Tukey al 5% se pudo concluir que en la prueba de antagonismo en hojas de papa con las dos cepas de *Pseudomonas fluorescens* la cepa 2 (testigo) tiene una mayor inhibición del crecimiento del hongo comparado con la cepa 1 (parásita), debido a que su tasa de crecimiento es menor, por lo que la cepa 1 no presenta capacidad antagónica eficiente de *Phytophthora infestans*.

4.2 Recomendaciones.

- La cepa *Ps. fluorescens* aislada como parásita no puede ser usada como controlador biológico de *P. infestans*.
- Por la susceptibilidad presentada por las hojas de papa de la variedad Gabriela a *Phytophthora infestans* se recomienda hacer más pruebas con diferentes variedades de papa.
- Realizar estudios con otras metodologías para establecer cual es la más eficiente y la de mejor resultado, para un posterior estudio a nivel de invernaderos y cultivos.
- Establecer el tiempo de supervivencia de la bacteria en los cultivos de papa.
- Mantener los cultivos (hongo y bacteria), sembrándolos cada 15 días, ya que pueden morir en estado de latencia.

- Se recomienda utilizar Agar Centeno con 60 g más de grano ya que en el laboratorio se demostró un rápido y mayor crecimiento tanto del hongo como la bacteria.

CAPÍTULO V

BIBLIOGRAFÍA

Abad, G. y Abad, J. 1995. Historical evidence on the occurrence of late blight of potato, tomato and pearl melon in the Andes of South America. 36:49.

Andrade, H. y Oyarzun, P. 1999. Programa Nacional de Raíces y Tubérculos Rubro Papa: Plan Estratégico. Programa Nacional de raíces y Tubérculos – Papa – INIAP, Quito.

Andrade Piedra, J., Jaramillo, R., y Revelo, J. 1991. Evaluación de la eficiencia de fungicidas protectantes y sistémicos y su interacción con el fertilizante foliar Stimufol, en el control de *Phytophthora Infestans* en papa. Informe Ampliado. INIAP, PNRAT-Papa – FORTIPAPA.

Anon, G. 2001. The theory of disease management. Plant disease: An advanced treatise. Vol. I. How Disease in Managed. Academic Press, New York. 79-101.

Benalcázar, L. 1998. Utilización de bacterias y hongos de la filósfera como control biológico de la lancha de la papa (*Phytophthora infestans*), Ingeniero Agropecuario, Escuela Politécnica del Ejército, Sangolquí, Ecuador.

Casten, C., y J, Jimks. 1968. Spontaneous variation of single of *Phytophthora infestans*. I. Cultural variation. Can. J. Bot 46:329-348

Crissman, C., Cole, C., Carpio, F. 1994. Pesticides use and farm worker health in Ecuadorian Potato Production American Journal of Agricultural Economics. 593-597.

Crissman, C., Ducrot, C., Cole, D. y Carpio, F. 1998a. The case site: The Physical Health and Potato Farming Systems in Carchi Province (Chapter 7). In getting Pesticides Right: trade offs environment, health and sustainable Agricultural development. Crissman, C, Antle, J. and Capalbo, S.(eds.). En Prensa.

Crissman, C. Cole, D. y Carpio, F. 1998b. Pesticide use and farm worker health in Education Potato Production. *Amer.J.Agr.Econ.*76. 593-597.

Compeau, G., Al-Achi, B., Platsouka, E., and Levy, S.1988. Survival of rifampicin-resistant mutants of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* in soil systems. *Appl. Environ. Microbiol.*

De la Vega, V., Perez, N. 1998. Selección, dosificación y tolerancia a fungicidas *Pseudomonas fluorescens* en el manejo integrado de *Phytophthora infestans* en el cultivo de papa. Escuela Politécnica del Ejército, Sangolquí, Ecuador.

Dannaker, C. Maibach, H. O'Malley, M. 1993. Contact urticaria anaphylaxis to the fungicide chlorothalonil. *Cutis.*

Dick, M. 1995. Sexual Reproduction in the Peronosporomycetes (Chromistan Fungi). *Can. J (Suppl.1):*571-593-597.

Egan, A., Murray, A., Mullins, S. 1995. Past history and future prospects for fungicides for the control of *Phytophthora infestans* on potatoes- 160 -170.

Escobar, M. 1994. Estudio de la población de *Phytophthora infestans* en las provincias de Carchi, Chimborazo y Loja. Tesis Ing. Agr. Universidad Central del Ecuador. Quito- Ecuador.

Falconí, C. 1997. El Control Biológico de Plagas y Enfermedades. Primera Edición. FIFAC. Alemania. : 5 -6.

Forbes G., Escobar, C., Revelo, J., Ordoñez, M., Fry. B., Doucentt, K. and Fry. W.1997. Population genetic structure of *Phytophthora infestans* in Ecuador. *Phytopathology* 87:315 – 380.

Fry, W. 1978. Quantification of General Resistance of Potato Cultivar and Fungicide Effects for Integrated Control of Potato Late Blight, *Phytopathology*, 68.

Henfling, J. 1980. El tizón tardío de la papa. Lima, Centro Internacional de la Papa. 58

Korsten, L., De Villiers, E., Wehner, R., Kotzet, M. 1997. Field spray of *Bacillus subtilis* and fungicides for control of preharvest fruit disease of avocado in South Africa. Plant Disease 81:455-459.

Morales, H. 1994. Relación entre la epidemia de *Phytophthora infestans* y la producción en el cultivo de Papa *Solanum tuberosum*. Tesis Ingeniero agrónomo, Universidad Central del Ecuador, facultad de Ciencia Agrícolas, Quito, Ecuador.

Nebel, B. Wrigth, R. 1999. Ciencias Ambientales Ecología y desarrollo sostenible. 6ª.ed. Prentice Hall, Mexico. 665-685.

Niklaus J., Mateo A. 2002. Potato cultivars from the Mexican National Program: Sources and Durability of Resistance Against Late Blight. Phytopathology 92:688-693.

Orr, D., Bambara, S. and Baker, J. 1997. NC State University. Biological Pest Control and introduction. What is Biological Pest Control? Department of Entomology, North Carolina State University.

Oyarzun, P., Taipei, A., y Forbes, G. 2001. *Phytophthora infestans* activity and particularities in Ecuador. Phytopathology.

Oyarzun, P., Taipei, A. y Forbes, G. 2000. Evaluación de la eficiencia de nuevos fungicidas protectantes y sistémico para el control de *Phytophthora infestans*. Informe Ampliado. INIAP PNRT – Papa – FORTIPAPA.

Palleroni, N. 1984. Pseudomonadaceae. In Bergey's Manual of Systematic Biology. Kreig, N.R., and Holt, J.G. (eds). Baltimore: The Williams and Wilkins Co. 141-199.

Pumisacho, M., y Sherwood, S. 2002. El Cultivo de Papa en el Ecuador, Instituto Autónomo de Investigaciones Agropecuaria (INIAP) – Centro Internacional de la Papa (CIP) Quito – Ecuador. 99: 213.

Programa Nacional de Raíces y Tubérculos-Papa. 1995 FOTIPAPA-INIAP. Informe Anual.

Reddick, D. 1928. Blight resistant potatoes. *Phytopathology* 22:609 -612.

Reddick, D. 1932. Some diseases of wild potatoes in Mexico Blight resistant potatoes. *Phytopathology* 18:483 -502.

Reddick, D. 1939. When came *Phytophthora infestans*. *Chron. Bot.* 5: 410-412.

Stephen B. 1997. Fungicide Application for Late Blight Management: A Boom Attached to a Center Pivot Irrigation System. *Plant Dis.* 83: 512-515.

Strömberg, A. 1995. Systematically induced resistant in potato cultivars with different degree of resistant light blight causes by *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. *Phytophthora infestans* in soil. 83:876.

Sherwood, S. 1998. Wachu rozado: Vestigio del pasado, oportunidad para el futuro. Reporte sobre cultivos de cobertura y abonos verdes para el Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura y Rockefeller Foundation. 8.

SESA-MAG, M, MSP, INEN, APCSA, OPS, CEDENMA. 1996. Manual para Técnicos que recomiendan, supervisan y utilizan plaguicidas. 30,35.

Todar, K. 2004. The control of Microbial Growth. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.

Thurston, H. and Schultz, O. 1981. Late Blight. Compendium of Potato Diseases, W. Hooker ed. American Phytopathological Society. St. Paul. Mn. 125.

Uquillas, J., Crissman, C., Warren, P. y Dewalt, K. 1992. La papa en los sistemas de producción agropecuaria de la Sierra Ecuatoriana. Documento técnico N° 2.

Ville, C. 1996. Biología. 3ª ed. Mc. Graw Hill, Mexico. 1137-1170.

PARTE COMPLEMENTARIA

Glosario.

Ambiente. Combinación de todos los seres y los factores externos al individuo o la población que se considere.

Antagónico. Que denota o implica antagonismo.

Antagonismo. Efecto opuesto. Oposición, rivalidad. En microorganismos se debe a la formación por algunos de ellos.

Antagonista. Dícese de los que dejan inmóvil una parte por su acción combianada. Combatiente, contrario.

Bacteria. Microorganismo unicelular perteneciente al reino de los procariotes. Por lo general se trata de organismos descomponedores; pero algunos son parásitos o autótrofos.

Contaminación. Introducción en el aire, el agua o el suelo de sustancias o calor indeseable. Pueden ser cantidades excesivas de una sustancia natural, como el fosfato, o muy pequeñas de un compuesto sintético como la dioxina, que es muy tóxica.

Control Biológico. Manejo de las poblaciones de las plagas introduciendo organismos depredadores, parásitos o patógenos.

Control Cultural. Cambio en las prácticas de siembra, cosecha, almacenamiento, manejo o eliminación de los residuos que reduce la susceptibilidad o la exposición a las plagas. Por ejemplo, rociar la casa con insecticida para acabar con los mosquitos es un control químico; poner pantallas en las ventanas para impedir que entren es control cultural.

Electrón. Partícula subatómica de carga negativa que se localiza a cierta distancia del núcleo.

Epidermis. Capa externa de células que cubre el cuerpo de plantas y animales, con la protección como función principal.

Espora. Célula reproductiva que da origen a un individuo en plantas, algas, hongos y ciertos protozoos.

Esporangio. Envoltura de esporas, presente en plantas y ciertos protistas y hongos.

Hifa. Uno de los filamentos que componen el micelio de un hongo.

Hongo. Organismo eucariote complejo que obtiene nutrimentos por asimilación; muchos hongos son descomponedores, y unos cuantos parásitos.

In Vitro. Que ocurre fuera del organismo vivo (su significado literal es “en vidrio)

In Vivo. Que ocurre en un organismo con vida

Manejo Integrado de las plagas. Dos o más métodos de control de plagas que se coordinan en un programa general destinado a evitar las pérdidas económicas. El objetivo es reducir al mínimo el uso de sustancias sintéticas peligrosas para el ambiente, dejándolas como último recurso.

Micelio. Cuerpo Vegetativo de hongos y ciertos protistas, consistente en una red ramificante de hifas.

Mutualismo. Relación en que dos organismos de diferentes especies derivan beneficios de estar juntos; con frecuencia, no pueden vivir separados.

Nutrientes. Sustancias químicas de los alimentos que el cuerpo utiliza como componentes para la síntesis de materiales necesarios y como fuente de energía.

Oxidación. Pérdida de electrones o, en química orgánica, pérdida de átomos hidrógeno de un compuesto.

Parasitismo. Relación de vida estrecha entre organismos de dos diferentes especies, en que uno se beneficia y el otro resulta dañado.

Parásito. Organismo que obtiene nutrientes de los tejidos vivos de otro organismo (huésped).

Patógeno. Organismo que causa enfermedades.

Suspensión. Dícese de los materiales que en el agua se mantienen “a flote” sólo por la agitación y que se asientan si el agua se mantiene quieta.

Taxonomía. Ciencia de denominar, describir y clasificar a los organismos vivos.

Tubérculo. Raíz subterránea engrosada y adaptada para el almacenamiento de alimentos, presente en patatas como la papa blanca.

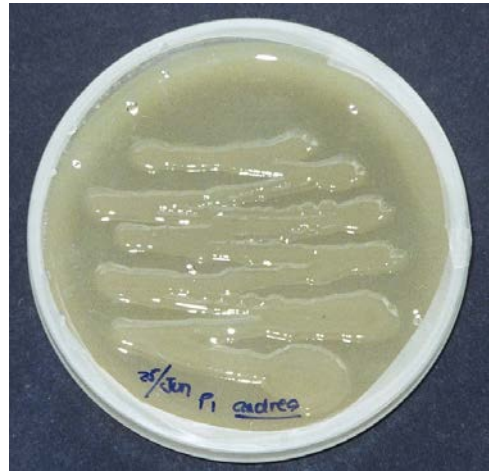
Zoospora. Espora flagelada móvil, producida asexualmente.

Fuente: (Ville, 1996)

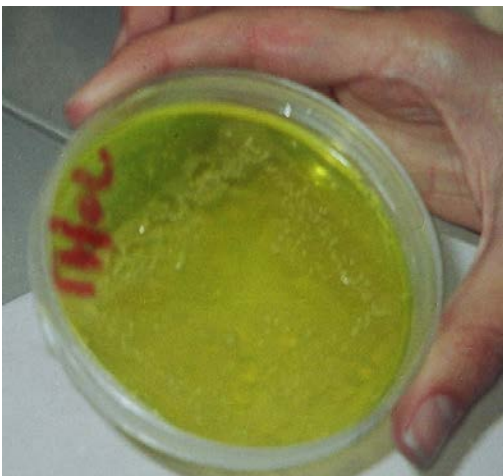
(Nebel,1999)

Anexos.

Anexo 1. Cultivo de las bacterias *Pseudomonas fluorescens* cepa 1 (parásita) y cepa 2 (testigo). Fotos tomadas en el laboratorio de la Universidad Internacional Sek.

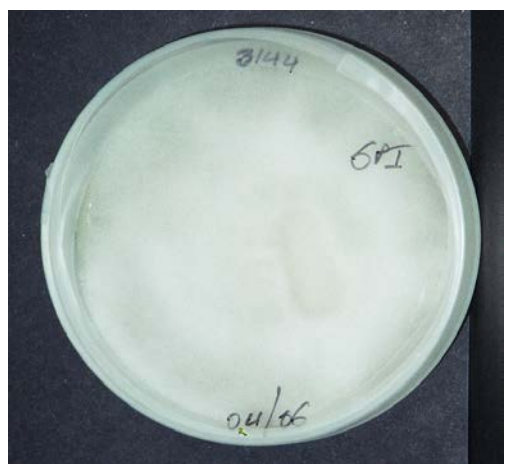
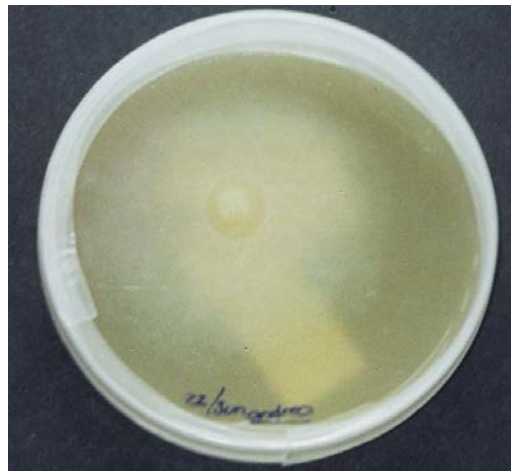
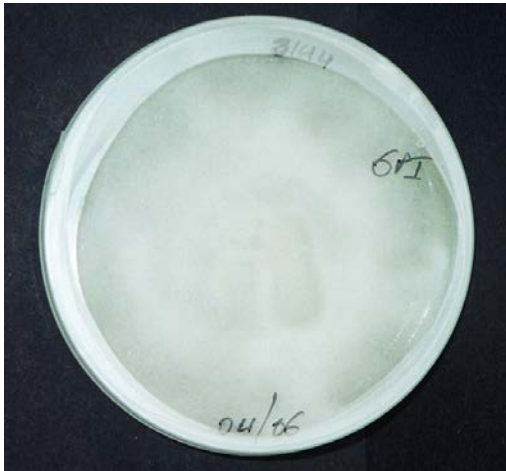


Pseudomonas fluorescens cepa 1 (parásita).



Pseudomonas fluorescens cepa 2 (testigo).

Anexo 2. Cultivo del patógeno *Phytophthora infestans*. Fotos tomadas en el laboratorio de la Universidad Internacional Sek.



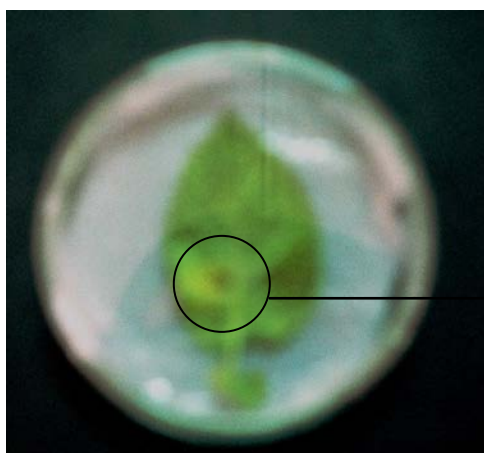
***Phytophthora infestans* Mont de Bary.**

Anexo 3. Incubación de las hojas de papa de la variedad Gabriela inoculadas con *Phytophthora infestans*, presentando lesión. Fotos tomadas en el laboratorio de la Universidad Internacional Sek.

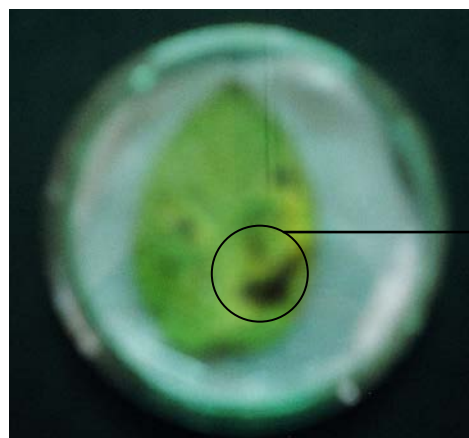


Incubadora con hojas de papa de la variedad Gabriela.

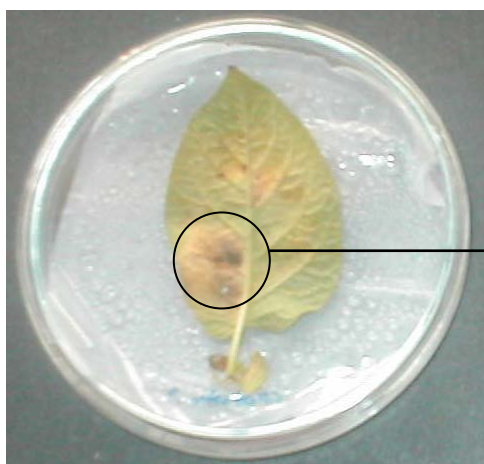
Anexo 4. Hojas de papa de la variedad Gabriela inoculadas con *Phytophthora infestans*, presentando lesión. Fotos tomadas en el laboratorio de la Universidad Internacional Sek.



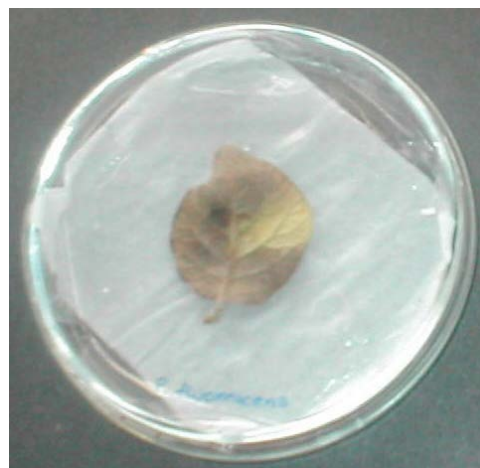
Lesión por
P. infestans



Lesión por
P. infestans



Lesión por
P. infestans



Lesión producida por *Phytophthora infestans*.

