

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y FORESTALES
CARRERA: INGENIERÍA AGRONÓMICA



TRABAJO DE TESIS

**“EVALUACIÓN IN VITRO DE UN EXTRACTO COMERCIAL DE
PROPÓLEOS PARA EL CONTROL DE CUATRO HONGOS DE
IMPORTANCIA AGRÍCOLA”**

**Trabajo de tesis para optar el grado
académico de ingeniería
agronómica.**

POSTULANTE: Wilberth Junior Gonzales Gareca

DOCENTE GUIA: Msc. Ing. Víctor Enrique Zenteno López

Diciembre - 2014

Tarija – Bolivia

VºBº

Msc. Ing. Agr. Víctor Enrique Zenteno López

DOCENTE GUIA

Msc. Ing. Agr. Linder Espinoza Márquez

DECANO

Msc. Ing. Agr. Henry Esnor Valdez Huanca

VICEDECANO

Facultad de Ciencias Agrícolas Y Forestales

APROBADA POR:

TRIBUNAL:

Msc. Ing. Agr. Víctor Adolfo Villarroel Valdez

Msc. Ing. Agr. Yerko Sfarcich Ruiz

Msc. Ing. Agr. Pablo Andrés Olivera Serrano

El tribunal calificador del presente trabajo, no se solidariza con la forma, términos, modos y expresiones vertidas en el mismo, siendo éstas únicamente responsabilidad del (la) autor (a).

DEDICATORIA:

A Jehová Dios por mostrarnos cada día que con humildad, paciencia y sabiduría, todo es posible.

A mis queridos padres, Wilberth Gonzales de los Ríos y Lourdes Gladys Gareca, quienes con su amor, apoyo y comprensión me apoyaron y confiaron en mí.

AGRADECIMIENTOS

- ❖ A Dios por haberme acompañado en los momentos felices y me sostuviste en los más difíciles pero sobre todo me enseñaste a entender que aun con toda la ciencia, no somos nada sin ti. Por eso y por todo lo que soy, gracias.
- ❖ A la Universidad Autónoma “Juan Misael Saracho”, por brindarme la oportunidad de obtener una profesión.
- ❖ A la carrera de Ingeniería Agronómica de Tarija por brindarme en sus aulas en todo el proceso de aprendizaje y formación.
- ❖ A mis padres y hermanos, detrás de cada paso hubo una mirada, a la vuelta de cada logro una sonrisa y detrás de una lagrima una palabra de aliento, porque de lejos a cerca, siempre fueron ustedes mi fuerza que me impulso a cada nueva conquista, lograr retribuir todo eso con palabras no sería posible, mi gratitud se verá reflejada cada día de mi vida.
- ❖ Al Ing. Víctor Enrique Zenteno López por ser una gran persona y amigo, por brindarme todo su apoyo incondicional durante la ejecución de mi trabajo, gracias por la motivación, consejos y el impulso que me da para seguir adelante, por las largas horas dedicadas a mi aprendizaje, por la paciencia y la confianza depositada en mí.
- ❖ A los docentes de la carrera por paciencia, comprensión y por transmitirme sus conocimientos.
- ❖ A los Ing. Víctor Adolfo Villarroel Valdez, Ing. Yerko Sfarcich Ruiz, Ing. Pablo Andrés Olivera Serrano por brindarme todo su apoyo en los momentos más difíciles en la elaboración de este trabajo, por su tiempo amistad y por los conocimientos transmitidos.
- ❖ A la Ing. Mirian Torrico Aparicio por ser una gran docente y amiga por brindarme todo su apoyo en los momentos de la elaboración de este trabajo.

PENSAMIENTO:

“El fracaso es una gran oportunidad para empezar de nuevo, pero con más inteligencia”

HENRY FORD

INDICE

	Página
I. INTRODUCCION.....	1
1.1. JUSTIFICACION.....	2
1.2. HIPOTESIS.....	3
1.3. OBJETIVOS.....	3
1.3.1. Objetivo General.....	3
1.3.2. Objetivos Específicos.....	3
II. MARCO TEORICO.....	4
2.1. PRODUCCIÓN ORGÁNICA.....	4
2.2. EL PROPOLEO.....	5
2.2.1. Generalidades del propóleo.....	5
2.2.2. Composición propóleo.....	6
2.2.2.1. Composición química.....	7
2.2.3. Actividad biológica de los propóleos.....	9
2.2.3.1. Ensayos.....	9
2.2.4. Actividad antiparasitaria de los extractos de propóleos.....	11
2.3. HONGOS FITOPATOGENOS.....	12
2.3.1. Generalidades de los hongos.....	12
2.3.2. La morfología de los hongos.....	12
2.3.3. Reproducción.....	14
2.3.3.1. Reproducción asexual en hongos.....	16
2.3.3.2. Reproducción sexual en los hongos.....	18
2.4. GENERALIDADES DE LOS HONGOS EN ESTUDIO.....	21
2.4.1. ALTERNARÍA SP.....	21
2.4.1.1. Descripción.....	22
2.4.1.2. Síntomas.....	22

	Página
2.4.1.3. Etiología	23
2.4.1.4. Ciclo de la Enfermedad	23
2.4.2. FUSARIUM SP.....	24
2.4.2.1.Características de la enfermedad.	24
2.4.2.2.Organismo causal.	24
2.4.2.3.Síntomas.	25
2.4.2.4. Daños.	26
2.4.2.5.Ciclo de la enfermedad.....	26
2.4.2.6.Condiciones favorables.....	27
2.4.3. BOTRITIS SP	27
2.4.3.1. Morfología.....	29
2.4.3.2. Ciclo de vida del hongo	29
2.4.3.3. Síntomas	30
2.4.4. OÍDIUM SP.....	31
2.4.4.1. Características.....	31
2.4.4.2.Ciclo vegetativo del oídio.....	32
2.4.4.3. Síntomas y daños	32
2.4.4.4. Condiciones favorables.....	34
2.5. IDENTIFICACIÓN HONGOS FITOPATÓGENOS.	34
2.6. SINTOMAS QUE PRODUCEN LOS HONGOS EN LAS PLANTAS.....	35
2.7. AISLAMIENTO DE HONGOS IN VITRO.....	36
2.8. AISLAMIENTO DEL PATOGENO	39
2.8.1. De Hojas	40
2.8.2. De tallos, frutos y otros órganos aéreos de la planta	42
2.8.3. De raíces, tubérculos, raíces carnosas y frutos de hortalizas.....	43
2.9. MICRO PROPAGACIÓN DE HONGOS IN VITRO.....	44
III. MATERIALES Y METODOS.....	45
3.1. UBICACIÓN DEL ENSAYO	45
3.2. MATERIALES.	45

	Página
3.2.1. Material Biológico.....	45
3.2.2. Material De Laboratorio	45
3.3. CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS	46
3.3.1. Clima.	46
3.3.2. Temperatura.....	47
3.3.3. Precipitación	47
3.3.4. Humedad.....	47
3.3.5. Suelo	47
3.4. METODOLOGIA.....	48
3.4.1. Recolección de Muestras	48
3.4.2. Propóleos para la elaboración del Trabajo.	49
3.4.3. Cámaras Húmeda.....	50
3.4.4. Asepsia	51
3.4.5. Lavado	51
3.4.6. Esterilización	51
3.4.7. Desinfección del ambiente (laboratorio y almacenamiento en estufa)	52
3.5. IDENTIFICACIÓN.....	52
3.5.1. Por observación directa	52
3.5.2. Cultivándolo en medios sintético	54
3.6. MEDIO DE CULTIVO	55
3.6.1. Metodología.....	55
3.7. AISLAMIENTO	56
3.7.1. INDUCCIÓN AL DESARROLLO MICELIAR.....	57
3.7.1.1. Metodología.....	57
3.8. MULTIPLICACIÓN DE LAS CEPAS	58
3.8.1. Cultivos Monosporicos.....	58
3.8.1.1.Procedimiento.....	58
3.9. SIEMBRA DE BIOENSAYOS DE HONGOS.....	60
3.9.1.1. Aplicación del Propóleo	61
3.10. SIEMBRA DE BIOENSAYO EN PLANTAS DE LA FAMILIA SOLANÁCEAS. 61	

	Página
3.10.1. Conteo De Esporas	62
3.11. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO.....	63
3.12. EVALUACIÓN.....	64
3.12.1. Variables a evaluar.	65
IV. RESULTADOS	66
4.1. RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL PROPÓLEOS	66
4.1.1. Porcentaje de inhibición	66
4.1.2. Inhibición en el diámetro de crecimiento de los hongos	66
4.1.3. Porcentajes de inhibición de los hongos.....	96
4.1.4. Graficas de inhibición del propóleo ante los hongos estudiado	126
4.2. CONTEO DE ESPORAS.....	131
4.2.1. BIOENSAYOS	141
4.2.1. Porcentaje de incidencia	141
4.2.2. Porcentaje de inhibición	142
V. CONCLUSIONES.....	143
VI. RECOMENDACIONES.....	144
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	146
VIII. ANEXOS	149
ANEXO 1. DISEÑO EXPERIMENTAL	149
ANEXO 2. DIAGRAMA DE TRABAJO	151
ANEXO 3. CRONOGRAMA DE TRABAJO	152
ANEXO 4. VISTA DESDE EL MICROSCOPIO 10X	153
ANEXO 5. METODOLOGIA	155

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1 Composición del Propóleo	7
Cuadro 2 Clasificación científica de la Alternaria sp.....	21
Cuadro 3 Clasificación científica del Fusarium sp.....	24
Cuadro 4 Clasificación científica del Botrytis sp.....	27
Cuadro 5. Repetición 1 medición a los 5 días	66
Cuadro 6. Repetición 1 TABLA DE ANOVA a los 5 días.....	67
Cuadro 7. Repetición 1 prueba DMS al 5% para el diámetro del micelio	68
Cuadro 8. Prueba DMS al 5% para el diámetro del micelio de las dosis de propóleo a los 5 días	69
Cuadro 9. Prueba DMS al 5% para el diámetro del micelio de los hongos a los 5 días	70
Cuadro 10. Repetición 1 crecimiento miceliar a los 14 días	71
Cuadro 11. Repetición 1 TABLA DE ANOVA a los 14 días.....	73
Cuadro 12. Prueba DMS al 5% para el diámetro del Micelio.....	73
Cuadro 13. Prueba DMS al 5% para el diámetro del micelio de las dosis de propóleo a los 14 días	74
Cuadro 14. Prueba DMS al 5% para el diámetro del micelio de los hongos a los 14 días	75
Cuadro 15. Repetición 1 crecimiento miceliar a los 21 días.....	76
Cuadro 16. Repetición 1 TABLA DE ANOVA a los 21 días.....	77
Cuadro 17. Prueba DMS al 5% para el diámetro del micelio	78
Cuadro 18. Prueba DMS al 5% para el diámetro del micelio de las dosis de propóleo a los 21 días	79

Cuadro 19. Prueba DMA al 5% para el diámetro del micelio de los hongos a los 21 días.....	80
Cuadro 20. Repetición 2 medición a los 5 días	81
Cuadro 21. Repetición 2 TABLA DE ANOVA a los 5 días.....	82
Cuadro 22. Prueba DMS al 5% para el diámetro del micelio	83
Cuadro 23. Prueba DMS Al 5% para el diámetro del micelio de las dosis de propóleo a los 5 días	84
Cuadro 24. Prueba DMS Al 5% para el diámetro del micelio de los hongos a los 5 días	85
Cuadro 25. Repetición 2 medición a los 14 días	86
Cuadro 26. Repetición 2 TABLA DE ANOVA a los 14 días.....	87
Cuadro 27. Prueba DMS Al 5% para el diámetro del micelio de las dosis de propóleo a los 14 días	88
Cuadro 28. Prueba DMS al 5% para el diámetro del micelio de las dosis de propóleo a los 14 días	89
Cuadro 29. Prueba DMS al 5% para el diámetro del micelio de los hongos a los 14 días	90
Cuadro 30. Repetición 2 medición a los 21 días	91
Cuadro 31. Repetición 2 TABLA DE ANOVA a los 21 días.....	92
Cuadro 32. Prueba DMS Al 5% para el diámetro del micelio de las dosis de propóleo a los 21 días	93
Cuadro 33. Prueba DMS Al 5% para el diámetro del micelio de las dosis de propóleo a los 21 días	94
Cuadro 34. Prueba DMS al 5% para el diámetro del micelio de los hongos a los 21 días	95
Cuadro 35. Porcentaje de inhibicion a los 5 dias replica 1	96

Cuadro 36. Tabla De Anova del porcentaje de inhibicion a los 5 días	97
Cuadro 37. Prueba de MDS del porcentaje de inhibición a los 5 días de la siembra.....	98
Cuadro 38. Prueba DMS al 5% para el porcentaje de crecimiento del micelio de las dosis de propóleo a los 5 días	99
Cuadro 39. Prueba DMS al 5% para el porcentaje de crecimiento del micelio de los hongos de propóleo a los 5 días.....	100
Cuadro 40. Porcentajes de inhibicion a los 14 días replica 1	101
Cuadro 41. TABLA DE ANOVA a los 14 días	102
Cuadro 42. Prueba de MDS del porcentaje de inhibición a los 5 días de la siembra.....	103
Cuadro 43. Prueba DMS Al 5% para el porcentaje de crecimiento del micelio de las dosis de propóleo a los 14 días	104
Cuadro 44. Prueba DMS Al 5% para el porcentaje de crecimiento del micelio de los hongos de propóleo a los 14 días.....	105
Cuadro 45. Porcentajes De Inhibicion A Los 21 Dias replica 1	106
Cuadro 46. TABLA DE ANOVA A Los 21 Días.....	107
Cuadro 47. Prueba de MDS del porcentaje de inhibición a los 21 días de la siembra.....	108
Cuadro 48. Prueba DMS Al 5% para el porcentaje de crecimiento del micelio de las dosis de propóleo a los 21 días	109
Cuadro 49. Prueba DMS al 5% para el porcentaje de crecimiento del micelio de los hongos de propóleo a los 21 días.....	110
Cuadro 50. Porcentajes De Inhibicion A Los 5 Dias replica 2	111
Cuadro 51. TABLA DE ANOVA a los 5 días	112

Cuadro 52. Prueba de MDS del porcentaje de inhibición a los 5 días de la siembra.....	113
Cuadro 53. Prueba DMS Al 5% para el porcentaje de crecimiento del micelio de las dosis de propóleo a los 5 días	114
Cuadro 54. Prueba DMS al 5% para el porcentaje de crecimiento del micelio de los hongos de propóleo a los 5 días.....	115
Cuadro 55. Porcentajes de Inhibicion A Los 14 Dias replica 2	116
Cuadro 56. TABLA DE ANOVA al dia 14	117
Cuadro 57. Prueba de MDS del porcentaje de inhibición a los 14 días de la siembra.....	118
Cuadro 58. Prueba DMS Al 5% para el porcentaje de crecimiento del micelio de las dosis de propóleo a los 14 días	119
Cuadro 59. Prueba DMS al 5% para el porcentaje de crecimiento del micelio de los hongos de propóleo a los 14 días.....	120
Cuadro 60. Porcentajes de inhibicion a los 21 dias replica 2.....	121
Cuadro 61. TABLA DE ANOVA al dia 21	122
Cuadro 62. Prueba de MDS del porcentaje de inhibición a los 21 días de la siembra.....	123
Cuadro 63. Prueba DMS al 5% para el porcentaje de crecimiento del micelio de las dosis de propóleo a los 21 días	124
Cuadro 64. Prueba DMS al 5% para el diámetro del micelio de los hongos de propóleo a los 21 días	125
Cuadro 65. Conteo de esporas de la 1 repeticion	131
Cuadro 66. Tabla de anova del conteo de esporas a los 21 dias	132
Cuadro 67. Prueba de MDS del conteo a los 21 días	133

Cuadro 68. Prueba DMS al 5% para el conteo de esporas de las dosis de propóleo	
a los 21 días	134
Cuadro 69. Prueba DMS al 5% para el conteo de esporas de los hongos a los 21 días	135
Cuadro 70. Conteo de las esporas a los 21 días repeticion 2	136
Cuadro 71. Prueba de MDS al 5% a los 21 días	137
Cuadro 72. Prueba de MDS	138
Cuadro 73. Prueba DMS al 5% para el conteo de esporas de las dosis de propóleo	
a los 21 días	139
Cuadro 74. Prueba DMS al 5% para el conteo de esporas de los hongos a los 21 días	140
Cuadro 75. Porcentaje de incidencia a los 7 días	141
Cuadro 76. Porcentaje de inhibición a los 7 días	142

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Morfología de los hongos Fitopatógenos.....	13
Figura 2. Ciclo nuclear genérico de los hongos y principales grupos de hongos	
Fito patógenos	15
Figura 3. Morfología estructural de hongos deuteromicetes	18
Figura 4. Morfología de los hongos inferiores (ficomicetes)	20
Figura 5. Vista De Microscopio De La Alternaría 10x	21
Figura 6. Síntomas De Alternaría	23
Figura 7. Macro y micro conidias de <i>Fusarium oxysporum</i>	25
Figura 8. Vista Desde El Microscopio 10x Botrytis	29
Figura 9. Vista Desde El Microscopio 10x Oídium	32
Figura 10. Signos del oídium	33
Figura11. Morfología de los hongos	35
Figura 12. Preparación De Medios De Cultivo Sólidos En Placas.....	39
Figura 13. Aislamiento De Hongos Patógenos Del Tejido De Una Planta Infectada	41
Figura 14. Oídium en hoja de papa	53
Figura 15. Botrytis en fruto de tomate.....	53
Figura 16. Hongos cultivados en medios PDA para su aislamiento	54
Figura 17. Colocando las dosis en los matraces	55

	Página
Figura 18. Colocando los medios de cultivo a esterilizar en la autoclave.....	56
Figura 19. Aislamiento del inducción al desarrollo miceliar	58
Figura 20. Método de la raya.....	59
Figura 21. Dosificando el propóleo en los matraces	61
Figura 23. Vista del microscopio de la cámara de Neubauer con 10x aumento	63
Figura 24. Actividad Antifúngica del propóleo.....	64

INDICE DE GRAFICAS

	Página
Gráfica 1. Porcentaje de Inhibición del Fusarium	126
Gráfica 2. Porcentaje de Inhibición del Botrytis	127
Gráfica 3. Porcentaje de Inhibición del Alternaria.....	128
Gráfica 4. Porcentaje de Inhibición del Oidium.....	129