

R  
06  
7(1693)  
C.3

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE PARASITOS DE  
Ascochita sp EN CULTIVOS DE ARVEJA CHINA**

**INFORME DE TESIS**

**PRESENTADO POR**

**BERTA ALICIA MAGARIN CARTAGENA**

**PARA OPTAR AL TITULO DE**

**QUIMICO BIOLOGO**

**PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central**

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 1,995**

JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIA	LICDA. ELEONORA GAITAN IZAGUIRRE
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. MIGUEL ORLANDO GARZA SAGASTUME
VOCAL IV	BR. ANA MARIA RODAS CARDONA
VOCAL V	BR. HAYRO OSWALDO GARCIA GARCIA

DEDICO ESTA TESIS.

A MI PATRIA.

A MIS CENTROS DE ESTUDIOS.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA.

A LA FACULTAD DE AGRONOMIA.

A MIS CATEDRATICOS.

A MIS ASESORES            INGENIERO AGRONOMO GUSTAVO ALVAREZ  
   LICENCIADO JORGE LUIS DE LEON.

A MIS AMIGOS            GUADALUPE MENDOZA DE ARENALES.  
   SILVIA AMPARO ESCOBAR.  
   ANGELICA GALVEZ DE BLANCO.  
   ROBERTO ARENALES.  
   ESTUARDO AREVALO.  
   ERWIN AREVALO.  
   ABRAHAM JUAREZ.

DEDICO ESTE ACTO.

AL SER SUPREMO.

A MIS PADRES

JULIO CESAR MAGARIN ROSALES  
BERTA MARINA CARTAGENA DE MAGARIN.  
quienes han hecho posible alcanzar  
esta etapa de mi vida, gracias a  
su amor y sacrificios.

A MIS HERMANOS

JULIO CESAR, INGRID MARINA Y RAUL  
por su cariño, confianza y apoyo  
incondicional.

A MI ESPOSO

HENRY FERNANDO  
con amor y agradecimiento por ser  
el compañero de mi vida y darle un  
sentido especial.

A MI HIJO

JORGE FERNANDO  
que este pequeño logro le sirva  
como ejemplo para su vida.

A MI SOBRINO

MARIO RAUL CHACON  
con cariño especial.

A MIS SUEGROS

VICTOR SALGUERO  
ETELVINA DE SALGUERO  
por brindarme su hogar, aprecio y  
apoyo.

A MIS CUÑADOS

HERCILIA, JORGE, ALVARO Y OSWALDO  
por su aprecio.

## AGRADECIMIENTOS

A LAS PERSONAS E INSTITUCIONES QUE CON SU VALIOSA COLABORACION. PERMITIERON LA REALIZACION DE LA PRESENTE INVESTIGACION.

INGENIERO AGRONOMO FRANCISCO MONTERROSO.

INGENIERO AGRONOMO ALVARO HERNANDEZ.

LICENCIADO ROMULO EDGARDO DE NES LORENZANA.

LICENCIADA SILVIA ESCOBAR.

PERSONAL DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA.

PERSONAL DEL LABORATORIO DE FITOPATOLOGIA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA.

FACULTAD DE AGRONOMIA.

LABORATORIO CLINICO CITOLAB.

AGRICULTORES DEL DEPARTAMENTO DE SACATEPEQUEZ.

## INDICE

1.	RESUMEN	1
2.	INTRODUCCION	2
3.	ANTECEDENTES	4
3.1	Generalidades sobre la arveja	4
3.2	Características	5
3.3	Cultivo	6
3.4	Plagas	6
3.5	Enfermedades	7
3.6	Control de Enfermedades producidas por <u>Ascochita</u> sp	11
4.	JUSTIFICACIONES	21
5.	OBJETIVOS	22
6.	HIPOTESIS	23
7.	MATERIALES Y METODOS	24
8.	RESULTADOS	29
9.	DISCUSION DE RESULTADOS	30
10.	CONCLUSIONES	32
11.	RECOMENDACIONES	33
12.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	34
13.	ANEXOS	41

1 RESUMEN.

Se realizó un muestreo de tejido sano y enfermo de arveja china así como del suelo donde se cultiva, con el fin de aislar los microorganismos de la microbiota que puedan ser parásitos del hongo Ascochita sp. El aislamiento se llevó a cabo en agar papa-dextrosa para hongos y agar nutritivo para bacterias.

El cultivo puro del patógeno Ascochita sp fue aislado de tejido enfermo de arveja china en agar papa-dextrosa, identificado en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Las pruebas para establecer la capacidad parasitaria de los 204 microorganismos aislados se realizaron en cajas con agar papa-dextrosa utilizando la técnica propuesta por Baker y Cook (2). Se sembraron cuatro microorganismos por caja y de cada grupo se hicieron tres repeticiones y siembras de Ascochita sp como control.

Las lecturas se efectuaron después de haberse incubado durante ocho días a una temperatura de 30° C y se evaluó el crecimiento de los microorganismos con respecto al hongo Ascochita sp. No se observó efecto parasitario en ninguno de los microorganismos aislados sobre el patógeno.

## INTRODUCCION.

El uso indiscriminado de productos químicos para el control de las diversas enfermedades de cada cultivo, es un motivo de preocupación para las instituciones agrícolas y de salud. Los plaguicidas se han convertido en un peligro para la salud humana, y han ocasionado una pérdida considerable de las cosechas, cuando éstas son rechazadas por la presencia de estos productos en la misma (1).

En Guatemala, el cultivo de arveja china, se ha convertido en una alternativa para mejorar las condiciones económicas de los productores. Actualmente, el agricultor se enfrenta a daños severos producidos en la arveja china por los ataques del hongo Ascochita sp. el cual ocasiona la aparición de manchas oscuras sobre las hojas, tallo y vainas; provocando una disminución del rendimiento y un incremento de los costos, ya que para contrarrestar estos efectos, se realizan aplicaciones de fungicidas a intervalos frecuentes (1).

Por ello, se han desarrollado prácticas integrales de control, las cuales incluyen el control biológico, el cual se ha practicado en varios países en los últimos 70 años, con muy buenos resultados. La implementación de un control biológico requiere primero del aislamiento de microorganismos que parasiten o inhiban el desarrollo del patógeno de interés y disminuyan los daños producidos en los



cultivos, así como también reducir el uso de plaguicidas que incidan en beneficio del medio ambiente (2.3.4).

El objetivo del presente estudio fue aislar microorganismos parásitos biocontroladores de Ascochita sp a partir de muestras de tejido sano y enfermo de hojas, tallo y raíz de plantas de arveja china, así como del suelo donde se cultiva. Con ese propósito se utilizaron medios no selectivos para el aislamiento de hongos y bacterias, obteniéndose 204 microorganismos de las 100 muestras procesadas. En las pruebas in vitro efectuadas para observar la efectividad de los mismos como parásitos de Ascochita sp, no se obtuvo respuesta positiva en ninguna de ellas.

### 3 ANTECEDENTES

#### 3.1 Generalidades sobre la arveja.

La arveja (Pisum sativum), también conocida como chicharo o guisante, es una leguminosa muy consumida por su importancia nutricional. El origen exacto es incierto, posiblemente proviene de Europa, Asia Occidental o de Etiopía; aunque la literatura griega ya la menciona en el año 370 AC. Actualmente, se cultiva en todo el mundo, consumiéndose sus semillas en estado fresco y tierno, aunque también existen variedades en las que se aprovechan las semillas y la vaina (5,6,7).

La arveja china se ha constituido en un cultivo de mucha importancia para Guatemala, donde existen condiciones adecuadas para el cultivo, especialmente en los departamentos de Sacatepéquez y Chimaltenango. Su producción cubre los requerimientos de consumo nacional y los de exportación, principalmente a Estados Unidos (1,5).

Además de generar divisas para el país, brindar fuentes de trabajo y constituir una alternativa económica para los agricultores el cultivo de la arveja china también podría incrementar los niveles de nitrógeno en el suelo, mejorando su fertilidad. Esto brinda una alternativa adecuada para hacer efectiva la rotación de cultivos.(1,8).

### 3.2 Características.

#### 3.2.1 Clasificación.

La arveja china pertenece al reino Plantae. División Embryophyta, subdivisión Diploidea, clase Angiosperma, sub-clase Dicotiledonea, orden Leguminales, familia Fabacea, sub-familia Papilionoideae, género Pisum, especie Sativum, variedad Macrocarpum (9-12).

#### 3.2.2 Botánicas.

La arveja consta de una raíz pivotante y extensas ramificaciones que sustentan el crecimiento y desarrollo de bacterias fijadoras de nitrógeno. Su tallo es trepador, anguloso y está vacío por dentro; su altura va de 0.5 a 1.5 m. según sea la variedad (5,6,9,10).

Sus hojas son compuestas con dos o tres pares de folíolos, que terminan en zarcillos ahorquillados; en la base tiene dos grandes estípulas acorazonadas, que tienen el borde dentado. Las flores son grandes, con corola papilionácea, se insertan por medio de un largo pedúnculo a la axila de las hojas (5,6,9,10).

Los frutos tienen forma de vaina o legumbre subcilíndrica, algo comprimida y terminada en una pequeña curva. En su interior se encuentran las semillas que constituyen la parte comestible de la planta, son casi esféricas, de más o menos 0.7 cm. de diámetro. Están formadas en su mayor parte por dos hojas seminales o cotiledones bien desarrollados y son altamente nutritivas (5,6,9,10).

### 3.3 Cultivo.

La arveja es una planta resistente al frío y poco tolerante a la sequía; vegeta bien en clima templado caliente, húmedo y entre 1,500-2,700 MSNM. La temperatura óptima promedio para su desarrollo es de 15° a 18° C; con un rango de 7°-24° C. Altas temperaturas pueden reducir el peso y tamaño de la semilla (1,5,6,13,14).

La arveja es muy sensible a suelos pobres y se adapta a gran variedad de suelos, con excepción de aquellos muy compactos (arcillosos) y con drenaje defectuoso. Prefiere suelos francos, franco-arcillosos, fértiles, profundos y bien drenados con un pH de 6-7 (1,5,14,15).

### 3.4 Plagas.

El cultivo de arveja china es atacado por plagas del suelo, del follaje, y del fruto.

En el suelo, el gusano nochera (Agrotis sp. y Prodenia sp), la gallina ciega (Phylophaga spp), y los nemátodos son plagas que ocasionan grandes pérdidas en las cosechas (5,7,14).

Entre las plagas del follaje se pueden mencionar los gusanos masticadores como Trichoplusia ni, Spodoptera exigua, Diabrotica sp y Agromyza sp; y los gusanos chupadores como Frankiniella sp, Thrips sp, Aphis sp y ácaros o arañas rojas (5,6,10,14).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

En las vainas se presenta el gusano barrenador de la vaina Maruca pestususu<sup>LASIS</sup><sub>LOSTIS</sub> y el gusano barrenador de los X

brotos Epinotia apodema y Citlia fabinova (6,10).

3.5 Enfermedades

El peligro de un serio ataque por cualquiera de las enfermedades, aumenta considerablemente si la arveja se cultiva constantemente en un mismo campo. Para prevenir este problema el periodo minimo que debe transcurrir entre dos cultivos de arveja es de cuatro años (1,9,14).

3.5.1 Mildiu polvoriento:

Esta enfermedad es causada por Erysiphe polygoni, se reconoce porque en hojas y tallos se observan manchas blanquecinas que en estado avanzado forman una especie de moho o cenicilla blanca que las cubre completamente. Si no se toman medidas de control, los rendimientos se reducen en un gran porcentaje, pudiéndose perder toda la cosecha (5,14,16).

3.5.2 Tizón bacteriano:

Se manifiesta por el apareamiento de numerosas manchas en las vainas y hojas, son de color café humedecidas y en el centro se forma una exudación vellosa. Es causada por Pseudomona pisi, y se distingue de Ascochita sp en que las manchas son menos circulares, menos deprimidas y no presentan masas de esporas. Las bacterias son diseminadas por el viento (5).

### 3.5.3 Mal del talluelo:

Producida por los géneros Pythium sp, Rhizoctonia sp y Fusarium sp se presentan pocos días después de germinado el cultivo, se manifiesta como una lesión en la base de los tallos, casi a ras del suelo, las plantas se marchitan y mueren. Si no se toman medidas de control, puede perderse hasta el 75% de la plantación. Los hongos viven en el suelo y los excesos de humedad favorecen su desarrollo (5,17).

### 3.5.4 Marchitez por Fusarium Oxisporum fsp. pisi

El marchitamiento es causado por un hongo del suelo que ataca a las plantas a través de sus raíces: se manifiesta por amarillamiento gradual del tallo y follaje. La enfermedad se inicia desde la base en una forma de secamiento que avanza de abajo hacia arriba hasta cubrir toda la planta y provocarle la muerte (5,14).

### 3.5.5 Enfermedad por Ascochita sp.

Existen tres enfermedades en la arveja provocadas por especies del género Ascochita. La más frecuente es A. pisi, descrita por Libert en 1830; éste patógeno produce la enfermedad conocida como Mancha oscura, Moteado foliar o Antracnosis. Se manifiesta preferentemente en hojas y vainas, a veces en tallos y difícilmente en raíces; en las hojas produce lesiones de color pardo con zona marginal de color pardo más oscura y presencia de picnidios oscuros en la parte central. Las hojas muy atacadas mueren, mientras que en las vainas se forman surcos tan profundos que pueden

alcanzar las semillas (1,5,9,16,18,20).

El tizón de la arveja es producido por la fase perfecta de A. pinodes denominada Mycosphaerella pinodes descrita en 1841 por Berkely y Blokam. Este patógeno puede atacar todos los órganos de la planta; se presenta como pequeñas manchas purpúreas y sin bordes definidos o bien manchas de hasta 6 mm de diámetro. Las hojas pueden morir, secándose por completo y quedándose adheridas al tallo. Las lesiones en el tallo son de color parecido, pero más alargadas, en muchos casos se extiende hacia arriba y abajo del punto de inserción del peciolo. Las semillas infectadas no presentan síntomas o en algunos casos, se limitan a grados de contracción de la testa y coloraciones anormales (1,5,9,14,18).

La especie de A. pinodella descrita por L.K. Jones en 1927 y posteriormente designada como Phoma medicaginis var pinodella, produce la podredumbre del pie de la planta. El síntoma más característico es la podredumbre de la base, en la parte aérea, los síntomas son semejantes a los del tizón pero por regla general, menos abundantes (9,18,19).

El género Ascochita pertenecen a la clase Deuteromycetes, en el cual se encuentra el mayor porcentaje (49.3%) de hongos fitopatógenos y al orden Sphaeropsidales. Se reproducen por medio de conidias, llevadas en los picnidios, las cuales son hialinas y bicelulares, pero difieren en tamaño y/o forma (18,19,21,22).

Las picnidiosporas de A. pinodes y A. pinodella son semejantes en la forma, pero difieren en tamaño, las de A. pisi y A. pinodes se diferencian en la forma, siendo las primeras más angostas y largas. En el Anexo 1 se muestran los estados de conidias y ascosporas de A. pinodes (1.9.18,-19).

Las conidias de las tres especies de Ascochita sp se muestran en el Anexo 2, donde se presentan las dimensiones de cada una, así como el rango y el promedio. En general las picnidiosporas de A. pinodes son más grandes, las de A. pisi son intermedias y las de A. pinodella son más pequeñas (9.18,19,23)

Estudios realizados han demostrado que A. pisi es capaz de producir sustancias conocidas como micosporinas, las cuales se han asociado a una rápida esporulación del hongo cuando se expone a una longitud de onda cercana a la luz ultravioleta. Sin embargo, aún no se conoce exactamente el papel que juegan las mismas (24).

El ciclo biológico es semejante para las tres especies de hongos, con la diferencia que A. pinodella tiene su forma sexual. La fuente primaria de la infección la constituyen semillas y rastrojos infectados, materiales donde pueden permanecer los tres patógenos (1.9.18).

Cuando las semillas han sido invadidas por M. pinodes, se produce podredumbre basal que a menudo mata a las plantas, y los restos de éstas contribuyen para el desarrollo y disseminación de las picnidiosporas.



En el caso de A. pisi, las lesiones primarias aparecen en las hojas inferiores (1,9,18).

Para evitar la implantación de cualquiera de las especies de Ascochita, la medida de control más importante es contar con semillas sanas, que procedan de climas secos, donde no se presente la enfermedad. También son importantes las medidas culturales encaminadas a: eliminar rastrojos infectados, mantener buen drenaje de los suelos, rotar los cultivos para evitar la siembra de arveja en la misma tierra más de una vez cada 4 ó 5 años, y si es necesario realizar tratamiento químico a la semilla (5,9,18).

3.6 Control de Enfermedades producidas por Ascochita sp.

3.6.1 Control Químico.

En Guatemala, el control es a base de productos químicos principalmente, lo cual ha provocado que mercados internacionales rechacen los embarques del producto por contener una alta contaminación con residuos de productos fungicidas no permitidos; o bien, niveles muy altos de los permitidos. En 1989, la exportación de arveja china a Estados Unidos fué detenida por tener niveles de pesticidas inaceptables por la FDA (Food and Drug Administration). Los fungicidas utilizados pertenecen al grupo de plaguicidas denominados, Ditiocarbamatos siendo los más utilizados el Maneb, Mancoceb, Ziram, (1,5,15,25,26).

Tomando en cuenta estos elementos, la producción nacional, y aquellas destinadas a la exportación, deben ser controladas con relación a niveles de plaguicidas presentes en el producto, o bien, implantar un método de control no químico que evite las pérdidas por contaminación y sea más económico, como el control biológico (27).

### 3.6.2 Control Biológico.

#### 3.6.2.1 Definición.

El control biológico o biocontrol de fitopatógenos se define como la reducción de la densidad del inóculo o partes activas o en estado inactivo de un patógeno capaz de producir enfermedad; por la acción de uno o más microorganismos, acomplexados naturalmente o por manipulación del ambiente, huésped o antagonistas (4,28,29).

Sin embargo, el control de fitopatógenos es complicado, debido a los múltiples factores que interactúan en el triángulo clásico de una enfermedad (30). La idea del empleo de este método no es nueva, puesto que Bassi, en 1835, demostró la infección natural de Bombix mori y otros insectos por el hongo Bauveria bassiana. Posteriormente Metchnikoff en 1879, realizó ensayos para el control de Anisoplia austriaca, con otro hongo, Metarrhizium anisopliae y en 1888, Krassil Stchik, produjo esporas del mismo hongo y las utilizó para el control de insectos en el campo (3,25).

### 3.6.2.2 Factores involucrados en el control biológico.

El hospedero, el patógeno o parásito, el ambiente físico y el antagonista, son factores que juegan un papel importante en el desarrollo del control biológico (2).

El hospedero juega un doble papel, ya que proporciona el ambiente tanto para el desarrollo del patógeno como para sus antagonistas. La habilidad de las raíces de la planta para adaptarse al ambiente también influyen en la susceptibilidad de la misma ante la enfermedad. Así mismo, los residuos de las plantas contribuyen al control biológico cuando son eliminadas para evitar que almacenen al patógeno y en algunos casos contribuyen estimulando a los microorganismos antagonistas. La resistencia del hospedero es la defensa biológica ideal contra los patógenos, sin embargo, este control no siempre es efectivo y estable (2).

El patógeno o parásito puede jugar el papel de agresor, co-agresor (ayudando a otro patógeno o parásito) o parásito inactivo; cada uno de estos papeles los asume según su genética, el ambiente físico y los organismos que lo rodean, incluyendo al hombre. Los fitopatógenos se adaptan a sus alrededores bióticos y abióticos y no son fácilmente extinguidos por manipulación del ambiente; explotan cada una de sus ventajas y su versatilidad es una capacidad que dificulta el control biológico (2).

Quando el ambiente favorece al hospedero y ~~mantiene~~ su resistencia por microorganismos facultativos, se da un

control biológico; mientras que si el ambiente afecta directamente al patógeno y realiza un control de la enfermedad, no se da un control biológico, ya que no se realiza por medio de otros microorganismos (2).

Finalmente es importante indicar que el antagonista va a ejercer su influencia sobre los patógenos, através de mecanismos tales como: competición, parasitismo o bien por antibiosis; aunque generalmente los microorganismos saprófitos son los que funcionan como antagonistas (2).

#### 3.6.2.3 Formas de antagonismo.

El parasitismo o depredación es el tipo de antagonismo que existe, cuando un organismo vive a expensas de otro provocando daño o inclusive la muerte; los parásitos y depredadores tienen un valor cuestionable como antagonistas en infecciones primarias de fitopatógenos, sin embargo, resultan ser efectivos contra patógenos que han sobrevivido o que se han esparcido secundariamente, ya que cuentan con mayor tiempo para el contacto y destrucción del patógeno (2.31).

La antibiosis, inhibición de un organismo por el metabolito de otro, presenta como ventajas: una mayor difusión de la substancia tóxica a través de las capas de agua o si son volátiles a través del aire; por lo que el contacto entre el antagonista y el patógeno no es necesario. Además, el efecto permanece aún cuando el microorganismo que la produce haya muerto (2).

Los antibióticos sustancias orgánicas producidas por microorganismos, a bajas concentraciones inhiben el crecimiento o actividades metabólicas de otros microorganismos hasta provocarles la muerte (2,31,32).

Otro tipo de antagonismo es la competencia, la cual se produce cuando un organismo, el competidor, realiza un efecto indirecto perjudicial sobre otro microorganismo; ya sea por una competencia por oxígeno, agua, nutrientes y/o espacio. Según Clark, los microorganismos no compiten por agua, ni por espacio, y raramente por oxígeno pero que "basicamente esta competencia se dá por un substrato específico y bajo condiciones específicas (2,33).

Sin embargo en términos de control biológico, la competencia por oxígeno, nutrientes y posiblemente espacio, es importante. Para un sistema de control biológico, son útiles aquellos microorganismos que compiten rápidamente agotando el suministro de oxígeno con lo cual se logra un efecto antagonista útil. Además de lograr niveles bajos de nutrientes, la tolerancia del patógeno a los antibióticos se afecta grandemente; por tanto al usar ambos efectos combinados se puede lograr un control biológico de patógenos con antagonistas (2).

#### 3.6.2.4 Clases de antagonistas.

Entre los antagonistas se consideran las bacterias, actinomicetes, hongos, virus, plantas mayores y microfauna predadora como los protozoos, nemátodos y ácaros (2, 3).

Las bacterias constituyen el grupo de mayor importancia que exceden en número y peso a cualquier otro grupo de microorganismos del suelo, su capacidad de crecimiento es rápida y porque poseen la habilidad para utilizar diferentes formas de nutrientes bajo diferentes condiciones (2,3).

Además se debe considerar la velocidad de multiplicación de las bacterias como respuesta a los nutrientes, ya que éstas compiten con otros microorganismos por los nutrientes (2,4).

Sin embargo, los hongos han recibido más atención como antagonistas, debido a su fácil manejo e identificación en comparación con las bacterias. Son efectivos en competencia y parasitismo, y algunos son capaces de producir antibióticos. Los hongos saprófitos del suelo tienen una capacidad competitiva elevada, crecen rápidamente en sustrato orgánico seco, ácido y suelos de textura rústica (2).

#### 3.6.2.5 Aislamiento de Antagonistas.

Se han descrito diferentes métodos para el aislamiento de antagonistas para el control tanto de patógenos del suelo como de patógenos foliares. En general, las técnicas usadas son relativamente simples y no requieren de equipo caro o complicado, ni de un apoyo financiero elevado (2,34).

Baker propone un método de dilución en cajas de petri, para el aislamiento de antagonistas del suelo, el

cual consiste en mezclar 1 gramo de muestra en 10 ml de agua durante 15 minutos, se deja sedimentar la muestra y del sobrenadante se toman alicuotas de 0.1 ml que se siembran en diluciones en agar de papa-dextrosa. Pueden utilizarse técnicas para suprimir hongos como Mucor y Rhizopus que cubren las cajas de petri, entre los que se recomienda tratamiento con calor (2).

El tejido de las plantas (hojas, tallo, raíz) pueden ser colonizados por microorganismos saprófitos (bacterias, levaduras y algunos hongos), los cuales no afectan la planta pero pueden ser antagonistas o bien estimular a microorganismos patógenos; algunos de estos microorganismos poseen un gran potencial para controlar patógenos de las plantas (34).

Para el aislamiento de antagonistas del tejido de plantas se puede proceder según el método propuesto por Barker para muestras del suelo, o bien lavar el tejido con agua destilada estéril y sembrar el agua de lavado en un medio adecuado. Slesman y Leben encontraron que el número de microorganismos aumenta si el tejido es macerado en un mortero con agua, preparando tres diluciones en serie y sembrando una porción de cada dilución en la superficie del medio (34).

#### 3.6.2.6 Aislamiento de Ascochita sp.

Las tres especies de Ascochita sp crecen en varios medios de cultivo, siendo el agar papa-dextrosa el

más utilizado, y en un rango de temperatura de 16° a 24° C. Pueden distinguirse por algunas características fijas, sin embargo, características como el tamaño, es variable y pueden causar confusión en la identificación (9).

Las siguientes características pueden ser de gran utilidad en la identificación de las tres especies de Ascochita sp:

- a) Ascochita pisi: sus picnidiosporas son de color café claro, de paredes delgadas; las esporas son hialinas, con un septo en el cual se observa una constricción y sus extremos son redondeados. Miden de 10-16 x 3-5 um, con un promedio de 4.2 x 14 um. En los extremos de cada conidia se pueden observar dos glóbulos de aceite. La colonia es de color claro y la masa de esporas se observa de color zanahoria (9).
- b) Mycosphaerella pinodes: el peritecio es de color café oscuro y globoso, el asca es cilíndrica y contiene ocho ascosporas hialinas, redondeadas con una constricción en el septo. Las picnidiosporas son hialinas y elipsoidales con un septo, pero pueden presentar dos o tres, contienen numerosos glóbulos de aceite. Miden de 8-16 x 3-6.5 um; con un promedio de 4.5 x 12.3 um. Las colonias varían, en general son claras a grisáceas, y frecuentemente crecen en círculos. El color y la textura varían en proporción a la producción de picnidios y micelio (9).
- c) Phoma medicaginis var. pinodella: sus picnidios



son globosos, de color café o negro; las conidias miden de 4.5-8 x 2-3 um. son hialinas, ovales o cilíndricas, ocasionalmente presentan un septo y tienen los extremos redondeados con glóbulos de aceite similar a los encontrados en A. pisi. La colonia es gris oscura, la cual se torna negra al madurar (9).

#### 3.6.2.7 Estudios sobre Ascochita sp.

En varios países se han realizado ensayos para obtener variedades resistentes al ataque de Ascochita sp; probando el comportamiento de cada variedad frente a las tres especies. Así mismo, se ha podido extraer una fitoalexina llamada Pisatina de plantas infectadas con A. pisi; la cual presenta propiedades fungitóxicas. De esta manera se ha observado que el huésped reaccionará a la enfermedad cuando la misma infección estimula la producción de fitoalexina capaz de inhibir al patógeno (9,18,25,32,35).

Sin embargo, la literatura no reporta estudios sobre antagonistas de Ascochita sp realizados en otros países, aún cuando la enfermedad se presenta en diferentes países donde se cultiva la arveja china.

#### 3.6.2.8 Aplicaciones del Control Biológico.

La aplicación de un control biológico reduce el número o la habilidad del patógeno para producir una enfermedad, pero raramente elimina al patógeno del lugar (2).

Preparaciones de Trichoderma harzanium se han utilizado como plaguicidas microbiológicos en el control de en-

fermedades causadas por Phytium, Sclerotium, Rhizoctonia y patógenos de semilleros. En los últimos años, se han realizado estudios sobre el efecto de cepas aisladas del suelo sobre fitopatógenos cuyo hábitat es la superficie del suelo (2.36,37).

Utkhede en 1986, obtuvo resultados positivos in vitro, logrando inhibición de patógenos del género Botrytis, Colletotrichum, Phytium, Monilinia, Penicillium, Rhizoctonia, Alternaria, Sclerotinia, Venturia y Sclerotium, utilizando preparaciones de Bacillus subtilis y de Enterobacter aerogenes. En Estados Unidos, también se han utilizado efectivamente cepas de Bacillus contra Uromyces phaseoli, el cual causó grandes pérdidas en las cosechas de frijoles en 1981 (38, 39)

El control biológico de la podredumbre de la manzana causada por Phytotora cactorum, se ha establecido aplicando un antagonista bacteriano denominado B-8. Con ello se ha logrado disminuir esta enfermedad que causa serios problemas en varios lugares del mundo (40).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 GENERAL

Identificar posibles parásitos de Ascochita sp. presentes en la microbiota del tejido sano y enfermo de la arveja china, así como del suelo donde se cultiva.

### 5.2 ESPECIFICOS

Determinar el grado de parasitismo que puedan tener los microorganismos aislados de la microbiota del tejido de la arveja china y del suelo donde se cultiva.

6

## HIPOTESIS

En la microbiota bacteriana y fúngica, del tejido sano y enfermo de arveja china y del suelo donde se cultiva, existen algunos microorganismos capaces de parasitar al hongo Ascochita sp.

## 7. MATERIALES Y METODOS.

### 7.1 Universo de Trabajo.

El universo de trabajo lo constituyeron los microorganismos aislados del muestreo al azar realizado en parcelas de cultivos de arveja china, localizadas en el departamento de Sacatepéquez, con el objeto de encontrar bacterias y hongos que ejercen un efecto parasitario sobre el hongo Ascochita sp.

### 7.2 Medios.

#### 7.2.1 Recursos humanos.

Berta Alicia Magarin Cartagena (investigadora).

Ing. Agr. Gustavo Adolfo Alvarez (asesor).

Lic. Jorge Luis De León (co-asesor).

#### 7.2.2 Recursos materiales.

##### 7.2.2.1 Reactivos.

-Agua destilada estéril.

-Caldo papa-dextrosa.

-Caldo nutritivo.

-Agar nutritivo.

-Agar papa-dextrosa (39).

-Solución cristal violeta (Hucker).

-Solución de lugol.

-Alcohol acetona.

-Solución safranina (Hucker).

#### 7.2.2.2 Equipo

- Incubadora Equatherm C.M.S. Modelo C-1485 a 37°C.
- Campana bacteriológica, Laboratorio de Investigación, Fac. de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Balanza semianalítica, rango 10 gramos, precisión decigramos.
- Cajas de petri de vidrio.
- Erlenmeyer de 250 ml.
- Erlenmeyer de 500 ml.
- Erlenmeyer de 1000 ml.
- Mechero Bunsen.
- Microscopio binocular.
- Asas bacteriológicas.
- Asas micológicas.
- Tubos de 150 x 10 mm con tapón de rosca.
- Tubos de 100 x 10 mm con tapón de rosca.
- Pipetas serológicas de 1 ml.
- Pipetas serológicas de 10 ml.
- Probeta de 50 ml.
- Bolsas plásticas estériles de 1 libra.
- Varillas de vidrio.

#### 7.2.2.3 Recursos Institucionales.

- Facultad de Agronomía.
- Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Laboratorio Citolab.

### 7.3 Procedimiento.

#### 7.3.1 Aislamiento del Patógeno.

El patógeno Ascochita sp se aisló de muestras infectadas procedentes de un cultivo de arveja china, localizada en el área de Sacatepéquez, en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos. (4).

#### 7.3.2 Aislamiento de posibles Antagonistas.

En el departamento de Sacatepéquez se tomaron al azar cinco parcelas de cultivos de arveja china, de los municipios de San Bartolomé Milpas Altas, Santa Lucía Milpas Altas, Santiago Sacatepéquez, San Lucas Sacatepéquez y Sumbango de las cuales se escogieron 5 plantas al azar (Anexo 4.5). Se tomó una muestra de hoja, tallo y raíz de cada planta y una muestra del respectivo suelo donde esta cultivada: con lo cual se obtuvieron 20 muestras de cada parcela, para hacer un total de 100 muestras en las cinco parcelas (2,31,40-43).

Cada una de las muestras fueron numeradas indicando el lugar de procedencia, y luego se les procesó de la siguiente forma:

-Se pesaron las raíces, tallos y hojas de cada planta y se colocaron en una cantidad de agua estéril necesaria para obtener una dilución 1:10. De las muestras de suelo se pesaron 3 gramos y se colocaron en 27 ml de agua estéril contenida en un erlenmeyer de 250 ml. para obtener la dilu-

ción 1:10 correspondiente.

-Se mezcló manualmente durante 15 minutos y luego se dejó sedimentar.

-Del sobrenadante se tomó un mililitro y se añadió a 9 ml. de agua destilada estéril, para obtener una dilución 1:100.

-A partir de las diluciones 1:100 se prepararon diluciones 1:1000.

-Una vez preparadas las tres diluciones de cada muestra se homogenizó cada dilución y de cada una se tomó un mililitro para el aislamiento de hongos, y un mililitro para el aislamiento de bacterias. Se utilizaron 15 ml de agar nutritivo para el aislamiento de bacterias, y 15 ml de agar papa-dextrosa en el caso de los hongos.

-Cada caja se homogenizó manualmente y se dejó en reposo hasta que se solidificó el medio.

-Cuando el medio se solidificó, todos los cultivos se incubaron a 30° C y se evaluaron cada 24 horas para aislar los microorganismos.

-Se aislaron cada una de las colonias macroscópicamente diferentes presentes en cada cultivo y se inocularon en medios contenidos en tubos con tapón de rosca.

### 7.3.3. Pruebas de Antagonismo.

Para realizar las pruebas de antagonismo se prepararon cultivos de Ascochita sp, y cultivos puros de cada uno de los microorganismos aislados.



Para establecer el efecto antagónico de los microorganismos sobre el hongo Ascochita sp se prepararon cuatro cajas de agar papa-dextrosa, de las cuales tres se utilizaron como prueba y una como control. En las cajas de prueba se sembraron cuatro microorganismos, uno en cada extremo de la misma y en el centro se sacó un cuadro de agar de 0.5 x 0.5 mm donde se colocó un cuadro de las mismas dimensiones obtenido de un cultivo de Ascochita sp.

Los cultivos de prueba así como los controles, se incubaron a 30 ° C y se evaluaron cada 24 horas para observar el crecimiento de los microorganismos con respecto al hongo Ascochita sp.

#### 7.4 Diseño de Investigación.

##### 7.4.1 Muestreo.

El muestreo se realizó completamente al azar, tomando cinco parcelas del departamento de Sacatepéquez; de cada parcela se eligieron al azar cinco plantas, a las cuales se le tomaron muestras de hojas, tallo, raíz y del suelo donde se encontraban cultivadas.

##### 7.4.2 Análisis de Datos

Se analizó el crecimiento de los microorganismos aislados con respecto al patógeno Ascochita sp, con el fin de determinar si alguno presentaba un efecto antagónico parasitario sobre el mismo.

## 8 RESULTADOS

De las cien muestras de hojas, tallo, raíz y suelo obtenidas de parcelas de cultivo de arveja china del departamento de Sacatepéquez se obtuvieron un total de 204 microorganismos: 127 hongos y 67 bacterias; los cuales fueron aislados en agar papa-dextrosa y agar nutritivo.

Así mismo se determinó que la cepa de Ascochita aislada de hojas atacadas con mancha oscura obtenidas de cultivo de Arveja China del área de estudio, fué Ascochita pinodes. La identificación se llevó a cabo en base a las características anatómicas y morfológicas presentadas por la colonia aislada. Esto concuerda con el estudio realizado en 1994 por Elgueta y col. que identificaron esta misma especie como la causante de Mancha Oscura en el Departamento de Sacatepéquez. (47).

El total de microorganismos se dividió en grupos de cuatro, obteniéndose un total de 51 grupos; con los cuales se realizaron las pruebas de antagonismo. Después de ocho días de incubación se efectuó la lectura de las tres repeticiones en comparación a la de control. En todos los cultivos de prueba no se observó efecto antagónico o parasitario sobre la cepa del patógeno.

## DISCUSION DE RESULTADOS

En el muestreo realizado, se obtuvieron un total de 204 microorganismos: 127 hongos y 67 bacterias, tanto en agar papa-dextrosa como en agar nutritivo. Se aislaron un mayor número de hongos que de bacterias, ya que la baja temperatura y la humedad que se presenta en el área donde se cultiva esta leguminosa es más propicia para el desarrollo de hongos. Además debe tomarse en cuenta que se obtuvo cultivo puro de cada una de las diferentes colonias presentes en los dos medios de cultivo empleados, lo cual es más fácil en el caso de los hongos, que presenta características coloniales típicas. A diferencia de las bacterias que cepas diferentes pueden presentar características coloniales similares y únicamente realizando pruebas adicionales se puede descartar que todas las colonias pertenecen a la misma bacteria o a bacterias diferentes.

El aislamiento se efectuó entre las 24 y 48 horas de incubación y de las diluciones de 1:1000, lo cual facilitó la obtención de cultivos puros de cada microorganismo; ya que en el caso de las diluciones 1:10 y 1:100 presentaron un mayor crecimiento de colonias a las 24 horas, que dificultó obtener cultivos puros.

Para la obtención del cultivo puro de Ascochita pinodes fué necesario realizar una desinfección profunda, ya que se había presentado mucha contaminación en los aislamientos

iniciales, además de agregar antibióticos al medio y acidificarlo para evitar el crecimiento de bacterias. La colonia obtenida fué identificada observando las ascosporas que presenta el hongo al esporular, lo cual se logró estimulando la colonia con luz ultravioleta.

Aunque el presente trabajo no se encontró algún organismo antagónico o parásito no debe descartarse la implementación de control biológico en los cultivos de arveja china atacados con mancha oscura, ya que la presente investigación evaluó un reducido número de microorganismos de un área específica. Podría ser factible aislar algún microorganismo biocontrolador de Ascochita sp en las áreas de cultivo que presentan daños menos severos o bien en campos con amplio historial de monocultivo de arveja china, que hayan presentado de una u otra forma la posibilidad de desarrollo de antagonistas o de parásito de Ascochita sp.

## 10 CONCLUSIONES

- 10.1 De las muestras analizadas no se aislaron microorganismos con capacidad de parasitismo o antagonismo hacia el hongo Ascochita sp.
- 10.2 No se descarta la posibilidad de que puedan existir algunos tipos de antagonistas o parásitos del hongo Ascochita sp, para desarrollar el control biológico de la mancha oscura de la arveja china (A. pisi)

## 11 RECOMENDACIONES.

- 11.1 Realizar estudios para el aislamiento de posibles antagonistas o parásitos del hongo Ascochita sp. en áreas del país donde los cultivos de arveja china presentan una severidad menor de mancha oscura.
- 11.2 Realizar estudios en campos con amplio historial de monocultivo de arveja china, detectar dentro de los cultivos áreas donde la severidad es menor.
- 11.3 Utilizar diferentes metodologías de muestreo y de extracción de microorganismos de tejido vegetal y del suelo; así como otros medios de cultivo para el aislamiento selectivo de microorganismos.

## 12 REFERENCIAS.

- 1 Chacón F. Evaluación Combinada de Ocho Fungicidas en el Control Químico de la Ascochita sp en el Cultivo de la Arveja China. Guatemala: Universidad de San Carlos. (tesis de graduación, Facultad de Agronomía) 1989. 46 p. (p.1-25).
- 2 Baker K, Cook J. ed. Biological Control of Plant Pathogens. United States: W. H. Freeman and Company, 1974. XIV + 433 p.
- 3 National Research Council, Environmental Studies Board, Study on Problems of Pest Control. Pest Control: an Assessment of Presente and Alternative Technology. Washington: National Academic of Sciencies. Vol 5, No.1 1975. XXVIII + 506 p. (p. 345-350).
- 4 Baker K. Biological Control. 523-561 (In Mace M, Bell A, Beckman C, eds. Fungal Wild Diseases of Plant. New York: Academic Press, 1982).
- 5 Gudiel V. Manual Agrícola Superb. 6 ed. Guatemala: Litografías Modernas, 1987. 392 p. (p. 1-83).
- 6 Cojulún F. Respuesta del Cultivo de la Arveja (Pisum sativum L.) a la Aplicación de Fertilizantes. Guatemala: Universidad del Valle. (tesis de graduación, Facultad de Ciencias y Humanidades) 1984. XII + 50 p. (p.1-14).

- 7 Lees P. El Guisante. Agricultura de las Américas 1985. (9: 4-8).
- 8 Beltranena R. Evaluación de Densidades de Siembra con Nutrición Suplementaria en Arveja China (Pisum Sativum L). Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Agronomía) 1977. 27 p. (p.1-15)
- 9 Hagedorn D.J. Compendium of Pea Diseases. United States of America Phytopathological Society. 1983. IV + 57 p. (p. 1-40).
- 10 Saravia M B. Cultivo y Exportación de Arveja China de Guatemala. Guatemala: Universidad Rafael Landivar, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Agrícolas) 1988. 85 p. ( p. 3-36).
- 11 Standley P. Steyermark J. Flora de Guatemala. United States of America: Chicago National History Museum Press. 1946. Parte V. 499 p. ( p. 337).
- 12 Rojas U. Elementos de Botánica General. Guatemala: Tipografía Nacional. Vols. 3, Vol.2. 1936. 1658 p. (p. 701-1198).
- 13 Mortensen E. Bullard E. Handbook of Tropical and Sub-tropical Horticulture. Washington: Department of State Agency for International Development. 1966. VII + 260 p (p.149).
- 14 Hume W. Kramps K. eds. Producción comercial de Cebolla y Guisantes. Trad. España. 1971. 176 p. (p. 73-172)



- 15 Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola, Sector Público, Agropecuaria y de Alimentación. Recomendaciones Técnicas Agropecuarias para los departamentos de Chimaltenango. Sacatepéquez y Escuintla. Guatemala: ICTA: 1990. 37 p. (p.19-25).
- 16 Schieber E, Sánchez A. Lista Preliminar de las Enfermedades de las Plantas en Guatemala. Guatemala: Ministerio de Agricultura. Dirección General de Investigación y Extensión Agrícola. 1968. VI + 55 p. (p.7-8).
- 17 Acuña H. Manual de Enfermedades de Cultivos Tropicales. El Salvador: Centro Nacional de Tecnología de Agropecuaria, Doc. Tec. No.6. 1976. 17 p. (p.11-15).
- 18 Walker J. Patología Vegetal. 2 ed. Aguirre A. trad. Barcelona: Omega, 1965. 818 p. (p.378-383).
- 19 Sarasola A, Sarasola W. Fitopatología: Curso Moderno. Argentina: Hemisferio Sur. Vols. 4. Vol. 2, 1975. IX + 374 p. (p. 141-144).
- 20 USDA. Enfermedades de las Plantas. México: Herrero, 1963. (p.464-467).
- 21 Briggs J. Biological Regulations of Vectors, the Saprophytic and Aerobic Bacteria and Fungi. United States: Department Health, Education and Welfare. 1975. XII + 174 p. (p.111-118).
- 22 Alexopoulos J. Introductory Micology. 2 ed. New York: Wiley, 1962. 613 p. (p.401-404).

- 23 Finch H. Finch A. Los hongos comunes que atacan cultivos en América Latina. México: Trillas, 1974. 188 p. (p.16).
- 24 Arpin N. Bouillant M. Light and Mycosporines. 435-451. (in Turian G, Hol H. The Fungal Spore: Morphogenetic Controls. Inglaterra: Academic Press, 1981. XIII+670 p.
- 25 Costa J. Margheritis A. Marsico O. Introducción a la Terapéutica Vegetal. Argentina: Hemisferio Sur, 1974. 533 p. (p.15-16, 433).
- 26 Agency for International Development (AID); Office of the Agricultural Attaché (USDA). An Importer's Guide to non Traditional Agricultural Products from Guatemala. Guatemala: Centro Impresor Piedra Santa, 1989. IX + 123 p. (p.57).
- 27 Reganold J, Papendick R, Parr J. Sustainable Agriculture. Scien. Amer. 1990. 6: 72-78.
- 28 Burges H. Microbial Control of Pest and Plant Diseases. 1970-1980. New York: Academic Press, 1981. 949 p.
- 29 DeBach P. Control Biológico de las Plagas de Insectos y Malas Hierbas. Castaños C. trad. México: Continental S.A. de C.V.S. 1985. 949 p. (p. 31-35).
- 30 Baker R. Elad Y. Chet I. The Controlled Experiment in the Scientific Method with Special Emphasis on Biological Control. Am. Phyt. Soc. 1984. 47: 1019-1021.
- 31 Pelczar M, Reid R, Chan E. Microbiología. 4 ed. Capella A, Zavala J. trad. México: McGraw-Hill, 1979. XIV + 846 p.

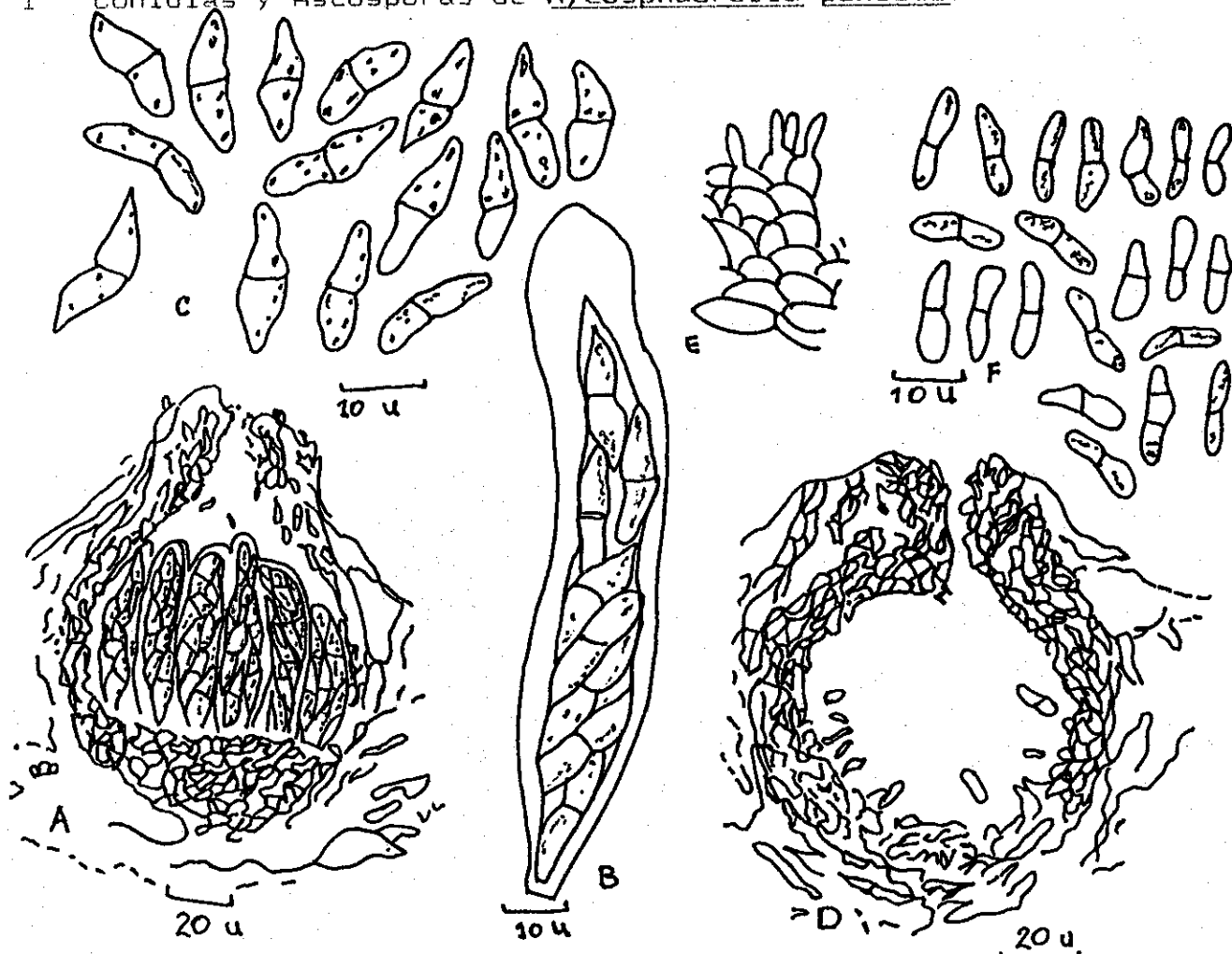
- 32 Sweetman H. The Principles of Biological Control, In-  
terrelation of Host and Pest and Utilization in Regula-  
tion of Animal and Plant Population. United State:  
Brown Company. 1958. XII + 560 p. (p. 27-29).
- 33 Deacon J. Microbial Control of Plant Pest and Diseases.  
Washington: Am. Soc. Microbiol. 1983. 87 p.
- 34 Dhingra O, Sinclair J. Basic Plant Pathology Methods.  
United State: CRC Pres. 1985. 385 p. (p.245-256).
- 35 Bailey J. Biology and Molecular Biology of Plant Pa-  
thogen Interactions. Alemania: Springer-Verlag.  
1986. X + 415 p. (p. 378-379).
- 36 García E. Control Biológico de la Roya del Café.  
Guatemala: Universidad de San Carlos. (tesis de gra-  
duación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia).  
1989. 53 p.
- 37 Chet I. et. al. Biological Control of Soilborne Plant  
Pathogens by Trichoderma Harzanium. (In Scippers and  
Gaws eds. Soilborne Plant Path. London: Academic Press  
585-591).
- 38 Utkhede R, Sholberg P. In Vitro Inhibition of Plant Pa-  
thogens By Bacillus subtilis and Enterobacter aerogenes  
and in vivo control of Two Postharvest Cherry Diseases.  
Can J. Microbial 1986. 963-967.
- 39 Baker C, Stavely J, Mock N. Biocontrol of Bean Rust by  
Bacillus subtilis under Field Conditions. Plant Disea-  
ses. 1985. 69: 770-772.

- 40 Utkhede R. Effect of Bacterial Antagonist on Phytophthora Cactorum and Apple Crown Rot. *Phytopath.* 1984. 169-175.
- 41 Ministerio de Agricultura, Ganaderia y Alimentación. Dirección General de Servicios Agrícolas. Dirección Técnica de Sanidad Vegetal. Programa de Exportación e Importación con Productos Agrícolas del Comercio Internacional. Programa E.I. 8919. 1989. 62 p. (p.27).
- 42 Rodriguez E. Aguilera R. Elaboración de Medios Básicos de Cultivo. Guatemala: Universidad de San Carlos (mimeografiado, Facultad de Agronomía) 1984. 4 p.
- 43 Alvarez G. Aislamiento de Ascochita sp de Tejido Enfermo de arveja china. Ingeniero Agrónomo. Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales. 1992. Comunicación Personal.
- 44 Klement A. Solymosy F. ed. *Methods in Plant Pathology; with Special Reference to Breeding for Diseases Resistance.* New York: Elsevier Scientific Publishing Company. 1974. 509 p. (p. 270-284).
- 45 Guatemala Fruits, Vegetables, Species, Nuts. Guatemala Non Traditional Products Exports Association. Guatemala: Centro Impresor Piedra Santa. 1989. 16 p. (p.2-3).
- 46 Garcia E. Aislamiento de Microorganismos Antagonistas de Tejido Sano y Enfermo de Tejido Vegetal. Profesor Supervisor, Programa de Experiencias Docentes en la Comunidad. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC. 1990. Comunicación Personal.

- 47 Elgueta K. Identificación de especies del hongo Ascochita sp en Arveja China (Pisum sativum L.), cultivada en los Departamentos de Sacatepéquez y Chimalteango. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1944. 65 p.

10

## ANEXOS

1 Conidias y Ascosporas de Mycosphaerella pinodes.

- A. Sección vertical de pseudotecio en tejido del huésped (20 u.)  
 B. Asca (10 u.)  
 C. Ascospora (10 u.)  
 D. Sección vertical de picnidio en tejido del huésped (20u)  
 E. Parte de la pared del picnidio y conidiosporas (10 u.)  
 F. Conidias (10 u.)

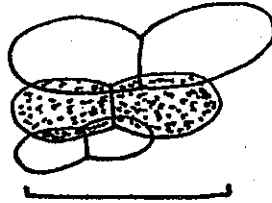
Fuente: Hagedorn DJ. Compendium of Pea Diseases. United States of America: American Phytopathological Society. 1984. IV+57 p. (p.11-15).

2 COMPARACION DE LAS DIMENSIONES DE LAS ESPORAS DE  
 ESPECIES DE Ascochita sp.

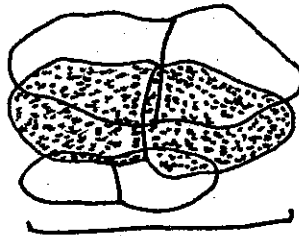
A Conidia de Phoma medicaginis var. pinodella 3.7 x 8 um.



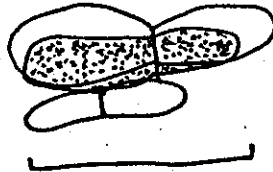
B Conidia de A. pinodes. 4.5 x 12.3 um.



C Ascospora de Mycosphaerella pinodes. 4.2 x 14 um.



D Conidia de A. pisi. 4.2 x 14 um.



Fuente: Hagedorn DJ. Compendium of Pea Diseases. United States of America : American Phytopathological Society, 1984. IV+57 p. (p. 11-15).

## 3 MEDIOS

## 1 Martin's Rosa de Bengala (MRB).

Cantidades para preparar un litro.

a) $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .	1	g
b) $\text{MgSO}_4$ .	0.5	g
c) Peptona.	5	g
d) Glucosa	10	g
e) Rosa de Bengala	0.05	g
d) Cloranfenicol	0.250	g
g) Agar	10	g

## 2 Caldo nutritivo.

Cantidades para preparar un litro.

a) Extracto de carne	3	g
b) Peptona	5	g

## 3 Caldo papa-dextrosa.

Cantidades para preparar un litro.

a) Papas en rodajas	250	g
b) Dextrosa	16	g

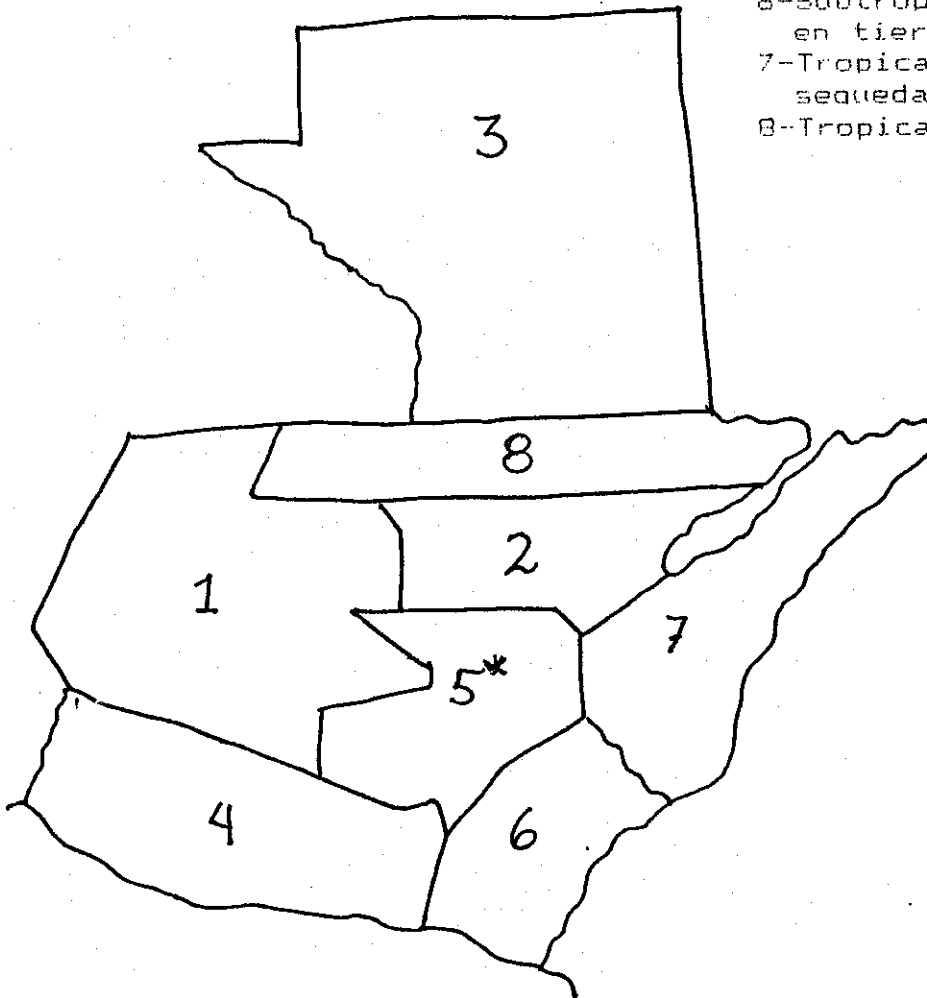
Hervir durante 20 minutos las papas en rodajas en un erlenmeyer, luego filtrar con un embudo que contenga algodón con gasa los 500 ml donde se hirvieron las papas a otro erlenmeyer que contenga la dextrosa en 500 ml de agua destilada.

Para bacterias se agregan 1.5 g de extracto de carne y 2.5 g de peptona.



## 4 REGIONES CLIMATICAS DE GUATEMALA

- 1-Montañosa, alta humedad
- 2-Bosque lluvioso.
- 3-Tropical poco lluvioso.
- 4-Tropical, costa húmeda, plano volcánico.
- 5\*-Montañosa frío y primaveral.
- 6-Subtropical, húmedo en tierras bajas.
- 7-Tropical, extrema sequedad.
- 8-Tropical, húmedo.



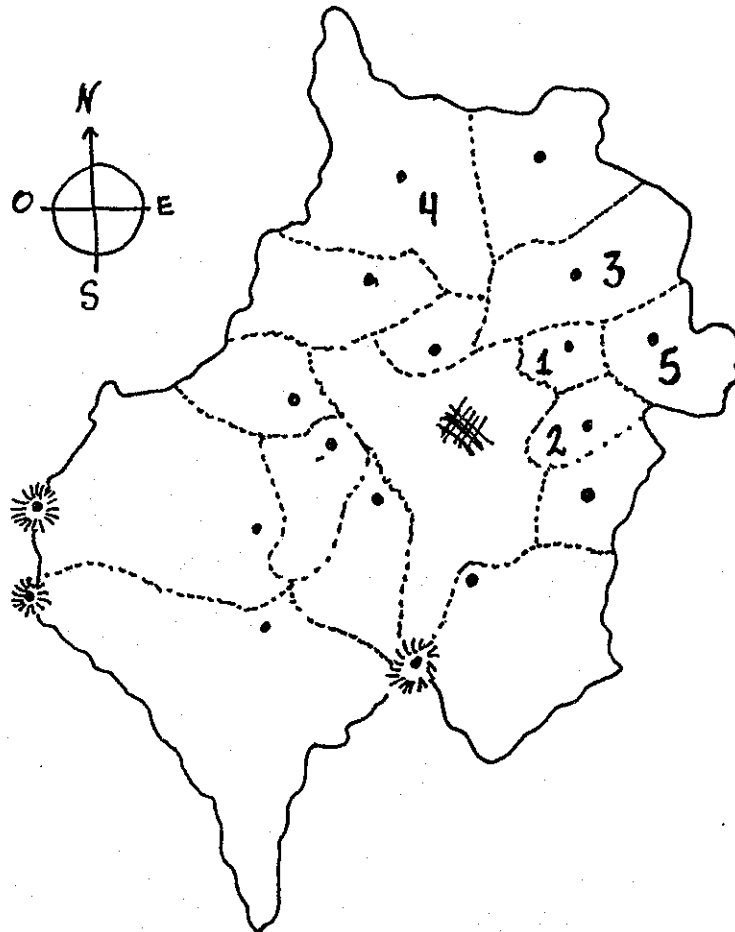
Regiones de cultivo de Arveja:\*

Fuente: Guatemala Fruits, Vegetables, Spices, Nuts, Guatemala non Traditional Product Exporters Association, Guatemala: Centro Impresor Piedra Santa. 1989; 16 p. (p. 2-3).

5.

MUNICIPIOS MUESTREADOS.

1. San Bartolome Milpas Altas. 2. Santa Lucia Milpas Altas. 3. Santiago Sacalepéquez. 4. Sumpango. 5. San Lucas Sacalepéquez.



Berta Alicia Magarín Cartagena.  
Investigadora.

Ingeniero Agrónomo Gustavo Alvarez.  
Asesor.

Licenciado Jorge Luis De León.  
Co-asesor.

Licenciado Gerardo Arroyo.  
Director de Escuela.

Licenciado Jorge Rodolfo Pérez Faldar.  
Decano.