



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y PATOGENICIDAD DE HONGOS
ASOCIADOS A MANCHAS Y NECROSAMIENTO FOLIAR EN CULTIVOS DE
SÁBILA (*Aloe vera* (L.) Burm. f.) DE LA PENÍNSULA DE ARAYA,
VENEZUELA
(Modalidad: Investigación)

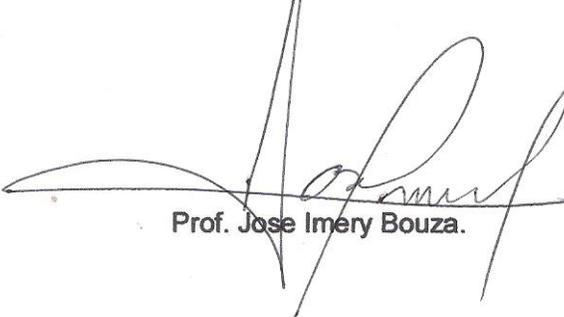
LISANDRO EDUARDO RIERA SARABIA

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGIA

CUMANÁ, ABRIL DE 2012

AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y PATOGENICIDAD DE HONGOS
ASOCIADOS A MANCHAS Y NECROSAMIENTO FOLIAR EN CULTIVOS DE
SÁBILA (*Aloe vera* (L.) Burm. f.) DE LA PENÍNSULA DE ARAYA,
VENEZUELA

APROBADO POR:



Prof. Jose Imery Bouza.

Jurado

Jurado

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	v
INTRODUCCIÓN	1
MATERIALES Y METODOS	7
Área de muestreo:	7
Aislamiento e identificación del patógeno.....	7
Preparación e inoculación del patógeno:.....	8
Severidad:.....	9
Incidencia de daños:.....	10
Análisis estadístico:.....	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
Caracterización de la sintomatología a nivel de umbráculo.....	11
Aislamiento e Identificación	14
Prueba de Patogenicidad	23
Incidencia y Severidad	23
CONCLUSIONES	33
RECOMENDACIONES	34
BIBLIOGRAFIA	35
HOJA DE METADATOS	40

DEDICATORIA

A mi madre, que Dios te tenga en la gloria.

A mi familia, por toda la paciencia, amor y apoyo brindado.

A mis amigos incondicionales por siempre.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser nuestro guía mayor.

A mi padre, Antonio José Riera, por su paciencia, consejos y apoyo, guiándome siempre por el buen camino.

Al profesor José Imery, por asesorarme y brindarme su paciencia, conocimientos y por ser un ejemplo para cualquier profesional en esta área.

A la Ingeniera Yajaira Albornett por brindarme todos sus conocimientos que fueron de gran utilidad para la realización de esta investigación.

A mis compañeros de la universidad, y muy especial a los profesores José Bernal y Víctor Franco, por sus distintos aportes y apoyos, y siempre estar dispuestos a colaborar en todo momento.

A mis amigos y compañeros de la planta de sábila y muy especialmente a la Licda. Yajaira Hernández, por motivarme siempre a continuar y nunca desfallecer en la finalización de esta investigación.

A todas aquellas personas que hicieron posible la realización de este trabajo. ¡MIL GRACIAS!

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Determinación del índice de severidad de daños.....	10
Tabla 2. Análisis de varianza múltiple (ANOVA) del índice de severidad de daños foliares de cuatro especies fúngicas, inoculadas en plantas sanas de <i>Aloe vera</i> , en dos tipos de plantas: jóvenes (J) y Adultas (A), empleando dos formas de inoculación: sin raspado (SR) y con raspado (CR).	23
Tabla 3. Análisis de rango múltiple (Duncan) aplicado al índice de severidad de daños foliares de cuatro especies fúngicas, en plantas de <i>Aloe vera</i>	24
Tabla 4. Comparación del Índice de Severidad de daños foliares mostrados por dos tipos de plantas de <i>Aloe vera</i>	29
Tabla 5. Análisis de varianza múltiple (ANOVA) de la incidencia de los daños foliares de cuatro especies fúngicas, inoculadas en plantas de <i>Aloe vera</i> , en dos tipos de plantas: jóvenes (J) y adultas (A), empleando dos formas de inoculación: sin raspado (SR) y con raspado (CR).	30
Tabla 6. Análisis de rango múltiple (Duncan) de la incidencia de daños foliares en plantas de <i>Aloe vera</i> , producidas por cuatro especies fúngicas.	31

LISTA DE FIGURAS

Figura.1. Daño foliar tipo 1, manchas de color púrpura ocasionadas por hongos fitopatógenos en hojas de <i>Aloe vera</i> cultivadas a nivel de umbráculo. Las flechas indican las manchas púrpuras. Éste es un daño de nivel severo.	11
Figura 2. Daño foliar tipo 2, en hojas de <i>Aloe vera</i> , ocasionadas por hongos fitopatógenos a nivel de umbráculo. La flecha indica una depresión foliar.....	12
Figura 3. Daño foliar tipo 2 (moderado), en hojas de <i>Aloe vera</i> a nivel de umbráculo. Las flechas indican la presencia de manchas rosadas, que se distribuyen a nivel de la base de la hoja.	13
Figura 4. Daño foliar tipo 2 (severo), en hojas de <i>Aloe vera</i> a nivel de umbráculo. Las flechas indican los necrosamientos foliares, que ocasionan el colapso de la planta y su posterior muerte.	13
Figura 5. Hifas de <i>Bipolaris hawaiiensis</i> . Las flechas indican la presencia de conidióforos que se desarrollan a partir de hifas laterales y lisas, Esta especie fue aislada en hojas de <i>Aloe vera</i> que presentaron manchas foliares de color púrpura. ...	14
Figura 6. Conidióforo de <i>Bipolaris hawaiiensis</i> conteniendo un conidio. Las flechas indican la presencia de 3 pseudoseptos.....	15
Figura 7. Conidio de <i>Bipolaris hawaiiensis</i> . Las flechas indican la forma fusiforme de los conidios, y la presencia de 5 pseudoseptos.	15
Figura 8. Conidióforo (A) y Conidio (B) del hongo dimórfico, aislados de manchas foliares púrpuras en hojas de <i>Aloe vera</i>	17
Figura 9. Conidióforos de <i>Alternaria longipes</i> , conteniendo un conidio. Especie fúngica aislada en hojas de <i>A. vera</i> que presentaron manchas y necrosamiento foliar. Nótese la forma de raqueta de tenis de los conidios. Se puede apreciar la presencia de septos longitudinales () y transversales ().....	19
Figura 10. Conidióforo (poroconidio) (A) y Conidio solitario de <i>Alternaria longipes</i> (B). En el conidióforo se pueden observar un septo longitudinal () y uno transversal. ().....	20
Figura 11. Conidióforo (A) y Conidios de <i>Aspergillus fumigatus</i> (B), aislados de manchas y necrosamiento foliar en hojas de <i>Aloe vera</i>	22

RESUMEN

Actualmente los cultivos de sábila de la población de Manicuaire han mostrado síntomas de necrosamiento foliar asociados a hongos, que provocan la muerte de las plantas. En este estudio se aislaron e identificaron especies de hongos asociadas a manchas y necrosamiento foliar en plantas de *Aloe vera*, además de determinar la severidad e incidencia de daños foliares. Se tomaron muestras de hojas que presentaban síntomas de necrosamiento y manchas, que fueron transportadas al laboratorio donde se realizaron pequeños cortes de tejidos, se colocaron en hipoclorito de sodio al 2%, se enjuagaron con agua destilada estéril, se secaron y finalmente se sembraron en agar papa dextrosa (PDA). Una vez obtenidas las colonias puras, se realizó la identificación de las cepas con el uso de claves taxonómicas específicas. Finalmente se prepararon los inóculos de cada cepa purificada en plantas sanas empleando dos tipos de plantas y dos formas de inoculación. Se aislaron cuatro especies fúngicas: 1: colonia de crecimiento rápido, conidióforos simples y ramificados, conidios fusiformes y pseudoseptados, perteneciente a la especie *Bipolaris hawaiiensis*. 2: colonias de crecimiento rápido, conidióforos simples e hialinos, conidios dispuestos en racimo, perteneciente a un hongo dimórfico. 3: colonia de crecimiento rápido, conidióforos simples, conidios en forma de raqueta de tenis con septos transversales y longitudinales, perteneciente a la especie *Alternaria longipes*. 4: colonia de crecimiento rápido, conidióforos con tallo alargado y conidios dispuestos en forma radiada, esféricos y equinulados, perteneciente a la especie *Aspergillus fumigatus*. En cuanto al índice de severidad de daños foliares, se encontraron diferencias significativas en el tipo de planta, siendo las plantas jóvenes las que mostraron una mayor severidad de daños. En las especies fúngicas, la especie *Alternaria longipes* produjo una mayor severidad de daños foliares, seguida de la especie *Bipolaris hawaiiensis*. En la incidencia de daños foliares, solo hubo diferencias significativas en las especies fúngicas inoculadas, siendo la especie *Alternaria longipes* la de mayor incidencia de daños foliares. De los cuatro hongos aislados solamente el género *Alternaria* ha sido reportado en cultivos de *Aloe*.

INTRODUCCIÓN

La explotación intensiva de especies agrícolas y la sobreutilización de agroquímicos para el control de plagas y enfermedades en los cultivos, han estado bajo discusión por parte del público durante las últimas décadas. La intensificación de procedimientos agronómicos, además de un mejor conocimiento ambiental, ha conllevado a incrementar políticas efectivas en la agricultura de los países desarrollados. Estas políticas incluyen programas de identificación de especies potencialmente patógenas que puedan causar enfermedades en cultivos agronómicamente importantes, o en plantas silvestres que sirvan como hospederos principales o secundarios (Thrall y Burdon, 1997).

La mayoría de las enfermedades aparecen y muestran mayor avance durante los días cálidos y húmedos, por lo que las condiciones ambientales que predominan, tanto en la atmósfera como en el suelo, una vez establecido el contacto entre el patógeno y su hospedero, pueden influir considerablemente en el desarrollo de una enfermedad (Kollar, 1997). Los principales factores que afectan el inicio y desarrollo de las enfermedades infecciosas en las plantas son: temperatura, humedad, luz, nutrimentos y pH del suelo. Sin embargo, se puede esperar que las plantas que presentan una mayor resistencia mantienen un estrecho contacto con los patógenos por largos periodos de tiempo (Jauch, 1985).

Estudios de la reacción de las plantas frente al estrés suelen hacer énfasis en la identificación de la acción del agente estresante. Este activa un estado de alarma en el organismo que se inicia por una reducción en la vitalidad (fase 1), después se restituye esta fase y se inicia la fase de resistencia (fase 2), la cual incluye el incremento de la productividad de la planta que trata de adaptarse al agente estresante. Sólo si falla la adaptación de la planta, ésta entra a una fase de agotamiento asociado a un daño irreversible. La vitalidad y la capacidad de

sobrevivencia de las plantas bajo estrés pueden influir en dos vías diferentes; en la primera, las plantas tratarán de reducir la intensidad de la infección mediante la inducción a la resistencia después de la aplicación de un determinado pesticida. La otra vía es que la vitalidad se incrementa debido al escaso daño causado (Seidel, 1996).

Para que se produzca una enfermedad, deben combinarse tres factores: una planta susceptible, un patógeno infectante y un medio ambiente favorable para la infección. Naturalmente, un cambio en cualquier condición del medio ambiente puede favorecer al hospedero, al patógeno o a ambos, por lo que el curso de una enfermedad se vería afectado. Sin embargo, para que una enfermedad llegue a ser de importancia en un terreno de cultivo en particular, ésta debe extenderse sobre un área y llegar a constituir una epidemia, las combinaciones adecuadas de los factores del medio ambiente deben prevalecer y prolongarse ya sea constante o repetidamente y a intervalos frecuentes sobre esa área (Agrios, 2005).

El primer componente de una enfermedad epidémica es una extensa zona plantada con un cultivo más o menos uniforme desde el punto de vista genético, en donde las plantas y zonas de cultivo se mantienen en estrecha unión. El segundo componente es la presencia o aparición de un patógeno virulento en algún punto de las plantas hospederas o cerca de ellas (Seidel, 1996).

Las enfermedades ocasionadas por fitopatógenos, se caracterizan por la presencia de hongos en la superficie de las plantas hospederas o dentro de ellas, la presencia activa de patógenos en la superficie de una planta podría indicar que probablemente son ellos la causa de la enfermedad (García, 1975).

Los hongos son organismos pequeños, generalmente microscópicos, que carecen de clorofila y de tejidos conductores. La mayoría de las 100 000 especies de hongos conocidas son estrictamente saprofitas y viven sobre la materia orgánica

muerta, a la que descomponen. Más de 8 000 especies de hongos producen enfermedades en las plantas. Muchas plantas son atacadas por algún tipo de hongo y cada uno de éstos ataca a uno o más tipos de plantas (Agrios, 2005).

La supervivencia y función de una gran proporción de hongos fitopatógenos dependen de las condiciones predominantes de temperatura y humedad o de la presencia de agua en su medio ambiente. Las esporas resisten rangos bastante amplios de temperatura y humedad, que permitan al hongo sobrevivir a los días cálidos. Muchos hongos fitopatógenos necesitan de agentes como el viento, agua, aves, insectos, otros animales, e incluso el hombre para poder diseminarse de una planta a otra, de hecho el viento es el agente más importante en la dispersión de las esporas, ya que las transporta a grandes distancias (Agrios, 2005).

La sábila, conocida científicamente como *Aloe vera* (L.) Burm. F., o por su sinónimo taxonómico *Aloe barbadensis* Miller, es una especie originaria de la península de Arabia. Su nombre genérico *Aloe* proviene del término árabe “alloeh” que significa sustancia brillante y amarga. Al continente americano fue introducida por Cristóbal Colón en los tiempos del descubrimiento de América (Vega *et al.*, 2005). Es una hierba perenne, típica de zonas desérticas o semidesérticas; acaules y de propagación vegetativa. Hojas en rosetas, suculentas, angosto-lanceoladas y con márgenes dentados. Flores tubulares de color amarillo, agrupadas en racimos individuales o compuestos y frutos generalmente ausentes (Carter, 1994). Ha sido utilizada por el hombre desde tiempos muy remotos (6 000 años antes de Cristo); y entre las propiedades atribuidas a esta planta están su acción desinfectante, antibacteriana, laxante, protección contra la radiación, antiinflamatorio e inmunestimulador (Añez y Vasquez, 2005).

En Venezuela, la sábila fue introducida desde Curazao al estado Falcón en el siglo XX (1924) y su explotación comercial se inició en 1930 (Lugo *et al.*, 2005)

adaptándose muy bien a las condiciones de aridez de esa región. En este sentido, Nobel y Linton (1998), con base a la recopilación de informaciones durante años de trabajo sobre *Aloe*, *Agave* y cactus, han encontrado que estas especies son capaces de mostrar altas productividades en regiones áridas y semiáridas. También Díaz (2001), califica a este grupo vegetal como recurso agrícola sustentable para las zonas más secas del Norte costero venezolano.

De Laat *et al.* (1994), en un estudio realizado a extensas plantaciones de sábila en Aruba, reportan la incidencia de la bacteria *Erwinia chrysanthemi* biovar 3, identificada como el agente causal de pudriciones severas con daño generalizado en la planta, principalmente durante el periodo lluvioso. Estos autores señalan que los fuertes cambios climáticos durante la transición de estaciones, afectan la condición fisiológica de la planta y facilitan el desarrollo de la enfermedad. Los síntomas ocurrieron después de periodos de intensa lluvias con acumulación repentina de agua en los tejidos foliares. Las plantas más susceptibles adquirieron una coloración verde oscuro que se expandió con rapidez bajo condiciones de continua humedad. Al avanzar la enfermedad, las hojas mostraron decoloración y al final se produjo la destrucción de la planta, especialmente en las plantas más viejas. En la India, esta sintomatología fue también descrita en plantas de *Aloe vera*, identificándose a la bacteria *Pectobacterium chysanthemi* como el agente causal de dicha enfermedad (Mandal y Maiti, 2005). En Venezuela, Hernández *et al.* (1999) reportaron la aparición de pudriciones húmedas en plantas de sábila, que se desarrollaban en la base de la hoja y luego se extendían a toda la lámina y a otras hojas, ocasionando un colapso total de la planta identificándose a la bacteria *Erwinia chrysantemi* como el agente causal de la enfermedad.

En cuanto a la agrupación de enfermedades fúngicas en *Aloe*, en África se han reportado la podredumbre del tallo, cuyo síntoma principal es un ennegrecimiento y ablandamiento del tallo ocasionado por el hongo *Phitophthora* sp.; otro daño asociado

a hongos fitopatógenos es la mancha roja en las hojas, producida por el hongo *Montagnella maxima* (McClymont, 1989) y la aparición de lesiones necróticas y cloróticas en hojas jóvenes, frutos y tallos de plantas de sábila (McDowell 1991).

En Asia, Kishi *et al.* (1999) indicaron la aparición de manchas púrpuras en hojas de *Aloe arborescens* Mill cultivada en la Península de Atsumi (Japón), identificando al hongo *Fusarium phillophilum* como el agente causal de los síntomas de la enfermedad. Motohashi *et al.* (2007) observaron síntomas de pudrición en cultivos de *Aloe* spp., en el distrito de Okinawa (Japón); estas lesiones se manifestaron como manchas de color marrón a púrpura –negro en la parte inferior del tallo, que ocasionó la marchitez de la planta y finalmente su muerte, reportándose a la especie *Fusarium dimerum* como el agente causante de la enfermedad. En la India, Kamalakannan *et al.* (2008) identificaron al hongo *Alternaria alternata* como la especie causante de manchas ovales, con depresiones de color marrón oscuro en el ápice de las hojas de *Aloe barbadensis* (= *Aloe vera*); posteriormente las manchas necrosaron y las hojas afectadas se secaron desde el ápice hasta la base, ocasionando la pérdida del hidroparénquima y el colapso de la planta.

Wehlburg *et al.* (1975) señalan que en cultivos de sábila al Sur de los Estados Unidos existe una asociación con hongos que se limitan a algunas especies de *Alternaria* produciendo manchas en las hojas de las plantas. Isakeit (1996) identificó especies de mohos que tienen forma de pequeños cuerpos globulares con un interior negro y polvoroso que se desarrollan sobre la cara inferior de la hoja, sin causar daños aparentes. En Venezuela, Bravo y Santos (1991), aislaron e identificaron al hongo *Alternaria* spp. en hojas de sábila que presentaron manchas de color negro. Lugo (1999) y Alvarado (2007) en el estado Falcón, describen síntomas de marchitez foliar producido por el hongo *Fusarium* sp. y pudrición de la raíz, donde el síntoma principal son lesiones necróticas en la base del tallo y cuyo agente causal es el hongo *Rhizoctonia* sp.

En el estado Sucre el cultivo de sábila es muy reciente, hasta el momento existen unas 700 hectáreas cultivadas para la obtención de materia prima, la cual es utilizada en la elaboración de productos de uso farmacéutico, cosmetológico y veterinario. Recientemente, en los cultivos se han observado enfermedades en plantas que presentan sintomatologías diferentes. A este respecto se ha reportado la existencia de necrosamientos asociados a especies fúngicas, que causan depresiones sobre la lámina adaxial y posterior estrangulamiento de la base foliar (Imery, 2008).

La escasez de información relacionada con enfermedades de esta naturaleza en sábila, pone de manifiesto la necesidad de realizar la presente investigación, con la que se estudió la presencia de especies fúngicas asociadas a necrosamientos y manchas foliares en plantas de *A. vera*, determinándose la severidad e incidencia de daños ocasionados por esos hongos, con la finalidad de aportar la información necesaria para diseñar posteriormente las posibles estrategias de control y la incorporación de este factor de selección en el programa de mejoramiento genético que se desarrolla en el Laboratorio de Genética Vegetal de la Universidad de Oriente, hacia la obtención de cultivares de mayor productividad en función de mejoras en la calidad, rendimiento y tolerancia a plagas y enfermedades.

MATERIALES Y METODOS

Área de muestreo:

De acuerdo a observaciones preliminares de incidencia de necrosamiento foliar en cultivos de sábila de la Península de Araya, los muestreos se realizaron en la finca perteneciente a la Asociación de Productores de Sábila (ASOZACRIMATA), ubicada en el Valle de Manicuare (a 10° 33' 32,3'' L. N., a 10° 33' 43,1'' L.N., a 64° 12' 8,1'' L.O., a 64° 12' 7,6'' L.O.), abarcando 5,23 hectáreas de área cultivada. En la finca se recolectaron aleatoriamente hojas que presentaron los síntomas de afección. Las hojas fueron cortadas desde su base, dejando que las mismas liberaran el acíbar para evitar la formación de un microambiente que favoreció el crecimiento de otros microorganismos. Inmediatamente en la herida de la hoja, se colocó un algodón estéril y las muestras fueron introducidas en bolsas de plástico herméticamente selladas. Éstas se preservaron en una cava con hielo para su posterior traslado al Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Biología de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.

Aislamiento e identificación del patógeno

Las muestras colectadas en el campo se almacenaron a 4°C hasta su uso. Se aplicaron las técnicas para el aislamiento y purificación de hongos provenientes de las hojas. En las muestras de tejidos enfermos se realizaron varios cortes de pequeñas secciones a partir del borde de la lesión, con la finalidad de obtener tejidos afectados y aparentemente sanos. Estas secciones se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto, y luego se enjuagaron tres veces con agua destilada

estéril, de inmediato se secaron y se procedió a sembrar los trocitos de tejido en el medio de cultivo agar papa dextrosa (APD, Merck) incubando de 2-3 días a temperatura ambiente. Igualmente, se colocaron trocitos de tejido afectado en cámara húmeda por 24 horas para observar las estructuras reproductivas al microscopio de luz. Una vez desarrolladas las colonias en el medio de cultivo, se tomaron muestras de estas para la preparación de microcultivos (Riddell, 1950) observándose las estructuras microscópicas de los hongos, luego se procedió a la identificación de las especies fúngicas, empleando claves taxonómicas (Ellis, 1971, Barnett *et al.*, 1972; Domsch *et al.*, 1980; Casas, 1989; Koneman, 1990; Belmont, 1992; Montes, 1992; Samson *et al.*, 1995).

Preparación e inoculación del patógeno:

De acuerdo al número de cepas aisladas potencialmente patógenas, se procedió a realizar la prueba de patogenicidad. Para la preparación del inóculo se utilizaron tubos que contenían al hongo con siete días de crecimiento, a los cuales se les añadió 10 - 15 ml de agua destilada estéril, luego se realizó una agitación suave del tubo, inmediatamente se filtró a través de una gasa estéril. Una muestra del filtrado se colocó en un hematocímetro para determinar la concentración del inóculo. Ésta estuvo comprendida entre 10^3 - 10^5 conidios/ml. Se inocularon plantas adultas (12 - 18 meses) y jóvenes (4 - 6 meses) por cada cepa aislada, aplicando el inóculo de dos maneras: 1) en la superficie de la hoja sin ningún raspado; 2) previo raspado de la lámina foliar y posterior aspersión del inóculo. En cada una de las formas de aplicación del inóculo, se emplearon tres hojas seleccionadas aleatoriamente en

plantas adultas y jóvenes. Las plantas controles fueron inoculadas con agua destilada estéril.

Diariamente se revisaron las plantas inoculadas, tomando en cuenta los avances en las posibles enfermedades. Una vez que aparecieron los primeros síntomas de daño en las plantas, se tomaron muestras de tejido vegetal y se procedió a realizar aislamiento en APD (Merck), anotándose las características de la cepa, si ésta correspondía con la cepa que fue inoculada se cumpliría con los postulados de Koch: 1) El patógeno debe encontrarse asociado con la enfermedad en todas las plantas enfermas que se examinen. 2) El patógeno debe aislarse y desarrollarse en un cultivo puro en medios nutritivos y se deben describir sus características y registrar su presencia y los efectos que produzca. 3) El patógeno que se desarrolla en un cultivo puro debe ser inoculado en plantas sanas de la misma variedad o especie en que apareció la enfermedad y debe producir la misma enfermedad en las plantas inoculadas. 4) El patógeno debe aislarse una vez más en un cultivo puro y sus características deben corresponder a las anotadas en el segundo punto.

Además se estableció un régimen de evaluación diaria de los órganos afectados, así como los signos observados, la sintomatología mostrada por las plantas y finalmente la severidad e incidencia de los daños presentados tanto en plantas jóvenes como en adultas.

Severidad:

La severidad de los daños en las hojas se estableció mediante las siguientes clases (C): 0 hojas sanas; 1 daño leve; 2 moderado; 3 fuerte y 4 severo. Para estimar el índice de severidad se elaboró previamente la siguiente tabla:

Tabla 1. Determinación del índice de severidad de daños.

Categoría de afección	Clase (C)	Frecuencia (F)	F x C
Hojas sanas	$C_1 = 0$	$F_1 *$	$C_1 \times F_1$
Daño leve	$C_2 = 1$	$F_2 *$	$C_2 \times F_2$
Daño moderado	$C_3 = 2$	$F_3 *$	$C_3 \times F_3$
Daño fuerte	$C_4 = 3$	$F_4 *$	$C_4 \times F_4$
Daño severo	$C_5 = 4$	$F_5 *$	$C_5 \times F_5$
N			

* Representa el número de órganos afectados para esa clase.

En la evaluación de la severidad de los daños en hojas, N representará el número individual de esos órganos afectados en cada planta.

El índice de severidad = $\sum_{i=N}(F_i \times C_i) / N$ (Cátedra de Fitopatología, 1989).

Incidencia de daños:

Para determinar el porcentaje de plantas afectadas en función del índice de intensidad que se determine para cada cepa, se empleó la siguiente relación:

Incidencia = (Índice de intensidad / número de clases encontradas) x 100.

Análisis estadístico:

Se analizaron estadísticamente las variaciones en el índice de severidad e incidencia de los daños, para ello se empleó un diseño completamente aleatorizado en el cual los tratamientos están representados por las cepas potencialmente patógenas, los modos de aplicación del inóculo y las edades de las plantas. Se utilizaron 16 plantas por tratamiento. A los tratamientos que resultaron con diferencias significativas ($\alpha = 0,05$) se les aplicó la prueba *a posteriori* de rango múltiples de Duncan al mismo nivel de significancia (Sokal y Rohlf, 1979).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la sintomatología a nivel de umbráculo

La sintomatología de los daños mostrados por las plantas de *Aloe vera*, inoculadas con hongos fitopatógenos, se clasificaron de dos maneras: daño foliar 1, caracterizado por la presencia de depresiones en las hojas (daño leve, clase₂= 1), seguido por la aparición de manchas de color rojo a púrpura, que se presentaron como pequeños puntos que alcanzaron una forma circular u oval en la cara adaxial de la hojas (daño moderado, clase₃= 2), estas manchas llegaron luego a fusionarse (daño fuerte; clase₄= 3, Fig.1), hasta que finalmente alcanzaron toda la lámina foliar (daño severo, clase₅= 4). Estas manchas se distribuyeron principalmente en la zona más suculenta de la hoja; sin producirse necrosis foliar.

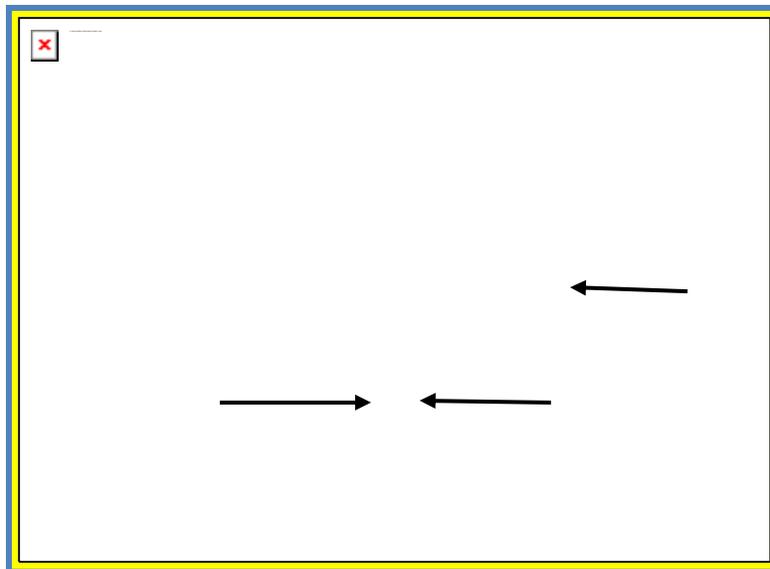


Figura.1. Daño foliar tipo 1, manchas de color púrpura ocasionadas por hongos fitopatógenos en hojas de *Aloe vera* cultivadas a nivel de umbráculo. Las flechas indican las manchas púrpuras. Éste es un daño de nivel severo.

Daño foliar tipo 2, observado como pequeñas depresiones a lo largo de la lámina foliar (daño leve, Fig. 2), luego se transforman en manchas de color rosado-rojo (daño moderado, Fig. 3), que se distribuyen a lo largo de la hoja especialmente en la base de las mismas, para luego necrosar la base de la hoja (daño fuerte), hasta que finalmente se produce el estrangulamiento de la misma (daño severo, Fig.4), y posterior muerte de la planta.

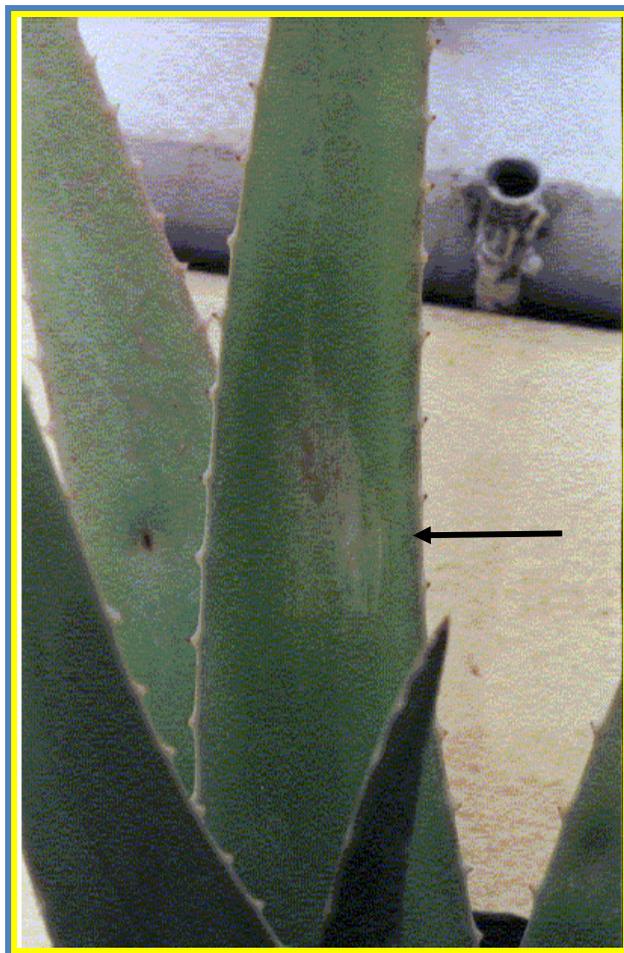


Figura 2. Daño foliar tipo 2, en hojas de *Aloe vera*, ocasionadas por hongos fitopatógenos a nivel de umbráculo. La flecha indica una depresión foliar.



Figura 3. Daño foliar tipo 2 (moderado), en hojas de *Aloe vera* a nivel de umbráculo. Las flechas indican la presencia de manchas rosadas, que se distribuyen a nivel de la base de la hoja.



Figura 4. Daño foliar tipo 2 (severo), en hojas de *Aloe vera* a nivel de umbráculo. Las flechas indican los necrosamientos foliares, que ocasionan el colapso de la planta y su posterior muerte.

Aislamiento e Identificación

Aislamiento 1. Hongo aislado de las manchas púrpuras en plantas de *Aloe vera*, con las siguientes características macroscópicas: micelio de crecimiento rápido (6 cm de diámetro a los 8 días de desarrollo) en cápsulas de Petri, de color marrón oscuro, aterciopelado. Las características microscópicas de este aislamiento fueron: conidióforos solitarios o agrupados, geniculados, desarrollados en hifas terminales y laterales, rectos, lisos, de color pardo a café, y de 29,4-122,5 μm de longitud. Conidios (poroconidios), cilíndricos, lisos, con las puntas algo fusiformes, de color oliva-marrón, las células de los extremos son más oscuras que las células del centro, pseudoseptadas (3-5), y de 17-24,5 μm de longitud y 7,4-10 μm de grosor (Fig.5-7). De acuerdo a las comparaciones de las características macroscópicas y microscópicas del hongo, como las dimensiones de los conidios, las puntas algo fusiformes de los conidios y el número de pseudoseptos, el aislamiento pertenece a la especie *Bipolaris hawaiiensis* (Ellis, 1971; Casas, 1989).



Figura 5. Hifas de *Bipolaris hawaiiensis*. Las flechas indican la presencia de conidióforos que se desarrollan a partir de hifas laterales y lisas, Esta especie fue aislada en hojas de *Aloe vera* que presentaron manchas foliares de color púrpura.

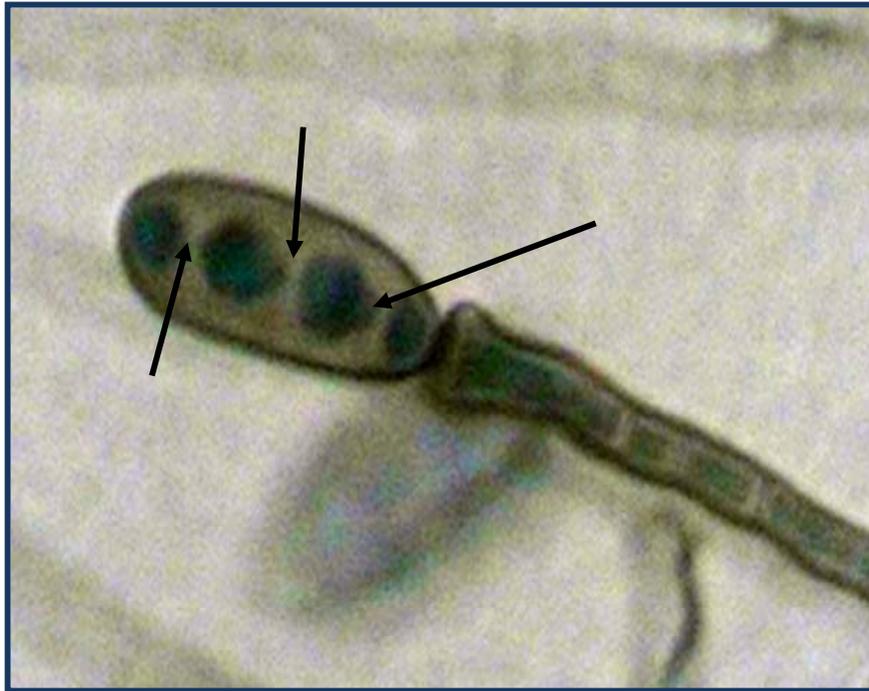


Figura 6. Conidióforo de *Bipolaris hawaiiensis* conteniendo un conidio. Las flechas indican la presencia de 3 pseudoseptos

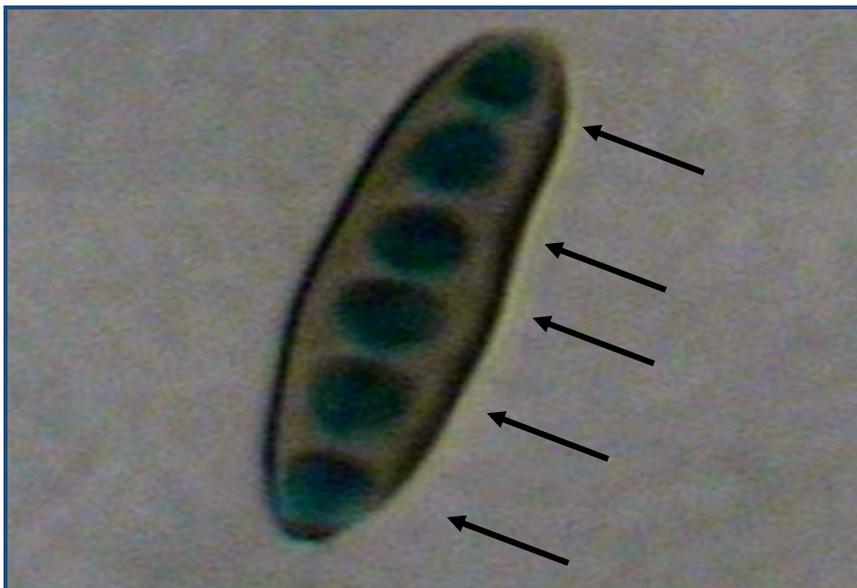


Figura 7. Conidio de *Bipolaris hawaiiensis*. Las flechas indican la forma fusiforme de los conidios, y la presencia de 5 pseudoseptos.

El género *Bipolaris* Shoemaker (1959), fue separado de *Helminthosporium* y mantenido dentro del género *Drechslera* Ito (1930). Las descripciones e ilustraciones de *Drechslera hawaiiensis* M. B. Ellis (Ellis, 1971) o Bugnicourt (1955), son suficientes para indicar que esta especie pertenece al género *Bipolaris*, por lo que Tsuda y Ueyama (1981) propusieron una nueva combinación, *Bipolaris hawaiiensis* (M. B. Ellis) Tsuda y Ueyama = *Drechslera hawaiiensis* M. B. Ellis. Esta especie fúngica fue primero descrita en granos de arroz (*Oryza sativa*) en Hawaii y ha sido aislada de diferentes plantas y suelos en Jamaica, Cuba y Kenia donde esta especie se ve favorecida por temperaturas cálidas, diseminándose fácilmente a través de esporas que son transportadas por el viento a grandes distancias (Ellis, 1971). En Venezuela, Tortolero y Carrasco (2000) reportaron al género *Bipolaris* como causante de manchas foliares en cultivos de caña de azúcar (*Sacharum officinarum*) y arroz (*Oryza sativa*), pero aún no ha sido reportado en cultivos de *Aloe vera*.

Aislamiento 2. Hongo aislado de las manchas púrpuras en plantas de *Aloe vera*, con las siguientes características macroscópicas: micelio de crecimiento rápido e irregular (8 cm de diámetro a los 8 días de desarrollo) en Cápsulas de Petri, de color salmón, translúcido. Microscópicamente los conidióforos eran hialinos, simples, alargados y septados, desarrollados en hifas intercalares, de 31,8-103 μm de longitud. Conidios dispuestos en racimo, esféricos, lisos, de 4,9-12,3 μm de diámetro, de color verde. Aislamiento no identificado (Fig. 8). De acuerdo a lo establecido por Ellis (1971), Koneman (1990), Casas (1989), y a las características que presentó este hongo como la morfología de la colonia y coloración de las hifas, éste aislamiento pertenece al grupo de los hongos dimórficos. Este grupo de hongos existe en el medio natural, particularmente en suelos húmedos o en plantas. Los principales agentes diseminadores son el aire y animales que transportan sus conidios a grandes distancias y son de interés clínico y fitopatógico.

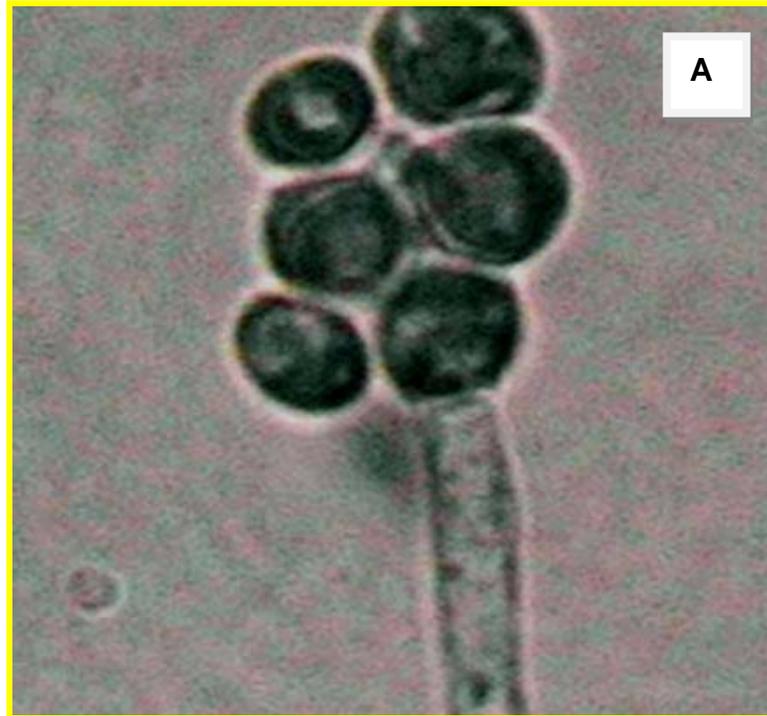


Figura 8. Conidióforo (A) y Conidio (B) del hongo dimórfico, aislados de manchas foliares purpuras en hojas de *Aloe vera*.

Aislamiento 3. Hongo aislado de los necrosamientos foliares en plantas de *Aloe vera*, presentando las siguientes características macroscópicas: micelio de crecimiento rápido (6 cm de diámetro a los 8 días de desarrollo), de color gris a negro. Los conidióforos eran flexuosos, septados con poros apicales, longitud superior a 100 μm y 2,5-5 μm de grosor y color café. Conidios (poroconidios), solitarios o formando pequeñas cadenas, ovoides o de forma de raqueta de tenis, lisos, color café, con septos transversales (3-8) principalmente 5 y longitudinales (1-2), 17-62 μm de longitud y 9-15 μm de grosor (Figs. 9-10). Al aplicar las claves taxonómicas de Ellis (1971) y Samson (1995) y de acuerdo a las características microscópicas como la longitud del conidióforo, la forma muy particular de raqueta de tenis de los conidios y sobre todo al número de septos transversales y longitudinales, este aislamiento fúngico corresponde a la especie *Alternaria longipes*. El género *Alternaria* ha sido reportado como patógeno causante de manchas foliares y necrosamiento en cultivos de tomate (*Lycopersicon esculentum*), pimentón (*Capsicum annuum*) (Akhtar *et al.*, 2004). En Venezuela, Tortolero y Carrasco (2000) han señalado al género *Alternaria* como el causante del desecamiento de los ápices en la familia Liliaceae, de manchas foliares en cultivos de membrillo (*Cydonia oblonga*), fresa (*Fragaria vesca*), yuca (*Manihot esculenta*) y el agente causal de quemazón foliar en cultivos de eucaliptos (*Eucalyptus calmodulensis*), naranja (*Citrus aurantifolia*) y uva (*Vitis vinifera*). Otros estudios realizados por Bravo y Santos (1991) en *Aloe vera* cultivada en umbráculo, reportaron a *Alternaria sp.* de aislamientos con manchas foliares negras.

La especie *A. longipes* se ha identificado como el agente causal de manchas marrones en cultivos de tabaco (*Nicotiana tabacum*) en los Estados Unidos, estas manchas tenían una forma circular que se alargaban gradualmente hasta fusionarse, abarcando áreas de hojas que eventualmente alcanzan las plantas completas (Weber, 1973). La diseminación de esta especie se realiza generalmente a través del aire y más específicamente en días secos y soleados; mientras que la penetración al interior del hospedero es probable que ocurra a través de la cutícula (Ellis, 1971).



Figura 9. Conidióforos de *Alternaria longipes*, conteniendo un conidio. Especie fúngica aislada en hojas de *A. vera* que presentaron manchas y necrosamiento foliar. Nótese la forma de raqueta de tenis de los conidios. Se puede apreciar la presencia de septos longitudinales () y transversales (←) ←



Figura 10. Conidióforo (poroconidio) (A) y Conidio solitario de *Alternaria longipes* (B). En el conidióforo se pueden observar un septo longitudinal (←) y uno transversal. (←)

En la India, Gupta y Masodd (2003) y Kamalakannan *et al.* (2008) identificaron al hongo *Alternaria alternata* en cultivos de *Aloe vera* que presentaron manchas y necrosamiento foliar, identificando las siguientes características microscópicas: conidióforo ramificado, liso, de color marrón-dorado, midiendo 15 μm de longitud y 2-6 μm de grosor. La forma de los conidios eran obclavadas, longitud de 22,7–63,7 μm y 13,6–18,2 μm de grosor. El conidio presenta de 2 a 3 septos transversales y varios septos longitudinales. Estas características microscópicas de *A. alternata* difirieron de la especie *Alternaria longipes* aislada en la presente investigación, por lo que se determinó que la sintomatología de manchas y necrosamiento foliar mostradas por las plantas de *A. vera* en Manicuare, fue ocasionada por una especie distinta a la aislada en la India.

Aislamiento 4. Hongo aislado de los necrosamientos foliares en plantas de *Aloe vera*, presentando las siguientes características macroscópicas: micelio de crecimiento rápido (6 cm de diámetro a los 8 días de desarrollo) en placas de Petri, de aspecto pulverulento y color verde. Microscópicamente presenta cabeza conidial típicamente columnar. Conidióforos hialinos o incoloros, de 196–428,4 μm longitud. Vesícula subglobosa con 14,7–17,2 μm de diámetro. Fialides uniseriados que nacen directamente sobre la vesícula, no posee médula. Conidios esféricos rugosos o ligeramente equinulados, de 2,45–7,3 μm de diámetro, de color verde-azul (Fig. 11). Aislamiento perteneciente a la especie *Aspergillus fumigatus*, según las descripciones taxonómicas de Barnett y Hunter (1972), Casas (1989) y Belmont (1992). *A. fumigatus* es una especie exitosamente saprófita, ampliamente distribuida, termotolerante y capaz de desarrollarse a un rango de temperatura de 12-57 °C; crece en diferentes tipos de suelos, en el aire y en plantas enfermas (Gravesen *et al.*, 1994). En Venezuela, Tortolero y Carrasco (2000) reportaron al género *Aspergillus* como el agente causal de manchas en los frutos de naranja (*Citrus aurantifolia*), pero no se tiene información de este género asociado a cultivos de *Aloe vera*, aunque se ha

señalado en hábitat desérticos en plantas del género *Welwitschia*, como contaminante de las hojas (McClymont, 1989).

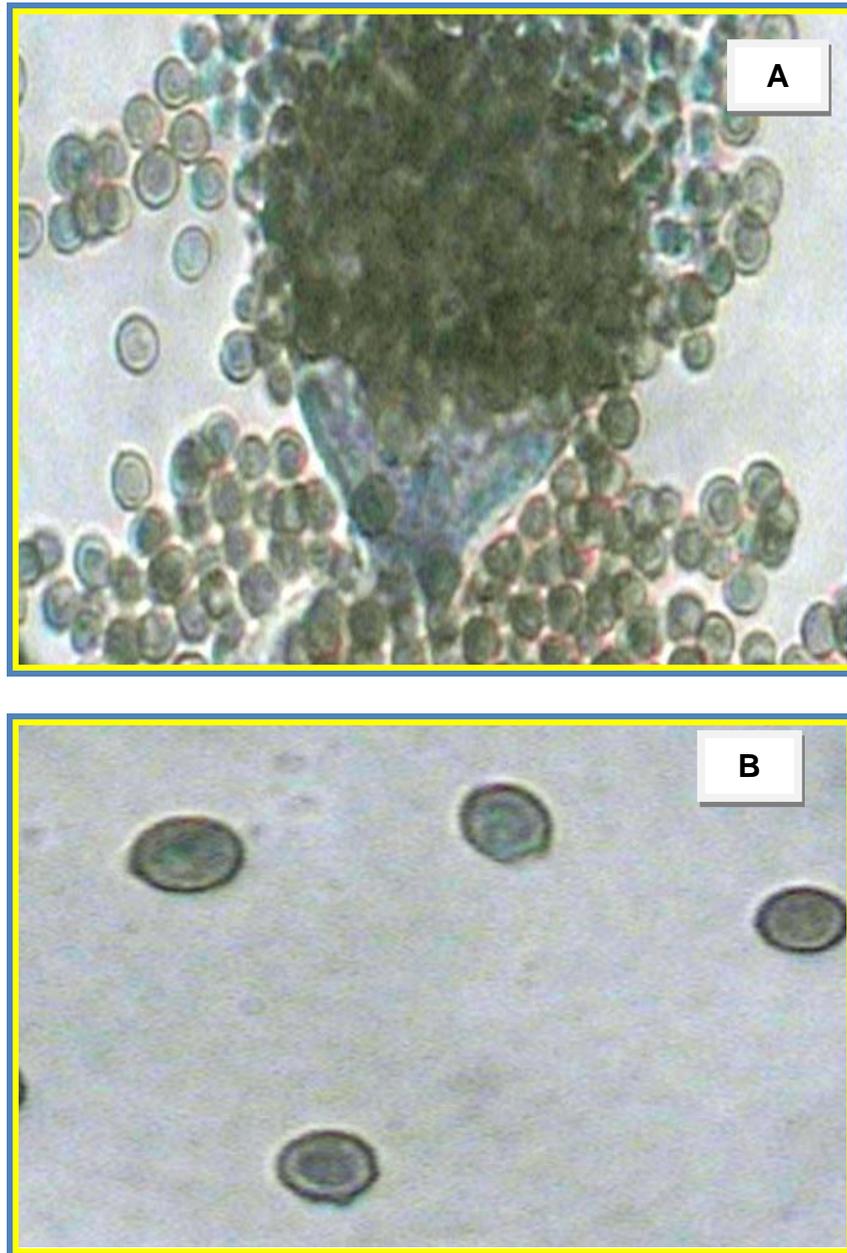


Figura 11. Conidióforo (A) y Conidios de *Aspergillus fumigatus* (B), aislados de manchas y necrosamiento foliar en hojas de *Aloe vera*.

Prueba de Patogenicidad

Incidencia y Severidad

En la tabla 2 se muestran los resultados del análisis de varianza múltiple del índice de severidad de daños foliares, encontrándose diferencias significativas (Fs: 11,8; $p < 0,05$) entre el tipo de planta (jóvenes y adultas) y entre las cuatro especies fúngicas inoculadas (Fs: 13,63; $p < 0,05$). Se encontraron diferencias no significativas (Fs: 0,119; $p > 0,05$) en las formas de inoculación (con raspado superficial, sin raspado).

Tabla 2. Análisis de varianza múltiple (ANOVA) del índice de severidad de daños foliares de cuatro especies fúngicas, inoculadas en plantas sanas de *Aloe vera*, en dos tipos de plantas: jóvenes (J) y Adultas (A), empleando dos formas de inoculación: sin raspado (SR) y con raspado (CR).

Fuente de Variación	g.l.	Sumas cuadráticas	Medias cuadráticas	Fs
Entre bloques	3	204,49	68,17	0,44 NS
Tipos de planta	1	1 847,27	1 847,27	11,8 *
Formas de Inoculación	1	18,69	18,69	0,12 NS
Especies fúngicas	3	6 405,75	2 135,25	13,63 *
Error	55	156,65	156,65	
Total	63	17 092,01		

Anova realizado a partir de datos transformados mediante Arco Seno ($\sqrt{p+0.125}$).

g.l: grados de libertad.

*: Diferencias significativas ($p < 0,05$).

NS: Diferencias no significativas ($p > 0,05$).

En la tabla 3 se muestra el resultado de la prueba a *posteriori* de Duncan para las cuatro especies fúngicas. La especie *Alternaria longipes* produjo un mayor índice de severidad de daños foliares seguida por la especie *Bipolaris hawaiiensis*. Solamente estas dos especies cumplieron con los postulados de Koch; mientras las otras dos especies, el hongo dimórfico y *Aspergillus fumigatus*, no ocasionaron ningún tipo de

daño foliar en las plantas de *Aloe vera* inoculadas. Las plantas controles no mostraron ninguna sintomatología de manchas o necrosamiento foliar en sus hojas.

Tabla 3. Análisis de rango múltiple (Duncan) aplicado al índice de severidad de daños foliares de cuatro especies fúngicas, en plantas de *Aloe vera*.

Especies fúngicas	N	Media ¹	² Grupos homogéneos
Hongo dimorfo	16	0,000	A
<i>Aspergillus fumigatus</i>	16	0,000	A
<i>Bipolaris hawaiiensis</i>	16	0,188	B
<i>Alternaria longipes</i>	16	0,365	B

El análisis fue realizado a partir de datos transformados, pero aquí se están presentando sin transformación para que el lector tenga una idea real del valor del índice.

¹ Severidad de los daños.

² Letras iguales indican promedios estadísticamente similares ($p > 0,05$).

De acuerdo al resultado del índice de severidad de daños foliares, la principal especie fitopatógena presente en cultivos de *Aloe vera* fue *Alternaria longipes*, e incluso algunas plantas murieron durante la fase experimental. El género *Alternaria* es cosmopolita, asociado a las enfermedades más comunes de muchos tipos de plantas en todo el mundo, afectando muy severamente cultivos de tomate (*Lycopersicon esculentum*), algodón (*Gossypium hirsutum*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), cebolla (*Allium cepa*) manzano (*Pirus malus*), arroz (*Oryza sativa*), papa (*Solanum tuberosum*) ajo (*Allium sativum*) (Ellis, 1971).

El género *Alternaria* ya ha sido reportado por Whelburg *et al.* (1975) en cultivos de *Aloe vera* en los Estados Unidos, asociado a manchas foliares. En Venezuela, Bravo y Santos (1991) aislaron este hongo a partir de hojas de sábila que presentaban manchas negras. En la presente investigación esta especie fúngica fue aislada en necrosamientos foliares de consistencia seca y color marrón, éstos nos permite presumir que las condiciones en las cuales se encuentran los cultivos favorecen la

presencia y diseminación de este hongo, ocasionando severos daños en las plantas de sábila.

Las manchas producidas por *Alternaria longipes* fueron de color rosado-rojo con centro blanco, y las depresiones se distribuyeron en la base de las hojas de *Aloe vera*, estrangulándola y provocando finalmente la muerte de la planta, mientras que las manchas ocasionadas por *Alternaria alternata* son marrones oscuras con centro gris, y las depresiones se distribuyen en el ápice de las hojas (Kamalakaran *et al.* 2008)

Las enfermedades causadas por *Alternaria* aparecen con mayor frecuencia sobre tejidos senescentes y plantas con poco vigor, nutrición deficiente o condiciones ambientales desfavorables (Domsh *et al.*, 1980). También producen toxinas que alteran el tejido de la planta hospedera, existiendo evidencia de que el éxito del hongo es un efecto combinado de toxinas y enzimas pectolíticas y proteolíticas (Roberts y Boothroyd, 1975).

Estas toxinas son sustancias que dañan a las células hospederas al afectar la permeabilidad de la pared, la membrana celular también es afectada al inactivar o inhibir a las enzimas e interrumpir posteriormente sus reacciones enzimáticas correspondientes. Estas sustancias tóxicas que producen los fitopatógenos ocasionan el síndrome de la enfermedad o parte de él, no sólo en las plantas que infectan, sino también en otras especies vegetales que por lo común no son atacadas por el patógeno en la naturaleza (Agrios, 2005).

En la India, Amruta y Purushottam (2007) encontraron una disminución significativa de la capacidad de reducción de ciertos radicales libres, como el radical superóxido e hidróxilo en gel de hojas de *Aloe vera* infectadas por *Alternaria alternata*. Los radicales superóxido e hidróxilo son los principales radicales libres que ocasionan daño a nivel celular, por lo que se favorece la penetración, invasión y crecimiento del hongo fitopatógeno en el interior de la célula vegetal. Igualmente en las hojas de *A. vera* ocurrió una disminución en el contenido de polifenoles y flavonoides que tienen una importancia principal, ya que éstos actúan como agentes antioxidantes, protegiendo a la célula de la acción de los radicales libres, estos eventos posibilitan

la aparición de un estado de estrés en la planta y por consiguiente la aparición de enfermedades.

En cuanto a las plantas inoculadas con la especie *Bipolaris hawaiiensis*, éstas mostraron una menor severidad de daños foliares comparado con los daños ocasionados por la especie *Alternaria longipes*. La caracterización de los síntomas foliares mostrados por las plantas de *Aloe vera* en este estudio fueron bastante parecidos a la sintomatología causada por *Bipolaris gigantea* en cultivos de banano, en el cual también se observaron manchas foliares de color rojo-púrpura que reducen la capacidad fotosintética de la planta y afecta la calidad y rendimiento del fruto (Weber, 1973). El género *Bipolaris* se encuentra ampliamente distribuido por todo el mundo, reportándose como fitopatógeno importante de la familia de las gramíneas (Ellis, 1971). También es causante de manchas foliares y tizones en cultivos de limón (*Citrus limon*), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), arroz (*Oryza sativa*), maíz (*Zea mays*), a las que ocasionan manchas de color rojo a rojo-marrón y algunas de las cuales llegan a ser coalescentes (Domsh *et al.*, 1980).

Un factor importante a tener en cuenta en la inducción de daños en plantas sanas es la cantidad de inóculo empleado, debido a que puede haber una sobreestimación de la resistencia con dosis demasiado bajas (Niks y Lindhout, 1998). En este sentido, es posible que la cantidad de inóculo empleado para infectar a plantas sanas de *Aloe vera* con *Bipolaris hawaiiensis* no haya sido suficiente para provocar daños foliares severos, a diferencia de lo observado con la especie *Alternaria longipes*; o que este mismo inóculo se encontraba en estado latente por lo cual requería un tiempo algo prolongado antes de germinar e infectar a las plantas de *A. vera*. En este estado de latencia posiblemente estén envueltos factores físico-químicos, ya que la germinación del hongo puede ser inhibida por ciertos factores, tales como: la falta o carencia de nutrientes esenciales en el suelo para que el inóculo pueda germinar y desarrollarse, igualmente el desarrollo de microorganismos antagonistas en el suelo y excreciones radicales en las plantas que pueden estimular o inhibir la germinación del inóculo (National Academy of Sciences, 1968).

Otros factores que afectan la germinación y dimensión de los conidios de las especies del género *Bipolaris* son el medio de cultivo empleado para el desarrollo de los conidios, la edad de ese cultivo y la temperatura. El hecho de haber empleado Agar papa dextrosa, cultivos de 12 días de edad y bajo condiciones de temperatura no controladas pudieron incidir en la disminución de la capacidad fitopatógena de la especie *Bipolaris hawaiiensis* en plantas de *A. vera* a nivel de umbráculo, ya que generalmente, los conidios del género *Bipolaris* se desarrollan mejor en Agar Extracto de Malta, de 7 días de edad y a 15-22 °C (Ruppel, 1993); bajo estas condiciones los conidios de las especies de *Bipolaris* tienen una mayor longitud y por lo que la efectividad de la germinación aumenta.

Otra causa que podría haber influido en la menor severidad de daños ocasionados por *Bipolaris*, son las condiciones del medio ambiente especialmente la temperatura y humedad relativa, ya que las plantas sanas estaban colocadas en invernaderos donde las condiciones ambientales fueron controladas, y como se conoce, el efecto de una determinada enfermedad es el resultado de la influencia del medio ambiente sobre el desarrollo y la susceptibilidad del hospedero, la propagación y actividad del hongo y su efecto en el desarrollo de los síntomas de la enfermedad (Parlevliet, 1981; Agrios, 2005), por lo cual el hongo posiblemente no encontró las condiciones necesarias para afectar de manera considerable a las planta inoculadas como lo fue para *A. longipes*. No obstante, la especie *Bipolaris hawaiiensis* cumplió con los postulados de Koch, ocasionando daños en plantas sanas, en las que se reaisló el hongo con las mismas características macro y microscópicas de los aislamientos previos.

Otro aspecto a tomar en cuenta es que la mayoría de los reportes consultados consideran a los hongos del género *Bipolaris* como fitopatógenos importantes en la familia de las gramíneas, pero en otros cultivos se les califica como fitopatógenos débiles (Rodríguez y Nass, 1991, Agrios, 2005), esto no significa que esta especie fúngica no sea patógena en cultivos de *Aloe vera*, ya que como se comentó anteriormente *Bipolaris hawaiiensis*, cumplió con los postulados de Koch, ocasionando en las plantas sanas de *Aloe vera* la misma sintomatología (manchas

foliares de color purpura), observadas en las plantas enfermas de la población de Manicuaire.

Las otras dos especies fúngicas inoculadas, *Aspergillus fumigatus* y el hongo dimórfico, no indujeron ningún tipo de daño foliar. Es conocido que las especies del género *Aspergillus* son contaminantes comunes de varios sustratos debido a su amplio rango de distribución, especialmente en regiones subtropicales y tropicales donde alcanzan una alta ocurrencia (Samson, 1995), igualmente son abundantes en suelos cultivados (Gravesen *et al.*, 1994), soportan un amplio rango de temperatura 17- 48°C y son tolerantes a suelos con altas cantidades de sodio (Domsh *et al.*, 1980).

Los hongos dimórficos, tienen interés clínico ya que son causantes de micosis humana (blastomicosis, histoplasmosis, esporotricosis) (Koneman, 1990) y no se ha reportado que produzcan daños a algún tipo de cultivo en particular, por lo que a pesar de que esta especie y *A. fumigatus* fueron aisladas de las sintomatologías mostradas por las plantas a nivel del campo, no fueron aisladas de las plantas que presentaron daños foliares a nivel del umbráculo; además es importante destacar que se aislaron junto con las otras dos especies de hongos que sí causaron daños foliares en las plantas sanas, por lo que se confirma que el hongo dimórfico y *Aspergillus fumigatus* no son hongos fitopatógenos en *Aloe vera* sino más bien oportunistas.

Generalmente, los hongos oportunistas difieren en la forma de ingresar al hospedero ya que una vez que el o los hongos patógenos secretan sus toxinas y degradan las células debilitando a la planta hospedera, se facilita la penetración y diseminación de los hongos no fitopatógenos u oportunistas que encuentran en el tejido una fuente rica en materia orgánica para desarrollar su ciclo vital (Agrios, 2005). Esto puede justificar la presencia de estos hongos (*A. fumigatus* y el hongo dimórfico) en las hojas enfermas de *Aloe vera*.

En la tabla 4 se comparan los índices de severidad de daños foliares mostrados por dos tipos de plantas de *Aloe vera*. Las plantas jóvenes mostraron un mayor índice de severidad que las plantas adultas.

Tabla 4. Comparación del Índice de Severidad de daños foliares mostrados por dos tipos de plantas de *Aloe vera*.

Tipos de Plantas	N	Media	¹ Grupos homogéneos
Plantas Adultas	32	0,0573	A
Plantas Jóvenes	32	0,2187	B

N: Representa el número de unidades experimentales por tratamientos.

¹ Letras iguales indican promedios estadísticamente similares ($p > 0,05$).

Las plantas jóvenes mostraron un índice de severidad de leve a moderado, pero algunas hojas presentaron síntomas de necrosamiento foliar (daño severo), estos síntomas se iniciaron desde el centro de la lámina foliar, produciendo el colapso de las hojas y posterior muerte de la planta. Esta sintomatología fue mostrada principalmente por las plantas inoculadas con la especie *A. longipes*. Las plantas adultas mostraron un índice de severidad leve, encontrándose muy pocas hojas con daño severo, ésto posiblemente se deba a que en las plantas adultas se esté expresando algún tipo de mecanismo de defensa (estructural, genético, bioquímico-fisiológico) que les permite ser más resistentes a la presencia del fitopatógeno (Parlevliet, 1981).

La resistencia es la capacidad inherente de una planta para prevenir o restringir la entrada o subsecuente actividad de un agente patógeno cuando la planta está expuesta a condiciones ambientales favorables para que un inóculo de un patógeno pueda causar una enfermedad; por lo que una planta hospedera individual puede tener varios mecanismos de resistencia, operando contra un patógeno simple o contra un grupo de patógenos relacionados. Estos mecanismos se expresan en un menor grado o no se expresan en las plantas jóvenes, haciéndolas más susceptibles a la presencia de las especies fúngicas (National Academy of Sciences, 1968).

A nivel estructural, algunas defensas ya están presentes en las plantas que obstaculizan el avance del patógeno, como la cantidad y calidad de la cera y la cutícula que cubren las células epidérmicas, las estructuras de las paredes celulares, el

tamaño, localización y forma de los estomas y lenticelas (Agris, 2005). A nivel genético, este tipo de resistencia en las plantas generalmente está controlado por uno o varios genes que actúan contra el ataque de los patógenos; este tipo de resistencia se denomina monogénica u oligogénica y la planta actúa desarrollando una reacción de hipersensibilidad, donde las células experimentan varios procesos bioquímicos-fisiológicos como la producción de compuestos fenólicos, fitoalexinas, enzimas hidrolíticas, disminución de la permeabilidad de la membrana celular que ocasiona la necrosis de las células infectadas y de las que la rodean; así como de los patógenos que se encuentran dentro del área necrótica (Parlevliet, 1981).

En la tabla 5 se muestra el análisis de varianza múltiple de la incidencia de daños foliares, encontrándose diferencias significativas para las cuatro especies fúngicas (Fs: 8,356; $p < 0.05$). En las otras fuentes de variación (edad de la planta y forma de inoculación) no se encontraron diferencias significativas. La prueba *a posteriori* de Duncan (Tabla 6) mostró que *A. longipes* fue el hongo de mayor incidencia presente en las plantas sanas; mientras que las otras especies fúngicas tuvieron un mismo comportamiento.

Tabla 5. Análisis de varianza múltiple (ANOVA) de la incidencia de los daños foliares de cuatro especies fúngicas, inoculadas en plantas de *Aloe vera*, en dos tipos de plantas: jóvenes (J) y adultas (A), empleando dos formas de inoculación: sin raspado (SR) y con raspado (CR).

Fuente de variación	g.l.	Sumas cuadráticas	Medias cuadráticas	FS
Entre bloques	3	406,23	135,41	1,45 NS
Tipo de planta	1	274,53	274,53	2,96 NS
Formas de inoculación	1	168,70	168,70	1,82 NS
Especies fúngicas	3	232,64	77,62	8,36*
Error	55	5 109,07	92,89	
Total	63	8 287,18		

La incidencia fue obtenida a partir de la transformación de los datos usando Arc Sen ($\sqrt{p/100+0.25}$).

g.l.: grados de libertad.

*: Diferencias significativas ($p < 0,05$).

NS: Diferencias no significativas ($p > 0,05$).

A pesar de que la especie *B. hawaiiensis* tuvo un índice de severidad mayor que las especies *A. fumigatus* y el hongo dimórfico (no fitopatógeno), la incidencia de daños ocasionados por esta especie fue tan baja, que su valor correspondió estadísticamente con las especies fúngicas que no provocaron ningún tipo de daños en las plantas de *Aloe vera*.

Tabla 6. Análisis de rango múltiple (Duncan) de la incidencia de daños foliares en plantas de *Aloe vera*, producidas por cuatro especies fúngicas.

Especies fúngicas	N	Media	Grupos ¹ homogéneos
Hongo dimorfo	16	0,000	A
<i>Aspergillus fumigatus</i>	16	0,000	A
<i>Bipolaris hawaiiensis</i>	16	7,20	A
<i>Alternaria longipes</i>	16	21,44	B

¹ Letras iguales indican promedios estadísticamente similares ($p > 0,05$).

N: Representa el número de unidades experimentales por tratamientos.

A partir de un análisis complementario de la incidencia de daños foliares (expresado en %), realizado para *Alternaria longipes* y *Bipolaris hawaiiensis*, se encontró que para *Alternaria longipes* de 16 plantas y 48 hojas que fueron inoculadas con esta especie, 11 plantas y 29 hojas mostraron síntomas de daños foliares, representando un 68,75 y 60% respectivamente de incidencia de daños ocasionados por *A. longipes*. Para *Bipolaris hawaiiensis* de 16 plantas y 48 hojas inoculadas con esta especie, 10 plantas y 19 hojas mostraron daños foliares, lo que representó un 62,5 y 39,6% respectivamente de incidencia de daños inducidos por *B. hawaiiensis*.

En cuanto a las formas de inoculación de las especies fúngicas, el índice de severidad y la incidencia de daños no fue significativa (tabla 5), por lo que los hongos fitopatógenos pudieron emplear diferentes mecanismos para ingresar al interior de la planta, ya sea por las aberturas naturales de las mismas (estomas). Otros hongos pueden penetrar directamente a través de la superficie intacta de la planta por medio de tubos germinativos, de apresorios o agregados hifales, a través de la acción de enzimas como las cutinasas, esterases, celulasas y pectinasas que alteran la superficie vegetal, facilitando su adherencia y penetración al interior de la célula vegetal y posterior disseminación. Estas enzimas que degradan el tejido vegetal están presentes tanto en las especies del género *Alternaria* como en *Bipolaris* (Rivera y Escobar, 2001). También pueden ingresar al interior de la planta por las heridas provocadas a las hojas en las inoculaciones (con raspado superficial), demostrando que la severidad e incidencia de los hongos en las plantas fue indiferente al modo de penetración.

Otros mecanismos de patogénesis empleados por hongos fitopatógenos consisten en la producción y liberación de compuestos hormonales, antihormonales y otros que producen una interferencia en el control normal del crecimiento y desarrollo de la planta. Igualmente, la interferencia mecánica que provoca el crecimiento del hongo en el movimiento normal del agua, nutrientes y metabolitos (Rivera y Escobar, 2001). En cuanto a la incidencia de daños foliares en plantas jóvenes y adultas (Tabla 5), no se encontraron diferencias significativas. Esto significa que el porcentaje de plantas afectadas en función del índice de severidad fue similar, indicando que tanto los tejidos en crecimiento como los diferenciados fueron igualmente afectados por *B. hawaiiensis* y *A. longipes*. Posiblemente esto se deba a que las especies fitopatógenas encontraron condiciones adecuadas para estar presentes en ambos tejidos, aunque el índice de severidad de daño foliar fue mayor en plantas jóvenes.

En el presente estudio la principal especie fitopatógena fue *Alternaria longipes*, debido a que las plantas inoculadas con esta especie fueron las que mostraron una mayor severidad de daños foliares, incluso algunas plantas murieron durante el experimento.

CONCLUSIONES

Se aislaron e identificaron cuatro especies fúngicas, (*Alternaria longipes*, *Bipolaris hawaiiensis*, *Aspergillus fumigatus* y un hongo dimórfico) asociadas a manchas y necrosamiento foliar en cultivos de *Aloe vera* en Manicuaire, Península de Araya.

De acuerdo a los postulados de Koch, la especie *A. longipes* es el agente causal de manchas rosadas y posterior necrosamiento foliar en hojas de *A. vera* a nivel umbráculo. Mientras que *B. hawaiiensis* fue la causante de manchas púrpuras en hojas de *A. vera* a nivel umbráculo.

Alternaria longipes, produjo una mayor severidad de daños foliares en las plantas sanas de *Aloe vera*, seguida de la especie *Bipolaris hawaiiensis*. Las otras 2 especies se consideran no fitopatógenas u oportunistas.

Las plantas jóvenes inoculadas con *A. longipes* y *B. hawaiiensis* mostraron una mayor severidad de daños foliares que las plantas adultas.

Alternaria longipes ocasionó la mayor incidencia de daños foliares en las plantas de *Aloe vera*, confirmándose como el principal hongo fitopatógeno del presente estudio.

La severidad y incidencia de los daños ocasionado por los hongos fue indiferente a los dos tipos de inoculación empleados.

RECOMENDACIONES

Debido a la presencia de otras sintomatologías de enfermedades en cultivos de *Aloe vera* en la población de Manicuaire, sería interesante realizar un monitoreo de estos cultivos y para identificar la presencia de otros fitopatógenos.

Realizar inoculaciones distintas al raspado y aspersion del inóculo, como el uso de porciones de micelio de los hongos patógenos colocados en contacto con el tejido foliar de las plantas de *A. vera* y hacer comparaciones de las metodologías para cuantificar los posibles daños en las plantas inoculadas.

En vista de que la presente investigación empleó tejido foliar aéreo (hojas), se recomienda tomar muestras del suelo con la finalidad de encontrar posibles hongos fitopatógenos presentes o afines en él.

BIBLIOGRAFIA

- Agrios, G. 2005. *Fitopatología*. 5^{ta} ed. Edit. Limusa. México, D. F.
- Alexopoulos, J. 1980. *Introducción a la Micología*. Edit. Universitaria. Buenos Aires.
- Alvarado, C. 2007. Trabajo de investigaciones: diagnósticos de enfermedades fungosas en el cultivo de zábila bajo condiciones de riego y sin riego en el sector pueblo Nuevo Mcpio Colina del Edo. Falcón. URL: <http://www.investigación.Unefm.Edu.ve/index.php?option=com_booklibrary&task=view&catid=201%itemid=59> (24/04/2007).
- Amruta, P. y Purushottam, G. 2007. Alteration in the antioxidant potential of *Aloe vera* due to fungal infection. *Plant Pathology Journal*, 6 (2) 169-173.
- Añez, B. y Vasquez, J. 2005. Efecto de la densidad de población sobre el crecimiento y rendimiento de las zábila (*Aloe barbadensis* Mill.) *Revista Facultad de Agronomía*, 22: 1-12.
- Akhtar , K.; Saleem, M. y Asghar, M. 2004. New report of *Alternaria alternata* causing leaf blight of tomato in Pakistan. *Plant pathology*. 53: 816-817.
- Barnett, H. y Hunter, B. 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 3^{era} ed. Burgess Company.
- Belmont, A. 1992. *Identificación de hongos fitopatógenos*. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo integral Regional Unidad Oaxaca.
- Bravo, S. y Santos, R. 1991. Hongos patógenos en cultivos no tradicionales (Sábila, Pimienta, Mamón, Granada). Memorias IV Jornada Científico Tecnológica de la Facultad de Agronomía. URL: <http://www.redpav.fpolar.info.ve/fagroluz/vo8_4/0804z010.html> (07/06/2000)
- Bugnicourt, M. 1955. Deux especes nouvelles d' *Helminthosporium* isolees de semences de riz. *Review Genetic Botany*, 53: 816-817.
- Catedra de Fitopatologia. 1989. Universidad Central de Venezuela. Facultad de agronomía. Departamento de Botánica. Maracay. Venezuela.
- Carter, S. 1994. *Flora of Tropical east Africa; Aloaceae*. Royal Botanic Gardens, Kew. Edit. Polhill. Rotterdam. Netherlands.

- Casas, R. 1989. *Micología general*. Caracas: Universidad Central de Venezuela, Ediciones de la Biblioteca.
- De Laat, P., Verhoeven, J. y Jansen, J. 1994. Bacterial leaf rot of *Aloe vera* L., caused by *Erwinia chrysantemi* biovar 3. *European Journal of Plant Pathology*, 100 (5): 81-84.
- Díaz, M. 2001. Ecología experimental y ecofisiología: bases para el uso sostenible de los recursos naturales de las zonas áridas neotropicales. *Interciencia*, 26 (10): 472- 478.
- Domsch, K.; Gams, W. y Anderson, T. 1980. *Compendium of soil fungi*. Academic press, London. Vol. 2.
- Ellis, M. 1971. *Dermatiaceous Hyphomycetes*. England, Commonwealth Mycological Institute.
- García, M. 1975. *Patología Vegetal Práctica*. Edit. Limusa. México.
- Gravesen, S.; Frisvad, J. y Samson, R. 1994. *Microfungi*. Edit Munksgaard. Denmark.
- Gupta, S. y Masood, A. 2003. Leaf spot disease of Indian *Aloe* (*Aloe vera* Linn.Syn. *Aloe barbadensis* Mill.) caused by *Alternaria alternata*. *Emergency trends Indian medicals plants*, 15-16.
- Hernández, Y.; Trujillo, G. y Muñoz, C. 1999. Pudrición bacteriana de plantas de sábila. *XVI Congreso Venezolano de Fitopatología*. Barquisimeto. Pag. 23.
- Imery, J. 2008. Cultivo de sábila (*Aloe vera*) en el oriente venezolano: problemas y remediaciones. I taller sobre cultivo de sábila. Universidad de Magdalena. Colombia. URL: <<http://www.joseimeryconferenciasantamarta.blogspot.com>> (10/01/2009).
- Isakeit, T. 1996. Disease descriptions in *Aloe barbadensis* Mill. TAEX Weslaco. U.S.A.U.R.L.:<<http://www//cygnus.tamu.edu/Textlab/Fiber/Aloe/aloetop.html>> (29/9/2000).
- Ito, S.1930. On some new ascigerous stage of the species of *Helminthosporium* parasitic on cereal. *Mycologia*, 6: 352-355.

- Jauch, C. 1985. *Patología vegetal*. Edit. El Ateneo. 3^{ra}. ed. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Argentina.
- Kamalakaran, A.; Gopalakrishnan, C.; Renuka, R.; Kalpana, K.; Ladha, D. y Valluvaparidasan, V. 2008. First report of *Alternaria alternata* causing leaf spot on *Aloe barbadensis* in India. *Australian plant disease notes*, 3: 110-111.
- Kishi, K.; Furukawa, T. y Aoki, T. 1999. Purple spot of *Aloe* (*Aloe arborescens* Mill.) caused by *Fusarium phyllophilum* Nirenberg et O' Donnell (New Disease). *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 65 (6): 576-587.
- Kollar, A. 1997. Present research on the most important pathogen of apple, the apple scab fungus *Venturia inaequalis*. *Plant Research and Development*, 46 (4): 88-98.
- Koneman, J. 1990. *Identificación de hongos fitopatógenos*. Edit. Panamericana. Buenos Aires.
- Lugo, Z. 1999. Zábila: Enfermedades y Control. *Fonaiap. Divulga*, Julio-Septiembre. 63: 20-21.
- Lugo, Z., Tua, D. y Naveda, M. 2005. El cultivo de la zábila en Venezuela: Costos de producción para el acibar. Ceniap Hoy. Enero-Abril. 2005. Maracay. <<http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n7/lugoz/arti/lugoz.htm>> (20/04/2006).
- Mandal, K. y Maiti, S. 2005. Bacterial soft rot of *Aloe* caused by *Pectobacterium chrysanthemi*: a new report from India. New Disease Report. *Plant Pathology*, 54: 573.
- Mcclymont, D. 1989. Pest and disease of Aloes in Zimbabwe. *Excelsa*, 14: 100-105.
- Mcdowell, C. 1991. Pest, disease and their control. *Aloe*, 28 (2):42-51.
- Montes, R. 1992. *Identificación de hongos fitopatógenos*. Centro interdisciplinario de investigación para el desarrollo integral regional. Unidad Oaxaca. México.
- Motohashi, K.; Aoki, T. y Kobayashi, T. 2007. Foot root disease of *Aloe* spp. caused by *Fusarium dimerum* Penzing var. *dimerum*, a new disease. *Japan Journal Phytopathology*, 4 (73): 303-304.
- National Academy of Sciences. 1968. *Plant disease development and control*. Washington, U.S.A.

- Niks, R. y Lindhout, W. 1998. *Curso sobre mejoramiento para la resistencia contra enfermedades y plagas*. Preduza. Quito, Ecuador.
- Nobel, P. y Linton, M. 1998 Frecuencias, microclimate and root properties for tree codominant perennials in the North vs South facing lopes on the Sonoran Desert. *Annals of Botany*, 80 (4): 731-739.
- Parlevliet, J. 1981. Race non-specific disease resistance. *Blackwell-Scientific Publication*. England, 47-54.
- Riddell, R. 1950. Permanent stained Mycological preparation obtained by slide culture. *Mycologia*, 42: 731-739.
- Rivera, M. y Escobar, J. 2001. Mecanismos de infección de los hongos fitopatógenos. <<http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/ENCUE NTROS36/fitopatogenos.html>> (18/11/2001).
- Roberts, D. y Boothroyd, C. 1975. *Fundamentals of plants pathology*. Freeman and Company. San Francisco, U.S.A.
- Rodriguez, H. y Nass H. 1991. Las enfermedades del arroz y su control. *Fonaiap*, 35 Enero- marzo. 33-36.
- Ruppel, E. 1993. Factors affecting conidial dimensions of a *Drechslera* species. *Mycologia*, 69: 803-806.
- Samson, R. 1995. *Introduccion to food-borne fungi*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.
- Seidel, P. 1996 Tolerance responses of plants to stress, the unused reserve in plant protección. *Plant Research and Development*, 44 (2): 81-99.
- Shoemaker, R. 1959. Nomenclature of *Drechslera* and *Bipolaris*, segregated from *Helminthosporium*. *Canadian Journal of Botany*, 37: 879-887.
- Sokal, R. y Rohlf, J. 1979. *Biometría*. Ed. H. Blume. Madrid.
- Thrall, P. y Burdon, J. 1997. Host pathogen dynamics in a metapopulation context: the ecological and evolutionary consequences of being spatial. *Journal of Ecology*, 85 (3): 743-753.

- Tortolero, O. y Carrasco, A. 2000. *Diagnóstico de enfermedades en cultivos comerciales de Venezuela*. Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto.
- Tsuda, M. y Ueyama, A. 1981. *Pseudocochliobolus australensis*, the ascigerous state of *Bipolaris australensis*. *Mycologia*, 73: 88-97.
- Vega, A.; Ampuero, C.; Diaz, I. y Lemus, R. 2005. El *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Mill.) como componente de alimentos funcionales. *Revista Chilena de Nutrición*, 32 (3): 79-82.
- Weber, G. 1973. *Bacterial and fungal diseases of plants in the tropics*. University of Florida, U.S.A.
- Wehlburg, C., Alfieri, S., Langdon, K., y Kimbrough, J. 1975. *Index of plant diseases in Florida*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services. Bulletin 11. 285.

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	Aislamiento, identificación y patogenicidad de hongos asociados a manchas y necrosamiento foliar en cultivos de sábila (<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.) de la Península de Araya, Venezuela
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Riera S., Lisandro E.	CVLAC	10.950.068
	e-mail	lisriera@yahoo.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Aloe vera, necrosamiento, hongos, sábila.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Biología

Resumen (abstract):

Actualmente los cultivos de sábila de la población de Manicuaire han mostrado síntomas de necrosamiento foliar asociados a hongos, que provocan la muerte de las plantas. En este estudio se aislaron e identificaron especies de hongos asociadas a manchas y necrosamiento foliar en plantas de *Aloe vera*, además de determinar la severidad e incidencia de daños foliares. Se tomaron muestras de hojas que presentaban síntomas de necrosamiento y manchas, que fueron transportadas al laboratorio donde se realizaron pequeños cortes de tejidos, se colocaron en hipoclorito de sodio al 2%, se enjuagaron con agua destilada estéril, se secaron y finalmente se sembraron en agar papa dextrosa (PDA). Una vez obtenidas las colonias puras, se realizó la identificación de las cepas con el uso de claves taxonómicas específicas. Finalmente se prepararon los inóculos de cada cepa purificada en plantas sanas empleando dos tipos de plantas y dos formas de inoculación. Se aislaron cuatro especies fúngicas: 1 colonia de crecimiento rápido, conidióforos simples y ramificados, conidios fusiformes y pseudoseptados, perteneciente a la especie *Bipolaris hawaiiensis*. 2 colonias de crecimiento rápido, conidióforos simples e hialinos, conidios dispuestos en racimo, perteneciente a un hongo dimórfico. 3 colonia de crecimiento rápido, conidióforos simples, conidios en forma de raqueta de tenis con septos transversales y longitudinales, perteneciente a la especie *Alternaria longipes*. 4 colonia de crecimiento rápido, conidióforos con tallo alargado y conidios dispuestos en forma radiada, esféricos y equinulados, perteneciente a la especie *Aspergillus fumigatus*. En cuanto al índice de severidad de daños foliares, se encontraron diferencias significativas en el tipo de planta, siendo las plantas jóvenes las que mostraron una mayor severidad de daños. En las especies fúngicas, la especie *Alternaria longipes* produjo una mayor severidad de daños foliares, seguida de la especie *Bipolaris hawaiiensis*. En la incidencia de daños foliares, solo hubo diferencias significativas en las especies fúngicas inoculadas, siendo la especie *Alternaria longipes* la de mayor incidencia de daños foliares. De los cuatro hongos aislados solamente el género *Alternaria* ha sido reportado en cultivos de *Aloe*.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6
Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Imerys B., José.	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input checked="" type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	jimeryb@cantv.net
	e-mail	
Veliz, José A.	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	jveliz@gmail.com
	e-mail	
Mimbela, Isabel	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2011	03	14

Lenguaje: **SPA**

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-RieraLisandro.doc	Application/Word

Alcance:

Espacial : Nacional (Opcional)

Temporal: Temporal (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

LICENCIADO EN BIOLOGIA

Nivel Asociado con el Trabajo:

LICENCIADO

Área de Estudio:

BIOLOGIA

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

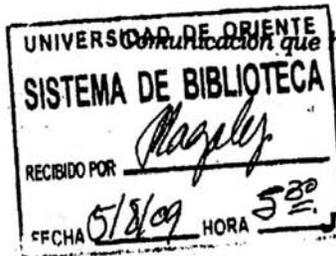
Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLAÑOS CUNTELO
Secretario

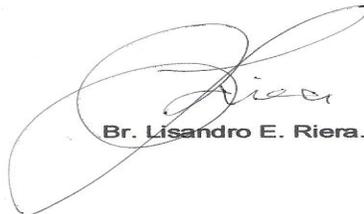


C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

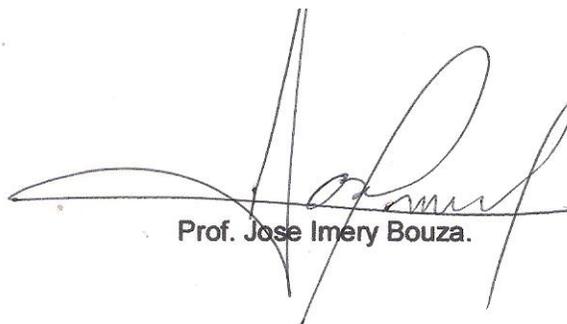
Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009): “Los trabajos de grados son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y solo podrá ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Concejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Concejo Universitario, para su autorización”.



Br. Lisandro E. Riera.

AUTOR



Prof. Jose Imery Bouza.

TUTOR