

## Capítulo 6

### ETAPAS BASICAS DEL DIAGNOSTICO DE CAMPO Y LABORATORIO

Rodrigo Orlando Campo Arana.

#### 6.1. INTRODUCCIÓN

El diagnóstico consiste en conocer las causas que llevaron a la planta a un funcionamiento anormal; esto implica identificar el agente causal. **El diagnóstico** es considerado un arte apoyado por la ciencia, requiriendo que la persona que lo realice tenga experiencia. Muchos diagnósticos son realizados intuitivamente, cometiéndose errores en el momento que se va a realizar un plan de manejo. El Ingeniero agrónomo quien es el responsable del manejo fitosanitario del cultivo requiere de investigar y documentar el diagnóstico, bien sea con literatura especializada o apoyándose con laboratorios y especialistas en fitopatología.

Las enfermedades de las plantas pueden ser causadas por agentes bióticos (hongos, bacterias, nemátodos, virus, viroides, ricketzias, micoplasmas, protozoarios, actinomicetos, plantas superiores, insectos) o por agentes abióticos (Altas o bajas temperaturas, heladas, lluvias, granizo, rayos, toxicidad por minerales en el suelo, deficiencias nutricionales, exceso de agua en el suelo, pH inadecuado del suelo, suelo compactado, insolación etc (Zambolim, 2006).

El diagnóstico de enfermedades de plantas, seres vivos que no hablan, es bastante complejo, requiriendo que el ingeniero agrónomo desarrolle habilidad para hacer el cuadro clínico y poder identificar correctamente la etiología de la enfermedad, para poder dar la recomendación del manejo oportuno, evitando las pérdidas en la producción.

El organismo causal de las enfermedades conocidas ha sido verificado mediante los postulados de Koch's; luego en caso de enfermedades nuevas es necesario realizar los postulados de Koch's (Agrios, 2007), mas este procedimiento puede llevar semanas o meses requiriendo de facilidades de laboratorio y de personal especializado en fitopatología. En este módulo se hará énfasis en el diagnóstico de campo empleando métodos simples y cortos que son los empleados por el Ingeniero Agrónomo.

## 6.2. ETAPAS EN EL DIGNOSTICO DE CAMPO

En condiciones de campo deben seguirse los siguientes pasos descritos en el manual de [Streets, 1969](#).

**1. Descripción de síntomas y signos:** Usando lente de aumento 10x pueden observarse los signos asociados con el síntoma por ejemplo estructuras de hongos, exudados bacterianos. Los síntomas visibles son importantes para identificar el tipo de la enfermedad ejemplo clorosis, antracnosis, necrosis.

**2. Historial del cultivo:** (factores ambientales, practicas en el cultivo)

**3. Distribución de la enfermedad en el campo y en la planta**

**4. Diagnóstico de campo:** Muchas enfermedades pueden ser diagnosticas en campo empleando manuales especializados, o la experiencia del ingeniero agrónomo que conoce la enfermedad. En caso de desconocerse la enfermedad se deben enviar muestras al laboratorio para que le identifiquen la etiología de la enfermedad.

**5. Observación con lente de aumento.** Debe emplearse un lente 10X de aumento, para observar la superficie afectada, para ver si hay presencia de signos los cuales pueden ser en caso de hongos, cuerpos fructíferos y esporas; en caso de bacterias presencia de exudados o sustancias gomosas. En caso de no observarse evidencias sobre la superficie puede ser: las lesiones son muy jóvenes y aún no se han desarrollado las estructuras ó el agente causal es de origen abiótico. Lo más práctico en este caso es el de hacer una cámara húmeda y en 48 horas se podrá determinar si el agente es biótico o abiótico. En el caso de no poder identificar el agente causal se debe enviar la muestra al laboratorio.

**6. Colecta de muestras en el campo:** Plantas o partes de plantas, suelo

### **6.2.1. Toma de muestras en campo y evaluación del daño**

Cuando está en campo es importante además de identificar las plantas afectadas determinar aproximadamente la severidad presente. En parcelas pequeñas caminar entre los surcos entre 50 a 100m evaluando la incidencia y severidad de las enfermedades es suficiente. Para campos grandes, superiores a una hectárea, se caminará el cultivo de acuerdo a las técnicas explicadas (ver capítulo 9).

En caso de campos irrigados, siempre revisar las partes bajas del campo. Si se sospecha que la enfermedad está en la raíz se debe extraer empleando bien sea una pala limpia. Lavar las raíces para verificar la presencia de agallas de nematodos o daños en raíces (Streets, 1969).

#### **1. Colecta de las muestras y cuantificación del daño**

- Muestras con diferentes estados de desarrollo del síntoma
- Colectar material sano para comparar con el enfermo
- Colectar muestras en diferentes partes ecológicas que presente la finca
- Las muestras deben ser marcadas y guardadas en la nevera portátil
- Otra parte de la muestra debe prensarse
- La muestra debe contener parte sana y parte enferma
- Durante el muestreo debe caminarse el lote diagonalmente
- No coleccionar material en descomposición
- Cuantificación del daño (incidencia, severidad, pérdidas económicas)

#### **2. Transporte del material al laboratorio**

- El material no debe estar a temperatura ambiental por más de 8 horas
- Muestras en bolsas plásticas por mucho tiempo estimula el desarrollo de hongo y bacterias saprofitas, dificultando el diagnóstico
- Muestras en bolsas plásticas expuestas en el sol puede matar al fitopatógeno
- Es preferible el transporte en bolsas de papel lo más rápido posible y dentro de una nevera portátil

### **6.2.2. Equipos de Campo requerido para el diagnóstico**

- El equipamiento estándar requerido son los siguientes :

- Bolígrafo, marcadores
- Navaja
- Bolsas plásticas sin color de varios tamaños
- Bolsas de papel
- Etiquetas
- Tijeras de podar
- Pala
- Lente de aumento 10x, 20x
  
- Papel periódico y prensa botánica (hacer herbario de enfermedades)
- Nevera de icopor (con hielo para conservar las muestras frescas)
- Máquina fotográfica (registro de fotos a color de los síntomas)
- Ficha para el historial del cultivo
- Algunos casos filmadora

### 6.3. ETAPAS DEL DIAGNOSTICO EN LABORATORIO

Una vez las muestras llegan al laboratorio deben realizarse las siguientes actividades, descritas en el manual de Strets, 1969.

1. Llenar registro de laboratorio
2. Examinar una parte de la muestra tan pronto llegue del campo, el resto debe guardarse debidamente marcado en bolsas de papel a 5 °C.
3. Describir síntomas y signos observados en el microscópio.
4. Si no hay signos debe hacerse una cámara húmeda para inducir el desarrollo de estos, previa limpieza y desinfección de los tejidos.
5. Comparar los síntomas y signos con los descritos en manuales. En el caso de hongos se emplea manuales morfológicos (Barnett y Hunter,1998). Algunas fotos de los signos se presentan en las Figuras 6.1; 6.2; 6.3. Para el caso donde el agente etiológico son bacterias, debe realizar el aislamiento de la bacteria en medios diferenciales, identificándose mediante pruebas bioquímicas o moleculares.
6. Si la información literaria coincide con lo observado, puede darse de inmediato el diagnóstico
7. Se recomienda parte del material herborizarlo, para futuros diagnósticos

### **6.3.1. Materiales mínimos para el diagnóstico en laboratorio**

- Cuchillas de afeitar
- Marcador de vidrio
- Esmalte transparente
- Pinzas de punta recta y en ángulo
- Aguja de aza
- Tijera pequeña de punta recta
- Mango de bisturí
- Bisturí
- Frasco con gotero
- Agua destilada esteril
- Azul de algodón
- Cubre objetos y porta objetos
- Mechero
- Encendedor
- Esteroscopio. La primera observación para determinar la presencia de estructuras o de signos
- Microscopio
- Cámaras húmedas
- Medios de cultivo

### **6.3.2.. Preparación de laminas para observar en microscopio**

- Cinta adhesiva (impronta)
- Raspado
- Corte de tejidos
- Cultivo en microcultivo

### **6.3.3. Muestra sin esporular (inducir esporulación)**

- Cortar tejido enfermo con porción de tejido sano
- Hacer desinfección superficial con agua, alcohol, hipoclorito de sodio
- Sembrar en Agar agua
- Pasar a medio rico en nutrientes. Hongos en PDA y bacterias Agar nutritivo
- Repetir el procedimiento anterior hasta obtener cultivo puro e identificar

## 6.4. INFORMACIÓN IMPORTANTE PARA EL DIAGNOSTICO

El diagnóstico de las enfermedades se realiza combase en las observaciones macroscópicas y microscópicas. Los síntomas que han desarrollado sobre la planta u órganos afectados son empleados en el diagnóstico de la enfermedad; sin embargo, los síntomas tanto bióticos como abióticos son muchas veces similares haciendo más difícil la identificación del agente causal. Por esta razón, señalan Chaube y Singh (2000), el diagnóstico debe ir acompañado con la siguiente información, la cual debe ser elaborado por los laboratorios y es diseñada como una lista de chequeo que debe acompañar la muestra (Tabla 6.1).

**Tabla 6.1. Diagnóstico de enfermedades de plantas  
Lista de chequeo ó historia del cultivo.**

1. Nombre y dirección de persona que entrega la muestra
2. Plantas:
  - a. origen de semilla
  - b. Cultivo y variedad
  - c. Fecha de siembra/ trasplante
  - d. Edad de la planta y estado fenológico
3. Fertilización
  - a. Nombre del fertilizante usado
  - b. Dosis del fertilizante usado
  - c. Métodos de aplicación
  - d. Tiene el suelo análisis de suelo? \_\_\_\_\_ Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_
  - e. Si tiene análisis de suelo
    - a. Cuando \_\_\_\_\_
    - b. Donde \_\_\_\_\_
    - d. Resultados \_\_\_\_\_
4. Suelo
  - a. Textura
  - b. Ph.
  - c. Historia de deficiencia/ toxicidad \_\_\_\_\_
5. Irrigación
  - a. Fuente \_\_\_\_\_
  - b. Métodos \_\_\_\_\_
  - d. Frecuencia \_\_\_\_\_
  - e. Drenaje \_\_\_ Adecuado/Inadecuado
6. Problemas observados
  - A. Síntomas
    - a) Pudrición de semillas    b) pudrición de raíces    c) pudrición de tallos
    - d) clorosis    e) necrosis    f) marchitez    g) quemazones    h) manchas
    - i) otros \_\_\_\_\_

**Tabla 6.1. (Continúa) Diagnóstico de enfermedades de plantas  
Lista de chequeo ó historia del cultivo**

- B. Grado de expresión Del sintoma  
a) toda la planta b) solamente las raíces  
c) solamente el follaje d) otra parte \_\_\_\_\_
- C. Síntomas.  
a) en todo el cultivo? b) en unas pocas plantas
- D. porcentaje de plantas que muestran síntomas y/ o pérdidas \_\_\_\_\_
7. Aplicación de pesticidas  
a. nombre  
b. dosis usada  
c. fecha de aplicación  
d. propósito
8. Las plantas afectas han sido diagnosticadas por otro laboratorio  
a. Si / No b. Si sí, donde \_\_\_\_\_  
e. Resultado \_\_\_\_\_
9. Observaciones de los factores ambientales  
a. Temperatura \_\_\_\_\_ b. Lluvias \_\_\_\_\_ c. Alguna otra cosa anormal  
\_\_\_\_\_
10. Alguna otra información \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma

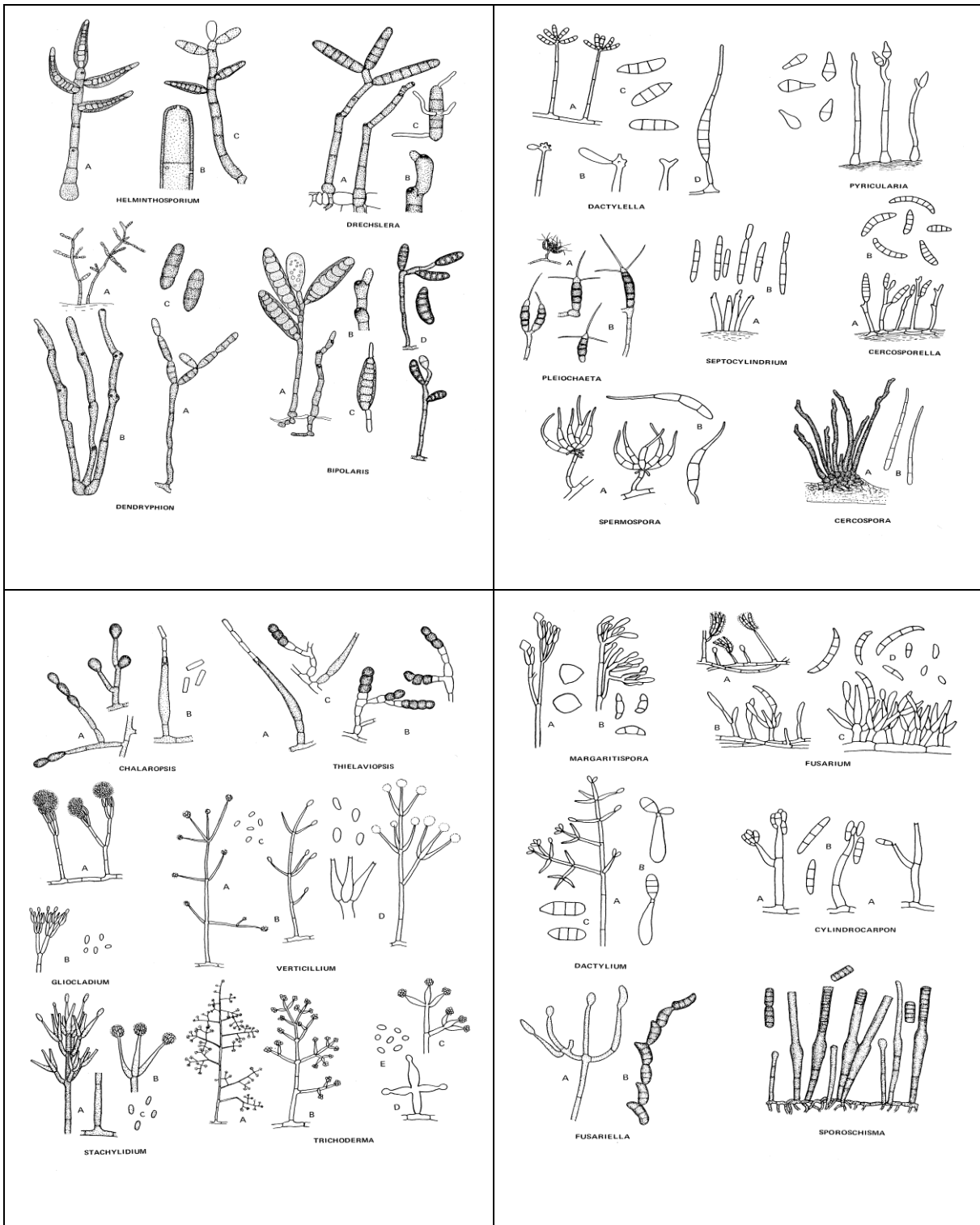


Figura 6.1. Generos fungosos del Reino Fungi, orden *Moniliales* (Figuras Barnett y Hunter, 1998)



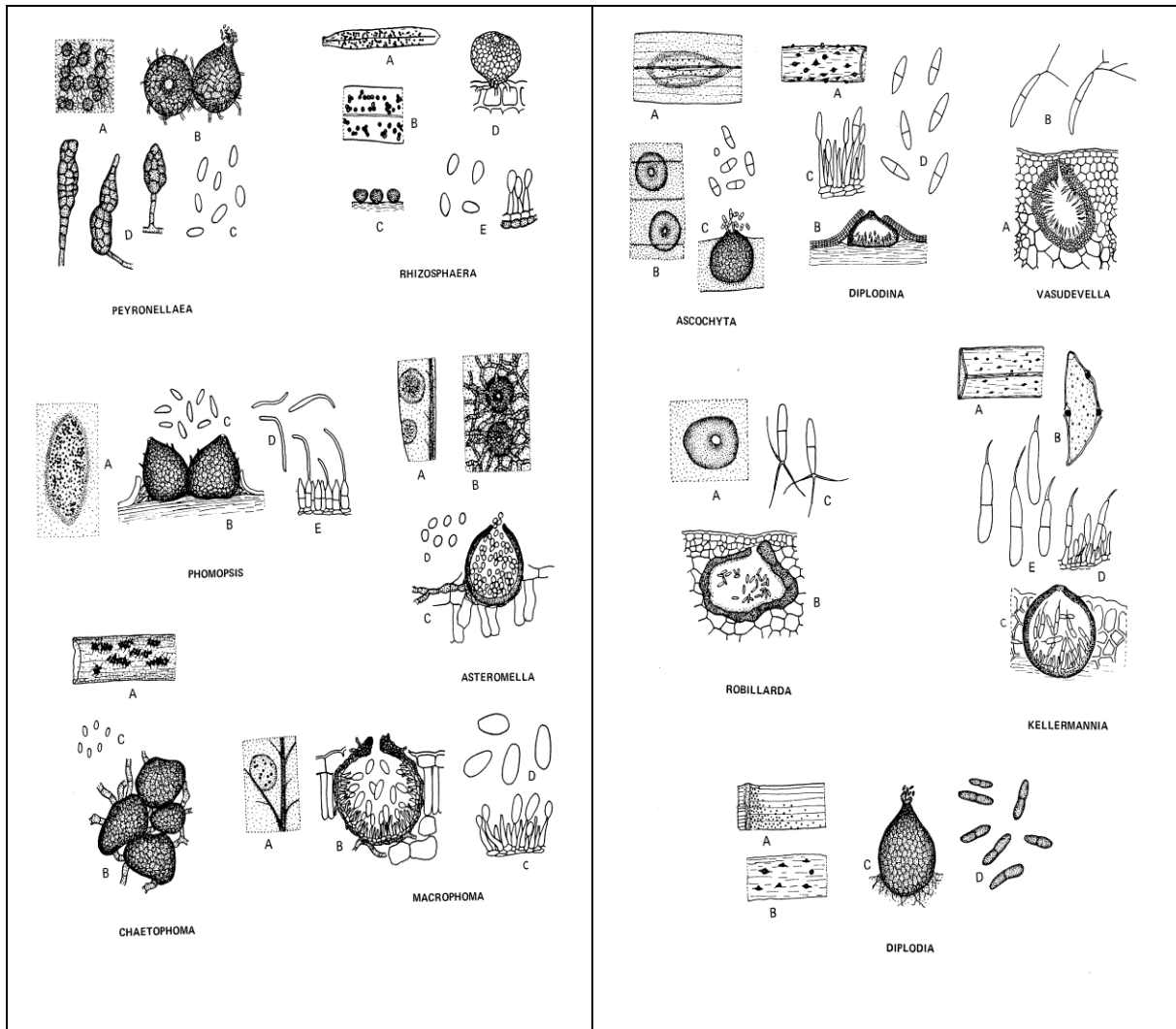


Figura 6.2. Géneros fúngicos del Reino Fungi, Orden *Sphaerosidales* (Figuras, Barnett y Hunter, 1998)

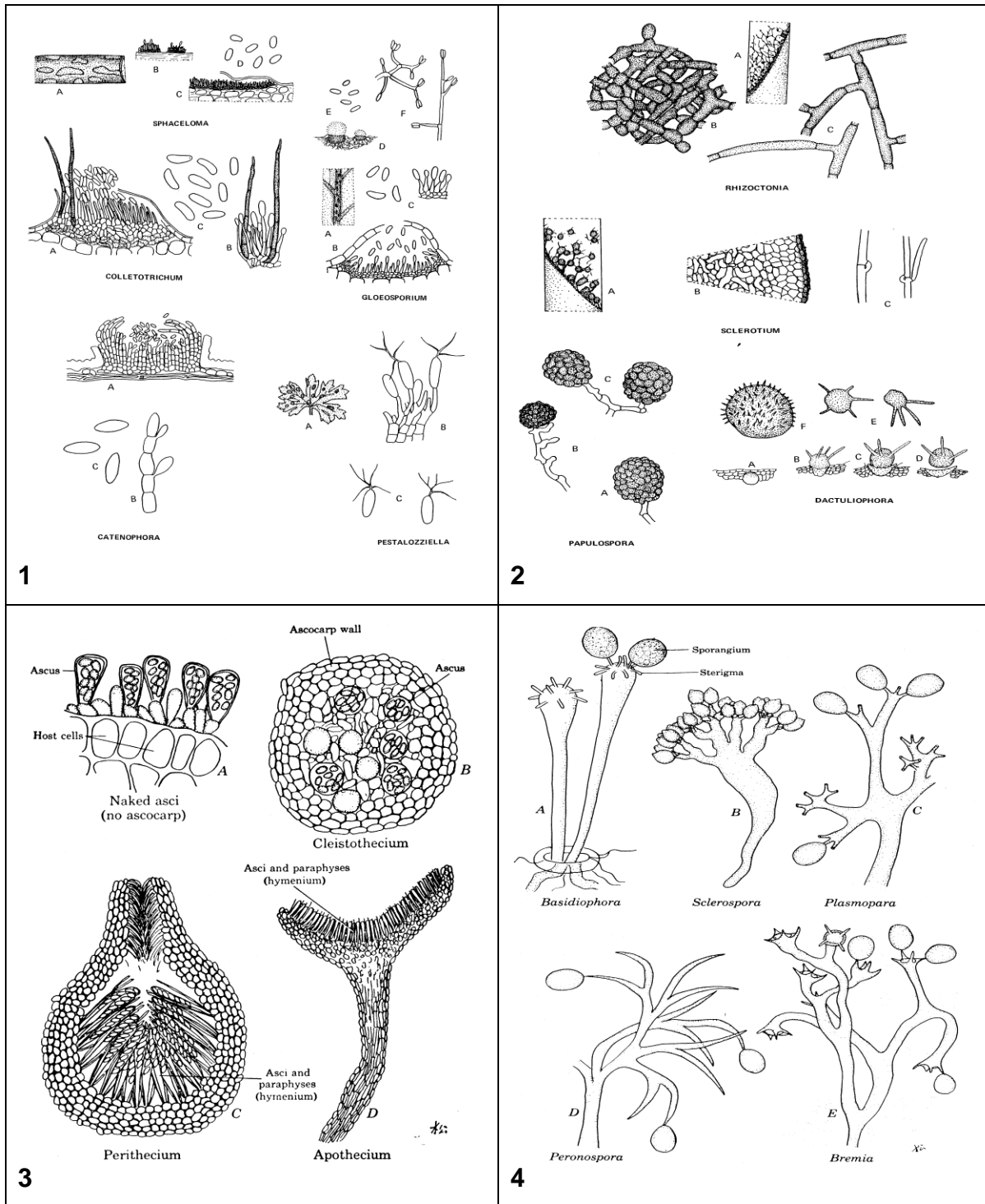


Figura 6.3. Estructuras típicas de: 1. Reino Fungi, Orden *Melanconiales*, 2. Reino Fungi, Orden *Myceliales*, 3. Reino Fungi, Phylum *Ascomycota* 4. Reino *Straminopila*, Clase *Oomycetes* (Figuras, Barnett y Hunter, 1998; )

## 6.5. SÍNTOMAS Y SIGNOS

### 6.5.1. Síntomas

son alteraciones visibles en el hospedero causadas por un agente nocivo. Las estructuras vegetativas o reproductivas del patógeno presentes en los tejidos enfermos se denominan **signos**; por lo tanto, es necesario para un buen diagnóstico conocer la **planta sana**. Los síntomas de una enfermedad dependiendo del desarrollo de la enfermedad puede presentar diferentes tipos de síntomas siendo importante en el diagnóstico observar la secuencia completa de los síntomas denominándose **cuadro sintomatológico** (Salgado e Amorim, 1995; Amorim e Salgado, 1995). En las Figuras 6.4, 6.5, 6.6, se presentan fotografías de diferentes enfermedades presentes en la Costa Atlántica Colombiana con el fin de que el estudiante las conozca y diferencie los síntomas de los signos.

#### 6.5.1.1. Clasificación de los síntomas

Los síntomas pueden ser clasificados de acuerdo a varios criterios, tales como localización, en relación al patógeno, a las alteraciones producidas en el hospedero y los procesos fisiológicos afectados (Michereff, 2001).

A) con relación a la localización del patógeno

**Síntoma primario.** Resultado de la acción directa del patógeno en los órganos que exhiben los síntomas ejemplo una mancha foliar . **Síntomas secundarios.** Exhibidos por la planta en órganos distantes del lugar de la infección ejemplo un síntoma de marchites en tomate causado por la acción de *Fusarium* en las raíces.

B) Tipo de alteración producida en el hábito de crecimiento de la planta hospedera  
Epinastia, sobrebrotamiento, enanismo

C) Alteración en la estructura o en los procesos afectados

Síntomas fisiológicos, síntomas histológicos y síntomas morfológicos

- **Fisiológicos.** Se localiza en los diferentes sistemas fisiológicos (respiración, interferencia en los procesos de síntesis, en el transporte de agua y nutrientes y alteración en la fotosíntesis de la planta).

- **Histológicos.** Son observados en los tejidos internos, mediante el uso del microscopio, determinándose el daño celular.
- **Morfológicos.** Cualquier alteración visible en la forma o anatomía de los órganos de la planta y pueden ser cualificados como **necróticos** o **plásticos**.

➤ **Síntomas necróticos.** La necrosis se caracteriza por la degeneración del protoplasma seguida por la muerte de las células, tejidos y órganos. Síntomas necróticos presentes antes de la muerte del protoplasma son llamados **plesionecróticos** y los expresados después de la muerte del protoplasma **holonecróticos**

- **Antes de la necrosis celular:** Amarillamiento, encharcamiento o anasarca, marchites

- **Después de la necrosis:** Presenta síntomas característicos de la muerte de la célula causando cambios de coloración en los tejidos o órganos afectados para marrón o negro. Los síntomas holonecróticos más frecuentes son:

- ✓ Cancro (lesiones necróticas redondas en tallos, raíces, tubérculos)
- ✓ Crestamento (tizón en órganos aéreos)
- ✓ Damping off
- ✓ Escaldadura
- ✓ Estria
- ✓ Gomosis
- ✓ Manchas, pueden ser circulares, angulares, de diferentes colores.
- ✓ Muerte en los meristemas
- ✓ Momificación
- ✓ Perforación
- ✓ Pudrición
- ✓ Pústulas
- ✓ Resinosis, exudación anormal de resina en heridas de las coníferas
- ✓ Seca, parecido al crestamento. Diferenciándose a que su desarrollo es más lento.

➤ **Síntomas que afectan el crecimiento celular.** Anomalía en el crecimiento, multiplicación o diferenciación de células vegetales, generalmente causan distorsiones en los órganos de la planta.

- **Síntomas que reducen el crecimiento celular.** Albinismo (blanco), clorosis (verde pálido) enanismo, mosaico, roseta.
  
- **Síntomas aceleran el crecimiento celular.**
  - ✓ Bronceamiento (color bronce).
  - ✓ callo cicatrizal.
  - ✓ enación (protuberancias similares a hojas desarrolladas sobre las nervaduras de la hoja)
  - ✓ Encrespamiento
  - ✓ Epinastia, curvatura para a bajo de las hojas, parte de ella o las ramas debido al rápido crecimiento de la superficie superior de esos órganos.
  - ✓ Fasciación, estado achatado y muy ramificado de órganos unidos de la planta, brotes excesivos como una corona.
  - ✓ Agalla
  - ✓ Superbrotamiento, ramificación excesiva de tallos, ramas, flores. Los síntomas pueden dar aspecto de una escoba
  - ✓ Verrugosis. Crecimiento excesivo de tejidos epidérmicos y corticales, generalmente modificado por la rotura y suberización de las paredes celulares ejemplo lesiones salientes y ásperas en frutos, tubérculos y hojas.

### 6.5.2. Signos

Desde el punto de vista práctico los signos pueden ser más confiables en el diagnóstico que los síntomas, debido a que las estructuras somáticas o reproductivas pueden encontrarse en los tejidos enfermos (Figura 6.4). Los signos más frecuentes observados son los siguientes:

- ✓ Conidioforos con conidios; esporangiosporos con esporangios.
- ✓ Presencia de conidias o esporas en las lesiones
- ✓ Presencia de clamidosporas
- ✓ Micelio intra o intercelular
- ✓ Micelio desarrollándose sobre la lesión
- ✓ Crecimiento blanco velludo
- ✓ Rizomorfos, micelio entre cruzado parecido a cordones de zapatos
- ✓ Estromas
- ✓ Pústulas conteniendo esporos
- ✓ Masas carbonosas conteniendo clamidosporas
- ✓ Presencia de esclerocios en la lesión

- ✓ Exudación por pus bacteriana
- ✓ Masa de huevos de nematodos
- ✓ Inclusiones
- ✓ Presencia de protozoarios
- ✓ Presencia de fitoparásitos juveniles en los tejidos afectados
- ✓ Presencia de células de bacterias en floema o xilema
- ✓ Producción de olores ejemplo frutos de cacao infectado por *Phytophthora palmivora* expiden un olor a pescado. Plantas de coco afectada por *Ceratocystis* expelen un olor a piña. Pudriciones de frutos de tomate y tubérculos de papa por *Erwinia* expelen un olor a azufre



Agallas carbonosas del carbón en mazorca de maíz causada por *Ustilago maydis*



Falso carbón *Ustilagoideae virens*, en flores masculinas de maíz



Marchitez bacteriana, *Erwinia chrysantemi* en plantas de maíz



Pudrición del Pseudotallo del platano por la bacteria *Erwinia chrysantemy*



Estructuras fungosas de *Moniliophthora roreri* causantes de la monilia en mazorca de cacao



Uredosporas de la roya del cafeto *Hemileia vastatrix*

Figura 6.4. Síntomas y signos en cultivos tropicales de la Costa Atlántica Colombiana (Fotografías Rodrigo Campo A).

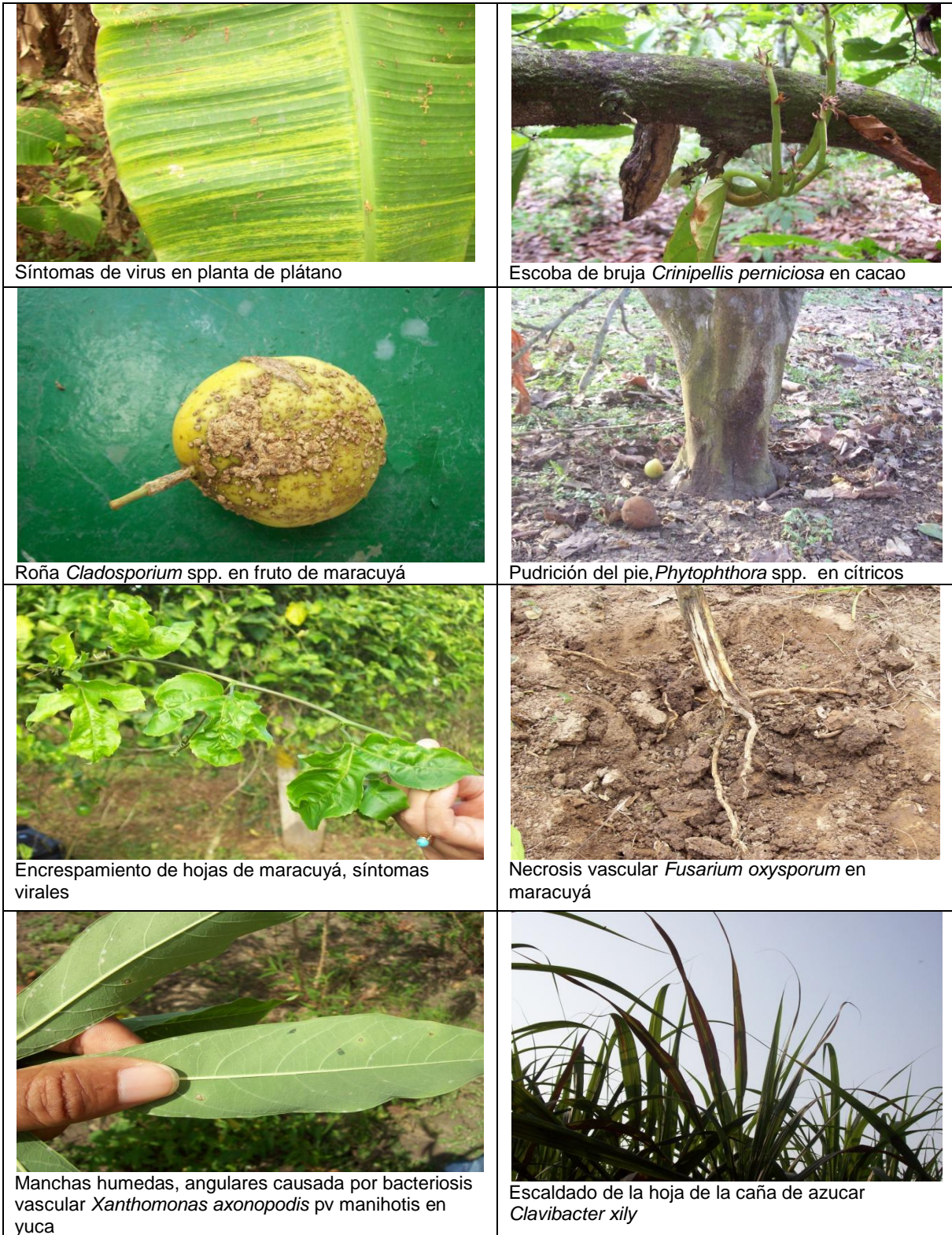


Figura 6.5. Síntomas en cultivos tropicales en cultivos de la Costa Atlántica Colombiana (Fotografías Rodrigo Campo A).





Figura 6.6. Síntomas en cultivos tropicales de la Costa Atlántica Colombiana (Fotografías Rodrigo Campo A).

## **6.6. EVALUACION**

1. Cuáles son los principales agentes bióticos fitopatogenicos?
2. Cuál es el proceso diagnóstico que debe seguir en caso de que se encuentre con una nueva enfermedad en un cultivo, la cual no ha sido reportada en la región por ninguna autoridad fitosanitaria?
3. Cuál es la diferencia entre signos y síntomas? De ejemplos de cada uno de ellos.
4. Describa los pasos de diagnóstico de campo
5. Cuáles son los elementos básicos (equipos) que se requiere para el diagnóstico de campo?
6. Como haría un muestreo fitosanitario en un campo de arroz de riego de 5 hectareas??
7. Describa los cuidados que debe tener para transportar muestras vegetales del campo al laboratorio.
8. En el laboratorio como manejaría una muestra que llega? Describir el proceso, sin llegar al diagnóstico.
9. Cuál es la finalidad de llenar el historial del cultivo?
10. Identificar en las figuras 6.4, 6.5, 6.6, caules fotografías presentan síntomas y cuales presentan signos.
11. Cuales metodologías debe emplear para inducir la esporulación de los hongos en una muestra afectada.
12. Describa las metodologías para observar tejidos afectados por hongos ó por bacterias a nivel de microscopio.

## **6.7. CONCLUSIONES Y COMENTARIOS**

Las enfermedades de las plantas son diagnosticadas en la mayoría de las veces por los síntomas y signos; apoyándose en la revisión de literatura y en los reportes fitosanitarios presentes en la región, el Ingeniero Agrónomo puede realizar un acertado diagnóstico. Por lo que es importante que el Ingeniero Agrónomo maneje la descripción de síntomas empleando el lenguaje técnico con el fin de poder describir la enfermedad, entender la literatura y poder participar en discusiones con otros profesionales sobre la problemática fitosanitaria que le aqueja.

Un diagnóstico bien hecho va encaminado a una correcta recomendación y por tanto, a la reducción de las pérdidas de la producción. La forma de muestrear, la toma de muestras y el manejo de la muestra para enviarse al laboratorio es un factor importante para un buen diagnóstico; de allí la importancia de darle al estudiante de Ingeniería Agronómica un buen entrenamiento sobre esas técnicas.

## **6.8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

Agrios, G.N. 2007. Fitopatología. 2ª ed. Limusa. Mexico. 838p.

Amorim, L., y Salgado, C.L. 1995. Diagnose, pp. 224-232. Em: Manual de fitopatología. Eds Bergamin, F., Kimati, H., Amorim, L. : Agronomía Ceres. Vo. 1. Sao Paulo.

Barnett, H.L., and Hunter, B.B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota, USA. 218 p.

Chaube, H.S. y Singh, U.S.2000. Plant disease management: principles and practices. CRC press. Boston. 319p.

Michereff, S.J. 2001. Fundamentos de fitopatologia. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, PE., Brazil. 150p.

Salgado, C.L., y Amorim, L. 1995. Sintomatología, pp. 212-223. Em: Manual de fitopatología. Eds Bergamin, F., Kimati, H., Amorim, L. : Agronomía Ceres. Vo. 1. Sao Paulo.

Streets, R.B. 1969. The diagnosis of plant diseases. University Arizona. Arizona. 6.35 pp.

Zambolim, L. 2006. Princípios de fitopatologia. Curso de proteção de plantas. ABEAS. Brasília. 101p.

## **6.9. BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA**

Chaube, H.S. y Singh, U.S.2000. Plant disease management: principles and practices. CRC press. Boston. 319p.

Streets, R.B. 1969. The diagnosis of plant diseases. University Arizona. Arizona. 6.35 pp.