



Universidad Nacional del Nordeste



Facultad de Ciencias Agrarias

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

CÁTEDRA DE FITOPATOLOGÍA

GUÍA DE TRABAJOS PRÁCTICOS

2022

INFORMACIÓN PARA EL ALUMNO DE FITOPATOLOGÍA: CICLO LECTIVO 2022

Días y horarios de clases:

Teóricas: miércoles de 8 a 10 h, y jueves de 10 a 12 h.

Docentes: Susana Gutiérrez-Ernestina Galdeano

Trabajos Prácticos:

Grupo 1: Lunes y jueves de 14 a 16:15. Docente Pamela M. Dirchwolf

Grupo 2: Lunes y jueves de 14 a 16:15. Docente Lisandro Bastida

Grupo 3: Lunes y jueves de 16:30 a 18:45. Docente Ernestina Galdeano

Grupo 4: Lunes de 16:30 a 18:45 y Martes de 14:30 a 16:45, Docente Alfonso Lovato Echeverría

**Inicio de clases prácticas: jueves 02 de junio, Grupos 1,2 y 3.
lunes 06 de junio, Grupo 4**

MATERIAL NECESARIO PARA LAS CLASES PRÁCTICAS.

- Una carpeta tipo A4 con hojas a rayas y lisas.
- Lápiz, goma de borrar, birome, lápices de colores.
- Pinza, aguja histológica, gotero, cinta transparente.

REQUISITOS PARA REGULARIZAR LA ASIGNATURA.

1. Asistir y aprobar por lo menos 80 % de los Trabajos Prácticos
2. Aprobar (con por lo menos 6 puntos) las 2 evaluaciones parciales correspondientes a los Trabajos Prácticos.
3. Cada evaluación dispondrá de su recuperatorio correspondiente.
4. Confeccionar un herbario fitopatológico con 15 ejemplares.
5. En caso de regularizar, el alumno deberá rendir un examen final oral sobre el Programa Analítico completo de la asignatura.

REQUISITOS PARA PROMOCIONAR LA ASIGNATURA.

1. Regularizar la asignatura aprobando las evaluaciones parciales con por lo menos **6 puntos de promedio**.
2. Asistir por lo menos al **80% de las clases teóricas**, modalidad presencial.
3. Aprobar (con por lo menos 6 puntos de promedio) las 3 evaluaciones parciales teóricas orales, con opción a un único recuperatorio. Un puntaje menor de hasta 6 (seis) puntos solo le permitirá alcanzar su condición de alumno regular.

SISTEMA DE EVALUACIÓN.

Se realizarán **tres** evaluaciones correspondientes a las clases teóricas y **dos** correspondientes a los trabajos prácticos

Fechas y Temas incluidos en evaluaciones teóricas orales

23/06: Primera evaluación promocional, Unidades 1, 2, 3 (Etiología hongos y bacterias)

03/08: Segunda evaluación promocional, Unidades 3 (Etiología virus), 4, 5, 6.

24/08: Tercera evaluación promocional, Unidad 7 diagnóstico, micosis, bacteriosis, virosis

Fechas y Temas incluidos en evaluaciones prácticas

30/06: Evaluación parcial 1, Trabajos prácticos 1-7.

29/08: Evaluación parcial 2, Trabajos prácticos 8-17.

DOCENTES DE LA CÁTEDRA DE FITOPATOLOGÍA



Trabajo práctico Nº1.

CONCEPTO DE ENFERMEDAD DE PLANTAS. Clasificaciones y características de las enfermedades de plantas.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. N. 1995. Fitopatología. 2da. ed. Ed. Limusa. Pág. 3-8.
- Dickinson, C. H. y J. A. Lucas 1987. Patología Vegetal y Patógenos de Plantas. Ed. Limusa. Pág. 17-20.
- Fernández Valiela, M. V. 1978. Introducción a la Fitopatología. 3ra. ed. Colección Científica INTA. V III, Hongos. Pág. 36-41.
- González, L. 1976. Introducción a la Fitopatología. San José, Costa Rica. Pág. 2-3.
- Jauch, C. 1985. Patología Vegetal. 3ra. ed. El Ateneo. Buenos Aires. Pág. 3-6.
- Manners, J. G. 1986. Introducción a la Fitopatología. Limusa. México. Pág. 13-15.
- Sarasola A. y M. A. R. de Sarasola. 1975. Fitopatología. Curso Moderno. v I. Pág. 4-8.
- Stakman, E.C. y J.G. Harrar. 1968. Principios de Patología Vegetal. 2da. ed. EUDEBA. Buenos Aires. Pág. 36-49.

INTRODUCCIÓN

Concepto de enfermedad de plantas:

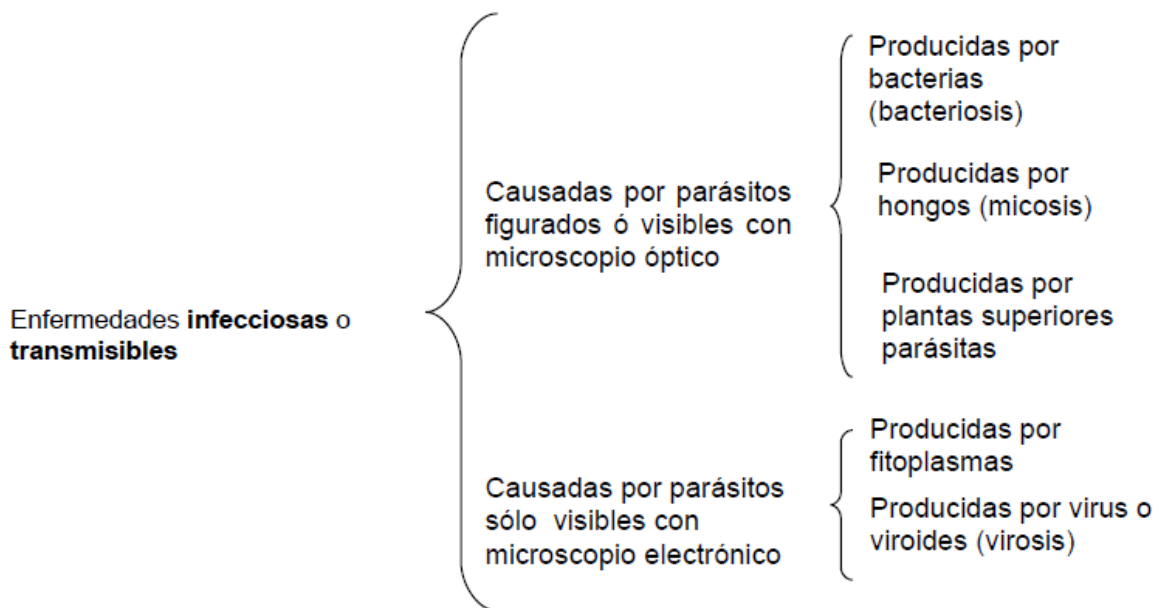
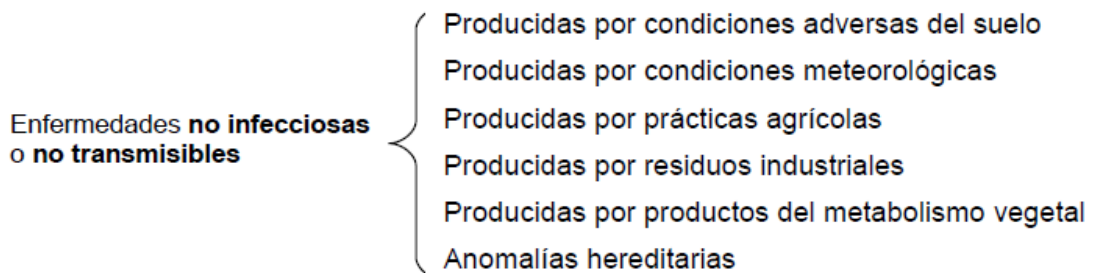
Se consideran plantas **sanas** o normales a aquellas que llevan a cabo sus funciones fisiológicas hasta donde su potencial genético le permite (Agrios 1995). Las plantas se encuentran **enfermas** cuando una o varias de sus funciones son alteradas por agentes patógenos o por determinadas condiciones del medio u otra causa abiótica.

La **enfermedad** es un desorden fisiológico o anormalidad constitucional que es perjudicial para ella o alguna de sus partes o productos y reduce su valor económico (Stakman y Harrar 1968).

La enfermedad es toda alteración orgánica y funcional, más o menos grave para la vida de la planta o también el conjunto de fenómenos que se producen en ella como consecuencia de alguna acción patógena o fisiogénica, que afecta los procesos fisiológicos normales (Fernández Valiela 1978).

Las enfermedades de plantas son procesos patológicos anormales.

La clasificación de las enfermedades de plantas puede hacerse según distintos criterios. Uno de los más usados toma en primer lugar la transmisibilidad (infectivos) de los agentes causales, es decir la etiología de la enfermedad, considerando luego la visibilidad de dichos agentes y por último los agentes causales.



OBJETIVOS

- Diferenciar entre plantas u órganos sanos y enfermos.
- Interpretar correctamente el concepto de enfermedad de planta.
- Aplicar la clasificación de las enfermedades de las plantas según los agentes causales.
- Utilizar la terminología fitopatológica apropiada.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

1. Observar a simple vista y con microscopio estereoscópico plantas y órganos sanos y enfermos.
2. Comparar, dibujar y describir los materiales propuestos.
3. Consignar en cada caso:
 - a) Clasificación de la enfermedad según el agente causal

- b) planta hospedante
- c) nombre común de la enfermedad
- d) agente causal.

4. Materiales propuestos:

Enfermedades infecciosas:

- a) Micosis.
- b) Bacteriosis.
- c) Virosis.
- d) Fanerógama parasita.

Enfermedades no infecciosas:

- a) Deficiencias
- b) Fitotoxicidad

Trabajo práctico N°2

SINTOMATOLOGÍA 1: Síntomas externos.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios G. N. 1995. Fitopatología. 2da. ed. México, Limusa. pág. 284-287. 663-666.
- Fernández Valiela M. V. 1995. Virus Patógenos de las Plantas y su Control. 4.ed. Buenos Aires, Colección Científica INTA. Pág. 35-40.
- Fernández Valiela M. V. Introducción a la Fitopatología. 3ra.ed. Buenos Aires, Colección Científica INTA. v. II: Bacterias, Fisiogénicas, Fungicidas, Nematodos. 1975. pág. 21-24. V. III: Hongos. 1978. Pág 36-41.
- González L. 1976. Introducción a la Fitopatología. San José, Costa Rica. pág. 4-8.
- Jauch C. 1985. Patología Vegetal, 3ed. El Ateneo. Buenos Aires. pág. 14-22; 43-46 (virus); 77-78 (bacterias).
- Manners J.G. 1986. Introducción a la fitopatología. Limusa. Mexico. pág. 53-67.
- Sarasola A. y M. A. R. de Sarasola. 1975. Fitopatología, Curso Moderno, v. pág. 4-8.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de planta se manifiesta por los cambios o alteraciones que se observan a simple vista en la planta o algunos órganos y que reciben el nombre de **SÍNTOMAS**.

Considerando su visibilidad, los síntomas pueden ser:

a. Externos o morfológicos. Comprenden las alteraciones que se advierten a simple vista y que nos dan la sensación de anormalidad (podredumbre, marchitamiento, clorosis, etc.).

b. Internos o histológicos. Generalmente son microscópicos, comprenden las alteraciones que se verifican en los tejidos o células de los órganos enfermos (hipoplasia, hiperplasia, hipotrofia, hipertrofia, necrosis, metaplasia).

La enfermedad vegetal se manifiesta por desarrollo restringido (menor tamaño de células, tejidos, órganos o la planta misma), desarrollo excesivo (mayor tamaño de células, tejidos, órganos o la planta misma), muerte de células, tejidos, órganos o la planta misma o cambios en el contenido celular que generan cambios de color en células, tejidos, órganos o en la planta misma, tomando muchas formas cada una de estas cuatro reacciones o procesos fundamentales.

De acuerdo a la naturaleza de dichos procesos, Whetzel clasifica los **síntomas externos e internos** de la siguiente forma:

	EXTERNOS (Morfológicos)	INTERNOS (Histológicos)
DESARROLLO EXCESIVO	HIPERPLÁSTICO	HIPERPLASIA HIPERTROFIA
DESARROLLO RESTRINGIDO	HIPOPLÁSTICO	HIPOPLASIA HIPOTROFIA
MUERTE DEL TEJIDO VEGETAL	NECRÓTICO	NECROSIS
CAMBIOS DE COLORACIÓN	METAPLASICO	METAPLASIA

Hipoplástico: Las plantas u órganos que presentan estos síntomas siempre manifiestan deficiencias (subdesarrollo anormal): clorosis, enanismo, mosaico.

Hiperplástico: Las plantas presentan superdesarrollo anormal. Hay aumento de volumen de los órganos afectados: tumores, agallas, hipertrofia de órganos.

Necrótico: consisten en la muerte de parte o de todo el órgano afectado o de la planta entera: manchas foliares, tizones, marchitamientos, podredumbres, cáncros.

Los síntomas pueden ser **primarios o secundarios**. Los primarios, son los que aparecen como consecuencia directa o inmediata de la acción del agente causal en los órganos atacados. Los secundarios aparecen como síntomas reflejos de la enfermedad, en los mismos órganos o en otros órganos de la planta.

Las enfermedades de plantas también se clasifican por la **naturaleza de los procesos de la enfermedad**, teniendo en cuenta el tipo de síntoma primario, así las enfermedades pueden ser:

- a. Enfermedades de tipo **necrótico**.
- b. Enfermedades de tipo **hipoplástico**.
- c. Enfermedades de tipo **hiperplástico**.

OBJETIVOS

- Reconocer los distintos tipos de síntomas aplicando la clasificación propuesta.
- Emplear los métodos más corrientes de laboratorio para el estudio de plantas enfermas.
- Utilizar la terminología fitopatológica apropiada.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

1. Observar a simple vista y con microscopio estereoscópico los distintos tipos de síntomas.
2. Comparar, dibujar y describir las características de cada síntoma en los materiales propuestos.
3. Consignar en cada caso:
 - a) Nombre común del síntoma y clasificación por la naturaleza de los procesos (clasificación de Whetzel)
 - b) Planta hospedante
 - c) Nombre común de la enfermedad
 - d) Agente causal
 - e) Clasificación de la enfermedad según el agente causal y por la naturaleza de los procesos (clasificación de Whetzel)
4. A partir de los materiales observados durante el desarrollo del Trabajo Práctico describa las características que permiten distinguir los siguientes síntomas:
Mancha, tizón, cancro, podredumbre.

TRABAJO PRACTICO N° 3

SINTOMATOLOGÍA 2: Signos externos.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de plantas se manifiestan por síntomas solamente (no presentan signo: abióticas, no infecciosas) o por síntomas y **signos** (bióticas o infecciosas).

SIGNOS: expresión o manifestación del patógeno (estructuras características del agente causal o patógeno) que aparecen sobre los órganos afectados o la planta misma y/o en el interior de los tejidos de la planta enferma.

Existen signos perceptibles (visibles) a simple vista y otros en los que es necesario recurrir a lentes de aumento para advertirlos, luego los signos también se clasifican por su visibilidad:

- a. Macroscópicos (pústulas, eflorescencias, moho, etc.)
- b. Microscópicos (célula bacteriana, hifas, esporas, partículas virales, inclusiones celulares, etc.).

Los signos más fáciles de observar son: pústulas, eflorescencias blanquecinas, masas carbonosas, costras oscuras; luego los que se observan como simples puntuaciones, exudados bacterianos y tenues eflorescencias, en los que a veces es necesario utilizar una lente de aumento.

OBJETIVOS

- Diferenciar síntomas y signos.
- Reconocer los distintos tipos de signos.
- Emplear los métodos más corrientes de laboratorio para el estudio de enfermedades de plantas.
- Utilizar la terminología fitopatológica apropiada.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

1. Observar a simple vista y con microscopio estereoscópico los distintos tipos de signos.
2. Comparar, dibujar y describir las características de los distintos signos externos en los materiales propuestos.
3. Consignar en cada caso: a) Clasificación de la enfermedad según el agente causal; b) Nombre y clasificación de síntomas y signos; c) Nombre y clasificación de la enfermedad por la naturaleza de los procesos; d) Nombre común de la enfermedad, planta hospedante y agente causal.
4. Materiales propuestos:
 - a. Eflorescencia.
 - b. Pústula.

- c. Moho.
- d. Masa carbonosa.
- e. Fumagina.
- f. Puntuaciones.
- g. Zooglea.

5. A partir de los materiales observados durante el desarrollo del Trabajo Práctico,
- a) Defina las características de los siguientes signos: pústula, eflorescencia, puntuaciones.
 - b) ¿En qué enfermedades observó masa carbonosa, zooglea y moho?

Trabajo Práctico N°4

RECONOCIMIENTO DE ENFERMEDADES EN EL CAMPO.

BIBLIOGRAFÍA

Riley, M.B., M.R. Williamson, and O. Maloy. 2002. Diagnóstico de enfermedades en plantas. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2002-1021-01.

<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/topics/Pages/DiagnosticoEnfermedadesPlantas.aspx>

Streets, R.B. 1992. Diagnóstico de enfermedades de las plantas. Ed. Hemisferio Sur. Bs. As. Argentina. 231 pp.

INTRODUCCIÓN

El reconocimiento de enfermedades representa el primer paso en el diagnóstico, para ello es importante tener en cuenta algunos aspectos al momento de encontrarnos con el cultivo.

1. **Identificación correcta de las plantas.** La identificación de las plantas afectadas es uno de los primeros pasos en el diagnóstico de sus enfermedades. Se deben tomar en cuenta tanto el nombre común como el nombre científico de la planta, dado que diferentes especies de plantas pueden tener el mismo nombre común, así como la misma planta puede tener un nombre común en una región y otro diferente en otra.

Además de conocer el nombre común y científico de la planta afectada, es importante conocer la variedad, híbrido o cultivar cuando sea posible. Puede presentarse una gran variedad de grados de susceptibilidad a una enfermedad en particular dentro de los diferentes cultivares de una especie de planta.

Tener el conocimiento de la identidad de la especie de planta afectada le permite al fitopatólogo utilizar diferentes recursos, como aquellos que contienen listas de enfermedades asociadas con plantas específicas. Estas listas son de mucha ayuda para sugerir los posibles agentes patogénicos.

2. **Reconocer la apariencia de una planta sana.** Es importante saber cómo luce una planta normal de la especie que estemos analizando. Cada especie de planta presenta un hábito de crecimiento, colores y tasas de crecimiento particulares.

Una vez que se ha determinado la apariencia "normal" de la planta, se pueden efectuar diversas comparaciones de las plantas con algún problema y las plantas sanas. Compare características tales como tamaño general, morfología, y coloración de la planta; forma, tamaño, coloración y distribución del follaje; distribución y coloración de las raíces; textura y coloración de la corteza, tallo, o tronco. También es importante conocer eventos normales como la caída de hojas, que ocurren en plantas sanas.

3. **Identificar los síntomas característicos.** Las enfermedades involucran una progresión de síntomas que pueden variar significativamente. Esta progresión de síntomas es una de las características más importantes asociadas con problemas causados por agentes bióticos. Las enfermedades pueden presentar síntomas primarios y secundarios. Por ejemplo, la pudrición de raíces de un árbol puede ser un síntoma primario mientras que la caída del árbol es un síntoma secundario. Invasores secundarios también pueden enmascarar a los síntomas originales en las etapas finales de la enfermedad. De esta manera, los síntomas observados en

las etapas finales no siempre son los síntomas típicos manifestados en respuesta al patógeno inicial. Asimismo, puede ser que esté presente más de un problema y en algunos casos, que estén involucrados más de un patógeno en la infección de la planta.

4. **Buscar signos de agentes causales bióticos.** Los signos de agentes causales de enfermedades en plantas son la evidencia observable del agente específico causante de la enfermedad. Los signos pueden incluir al micelio, esporas y cuerpos fructíferos del agente fungoso. Los signos son un aspecto mucho más específico de lo que son los síntomas producidos por los agentes causales de enfermedades y son extremadamente útiles en el diagnóstico de la enfermedad y en la identificación de su agente causal. El uso de una lupa o lente de magnificación y una navaja son de mucha utilidad en el campo para el diagnosticador.
5. **Identificar las partes de la planta afectadas** – ¿Están asociados los síntomas con una parte específica de la planta? Es importante tomar nota si los síntomas se observan solo en una parte específica de la planta. Por ejemplo, si una planta está marchita ¿coincide con una alteración del sistema vascular? el cual puede manifestarse mediante el oscurecimiento del sistema vascular o ¿es que las raíces presentan anomalías tales como pudriciones, reducción de la cantidad de raíces, etc.? ¿Se observan lesiones necróticas estrictamente en hojas jóvenes? Los síntomas de algunas enfermedades se observan comúnmente solo en partes específicas de las plantas y esta observación resulta importante en el diagnóstico.
6. **Anotar la distribución espacial de las plantas sintomáticas.** Una de las primeras acciones que debe efectuar una persona que hace diagnóstico es tomar nota de la distribución de las plantas enfermas a lo largo del área afectada. ¿Están distribuidas uniformemente a lo largo del área o se encuentran en forma localizada? ¿Existe un patrón definido de distribución? Por ejemplo, ¿sólo se presenta a lo largo de los bordes de un invernadero cerca de ventanas abiertas, contiguo a una calzada o carretera, en las partes bajas del campo, a lo largo de una hilera de plantas, o se encuentra afectando plantas al azar en el campo? Este tipo de distribución es especialmente importante cuando se busca la posibilidad de que la causa del problema sea un agente no infeccioso, como puede ser una aplicación de herbicida inadecuada o diversos factores en el suelo. Un patrón de daño uniforme en una planta o patrones uniformes de daño sobre una gran extensión, no se asocia generalmente con agentes bióticos, ya que usualmente se deben a agentes abióticos. ¿Cuán prevalente es el problema? ¿Están afectadas todas las plantas? Los problemas de origen infeccioso generalmente se presentan a través del tiempo y existe una progresión de sus síntomas. Rara vez estarán todas las plantas afectadas. Generalmente al inicio de la enfermedad los problemas causados por agentes bióticos se observarán en un porcentaje bajo de plantas afectadas, a menos que se presenten condiciones muy favorables, como lo sería el uso de semilla infectada. Pero aún bajo dichas condiciones, rara vez se observa una infección del 100%. Cuando los problemas se presentan en un 100% de las plantas, es más frecuente que sea el resultado de factores tales como condiciones de suelo (deficiencias o toxicidades), factores climáticos adversos (bajas temperaturas, granizo, sequía, etc.), o químicos tóxicos (uso inadecuado de pesticidas, reguladores de crecimiento, contaminantes ambientales como el ozono, etc).
7. **¿Cómo ha sido la progresión de los síntomas en las plantas en el área afectada?** Si los síntomas se presentan todos a la vez y posteriormente no ha existido desarrollo de nuevos síntomas, esto podría indicar que ha ocurrido un evento aislado como lo sería un cambio repentino de la temperatura o el uso incorrecto de un agroquímico. Sin embargo, si los síntomas se inician en un área, lentamente se presentan en otras áreas y la severidad de los síntomas de la enfermedad cambia a través del tiempo, sería más indicativo de la presencia de un agente biótico.

8. **Verificar la especificidad del patógeno hacia el huésped.** ¿El problema está incidiendo en una sola especie de plantas o existen diferentes especies de plantas afectadas? Si diferentes especies de plantas presentan síntomas, esto puede indicar de que se trata de un problema no infeccioso, el cual puede estar relacionado a prácticas culturales o condiciones ambientales. No obstante, las pudriciones radiculares causadas por *Phytophthora* y *Pythium* pueden producir enfermedad en diferentes especies de plantas, por ello, el hecho de que más de una especie de plantas se vea afectada no descarta totalmente la posibilidad de que se trate de agentes infecciosos. Si ocurre la enfermedad en más de una especie de plantas, ¿Están relacionadas estas plantas y podrán ser infectadas por un patógeno en común?
9. **Haga preguntas, analice las prácticas culturales y las condiciones de cultivo.** Es vital que el diagnosticador esté al tanto de las actividades que se han llevado a cabo respecto a las plantas afectadas. Puede que el problema no se deba a algo que haya realizado el agricultor, el problema puede estar relacionado con algo que haya practicado su vecino/a. La información pertinente a las condiciones ambientales del área de siembra a las que se encuentran expuestas las plantas afectadas es una pieza vital del rompecabezas. Es de especial importancia documentar cambios en el medio ambiente. Entre los factores ambientales que se deben considerar están: temperaturas extremas (frías y calientes), lluvia, granizo, relámpagos o rayos, sequía prolongada, inversión de temperaturas (de importancia en el daño por contaminantes ambientales y deriva de pesticidas) y vientos prevalentes. Todos estos factores abióticos pueden ser importantes para un problema. Se deben evaluar los factores del sitio tales como tipo de suelo, posibles problemas de drenaje y pH del suelo.
- Las actividades de mantenimiento y prácticas culturales pueden ser importantes. ¿Qué pesticidas u otros agroquímicos han sido aplicados? ¿A qué dosis y frecuencia de aplicación fueron empleados? ¿Quién efectuó la aplicación? ¿Qué equipo fue utilizado para la aplicación? ¿Cuáles otras actividades se realizaron? ¿Alguien ha estado cortando el césped en el área? ¿Ha estado el departamento de carreteras trabajando en una vía, posiblemente aplicando herbicidas? ¿Ha ocurrido algún hecho inusual o cambios en los patrones climáticos? Muchas veces se requiere de una investigación meticulosa por parte del diagnosticador, debido a que, en algunos casos, alguien ha efectuado algo inapropiado y no está dispuesto a admitir su equivocación.

Instrucciones sobre la extracción y acondicionamiento de muestras de plantas o de partes vegetales enfermas para su estudio y/o herborización.

Si se trata de cultivos anuales, extraer en lo posible plantas enteras. Se deben sacar aflojando la tierra sin tirar para que las raíces salgan intactas. Dejarlas orearse al aire libre, al resguardo del sol, para que pierdan el exceso de humedad procedente del rocío, lluvia, riego, etc. Luego extenderlas individualmente entre hojas de papel de diario.

Cuando no se pueda remitir plantas enteras, sacar las partes atacadas y acondicionarlas según se detalla seguidamente:

Hojas: cortar trozos de ramas o tallos con las hojas adheridas, que se dejarán orear, se extenderán entre hojas de papel de diario.

Troncos, ramas y raíces gruesas: se deben cortar en trozos que presenten las lesiones completas y cuando estén secos, envolverlos por separado en papel de diario, colocando luego en cajas de cartón o de madera.

Frutos, tubérculos, bulbos, etc.: envolverlos individualmente en papel de diario y colocarlos en cajas de cartón por camadas.

OBJETIVOS

- Reconocer síntomas y signos de las enfermedades de plantas en el campo.
- Conocer las formas de extracción y acondicionamiento de muestras para su estudio y/o herborización.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

1. En cada cultivo encuentre las plantas enfermas que presenten los síntomas y/o signos según indicación del jefe de trabajos prácticos.
2. Para cada caso registre:
 - i. A qué especie pertenece la planta hospedante. Nombre común y científico.
 - ii. Aspecto general de la planta enferma al compararla con una planta sana.
 - iii. Descripción del síntoma. Tipo de síntoma, color, extensión. En qué órgano/s de la planta se encuentra. Si está en hoja, aclarar si está en una cara o en ambas, si está predominantemente en hojas basales o superiores. ¿El síntoma de la enfermedad es fácil de distinguir o se confunde con otros síntomas?
 - iv. Descripción del signo (si está presente). Tipo de signo, color, ubicación.
 - v. A qué tipo de enfermedad corresponde según el agente causal.



Trabajo Práctico N°5

DIAGNÓSTICO PRELIMINAR

BIBLIOGRAFÍA

Streets, R.B. 1992. Diagnóstico de enfermedades de las plantas. Ed. hemisferio sur. Bs. As. Argentina Pp. 321.

Agrios, G. N. 1995. Fitopatología. 2nd. Ed. Limusa. México. Pág. 31-39.

<https://www.apsnet.org/edcenter/disimpactmngmnt/casestudies/Pages/DiagnosticoEnfermedadesPlantas.aspx>

<https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/>

INTRODUCCIÓN

El Diagnóstico es la identificación de una enfermedad y de la causa de la enfermedad. Las causas pueden ser de origen

- Biótico: enfermedades infecciosas, tienen síntoma + signo
- Abiótico: enfermedades no infecciosas, tienen síntoma y no tienen signo.

Para realizar un diagnóstico preliminar, entendiendo como tal al diagnóstico de la enfermedad a través del estudio Macroscópico de síntomas y signos, es decir sin la observación de estructuras en microscopio óptico, se deben tener ciertas consideraciones.

Se debe partir de la observación de la situación a campo realizando una apreciación integral, atendiendo cuestiones como:

- Conocimiento de la planta sana (Ver Tp concepto de enfermedad)
- Análisis de las alteraciones en los diferentes órganos (hojas, tallos, frutos, raíces, flores, semillas) de la planta (Síntomas)
- Ver distribución en el lote de las plantas con esos síntomas: ¿Se presenta en manchones o tiene una distribución generalizada o bien son unas pocas plantas?
- ¿Tiene síntomas y también signos?

Una vez recolectadas las muestras de plantas enfermas para su observación, el trabajo continúa en laboratorio. Allí se realiza una primera observación a simple vista de síntomas y signos, y luego con microscopio estereoscópico (lupa). En caso de no manifestarse el signo, puede ser necesario la realización de una cámara húmeda. Se entiende por tal, un espacio confinado (puede ser una bolsa, una bandeja con tapa, o cualquier recipiente que se adapte a la naturaleza de la muestra), donde se pretende elevar el contenido de humedad. Para ello se debe pulverizar la muestra con agua y agregarse un algodón humedecido, a fines de mantener por más tiempo el contenido de humedad elevado.



1. Pulverizar la muestra y humedecer un algodón.
2. Colocar la muestra en el recipiente.
3. Cámara húmeda (Bolsa, bandeja, frasco, etc)

El objetivo de ésta técnica es generar las condiciones para manifestar el signo en la muestra.

La información inicial de síntomas y signos nos permitirá orientar el diagnóstico, para luego confirmar el agente causal con la observación microscópica de los signos. Dentro de los tres principales grupos de enfermedades: Micosis, bacteriosis y virosis, tenemos:



Cabe recordar que las bacteriosis tienen un signo distinto al resto que es la zooglea, y las virosis por su parte, solo tienen signo interno y es la partícula viral o inclusiones cristalinas de naturaleza proteica.

SIGNOS EXTERNOS DE BACTERIOSIS



SIGNOS EXTERNOS DE VIRUS



(Solo tienen signo interno)

¿Qué sucede con los casos en que tenemos síntomas y no hay signos?

En el caso de enfermedades que no tienen signo externo, se trata de aquellas cuyas causas responden a un origen abiótico y por lo tanto no son transmisibles.

Si la distribución es generalizada, puede deberse a alguna condición en el suelo. Las causas más frecuentes son: sequía, inundación, exceso o deficiencia de nutrientes.

Un caso típico son las clorosis asociadas a deficiencias y su comparación con aquellas que son producidas por una virosis. Una consideración que puede ayudarnos en éste punto, es la identificación de patrones o simetrías en las áreas cloróticas observadas.

Las clorosis asociadas a virosis presentan distribuciones características en las áreas cloróticas que pueden orientarnos en el diagnóstico, siendo las configuraciones más frecuentes en forma de mosaicos, listados o rayas y anillos.

Las deficiencias, normalmente tienen una simetría reconocible, que puede ser útil para identificarlas.



Un buen ejemplo es la deficiencia de Mg en citrus. Se presenta como una clorosis en forma de “V” invertida. Dicha clorosis, es simétrica a cada lado de la nervadura central.

Algunas consideraciones finales:

- Examinar el campo y los alrededores
- Identificar variedad/cultivar enfermo
- Examinar posición de síntomas y signos
- Prácticas agrícolas del cultivo: fertilización, riego y control químico

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

1. Explique la diferencia entre la Clorosis producida por deficiencia de Mg en citrus y un mosaico.

2. ¿Qué signo externo espera observar en una cámara húmeda de una muestra de plantas con síntomas de virosis? ¿Qué signos espera observar en una muestra con síntomas de deficiencia?
3. Realice un diagnóstico preliminar de mínimo 4 casos. Utilice las muestras recolectadas en la salida a campo anterior. Si es necesario, elabore cámaras húmedas.
4. Desarrolle brevemente un caso ejemplo de su preferencia. Relacione los elementos desarrollados en la introducción del TP. Puede ser una micosis, virosis, bacteriosis o una deficiencia.

TRABAJO PRÁCTICO Nº 6

HONGOS: ESTRUCTURAS SOMÁTICAS (VEGETATIVAS)

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios G. N. 1995. Fitopatología. 2nd. ed. México, Limusa. pág. 273-284.
- Fernández Valiela M. V. 1978. Introducción a la Fitopatología. 3.ed. Buenos Aires, Colección Científica INTA. v. III: Hongos. pág. 157-166.
- González L. 1976. Introducción a la Fitopatología. San José, Costa Rica. pág. 16-17.
- Manners J.G. 1986. Introducción a la fitopatología. Limusa. Mexico. pág. 25-31.
- Jauch C. Patología Vegetal, 2ed. El Ateneo. Buenos Aires. pág. 79-84.

INTRODUCCIÓN

Los hongos son organismos eucarióticos, generalmente microscópicos que carecen de clorofila y de tejidos de conducción, saprofitos o parásitos, heterótrofos. La mayoría pertenece al Reino Fungi que comprende más de 100.000 especies, de las cuales unas 8.000 causan enfermedades en las plantas (algunos grupos han sido reclasificados en los reinos Protista y Chromista/Straminipila).

Cuando se pretende identificar un hongo es importante tener en cuenta los caracteres morfológicos de los mismos observados en los microscopios estereoscópico y óptico.

Cuando los hongos son colocados en los portaobjetos a menudo los fragmentos o las esporas no permanecen unidas haciendo más difícil la identificación. Asimismo, las estructuras observadas pueden ser de diferentes estadios dependiendo del estado de desarrollo del hongo al momento de su observación.

Morfología

La mayoría de los hongos tiene un soma vegetativo que consta de filamentos microscópicos ramificados llamados hifas.

Una hifa es de forma tubular, de diámetro uniforme o irregular, hialina o coloreada, con una pared delgada, transparente. El protoplasma puede ser:

- Continuo: hifa no tabicada o aseptada (por ej. Oomycetes, Zygomycetes).
- Dividido por tabiques transversales (septos): hifa tabicada o septada (por ej. Ascomycota y Basidiomycota).

La masa o conjunto de hifas se denomina micelio.

Tejidos fúngicos.

La mayoría de los hongos durante ciertos estados de su ciclo de vida tienen la capacidad de organizarse en tejidos que reciben el nombre de Plecténquima; distinguiéndose dos tipos:

a) Prosénquima: es un complejo más bien laxamente entrelazado, en el cual las hifas que lo componen son más o menos paralelas unas a otras y sus células, típicamente alargadas, son fáciles de distinguir como tales. Ej. Sinema; b) Pseudoparéquima: está formado por células más o menos isodiamétricas u ovaladas, entrelazadas, en la cual las hifas han perdido su individualidad. Ej. Esclerocios.

Elementos vegetativos de nutrición.

Haustorio: Proyecciones de las hifas de un hongo que penetran a las células de sus hospedantes a través de una diminuta perforación en la pared celular, son órganos especiales de absorción.

Elementos vegetativos de sostén.

Apresorio: Es un órgano de adhesión que forman ciertos hongos en el extremo del tubo germinativo que penetra por presión a través de la cutícula del hospedante.

Micelio reproductor o de fructificación de un hongo es el que produce células diferenciadas y especializadas para las funciones de multiplicación y diseminación de la especie. Los hongos tienen dos formas de reproducción:

Asexual (anamórfica). **Sexual** (teleomórfica).

OBJETIVOS

- Conocer y diferenciar las principales estructuras somáticas (vegetativas) de hongos fitopatógenos.
- Emplear los métodos y técnicas más corrientes de laboratorio para el estudio de estructuras somáticas de hongos fitopatógenos.
- Diferenciar colonias de hongos sobre sustratos naturales y artificiales.
- Utilizar la terminología fitopatológica apropiada.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

1. Observar a simple vista y con microscopio estereoscópico colonias de hongos en sustrato natural y artificial (agar papa glucosado-APG).
2. Observar a simple vista y con microscopio estereoscópico, dibujar y describir estructuras somáticas o vegetativas:
 - Micelio y esclerocios.
3. Observar con microscopio óptico, dibujar y describir estructuras somáticas o vegetativas.
 - Hifas no tabicadas.
 - Hifas tabicadas.
 - Estolones y rizoides.

- Esclerocios.
- Tubos germinativos y apresorios.

4. Responder las siguientes preguntas.

- ¿Cómo están formados los esclerocios?
- ¿Cómo varían los tipos de hifas, teniendo en cuenta el grupo al que pertenece el hongo?

TRABAJO PRÁCTICO N° 7

HONGOS: Estructuras reproductivas sexuales y asexuales

BIBLIOGRAFÍA

Agrios G. N. 1995. Fitopatología. 2nd. ed. México, Limusa. pág. 273-284.

Fernández Valiela M. V. 1978. Introducción a la Fitopatología. 3.ed. Buenos Aires, Colección Científica INTA. v. III: Hongos. pág. 157-166.

González L. 1976. Introducción a la Fitopatología. San José, Costa Rica. pág. 16-17.

Manners J.G. 1986. Introducción a la fitopatología. Limusa. Mexico. pág. 25-31.

Jauch C. Patología Vegetal, 2ed. El Ateneo. Buenos Aires. pág. 79-84.

INTRODUCCIÓN

Reproducción asexual. Los elementos reproductores más comunes de los hongos son las esporas y, según su origen, estas pueden ser:

Internas.

- Pueden ser móviles como las **zoosporangiosporas** que son producidas dentro de zoosporangios (Oomycetes).
- Pueden ser inmóviles como las **esporangiosporas** que son producidas dentro de esporangios (Zygomycetes).

Externas: **Conidios** (fase asexual de Acomycota y algunos Basidiomycota), esporas que se producen de dos formas:

- Conidios **sobre hifas libres**.
- Conidios sobre hifas libres dentro de cuerpos de fructificación como **acérvulas**, **picnidios** y **esporodoquios**.

Reproducción sexual. Las esporas que se originan de la reproducción sexual de los hongos, se denominan:

- **-Oosporas:** originadas por contacto gametangial entre oogonio y anteridio (gametas de diferente forma y tamaño), de paredes gruesas pudiendo sobrevivir a condiciones adversas (Oomycetes).

- **-Zigosporas:** originadas por contacto gametangial (gametas de igual forma y tamaño), de paredes gruesas pudiendo sobrevivir a condiciones adversas. (Zygomycetes).
- **-Ascosporas:** originadas dentro de **ascos** (bolsas o sacos que las contienen), características del Phylum Ascomycota. Los ascos pueden desarrollarse dentro de estructuras de fructificación denominados **ascocarpos: peritecios** (por ej. *Glomerella cingulata*); **casmotecios** (ej. Oidios); **apotecios** (por ej. *Sclerotinia sclerotiorum*) o sin estructuras, ascos desnudos (por ej. *Taphrina deformans*).
- **-Basidiosporas:** formadas sobre **basidios**, dentro de **basidiocarpos** (varios macromicetos) o **probasidios** (ej. Royas y carbonos) o sobre hifas (*Rhizoctonia*).

OBJETIVOS

- Conocer y diferenciar las principales estructuras asexuales (anamórficas) y sexuales (teleomórficas) de hongos fitopatógenos.
- Emplear los métodos más corrientes de laboratorio para el estudio de las estructuras anamórficas y teleomórficas de hongos fitopatógenos.
- Utilizar la terminología fitopatológica apropiada.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

1. Observación con microscopio óptico, dibujo y descripción de estructuras asexuales (anamórficas) de hongos fitopatógenos.
 1. Esporas asexuales internas móviles (zoosporangiosporas, zoosporangios, zoosporangióforos)
 2. Esporas asexuales internas inmóviles (esporangiosporas, esporangióforos, esporangios).
 3. Esporas asexuales externas (conidios) sobre hifas libres (conidióforos).
 4. Esporas asexuales externas (conidios) sobre hifas libres (conidióforos), producidas en cuerpos de fructificación (picnidios).
 5. Esporas asexuales externas (conidios) sobre hifas libres (conidióforos), producidas en cuerpos de fructificación (acérvulas).
2. Observar con microscopio óptico, dibujar y describir estructuras sexuales (teleomórficas) de hongos fitopatógenos.
 1. Oosporas y zigosporas.
 2. Ascosporas y ascosporas formadas en distintos cuerpos de fructificación llamados ascocarpos:
 - I. Casmotecio (≈cleistotecio)

II. Peritecio

III. Apotecio

3. Contestar las siguientes preguntas.

1. ¿A qué grupos pertenecen los hongos que forman esporas asexuales internas?
2. ¿En qué difieren un picnidio y un acérvulo?
3. En un picnidio, ¿dónde están ubicados los conidióforos?
4. ¿Cómo se llaman las esporas sexuales de los Oomycetes y Zygomycetes?
5. Los ascos y ascosporas ¿en qué tipo de estructuras se pueden formar?
6. ¿Qué diferencias hay entre un picnidio y un peritecio?

TRABAJO PRÁCTICO Nº 8

ENFERMEDADES TIPO: MICOSIS. Manchas, tizones y podredumbres

BIBLIOGRAFÍA.

- Agrios, G. N. 1995. Fitopatología 2nd. ed. México, Limusa.
- Fernández Valiela, M. V. 1978. Introducción a la Fitopatología. 3.ed. Buenos Aires, Colección Científica INTA. v. III: Hongos.
- Jauch C. Patología Vegetal, 2ed. El ateneo. Buenos Aires. Pág 261
- Fernández Valiela, M. V. 1978. Introducción a la Fitopatología. 3.ed. Buenos Aires, Colección Científica INTA. v. III: Hongos.
- Messiaen., C.M.; D. Blancard; F. Rouxel; y R. Lafon. 1995. Enfermedades de las hortalizas. Mundi-Prensa, Madrid. Pág. 563-464.
- Canteros I.B. 2000 Manejo del moteado negro (Black Spot) de los citrus. INTA Hoja de divulgación N°11.
- Stakman, E.C y J.G Harrar. 1968. Principios de Patología Vegetal. 2 ed EUDEBA, Buenos Aires. Pág. 408-412

INTRODUCCIÓN

Micosis

Las enfermedades de plantas causadas por hongos se denominan “micosis”. Más de 8000 especies de hongos producen enfermedades en plantas. Todas las plantas superiores pueden ser atacadas por varias especies de hongos. Pocos hongos son capaces de vivir solamente sobre una especie vegetal, son específicos; la mayoría pueden vivir sobre varias especies de plantas, son polípagos.

Hay varios grupos de hongos que sólo pueden vivir a expensas de tejidos vivos y no desarrollan en medios artificiales, se los llama parásitos obligados y las enfermedades que producen son oídios, royas, royas blancas y algunos mildius.

Los hongos saprófitos facultativos son aquéllos que en la naturaleza crecen solamente sobre hospedantes vivientes y no se multiplican como saprófitos, pero se los puede cultivar en medios artificiales, como los que producen la enfermedad conocida como carbón.

Las enfermedades producidas por hongos, al igual que las causadas por otros factores, pueden ser de tipo necrótico, hipoplástico, hiperplástico y desarrollan infecciones que ocasionan diversos procesos en la planta, que traerán aparejadas deformaciones, epinastias, nanismo, necrosis, amarillamiento, deficiencia, etc.

Los hongos producen una gran variedad de enfermedades reconocidas con nombres comunes como tizones, podredumbres, viruelas, oídios, antracnosis, royas, mildius, marchitamientos, canchales, caries, etc., que son diferenciados entre sí por los síntomas y signos que son característicos de cada uno de ellos.

Para cada cultivo hay micosis que son importantes por los daños que causan al producto de cosecha.

Todavía hoy, las micosis vegetales siguen ocasionando pérdidas importantes en los cultivos agrícolas y en especies forestales, por lo que el conocimiento de sus agentes es un requisito esencial para establecer un control racional de las mismas.

Manchas

Con el nombre de “manchas”, se conoce a un síntoma de tipo necrótico, localizado o extensivo. Esta lesión presenta una zona bien definida de tejido necrótico gris, canela o pardo, que puede estar rodeado por un borde púrpura o algún otro color oscuro. Por lo general las manchas tienen un tamaño que varía entre 1-2 mm y 1 cm o más.

En el caso especial del tejido necrótico, dentro de una mancha de hojas se agrieta y cae desprendiéndose del tejido verde que le rodea, el síntoma se refiere al cribado o perdigonado. Las manchas pequeñas se llaman abigarrado, jaspeado.

En las manchas, podemos diferenciar dos zonas perfectamente delimitadas, la central holonecrotica (holo=todo, necros=muerte) y la periférica de ancho y color variado (plesionecrotica). En la primera, las células están muertas o están muriendo y no se presentan desintegradas.

En la zona plesionecrotica, las células están todavía vivas, pero dañadas por sustancias tóxicas, que provienen del agente patógeno o del producto del metabolismo alterado de células de la zona central. El núcleo y los cloroplastos han desaparecido totalmente o quedan únicamente en el contorno, habiendo desaparecido el contenido.

La característica de la mancha es su limitación y su forma, ya que a diferencia de lo que sucede en las podredumbres y tizones, la necrosis progresa solamente hasta un grado determinado, aun cuando los agentes causales dispongan de tejidos susceptibles y de condiciones favorables de ambiente.

Entre las enfermedades producidas por hongos en que el síntoma primario es una mancha, podemos citar diversas viruelas, antracnosis, mancha castaña angosta del arroz, el moteado negro (Black Spot) de los citrus, etc.

El signo externo está constituido por puntuaciones oscuras, que corresponden a las estructuras reproductivas de los hongos patógenos, acérvulas, picnidios, peritecios, etc.

Tizones

Los tizones por su etiología son enfermedades parasitarias, infecciosas, y por la naturaleza de los procesos son necróticas.

Los hongos que causan estas enfermedades atacan hojas, flores y tallos produciendo como síntomas externos muerte parcial o total de los órganos afectados.

Como signo externo se puede observar la presencia de eflorescencia y en algunos casos puntuaciones.

Podredumbres

Las enfermedades denominadas comúnmente podredumbres se califican por su etiología en parasitaria o infecciosa y por la naturaleza de los procesos como necrótica.

Los hongos que causan podredumbres se clasifican sistemáticamente en grupos muy alejados entre sí, generalmente son organismos inferiores, parásitos facultativos. Los hongos obligados no causan podredumbres.

Síntomas: causan desintegración de tejidos en la que intervienen enzimas que actúan sobre los componentes de la pared celular y de la laminilla media, ocasionando la separación y el colapso de las células en los tejidos del hospedante.

Los síntomas de podredumbres se presentan en una gran cantidad de enfermedades que tienen importancia no solamente en el cultivo o durante la cosecha, sino también, en el transporte, almacenamiento y comercialización de productos vegetales. Las pérdidas que ocasionan generalmente son elevadas dado que por lo general destruyen totalmente el órgano afectado o incluso la planta entera, como en el caso de las podredumbres de raíces y cuello de las plantas herbáceas o impiden el crecimiento en plantas leñosas.

La desintegración de tejidos, avanza lenta o rápidamente, presentando distintas características, blandas o húmedas, duras o secas, esponjosas, mucilaginosas, etc.

Los hongos que causan esta enfermedad continúan su crecimiento en tanto dispongan de tejidos susceptibles, produciendo una infección generalizada que destruye totalmente el órgano afectado salvo que las condiciones ambientales de temperatura y humedad no sean óptimas.

La penetración de los patógenos que producen podredumbre es por heridas: son muy ricos enzimáticamente generando celulasas, ligninasas, amilasas etc. que ejercen su acción sobre las diferentes capas de la pared celular y el protoplasma.

Signo: el signo en las enfermedades conocidas por el nombre de podredumbre se llama "moho", al que se lo define como crecimiento algodonoso y superficial, que se desarrolla sobre materia orgánica húmeda y en descomposición, constituido por un colchón de hifas fértiles que producen esporas típicas.

OBJETIVOS

- Precisar las características importantes de las manchas, tizones y podredumbres.
- Identificar y diferenciar los síntomas de los distintos tipos de manchas, tizones y podredumbres.
- Identificar y diferenciar los signos de manchas, tizones y podredumbres.
- Diferenciar las podredumbres de otras micosis estudiadas.
- Emplear los métodos más corrientes de laboratorio para el estudio de micosis.
- Utilizar la terminología apropiada.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

- A. Sintomatología de las manchas.

1. Observar a simple vista y con microscopio estereoscópico, síntomas y signos externos de las manchas: forma, área necrótica, zona holonecrótica y plesioneocrótica, metaplasia, manchas rojizas, puntuaciones oscuras, cirros. Dibujar y describir lo observado en el microscopio estereoscópico los materiales propuestos.

2 Etiología de las manchas: Observación y dibujo al microscopio compuesto de las características morfológicas de los agentes causales de manchas. Estromas, acérvulas con conidióforos, conidios y setas; picnidios con conidióforos y conidios; peritecios con ascos y ascosporas; subículo con conidióforos y conidios.

3 Consignar en cada caso:

- Clasificación de la enfermedad por la etiología y por la naturaleza de los procesos.
- Clasificación de los síntomas por la naturaleza de los procesos.
- Signo de la enfermedad. Planta hospedante. Agente causal.

Materiales propuestos:

- Moteado negro (Black spot) de los citrus: *Guignardia citricarpa*
- Viruela del tomate, pimiento, apio o perejil: *Septoria sp.*
- Viruela de la morera: *Cylindrosporium mori*.
- Antracnosis de los citrus: *Colletotrichum gloeosporioides*.
- Antracnosis de las dracaenas: *Colletotrichum sp.*
- Otras manchas propuestas por la Cátedra.

4 Sintomatología de los tizones: Observación a simple vista y al microscopio estereoscópico: de síntomas y signos externos. Dibujar y describir lo observado en el microscopio estereoscópico de los materiales propuestos.

7. Etiología de los tizones: Observación al microscopio compuesto de las características morfológicas de los agentes causales. Consignar en cada caso los ítems del punto 3.

8 Etiología de podredumbres: Observar a simple visto y con microscopio estereoscópico, síntomas y signos externos de las podredumbres, desintegración de tejidos, necrosis, moho, eflorescencia, esclerocio. Parasito interno. Dibujar y describir lo observado en el microscopio estereoscópico de los materiales propuestos. Consignar en cada caso los ítems del punto 3.

Materiales propuestos.

- Podredumbres de frutos cítricos, *Penicillium* sp.
- Podredumbre húmeda de la batata y mandioca. *Rhizopus* sp.
- Podredumbre de la lechuga. *Sclerotinia sclerotiorum*.
- Podredumbre de la zanahoria. *Sclerotium rolfsii*.

TRABAJO PRÁCTICO Nº 9

ENFERMEDADES TIPO: MICOSIS. Oídios.

BIBLIOGRAFÍA

- Fernández Valiela, M. V 1978. Introducción a la Fitopatología. 3 ed. Buenos Aires, Colección Científica INTA. V. III: Hongos. Pág 356
- Messiaen, C.M; D. Blacand; F. Rouxel y R. Lafon. 1995. Enfermedades de las hortalizas. Mundi-Prensa, Madrid. Pág 184-185, 246-248.
- Sarasola, A y M.A.R de Sarasola. 1975. Fitopatología, Curso Moderno, v pag. 79-103

INTRODUCCIÓN

Los oídios son enfermedades infecciosas, parásitas, producidas por hongos del Orden Erysiphales (Phylum: Ascomycota), parásitos obligados.

Por la naturaleza de los procesos se la clasifica como enfermedad hipoplástica, afectan la fotosíntesis. Los órganos parásitados son las yemas, brotes, tallos, flores y frutos jóvenes. Cuando los tejidos alcanzan cierto grado de madurez, se vuelven resistentes. Los síntomas principales se manifiestan por clorosis, deformación y nanismo de órganos o de la planta entera, debilitamiento y disminución de la productividad, ocasionalmente puede producirse síntomas necróticos. Los ataques de oídio no se sistematizan, progresa lentamente como enfermedades crónicas o pueden ser rápidos como en cucurbitáceas.

Los órganos afectados se hallan cubiertos por una eflorescencia blanquecina, pulverulenta y afelpada, que representa el signo típico de este grupo de enfermedades; está constituido por el micelio hialino y superficial, sus haustorios en las células epidérmicas y micelio, conidióforos y conidios (forma asexual) de dichos hongos, que se desarrollan externamente, sobre la superficie de los órganos de los hospedantes parasitados.

Los ataques son más severos en los climas cálidos y secos. La adaptación a tales climas se debe a que los conidios de los agentes causales pueden germinar y penetrar en el hospedante, aunque solo dispongan de la humedad relativa bastante alta del aire, sin la necesidad de la presencia de una película de agua sobre la superficie de la planta, como acontece con la mayor parte de los hongos. Una vez que la infección ha comenzado, el micelio continúa extendiéndose sobre la superficie de la planta, sin cuidado de la humedad de la atmósfera.

OBJETIVOS

- Precisar las características más importantes de los oídios.
- Identificar y diferenciar los síntomas y signos de los oídios.
- Diferenciar los oídios de otras micosis estudiadas.

- Emplear los métodos más corrientes de laboratorio para el estudio de micosis.
- Utilizar la terminología fitopatológica apropiada.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

A. Sintomatología de los oídios.

1. Observación a simple vista y al microscopio estereoscópico de: síntomas y signos externos: área clorótica, eflorescencia blanquecina, cleistotecios. Parásito externo o interno, infección extensiva.
2. Dibujar y describir lo observado con el microscopio estereoscópico en los materiales propuestos.

B. Etiología de los oídios.

1. Observar y dibujar al microscopio compuesto las características morfológicas de los agentes causales, descripción, diferenciación y dibujo en los materiales propuestos de hifas, conidiofóros, conidios, cleistotecios.
2. Consignar en cada caso:
 - Clasificación de la enfermedad por la etiología y por la naturaleza de los procesos.
 - Clasificación de los síntomas por la naturaleza de los procesos.
 - Signo de la enfermedad. Planta hospedante. Agente causal.

Materiales propuestos:

- Oídio de la morera blanca: *Phyllactinia guttata*.
- Oídio del quebracho, *Caespitotheca (=Uncinula) forestalis*.
- Oídio del lapacho: *Ovulariopsis* sp.
- Oídio del roble: *Oidium quercinum*
- Oídio de las cucurbitáceas: *Oidium monilioides*.

TRABAJO PRÁCTICO Nº 10

ENFERMEDADES TIPO: MICOSIS: Royas y carbones.

BIBLIOGRAFÍA

Fernández Valiela, M. V. 1978. Introducción a la Fitopatología. 3.ed. Buenos Aires, Colección Científica INTA. v. III: Hongos.

Agrios, G. N. 1995. Fitopatología. 2nd. ed. México, Limusa.

INTRODUCCIÓN

Royas

Las royas afectan a plantas de distintas especies, cereales, frutales, forestales, ornamentales y se clasifican por la naturaleza de los procesos en hipoplásticas.

Los hongos que producen esta enfermedad atacan principalmente a las hojas, tallos y ocasionalmente frutos y verticilos florales.

Lo que caracteriza a este grupo de micosis es que los distintos órganos afectados exhiben pústulas (signo) de aspecto herrumbroso, pulverulento, generalmente erumpentes y de colores vivos, brillantes, amarillas, anaranjadas, rojizas a veces castañas u oscuras.

Los hongos que causan estas enfermedades son parásitos obligados (biótropos) y pertenecen al Subphylum: Pucciniomycotina (Phylum: Basidiomycota).

Carbones

Los carbones son enfermedades infecciosas o parasitarias. Los hongos que la producen son saprófitos facultativos ya que, en condiciones naturales, sólo se desarrollan sobre hospedantes vivos, pero se pueden cultivar en medios artificiales.

Las plantas afectadas son monocotiledóneas, especialmente gramíneas, forrajeras y cereales (no infectan plantas leñosas).

Las células de los tejidos afectados son destruidas y reemplazadas por las esporas negras del carbón, formando una masa carbonosa (signo). Los hongos que producen esta enfermedad pertenecen al Subphylum: Ustilaginomycotina (*Phylum: Basidiomycota*), que producen teliosporas.

OBJETIVOS

- Conocer las características más importantes de las royas y carbones.
- Identificar y diferenciar los síntomas y signos externos de las royas y carbones.

- Diferenciar las royas y carbones de otras micosis.
- Emplear los métodos más corrientes de laboratorio para el estudio de micosis.
- Utilizar la terminología fitopatológica apropiada.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

A) Sintomatología de las royas.

- 1) Observar a simple vista y al microscopio estereoscópico síntomas y signos externos, clorosis, pústulas (soro, uredosoro).
- 2) Dibujar y describir lo observado en el microscopio estereoscópico.

B) Etiología de las royas.

Observación al microscopio compuesto de las características morfológicas de los agentes causales de royas, dibujo y descripción: uredosoro con uredosporas, teleutosoros con teleutosporas según el material propuesto. Consignar en cada caso:

- Clasificación de la enfermedad por la etiología y por la naturaleza de los procesos.
- Clasificación de los síntomas por la naturaleza de los procesos.
- Signos. Planta hospedante. Agente causal.

C) Sintomatología de carbones.

- 1) Observar a simple vista y al microscopio estereoscópico síntomas y signos externos, clorosis, masa carbonosa.
- 2) Dibujar y describir lo observado en el microscopio estereoscópico.

D) Etiología de los carbones.

Observación al microscopio compuesto de las características morfológicas de los agentes causales de carbones. Consignar los mismos ítems del punto B.

TRABAJO PRÁCTICO Nº 11

Enfermedades tipo: Bacteriosis parenquimáticas, hiperplásticas y vasculares.

BIBLIOGRAFÍA

Agrios G.N. 1995. Fitopatología. 2ed. Méjico, Limusa. pág. 575-588.

Canteros N. 2000. Manejo de la cancrisis de los citrus en lotes con sanidad controlada. Hoja de divulgación N° 14. EEA Bella Vista, Corrientes.

Fernández Valiela M.V. 1975. Introducción a la fitopatología. 3ed. Buenos Aires, Colección Científica del INTA. V. II. Bacterias, Fisiogénicas. pág.279-287.

INTRODUCCIÓN

Reciben el nombre de bacteriosis las enfermedades de las plantas producidas por bacterias. De acuerdo a la naturaleza de los tejidos atacados y los efectos producidos, las bacteriosis se clasifican en parenquimáticas, vasculares e hiperplásticas.

Parenquimáticas

Las bacterias invaden los tejidos parenquimáticos o suculentos en primer lugar, y luego puede avanzar hacia los tejidos vasculares adyacentes. Los síntomas producidos son de tipo necrótico, como ser manchas foliares, tizones, canchales, podredumbres blandas, cavidades lisógenas.

Ej.: "Podredumbre blanda de las hortalizas" (*Erwinia carotovora* pv. *carotovora*).

"Quemazón del tabaco y de la soja" (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*).

Vasculares

Las bacterias invaden en primer lugar los tejidos vasculares donde se multiplican, llenan los vasos del xilema y se vuelven sistémicas. Se produce el oscurecimiento de los vasos ocluidos, que reduce la corriente de agua, dando por resultado un marchitamiento y muerte subsiguiente.

Ejemplos: "Cancro del tomate" (*Clavibacter michiganense* pv. *michiganense*)

"Marchitamiento de las solanáceas" (*Rasltonia solanacearum*)

Hiperplásticas

La actividad bacteriana determina hiperplasia e hipertrofia de los tejidos meristemático y parenquimático del hospedante, que da por resultado la formación de agallas o tumores.

Ejemplo: "Agalla del cuello de las plantas" (*Agrobacterium tumefaciens*).

Signo de las bacteriosis

El signo es una zooglea. Está constituido por un exudado generalmente de aspecto mucoso, color blanco, grisáceo, amarillento, formado por innumerables bacterias, productos de su metabolismo y productos de desintegración del tejido vegetal. Generalmente se hace aparente sobre los órganos atacados, bajo condiciones de humedad relativa elevada. Sobre hojas se presenta como pequeñas gotas que al secarse adquieren un aspecto escamoso.

OBJETIVOS

- Conocer las principales bacteriosis de importancia económica en la región.
- Aplicar la clasificación de las bacteriosis por los tejidos atacados y los efectos producidos en el material de clase.
- Utilizar la terminología fitopatológica apropiada

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

1. Sintomatología

1.1 Observar a simple vista y con microscopio estereoscópico, dibujar, describir los síntomas en los materiales propuestos.

1.2 Consignar en cada caso: Clasificación de la enfermedad según el agente causal; nombre y clasificación del síntoma por la naturaleza de los procesos (clasificación de Whetzel); nombre y clasificación de las bacteriosis por la naturaleza de los tejidos afectados y los efectos producidos; nombre común de la enfermedad; planta hospedante.

2. Etiología

2.1. Observar a simple vista y con microscopio compuesto el signo de la enfermedad en el material enfermo.

2.2. Consignar la nomenclatura y taxonomía del agente causal.

TRABAJO PRÁCTICO N° 12

Enfermedades tipo: Virosis necróticas, deformantes, mosaicos.

BIBLIOGRAFÍA

Agrios G.N. 1995. Fitopatología. 2da. ed. Méjico, Limusa. pág. 663-666.

Fernández Valiela M.V. 1995. Virus patógenos de las Plantas y su Control. 4ta. ed. Buenos Aires, Colección Científica INTA. pág. 35-40.

Jauch C. 1985. Patología Vegetal. 3ed. El Ateneo. Buenos Aires. pág. 43-46.

OBJETIVOS

- Conocer las principales virosis de importancia económica en la región.
- Diferenciar los síntomas que presentan los distintos tipos de virosis.
- Utilizar la terminología fitopatológica apropiada.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

A. Virosis necróticas

Enfermedad tipo en estudio: "Tristeza de los citrus".

Sintomatología: Describir los síntomas que caracterizan a la enfermedad.

Realizar el esquema de la Tristeza de los citrus. Explicar el mecanismo de la enfermedad y tipo de transmisión del virus.

B. Virosis deformantes

Enfermedad tipo en estudio: "Enanismo rugoso del maíz o Mal del Río Cuarto"

Sintomatología: Dibujar y describir los síntomas que caracterizan a la enfermedad.

Explicar el tipo de transmisión del virus.

C. Mosaicos u otros cambios de color

Enfermedad tipo en estudio:

De igual modo se hará el mismo trabajo con el material propuesto por la Cátedra.

TRABAJO PRÁCTICO Nº13

Técnicas de diagnóstico de micosis

OBJETIVOS

- Comprender los fundamentos y la aplicación de técnicas utilizadas en el diagnóstico de micosis en plantas.
- Comprender y aplicar los postulados de Koch.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO.

DIAGNÓSTICO DE UNA ENFERMEDAD DE ORIGEN CONOCIDO.

Una enfermedad de origen conocido es aquella que ya fue descrita y publicada, de modo tal que es posible encontrar en la bibliografía la descripción del agente causal y las características de los síntomas, signos (a nivel macro y microscópico) que permiten identificarlo.

1. Observación macroscópica de síntomas y signos.

En el caso de enfermedades que producen síntomas y/o signos muy típicos y distintos de otras enfermedades, es posible realizar un diagnóstico presuntivo, sin llegar a determinar el agente causal con precisión. Dependiendo del objetivo del diagnóstico, este abordaje puede ser suficiente para algunas situaciones como, por ejemplo, el monitoreo de enfermedades en un cultivo, la medición del nivel de enfermedad.

Observar en forma macroscópica los síntomas y signos del material enfermo. **Dibujar, describir y clasificar los síntomas y signos** observados.

2. Incubación en cámara húmeda

En caso de no observar signos, se puede realizar una en una cámara húmeda a fin de generar condiciones de humedad más propicias para el desarrollo del signo.

Para realizar la cámara húmeda:

- (a) Limpiar y desinfectar con alcohol 70% el recipiente que se va a utilizar.
- (b) Colocar en la base una capa de algodón y/o una hoja de papel absorbente, humedecidos con agua.
- (c) Colocar la muestra vegetal encima de la hoja o algodón.

- (d) Cerrar el recipiente e incubar a temperatura ambiente o en estufa por 24-48 hs.
- (e) Observar la aparición de signos. **Dibujar, describir y clasificar los signos** observados.

3. Observación microscópica de signos

Las características microscópicas de las estructuras vegetativas (hifas) y de reproducción (esporas sexuales y asexuales, cuerpos de fructificación) de los hongos nos permiten identificar el agente causal, por lo menos a nivel de género y en muchos casos también la especie. De esta manera podemos arribar a un diagnóstico más preciso.

Para realizar las observaciones:

- (a) Realizar un preparado a partir del signo de la enfermedad. (Elegir la metodología más apropiada según el tipo de signo, como se realizó en los trabajos prácticos anteriores).
- (b) **Dibujar, describir y clasificar las estructuras** observadas.

4. Revisión bibliográfica

Revisar bibliografía en búsqueda de posibles antecedentes que se relacionen con el material estudiado. **Citar los textos utilizados.**

5. Resultado del diagnóstico

En base a las actividades cumplidas, **consignar el diagnóstico incluyendo nombre común de la enfermedad y nombre del agente causal.**

DIAGNÓSTICO DE UNA ENFERMEDAD DE ORIGEN DESCONOCIDO

Cuando no hay disponible bibliografía que describa enfermedades coincidentes con los síntomas y/o signos observados en la muestra problema, antes de identificar al patógeno, es necesario confirmar que el microorganismo aislado es el que causa la enfermedad. Para ello se aplican los Postulados de Koch.

Primer postulado de Koch

1. Observar en forma macroscópica y microscópica los síntomas y signos del material enfermo. Dibujar, describir y clasificar los síntomas y signos observados.
2. Revisar bibliografía en búsqueda de posibles antecedentes que se relacionen con el material estudiado. Citar los textos utilizados.
3. En base a las actividades cumplidas, consignar el diagnóstico preliminar.

Segundo postulado de Koch

Siembra del material enfermo en un medio de cultivo artificial: agar papa glucosado (APG), 1,5 %, pH 7.

1. Preparar cajas de Petri con medio de cultivo artificial APG, 1,5 %, pH 7.
2. Esterilizar una aguja histológica o un ansa a la llama del mechero.
3. Tomar material del órgano enfermo, mediante aguja o ansa y sembrarlo en las cajas de Petri en 3-4 puntos equidistantes.
4. Incubar las cajas en estufa a 26º C.
5. Observar y describir las colonias formadas.

Aislamiento en APG, pH 7, de la colonia desarrollada en las cajas de Petri sembradas.

1. Preparar tubos de ensayo con APG, pH 7 en pico de flauta.
2. Esterilizar una aguja o ansa a la llama del mechero.
3. Tomar material de la colonia desarrollada en cajas de Petri, mediante una aguja o ansa.
4. Depositar dicho material en el fondo del tubo con APG en pico de flauta e incubar los tubos en estufa a 26º C.
5. Extraer con un ansa estéril una porción de colonia y observar al microscopio compuesto. Dibujar y describir las características del microorganismo observado.

Tercer postulado de Koch

Prueba de patogenicidad: Inoculación del microorganismo aislado en un hospedante sano.

1. Inoculación con producción de heridas.
 - a) Desinfectar los materiales para las pruebas y provocar leves heridas superficiales en los órganos sanos.
 - b) Tratamiento Testigo: colocar sobre las heridas de los órganos trozos de APG, pH 7, estéril, cubrirlo con algodón húmedo.
 - c) Tratamiento inoculado: extraer con un ansa estéril una porción de colonia del microorganismo aislado y colocarla sobre las heridas de los órganos, cubrirlo con algodón húmedo.
2. Inoculación sin producción de heridas.
 - a) Desinfectar los materiales para las pruebas.
 - b) Tratamiento testigo: colocar en los órganos APG estéril, cubrirlo con algodón húmedo.
 - c) Tratamiento inoculado: extraer con un ansa estéril una porción de colonia del microorganismo aislado y colocarla directamente sobre los órganos, cubrirlo con algodón húmedo.

3. Incubar todos los tratamientos en cámara saturada de humedad.
4. Observar diariamente todos los tratamientos y describir los síntomas y signos observados.

Cuarto postulado de Koch

1. Reaislar en APG, pH 7, el microorganismo desarrollado en los órganos inoculados, aplicado las técnicas consignadas en el segundo postulado de Koch.
2. Comparar el microorganismo reaislado con el inoculado e identificarlo.

TRABAJO PRÁCTICO Nº 14

Técnicas de diagnóstico de bacteriosis

INTRODUCCIÓN

Características generales de las bacterias

Las bacterias son microorganismos unicelulares que no pueden verse a simple vista, generalmente con un tamaño de 1-3 μm , más pequeños que las esporas de hongos. Son organismos procariotas, es decir que no tienen organelas rodeadas por membrana, como núcleo o mitocondrias. El citoplasma está envuelto por una membrana citoplasmática que está formada por una bicapa de fosfolípidos que actúan como barrera de permeabilidad selectiva. Solamente algunas estructuras del citoplasma, principalmente inclusiones de reserva son visibles con el microscopio óptico. Con el microscopio electrónico, el citoplasma se observa finamente granuloso como consecuencia de los abundantes ribosomas pequeños del tipo 70S

Los cromosomas compuestos por ADN están enrollados y en algunos casos puede haber más de uno por célula. Las bacterias pueden tener plásmidos -entidades genómicas extracromosómicas- los que pueden codificar para factores de virulencia esenciales o, por el contrario, factores de control biológico, que son productos químicos efectivos contra bacterias deletéreas u hongos.

La mayoría de las bacterias tienen pared celular, ésta determina la forma de la bacteria que puede ser esférica (cocos), espiralada (espirilos) o en forma de bastón (bacilos). La mayoría de las bacterias fitopatógenas son baciliformes. Algunas bacterias tienen forma diferente y carecen de pared celular. Estos organismos, llamados mollicutes (Clase Mollicutes), incluyen a los fitoplasmas que son pleomórficos (es decir que pueden adoptar diferentes formas) y los espiroplasmas que tienen forma espiralada. Finalmente, algunas bacterias (Actinobacterias) producen filamentos largos y ramificados y son conocidas por producir compuestos inhibitorios (antibióticos) que afectan al crecimiento y desarrollo de otros organismos.

Muchas bacterias secretan polisacáridos extracelulares (EPS, exopolisacáridos), carbohidratos de alto peso molecular que se adhieren a la superficie exterior de las células. Cuando los EPS forman una capa mucosa densa, ésta se denomina cápsula. Los EPS protegen a la célula bacteriana de la desecación e intervienen en el proceso de patogénesis, principalmente en los marchitamientos.

Las bacterias pueden tener o no apéndices: flagelos, estructuras externas que propulsan a las células cortas distancias a través de líquidos y fimbrias o pili, apéndices más pequeños parecidos a hilos, generalmente en varios lugares. La localización de los flagelos, ya sea en los extremos de la célula bacteriana (polar) o en toda la superficie de la célula (perítrica), es una característica taxonómica muy útil. Se cree que las fimbrias son útiles para la adherencia.

Las bacterias se reproducen por fisión binaria, en la cual una célula se divide en dos células idénticas después de la replicación del ADN cromosómico. Si bien no tienen

reproducción sexual, existen varias vías de intercambio genético entre células bacterianas. Durante la conjugación, parte o todo el cromosoma puede ser transferido directamente de una bacteria a otra, también porciones del genoma pueden ser transferidas por plásmidos o bacteriófagos (virus que infectan bacterias). El modo más común de cambios genéticos en las bacterias es a través de mutaciones, errores que ocurren durante la replicación del ADN.

Diagnóstico y detección de bacterias fitopatógenas

La observación de los síntomas y la verificación de la presencia de zooglea, son los primeros pasos para el diagnóstico de las bacteriosis. En el caso de las manchas foliares es importante examinar las hojas en búsqueda de pequeñas lesiones de color verde oscuro y/o la presencia de una zona húmeda alrededor de las lesiones necróticas. Si se sospecha de un problema bacteriano, se pueden hacer cortes del borde de la lesión y observar la salida de bacterias del tejido infectado. Para ello se coloca un trozo de tejido sobre un portaobjetos con una gota de agua. Se corta con bisturí en la zona de avance de la lesión, se cubre con un cubreobjetos y se observa en microscopio con el mínimo aumento la salida de un flujo bacteriano. Sin embargo, estos procedimientos no son suficientes para identificar a las bacterias fitopatógenas. La confirmación de la etiología de origen bacteriano de una enfermedad suele precisar de una o varias pruebas que varían en su complejidad. Estas técnicas pueden requerir la obtención de un cultivo puro (P. ej., caracterización morfológica y bioquímica) o realizarse directamente a partir del material vegetal infectado, como en el caso de las técnicas moleculares.

Aislamiento. El aislamiento de bacterias fitopatógenas de una muestra vegetal tiene por objetivo obtener colonias separadas y evaluar la composición de la microflora bacteriana presente. La mayoría de las bacterias fitopatógenas son parásitos facultativos que pueden adaptarse a una diversidad de ambientes. Como resultado, es relativamente fácil cultivarlas en medios nutritivos estándar. Las células bacterianas individuales no son visibles a simple vista, pero cada bacteria se divide muchas veces y forma una colonia que puede ser vista sobre la superficie del medio de cultivo con agar. Una colonia constituirá un aislamiento utilizable para su estudio y caracterización. Algunas bacterias que afectan a las plantas no han podido ser cultivadas nunca o requieren medios de cultivo especiales y complejos, por esto se las llama bacterias fastidiosas. Existen tres grupos de bacterias fastidiosas: los Mollicutes sin pared celular (fitoplasmas y espiroplasmas), bacterias con pared celular restringidas a floema (*Candidatus Liberibacter*) y bacterias con pared celular restringidas a xilema (*Xylella fastidiosa*).

Para realizar un aislamiento se toma un fragmento de tejido ubicado en la zona de avance de la lesión y se lo desinfecta superficialmente para evitar la contaminación con microorganismos saprófitos. A continuación, se dilacera el fragmento con un bisturí o se lo macera en un mortero con agua destilada. Con la suspensión obtenida se realizan diluciones y se siembra en cajas de Petri con un medio de cultivo sólido. A las 48 h se selecciona una (o varias) colonias aisladas y se las purifica haciendo estrías sucesivas en nuevas placas de Petri. Una vez obtenido un cultivo puro, se procede a su identificación.

Reacción de hipersensibilidad en tabaco. Esta reacción se debe a una respuesta rápida de defensa de la planta frente a patógenos compatibles. Se utiliza mucho en el diagnóstico rápido porque permite seleccionar las posibles bacterias fitopatógenas entre las aparecidas en un aislamiento. No todas las bacterias fitopatógenas producen reacción de hipersensibilidad, *Agrobacterium tumefaciens* y *Pectobacterium spp* no lo hacen, pero la mayoría de *Pseudomonas* y *Xanthomonas* sí la inducen. Por lo tanto, si un aislamiento es capaz de provocar esta reacción en tabaco, será un indicio de que se trata de un fitopatógeno. La prueba de hipersensibilidad se suele realizar en hojas de tabaco, pero en el caso de bacterias que sean patógenas para el tabaco se puede usar también tomate u otras especies no afectadas por la bacteria a inocular, ya que si se utilizara el huésped compatible se desarrollaría la enfermedad y no la reacción de hipersensibilidad. La reacción de hipersensibilidad se observa 24 o 48 horas después de la inoculación, aparece una necrosis y desecamiento brusco que se observa exclusivamente en la zona infiltrada.

Test de patogenicidad. La patogenicidad es la característica más importante de las bacterias fitopatógenas, por lo que su verificación resulta imprescindible en la identificación bacteriana. Además, la comprobación de los postulados de Koch exige la inoculación artificial en huéspedes sanos, la observación de los síntomas en las plantas inoculadas y el re-aislamiento de la bacteria inoculada a partir de las plantas con síntomas.

Determinación de características morfológicas, bioquímicas y fisiológicas de los aislamientos.

Características morfológicas de las colonias: Para describir las colonias se tienen en cuenta la forma, tamaño, elevación, borde, consistencia, opacidad y coloración. Las características de las colonias de bacterias por sí mismas no permiten, en general, una correcta identificación. Sin embargo, pueden orientar el diagnóstico, especialmente en el caso de los pigmentos fluorescentes a la luz UV de las especies de *Pseudomonas* y los pigmentos amarillos de *Xanthomonas*.

Tinción de Gram: Puede realizarse la tinción clásica o la reacción alternativa con KOH. La mayoría de las bacterias fitopatógenas son Gram negativas, de los principales géneros, sólo *Clavibacter*, *Streptomyces*, *Bacillus* y *Clostridium* son Gram positivas.

Metabolismo respiratorio: Las especies incluidas en los géneros *Agrobacterium*, *Clavibacter*, *Rhodococcus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Ralstonia* y *Xanthomonas* son aerobias obligadas y utilizan el oxígeno como aceptor terminal de electrones. En cambio, las especies de *Erwinia* y *Pectobacterium* (anteriormente consideradas dentro de *Erwinia*) son anaerobias facultativas y pueden fermentar los azúcares en ausencia de oxígeno. Cuando se realiza el test de oxidación-fermentación de la glucosa de Hugh y Leifson, sólo las bacterias de estos dos géneros son capaces de crecer en anaerobiosis.

Utilización de diferentes fuentes de carbono: Se estudia la acidificación del medio como consecuencia de la transformación de compuestos orgánicos o de su utilización para el crecimiento.

Además, hay distintos tipos de pruebas simples que tienen gran peso en la identificación de ciertas especies, como la reacción de oxidasa, que sirve para diferenciar especies de *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Acidovorax* y *Ralstonia* (todos géneros antes incluidos en *Pseudomonas*).

La necesidad de realizar múltiples pruebas fisiológicas para la identificación de ciertas especies ha llevado al desarrollo de sistemas “multi tests” disponibles comercialmente y que suministran tablas y programas informáticos para la identificación.

Galerías API®: La utilización de los sistemas API® se basa en la capacidad de los cultivos puros bacterianos para producir determinadas enzimas y utilizar ciertos sustratos en condiciones estándar. Consta de 20 pequeñas celdas que permiten realizar 20 diferentes análisis bioquímicos. Dentro de ellas se siembra la bacteria problema y, después de 24 hs de incubación, se leen los resultados.

Placas BIOLOG: El método BIOLOG está basado en la capacidad de cada especie o patovar de utilizar 95 fuentes de carbono en microplacas. Ésta se detecta por un incremento en la respiración de las células en la celdilla, que lleva a una reducción irreversible del colorante tetrazolio y la formación de un color púrpura. Las placas se pueden leer visualmente o con el sistema automatizado de BIOLOG (usa un espectrofotómetro). La identificación de la especie bacteriana se basa en el perfil de utilización de fuentes generado por comparación con una base de datos.

OBJETIVOS

- Conocer y aplicar los métodos y técnicas de uso corriente en la identificación y observación de bacterias fitopatógenas.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

1. Características culturales de las bacterias fitopatógenas

Observar a simple vista y con microscopio estereoscópico, **dibujar y describir colonias** de bacterias fitopatógenas sobre sustrato natural (tubérculos de papa, semilla de soja y arroz) y en sustrato artificial (Agar nutritivo- AN). En cada colonia observada, indicar: forma, tamaño, color, bordes, elevación, textura, consistencia del medio, olor.

2. Métodos de observación de bacterias fitopatógenas

Movimiento bacteriano

- Observación en fresco o de bacterias vivas (Observación directa con agua estéril).

Colocar una gota de agua estéril sobre un portaobjeto; sobre la gota se deslíe una suspensión de bacteria, procedente de material vegetal enfermo o de un cultivo, con la ayuda de un ansa; cubrir con un cubreobjetos; observar con microscopio compuesto.

Dibujar y describir lo observado.

- Método de la gota pendiente (a partir de colonias desarrolladas en Agar Nutritivo)
Preparar una suspensión bacteriana; limpiar un portaobjeto excavado y un cubreobjeto; con un ansa colocar una gota de la suspensión en el centro del cubreobjetos, invertirlo y colocarlo sobre la excavación de portaobjetos; observar al microscopio compuesto. . **Dibujar y describir lo observado.**

Reacción con OHK

- Colocar 1-2 gotas de una solución al 3% de KOH sobre un portaobjeto limpio y desengrasado.
- Transferir asépticamente células bacterianas de un cultivo puro o de la savia enferma, a la gota de KOH, con un ansa en anillo
- Mezclar con movimientos circulares rápidos.
- Luego de pocos segundos, alternativamente levantar y bajar el ansa hacia la superficie del portaobjeto observando algún resultado.
- Si se observa la formación de un hilo viscoso denso, indica el rompimiento de las células y que la bacteria es Gram negativa.
- **Resultados: Consignar los resultados obtenidos para cada aislamiento de bacteria analizado.**

Flujo bacteriano

- Cortar un trozo de tejido (tallo, fruto) enfermo de 1 a 2 cm de largo.
- Suspende el trozo en posición vertical y sumergir en la parte superior de una columna de agua en un vaso de vidrio.
- Después de unos minutos se puede observar la presencia de un hilo de bacterias que fluye del tejido, y desciende dentro del agua y se deposita como una nube lechosa.
- . **Dibujar y describir lo observado.**

3. Aislamiento de bacterias a partir de tejidos vegetales

- Cortar un trozo de tejido (tallo, fruto) enfermo de 1 a 2 cm de largo.
- Desinfección:
 - Sumergir el tejido durante 5 min en un frasco con lavandina 10%.
 - Transferir el tejido a un frasco con agua destilada estéril para enjuagar.
- Macerar el tejido utilizando un mortero y pilón, agregando unas gotas de agua destilada estéril.
- Siembra:

- Realizar las diluciones necesarias según indicación del docente
- Esterilizar el ansa en el mechero, dejar enfriar y sembrar en cajas de Petri con agar nutritivo.
- Incubar en estufa a 28° C.
- Observar el crecimiento de colonias bacterianas a las 24 y 48 horas.
- **. Dibujar y describir lo observado.**

4. Prueba de hipersensibilidad en tabaco

- A partir de cultivos bacterianos de 24h de crecimiento realizar una dilución de $\sim 1 \times 10^8$ ufc/ml con agua destilada estéril, según indicaciones del docente.
- Con una jeringa estéril inyectar la suspensión de bacterias en una hoja de tabaco, procurando llegar al mesófilo.
- Como control negativo inocular con agua destilada estéril.
- En todos los casos rotular el tratamiento correspondiente.
- Observar las reacciones 24 y 48h después de la inoculación.
- **. Dibujar y describir lo observado.**

5. Prueba de patogenicidad

- *Xanthomonas citri* subsp. *citri*
 - A partir de un cultivo bacteriano, realizar una dilución de $\sim 1 \times 10^8$ ufc/ml con agua destilada estéril, según indicaciones del docente.
 - Desinfectar superficialmente las hojas de pomelo que serán inoculadas.
 - Con una jeringa estéril inyectar la suspensión de bacterias en la hoja de pomelo, procurando llegar al mesófilo.
 - Realizar un control negativo inoculando con agua destilada estéril.
 - En todos los casos rotular el tratamiento correspondiente.
 - Observar periódicamente la aparición de síntomas.
 - **. Dibujar y describir lo observado.**
- Bacterias vasculares de tomate (*Ralstonia solanacearum* / *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*).
 - A partir de un cultivo bacteriano, realizar una dilución de $\sim 1 \times 10^8$ ufc/ml con agua destilada estéril, según indicaciones del docente.
 - Esterilizar la hoja del bisturí en el mechero y enfriarla.
 - Sumergir la hoja de bisturí en la suspensión bacteriana y cortar el pecíolo de la primera hoja expandida, permitiendo que la suspensión bacteriana ingrese. De ser necesario, agregar una gota más de la suspensión en la herida.
 - Realizar un control negativo inoculando con agua destilada estéril.
 - En todos los casos rotular el tratamiento correspondiente.
 - Observar periódicamente la aparición de síntomas.
 - **. Dibujar y describir lo observado.**

TRABAJO PRÁCTICO Nº 15

Técnicas de diagnóstico de virosis

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. N. 1995. Fitopatología. 2da. ed. México, Limusa. Pág. 663-666.
Fernández Valiela, M. V. 1995. Virus patógenos de las Plantas y su Control. 4ta. ed. Buenos Aires, Colección Científica INTA. Pág. 35-40.
Jauch, C. 1985. Patología Vegetal. 3ra. ed. El Ateneo. Buenos Aires. Pág. 43-46.

INTRODUCCIÓN

Los síntomas causados por los virus son consecuencia de la penetración y de la multiplicación de los mismos en las células del vegetal. Un mismo virus puede afectar distintos hospedantes y causar en ellos síntomas diferentes, así como diferentes virus pueden afectar al mismo hospedante con síntomas similares o diferentes.

El ambiente, sobre todo la temperatura, influye sobre la manifestación de los síntomas, los cuales pueden desaparecer temporalmente cuando cambian las condiciones, se habla entonces de síntomas enmascarados (enmascaramiento).

Un virus es latente y la planta es portadora sin síntomas o tolerante cuando se produce una infección sin síntomas, los que no aparecen, independientemente de cómo fluctúe el medio en que se encuentre el hospedante (latencia).

Ambos fenómenos se denominan inapariencia (ausencia de síntomas).

La mayoría de las infecciones virales son sistémicas, las excepciones son el virus de la lepra explosiva y las inoculaciones mecánicas que a veces determinan lesiones locales.

Síntomas macroscópicos

Pueden agruparse de tres maneras: Cambios en la coloración normal de la planta, alteraciones en el crecimiento y necrosis.

Cambios en la coloración normal de la planta: las alteraciones del color son comunes en las infecciones virales. Los síntomas observados son: mosaico, listado, clorosis, aclaramiento de las nervaduras, oscurecimiento de las nervaduras, diseños en líneas, anillos cloróticos, manchas en semillas.

Alteraciones en el crecimiento: las mismas pueden darse en toda la planta, en parte de ella o en los órganos afectados, hojas, flores, frutos, semillas. Pueden ser:

- a) Reducción en el desarrollo: con pocas excepciones todos los virus la producen. La reducción en el desarrollo puede afectar a los órganos de la planta, con disminución en el tamaño de hojas, flores y frutos, y un acortamiento de los pecíolos y entrenudos o afectar a toda la planta.

b) Anormalidades en el desarrollo: distorsiones de hojas, enaciones, tumores, fasciación en tallos, absición de flores y producción de semillas pequeñas, acanaladuras en ramas y troncos.

Necrosis: los síntomas resultantes de la muerte de células, de tejidos o de toda la planta son poco comunes y se agrupan bajo la denominación de necrosis.

Ejemplos: Tristeza de los citrus (Citrus Tristeza Virus) (incompatibilidad de tejidos), Virus X de la papa (Potato Virus X), Peste negra del tomate (Tomato Spotted Wilt Virus) (muerte de una parte del tejido de conducción y crecimiento).

Síntomas microscópicos

Se produce hipoplasia e hipotrofia en diversos tejidos, las hipertrofia e hiperplasia son menos comunes y necrosis en lugares determinados (tristeza). Los cambios más característicos en las células enfermas son alteraciones del núcleo, de los cloroplastos y del citoplasma, sólo observables con el microscopio electrónico, y la presencia de cuerpos de inclusión que no aparecen en las células sanas. Las inclusiones se pueden observar con microscopio común o con el microscopio electrónico. Son estructuras cristalinas (compuestas por virus o proteínas no virales) o estructuras amorfas (con componentes citoplasmáticos normales, partículas virales y otras estructuras).

Signo de las virosis

Los signos en las virosis son microscópicos como las inclusiones cristalinas, agregados de partículas virales, que pueden observarse en las células del hospedante (TMV en tabaco) o ser ultramicroscópicos y sólo observables con el microscopio electrónico como las mismas partículas virales.

Diagnóstico de enfermedades causadas por virus vegetales

Debido a que diferentes virus pueden producir síntomas similares, el fenotipo de la enfermedad puede proveer solamente información limitada, aunque útil, para el diagnóstico de la enfermedad.

Los métodos de identificación viral más específicos y confiables se basan en diferentes propiedades de los virus. Estas características y sus correspondientes aplicaciones incluyen:

1. **Patogenicidad. Bioensayos que usan plantas indicadoras.** Algunos géneros vegetales, tales como *Nicotiana* y *Chenopodium* son hospedantes de un gran número de virus. Debido a que estas plantas tienen respuestas consistentes y distintivas a las infecciones virales en condiciones de invernáculo, es común usarlas como plantas indicadoras. Los dos tipos principales de respuesta son lesiones localizadas, que están confinadas a las hojas inoculadas (hospedantes de lesiones localizadas), y las infecciones sistémicas que producen síntomas en hojas distantes del sitio de inoculación (hospedantes sistémicos). Muchos de los virus vegetales son transmisibles a plantas indicadoras por medio de transmisión mecánica o por injertos.

La descripción de los síntomas que producen los diferentes virus sobre las plantas indicadoras comúnmente usadas se puede consultar en la base de datos del “Index of viruses”. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm>.

2. **Transmisibilidad.** Ensayos de transmisión por vectores. Debido a la especificidad del vector, la identificación del organismo que transmite al virus provee información importante para la identificación del virus.
3. **Arquitectura de las partículas virales.** Microscopía electrónica. La forma y tamaño de los viriones diferencia partículas en forma de barra, filamentosas, icosaédricas o partículas grandes con envoltorios. Por el contrario, es difícil distinguir a los virus que tienen la misma forma y tamaño. Por ejemplo, es difícil distinguir entre pequeños virus esféricos, y entre estos y los ribosomas vegetales.
4. **Presencia de estructuras específicas del virus en células infectadas.** Microscopía electrónica. Debido a su íntima asociación con los componentes celulares, frecuentemente los virus producen, como resultado de la infección, estructuras inusuales dentro de las células vegetales. Por ejemplo, los virus de la familia Potyviridae producen inclusiones en forma de “rueda de molino” características de los virus de esa familia pero que no se encuentran ni en células sanas ni en células infectadas con otros virus. Las inclusiones específicas de los virus han sido caracterizadas en un gran número de familias y géneros de virus, y la detección de estas inclusiones indica la presencia de un virus perteneciente a dicho grupo.
5. **Propiedades de la cubierta proteica.** Técnicas inmunológicas. Estos experimentos se basan en la identificación de un virus (el antígeno) a través de la reacción con sus anticuerpos específicos. Los anticuerpos específicos son producidos por un animal cuando proteínas foráneas son introducidas en éste. Para obtener anticuerpos que reaccionen específicamente con un virus vegetal en particular, los investigadores inyectan una preparación purificada del virus vegetal en el animal (generalmente un ratón o conejo). Varias semanas después de la inyección, se colecta la sangre del animal y los anticuerpos se separan de ella. Estos anticuerpos reaccionan específicamente con las proteínas virales que fueron inyectadas en el animal, y los investigadores usan la ventaja de esta interacción específica para diseñar técnicas de laboratorio para la detección de estos virus vegetales.

Uno de los métodos más utilizados para el diagnóstico de virus vegetales está basado en el uso de anticuerpos. Este método es el ensayo de inmunoabsorción de enzima ligada, o ELISA (Enzyme-linked immunoabsorbent assay). En este ensayo, un extracto de tejido vegetal en evaluación para la presencia de virus se incuba en una placa plástica microtitulada, y los viriones presentes en el extracto se unen a la superficie del pocillo. Luego, el anticuerpo del virus es agregado y se une a las partículas virales (si están presentes). Un segundo anticuerpo que ha sido conjugado, o ligado, a una enzima es agregado y se une al primer anticuerpo. Después de un lavado para remover el conjugado no ligado de enzima-anticuerpo, se agrega un sustrato incoloro para la enzima. La enzima procesa el sustrato produciendo un compuesto coloreado (por ejemplo, amarillo). La presencia del color indica la presencia del virus, y la intensidad del color puede usarse para

estimar la concentración viral. El método ELISA es, por lejos, la técnica inmunológica más utilizada en agricultura para la identificación de virus.

6. **Propiedades de los ácidos nucleicos virales.** Amplificación por PCR. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés: Polymerase Chain Reaction) es una técnica muy sensible y específica para la detección de virus. Está basada en la presencia de secuencias únicas en el ácido nucleico del genoma de cada virus. La secuencia del ADN viral que un investigador quiere amplificar es sometida a alrededor de 30 ciclos de copiado en un microtubo. En la prueba de PCR, pedazos cortos de ADN (cebadores, o “primers”) complementarios a porciones específicas del ácido nucleico viral se hibridan (adhieren) al ácido nucleico viral. Una enzima polimerasa termoestable es usada para sintetizar múltiples copias de una hebra de ADN que es complementaria a la porción de la secuencia del ácido nucleico viral comprendida entre los dos cebadores. Durante la reacción de PCR, el número de moléculas de la secuencia de interés se duplica con cada ciclo, y después de 30 ciclos el resultado es más de 10 billones de copias de dicha secuencia. El producto de la PCR puede detectarse usando electroforesis en gel, proceso en el cual una corriente eléctrica se utiliza para separar en un gel a las moléculas de diferente tamaño. Luego de la separación, los fragmentos de ADN en el gel se tiñen con un pigmento específico para ácidos nucleicos, y la presencia de una banda del tamaño apropiado indica la presencia del virus para el cual los cebadores de ADN fueron diseñados. Para los virus de ARN, la hebra de ARN es “retro”-transcripta a su ADN complementario, seguido de una amplificación del ADN resultante usando la técnica de PCR.

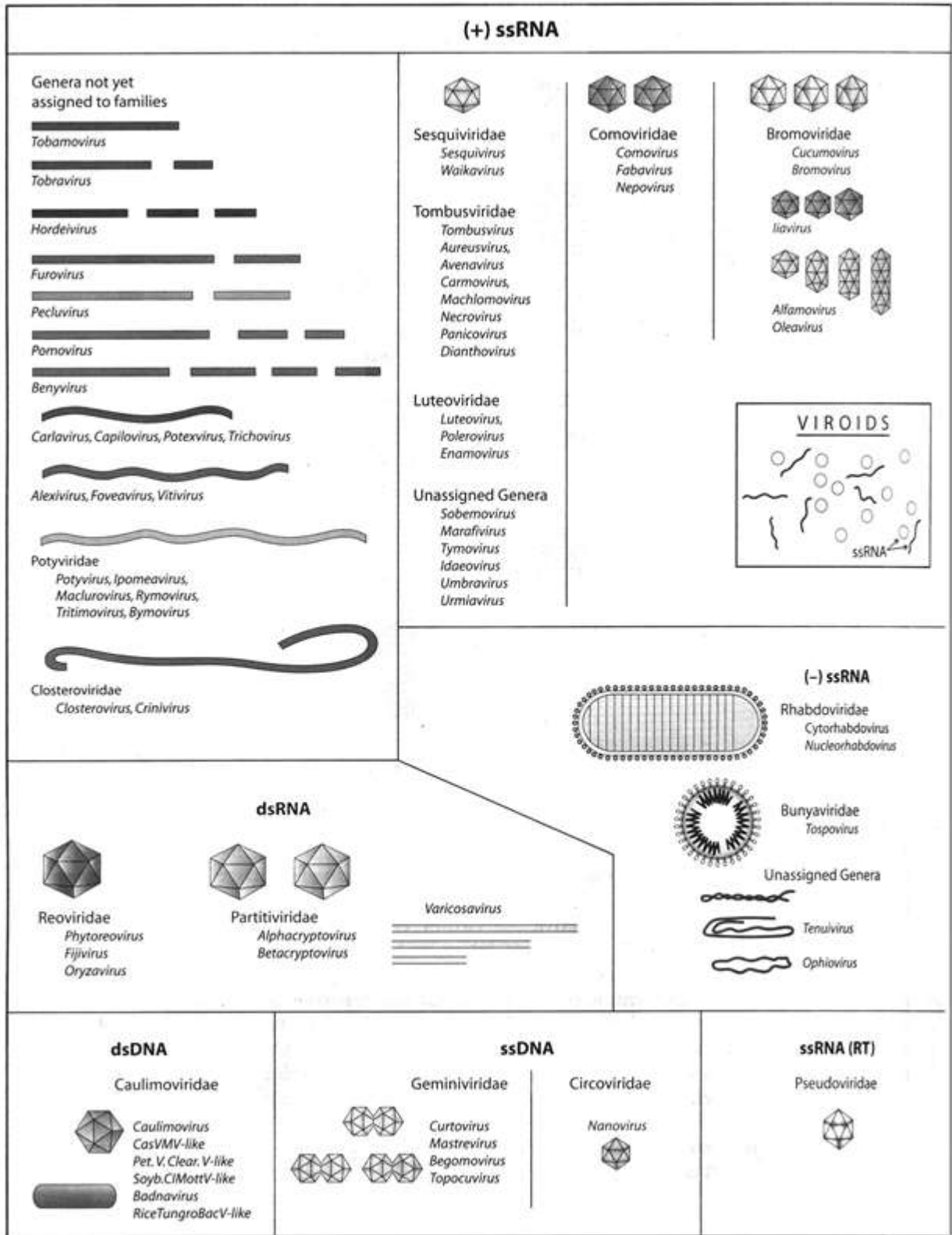


FIGURE 14-24 Schematic diagram of families and genera of viruses and of viroids that infect plants.

OBJETIVOS

- Conocer y aplicar diferentes técnicas de diagnóstico para virosis vegetales.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

- 1) Discutir en grupo y responder a los siguientes problemas sobre técnicas de diagnóstico de virosis:
 - a. En plantas de tomate cultivadas bajo cobertura observa los síntomas de la foto.



De acuerdo con la literatura consultada, considera que puede ser una enfermedad virósica causada por uno de dos virus: TMV (Tobaco Mosaic Virus- Tobamovirus) o CMV (Cucumber Mosaic Virus- Cucumovirus. Flia. Bromoviridae).

No dispone de antisueros, pero sí puede inocular las plantas que se indican en la tabla siguiente.

Síntomas en plantas indicadoras de virus transmitidos en forma mecánica.

	<i>Chenopodium quinoa</i>	<i>Nicotiana tabacum</i> cv. Samsun NN/ <i>N. glutinosa</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Vigna sinensis</i>
TMV	Lesiones locales	Lesiones locales	Lesiones locales	No susceptible
CMV	Lesiones locales	Asintomática o lesiones necróticas o cloróticas; mosaico sistémico	Lesiones locales	Lesiones locales

- i. De acuerdo a las descripciones de los síntomas en plantas indicadoras ¿cuál(es) de ellas inocularía en el presente caso? para identificar al agente causal? ¿Por qué?
 - ii. Si observa al microscopio electrónico de transmisión (MET) un preparado de savia (leaf dip), utilizando tinción negativa ¿podría distinguir entre ambos virus? ¿Por qué?
 - iii. Si quisiera distinguir por observación al MET entre un *Cucumovirus* y un *Luteovirus* (Flia. Luteoviridae) ¿Podría hacerlo? ¿Por qué?
 - iv. ¿Cuáles son las limitaciones de la microscopía electrónica para la identificación de virus?
- b. En la siguiente tabla se observan los resultados de la lectura de la absorbancia a 405 nm de una placa de ELISA. La placa corresponde al análisis realizado a hojas de ajo, con un antisuero para el virus GCLV (Garlic Common Latent virus). Cada celda (A1, A2... B1... H12) representa una muestra. Las tres cifras subrayadas corresponden a los controles sanos y las dos que están a su izquierda, a los controles enfermos. La celda A1 se utiliza como control blanco para la lectura del espectrofotómetro y no lleva jugo de planta. Tampoco deben considerarse las celdas con valores negativos, éstas no se utilizaron y no llevan sustrato.
- I. Teniendo en cuenta que el valor para considerar a una muestra positiva (línea de corte) es 2,5 veces la media de los controles sanos, señale cuáles son las muestras negativas o sanas para este virus.
 - II. ¿Cuáles son las muestras que tienen mayor concentración de virus?

GCLV

A

Impreso a las 19:21 el 23.02.05

22 Pagina 1.

DYNEX MRX

No. PRUEBA : MODO W/L : SIMPLE FECHA : 23.02.05
NOMBRE PRUEBA: PRUEBA FILTRO: 405 nm HORA : 19:21
PLACA : 0051 FILTRO REF. : * OPERADOR :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.000	1.433	1.352	1.409	1.356	1.415	1.399	1.343	1.384	1.321	1.347	-0.911
B	1.324	1.423	1.430	1.364	1.342	1.278	1.312	1.222	1.322	1.367	1.246	-0.015
C	1.290	1.302	1.297	1.342	1.310	1.394	1.442	1.327	1.334	1.325	1.295	0.143
D	1.332	1.375	1.446	1.354	<u>0.041</u>	<u>0.061</u>	<u>0.048</u>	1.310	1.275	1.272	1.302	-0.011
E	1.378	1.389	1.394	1.343	1.324	1.386	1.403	1.327	1.275	1.417	1.293	-0.020
F	0.914	-0.030	0.011	1.424	1.378	1.406	1.390	1.369	1.368	1.316	-0.015	-0.021
G	1.232	1.329	1.334	1.301	1.346	1.290	1.272	1.226	1.248	1.355	-0.015	0.006
H	1.348	1.387	1.343	1.464	1.329	1.457	1.386	1.198	1.475	0.053	-0.015	-0.017

TRABAJO PRÁCTICO Nº 16

EPIDEMIOLOGÍA: Medida de enfermedad. Incidencia y severidad.

BIBLIOGRAFÍA

C.M. Oddino, G.J. March y A.D. Marinelli. 2016. Introducción a la Epidemiología Agrícola.
MAY DE MIO, L.L., et al., 2008. Proposta de escala diagramática para quantificação da cercosporiose da beterraba. Scientia Agraria, v.9, n.3, p.331-337.

INTRODUCCIÓN

Patometría: Es el arte o la ciencia de medir enfermedades.

Se utiliza para:

- Estudiar la evolución de una enfermedad en función del tiempo.
- Determinar las pérdidas de rendimiento en función de la intensidad de la enfermedad. Permite hallar el *umbral de daño económico*.
- Determinar el momento adecuado para la aplicación de métodos de control. Permite hallar el *umbral de acción*.
- Determinar el efecto de prácticas culturales y evaluar la eficiencia de fungicidas u otro tipo de productos.
- Comparar el comportamiento de distintos clones, cultivares o variedades para seleccionar genotipos resistentes o tolerantes.

Las enfermedades se miden generalmente a través de dos parámetros: incidencia y severidad.

Incidencia (I): Es la cantidad de plantas u órganos enfermos en un lote o unidad de muestreo.

$$\text{INCIDENCIA} = \frac{\text{Nº de plantas infectadas}}{\text{Nº total de plantas}} \times 100$$

Se expresa en porcentaje de plantas afectadas y se calcula según la siguiente fórmula:

$$I (\%) = He / Th \times 100$$

Siendo:

He: Nº de plantas enfermas.

Th: Nº total de plantas analizadas.

La incidencia se evalúa a través de muestreos cuyo diseño depende del tipo de cultivo y de la enfermedad en cuestión.

Severidad (S): Es el área (superficie) o volumen de tejido afectado.

$$\text{SEVERIDAD} = \frac{\text{Cantidad de tejido afectado}}{\text{Área foliar total}} \times 100$$

Se expresa en porcentaje y se calcula según la siguiente fórmula:

$$S (\%) = \sum \text{Shi} / \text{Th}$$

Siendo:

Shi: Sumatoria de las superficies de las lesiones por hoja u órgano afectado.

Th: Área total evaluada, ya sea foliar u otros órganos evaluados (superficie total).

La severidad se evalúa a través de claves, patrones o modelos que permiten inferir el porcentaje de tejido afectado.

Metodología para el monitoreo de las enfermedades:

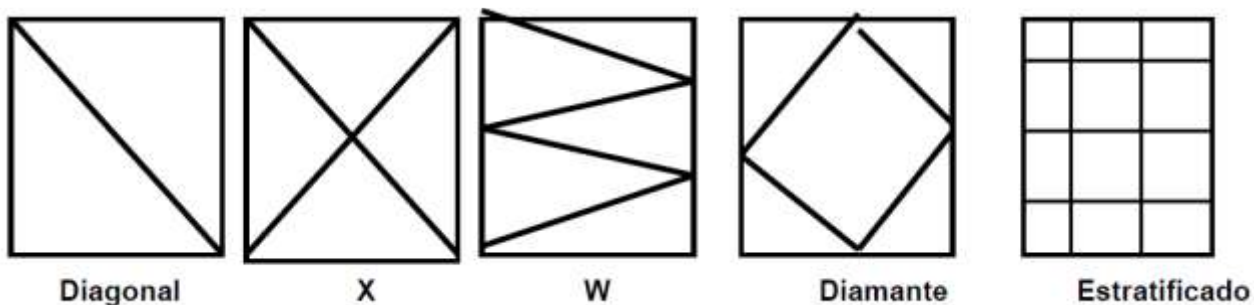
El monitoreo de las enfermedades deberá ser realizado varias veces a lo largo del período de crecimiento, por lo que se debe conocer los distintos estados fenológicos del cultivo (plántula, macollaje, encañazón, espigazón, llenado de granos y maduración).

Resulta imposible observar todas las plantas de un cultivo, solo se sacarán conclusiones a partir de una muestra, por esto el recorrido del monitreador deberá ser tal que garantice la representatividad de la muestra.

En general el tamaño de la muestra depende del objetivo del monitoreo, del modelo de dispersión de la enfermedad, de la disponibilidad de tiempo y de recursos y nivel de precisión deseado.

Para las royas y las manchas foliares cuya dispersión en el lote es generalizada y uniforme, se deberán recolectar 40-50 plantas por lote, a título de ejemplo.

Ejemplos de desplazamiento para un muestreo:



OBJETIVOS

- Comprender la importancia del muestreo en la cuantificación de enfermedades.
- Conocer los parámetros de uso común para la cuantificación de enfermedades.

- Aprender la metodología para determinar incidencia y severidad.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO:

Trabajar en grupos de hasta 5 alumnos.

1. Determinación de incidencia de enfermedades en frutales.

Determinar la incidencia de Lepra explosiva causada por Citrus leprosis virus, de cancrrosis de los citrus causada por *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (o la enfermedad que indique el docente a cargo) en lotes de naranja y/o mandarina.

- Contar y registrar en cada caso el número total de plantas observadas (Th) y el número de plantas que posean por lo menos una hoja con síntomas de la enfermedad en estudio (He), datos necesarios para calcular incidencia. $I (\%) = He / Th \times 100$

¿Cómo realizar el muestreo?

Seleccionar una planta cada 4 siguiendo diferentes diseños de muestreo (Cada grupo realizará un tipo de muestreo diferente según indicaciones del docente a cargo). Por ejemplo:

Grupo 1: Comenzar en un extremo del lote y continuar siguiendo un diseño en X.

Grupo 2: Comenzar en un extremo del lote y continuar siguiendo un diseño en W.

Grupo 3: Muestrear las dos últimas filas de plantas.

Grupo 4: Muestrear las dos primeras filas de plantas.

Grupo 5: Muestrear dos filas de plantas del medio del lote.

2. Determinación incidencia y severidad de enfermedades en acelga

Determinar incidencia y severidad de la viruela de la acelga causada por *Cercospora beticola*.

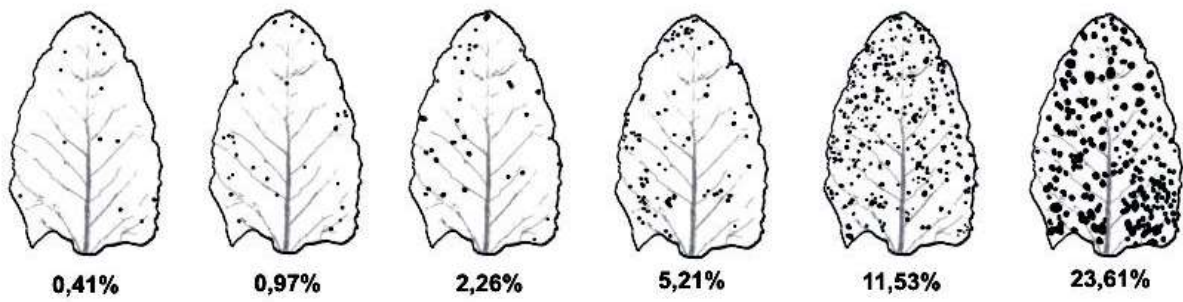
¿Cómo realizar el muestreo?

Cada grupo elegirá el diseño de muestreo que crea más adecuado para el tipo de enfermedad y de cultivo.

a) Para evaluar **incidencia** se deberá contar y registrar en cada caso el número total de plantas observadas (Th) y el número de plantas que posean por lo menos una hoja con síntomas de la enfermedad en estudio (He), datos necesarios para calcular incidencia. $I (\%) = He / Th \times 100$.

b) Para evaluar **severidad** se deberá extraer una hoja por cada planta seleccionada, siempre la misma hoja (por ej. la hoja media de cada planta, según se indique en el momento del muestreo).

En el aula o laboratorio determinar el porcentaje de tejido afectado de cada órgano, usando como ayuda la escala gráfica. Incluir los órganos asintomáticos o sanos (valor de severidad 0).



MAY DE MIO, L.L., et al. 2008

Aplicar la fórmula para calcular Severidad. $S (\%) = \sum Shi / Th$

3. **Confeccionar una tabla con los resultados obtenidos por todos los grupos.**
4. **Comparar los resultados y discutir en clase.**
5. **Presentar el informe correspondiente.**

TRABAJO PRÁCTICO Nº 17

EPIDEMIOLOGÍA: Patometría (segunda parte)

“Lo que no se mide, no se puede mejorar”

BIBLIOGRAFÍA

Guía para la Identificación de Enfermedades del Cultivo del Arroz (*Oryza sativa* L.) en la Provincia de Corrientes. 2013. Gutiérrez, S.A., Cúndom, M.A. Corrientes, Argentina. Disponible en:

https://www.acpaarrozcorrientes.org.ar/Paginas/Guia_de_enfermedades.pdf

Manejo de enfermedades de los cultivos según parámetros epidemiológicos. 2010. March, G.J., Oddino, C.M., Marinelli, A.D. Córdoba, Argentina.e

Mal de Río Cuarto en Argentina. Informe técnico de Pioneer Argentina S.R.L. 2007. Disponible en:

https://www.pioneer.com/CMRoot/international%5Cargentina_intl%5CAGRONOMIA%5Cbuletines%5Cmal_rio_cuarto.pdf

Diagnóstico e incidencia de enfermedades fungosas del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en dos comunidades del municipio de Copacabana. 2015. Conde Mendoza, R.O.

DESARROLLO DEL TRABAJO PRÁCTICO

Teniendo en cuenta los conceptos de incidencia y prevalencia desarrollados en el Trabajo Práctico nº16, realice las siguientes actividades:

Situación 1: Malezas como fuente de inóculo.

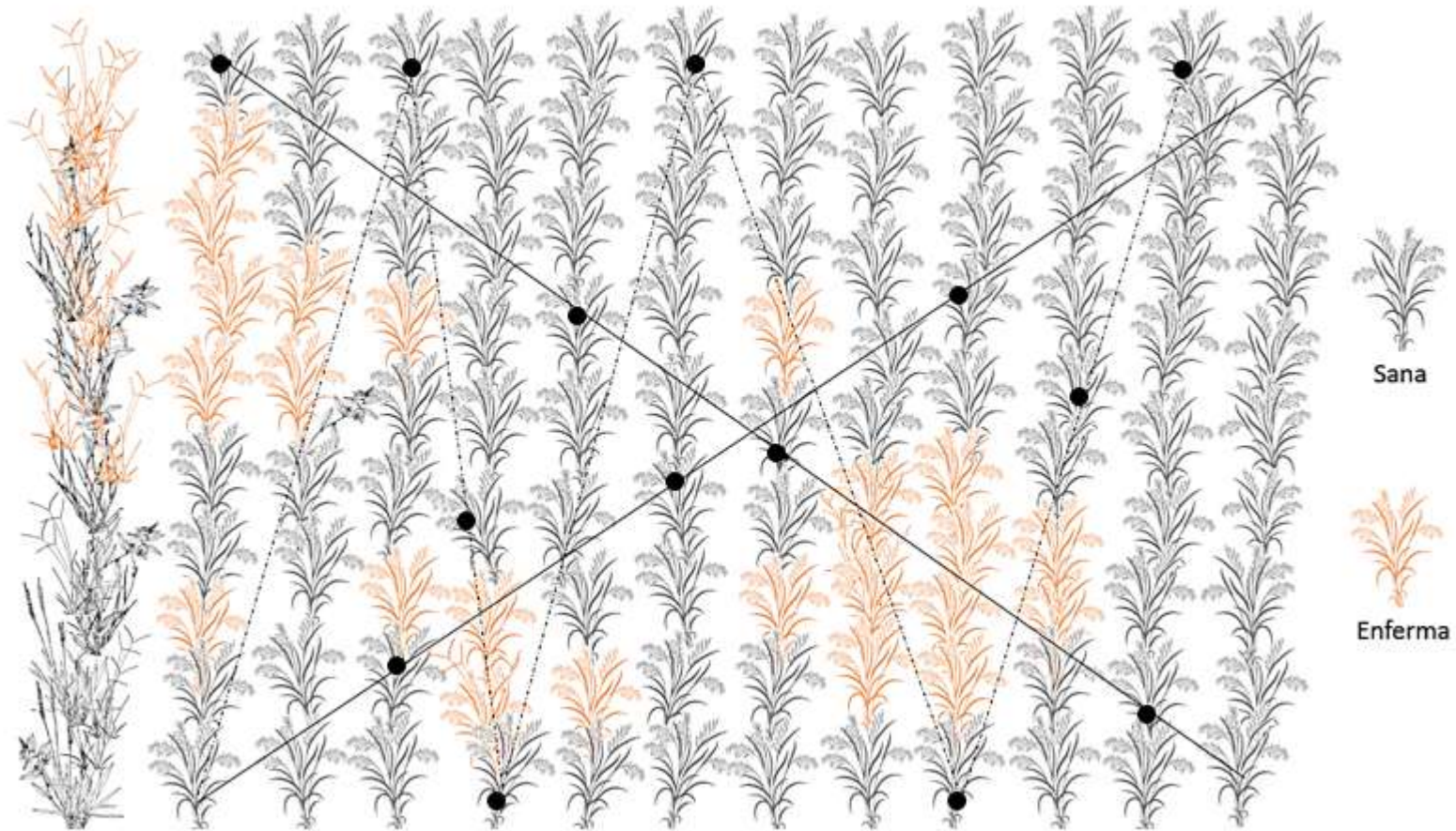
1. Los siguientes esquemas (A y B) representan un lote de arroz, ubicado junto a un canal enmalezado. Las plantas ubicadas en la columna izquierda representan malezas, mientras que el resto de las plantas corresponden a plantas de arroz. Tanto en las malezas como en el arroz se observan plantas rojas, estas son las que presentan enfermedad, mientras que las grises son las plantas sanas. Las líneas negras (continuas y discontinuas) indican diferentes diseños de muestreo, y los puntos negros ubicados sobre estas líneas marcan las plantas seleccionadas para su evaluación.

Teniendo en cuenta que la incidencia es el porcentaje de plantas enfermas del total de plantas analizadas, calcule en cada caso cual es la incidencia correspondiente:

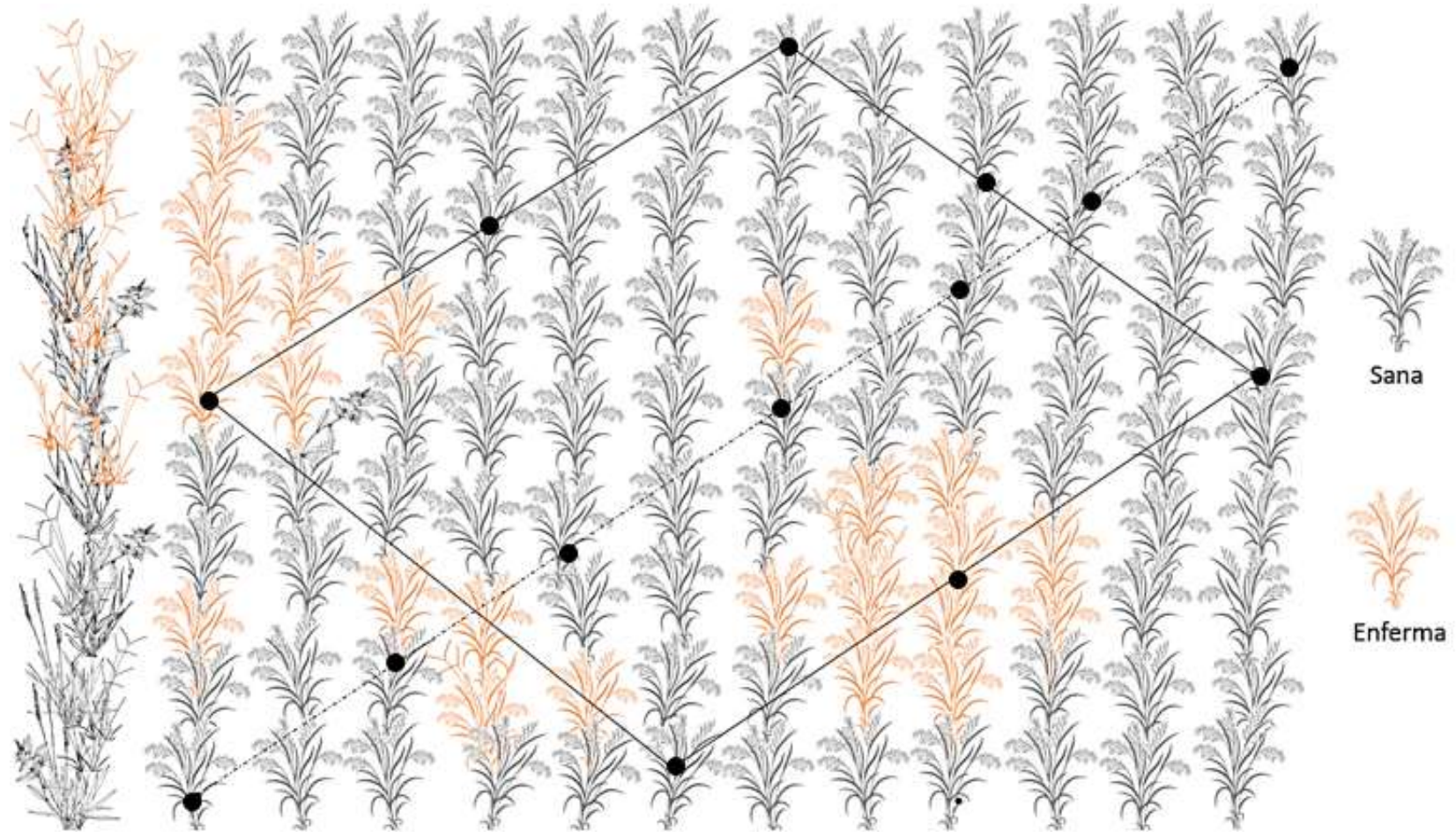
- Diseño de muestreo en X
- Diseño de muestreo en W
- Diseño de muestreo en forma de diamante
- Diseño de muestreo en diagonal

2. ¿Qué ocurriría en cada caso si se aumentan de 7 a 10 las plantas seleccionadas para su evaluación?

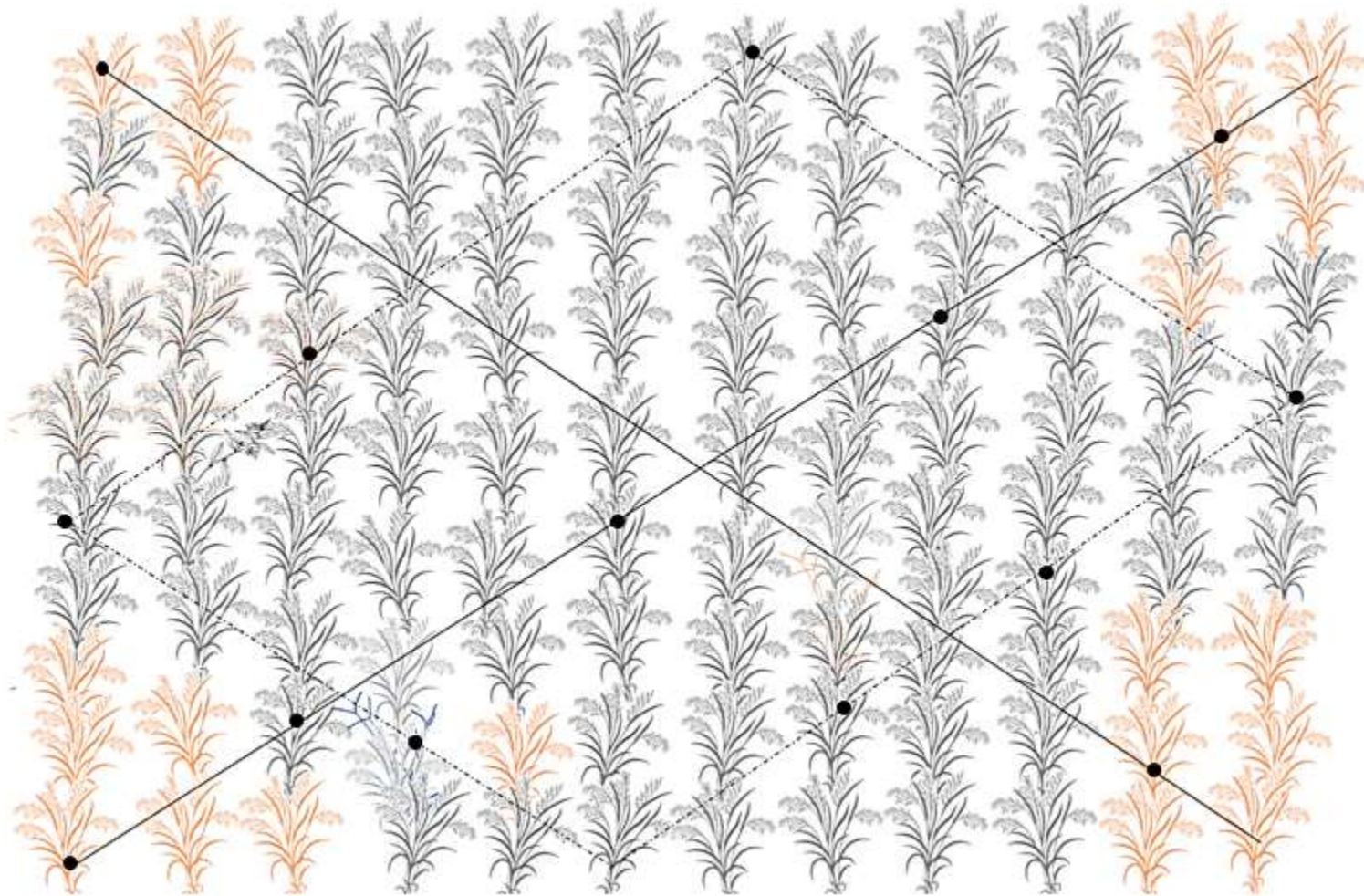
A)



B)



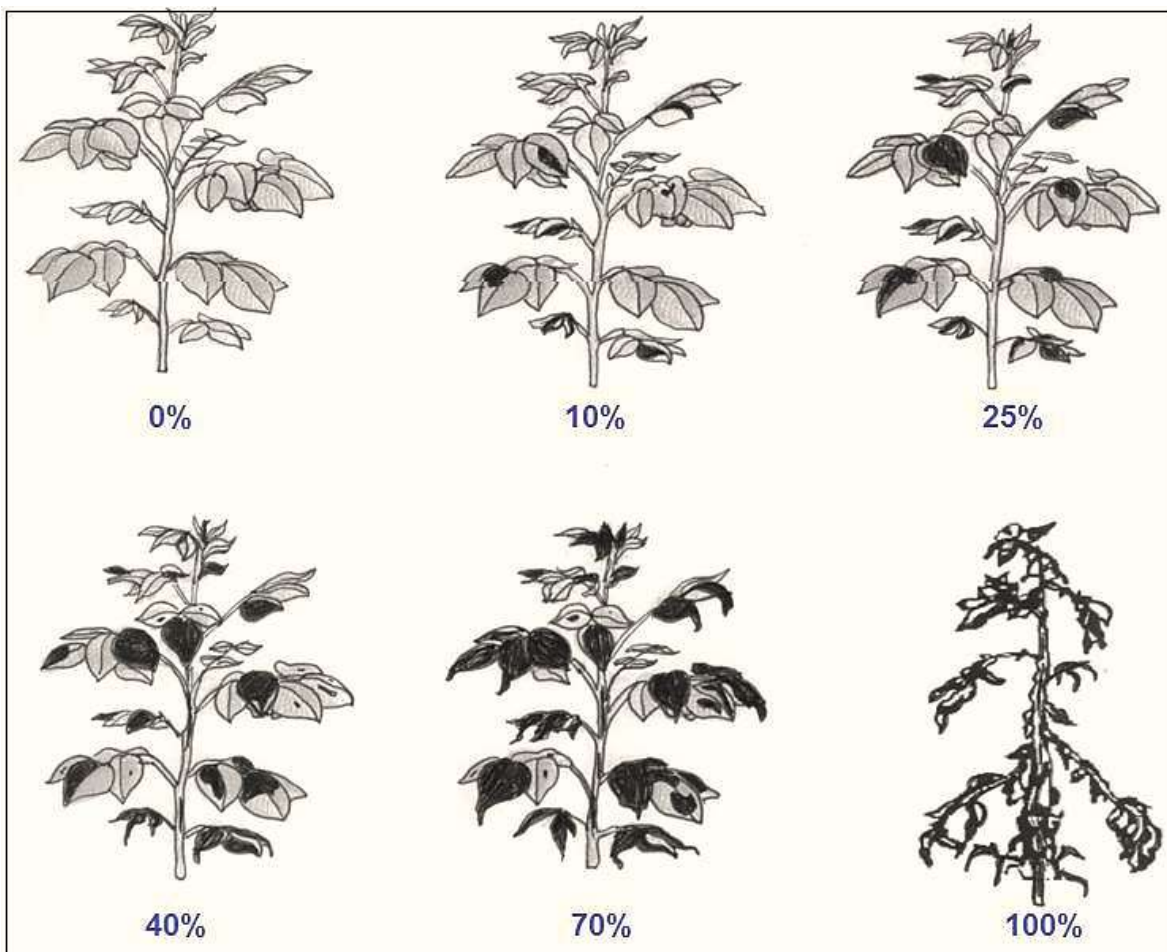
Situación 2: Cultivo de arroz con plantas con síntomas de tizón de la vaina del arroz (*Rhizoctonia solani*). Esta enfermedad se ve favorecida por la siembra densa de cultivares susceptibles y por un alto contenido de nitrógeno en la fertilización. Incluso en situaciones de manejo de fertilización adecuado, puede haber un exceso de nitrógeno en los bordes o esquinas de los lotes, donde la fertilizadora, al girar para continuar su recorrido, libera más fertilizante del que corresponde.



3. Realice los cálculos para conocer el porcentaje de incidencia en cada diseño de muestreo (en X y en forma de diamante).
4. ¿Qué ocurriría si aumenta el número de plantas recolectadas en cada uno de los diseños seleccionados?

Situación 3: Mancha de la hoja de la papa causada por *Phoma sorghina*.

5. Utilizando la escala diagramática de Mancha de la hoja de la papa que se encuentra a continuación, determine la incidencia y severidad de la enfermedad (desarrolle la totalidad de cada cálculo).



Escala diagramática de la mancha de la hoja por *Phoma* (Conde Mendoza, 2015) .



Situación 4: Mal de Río Cuarto Virus. Esta virosis presenta varios tipos de síntomas, desde pequeños tumores que se extienden a lo largo de la nervadura de las hojas (enaciones) a plantas mucho más pequeñas con hojas deformadas, proliferación de espigas con mala granazón, etc., lo que conlleva a marcadas disminuciones en el rendimiento. Esta enfermedad es transmitida por una chicharrita llamada *Delphacodes kuscheli*, por lo que en este caso la incidencia de la enfermedad estará relacionada con la cantidad de insectos vectores dentro del cultivo. La severidad en cambio estará muy relacionada con el momento en que las plantas son picadas, registrándose infecciones más severas cuanto más jóvenes sean las plantas.

Para evaluar la severidad se utiliza una **escala descriptiva**, donde cada grado de la escala describe los síntomas de la enfermedad

Escala de severidad de 4 grados (0-3)

Grado 0: Plantas asintomáticas.

Grado 1: Plantas con enaciones.

Grado 2: Plantas con entrenudos cortos, hojas deformadas, panojas atrofiadas y espigas con escaso desarrollo.

Grado 3: Plantas con enanismo, hojas superiores reducidas a sus vainas, proliferación de espigas, espigas muy chicas, sin granos y deformes (llamadas vulgarmente espiga pico de loro).

En ensayos realizados en Monte Buey, Córdoba, donde se evaluó el comportamiento de cultivares de maíz frente a esta enfermedad, se muestrearon 100 plantas de cada uno de los híbridos evaluados, y se determinó la severidad de cada una de ellas con la escala antes descrita.

a) Determine incidencia y severidad de cada híbrido.

b) A partir de los datos antes calculados, ¿puede diferenciar a los híbridos de maíz según su susceptibilidad?

Evaluación del Comportamiento de Cultivares de Maíz frente a MRCV - Monte Buey - Campaña 1996/97 Cultivar. Datos correspondientes al Ing. Agr. (MSc) Claudio Oddino.

Híbrido	Grados de Severidad	Incidencia por Grado	Incidencia	Severidad
DK 664	0	45		
	1	47		
	2	7		
	3	1		
DK 752	0	17		
	1	48		
	2	32		
	3	3		
AX 924	0	61		
	1	17		
	2	17		
	3	5		
Aimará	0	17		
	1	47		
	2	30		
	3	6		
Tilcara	0	32		
	1	39		
	2	22		
	3	7		
M 5	0	15		
	1	44		
	2	26		
	3	15		
C 280	0	17		
	1	51		
	2	15		
	3	17		

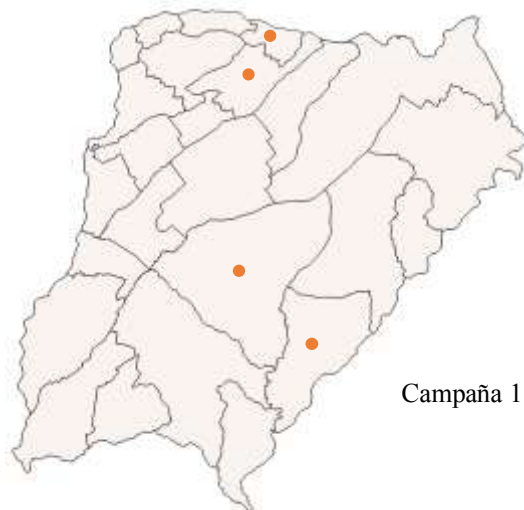
Situación 5: Tizón del arroz en la provincia de Corrientes. Esta enfermedad es causada por el hongo *Pyricularia oryzae*, y es de naturaleza esporádica, es decir que no se presenta todos los años. Cuando infecta variedades de arroz susceptibles inicialmente forma manchas en hojas, pero puede llegar a secar el cultivo si luego de la aparición de los primeros síntomas se presentan lluvias frecuentes, humedad relativa superior a 80%, elevada nubosidad y temperaturas de entre 25 a 28°C durante al menos 48 h.

A partir de un relevamiento realizado durante 3 campañas agrícolas, donde se muestrearon todos los departamentos con establecimientos arroceros de la provincia de Corrientes, se quiere determinar la **prevalencia** de la enfermedad, es decir el porcentaje de lotes o departamentos con presencia de la enfermedad sobre el total de lotes o departamentos relevados. Para su cálculo considere inicialmente los departamentos de la provincia que se dedican al cultivo, los cuales se encuentran coloreados en el primer mapa que se observa a

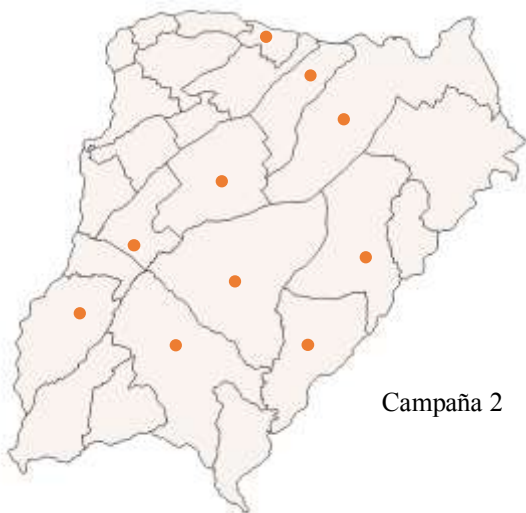
continuación (los departamentos Capital, San Cosme, San Luis del Palmar y Mburucuyá no producen arroz).

8 Determine la prevalencia del tizón del arroz en cada campaña.

9 A partir de los datos calculados, indique tres posibles razones que expliquen los distintos porcentajes obtenidos.



Campaña 1



Campaña 2



Campaña 3

Clasificación de hongos fitopatógenos

McLaughlin D.J., Spatafora J.W. (eds.) 2014. The mycota, Vol. VII, Part A: systematics and evolution. 2nd edn. Springer-Verlag; Berlin. 461 pp.

McLaughlin D.J., Spatafora J.W. (eds.) 2015. The mycota, Vol. VII, Part B: systematics and evolution. 2nd edn. Springer-Verlag; Berlin. 311 pp.

www.indexfungorum.org (marzo 2017)

Organismos que pertenecen a otros reinos (anteriormente considerados hongos)

Reino Protozoa

Phylum: Amoebozoa

Clase: Myxomycota (Myxogastrea)

Physarum

Ejemplos enfermedades: Mohos mucilaginosos: moho del césped, falso carbón de la soja.

Phylum Cercozoa

Polymyxa, Plasmodiophora, Spongospora

Ejemplos enfermedades: sarna pulverulenta de la papa, hernia de las crucíferas.

Reino: Chromista (Straminipila)

Phylum: Oomycota

Orden Saprolegniales

Aphanomyces

Ejemplos enfermedades: podredumbre de la raíz de la arveja y otras legumbres.

Orden Albuginales

Familia Albuginaceae

Albugo

Ejemplos enfermedades: roya blanca de las crucíferas.

Orden Peronosporales

Familia Pythiaceae

Pythium

Ejemplos enfermedades: “damping off” o mal de los almácigos, podredumbre de raíces, tallos y tubérculos.

Familia Peronosporaceae

Phytophthora

Ejemplos enfermedades: tizón tardío de la papa, podredumbre de raíces, tallos, frutos carnosos y hortalizas, canchros y muerte descendente.

Peronospora, Pseudoperonospora, Bremia, Plasmopara

Ejemplos enfermedades: mildius.

Hongos verdaderos

Reino: Fungi

Phylum: Chytridiomycota

Olpidium, Physoderma, Synchytrium

Ejemplos enfermedades: mancha café del maíz (*Physoderma maydis*), verruga de la corona de la alfalfa (*Physoderma alfalfae*).

Phylum Zygomycota

Subphylum: Mucoromycotina

Orden Mucorales

Rhizopus

Ejemplos enfermedades: moho del pan, podredumbres húmedas de frutos y hortalizas.

Phylum: Basidiomycota

Subphylum: Pucciniomycotina

Clase Pucciniomycetes

Orden Pucciniales

Puccinia, Uromyces, Gymnosporangium, Phakopsora, Melampsora, Cronartium, Tranzschelia

Ejemplos enfermedades: royas.

Subphylum: Ustilaginomycotina

Clase Ustilaginomycetes

Orden Urocystidales

Thecaphora, Urocystis

Ejemplos enfermedades: carbón del maní, carbón de la cebolla.

Orden Ustilaginales

Ustilago

Ejemplos enfermedades: carbón del maíz, carbón volador del trigo.

Clase Exobasidiomycetes

Orden Entylomatales

Entyloma

Ejemplos enfermedades: carbón de la hoja del arroz.

Orden Exobasidiales

Exobasidium

Ejemplos enfermedades: agallas en azalea.

Orden Tilletiales

Tilletia

Ejemplos enfermedades: carbón cubierto o caries del trigo.

Subphylum: Agaricomycotina

Clase Agaricomycetes

Athelia

Ejemplos enfermedades: tizón del tallo o podredumbre basal de diversas especies (*A.rolfsii*/*Sclerotium rolfsii*).

Thanatephorus, Ceratobasidium (*Rhizoctonia* anamorfos)

Ejemplos enfermedades: podredumbre de raíces y tallos de diversas especies.

Phylum: Ascomycota

Subphylum: Taphrinomycotina

Clase Taphrinimycetes

Orden Taphrinales

Familia Taphrinaceae

Taphrina

Ejemplos enfermedades: torque del duraznero.

Familia Protomycetaceae

Protomyces

Ejemplos enfermedades: agallas en umbelíferas.

Subphylum: Saccharomycotina

Clase Saccharomycetes

Orden Saccharomycetales

Eremothecium

Ejemplos enfermedades: estigmatomycosis del algodón.

Subphylum: Pezizomycotina

Clase Pezizomycetes

Phymatotrichopsis

Ejemplos enfermedades: podredumbre texana de la raíz del algodón.

Clase Sordariomycetes

SubClase Hypocreomycetidae

Orden Coronophorales

Orden Glomerellales

Colletotrichum/*Glomerella*, *Verticillium*

Ejemplos enfermedades: antracnosis de diversas especies (*Colletotrichum*), marchitamiento vascular de diversas especies (*Verticillium*).

Orden Hypocreales

Clonostachys/Bionectria, Claviceps, Epichl e, Beauveria, Fusarium/Giberella, Nectria.

Ejemplos enfermedades: marchitamientos vasculares, podredumbres de raíces y tallos (*Fusarium*), ergot o cornezuelo del centeno (*Claviceps*).

Orden Melanosporales

Orden Microascales

Ceratocystis

Ejemplos enfermedades: marchitamiento del cafeto y del eucapitpus.

SubClase Sordariomycetidae

SubClase Xylariomycetidae

Orden Xylariales

Pestalotiopsis, Xylaria

Ejemplos enfermedades: mancha foliar en palmeras, tizón del arándano (*Pestalotiopsis*),

Clase Leotiomycetes

Orden Helotiales

Sclerotinia, Monilinia, Botrytis

Ejemplos enfermedades: podredumbre húmeda del tallo de la soja, girasol, maíz y otros cultivos (*Sclerotinia sclerotiorum*); podredumbre morena de los frutales de carozo (*Monilinia fruticola*); moho gris (*Botrytis cinerea*).

Orden Erysiphales

Erysiphe/Oidium, Golovinomyces, Blumeria, Caespitotheca, Leveillula/Oidiopsis, Phyllactina/Ovulariopsis, Podosphaera, Sphaerotheca, Uncinula.

Ejemplos enfermedades: oídios.

Orden Cyttariales

Cyttaria

Ejemplos enfermedades: Nudos en especies de *Nothofagus*.

Clase Eurotiomycetes

SubClase Eurotiomycetidae

Orden Eurotiales

Aspergillus, Penicillium

Ejemplos enfermedades: podredumbre de semillas y pos cosecha.

Clase Dothideomycetes

Orden Pleosporales

Corynespora, Cochliobolus/Bipolaris-Curvularia, Pyrenophora/ Drechslera, Alternaria (anamorfo), Leptosphaeria, Phaeosphaeria

Ejemplos enfermedades: mancha anillada de la soja (*Corynespora cassiicola*); tizón foliar del maíz (*Cochliobolus heterostrophus*); tizón temprano del tomate (*Alternaria solani*).

Orden Capnodiales

Cladosporium, Ramularia, Pseudocercospora, Cercospora (anamorfos), Mycosphaerella

Ejemplos enfermedades: viruela de la acelga (*Cercospora beticola*); moho de la hoja en tomate (*Cladosporium fulvum*); viruela de la frutilla (*Mycosphaerella fragariae*).

Orden Myriangiales

Elsinoë

Ejemplos enfermedades: sarna de los cítricos (*Elsinoë fawcetti*).

Orden Botryosphaeriales

Botryosphaeria, Diplodia, Guignardia/Phyllosticta

Ejemplos enfermedades: mancha negra de los cítricos (*Phyllosticta citricarpa*); podredumbre basal del tallo en maíz (*Diplodia maydis*).

Orden Venturiales

Venturia, Fusicladium

Ejemplos enfermedades: sarna del manzano
(*Venturia inequalis*).

Clasificación de Bacterias fitopatógenas

Garrity, G. M. (ed). (2004) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer. Nueva York.

Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. (Eds). 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd. edition. APS Press, St Paul, Minnesota. 373 pp.

Euzéby, J. P. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature
<http://www.bacterio.cict.fr/classifphyla.html>

Dominio Archaeae

Dominio Bacteria

Phylum Proteobacteria

Phylum Firmicutes

Phylum Tenericutes

Phylum Actinobacteria

Phylum Proteobacteria

Clase Alphaproteobacteria

Flia Rickettsiaceae

Organismos tipo *Rickettsia* (RLO)

Flia. Rhizobiaceae

Agrobacterium tumefaciens, *A. rhizogenes*

Flia Phyllobacteriaceae

Candidatus Liberibacter asiaticus, *Ca. Liberibacter*

americanus

Clase Betaproteobacteria

Flia. Burkholderiaceae

Burkholderia cepacia, *B. gladioli*, *Ralstonia*

solanacearum

Flia. Comamonadaceae

Acidovorax avenae subsp. *avenae*

Afiliación incierta

Xylophilus ampelinus

Clase Gammaproteobacteria

Flia. Xanthomonadaceae

Xanthomonas campestris, *X. axonopodis*, *X. oryzae*,
Xylella fastidiosa

Flia. Pseudomonadaceae

Pseudomonas syringae

Flia. Enterobacteriaceae

Erwinia amylovora, *E. carotovora* subsp. *carotovora*,
Pantoea stewartii subsp. *Stewartii*, *Serratia marcescens*

Phylum Firmicutes

Clase Clostridia

Flia. Clostridiaceae

Clostridium butyricum

Clase Bacilli

Flia. Bacillaceae

Bacillus megaterium, *B. circulans*

Phylum Tenericutes

Clase Mollicutes

Flia. Spiroplasmataceae

Spiroplasma citri, *S. kunkelii*

Flia. Acholeplasmataceae

Candidatus Phytoplasma asteris, *Ca. Phytoplasma fraxini*

Phylum Actinobacteria

Flia. Microbacteriaceae

Clavibacter michiganensis

Flia. Streptomycetae

Streptomyces ipomeae, *S. scabiei*

Principales géneros de bacterias fitopatógenas: Características, ejemplos y enfermedades que causan

Gram-negativas (Phylum Proteobacteria)

Agrobacterium

Aerobias, flagelos peritricos, abundantes EPS. Habitantes de suelo y rizósfera. La virulencia está determinada por la presencia de plásmidos específicos (Ti, inductores de tumores; Ri, inductores de raíces).

Ejemplos: *Agrobacterium tumefaciens*, causante de las agallas del cuello en numerosas dicotiledóneas, tiene un rango de hospedantes muy amplio. *Agrobacterium vitis*, produce agallas en vid.

Erwinia* y *Pectobacterium (anteriormente incluidas dentro del género *Erwinia*)

Erwinia: anaerobias facultativas, flagelos peritricos, no producen enzimas pectolíticas. Ejemplo: *Erwinia amylovora*, causa el “tizón de fuego” de las Rosáceas, principalmente peral y manzano. Es plaga cuarentenaria para Argentina.

Pectobacterium: anaerobias facultativas, flagelos peritricos, producen enzimas pectolíticas. Ejemplos: *Pectobacterium carotovora* y *P. chrysanthemi* causan podredumbres húmedas en hortalizas y ornamentales.

Pseudomonas

Aerobias, flagelos polares, en medios de cultivo pobres en hierro producen pigmentos fluorescentes, capturan hierro de su ambiente. La especie económicamente más importante es *P. syringae*, con más de 50 patovares (subdivisión de las especies de bacterias fitopatógenas definida por la planta hospedante) que causan principalmente manchas y tizones. Ejemplos: *P. syringae* pv. *tabaci* causa la quemazón del tabaco y de la soja; *P. syringae* pv. *tomato* causa la peca bacteriana del tomate.

Ralstonia

Aerobias, flagelos polares. No producen pigmentos fluorescentes en medios pobres en hierro. Es habitante de suelo, en plantas infecta y obstruye el xilema, causando marchitamientos.

Ejemplo: *Ralstonia solanacearum*, anteriormente llamada *Pseudomonas solanacearum* causa el marchitamiento de las solanáceas, enfermedad muy importante que afecta a la producción de tomate en Corrientes.

Xanthomonas

Aerobias, un flagelo polar. Producen colonias y zoogreas amarillas. Ejemplos: *Xanthomonas citri* pv. *citri* (anteriormente llamada *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ó *Xanthomonas campestris* pv. *citri*) causa la cancrrosis de los cítricos; *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (= *Xanthomonas campestris* pv. *glycines*) causa la pústula bacteriana de la soja; *Xanthomonas campestris* pv. *Pruni* causa la cancrrosis del duraznero y del ciruelo.

Xylella fastidiosa

Bastones pequeños, no móviles. Inicialmente se la denominó RLO (Rickettsia Like Organism) por su semejanza con las Rickettsias que infectan animales. El epíteto “fastidiosa” proviene

de la dificultad que implica su cultivo ya que crece lentamente y requiere medios de cultivo especializados. Infecta el xilema de varias especies vegetales y es transmitida por chicharritas (Hemiptera) que se alimentan del contenido del xilema de las plantas. En diferentes especies causa declinamientos, clorosis, quemado y escaldadura de hojas. Ejemplos: clorosis variegada de los citrus, quemado del borde de la hoja del ciruelo.

Gram-positivas (Phylum Actinobacteria)

Clavibacter

Aerobias, bastones de formas irregulares, no móviles, no forman endosporas. Pueden vivir sobre rastrojos, pero su supervivencia en el suelo es muy corta sin la presencia de rastrojos de especies hospedantes. Ejemplos: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* causa el cancro bacteriano del tomate.

Streptomyces

Aerobias, filamentos ramificados, forman esporas. Las numerosas especies y cepas de *Streptomyces* producen una amplia variedad de antibióticos que actúan contra bacterias, hongos y otros organismos. Todas las especies habitan en el suelo. Ejemplo: *Streptomyces scabies*, causa la sarna común de la papa.

Mollicutes (sin pared celular, Phylum Tenericutes, Clase Mollicutes)

Fitoplasmas

Aerobios, pleomórficos (es decir, que no tienen una forma definida). Hasta el momento no se han podido cultivar. No son visibles al microscopio óptico. Infectan el floema de las plantas y son transmitidos por chicharritas (Hemiptera). Causan declinamientos, amarillamientos, escobas de brujas, achaparramientos. Todos los fitoplasmas pertenecen al género *Candidatus Phytoplasma*, sin embargo, a muchos de ellos se los denomina comúnmente de forma similar a los virus, según la enfermedad que causan y el hospedante. Ejemplos: *Ca. Phytoplasma palmae* causa el amarillamiento letal del cocotero; *Ca. Phytoplasma asteris* causa el achaparramiento y enrojecimiento del maíz, comúnmente llamado "Maize Bushy Stunt"; el fitoplasma "China-tree Decline" causa el declinamiento del paraíso.

Espiroplasmas

Aerobios, tienen forma helicoidal, pueden ser cultivados en medios específicos. Ejemplos: *Spiroplasma kunkelli* (conocido comúnmente como "Corn Stunt Spiroplasma") causa el achaparramiento y enrojecimiento del maíz, puede encontrarse infectando una misma planta junto al fitoplasma "Maize Bushy Stunt".