



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES

CARRERA DE AGRONOMÍA

“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LA MICROBIOTA CULTIVABLE ASOCIADA CON LA FILOSFERA DE DIEZ INDIVIDUOS DE CAPULÍ (*Prunus serotina* Mc Vaugh) EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de investigación

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERA AGRÓNOMA

AUTORA: JENEVITH ALEXANDRA CUADRADO ANDRADE

DIRECTOR: Ing. FERNANDO JOSÉ RIVAS FIGUEROA Ph.D

Riobamba – Ecuador

2021

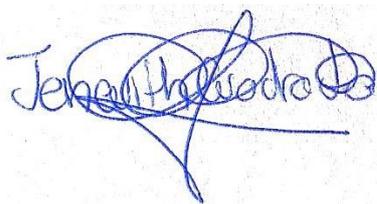
© 2021, Jenevith Alexandra Cuadrado Andrade

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho del Autor.

Yo, Jenevith Alexandra Cuadrado Andrade, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 20 de Septiembre de 2021



Jenevith Alexandra Cuadrado Andrade

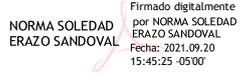
CI: 0603946195

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de titulación; Tipo: Proyecto de Investigación “AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LA MICROBIOTA CULTIVABLE ASOCIADA CON LA FILOSFERA DE DIEZ INDIVIDUOS DE CAPULÍ (*Prunus serotina* Mg Vaugh) EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO”, realizado por la señorita: JENEVITH ALEXANDRA CUADRADO ANDRADE, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

| | FIRMA | FECHA |
|---|---|------------|
| Dra. Norma Erazo Sandoval PRESIDENTE DEL TRIBUNAL |  Firmado digitalmente por NORMA SOLEDAD ERAZO SANDOVAL Fecha: 2021.09.20 15:45:25 -05'00' | 2021-09-20 |
| Dr. Fernando Rivas Figueroa DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN |  Firmado electrónicamente por: FERNANDO JOSE RIVAS FIGUEROA | 2021-09-20 |
| Dr. Juan Eduardo León Ruiz MIEMBRO DEL TRIBUNAL |  Firmado digitalmente por JUAN EDUARDO LEÓN RUIZ DN: cn=JUAN EDUARDO LEÓN RUIZ, o=EC+SECURITY DATA S.A., ou=IDENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION Motivo Soy el autor de este documento Ubicación Fecha 2021-09-20 21:17:05:00 | 2021-09-20 |

DEDICATORIA

A Dios por permitirme culminar con esta etapa tan importante en mi vida en compañía de gente maravillosa.

A toda mi familia por siempre apoyarme, guiarme, cuidarme, nunca dejarme sola en los días oscuros siendo mi rayito de luz.

A mi Juanito por ser un gran compañero de vida.

A mis amigos, amigas, a todas personas buenas que han pasado por mi vida y contribuyeron de alguna manera en mi formación.

Jenevith Alexandra.

AGRADECIMIENTO

A Dios por cada día que me permite seguir luchando por mis objetivos, regalarme las mejores personas en mi vida y cuidarme ante todas las adversidades.

A mi papito Segundo, mis mamitas Lali y Tere que han tenido siempre una palabra de aliento en mis días grises, siendo mi apoyo en los días cansados y mi bendición más grande en el mundo, llenándome la vida con su dulzura, cariño y amor infinito.

A mi papá Frank y mami Moni por ser mi ancla, mi guía en el camino y las personas que enderezan con profundo amor mi ruta para ser una mujer de bien.

A mis tíos Freddy, Rodri, Ceci, Jesu, Jeisis, Maggy, por estar a mi lado y ayudarme de cualquier forma para que todo sea menos complicado en mí día a día.

A todos mis chiquitos Eli, Gemma, Marvin, Kike, Fredisu, Naye, Lauri, Josu por ser mis cómplices, mi alegría y mis ayudantes más fieles cuando lo he necesitado.

A mi amorcito por siempre tener una palabra de aliento, motivarme cada día y ser mi compañero fiel para todo.

Al grandioso proyecto del cual soy parte, su director Ing. Juan Carlos, el gran equipo de trabajo Feli y Caro por siempre sumar a mi vida con su predisposición.

A mis amigos más cercanos José, Erma, Byron, Oscar, Fichu, Paúl, Robin, Niki, Tati, por todos los momentos compartidos.

A mi director Ing. Fernando Rivas por ser un excelente profesional, por direccionar mi tesis de la mejor forma y a la vez por su calidad como persona. A mi asesor Ing. Juan León por su acción como buen profesor y colaborar con su amplio conocimiento durante mi formación profesional.

Jenevith Alexandra Cuadrado Andrade.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|-----|
| RESUMEN..... | xvi |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| OBJETIVOS..... | 2 |
| HIPÓTESIS..... | 2 |
| CAPÍTULO I..... | 3 |
| 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL..... | 3 |
| 1.1 Características botánicas..... | 3 |
| 1.1.1 Origen y distribución..... | 3 |
| 1.1.2 Taxonomía..... | 3 |
| 1.1.3 Descripción de la especie..... | 3 |
| 1.2 Etnobotánica..... | 4 |
| 1.3 Técnicas de aislamiento utilizadas para comunidades fúngicas de la filosfera de plantas..... | 5 |
| 1.3.1 Aislamiento a partir de tejido vegetal..... | 5 |
| 1.3.2 Aislamiento indirecto usando cámara húmeda..... | 6 |
| 1.4 Microbiota de la filosfera en plantas..... | 7 |
| 1.4.1 Hongos Saprófitos..... | 8 |
| 1.4.2 Hongos Endófitos..... | 8 |
| 1.5 Técnicas utilizadas para la identificación de comunidades fúngicas asociada con la filosfera de plantas..... | 9 |
| 1.5.1 Claves dicotómicas de género..... | 9 |
| 1.6 Caracterización funcional de comunidades fúngicas asociadas con filosfera..... | 10 |
| 1.6.1 Descripción macroscópica de las colonias..... | 10 |
| 1.6.2 Velocidad de crecimiento radial (VCR)..... | 11 |
| 1.6.3 Claves de color Pantone..... | 11 |
| 1.7 Índices biológicos..... | 12 |
| 1.7.1 Índice de riqueza específica..... | 12 |
| 1.7.2 Índice de abundancia proporcional..... | 12 |
| CAPÍTULO II:..... | 14 |
| 2. MARCO METODOLÓGICO..... | 14 |

| | | |
|-----------------------|---|----|
| 2.1 | Ubicación de las muestras | 14 |
| 2.1.1 | Descripción de las ubicaciones | 14 |
| 2.1.2 | Georreferenciación..... | 15 |
| 2.2 | Materiales y equipos | 16 |
| 2.1.1 | Materiales de campo | 16 |
| 2.1.2 | Equipos de campo | 16 |
| 2.1.3 | Material biológico | 16 |
| 2.1.4 | Materiales de laboratorio..... | 16 |
| 2.1.5 | Equipos de laboratorio | 16 |
| 2.1.6 | Reactivos e insumos..... | 16 |
| 2.3 | Metodología..... | 16 |
| 2.3.1 | Muestreo..... | 16 |
| 2.3.2 | Colecta y traslado..... | 17 |
| 2.3.3 | Procesamiento..... | 17 |
| 2.3.4 | Conservación de morfotipos | 18 |
| 2.3.5 | Identificación de morfotipos..... | 18 |
| CAPÍTULO III: | | 20 |
| 3. | MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 20 |
| 3.1 | Caracterización cultural de los aislados de hojas..... | 20 |
| 3.1.1 | Crecimientos radiales obtenidos de los morfotipos identificados | 20 |
| 3.1.1 | Identificación y descripción de microorganismos fúngicos obtenidos a partir de hojas sanas | 37 |
| 3.1.2 | Identificación y descripción de microorganismos fúngicos obtenidos a partir de hojas enfermas..... | 62 |
| 3.2 | Diversidad de la microbiota cultivada asociada con la filosfera de individuos de capulí (<i>P. serotina</i> Mc Vaugh). | 73 |
| 3.3.1 | Índice de Margalef (Riqueza específica)..... | 73 |
| 3.3.2 | Índice de Simpson (Dominancia)..... | 75 |
| 3.3.3 | Índice de Shannon-Wiener (Equidad) | 77 |
| CONCLUSIONES | | 79 |
| RECOMENDACIONES | | 80 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1-2: Puntos de las coordenadas de las muestras recolectadas. | 14 |
| Tabla 1-3: Características culturales de los morfotipos identificados como <i>Penicillium</i> spp..... | 37 |
| Tabla 2-3: Características culturales de los morfotipos identificados como <i>Aspergillus</i> spp..... | 39 |
| Tabla 3-3: Características culturales de los morfotipos identificados como <i>Trichoderma</i> spp. | 41 |
| Tabla 4-3: Características culturales de los morfotipos identificados como <i>Nigrospora</i> spp | 53 |
| Tabla 5-3: Características culturales de los morfotipos identificados como <i>Helicomyces</i> spp... | 55 |
| Tabla 6-3: Características culturales de hongos por identificar | 57 |
| Tabla 7-3: Características culturales de los morfotipos identificados como <i>Fusarium</i> spp | 62 |
| Tabla 8-3: Características culturales de los morfotipos identificados como <i>Alternaria</i> spp | 64 |
| Tabla 9-3: Características culturales de los morfotipos identificados como <i>Ulocladium</i> spp.... | 66 |
| Tabla 10-3: Características culturales de hongos por identificar a partir de hojas enfermas. | 70 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|------|
| Figura 1-1: Representación esquemática de aislamiento del tejido de una hoja..... | 6 |
| Figura 2-1: Representación esquemática del aislamiento de un hongo a partir de estructuras producidas sobre la lesión..... | 7 |
| Figura 3-1: Posibles formas de las colonias de microorganismos fúngicos. Realizado por: Medvedeff et al. 2008..... | 10 |
| Figura 4-1: Posibles elevaciones de las colonias de microorganismos fúngicos. Realizado por: Medvedeff et al. 2008..... | 10 |
| Figura 5-1: Posibles márgenes de las colonias de microorganismos fúngicos. | 10 |
| Figura 6-1: Cuatro ejes, en los cuales a lo largo se mide el crecimiento radial. | 11 |
| Figura 7-1: Métodos para evaluar la diversidad alfa..... | 12 |
| Figura 1-2: Ubicación de los 10 sitios muestrales alrededor de la provincia de Chimborazo.... | 15 |
| Figura 2-2: Preparación de microcultivos: 1-Micelio; 2- Medio de cultivo; 3-Placa cubre objetos; 4-Placa porta objetos; 5-Vidrio fusible; 6-Papel filtro humedecido; 7-Placa Petri. | 18 |
| Figura 1-3: Características culturales de <i>Penicillium</i> spp. Mrf 3 (a-a'), Mrf 11 (b-b'), Mrf 16 (c-c'), Mrf 19 (d-d'), Mrf 27 (e-e'), Mrf 28 (f-f'), Mrf 53 (g-g'), Mrf 61 (h-h'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d', e', f', g', h')..... | 3838 |
| Figura 2-3: Vista bajo el microscopio para identificación de las colonias de <i>Penicillium</i> spp...39 | |
| Figura 3-3: Características culturales de <i>Aspergillus</i> spp. Mrf 1 (a-a'), Mrf 13 (b-b'), Mrf 14 (c-c'), Mrf 21 (d-d'), Mrf 48 (e-e'), Mrf 49 (f-f'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d', e', f')..... | 40 |
| Figura 4-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Aspergillus</i> spp..... | 41 |
| Figura 5-3: Características culturales de <i>Trichoderma</i> spp. Mrf 25 (a-a'), Mrf 26 (b-b'). Color del anverso de las colonias (a', b'). | 42 |
| Figura 6-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Trichoderma</i> spp..... | 43 |
| Figura 7-3: Características culturales de <i>Purpureocillium</i> spp. Mrf 6 (a). Color del anverso de las colonias (a')..... | 43 |
| Figura 8-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Purpureocillium</i> spp..... | 44 |
| Figura 9-3: Características culturales de <i>Cladosporium</i> spp. Mrf 15 (a). Color del anverso de las colonias (a')..... | 45 |
| Figura 10-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Cladosporium</i> spp. | 46 |
| Figura 11-3: Características culturales de <i>Cephalosporium</i> spp. Mrf 7 (a). Color del anverso de las colonias (a')..... | 46 |
| Figura 12-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Cephalosporium</i> spp..... | 47 |

| | |
|---|----|
| Figura 13-3: Características culturales de <i>Ulocladium</i> spp. Mrf 4 (a). Color del anverso de las colonias (a'). | 48 |
| Figura 14-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Ulocladium</i> spp. | 48 |
| Figura 15-3: Características culturales de <i>Geotrichum</i> spp. Mrf 12 (a). Color del anverso de las colonias (a'). | 49 |
| Figura 16-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Geotrichum</i> spp. | 50 |
| Figura 17-3: Características culturales de <i>Pestalotiopsis</i> spp. Mrf 50 (a). Color del anverso de la colonia (a'). | 50 |
| Figura 18-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Pestalotiopsis</i> spp. | 51 |
| Figura 19-3: Características culturales de <i>Chaetomium</i> spp. Mrf 17 (a). Color del anverso de la colonia (a'). | 52 |
| Figura 20-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Chaetomium</i> spp. | 53 |
| Figura 21-3: Características culturales de <i>Nigrospora</i> spp. Mrf 20 (a-a'), Mrf 30 (b-b'). Color del anverso de las colonias (a', b'). | 54 |
| Figura 22-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Nigrospora</i> spp. | 55 |
| Figura 23-3: Características culturales de <i>Helicomyces</i> spp. Mrf 5 (a-a'), Mrf 8 (b-b'), Mrf 44 (c-c'), Color del anverso de las colonias (a', b', c'). | 56 |
| Figura 24-3: Vista bajo el microscopio para la identificación <i>Helicomyces</i> spp. | 57 |
| Figura 25-3: Características culturales de microrganismos fúngicos por identificar Mrf 2 (a-a'), Mrf 9 (b-b'), Mrf 18 (c-c'), Mrf 22 (d-d'), Mrf 24 (e-e'), Mrf 29 (f-f'), Mrf 31 (g-g'), Mrf 32 (h-h'), Mrf 33 (i-i'), Mrf 34 (j-j'), Mrf 35 (k-k'), Mrf 36 (l-l'), Mrf 37 (m-m'), Mrf 38 (n-nf'), Mrf 39 (ñ-ñ'), Mrf 40 (o-o'), Mrf 41 (p-p'), Mrf 42 (q-q'), Mrf 43 (r-r'), Mrf 45 (s-s'), Mrf 46 (t-t'), Mrf 47 (u-u'), Mrf 51 (v-v'), Mrf 52 (w-w'), Mrf 54 (x-x'), Mrf 55 (y-y'), Mrf 56 (z-z'), Mrf 62 (aa-aa'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d', e', f', g', h', i', j', k', l', m', n', ñ, o', p', q', r', s', t', u', v', w', x', y', z', aa'). | 61 |
| Figura 26-3: Características culturales de <i>Fusarium</i> spp. Mrf 2 (a-a'), Mrf 6 (b-b'), Mrf 11 (c-c'), Mrf 26 (d-d'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d'). | 63 |
| Figura 27-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Fusarium</i> spp. | 64 |
| Figura 28-3: Características culturales de <i>Alternaria</i> spp. Mrf 1 (a-a'), Mrf 13 (b-b'), Mrf 14 (c-c'), Mrf 21 (d-d'), Mrf 48 (e-e'), Mrf 49 (f-f'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d', e', f'). | 65 |
| Figura 29-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Alternaria</i> spp. | 65 |
| Figura 30-3: Características culturales de <i>Ulocladium</i> spp. Mrf 25 (a-a'), Mrf 27 (b-b'), Mrf 30 (c-c'), Mrf 25 (d-d'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d'). | 66 |
| Figura 31-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Ulocladium</i> spp. | 67 |

| | |
|---|----|
| Figura 32-3: Características culturales de <i>Penicillium</i> spp . Mrf 25 (a-a'). Color del anverso de la colonia (a')..... | 67 |
| Figura 33-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Penicillium</i> spp | 68 |
| Figura 34-3: Características culturales de <i>Cladosporium</i> spp. Mrf 24 (a). Color del anverso de las colonias (a')..... | 69 |
| Figura 35-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de <i>Cladosporium</i> spp. | 70 |
| Figura 36-3: Características culturales de microorganismos fúngicos por identificar Mrf 1 (a-a'), Mrf 5 (b-b'), Mrf 7 (c-c'), Mrf 9 (d-d'), Mrf 10 (e-e'), Mrf 12 (f-f'), Mrf 14 (g-g'), Mrf 15 (h-h'), Mrf 16 (i-i'), Mrf 19 (j-j'), Mrf 20 (k-k'), Mrf 23 (l-l'), Mrf 28 (m-m'), Mrf 29 (n-nf'), Mrf 31 (ñ-ñ'), Mrf 32 (o-o'), Mrf 33 (p-p'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d', e', f', g', h', i', j', k', l', m', n', ñ', o', p')..... | 72 |

INDICE DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| Gráfico 1-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de los morfotipos pertenecientes a <i>Penicillium</i> spp a partir de hojas sanas. | 20 |
| Gráfico 2-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de <i>Penicillium</i> spp a partir de hojas enfermas | 21 |
| Gráfico 3-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de los morfotipos pertenecientes a <i>Aspergillus</i> spp a partir de hojas sanas. | 22 |
| Gráfico 4-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de los morfotipos pertenecientes a <i>Trichoderma</i> spp a partir de hojas sanas. | 23 |
| Gráfico 5-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de <i>Purpureocillium</i> spp a partir de hojas sanas. | 24 |
| Gráfico 6-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de <i>Cladosporium</i> spp a partir de hojas sanas. | 25 |
| Gráfico 7-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de <i>Cladosporium</i> spp a partir de hojas a partir de hojas enfermas | 25 |
| Gráfico 8-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de <i>Cephalosporium</i> spp a partir de hojas sanas. | 26 |
| Gráfico 9-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de <i>Ulocladium</i> spp a partir de hojas sanas. | 27 |
| Gráfico 10-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de morfotipos pertenecientes a <i>Ulocladium</i> spp a partir de hojas enfermas. | 27 |
| Gráfico 11-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de <i>Geotrichum</i> spp a partir de hojas sanas. | 28 |
| Gráfico 12-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de <i>Chaetomium</i> spp a partir de hojas sanas. | 29 |
| Gráfico 13-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de <i>Nigrospora</i> spp a partir de hojas sanas. | 30 |
| Gráfico 14-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de <i>Helicomyces</i> spp a partir de hojas sanas. | 31 |
| Gráfico 15-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de morfotipos pertenecientes a <i>Fusarium</i> spp., a partir de hojas enfermas | 32 |
| Gráfico 16-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de morfotipos pertenecientes a <i>Alternaria</i> spp., a partir de hojas enfermas. | 33 |
| Gráfico 17-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de morfotipos pertenecientes a <i>Pestalotiopsis</i> spp. a partir de hojas enfermas. | 34 |

| | |
|---|----|
| Gráfico 18-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de morfotipos por identificar a partir de hojas sanas. | 35 |
| Gráfico 19-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de morfotipos por identificar a partir de hojas enfermas. | 36 |
| Gráfico 20-3: Riqueza de morfotipos a partir de hojas sanas | 73 |
| Gráfico 21-3: Riqueza de morfotipos a partir de hojas enfermas. | 74 |
| Gráfico 22-3: Índice de Simpson a partir de hojas sanas | 75 |
| Gráfico 23-3: Índice de Simpson a partir de hojas enfermas..... | 76 |
| Gráfico 24-3: Índice de Shannon-Wiener a partir de hojas sanas..... | 77 |
| Gráfico 25-3: Índice de Shannon-Wiener a partir de hojas enfermas. | 78 |

INDICE DE ANEXOS

ANEXO A: Muestreo

ANEXO B: Colecta, traslado, procesamiento general.

ANEXO C: Procesamiento de muestras hojas enfermas

ANEXO D: Procesamiento de muestras hojas sanas

ANEXO E: Conservación de morfotipos

ANEXO F: Identificación de morfotipos

ANEXO G: Certificado de obtención de resultados (crecimiento radial) en la Facultad de Ciencias Pecuarias

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue aislar e identificar la micobiota cultivable asociada con la filosfera de diez individuos de capulí (*P. serotina* Mc Vaugh) en la provincia de Chimborazo, para lo cual se obtuvieron varios morfotipos pertenecientes a hojas sanas y enfermas, en la que se realizaron varias metodologías para llegar al fin propuesto. En el procesamiento de muestras se realizó la desinfección de hojas haciendo uso de agua de la llave, alcohol (70%), NaClO (1%) y agua destilada estéril, para el aislamiento se basó en la metodología de cámara húmeda y aislamiento del tejido de una hoja, posterior se conservó los morfotipos con el método Castellani, para la identificación de morfotipos se realizó mediante a microcultivo y la técnica de impresión, cabe recalcar que se hizo uso de la clave de colores Pantone para la colorimetría y varios gráficos para la descripción de los morfotipos tanto en sus bordes, elevación, bordes, textura y pigmentación. Para el análisis de los resultados en el caso del crecimiento radial se hizo un promedio del crecimiento con las 3 repeticiones para sacar la media de cada día, colorimetría y descripción de morfotipos se basó en lo antes mencionado, finalmente para los índices de diversidad se usó el programa R estudio para el análisis de datos de los individuos. Se concluye que los aislados puros totales fueron 87 (42 identificados), de las hojas sanas se obtuvo por identificar 28 morfotipos y 28 identificados, por parte de las hojas enfermas se obtuvo por identificar 17 morfotipos y 14 identificados, de cuales varios pertenecen a diferentes géneros. Las recomendaciones son realizar análisis moleculares de los aislados, también pruebas de patogenicidad, investigaciones sobre los pigmentos producidos y la comprobación de endofitismo por parte de los hongos reportados en hojas sanas.

Palabras clave: < Microorganismos fúngicos >, <Endófitos>, < Saprófitos>, <Prunus serotina>, < Fitopatología>, < >

LUIS
ALBERTO
CAMINOS
VARGAS

Formado digitalmente por LUIS
ALBERTO CAMINOS
VARGAS
DNI: 40145145
CAMINOS VARGAS LUIS
C/RODRIGUEZ
Molina 1000
Guano
Fecha: 2021/10/04
14:38:00



1852-DBRA-UTP-2021

SUMMARY

This study aims to isolate and identify the cultivable mycobiota associated with the phyllosphere of ten individuals of *capulí* (*P. serotina* Mc Vaugh) in the province of Chimborazo. Several morphotypes belonging to healthy and diseased leaves were obtained, as well as several methodologies were applied to reach this objective. Disinfection of leaves was carried out using tap water, alcohol (70%), sodium hypochlorite NaClO (1%) and sterile distilled water in the processing of samples, methodology of humid chamber and isolation of the tissue of a leaf was used for the isolation, later the morphotypes were preserved with the Castellani method. For the identification of morphotypes was carried out by microculture and printing technique, the Pantone color key was used for colorimetry and several graphics for the description of morphotypes in their edges, elevation, margins, texture, and pigmentation. For the analysis of the results in the case of the radial growth an average of the growth was carried out with 3 repetitions to obtain the average of each day, for the colorimetry and description of morphotypes was based on the above mentioned. Finally, for the diversity indexes, the program R Studio was used for the data analysis of the individuals. It is concluded that the total pure isolates were 87 (42 identified), from the healthy leaves were obtained 28 morphotypes non identified and 28 identified, on the other hand, the diseased leaves were obtained 17 morphotypes non identified and 14 identified, several of them belong to different genera. It is recommended to carry out analysis of the isolates, pathogenicity tests, investigations on the pigments produced and verification of endophytism by the fungi reported in healthy leaves.

Key words :<FUNGIC MICROORGANISMS>, <ENDOPHYTES >,<SAPROPHYTES>, <CAPULI (*Prunus serotina*)>, <PHYTOPATHOLOGY>.

INTRODUCCIÓN

El capulí (*Prunus serótina* Ehrh.) es una planta autóctona de los trópicos americanos que crece óptimamente sobre los 1200 m.s.n.m. Es procedente de México aunque los mejores tipos se encuentran en el Ecuador en sus tierras andinas (León, 2000; citado en INIAP, 2013). Sin embargo, los frutos de *P. serótina* de Norte América son pequeños con un diámetro entre 6 a 10 mm, poco pulposos y carecen de valor comercial; mientras que las variedades cultivadas en Centro América y América del Sur se caracterizan por producir frutos grandes con un diámetro de entre 2 a 3.5 cm, pulposos y de buen sabor. Este hecho se podría explicar con una hipótesis en el que las variedades de capulí con frutos grandes fueron el resultado de procesos de selección y domesticación de individuos por tamaño, sabor y calidad del fruto (Downey e Iezzoni, 2000; citados en Intriago, et al. 2017).

En Ecuador no encontramos grandes extensiones de cultivo, pero si plantas alrededor las provincias en la zona centro del país tal como Tungurahua, Cotopaxi, Chimborazo, siendo las principales, destacando sobretodo Tungurahua. El capulí es importante no solo genéticamente, sino también por su composición nutricional y la tolerancia a condiciones desfavorables. (Flores, 2008; citado en INIAP, 2013). Cabe recalcar que en nuestro país no contamos con cultivos comerciales de dicho árbol, se lo encuentra en jardines, bordes de carreteras, pequeñas parcelas familiares que cumplen la función de cortina rompe vientos. Los campesinos originarios pertenecientes a la sierra cosechan el capulí para consumo en la familia y ubicarlo en el mercado local (diario “El Comercio”, 2012; Palacios, 2011; Downey e Iezzoni, 2000; Popenoe y Pachano, 1922; citados en Intriago et al. 2017, p. 3). “No existe investigación sobre este frutal en el país que permita aprovechar su potencial” (Intriago et al. 2017) .

Sin embargo Chisaguano,(2010) citado en Andino (2015, p. 1) menciona que el capulí (*Prunus serótina* Ehrh) ha disminuido en cuanto a su rendimiento, población, productividad y la calidad del producto, consecuentemente en el transcurso de los últimos 7 años la reducción de la población de esta especie es del 57% en nuestro país, este hecho se va dando a medida que las generaciones avanzan y los usos de este árbol se van perdiendo con cada una de ellas, tales como sus propiedades en la industria de la madera, de la medicina, entre otras.

En el campo no se da un valor a esta especie, pero a medida que pasa el tiempo, investigadores extranjeros han ido forjando un hilo entrelazado de resultados que nos muestran los beneficios de esta especie y es ahí cuando la investigación debe incursionar, por este motivo se ha tomado en cuenta que una de las estrategias más utilizadas en el control de plagas y enfermedades; en relación a costo, eficiencia y seguridad ambiental; está referida a la utilización de microorganismos (bacterias, hongos, etc) (Díaz, 2019), y al mismo tiempo como no se cuenta con una base de datos específica de que hongos cultivables encontramos en la filosfera de *P.*

serotina se tiene, es necesario crear una línea base como partida para futuras investigaciones, tanto para controladores biológicos, pigmentos, control de enfermedades en dicha especie, creando así varias soluciones para el agricultor actual, motivándole a incursionar en el cultivo de capulí.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Aislar e identificar la micobiota cultivable asociada con la filosfera de diez individuos de capulí (*Prunus serotina* Mc Vaugh) en la Provincia de Chimborazo.

Objetivos específicos

- Obtener aislados puros en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA).
- Caracterizar culturalmente los aislados puros obtenidos.
- Identificar los géneros de hongos filamentosos asociados con la filosfera de los individuos de capulí (*P. serotina* Mc Vaugh) mediante el uso de claves taxonómicas.
- Determinar la diversidad de la micobiota cultivable asociada con la filosfera de individuos de capulí (*P. serotina* Mc Vaugh).

HIPÓTESIS

Nula

- No se logra aislar ni identificar comunidades fúngicas asociadas con la filosfera de diez individuos de capulí (*P. serotina* Mc Vaugh) en la Provincia de Chimborazo

Alternativa

- Se logra aislar e identificar al menos un agente fúngico asociado con la filosfera de diez individuos de capulí (*P. serotina* Mc Vaugh) en la Provincia de Chimborazo.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.

1.1 Características botánicas

1.1.1 Origen y distribución

Cerezo criollo (black cherry) americano o capulí, que proviene de mahua capolli. Es un árbol de América, una especie originaria de México conservada desde tiempos prehispánicos, según algunos autores, (Pairon, et al., 2010; citado en Andino, 2015, p. 9). Posteriormente la variedad de capulí que crece en países como el Ecuador recibió la denominación de ‘Prunus serotina subsp. capulí (Cav.) (Vaugh,1951; citado en Andino, 2015, p. 9), nomenclatura con la cual se identifica hasta la actualidad. El capulí se encuentra en las montañas altas desde el sur de México con amplia distribución en los valles de las cordillera de los Andes, (Suzanne, et al., 2000; citado en Andino, 2015, p. 9)

1.1.2 Taxonomía

Según Andino, (2015, p. 9) menciona la siguiente taxonomía:

Phyllum. Plantae

Subphyllum. Spermatophyta

Clase. Magnoliophytina

Subclase. Magnoliopsida

Orden. Rosidas

Familia. Rosales

Subfamilia. Rosaceas

Género: *Prunus*

Especie: *Serotina*

Nombre científico: *Prunus serotina* Ehrh

1.1.3 Descripción de la especie

-Forma: Árbol o arbusto monopódico, perennifolio o caducifolio, de 5 a 15 m (hasta 38 m) de altura con un diámetro a la altura del pecho de hasta 1.2 m (Vaugh, 1951 citado en Sistema Nacional de Información Forestal [sin fecha], p. 1).

-Copa / Hojas: Copa ancha de forma ovoide que produce una sombra densa. Hojas estipuladas, simples, alternas, cortamente pecioladas, ovadas a lanceoladas, de 5 a 16 cm de largo por 2 a 5 cm de ancho, margen aserrado; haz verde oscuro y brillante (Vaugh, 1951 citado en Sistema Nacional de Información Forestal, [sin fecha], p. 1).

-Tronco / Ramas: Tronco largo y recto en el bosque, pero en los claros es corto y ancho. Ramas alternas, erguido-extendidas, lampiñas, escabrosas por la presencia de muchas lenticelas esparcidas (Vaugh, 1951 citado en Sistema Nacional de Información Forestal [sin fecha], p. 1).

-Corteza: café o grisácea casi lisa y glabra, exceptuando las ramas tiernas que a veces son pubescentes (Vaugh, 1951 citado en Sistema Nacional de Información Forestal [s f], p. 1).

-Flor(es): Flores numerosas, pequeñas y blancas, agrupadas en racimos axilares colgantes y largos, de 10 a 15 cm, con pedicelos de 5 a 10 mm de largo (Vaugh, 1951 citado en Sistema Nacional de Información Forestal [sin fecha], p. 1).

1.2 Etnobotánica

Fresnedo et al (2011) mencionan que *P. serotina* es una de las especies pioneras que pueden estar en ambientes perturbados, de esta forma se le da una utilidad potencial para recuperar espacios infértiles en los que no se cuentan con vegetación, cabe recalcar que si se realiza una introducción no controlada de *P. serotina* en donde tenemos vegetación autóctona se produce un cambio en los ciclos de fósforo, carbono y nitrógeno para su beneficio, esto conlleva a que se modifique la fotosíntesis de las especies endémicas (Aerts et al., 2017; citado en Acosta, 2019, p. 28).

P. serotina es una planta importante en la industria maderera en Estados Unidos por su excelente calidad (Downey & Iezzoni, 2000; citado en Acosta, (2019, p. 28), la misma es valorada por finos gabinetes, carpintería arquitectónica, muebles, finas láminas de madera o también llamados veneer, la demanda es cada vez mayor del cerezo negro o capulí obviamente de la más alta calidad y el interés ahora es instaurar plantaciones con genotipos mejorados (Liu & Pijut, 2008; citados en Acosta, 2019, p. 28).

Márquez, C. (2017) menciona que el capulí (*P. serotina*) en la cosmovisión andina tiene un significado profundo, para los yachaks es importante el número de frutos de un racimo, de esta manera pueden saber si ese año será o no productivo contando el número de frutos de un racimo, si tiene 7 o más la productividad será buena. Además para ellos es una planta sagrada y un augurio de la fertilidad, con propiedades medicinales, muy cotizada por que sus frutos solo cargan una vez al año y representan un símbolo de vitalidad porque sus frutos tienen forma de los ovarios de una mujer, además es un árbol muy resistente, se usa la madera para yuntas de ganado y telares para elaborar prendas.

Actualmente en el cantón Guano, correspondiente a la provincia de Chimborazo, siendo una de las insignias clave del turismo la producción de alfombras tejidas, el capulí es usado como tinte natural para la lana con la que se producen, consiguiendo del fruto un tono de café más fuerte que el amarillo verdoso (Carretero y Campaña, 2016, p. 414)

El capulí para el patrimonio alimentario de nuestro es significativo, dado que desde la época precolombina se conoce sus usos curativos tales como preparados farmacéuticos a base de hojas que calma molestias reumáticas, cólicos, dolor de músculos y articulaciones. En la zona central de la sierra las comunidades andinas usan la infusión de hojas en la labor de parto acelerando así las contracciones. También se puede usar el extracto del fruto aplicándolo mediante compresas ayuda a desinflamar los ojos, cicatrizar heridas. Además se debe incluir que en la provincia de Chimborazo las ramas de capulí son plantas sagradas que se usan para limpiar el mal aire o espanto en las comunidades indígenas (Patrimonio Alimentario, 2013).

1.3 Técnicas de aislamiento utilizadas para comunidades fúngicas de la filosfera de plantas.

1.3.1 Aislamiento a partir de tejido vegetal

El cultivo de tejidos, como técnica, consiste esencialmente en aislar una porción de la planta y proporcionarle artificialmente las condiciones físicas y químicas apropiadas para que las células expresen su potencial intrínseco o inducido. Es necesario además adoptar procedimientos de asepsia para mantener los cultivos libres de contaminación microbiana (Centro Internacional de Agricultura, tropical 1993, p. 2).

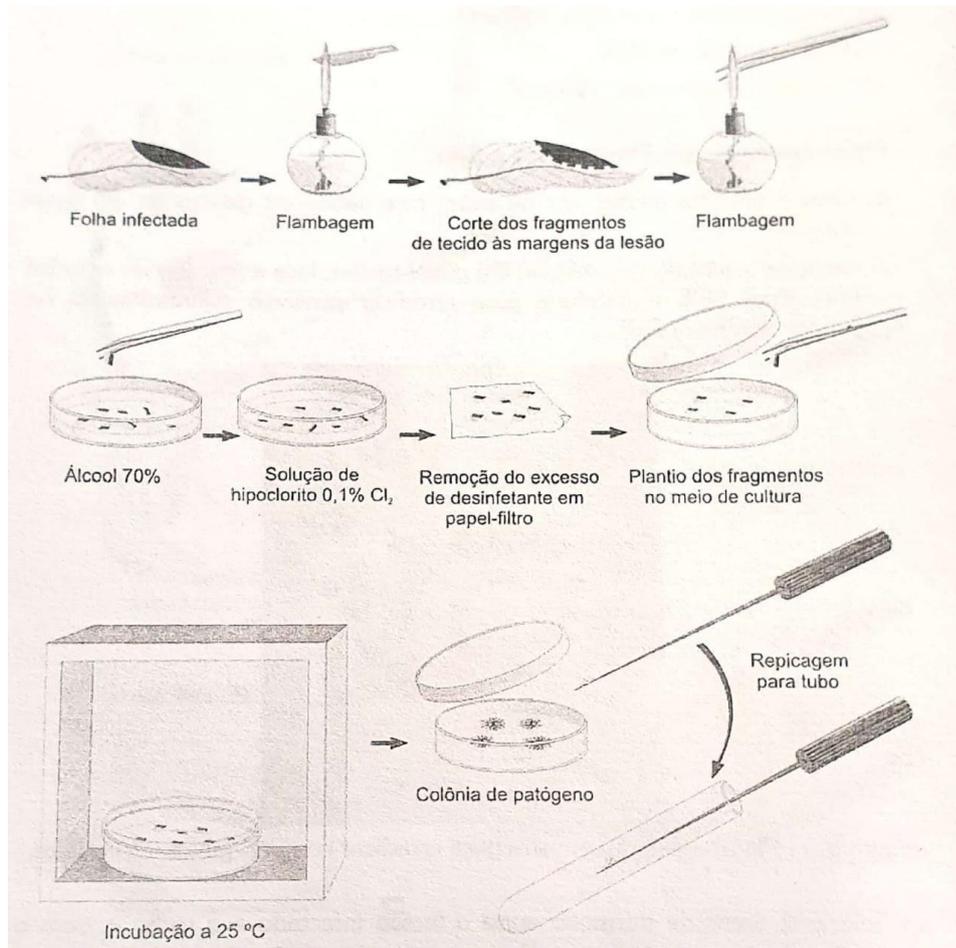


Figura 1-1: Representación esquemática de aislamiento del tejido de una hoja

Fuente: Couto, A; Goncalves, R. 2016, p. 63

1.3.2 Aislamiento indirecto usando cámara húmeda

En el caso de algunos hongos, existen medios de cultivo nutritivos especiales que permiten llevar a cabo su aislamiento selectivo, identificación o promover su esporulación. Otros hongos requieren ser incubados bajo ciertas condiciones de temperatura, ventilación o luz para producir sus esporas. No obstante, la mayoría de los hongos producen sus esporas y estructuras fructíferas en los tejidos enfermos, cuando éstos se colocan sobre un plástico, vidrio o "cámara de humedad", o sea, un recipiente en el que se colocan toallas de papel húmedas para aumentar el nivel de humedad de la cámara (Agrios, [sin fecha], p. 33).

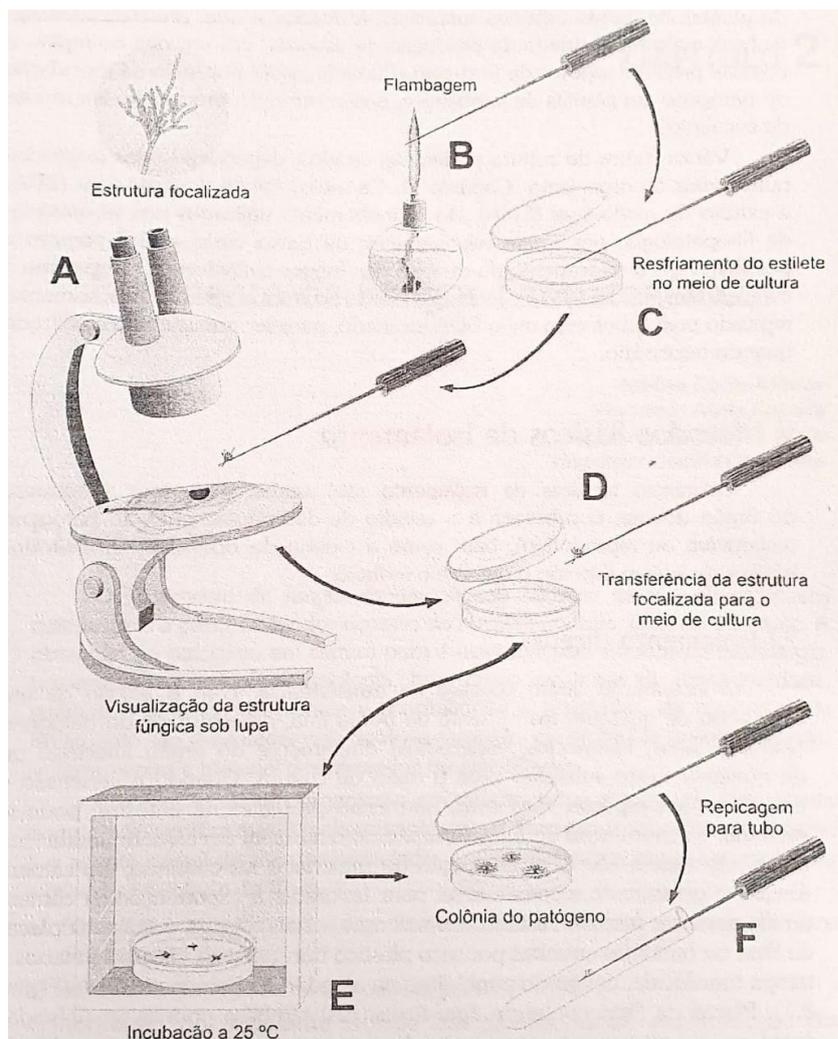


Figura 2-1: Representación esquemática del aislamiento de un hongo a partir de estructuras producidas sobre la lesión

Fuente: Couto, A; Goncalves, R. 2016, p. 59

1.4 Micobiota de la filosfera en plantas.

Los trabajos de Last (1955) y Ruinan (1956); citados en Cabral, (1982), casi de forma paralela proponen la palabra "filosfera", haciendo una analogía al termino rizosfera, para indicar la superficie de un nomófilo como un ambiente donde se desarrolla una flora en particular, la misma que está compuesta principalmente por saprófitos, cabe recalcar que involucra de igual forma a parásitos, epifilos débiles y endófitos que deben pasar por ciertos periodos sobre la superficie del nomófilo hasta que se den las condiciones para la colonización.

En la filosfera podemos encontrar una gran variedad de microorganismos, principalmente bacterias y hongos filamentosos, las primeras pueden promover de alguna manera el crecimiento de las plantas y suprimir la infección y/o colonización por fitopatógenos de ser el

caso, mientras que los hongos pueden intervenir en el ataque de herbívoros y patógenos (Tolosa & Lizarazo, 2014).

Los hongos son quimiótrofos secretores de enzimas que pueden degradar varios sustratos orgánicos en nutrientes que sean solubles para luego ser absorbidos de forma pasiva o integrarse a la célula por un transporte activos (Mitchell, 2011; citado en Estrada y Ramírez, 2019).

1.4.1 Hongos Saprófitos

Los hongos saprobios o también llamados como saprófitos, provienen del griego *sapros*=putrefacto y *fyton* = planta (Agrupación para el Desarrollo Sostenible y la Promoción del Empleo Rural, 2007), es decir son aquellos que obtienen su alimento a partir de materiales orgánicos inertes o en descomposición, tales como restos vegetales y/o animales de ser el caso, en conjunto con la micro o macro fauna de su alrededor participan en la descomposición de la materia orgánica (Heredia y Arias, 2014, p. 194). En el proceso antes mencionado se aporta cantidades significativas de CO₂ a la atmósfera, además reciclan elementos esenciales que luego pueden ser absorbidas por las plantas después de que sean liberados mediante moléculas en el suelo (Carlie y Watkinson, 1994, citados en heredia y Arias, 2014).

Existen varios hongos saprobios dependiendo la naturaleza de la sustancia sobre la que vive el hongo, ya sea en el suelo, madera, hierba, o como los folícolas que viven sobre las hojas, estos desarrollan su micelio dentro del limbo y las nervaduras de las mismas (Agrupación para el Desarrollo Sostenible y la Promoción del Empleo Rural, 2007).

Es necesario realizar entender que los hongos saprófitos degradan la materia orgánica muerta y los hongos parásitos degradan materia orgánica de un organismo vivo sobre el que se asientan (Morales, 2009).

1.4.2 Hongos Endófitos

Son aquellos microorganismos que pasan algún tiempo o todo su ciclo vital colonizando los tejidos del huésped, pero sin causar daños visibles (Sánchez et al., 2013). La simbiosis que tiene el microorganismo con el huésped se la conoce como simbiosis continua y equilibrada (Chichi, L, 2020, p. 4). Se han realizado varios estudios en los que se demuestra que los hongos endófitos engloban a todos los grupos taxonómicos de plantas, debido a que viven los diferentes ambientes (hojas, raíz, etc.) (Aly et al., 2011; Rodríguez et al., 2009; Schulz y Boyle, 2005; Arnold, 2007 citados en Chichi,L, 2020, p. 4).

Los hongos indicados anteriormente viven en los espacios intercelulares pero también se hallan en espacios intracelulares de hojas, tallos y flores, nutriéndose de la planta (Salgado y Cepero de García, 2005). Cabe recalcar que las conexiones apoplásticas y los espacios intercelulares son el

hábitat principal para estos hongos, alimentándose por los haces vasculares de los nutrientes que circulan permitiendo así su desarrollo (Morales y Rodríguez, 2009).

Hasta el momento no se conoce a ciencia cierta el mecanismo de acción con el que actúan de manera conjunta, pero se han reportado estudios que los endófitos otorgan un gran potencial para adaptarse a condiciones adversas (abióticas) a las plantas hospederas como es el caso de la resistencia al estrés oxidativo y tolerancia a la sequía (Zhang y Nan, 2006; citados en Abello y Kelemu, 2007, p. 56), tolerancia a estrés salino, suelos ácidos con alto contenido de Zinc y Aluminio (Zaurov et al., 2001; Monnet et al., 2001; Waller et al., 2005; citados en Abello y Kelemu, 2007).

La característica principal de estos hongos es que producen una gran variedad de metabolitos secundarios y proteínas, convirtiéndose así en microorganismos potenciales para el uso en diversos campos como la agricultura y medicina, a la vez generan antagonismo frente a un sin número de fitopatógenos debido a las proteínas secretadas por los endófitos (Prada et al. 2009).

1.5 Técnicas utilizadas para la identificación de comunidades fúngicas asociada con la filosfera de plantas.

1.5.1 Claves dicotómicas de género

La taxonomía se deriva del griego taxis= orden o arreglo y de nomos= ley, lo cual indica que es el estudio de la clasificación, incluyendo sus bases, procedimientos y reglas, tiene una base principal que son los datos ya aportados por la morfología, fisiología, ecología, etc. (Romero, 2007).

Al hablar de la taxonomía de hongos hay que recalcar que es una disciplina creciente y dinámica, continuamente varía en su nomenclatura llegando a ser confusa y un tanto difícil al momento de interpretar, más aún cuando existen variaciones fenotípicas de algunas especies que vienen dada a la respuesta por las condiciones ambientales que se presentan, conllevando a una identificación imprecisa. (Romero, 2007).

Al realizar la identificación de la especie de hongos se toma en cuenta especialmente la observación en detalle de las características para luego realizar el reconocimiento en las claves dicotómicas (Panica et al., 2015).

Los hongos imperfectos son importantes microorganismos eucariotas (poseen núcleos y orgánulos) estos afectan a la mayoría de formas de vida. La necesidad de determinar sus identidades es primordial en la investigación, industria, medicina, patología vegetal y muchas disciplinas más (Barnett y Hunter, 1998).

1.6 Caracterización funcional de comunidades fúngicas asociadas con filosfera.

1.6.1 Descripción macroscópica de las colonias

Las descripciones se las realiza desde un macrocolonia la cual se obtiene a partir de la especie fúngica en estudio, se la coloca en la parte central de la placa con medio de cultivo (agar papa dextrosa) con ayuda de un haza de transferencia. Las placas son incubadas a temperatura ambiente ente 20 y 30 °C, por un tiempo de 3 a 15 días realizando observaciones diariamente. Según Marquéz (2017) de la colonia se describe:

- **Forma:** circular, irregular, filamentosa, rizoidal.

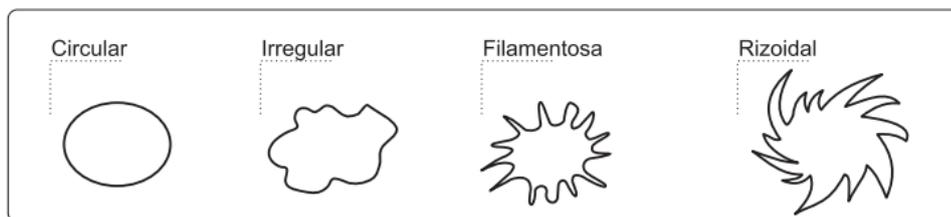


Figura 3-1: Posibles formas de las colonias de microorganismos fúngicos.

Fuente: Medvedeff et al. 2008.

- **Elevación:** plana y extendida, elevada y limitada, umbilicada.

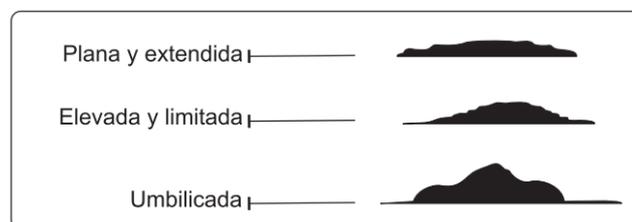


Figura 4-1: Posibles elevaciones de las colonias de microorganismos fúngicos.

Fuente: Medvedeff et al. 2008.

- **Margen:** entero, lobulado, desflecado, rizoide.

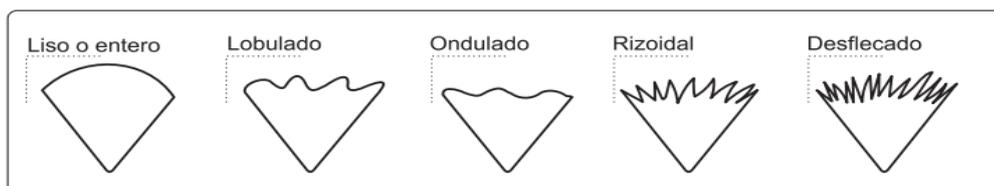


Figura 5-1: Posibles márgenes de las colonias de microorganismos fúngicos.

Fuente: Medvedeff et al. 2008.

- **Superficie:** plegada, con surcos radiados, cerebriforme
- **Pigmentación:** en anverso y reverso de la colonia o pigmento difusible en el medio.
- **Textura:** granulosa, pulverulenta, vellosa, aterciopelada, algodonosa.

1.6.2 Velocidad de crecimiento radial (VCR)

Es una técnica que puede determinar nivel de adaptación (mm.h^{-1}) y desarrollo de los hongos al medio sintético, se puede usar agar papa dextrosa (PDA), con un pH que va de 5.6 a 5.9, recomendable para el crecimiento de hongos, teniendo todos los componentes nutritivos, poca acidez que logra la inhibición del desarrollo de bacterias (Coello-Loor et al., 2017).

Para llevar a cabo este método se requiere placas Petri en condiciones estériles con PDA solidificado, en la parte trasera de las placas cuatro líneas radiales (eje) en forma perpendicular entre sí desde el centro, etiquetarlos como r1,r2,r3,r4, (A,B,C,D), para proceder a colocar el micelio inoculado (Fig.1) (Zharare et al., 2010, p. 96). Se debe medir el crecimiento durante los días que tarde en cubrir la caja el micelio del hongo (Ríos et al., 2017, p. 329).

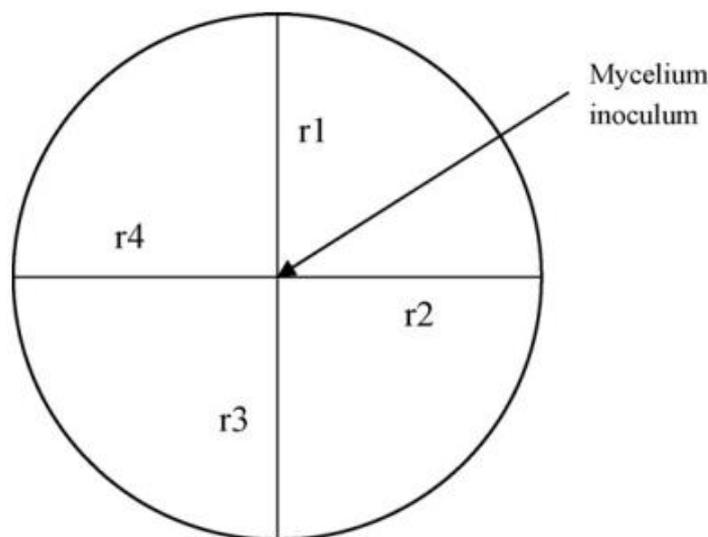


Figura 6-1: Cuatro ejes, en los cuales a lo largo se mide el crecimiento radial.

Fuente: Zharare et al., 2010

1.6.3 Claves de color Pantone

Pantone Color Institute mundialmente ofrece información acerca de los colores con sus diversas paletas, claves o códigos diferentes para ser seleccionadas, estratégicamente desarrollan un enfoque de color acorde a la necesidad (PANTONE COLOR INSTITUTE, [sin fecha]).

Los códigos de color son usados para especificar con exactitud un color o pigmento (LogoRapid, [sin fecha]).

1.7 Índices biológicos

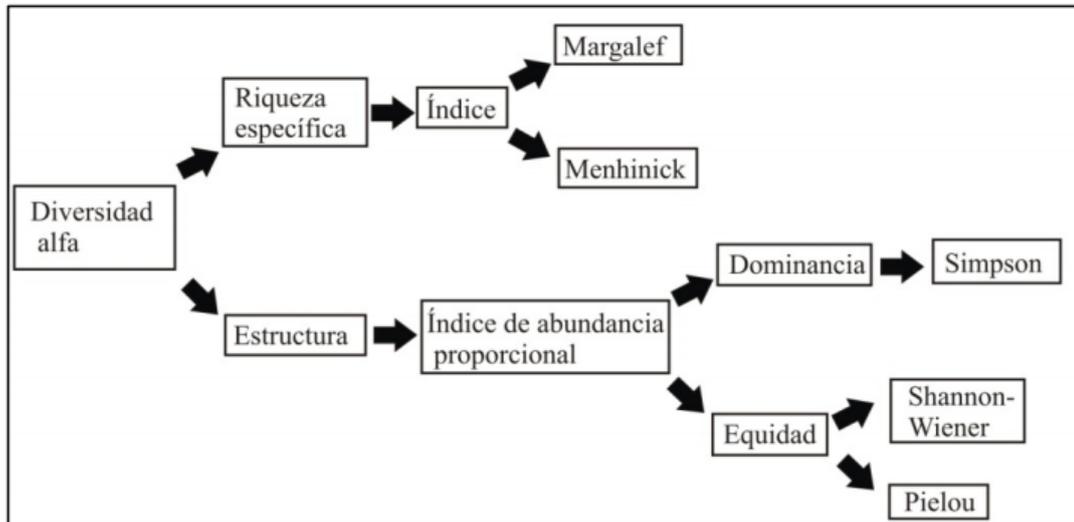


Figura 7-1: Métodos para evaluar la diversidad alfa.

Fuente: Duval, V. 2014

1.7.1 Índice de riqueza específica

Es fácil de conceptualizar de manera que se relaciona con el número de especies presentes en la comunidad. Se propuso dos índices (Margalef y Menhinick) para medir la riqueza de las especies independientemente al tamaño de la muestra, basándose entre la relación del número total de especies (S) y el número total de individuos observados (n), que va incrementando con el tamaño de la muestra (Marquez, 2017).

Se destaca el índice de Margalef (1958):

$$R_1 = \frac{S - 1}{\ln(n)}$$

1.7.2 Índice de abundancia proporcional

Los índices de diversidad añaden en un solo valor a la riqueza específica y a la equitabilidad. Se puede presentar casos en los que el valor del índice de diversidad estimado puede provenir de diferentes combinaciones de equitabilidad y riqueza específica; es decir, que el mismo índice de diversidad se pudo obtener de una comunidad con baja riqueza y alta equitabilidad como de una comunidad con alta riqueza y baja equitabilidad.

Esto quiere decir que el valor del índice aislado no permite conocer la importancia relativa de sus componentes (equitabilidad y riqueza). Los más usados son: el índice de Simpson (D_{Si}) y el índice de Shannon-Wiener (H') (Marquez, 2017).

Índice de Simpson, D_{Si} : “considera la probabilidad que dos individuos de la población seleccionados al azar sean de la misma especie. Indica la relación existente entre riqueza o número de especies y la abundancia o número de individuos por especie” (Campo y Duval, 2014):

$$D_{Si} = \sum_{i=1}^S p_i^2 \quad p_i = \frac{n_i}{N}$$

Dónde:

p_i : igual a la proporción entre n_i y N

n_i : número de individuos de la especie i .

N = número total de individuos para todas las S especies en la comunidad

Índice de Shannon- Wiener (H') “tiene en cuenta la riqueza de especies y su abundancia. Este índice relaciona el número de especies con la proporción de individuos pertenecientes a cada una de ellas presente en la muestra. Además mide la uniformidad de la distribución de los individuos entre las especies” (Campo y Duval, 2014):

$$H' = - \sum_{i=1}^S (p_i \times \log_2 p_i)$$

Dónde:

S : número total de especies

p_i : igual a la proporción entre n_i y N

n_i : número de individuos de la especie i .

CAPÍTULO II:

2. MARCO METODOLÓGICO.

2.1 Ubicación de las muestras

2.1.1 Descripción de las ubicaciones

Se recolectaron los nomófilos de 10 individuos de *P. serotina* en diferentes lugares de la provincia de Chimborazo, tales como: CH 108, 109 y 106 pertenecientes a Guano; CH 141 y CH 142 pertenecientes a Cunduana; CH 133 y 134 pertenecientes a San Luis; CH 123 ubicado en Cacha; CH 117 ubicado en Licán, cabe mencionar que estos individuos fueron seleccionados de manera aleatoria de una base de datos que cuenta aproximadamente con 70 individuos de *P. serotina*.

Tabla 1-2: Puntos de las coordenadas de las muestras recolectadas.

| Individuos | Coordenadas | |
|------------|-------------|---------|
| | x | y |
| CH 108 | 757480 | 9823811 |
| CH 123 | 756374 | 9811291 |
| CH 106 | 758803 | 9823192 |
| CH 141 | 753814 | 9819655 |
| CH 142 | 753092 | 9820393 |
| CH 94 | 772169 | 9823622 |
| CH 109 | 757224 | 9824199 |
| CH 134 | 760020 | 9809105 |
| CH 117 | 755135 | 9816962 |
| CH 133 | 760181 | 9808920 |

Realizado por: Cuadrado, J, 2021.

2.1.2 Georreferenciación

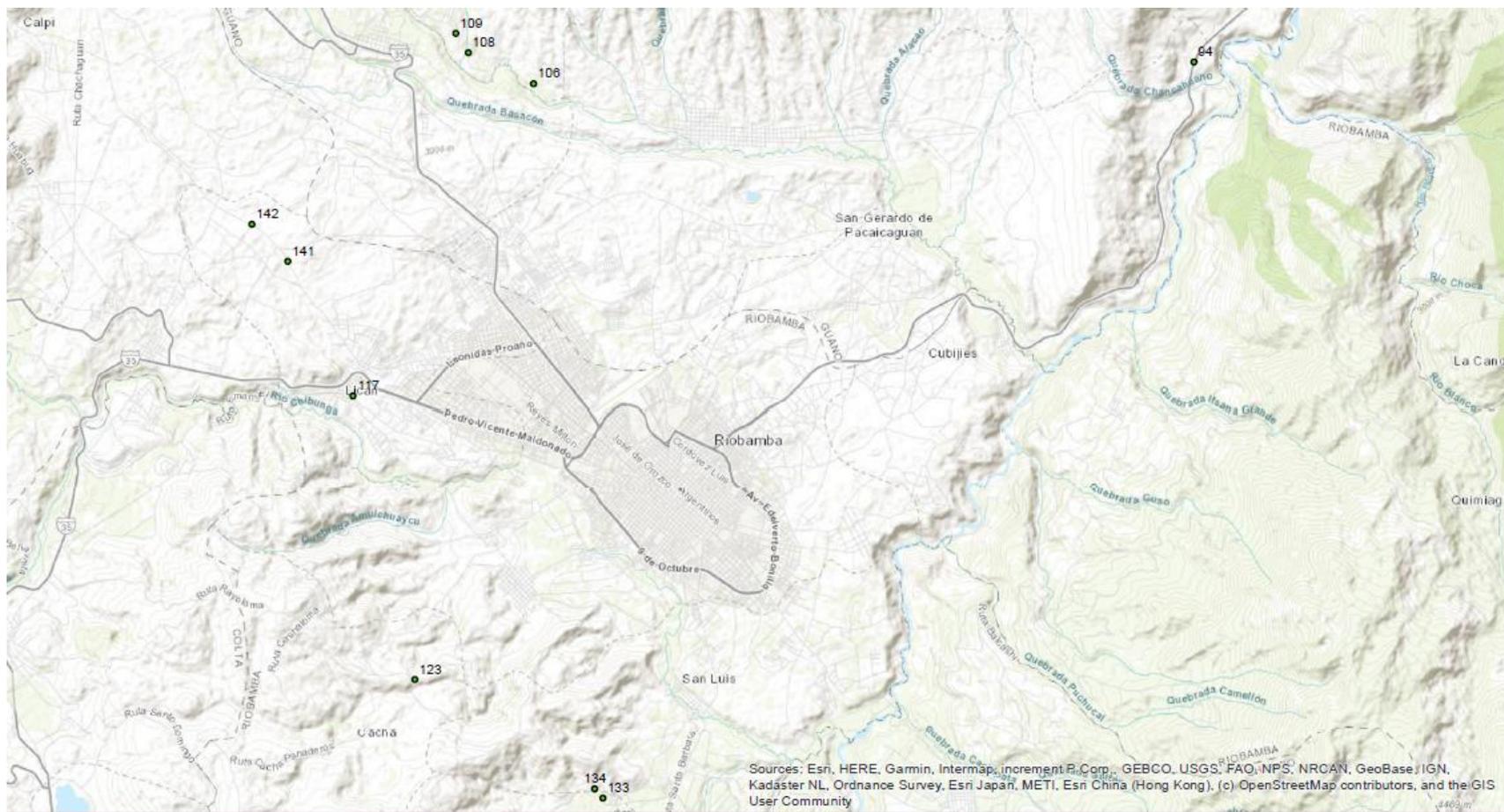


Figura 1-2: Ubicación de los 10 sitios muestrales alrededor de la provincia de Chimborazo

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

2.2 Materiales y equipos

2.1.1 Materiales de campo

Fundas ziploc (20x20 cm) o de papel (20x 10 cm), regla, cooler, marcador, libreta de apuntes.

2.1.2 Equipos de campo

GPS, tijera de podar, cámara fotográfica

2.1.3 Material biológico

Muestras de hojas tanto sanas y enfermas de los diez individuos capulí (*P. Serotina*).

2.1.4 Materiales de laboratorio

Envases de plástico (tarrinas 500 ml), cajas Petri (vidrio o plástico 90 mm), parafilm, papel absorbente, fundas auto clavables, marcador de cd, papel craft, tubos de metal delgados (30 cm), vidrio fusible, sorbetes, palillos de dientes, papel aluminio, tubos eppendorf (5 ml), chisguete, placas porta y cubre objetos, foco de luz negra, libreta de apuntes.

2.1.5 Equipos de laboratorio

Autoclave, vasos de precipitación, balanza de precisión, probeta (1000 ml), pipeta (10 ml), micropipeta (1000 µl), puntas de micropipeta, (1000 µl), baño maría, destilador de agua, cámara de flujo, incubadora, pinzas, mechero de bunsen, cámara de esporulación microscopio óptico, cámara fotográfica, adaptador de cámara fotográfica a microscopio.

2.1.6 Reactivos e insumos

Papa dextrosa agar (PDA), Chloramphenicol, hipoclorito de sodio al 1%, agua, alcohol (70%), agua destilada estéril, alcohol (96%), lactofenol.

2.3 Metodología

2.3.1 Muestreo

2.3.1.1 Hojas enfermas

Se seleccionó 3 ramas una de la parte baja, media y alta, de cada rama se seleccionó 3 nomófilos que presenten algún síntoma de enfermedad, para estandarizar el muestreo los nomófilos seleccionados eran de 10 cm.

2.3.1.2 Hojas sanas

Se tomó 3 ramas de forma aleatoria de las cuales se seleccionó 5 nomófilos cada uno sin ningún síntoma o laceración de 10 cm para estandarizar las muestras, se los midió con ayuda de un pie de rey o calibrador.

2.3.2 *Colecta y traslado*

Las muestras de hojas sanas se seleccionaron observando que no exista ningún síntoma de enfermedad o lesión, para las hojas enfermas se recolectaron aquellas que presentaban alguna laceración en cualquier parte de la hoja. El material recolectado se colocó en bolsas de papel o fundas ziploc, con la etiqueta correspondiente, a continuación se introdujo en un cooler con hielos para poder transportar hasta el laboratorio en el que se vaya a procesar las muestras.

2.3.3 *Procesamiento*

Las muestras foliares de 10cm enfermas y sanas, se las sometió al método propuesto por Coelho et al., (2011, p. 677) el material primero fue desinfectado en alcohol al 70% durante 1 min, seguido se colocó en hipoclorito de sodio (NaClO) 1% durante 30 segundos y finalmente se lavaron las muestras con agua destilada estéril 3 veces, para comprobar que la desinfección se hizo de la manera correcta se colocó alícuotas del agua destilada estéril final en cajas Petri con medio de cultivo (PDA).

2.3.3.1 Hojas enfermas

El material vegetal enfermo se lo sometió a la llamada cámara húmeda, que consiste en un recipiente de vidrio o plástico, en donde se colocan toallas de papel humedecidas con 3-5 ml de agua destilada estéril para aumentar el nivel de humedad de la cámara verificando que no quede muy húmedo ni muy seco (Agrios, [sin fecha], p. 33). Luego se las mantuvo en una incubadora con una temperatura constante de 28°C sin fotoperiodo hasta que comience el micelio a aparecer sobre el tejido vegetal, después se sembró el micelio en cajas Petri con medio de cultivo PDA hasta que las colonias aparezcan, cuando se desarrollaron y no por completo se procedió a individualizarlas, separando los morfotipos por su color, textura etc., posterior a ello se repicaron en 3 cajas diferentes por morfotipo en las cuales se pudo medirlas, identificarlas y conservarlas.

2.3.3.2 Hojas sanas

El material vegetal desinfectado se colocó en papel absorbente estéril y una caja Petri de igual forma estéril para realizar el procedimiento, se tomó un nomófilo en donde realizamos 5 cortes de forma cuadrada en cualquier parte de la hoja evitando los bordes con ayuda de un bisturí y

una pinza, tratando de que no superen los 0,5 cm² de superficie, a continuación cada cuadrado se colocó de manera equidistante en una caja Petri con medio de cultivo PDA, para que al tener contacto el material vegetal con el medio pueda colonizar el microorganismo. Se coloca en la incubadora hasta cuando se observó el desarrollo de micelio, identificamos los morfotipos por su textura, color, etc., de esta manera se individualizó cada morfotipo con 3 repeticiones por cada uno logrando así medirlas, conservarlas e identificarlas (Couto y Goncalves, 2016).

2.3.4 Conservación de morfotipos

Se conservó los morfotipos con el método Castellani que se basa en colocar al cultivo en agua destilada estéril dentro de unos tubos pequeños, esto garantiza la preservación adecuada de hongos filamentosos durante un periodo largo de tiempo, asegurando pureza, viabilidad y estabilidad morfológica (Panizo et al., 2005), se usaron tubos eppendorf de 5ml para colocar los discos de cada morfotipo.

2.3.5 Identificación de morfotipos

2.3.5.1 Hojas enfermas

La identificación de las colonias individualizadas se lo realizó por el método de microcultivo (Fig. 6-2.) todo en condiciones asépticas, consistió que en un recipiente de vidrio o plástico se coloca papel absorbente en la base y lo humedecemos con agua destilada estéril (HR 90 %), sobre él situamos una varilla de cristal en forma de “V” para que sirva de apoyo de la placa portaobjetos, dicha placa se la sumergió en medio de cultivo 2 veces para poder transferir el hongo allí, con ayuda de un aza de transferencia que la esterilizamos en el mechero hasta tenerla al rojo vivo, se inoculó el hongo en el medio de cultivo de la placa portaobjetos, luego se ubicó sobre la varilla de vidrio y finalmente se tapó (Hernandez y Monter 2013, p. 64).

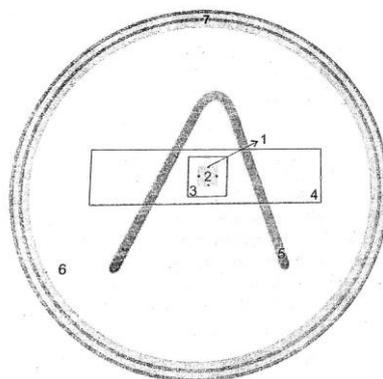


Figura 2-2: Preparación de microcultivos: 1-Micelio; 2- Medio de cultivo; 3-Placa cubre objetos; 4-Placa porta objetos; 5-Vidrio fusible; 6-Papel filtro humedecido; 7-Placa Petri.

Fuente: Couto, A; Goncalves, R. 2016, p. 216

Se colocó la caja Petri debajo de la luz UV y luz blanca para producir la esporulación, así se desarrolló sobre el medio de cultivo, y al cabo de unos días fueron llevadas al microscopio, con ayuda de lactofenol se tiñeron las colonias siendo posible identificarlas y finalmente se las fotografió (Hernandez y Monter 2013, p. 66).

Cabe mencionar que los hongos inoculados en las placas portaobjetos para que produzcan esporas y se los pueda identificar se los sometió a una cámara de esporulación en la que se tiene totalmente oscuridad en donde se les proporcionó un fotoperiodo de luz blanca (visible) y luz ultravioleta cercana (longitud de onda 400-320 nm) con 12 horas de fotoperiodo (Alaniz, S. 2012).

2.3.5.2 Hojas sanas

Se colocó una de las 3 cajas Petri que fueron repicadas en luz UV y luz blanca para inducir a la esporulación, al cabo de unos 8 días se usó la técnica de láminas preparadas con cinta adhesiva, que consistió en tomar un pedazo de cinta y ponerla sobre el micelio desarrollado causando una ligera presión por varios segundos, luego se retiró la cinta con ayuda de una pinza, en la placa portaobjetos se colocó una gota de lactofenol y sobre él se ubicó la cinta con micelio para poder teñir las colonias, de esta manera pudimos identificarlas bajo el microscopio (Couto y Goncalves 2016, p. 211).

CAPÍTULO III:

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización cultural de los aislados de hojas.

3.1.1 Crecimientos radiales obtenidos de los morfotipos identificados

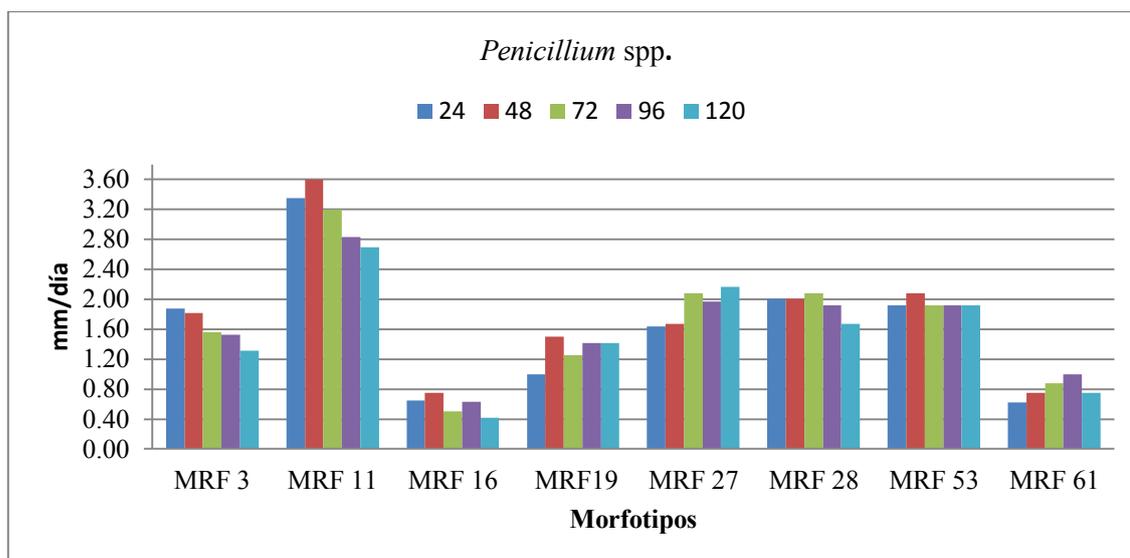


Gráfico 1-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de los morfotipos pertenecientes a *Penicillium* spp a partir de hojas sanas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

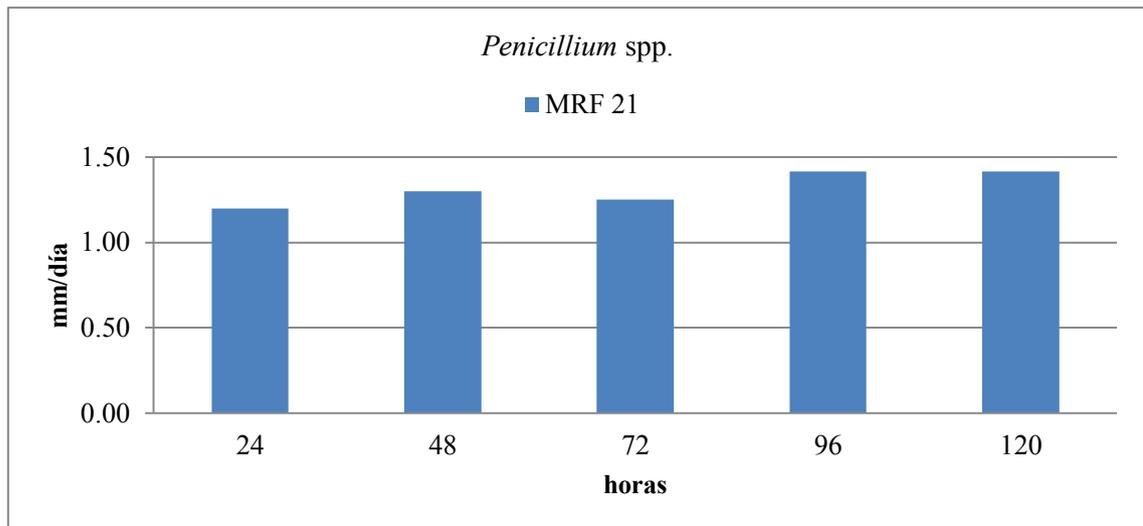


Gráfico 2-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de *Penicillium* spp a partir de hojas enfermas

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Penicillium* spp., desarrollados en medio de cultivo PDA mostraron un rápido crecimiento en el morfotipo 11 (**Gráfico 1-3**), alcanzando 3,35 mm en las primeras 24 horas y el mayor crecimiento a las 48 horas con un promedio de 3,6 mm. Por otro lado, el morfotipo 16 y 61 tuvieron menor desarrollo, ya que alcanzaron 0,75 mm a las 48 horas y 1,00 mm a las 96 horas de crecimiento respectivamente como máximo crecimiento.

Penicillium spp, presentó un mayor número de morfotipos (**Gráfico 1-3**). Macroscópicamente las colonias son normalmente de crecimiento rápido (DataBio 2017). Dado a que presentó varios morfotipos indica un gran acople y desarrollo del género en la especie estudiada, es un género que no se ve afectado por la incidencia de la luz y es de fácil esporulación, de esta manera tiene ventaja sobre otros microorganismos (Corea, 2007; citado en Mendoza y Torres 2016)

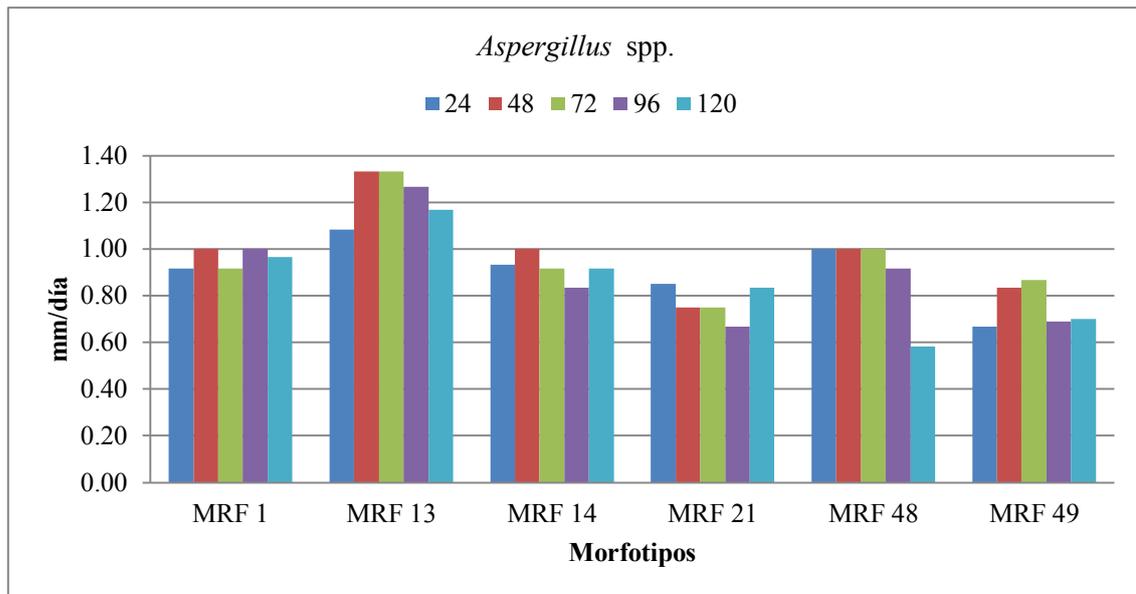


Gráfico 3-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de los morfotipos pertenecientes a *Aspergillus* spp a partir de hojas sanas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Aspergillus* spp., cultivados en medio PDA mostraron que el morfotipo 13 alcanzó el mayor desarrollo a las 48 horas con un promedio de 1,33 mm y manteniéndose hasta las 72 horas. Por otro lado, los morfotipos 49 y 21 presentaron el menor desarrollo manteniéndose en un rango de 0,67 a 0.89 mm/día y de 0,67 a 0,85 mm/día.

Este tipo de género se puede decir que son hongos cosmopolitas que tienen alrededor de 600 especies y si bien tiene un desarrollo más veloz que otros géneros, de igual forma tarda más tiempo en producir esporas, las mismas que son muy resistentes a la luz y agentes químicos (Hocking, 2006; citado en Pereira, 2014, p.1). Cabe mencionar que en este género hay pocos o nulas investigaciones con respecto a su rol como endófitos (Serrato, 2019,p.21).

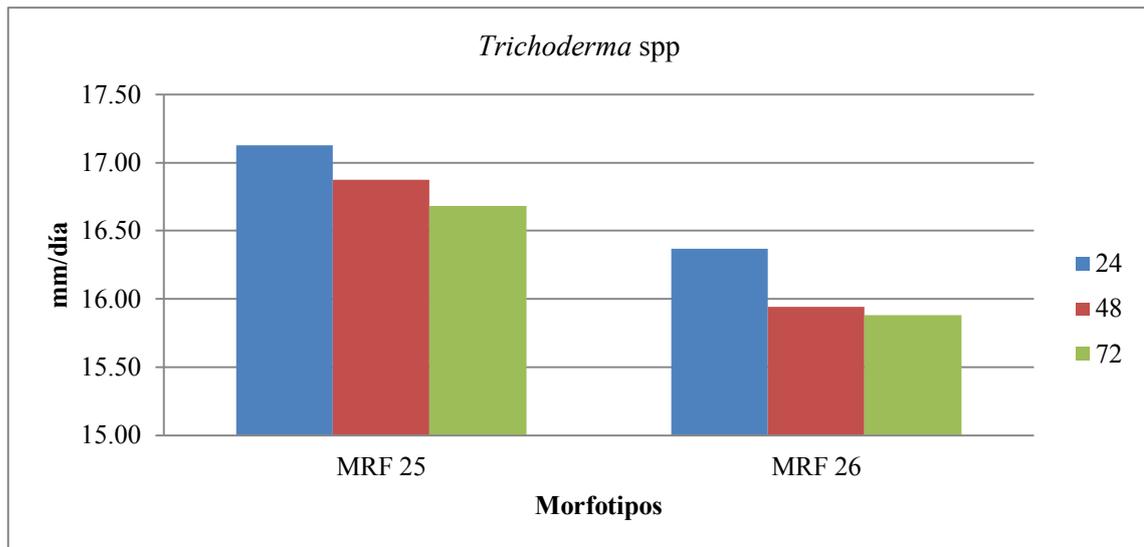


Gráfico 4-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de los morfotipos pertenecientes a *Trichoderma* spp a partir de hojas sanas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Trichoderma* spp., cultivados en medio PDA mostraron al morfotipo 25 como el que alcanzó el mayor desarrollo a las 24 horas con un promedio de 17,13 mm a las 72 horas logrando cubrir el total de la caja Petri, en el caso del morfotipo 26 se mantiene en un rango de 15,88 mm a 16,37 mm de igual manera logrando a las 72 horas cubrir el total de la caja Petri.

Como observamos en el **(Gráfico 4-3)**, existe una clara diferencia en el desarrollo de los morfotipos identificados de este género, esto se puede deber a varios factores, uno de ellos puede ser al ambiente en el que fueron inoculados, lo que concuerda con (Carreras et al. 2012; citados en Ortuño, Miranda y Claros, 2013) quienes manifiestan que el ambiente juega un papel importante para la diferenciación y crecimiento de dicho género. De igual manera García (2017) manifiesta en su investigación que obtuvo una diferencia significativa en el crecimiento de morfotipos de dicho género, notando que al tercer día, dos de sus cepas ya habían logrado cubrir el total de la superficie de la caja Petri con 9 cm de radio a una temperatura de 25°C, considerando que la velocidad de crecimiento es un atributo significativo en este género debido a que le permite colonizar con rapidez el medio utilizado.

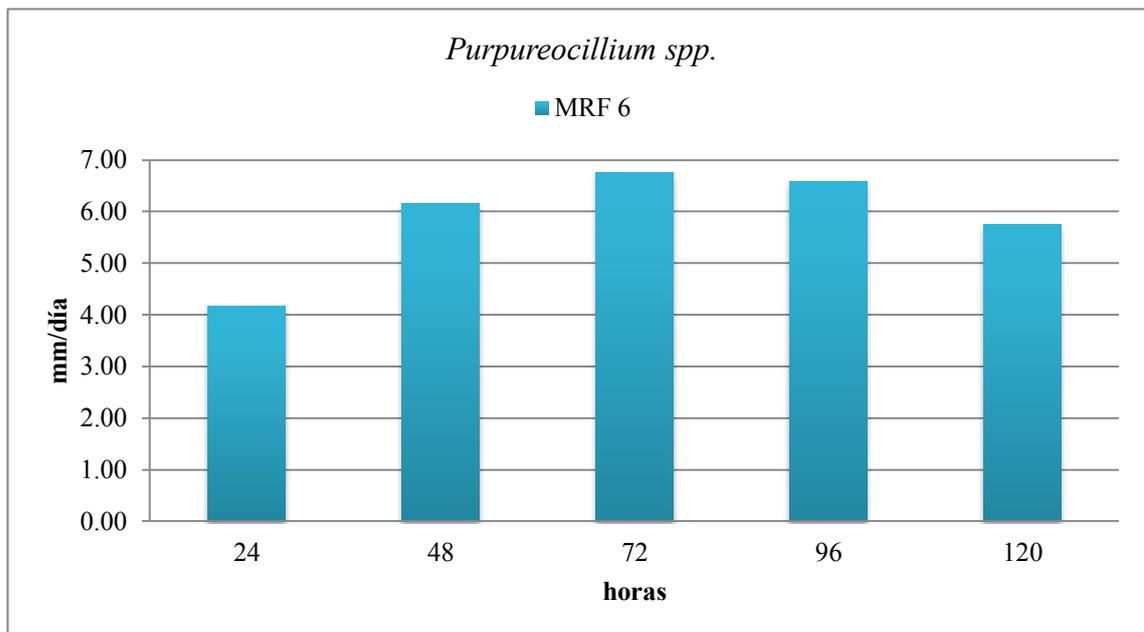


Gráfico 5-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de *Purpureocillium* spp a partir de hojas sanas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Purpureocillium* spp., cultivados en medio PDA revelaron el morfotipo 6 con un desarrollo de 4,17 mm a las 24 horas, llegando al mayor progreso a las 72 horas con un promedio de 6,75 mm.

Las colonias descritas por Luangsa-ard et al.,(2011) coinciden con lo observado, dichas colonias del género *Purpureocillium* spp son de crecimiento moderado rápido, como se puede observar en el **Gráfico 55-3**. Cabe mencionar que las colonias tienden a desarrollarse en una temperatura de 8 a 38°C, teniendo un crecimiento adecuado en un rango entre 26 y 30 °C (Vinces, 2019, p.8).

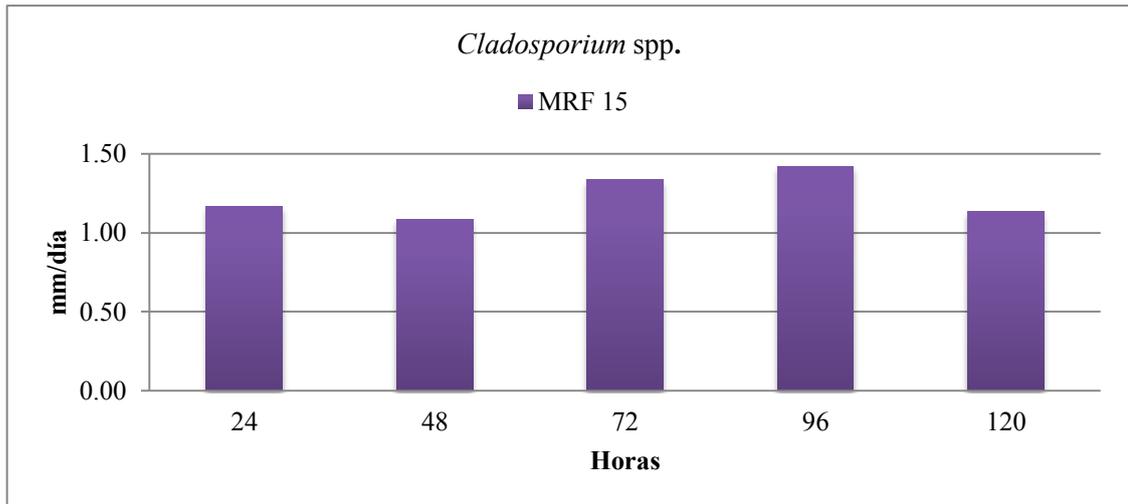


Gráfico 6-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de *Cladosporium* spp a partir de hojas sanas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Cladosporium* spp., cultivados en medio de PDA revelaron el morfotipo 15 con un desarrollo de 1,17 mm a las 24 horas, llegando al mayor progreso a las 96 horas con un promedio de 1,42 mm, mientras que el crecimiento a las 120 horas fue menor con 1,13 mm.

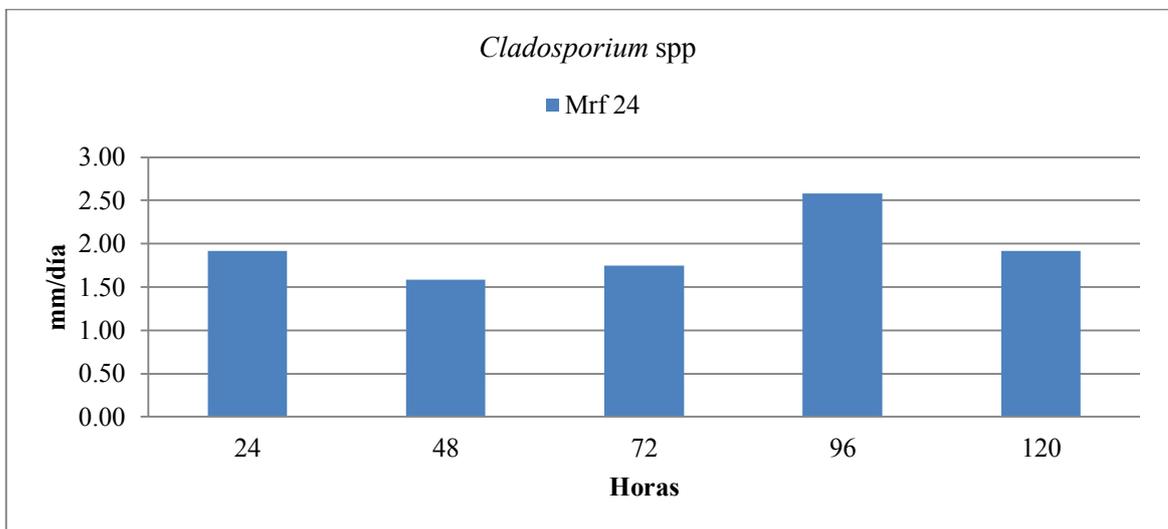


Gráfico 7-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de *Cladosporium* spp a partir de hojas a partir de hojas enfermas .

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Cladosporium* spp., cultivados en medio de PDA

revelaron el morfotipo 24 con un crecimiento micelial a las 24 horas de 1,92 mm alcanzando el mayor crecimiento a las 96 h con 2,58 mm manteniéndose en un rango de 1,52 mm a 2,58 mm/día.

La investigación realizada por Delgado, Castaño y Villegas (2013) indica que los morfotipos estudiados estuvieron en un medio controlado de 24 °C sin luz por 12 días para inducir a la esporulación de estos aislados, indicando que la tasa de crecimiento diaria es de 0,270833 cm/día que concuerda con lo realizado ya que si lo llevamos a milímetros llega al rango indicado.

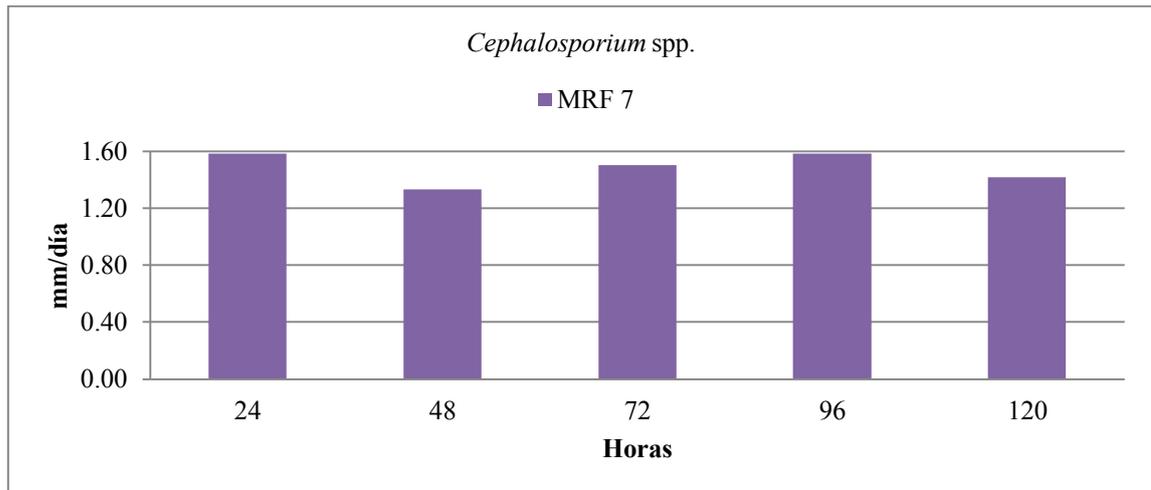


Gráfico 8-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de *Cephalosporium* spp a partir de hojas sanas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Cephalosporium* spp, cultivados en medio PDA revelaron que el morfotipo 7 alcanza el máximo desarrollo a las 24 horas con 1,58 mm, al igual que a las 96 horas. Por otro lado, el menor desarrollo lo obtuvo a las 48 y 120 horas con 1,33mm y 1,42 mm respectivamente.

El morfotipo del género identificado como *Cephalosporium* spp alcanzó el máximo desarrollo a las 24 horas en un medio controlado temperaturas entre 25 y 28°C, lo que concuerda con la investigación desarrollada por Mostacero (2019) quien incubó y observó a las 24, 48 y 72 horas que el crecimiento radial en la caja Petri no tuvo tanta expansión, como en este caso que se mantiene en un rango de crecimiento de 1,33mm a 1,58 mm/día.

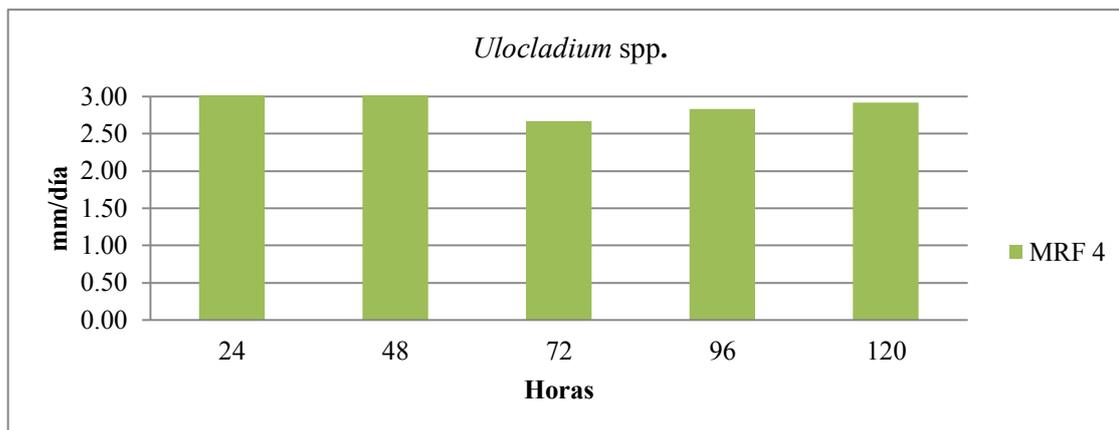


Gráfico 9-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de *Ulocladium spp* a partir de hojas sanas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

En las hojas sanas se obtuvo que el promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Ulocladium spp*, cultivados en medio PDA revelaron que el morfotipo 4 alcanza el máximo desarrollo a las 24 horas con 3,25 mm, y 3,08 mm a las 48 horas. Por otro lado, el menor desarrollo lo obtuvo a las 72 y 96 horas con 2,67 mm y 2,83 mm respectivamente.

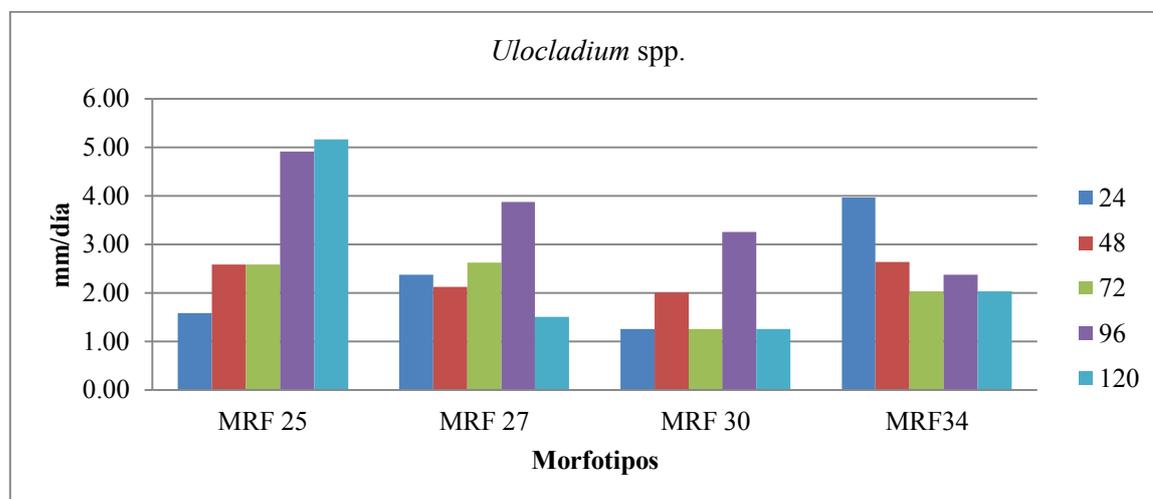


Gráfico 10-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de morfotipos pertenecientes a *Ulocladium spp* a partir de hojas enfermas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

En hojas enfermas el promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Ulocladium spp*, cultivados en medio PDA mostraron que el morfotipo 25 alcanzó el mayor desarrollo a las 120 horas con un promedio de 5,17 mm y menor desarrollo a las 24 horas con 1,58 mm. Por otro lado, el

morfotipo 30 presentó el menor desarrollo, alcanzando su máximo incremento a las 96 horas con 3,25 mm.

En el gráfico **Gráfico 9-3** y **Gráfico 10-3** los morfotipos alcanzan su mayor desarrollo en diferentes tiempos o que otros días crecen menos, esto concuerda con (Vásquez, Piontelli y Gonzáles (2003) quien menciona en los resultados de su investigación que las características de las colonias a lo largo y ancho disminuyen casi sin excepción, debido a un aumento de la tendencia a la esfericidad, que viene siendo una característica del género en edad adulta.

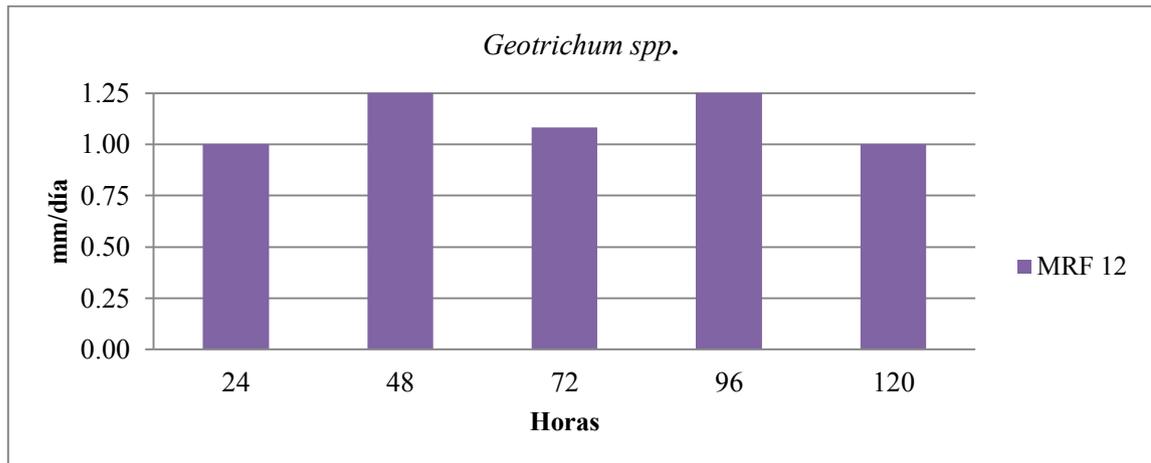


Gráfico 11-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de *Geotrichum spp* a partir de hojas sanas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Geotrichum spp*, cultivados en medio PDA revelaron el morfotipo 12 alcanzando el máximo desarrollo a las 48 y 96 horas con un promedio de 1,26 mm en ambos casos. Por otro lado, el menor desarrollo lo obtuvo a las 24 y 120 horas con 1,0 mm en ambos casos.

El crecimiento radial observado en el morfotipo 12 es casi constante con el pasar de los días de en el medio de cultivo, lo que concuerda con la investigación desarrollada por Ochoa (2004) quien menciona que *Geotrichum spp* es morfológicamente reconocido como un género que posee un crecimiento rápido y expansivo, con ramificaciones amplias, con micelio bien desarrollado, el crecimiento óptimo es entre 25 y 30° C pero cabe mencionar que puede crecer en condiciones con muy baja extensión de oxígeno pero no en condiciones anaeróbicas (Pitt, et al.; citados en Ochoa ,2004).

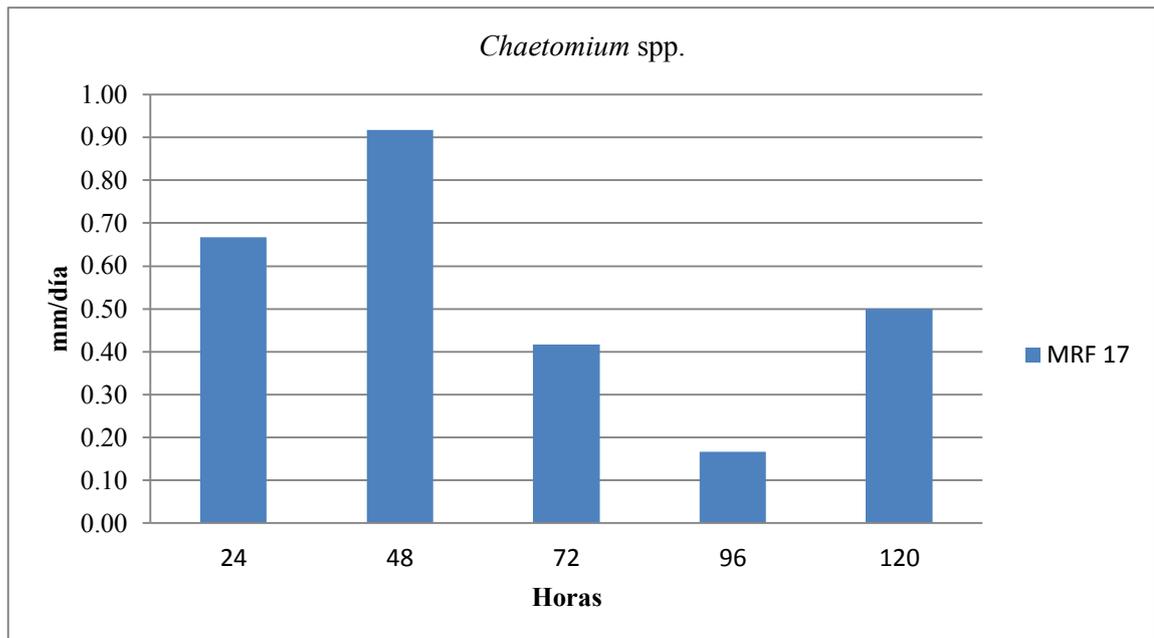


Gráfico 12-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de *Chaetomium* spp a partir de hojas sanas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Chaetomium* spp, cultivados en medio PDA revelaron el morfotipo 17 alcanzando el máximo desarrollo a las 48 horas con un promedio de 0,92 mm. Por otro lado, el menor desarrollo lo obtuvo a las 96 horas con 0,17 mm.

El morfotipo 17 del género identificado como *Chaetomium* spp cultivado en un medio PDA alcanzó el máximo desarrollo a las 48 horas con un crecimiento radial corto, en un ambiente controlado, lo que concuerda en la investigación de Lezcano, Martínez y Alonso (2009), quienes detallan que el crecimiento de las colonias fue lento durante la incubación a 25°C, respectivamente, con crecimiento aéreo escaso.

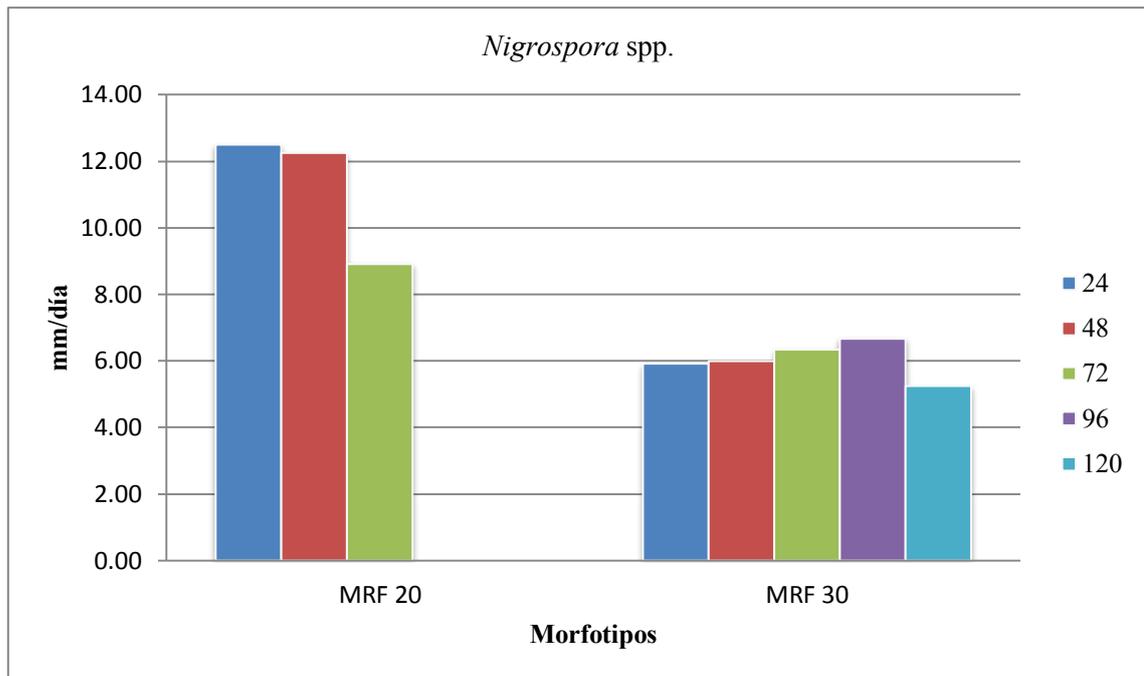


Gráfico 13-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de *Nigrospora* spp a partir de hojas sanas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Nigrospora* spp, cultivados en medio PDA revelaron que el morfotipo 20 alcanzó un desarrollo superior al del morfotipo 30, logrando el máximo crecimiento a las 24 horas con un promedio de 12,5 mm y deteniéndose a las 72 horas con 8,3 mm. Mientras que en el morfotipo 30 hubo crecimiento hasta las 120 horas con un promedio de manteniéndose en un rango de 5-6 mm, alcanzando el máximo incremento a las 96 horas con 6,67 mm.

El género identificado como *Nigrospora* spp mostró dos morfotipos ya que como menciona Zambrano y Torres (2016) en su informe este hongo es considerado un patógeno débil, atacando plantas susceptibles, en la mayoría de los casos se encuentra como saprofito y en ocasiones actúa como endófito. Como se observa en el **(Gráfico 13-3)** el morfotipo 20 alcanzó el máximo desarrollo a las 24 horas, en un medio PDA con temperaturas entre 25 y 28°C, lo que concuerda con Carbajal (2017) quién dejó incubar a temperatura ambiente cepas de este género hasta obtener colonización del hongo, nos presenta que las curvas de crecimiento de las colonias de *Nigrospora* spp alcanzaron sus máximos crecimientos con 6,88mm y 2,74mm en las primeras horas de inoculación y a partir de la cual mantuvieron los mismos valores asintóticos hasta la 30ava evaluación.

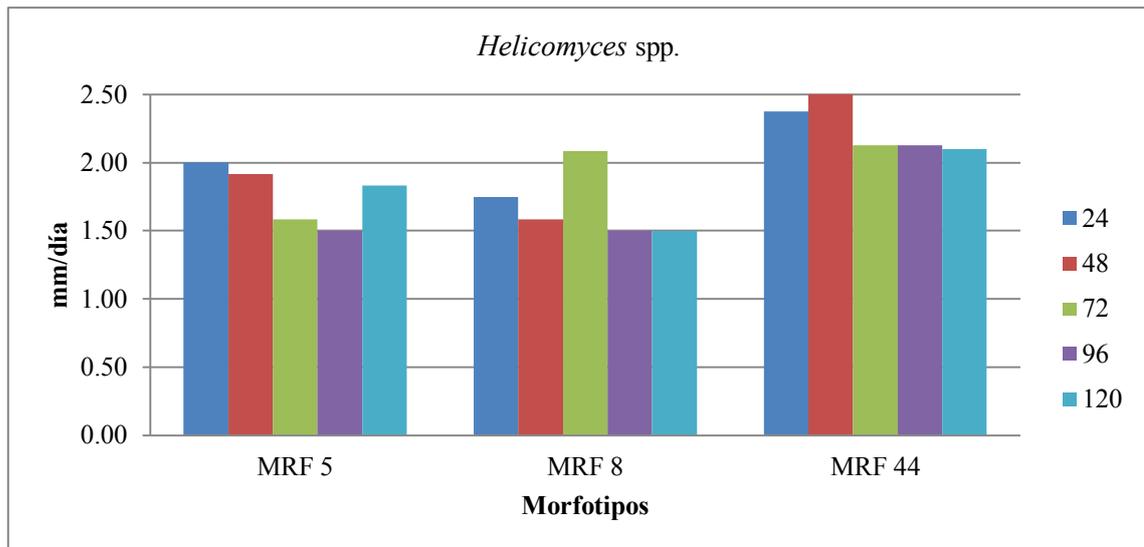


Gráfico 14-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de *Helicomyces* spp a partir de hojas sanas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Helicomyces* spp., cultivados en medio PDA mostraron que el morfotipo 44 alcanzó el mayor desarrollo a las 48 horas con un promedio de 2,5 mm y menor desarrollo a las 120 horas con 2,1 mm. Por otro lado, el morfotipo 5 y 8 tuvieron similares resultados, el morfotipo 8 presentó el mayor desarrollo a las 72 horas con 2,08 mm y el morfotipo 5 a las 24 horas con 2 mm.

El género identificado como *Helicomyces* spp., mostró varios morfotipos alcanzando el máximo desarrollo a las 24, 48 y 72 horas en la mayoría de morfotipos en un medio PDA controlado con temperaturas entre 25 y 28°C (**Gráfico 14-3**), lo que concuerda con Boonmee et al. (2014) quienes mencionan que es un género de rápido desarrollo en medio PDA y soporta temperaturas hasta 30°C.

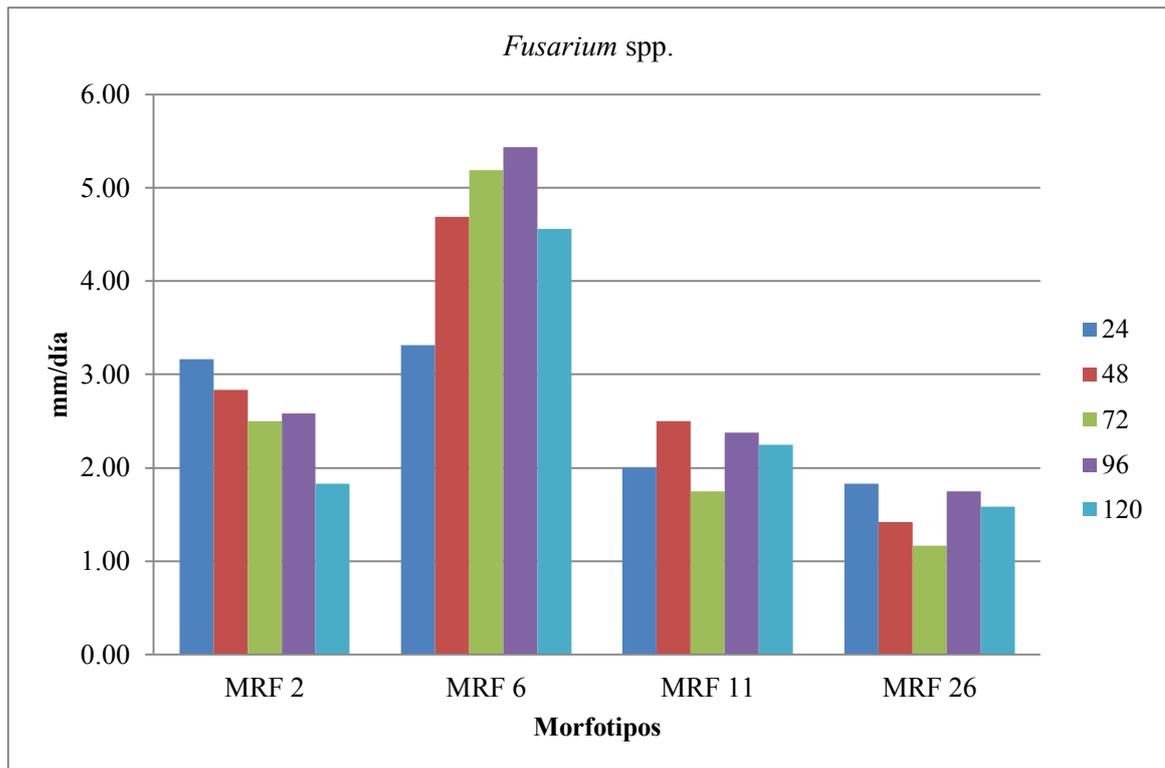


Gráfico 15-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de morfotipos pertenecientes a *Fusarium spp.*, a partir de hojas enfermas

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Fusarium spp.*, cultivados en medio PDA mostraron que el morfotipo 6 alcanzó el mayor desarrollo a las 96 horas con un promedio de 5,44 mm y menor desarrollo a las 24 horas con 3,31 mm. Por otro lado, el morfotipo 26 presentó el menor desarrollo, alcanzando su máximo incremento a las 24 horas con 1,83 mm.

El género identificado como *Fusarium spp.*, mostró varios morfotipos alcanzando el máximo desarrollo a las 24 y 48 horas en la mayoría de morfotipos en un medio PDA controlado con temperaturas entre 25 y 28°C (**Gráfico 15-3**), lo que concuerda con Mostacero (2019) quién incubó este hongo en medio de cultivo PDA, desarrollando micelio de color blanco con crecimiento radial en las primeras 48 horas a 22° C, demostrando que el crecimiento fue rápido. Además añade que las diferentes especies de este género tienen razas fisiológicas que muestran virulencia, en diferentes grados; este aislamiento posiblemente tiene comportamiento saprófito, como lo menciona Roncal (2004; citado en Mostacero, 2019) además este aislamiento se encontró junto con *Cephalosporium spp.*

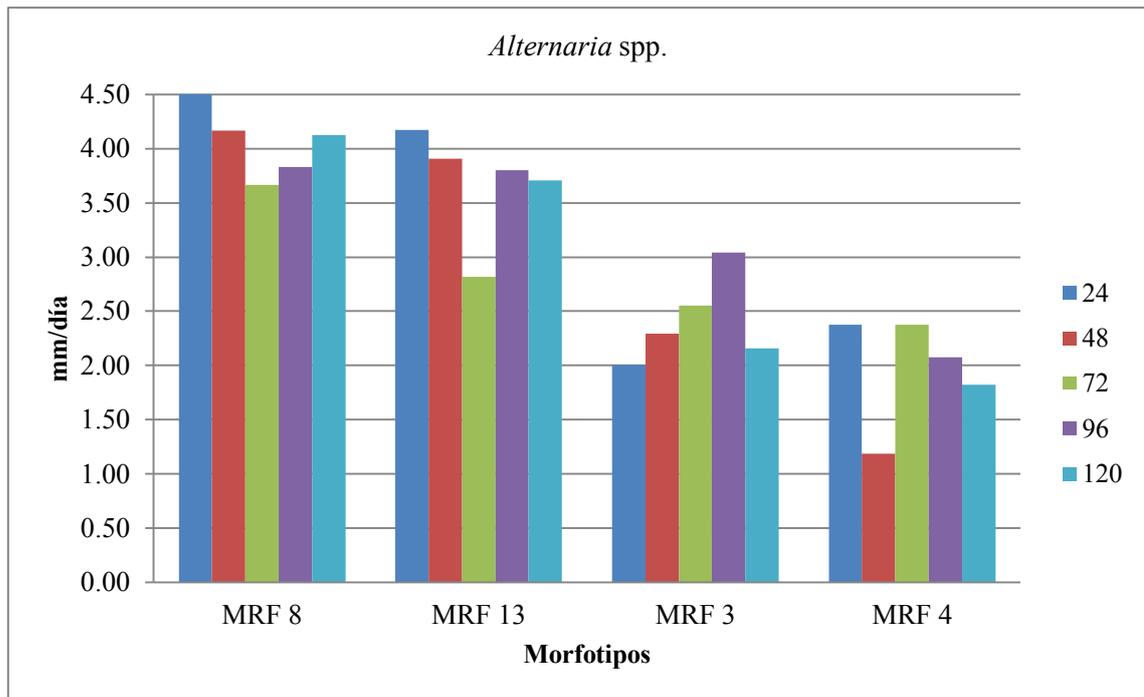


Gráfico 16-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de morfotipos pertenecientes a *Alternaria* spp., a partir de hojas enfermas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Alternaria* spp., cultivados en medio PDA mostraron que el morfotipo 8 alcanzó el mayor desarrollo a las 24 horas con un promedio de 4,5 mm y menor desarrollo a las 72 horas con 3,67 mm. Por otro lado, el morfotipo 4 presentó el menor desarrollo, alcanzando su máximo incremento a las 24 y 72 horas con 2,38 mm en ambos casos.

El género identificado como *Alternaria* spp., mostró varios morfotipos alcanzando el máximo desarrollo a las 24 y 48 horas en un medio PDA controlado con temperaturas entre 25 y 28°C (**Gráfico 16-3**), lo que concuerda con la investigación desarrollada por Mostacero (2019) quién incubó este hongo en medio de cultivo PDA, desarrollando micelio de color gris claro en las primeras 48 horas a 22° C demostrando que el crecimiento fue rápido. Además añade que esta especie se caracteriza, por ser un hongo necrótrofo; para alimentarse, primero mata al hospedero; razón por lo que se tomaron muestras de tejido muerto del área infectada.

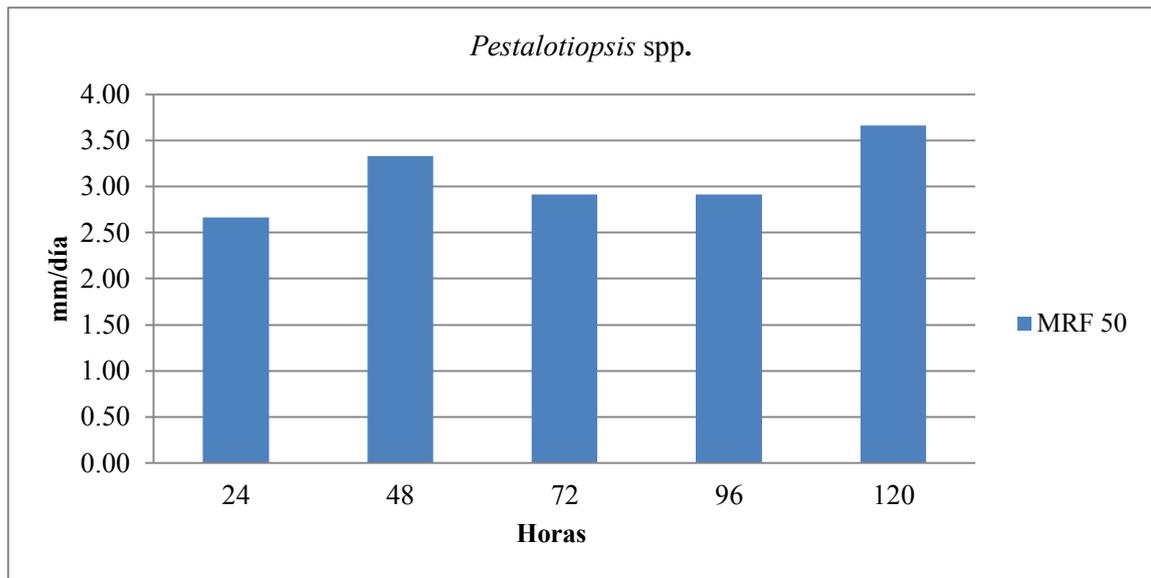


Gráfico 17-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de morfotipos pertenecientes a *Pestalotiopsis* spp. a partir de hojas enfermas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El promedio de velocidad de crecimiento micelial radial (mm/día) evaluado cada 24 horas de colonias de hongos identificados como *Pestalotiopsis* spp, cultivados en medio PDA mostraron que el morfotipo 50 alcanza el mayor crecimiento a las 120 horas con 3,67 mm y el menor crecimiento se observa a las 24 horas con 2,67 mm, manteniéndose en un rango de 2-3 mm.

El género identificado como *Pestalotiopsis* spp, mostró el crecimiento radial en un rango de 2,67 a 3,67 mm/día, en medio PDA controlado con temperaturas entre 25 y 28°C (**Gráfico 17-3**), lo que concuerda con la investigación desarrollada por Morales et al. (2020) donde menciona que la velocidad de crecimiento puede ser de 0.94 ± 0.08 cm/día y una tasa de desarrollo micelial promedio de 0.28 ± 0.027 mm h⁻¹.

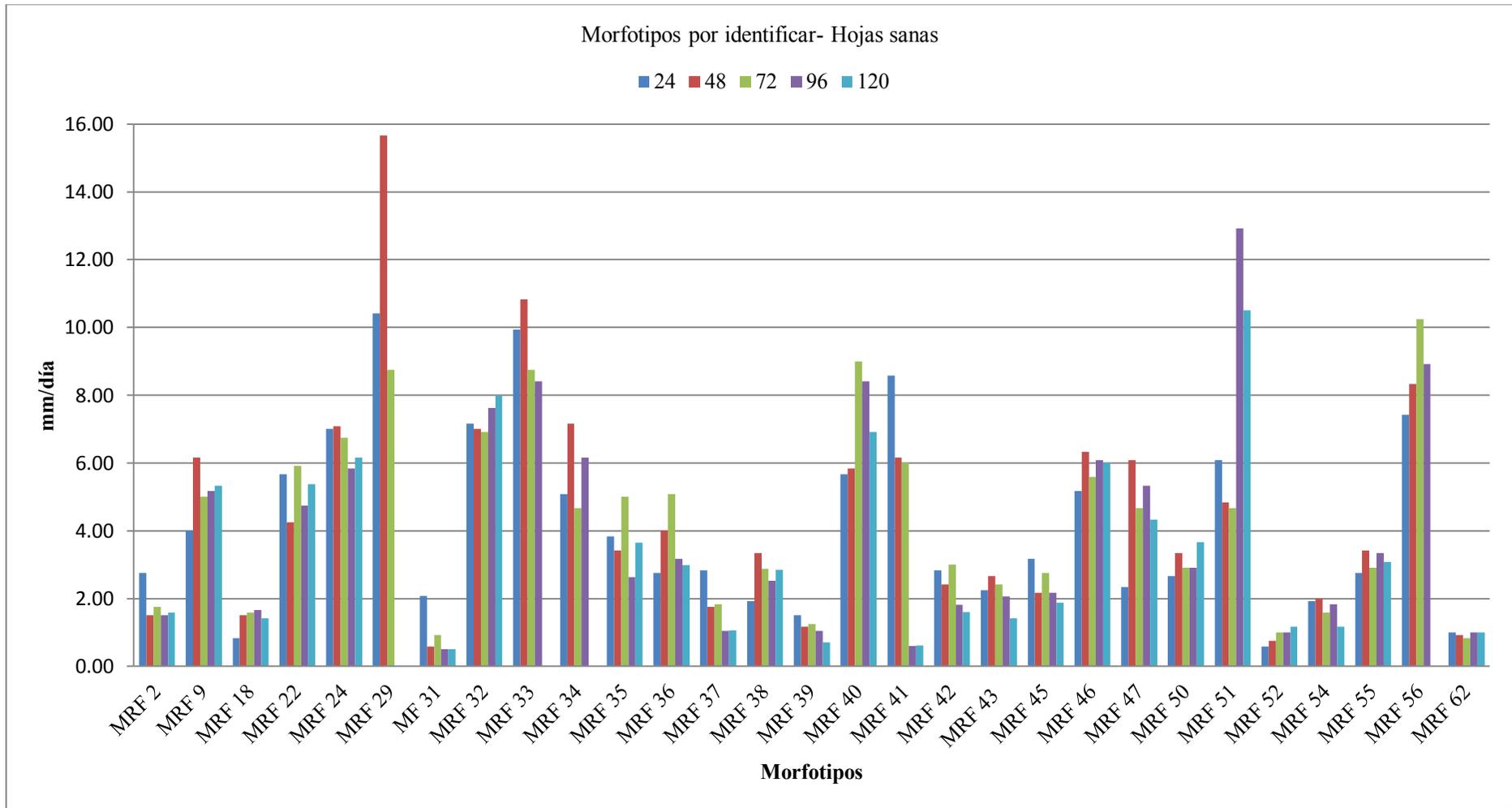


Gráfico 18-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de morfortipos por identificar a partir de hojas sanas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

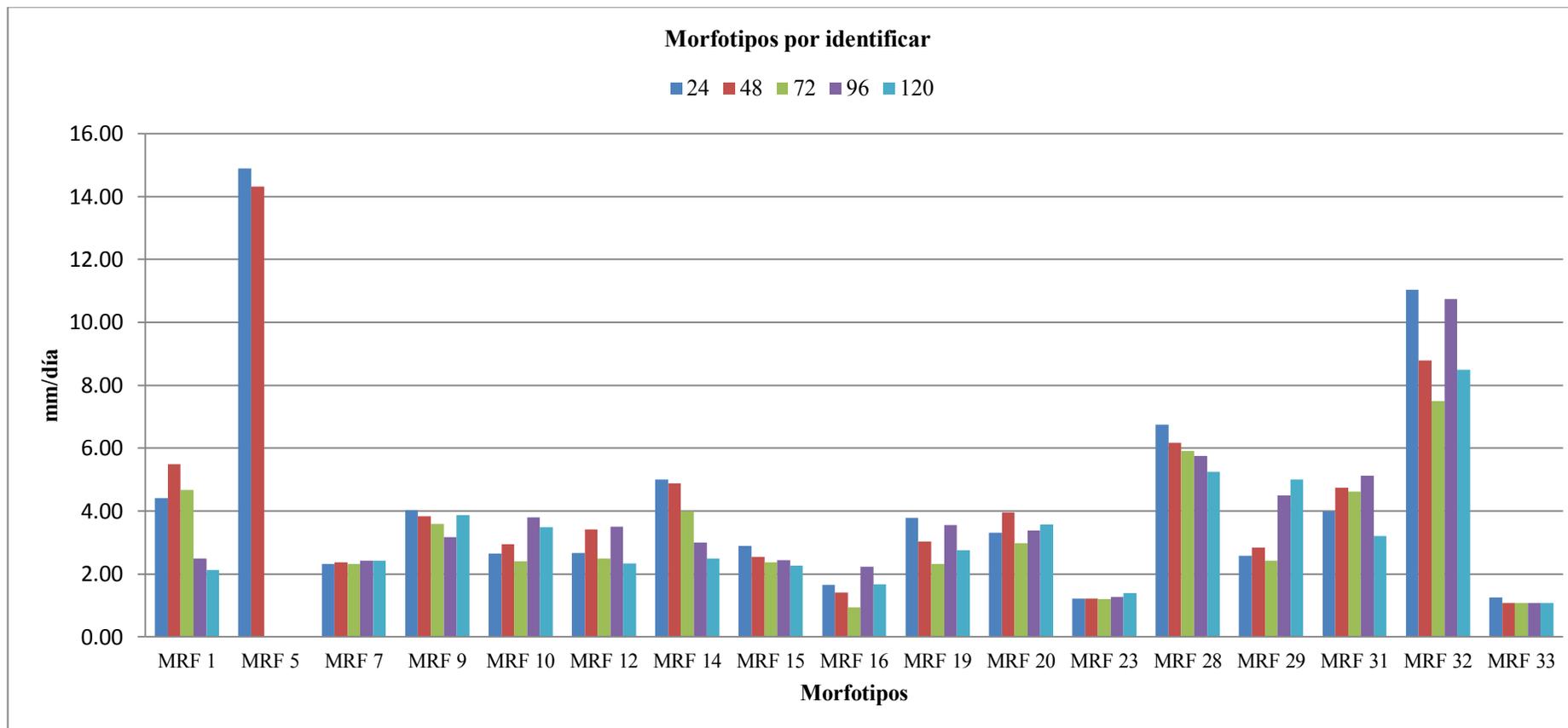


Gráfico 19-3: Crecimiento radial en mm a través del tiempo (24, 48, 72, 96, 120 h) de morfortipos por identificar a partir de hojas enfermas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El crecimiento radial de los morfortipos sin identificación son variados, van desde crecimiento lento a muy rápido, al no tener identificación no se puede realizar la discusión y comparación con autores o investigaciones realizadas.

3.1.1 Identificación y descripción de microorganismos fúngicos obtenidos a partir de hojas sanas

Morfotipo –N: *Penicillium* spp.

Las colonias de hongos identificados como *Penicillium* spp. (Mrf-N, ver **Tabla 1-3**), desarrollados en medio de cultivo PDA, presentan formas variadas tales como irregulares y circulares, en el caso de la elevación se tiene la plana, poco elevada y umbilicada, los márgenes son enteros, rizoides u ondulados, superficie con surcos radiados o plegada, textura aterciopelada y algodonosa (**Tabla 1-3**), los colores del anverso varían destacando el verde ya sea oscuro o grisáceo, así como un todo café o crema blanquecino (**Figura 1-3**)

Tabla 1-3: Características culturales de los morfotipos identificados como *Penicillium* spp.

| Morfotipos | Forma | Elevación | Margen | Superficie | Textura | Color anverso* | Color reverso* | Pigmento difusible en el medio |
|------------|-----------|--------------|----------|---------------------|---------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| MRF 3 | Irregular | Umbilicada | Rizoide | Con surcos radiados | Aterciopelada | Crema blanquecino (229-158-160) | Blanco (11-0507) | - |
| MRF 11 | Circular | Plana | Rizoide | Plana | Algodonosa | Verde oscuro (5595) | Verde grisáceo claro (351) | - |
| MRF 16 | Circular | Plana | Ondulado | Con surcos radiados | Aterciopelada | Verde grisáceo (5635) | Verde oscuro amarillento (4495) | - |
| MRF 19 | Circular | Plana | Entero | Plana | Aterciopelada | Verde grisáceo (558) | Marrón verdoso (5825) | - |
| MRF 27 | Irregular | Poco elevada | Entero | Con surcos radiados | Aterciopelada | Café claro (475) | Café oscuro (465) | - |
| MRF 28 | Circular | Poco elevada | Entero | Plana | Algodonosa | Morado claro (182) | Blanco hueso (246231-221) | - |
| MRF 53 | Circular | Plana | Lobulado | Plana | Aterciopelada | Azul grisáceo (5425) | Café amarillento pálido (366) | - |
| MRF 61 | Circular | plana | Entero | Plana | Aterciopelada | Verde oscuro (5565) | Verde azulado (571) | - |

* Escala de colores Pantone para la descripción

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

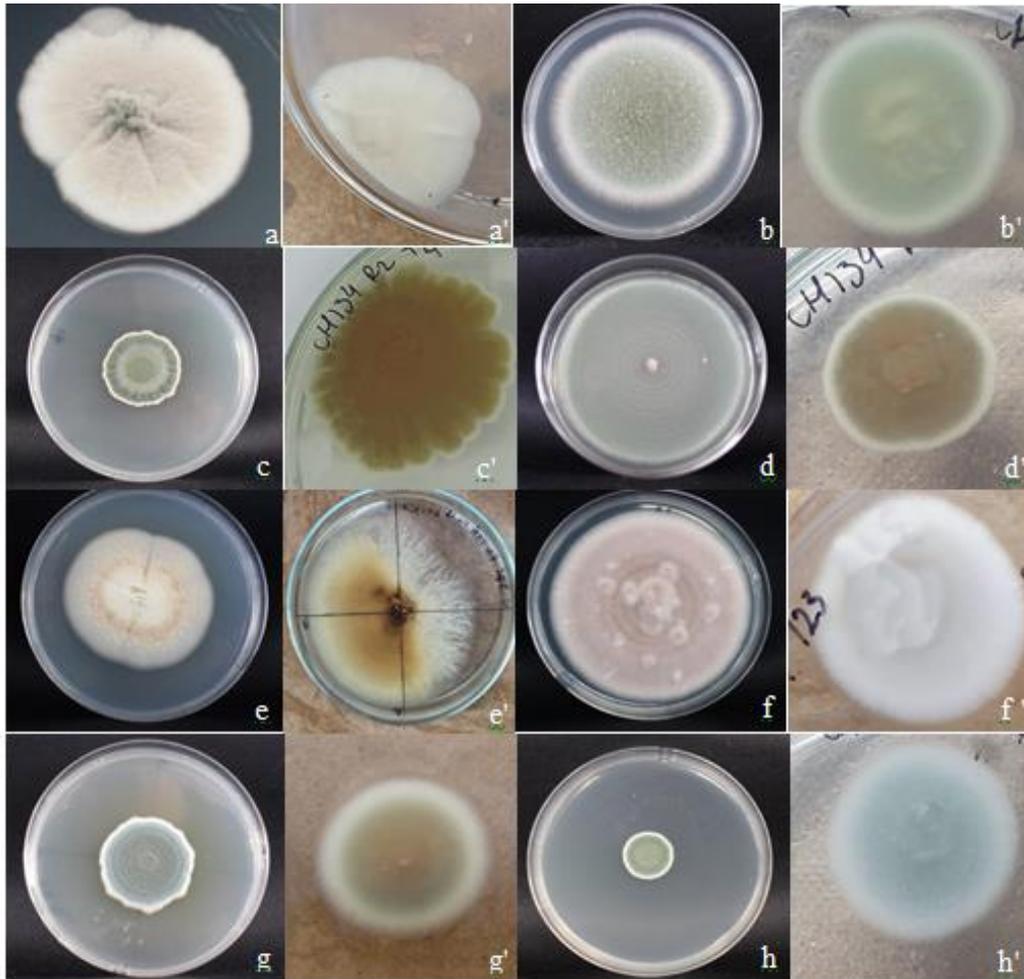


Figura 1-3: Características culturales de *Penicillium* spp. Mrf 3 (a-a'), Mrf 11 (b-b'), Mrf 16 (c-c'), Mrf 19 (d-d'), Mrf 27 (e-e'), Mrf 28 (f-f'), Mrf 53 (g-g'), Mrf 61 (h-h').
Color del anverso de las colonias (a', b', c', d', e', f, g', h').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Los morfotipos descritos anteriormente coinciden a los descritos por Lezcano, Martínez y Alonso (2009), obteniendo en su estudio colonias de color verde grisáceo, a menudo con bordes de color blanco que llegan a tornarse verde grisáceo (**Figura 1-3**). También encontramos en otras especies colonias con colores como anaranjado, amarillo, pardo claro o púrpura, con superficies aterciopeladas, ligeramente algodonosa o con pequeños haces (fascículos) de conidióforos (Carrillo [sin fecha], p.62) (**Figura 1-3**).

El género *Penicillium* se caracteriza porque forma conidios en una estructura ramificada que se asemeja a un pincel que acaba en células conidiógenas llamadas fiálides (Carrillo [sin fecha]) (**Figura 2-3**), en el microscopio presentan hifas hialinas septadas, los conidióforos tienen ramas secundarias llamadas métulas, son de forma cilíndrica, con paredes lisas y portan de 3 a 6

fiálides en forma de matraz, cabe mencionar que de ellas surgen largas cadenas de esporas que no presentan ramificación o conidios que forman el penacho o pincel que caracteriza al género (DataBio, 2017) (**Figura 2-3**).

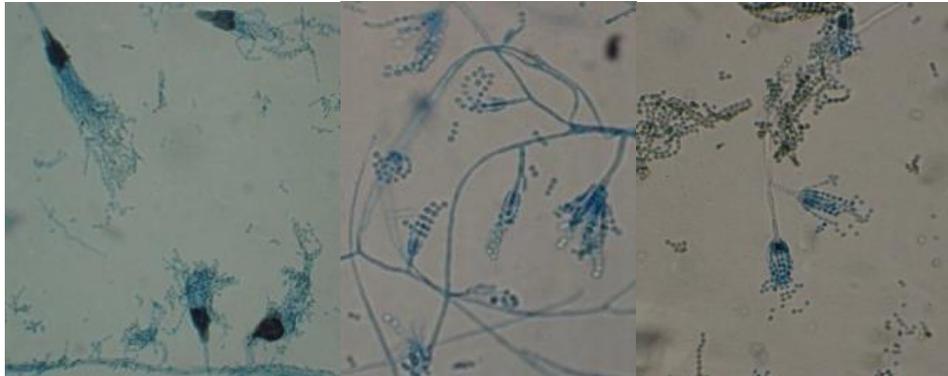


Figura 2-3: Vista bajo el microscopio para identificación de las colonias de *Penicillium* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipo –N: *Aspergillus* spp.

Las colonias de hongos identificados como *Aspergillus* spp. (Mrf-N, ver Tabla 2-3) desarrollados en medio de cultivo PDA, presentaron formas circulares e irregular, plana y umbilicada, márgenes ondulados y lobulados, superficie cerebriformes y planas, pulverulenta (Tabla 2-3), el color del anverso fue diverso desde gris verdoso, verde verde y verde oliva hasta durazno claro, de igual forma en el reverso tenemos varios como amarillo oscuro, blanco, crema oscuro, café oscuro y crema oscuro (Figura 38-3: Características culturales de *Aspergillus* spp. Mrf 1 (a-a'), Mrf 13 (b-b'),

Mrf 14 (c-c'), Mrf 21 (d-d'), Mrf 48 (e-e'), Mrf 49 (f-f'). Color del anverso de las colonias

(a', b', c', d', e', f'). **Figura 3-3**)

Tabla 2-3: Características culturales de los morfotipos identificados como *Aspergillus* spp.

| Morfotipos | Forma | Elevación | Margen | Superficie | Textura | Color anverso* | Color reverso* | Pigmento difusible en el medio |
|------------|----------|-----------|----------|------------|--------------|----------------|-----------------------|--------------------------------|
| MRF 1 | Circular | Plana | Ondulado | Plana | Pulverulenta | Verde (441) | Amarillo oscuro (584) | - |
| MRF 13 | Circular | Plana | Ondulado | Plana | Pulverulenta | Verde (5545) | Blanco (11-0203) | - |

| | | | | | | | | |
|--------|-----------|------------|----------|---------------------|--------------|----------------------------|---------------------|---|
| MRF 14 | Circular | Umbilicada | Ondulado | Con surcos radiados | Pulverulenta | Amarrillo anaranjado (475) | Crema oscuro (4655) | - |
| MRF 21 | Circular | Plana | Ondulado | Plana | Pulverulenta | Verde (5545) | Verde claro (5575) | - |
| MRF 48 | Circular | Plana | Lobulado | Con surcos radiados | Pulverulenta | Verde oscuro (5773) | Café oscuro (477) | - |
| MRF 49 | Irregular | Plana | Lobulado | Con surcos radiados | Pulverulenta | Verde oliva claro (582) | Crema oscuro (4645) | - |

* Escala de colores Pantone para la descripción

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

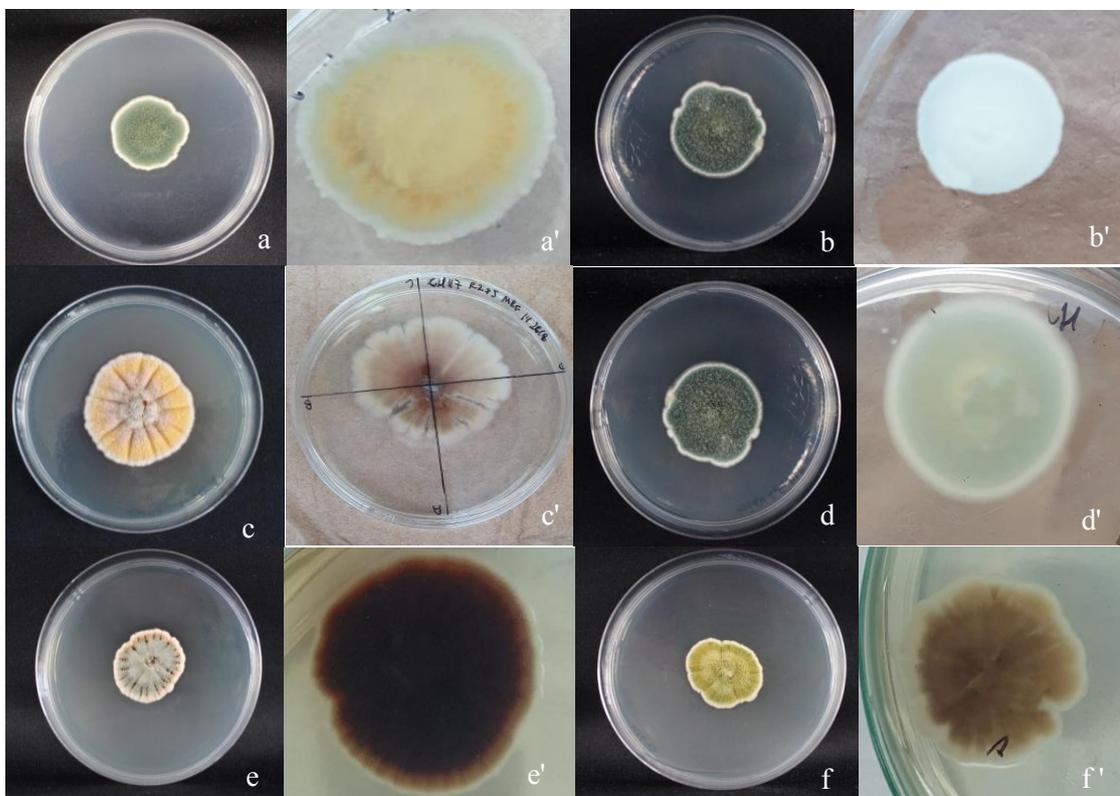


Figura 38-3: Características culturales de *Aspergillus* spp. Mrf 1 (a-a'), Mrf 13 (b-b'), Mrf 14 (c-c'), Mrf 21 (d-d'), Mrf 48 (e-e'), Mrf 49 (f-f'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d', e', f).

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Las colonias obtenidas fueron descritas también las menciona Rangel (2019) indicando que generalmente se presentan conidios de color verde oscuro, verde oliva u oliva, ocasionalmente superpuestos con áreas de color amarillo grisáceo hasta amarillo oliva (**Figura 3-3**); agregando

que cuando los esclerocios están presentes pueden ser de color marrón oscuro a negro de tamaño y forma variable, con una textura que va de lanosa a flocosa (Klich, 2002; citado en Rangel, 2019).

Aspergillus fue descrito en 1729 por primera vez por P.A. Micheli, quien demostró que la cabeza conidial de dicho hongo se parecía a un “aspergillum” que era un instrumento utilizado para dispersar agua bendita, mencionando que es un hongo filamentoso hialino ubicuo (Alcalá et al. 2015). En este género los conidios forman cadenas que se originan desde la célula conidiógena o fiálide. En algunas colonias de este hongo podemos encontrar células adyacentes a las fiálides denominadas métulas o células de soporte (Kozakiewicz, 1989; citado en Carrillo [sin fecha]) (**Figura 4-3**).

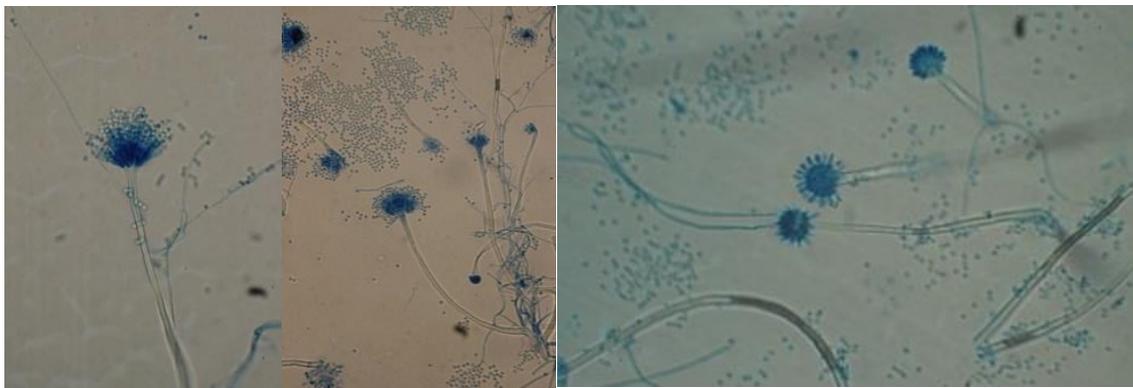


Figura 49-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Aspergillus* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipos –25 y 26: *Trichoderma* spp.

Las colonias fúngicas identificadas como *Trichoderma* spp. (Mrf-25 y 25, ver Tabla 3Tabla -3) desarrollado en medio de cultivo PDA, presentan una forma circular, elevación plana, márgenes enteros, superficie plana, textura pulverulenta (Tabla 3Tabla -3). Los colores del anverso son similares teniendo verde grisáceo y en el reverso tiene un verde claro, cabe mencionar que los tonos de los colores difieren un poco (Figura 6-3: Características culturales de *Trichoderma* spp. Mrf 25 (a-a'),

Mrf 26 (b-b'). Color del anverso de las colonias (a', b')Figura 6-3).

Tabla 3-3: Características culturales de los morfotipos identificados como *Trichoderma* spp.

| Morfotipos | Forma | Elevación | Margen | Superficie | Textura | Color anverso* | Color reverso* | Pigmento difusible en el medio |
|------------|-------|-----------|--------|------------|---------|----------------|----------------|--------------------------------|
|------------|-------|-----------|--------|------------|---------|----------------|----------------|--------------------------------|

| | | | | | | | | |
|--------|----------|-------|--------|-------|---------------|-----------------------|-------------------|---|
| MRF 25 | Circular | Plana | Entero | Plana | Aterciopelada | Vede grisáceo (5665) | Verde claro (358) | - |
| MRF 26 | Circular | Plana | Entero | Plana | Aterciopelada | Verde grisáceo (5585) | Vede claro (351) | - |

* Escala de colores Pantone para la descripción

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

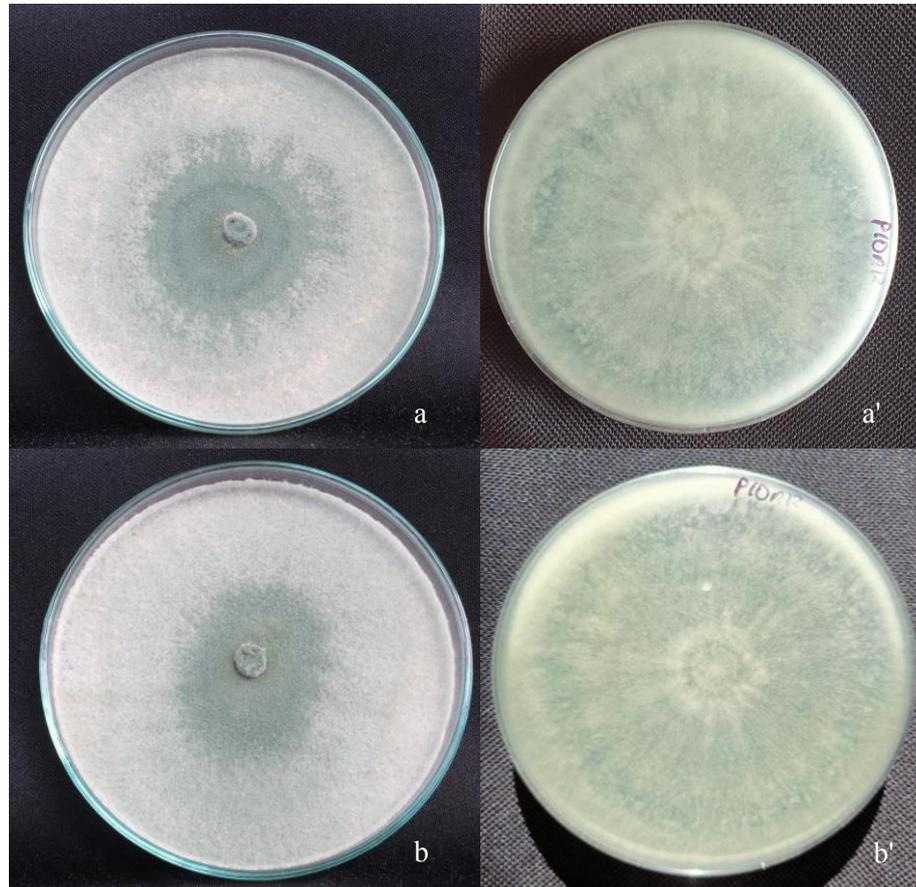


Figura 6-3: Características culturales de *Trichoderma* spp. Mrf 25 (a-a'), Mrf 26 (b-b'). Color del anverso de las colonias (a', b').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Vásquez, (2010) describe a las colonias en su estudio indicando que el crecimiento micelial es de color blanco, textura algodonosa o aterciopelada, a medida que pasa el tiempo se tornan a blanco verdosas logrando llegar hasta un verde total, mencionando que a veces se logra observar estructuras resistentes pequeñas de color blanquecino y algodonosas (Samson et al., 2004; Sharna et al., 2009; citados en Vásquez 2010), coincide con las descripciones de (Seaby, 1996; citado en Romero et al. 2009) mencionando que el color de las colonias se puede observar un color blanco que vira a verde, adquiriendo posteriormente color gris verde-azulado debido a la abundante producción de conidios (**Figura 6-3**).

Trichoderma es un hongo que posee conidias hialinas uniceluladas, ovoide en conidióforo hialino largo no verticilado, nace en centros pequeños (Villegas, [sin fecha]). La morfología al microscopio nos muestra que los conidióforos son hialinos, ramificados, las hifas se forman en un ángulo de 90° y a veces pueden tener una disposición piramidal. Cabe mencionar que las fialides hialinas tienen forma de matraz, se adhieren a los conidióforos por la parte amplia, pueden estar dispuestas en racimos o solitarias, produciendo conidios en el extremo (Kubicek y Harman, 1998 citados en Sánchez 2009) (**Figura 7-3**).



Figura 7-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Trichoderma* spp

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipo-6: *Purpureocillium* spp

Las colonias identificadas como *Purpureocillium* spp. (**Mrf 6**) desarrolladas en medio de cultivo PDA, presenta una forma circular, con una elevación y superficie plana y extendida, margen filamentososo y textura algodonosa (**Figura 7Figura 710-3**). El color que presentaron en el anverso según la clave de colores Pantone es gris violáceo (5245) y en el reverso gris claro (Cl grey 1) (**Figura 7Figura 710-3**).

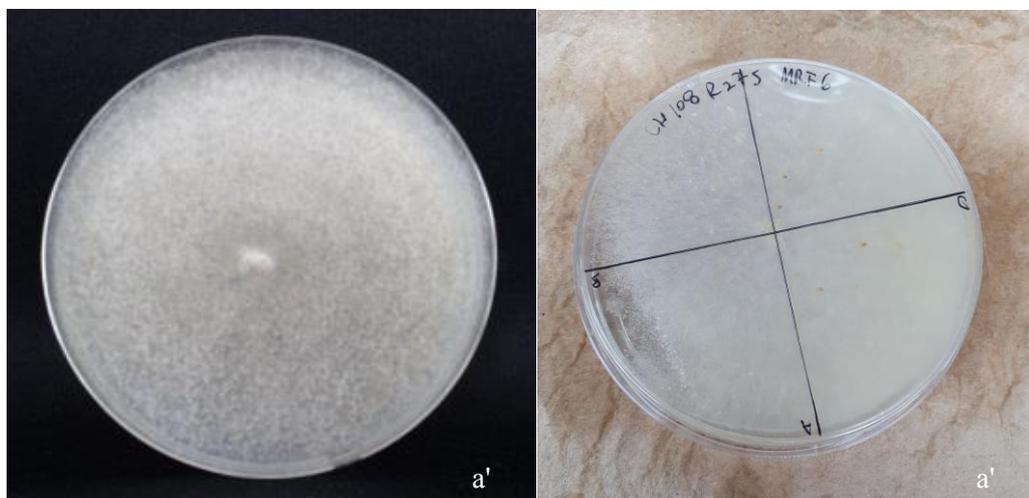


Figura 710-3: Características culturales de *Purpureocillium* spp. Mrf 6 (a). Color del anverso de las colonias (a').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Las colonias descritas por Luangsa-ard et al.,(2011) coinciden con lo observado, dichas colonias son de crecimiento moderado rápido, las colonias al principio se presentan de color blanco, volviéndose rosadas y lilas con el inicio de la esporulación, con sobre crecimiento de micelio flocoso aéreo (**Figura 711-3**). De igual manera pueden presentarse color rosáceo liláceo, con una superficie plana, crecimiento concéntrico, logrando variar la coloración diariamente inicialmente de color blanco para tornarse rosáceo pálido en 24 horas (González et al. 2021) (**Figura 712-3**). Se puede presentar colonias redondas blancas, algodonosas con centro en relieve o colonias con superficie vellosa, aterciopelada de diferentes gamas de color verde (gris verdoso, verde oscuro, verde claro), lilas o purpura, para el reverso de las colonias pueden ser incoloras con matices de color amarillo (Duarte, 2015).

La vista al microscopio de este género nos muestra que posee hifas hialinas amarillentas septadas o sin septos, con paredes delgadas, la gran parte tiene ramificaciones verticiladas o irregularmente ramificadas, en la parte terminal llevan en cada rama grupos de fiálides, las cuales puede ser solitarias, las mismas que constan de una porción basal en forma de cilindro o hinchada, adelgazándose de manera abrupta casi siempre para formar un cuello muy notorio y los conidióforos llevan cadenas de conidios de forma ovoide y hialinos unicelulares (Bustillo, 2001; citado en Duarte, 2015) coincidiendo con la descripción de Vines, (2019) (**Figura 8-3**).

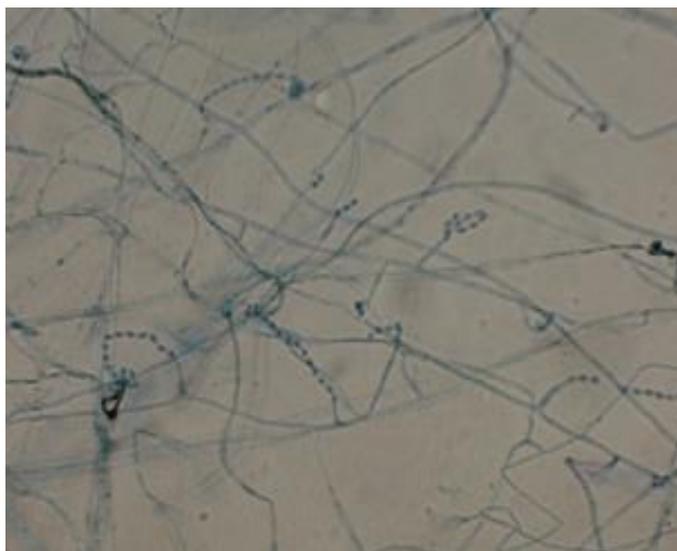


Figura 8-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Purpureocillium* spp.

Morfotipo-15: *Cladosporium* spp

Las colonias identificadas como *Cladosporium* spp. (Mrf 15) desarrollado en medio de cultivo PDA, presentan una forma circular, elevación plana y extendida, margen desflecado, superficie con surcos radiados y textura aterciopelada (**Figura 913-3**). El color del anverso presenta varios anillos como verde oliva claro (5773) en el centro, seguido de anillos verdosos (5497), posterior tenemos anillos de color gris (cool gray 5), luego un anillo verdoso (5497) con un borde desflecado gris claro (cool gray 1) y en el anverso negro oliva oscuro (412) (**Figura 914-3**).

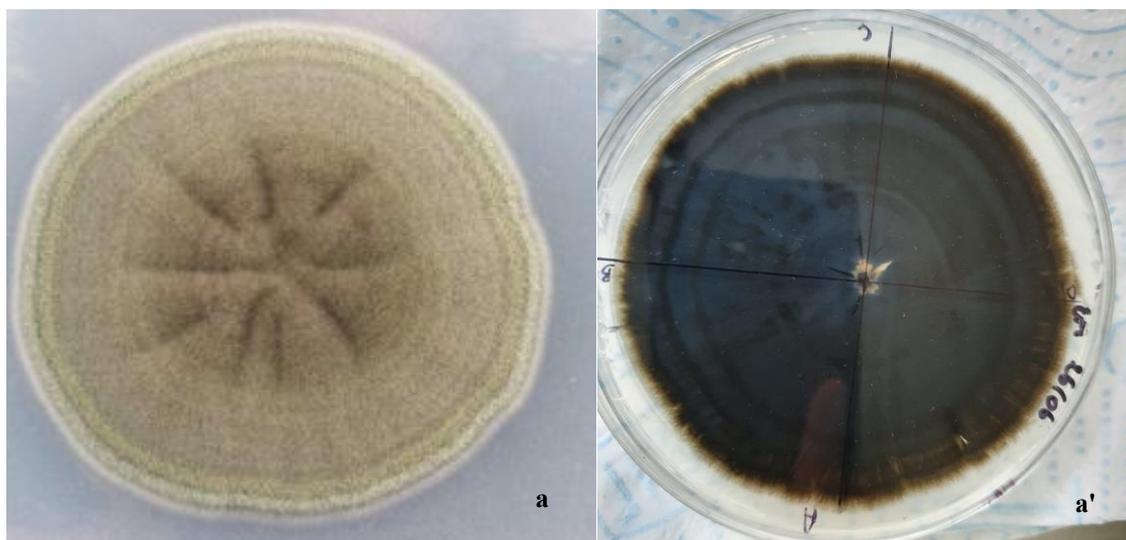


Figura 9-3: Características culturales de *Cladosporium* spp. Mrf 15 (a). Color del anverso de las colonias (a').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Delgado, Castaño y Villegas, (2013), describen los aislados de *Cladosporium* spp después de días de sembrados en medio de cultivo PDA, presentando diferentes tonalidades de color pero en su gran mayoría predominó el color verde oliváceo como fondo del aislamiento y en algunos casos rodeado de un color gris claro, (DataBio [sin fecha]) tiene una textura aterciopelada que con el tiempo desarrolla tipo de masa algodonosa en el centro coincidiendo en la colonia descrita previamente (**Figura 915-3**). Para el color del reverso Lezcano, Martínez y Alonso, (2009) mencionan que presentan una coloración negro oliváceo (**Figura 916-3**). Pueden presentar colonias aterciopeladas, pulverulentas o vellosas, algunas con pliegues radiales o surcos radiales, desde blanco a crema que con el tiempo tienden a oscurecerse en tonos verde oliva y en algunos casos gris verdoso o marrones (Lezcano, Martínez y Alonso, 2009).

Bajo el microscopio presenta hifas finas, septadas, ramificadas de color hialino a marrón. Las hifas sostienen cadenas ramificadas de conidios unicelulares, elipsoides o cilíndricos, varios

pueden presentar forma de escudo debido a las cicatrices de unión entre ellos (DataBio, [sin fecha]) (**Figura 1017-3**).



Figura 10-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Cladosporium* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipo-7: *Cephalosporium* spp.

Las colonias identificadas como *Cephalosporium* spp. (**Mrf 7**) desarrollado en medio de cultivo PDA, presentan una forma circular, elevación umbilicada, margen entero, superficie plana, textura aterciopelada (**Figura 1118-3**). Los colores que presenta en el anverso son gris (Wm Grey 7) en el centro y durazno (475) en el borde, en el caso del reverso tiene un color marrón claro (4635) (**Figura 1119-3**).

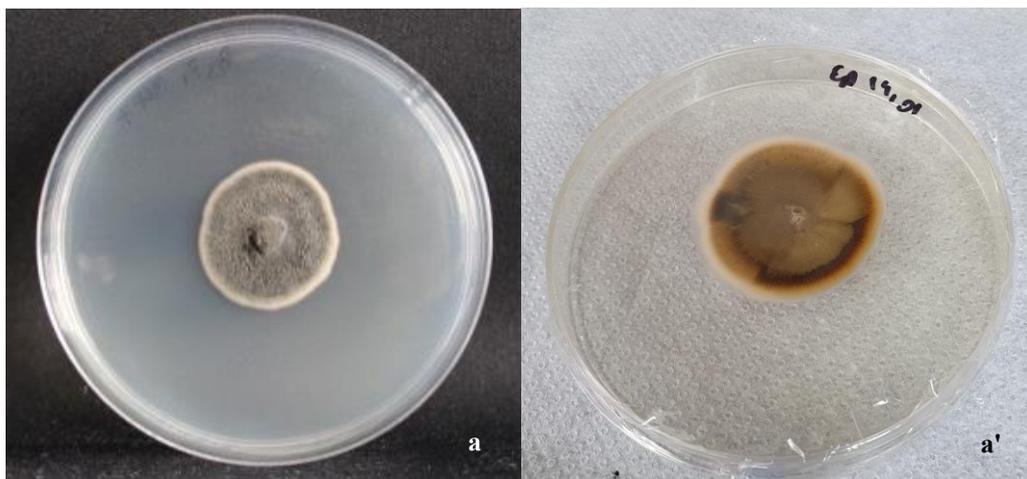


Figura 1120-3: Características culturales de *Cephalosporium* spp. Mrf 7 (a). Color del anverso de las colonias (a').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Huanaco (2008) en su estudio menciona que las cepas pertenecientes al género *Cephalosporium* presentaron colonias de aspecto algodonoso, superficie elevada y textura vellosa (**Figura 1121-3**), bajo el microscopio presenta micelio hialino septado delgado con fiálides muy delicadas, que sostienen una masa globular o cabezuela en apariencia que posee grupos de conidias alargadas y didimosporadas (**Figura 1222-3**).

Las colonias de *Cephalosporium* observadas bajo el microscopio descritas por Huanaco (2008) menciona que presenta un micelio cenocítico con esporangios y esporangiosporas. Mostacero (2019) menciona que los conidióforos no son alargados en el ápice, los conidios se presentan en racimos o cabezas, secos o húmedos, de forma ovoide en su mayoría (**Figura 1223-3**).



Figura 1224-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Cephalosporium* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipo-4: *Ulocladium* spp

Las colonias identificadas como *Ulocladium* spp. (**Mrf 4**) desarrolladas en medio de cultivo PDA, presentan una forma circular, elevación plana y extendida, margen entero y textura algodonosa (**Figura 1325-3**). El color del anverso es gris claro (420) y del reverso gris oscuro (Cl grey 11) (**Figura 1326-3**).

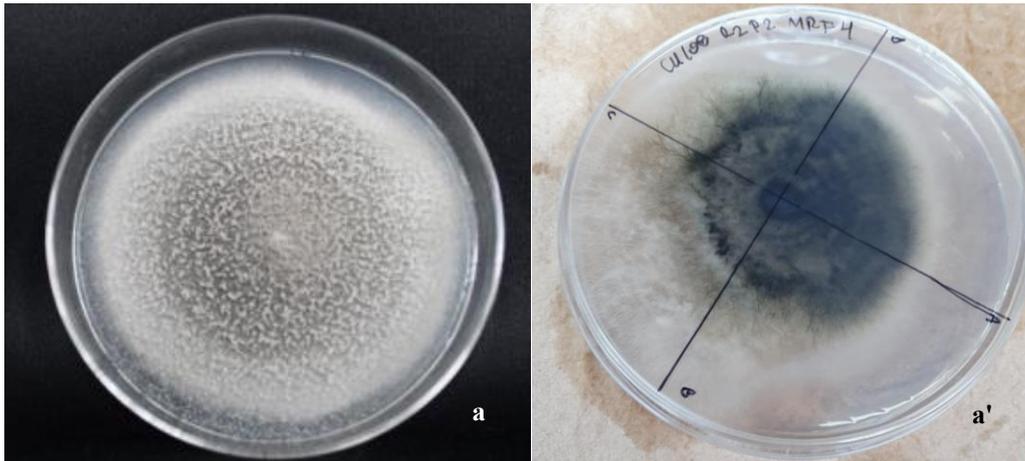


Figura 1327-3: Características culturales de *Ulocladium* spp. Mrf 4 (a). Color del anverso de las colonias (a').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Las características reportadas por Figueroa (2017, p.60) coinciden con la colonia obtenida en la investigación, mencionando que las colonias presentan un color grisáceo a negro en el anverso y en el reverso color negro, con una textura afelpada y terrosa, la superficie es plana con bordes regulares (**Figura 1328-3**).

La vista bajo el microscopio para identificar este tipo de hongo coincide con la propuesta por Runa, Park y Pryor (2008) que se presenta conidios de forma esencialmente ovoide. Barnett, H y Hunter (1998) mencionan que *Ulocladium* spp, posee conidióforos indeterminados, simpodiales, oscuros, mayoritariamente simples, septados; conidios (porosporas) oscuras, dictiosporas, generalmente sin constricción en el tabique mayor, soportadas individualmente, apical y sobre nuevos puntos de crecimiento simpodial (**Figura 1429-3**).

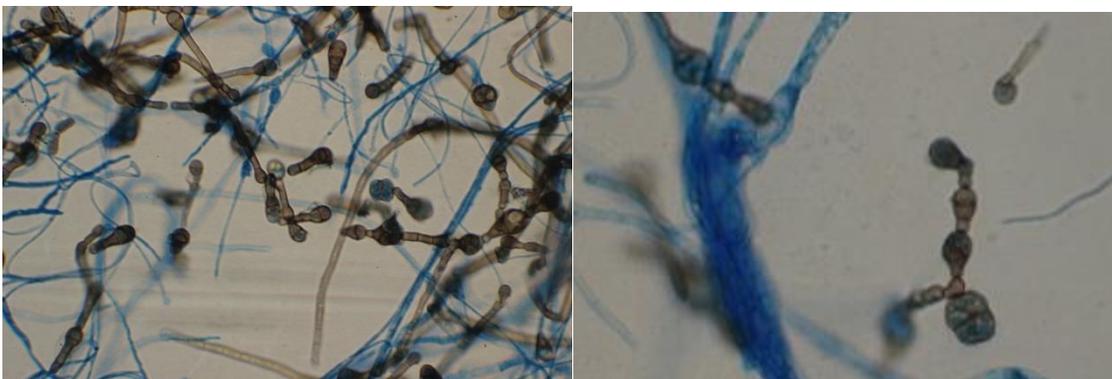


Figura 14-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Ulocladium* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipo-12: *Geotrichum* spp

Las colonias identificadas como *Geotrichum* spp. (**Mrf 12**) desarrolladas en medio de cultivo PDA, presentan una forma rizoidal, elevación y superficie plana, margen rizoidal y textura pulverulenta (**Figura 1530-3**). El color del anverso es blanco (11-0501) y del reverso es blanco (11-0507) (**Figura 1531-3**).



Figura 15-3: Características culturales de *Geotrichum* spp. Mrf 12 (a). Color del anverso de las colonias (a').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

El género reportado en el aspecto cultural coincide con el mencionado por Cruz (2014) en donde menciona que presenta un color blanco, secas y pulverulenta, aplicándole la temperatura óptima para su crecimiento en un rango de 25°C y en algunos casos las cepas no crecen a 37°C, de igual manera se puede presentar colonias blanco-amarillentas, planas, vellosas y húmedas (Jimbo, 2018) (**Figura 1532-3**).

Las características morfológicas para su identificación según Barnett, H y Hunter (1998) mencionan que poseen micelio blanco, tabicado; conidióforos ausentes; conidias (artrosporas) hialinas, cilíndrico corto con extremos truncados, formado por segmentación de hifas. Algunos basidiomicetos forman conidios de esta manera (**Figura 1633-3**).



Figura 1634-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Geotrichum* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipo-50: *Pestalotiopsis* spp

Las colonias identificadas como *Pestalotiopsis* spp. (**Mrf 50**) desarrolladas en medio de cultivo PDA, presentan una forma circular, elevación plana y extendida, margen desflechado y textura algodonosa (**Figura 1735-3**). El color del anverso es un blanco grisáceo (Cl grey 6) y en el reverso blanco (11-0203) (**Figura 1736-3**).

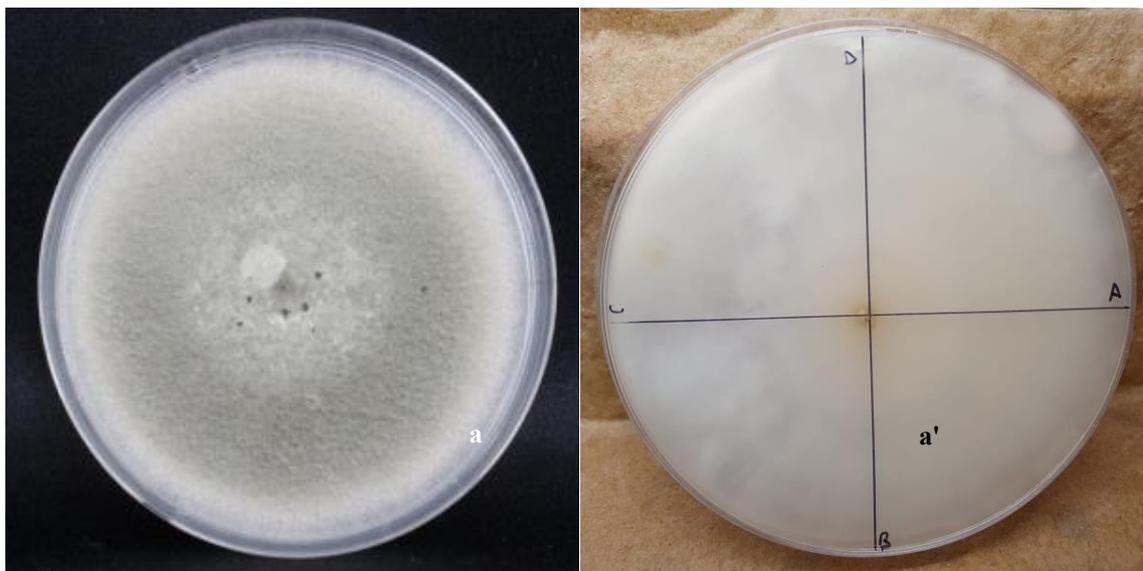


Figura 1737-3: Características culturales de *Pestalotiopsis* spp. Mrf 50 (a). Color del anverso de la colonia (a').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

La descripción cultural realizada por Limón (2017, p.) coincide con la colonia que se obtuvo, menciona que los aislados se caracterizaron por la presencia de micelio blanquecino, algodonoso o afelpado y con abundantes acérvulos (**Figura 1738-3**).

Las características morfológicas para su identificación según Barnett, H y Hunter (1998) se tiene un acérvulo oscuro, discoide o en forma de cojín, subepidérmico; conidióforos cortos, sencillo; conidios oscuros, de varias células, con células hialinas, extremos puntiagudos, de elipsoide a fusoide, con dos o más apéndices hialinos, apicales (**Figura 1839-3**).

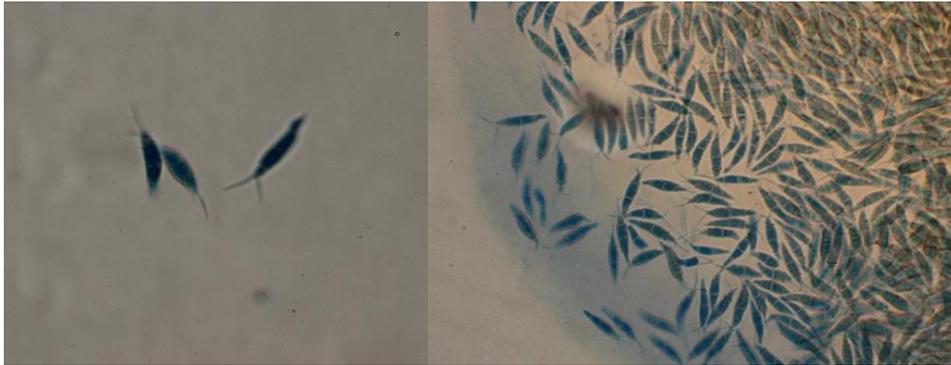


Figura 1840-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Pestalotiopsis* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

Morfotipo-17: *Chaetomium* spp

Las colonias identificadas como *Chaetomium* spp. (**Mrf 17**) desarrolladas en medio de cultivo PDA, presentan una forma irregular, elevación umbilicada, margen desflecado, superficie plegada y textura aterciopelada (**Figura 1941-3**). En el anverso tiene varios colores el centro de color durazno (155), seguido de naranja (172), en el borde rosa claro (489), en el caso del reverso tiene pigmento difusible en el medio de color rojizo (195) (**Figura 1942-3**).

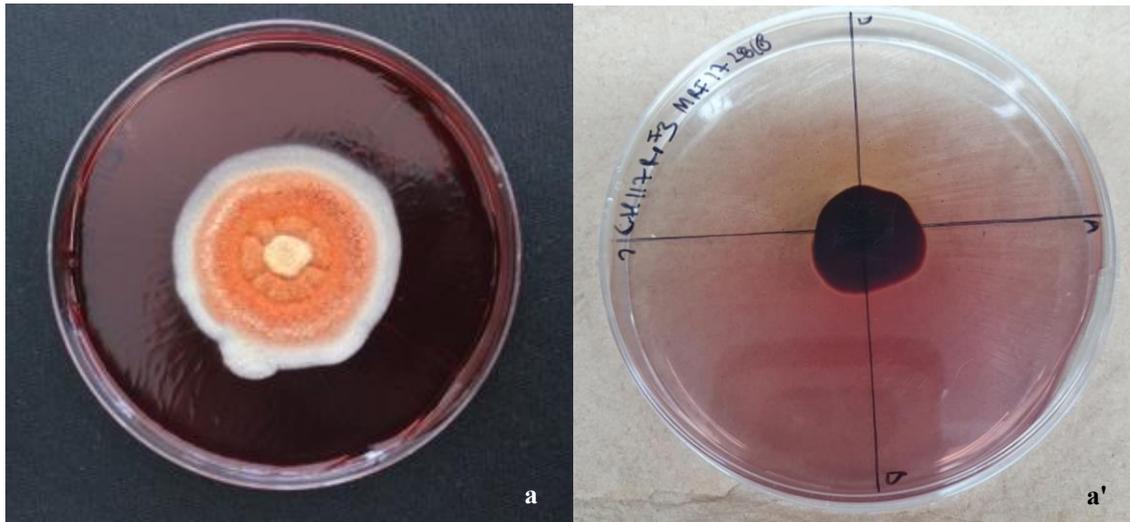


Figura 1943-3: Características culturales de *Chaetomium* spp. Mrf 17 (a). Color del anverso de la colonia (a').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Según von Arx et al. (1986; citados en Rodríguez, 2003, p.92) mencionan que algunas de las características de este género son que su crecimiento es rápido, presentando un color pardo, oliva, gris, entre otros, de aspecto granular, algodonoso o lanoso, puede producir pigmentos fusibles en algunos medios de cultivo careciendo de olor con la capacidad de presentar o no exudados (**Figura 1944-3**).

Para la identificación de este hongo menciona Rodríguez (2003, p.226) que *Chaetomium globosum* fueron identificados por la peculiaridad que todos los aislamientos presentaron unos tipos de pelos peridiales que son lo que produjeron pigmento de color rojo, teniendo así las mismas características del hongo estudiado en esta investigación (**Figura 1945-3**).

Las características morfológicas para su identificación según Barnett, H y Hunter (1998) se tiene conidióforos (esporangióforos) erectos, ramificados, las ramas estériles delgadas y espirales, ramas fértiles agrandadas, que llevan una cabeza de esporangiólos cilíndricos que producen hileras de cortos conidios (**Figura 2046-3**).

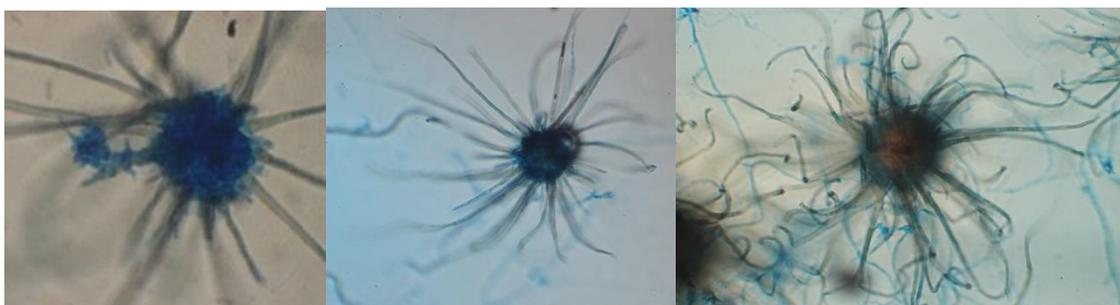


Figura 20-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Chaetomium* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipo-20 y 30: *Nigrospora* spp

Las colonias identificadas como *Nigrospora* spp. (Mrf 20 y 30, ver Tabla 4-3) medio de cultivo PDA, presentan una forma rizoidal, elevación y superficie plana, rizoidal, y textura algodonosa (Figura 21-3: Características culturales de *Nigrospora* spp. Mrf 20 (a-a'), Mrf 30

(b-b'). Color del anverso de las colonias (a', b'). Figura 2147-3). El color del anverso son similares solo difieren un poco el tono gris blancuzco. En el reverso un color café oscuro y blanco (Figura 2148-3).

Tabla 4-3: Características culturales de los morfotipos identificados como *Nigrospora* spp

| Morfotipos | Forma | Elevación | Margen | Superficie | Textura | Color anverso* | Color reverso* | Pigmento difusible en el medio |
|------------|----------|-----------|----------|------------|------------|----------------------------|-------------------|--------------------------------|
| Mrf 20 | Rizoidal | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Gris blancuzco (420) | Café oscuro (476) | - |
| Mrf 30 | Rizoidal | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Gris blancuzco (CI grey 1) | Blanco (11-0205) | - |

* Escala de colores Pantone para la descripción

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

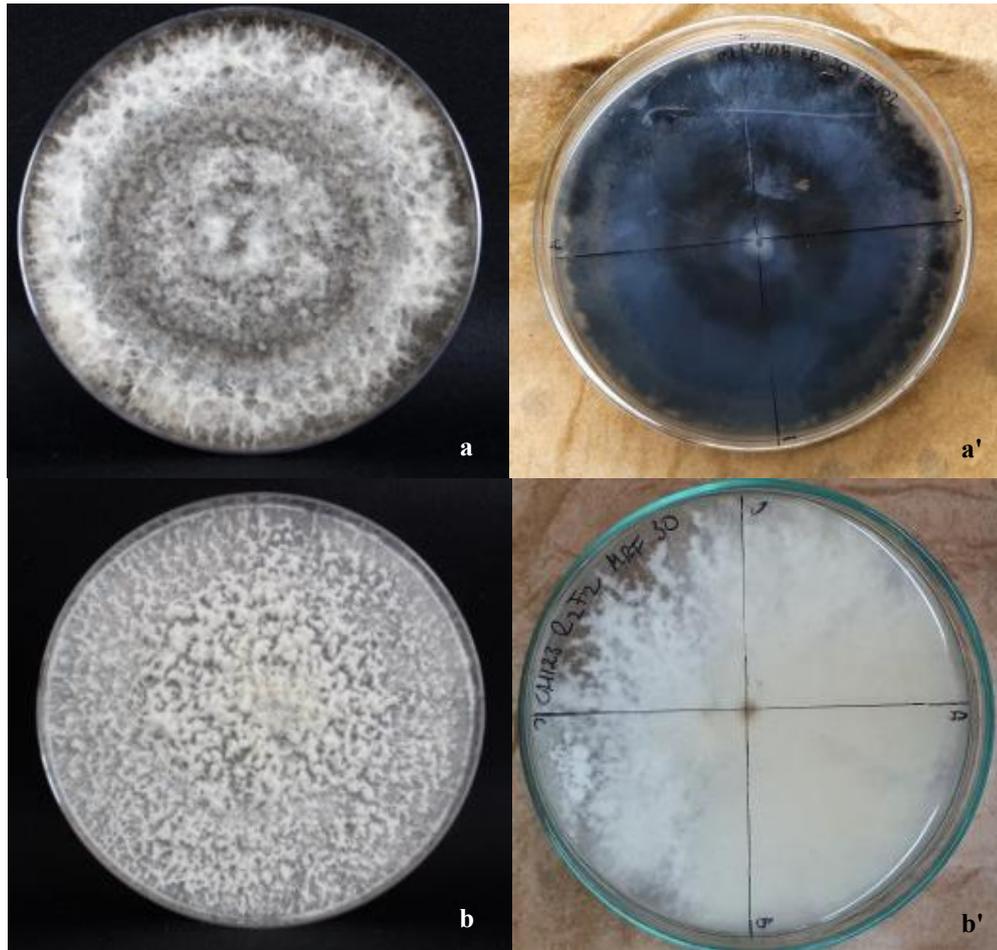


Figura 21-3: Características culturales de *Nigrospora* spp. Mrf 20 (a-a'), Mrf 30 (b-b'). Color del anverso de las colonias (a', b').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Los caracteres culturales obtenidos en la presente investigación para el género *Nigrospora* spp se coincide con Carbajal (2017, p.46) en donde menciona que las colonias pueden ser de color blanquecino, café y café oscuro (**Figura 2149-3**), presentando micelio hialino con septas de las cuales salen conidióforos cortos simples con terminación en una vesícula hialina y sobre ella se forman conidias aleurosporas al principio son de color hialino para luego tornarse de color negro con una forma globosa (**Figura 2250-3**).

Las características morfológicas de este género es que presentan conidióforos cortos, en su mayoría simples; conidios (aleurosporas) negro brillante, unicelular, globoso, situado en una vesícula (célula) hialina aplanada al final del conidióforo (Barnett y Hunter, 1998, p.82) (**Figura 2251-3**).



Figura 2252-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Nigrospora* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipo-5,8 y 44: *Helicomyces* spp

Las colonias identificadas como *Helicomyces* spp. (**Mrf 5,8 y 44**, ver **Tabla 5-3**) desarrolladas en medio de cultivo PDA, presentan una forma irregular y circular, elevación umbilicada, márgenes ondulados, superficie con surcos radiados y textura aterciopelada (**Figura 2353-3**). El color del anverso es similar solo difieren los tonos de blanco y en el reverso de igual forma el gris claro es similar (**Figura 2354-3**).

Tabla 5-3: Características culturales de los morfotipos identificados como *Helicomyces* spp

| Morfotipos | Forma | Elevación | Margen | Superficie | Textura | Color anverso* | Color reverso* | Pigmento difusible en el medio |
|------------|-----------|-----------|----------|---------------------|---------------|----------------------------|------------------------|--------------------------------|
| Mrf 5 | Irregular | Elevada | Ondulado | Con surcos radiados | Aterciopelada | Blanco (11-4800) | Gris claro (420) | - |
| Mrf 8 | Circular | Elevada | Ondulado | Con surcos radiados | Aterciopelada | Blanco opaco (11-4899 TCX) | Gris claro (427) | - |
| Mrf 44 | Irregular | Elevada | Ondulado | Con surcos radiados | Aterciopelada | Blanco (11-0601 TPX) | Gris claro (Cl grey 2) | - |

* Escala de colores Pantone para la descripción

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

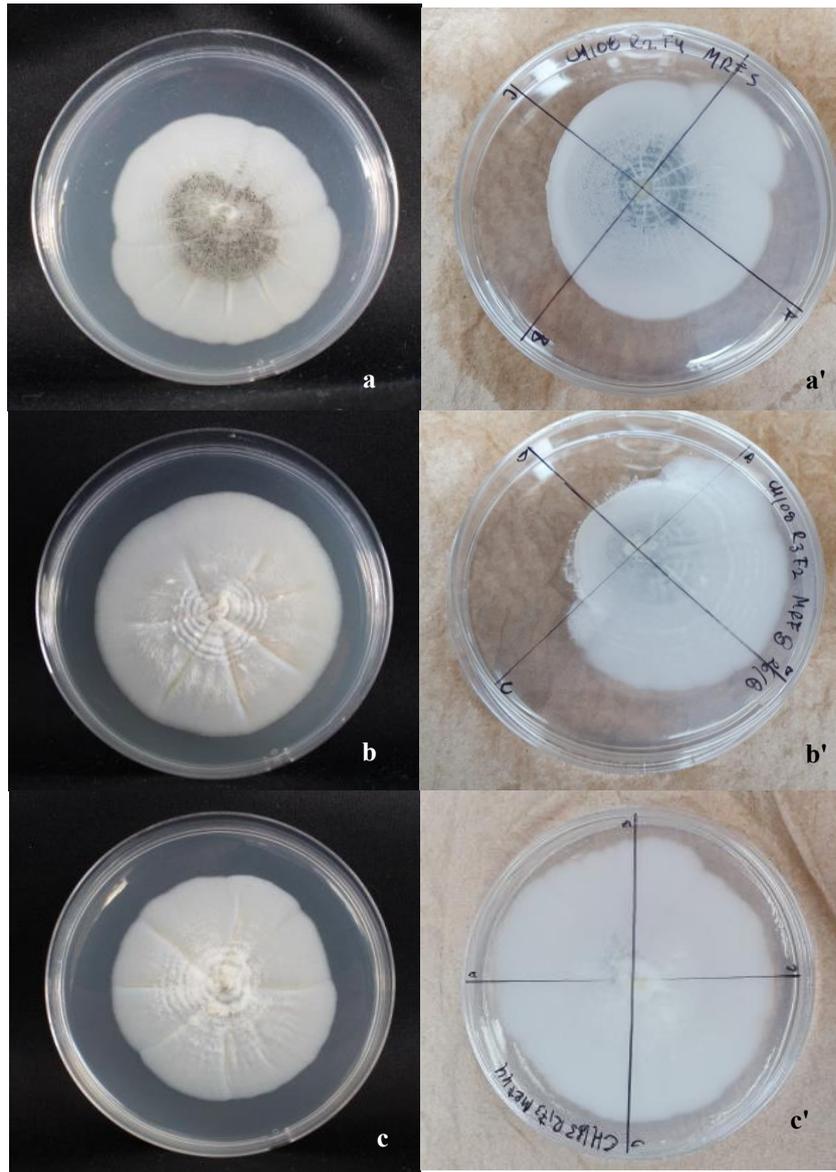


Figura 55-3: Características culturales de *Helicomyces* spp. Mrf 5

(a-a'), Mrf 8 (b-b'), Mrf 44 (c-c'), Color del anverso de las colonias (a', b', c').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Los caracteres culturales obtenidos en la presente investigación para el género *Helicomyces* spp se coincide con los descritos por Huanaco (2008, p.19) en donde menciona que la cepa encontrada presenta una superficie elevada, aspecto algodonoso en este estudio presenta solo en el centro este aspecto, con micelio hifas y conidias espiraladas (**Figura 2356-3**) (**Figura 2457-3**).

Las características morfológicas de este género es que presentan conidióforos hialinos, en su mayoría simples, de longitud variable; conidios (simposulosporas) filamentos conidiales, hialinos o subhialinos, septados, delgados, higroscópicos, enrollados en un solo plano (Barnett y Hunter, 1998, p.136) (**Figura 2458-3**).



Figura 2459-3: Vista bajo el microscopio para la identificación *Helicomyces* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipos-N: por identificar

Las colonias de hongos por identificar (**Mrf-N**, ver **Tabla 6-3**), desarrollados en medio de cultivo PDA, presentan formas variadas tales como irregulares, circulares, filamentosas, rizoidales, en el caso de la elevación puede observar plana, elevada y umbilicada, los márgenes son desflecados, lobulados, rizoidal, enteros u ondulados, superficie con surcos radiados, plana o plegada, textura pulverulenta, algodonosa y aterciopelada (**Tabla 6-3**). Los colores del anverso y reverso varían con una variedad de tonalidades y colores (**Figura 2560-3**).

Tabla 6-3: Características culturales de hongos por identificar

| Morfotipos | Forma | Elevación | Margen | Superficie | Textura | Color anverso* | Color reverso* | Pigmento difusible en el medio |
|------------|-----------|--------------------|------------|---------------------|--------------|--|----------------------|--------------------------------|
| Mrf 2 | Circular | Plana | Desflecado | Con surcos radiados | Pulverulenta | Violeta (1625) | Beige (141) | - |
| Mrf 9 | Circular | Plana | Desflecado | Plana | Algodonosa | Gris claro (Wm grey 1) y gris oscuro (Wm grey 8) | Marrón oscuro (476) | - |
| Mrf 18 | Circular | Elevada y limitada | Lobulado | Plana | Algodonosa | Blanco (000C white) | Blanco (11-4800 TXC) | - |
| Mrf 22 | Irregular | Plana | Rizoidal | Plegada | Algodonosa | Blanco (11-0203) | Blanco cremoso (587) | - |

| | | | | | | | | |
|--------|-------------|--------------------|-----------|---------|---------------|--|---------------------------|---|
| Mrf 24 | Circular | Plana | Desfleado | Plegada | Algodonosa | Gris claro (Cool Gray 3) | Marrón oscuro (412) | - |
| Mrf 29 | Filamentosa | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Blanco (11-0601) | Marrón grisáceo (426) | - |
| Mrf 31 | Irregular | Umbilicada | Ondulado | Plana | Aterciopelada | Blanco (11-1001) | Marrón oscuro (412) | - |
| Mrf 32 | Rizoidal | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Gris (Wm Grey 6) | Verde oliva oscuro (5743) | - |
| Mrf 33 | Circular | Plana | Entero | Plana | Algodonosa | Gris blanquecino (5577) | Blanco amarillento (459) | - |
| Mrf 34 | Circular | Plana | Entero | Plana | Algodonosa | Gris claro (Wm grey 1) y gris oscuro (Wm grey 8) | Marrón oscuro (412) | - |
| Mrf 35 | Circular | Plana | Desfleado | Plana | Algodonosa | Blanco (11-0203) | Blanco (000C white) | - |
| Mrf 36 | Circular | Umbilicada | Desfleado | Plana | Aterciopelada | Blanco rosáceo (503) | Rosa pálido (5035) | - |
| Mrf 37 | Circular | Elevada y limitada | Desfleado | Plana | Algodonosa | Blanco (000C white) | Blanco (000C white) | - |
| Mrf 38 | Rizoidal | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Blanco (000C white) | Marrón (4655) | - |
| Mrf 39 | Circular | Umbilicada | Desfleado | Plana | Aterciopelada | Café claro (461) | Marrón oscuro (4625) | - |

| | | | | | | | | |
|--------|-------------|------------|-----------|------------------------|---------------|---|--|---|
| Mrf 40 | Circular | Plana | Entero | Plana | Algodonosa | Gris blancuzco (Cl grey 1) | Blanco amarillento pálido (11- 0203) | - |
| Mrf 41 | Filamentosa | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Blanco (000C white) | Beige claro (4545) | - |
| Mrf 42 | Circular | Plana | Desfleado | Plana | Pulverulenta | Blanco (11-0601 TCX) | Blanco (11-0601 TCX) y marrón (4645) | - |
| Mrf 43 | Circular | Plana | Entero | Plana | Algodonosa | Blanco (000C white) | Amarrillo (101) | - |
| Mrf 45 | Circular | Plana | Desfleado | Plana | Aterciopelada | Blanco (11- 0601 TCX) | Blanco (11-0601 TCX) y marrón (4635) | - |
| Mrf 46 | Circular | Plana | Entero | Plana | Algodonosa | Gris blancuzco (Cl grey 2) | Marrón oscuro (412) | - |
| Mrf 47 | Filamentosa | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Blanco (000C white) | Blanco (000C white) | - |
| Mrf 51 | Circular | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Gris claro (Cl grey 1) café claro (401) | Marrón oscuro (412) | - |
| Mrf 52 | Irregular | Umbilicada | Ondulado | Con surcos radiados | Algodonosa | Blanco (11- 0601 TCX) | Blanco (11-0601 TCX) | - |
| Mrf 54 | Circular | Plana | Desfleado | Plana | Algodonosa | Blanco (000C white) | Blanco (000C white) | - |
| Mrf 55 | Circular | Plana | Ondulado | Plana | Algodonosa | Blanco (11- 0601 TXP) | Beige (120) y Beige | - |

| | | | | | | | | |
|--------|----------|------------|-----------|---------------------|---------------|----------------------------|---------------------|-------|
| | | | | | | y gris oscuro (Cl grey 11) | negro (black) | (120) |
| Mrf 56 | Circular | Plana | Desfleado | Plana | Algodonosa | Gris grey 6) | (Cl Negro (black) | - |
| Mrf 62 | Circular | Umbilicada | Entero | Con surcos radiados | Aterciopelada | Café (451) | oliva Negro (black) | - |

* Escala de colores Pantone para la descripción

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

La identificación de estos morfotipos queda pendiente para una posterior investigación aplicando diferentes técnicas las cuales ayuden a producir esporas y de esa manera identificarlos, siendo una ellas el uso de diferentes medios de cultivo que induzcan a la esporulación debido a que tienen diferente fuente de energía como el medio SNA que es un agar bajo en nutrientes (Herrera y Laurentin 2012).

Es importante para la esporulación de hongos fitopatógenos mantenerlos en condiciones muy similares a su hábitat natural incorporando al medio de cultivo tejido vegetal, proporcionarles estimulantes como acículas de pino, papel filtro u hojas de clavel (Alaniz, 2012).

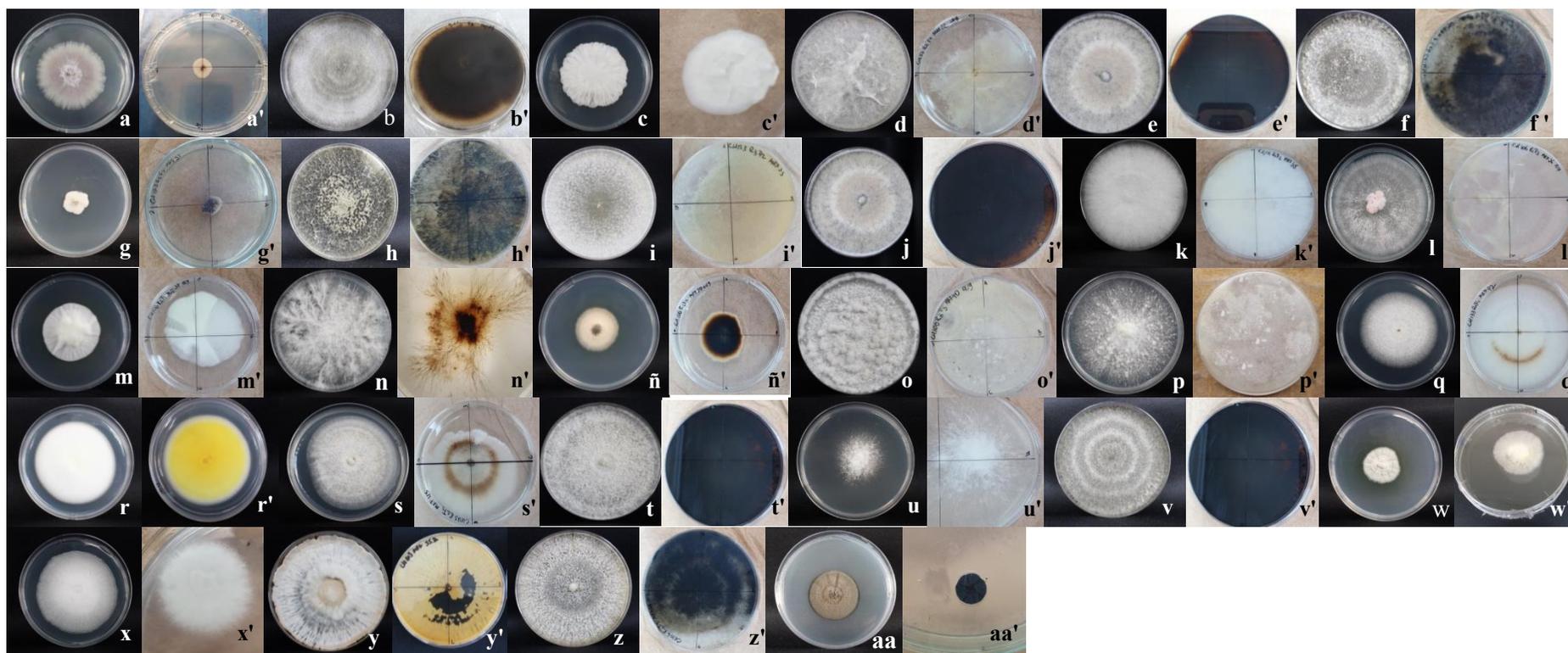


Figura 2561-3: Características culturales de microorganismos fúngicos por identificar Mrf 2 (a-a'), Mrf 9 (b-b'), Mrf 18 (c-c'), Mrf 22 (d-d'), Mrf 24 (e-e'), Mrf 29 (f-f'), Mrf 31 (g-g'), Mrf 32 (h-h'), Mrf 33 (i-i'), Mrf 34 (j-j'), Mrf 35 (k-k'), Mrf 36 (l-l'), Mrf 37 (m-m'), Mrf 38 (n-n'), Mrf 39 (ñ-ñ'), Mrf 40 (o-o'), Mrf 41 (p-p'), Mrf 42 (q-q'), Mrf 43 (r-r'), Mrf 45 (s-s'), Mrf 46 (t-t'), Mrf 47 (u-u'), Mrf 51 (v-v'), Mrf 52 (w-w'), Mrf 54 (x-x'), Mrf 55 (y-y'), Mrf 56 (z-z'), Mrf 62 (aa-aa'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d', e', f', g', h', i', j', k', l', m', n', ñ, o', p', q', r', s', t', u', v', w', x', y', z', aa').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

3.1.2 Identificación y descripción de microorganismos fúngicos obtenidos a partir de hojas enfermas.

Morfotipo –N: *Fusarium* spp.

Las colonias de hongos identificados como *Fusarium* spp. (Mrf-N, ver **Tabla 7-3**), desarrollados en medio de cultivo PDA, presentan formas circulares, elevación umbilicada y plana, márgenes desflecados y ondulados, superficie plegada y plana, textura algodonosa (**Tabla 7-3**). Los colores del anverso van desde beige blancuzco, café grisáceo, gris claro y blanco, en el reverso color como café claro, gris claro, gris con crema y negro azulado (**Figura 2662-3**).

Tabla 7-3: Características culturales de los morfotipos identificados como *Fusarium* spp

| Morfotipos | Forma | Elevación | Margen | Superficie | Textura | Color anverso* | Color reverso* | Pigmento difusible en el medio |
|------------|----------|------------|------------|------------|------------|----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Mrf 2 | Circular | Plana | Desflecado | Plegada | Algodonosa | Beige blancuzco (459) | Café claro (4645) | - |
| Mrf 6 | Circular | Plana | Desflecado | Plana | Algodonosa | Café grisáceo (Wm Grey 8) | Gris claro (Wm Grey 3) | - |
| Mrf 11 | Circular | Umbilicada | Ondulado | Plana | Algodonosa | Gris blancuzco (Wm Grey 1) | Gris (Wm grey 5) y crema (586) | - |
| Mrf 26 | Circular | Umbilicada | Ondulado | Plana | Algodonosa | Blanco (11-0601) | Negro azulado (419) | - |

* Escala de colores Pantone para la descripción

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

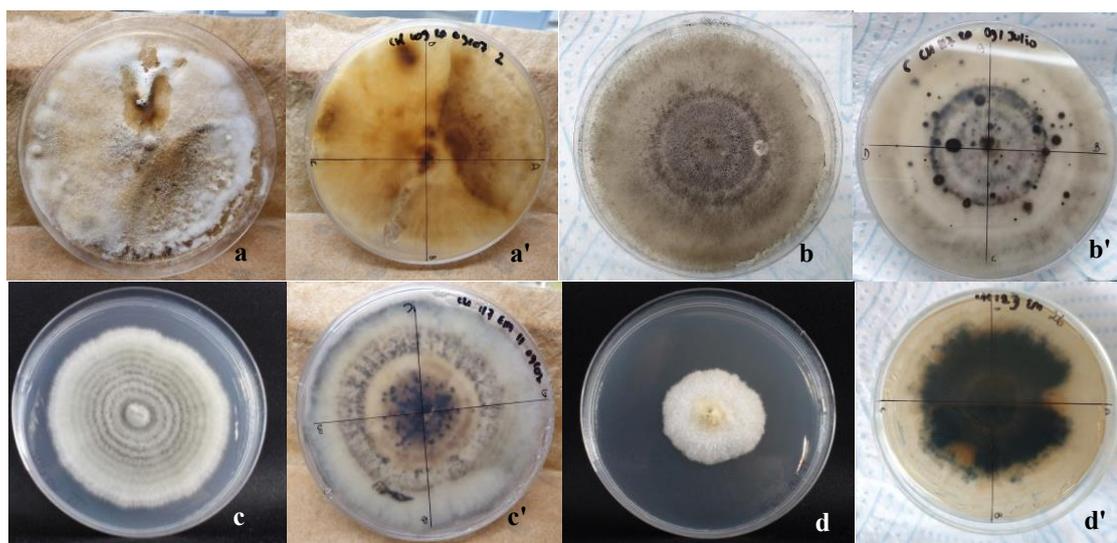


Figura 26-3: Características culturales de *Fusarium* spp. Mrf 2 (a-a'), Mrf 6 (b-b'), Mrf 11 (c-c'), Mrf 26 (d-d'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Este género es uno de los más comunes y conocidos las características de las colonias de esta investigación coinciden con la siguiente descripción realizada por Barnett y Hunter, (1998, p.138). en donde menciona que el micelio es extenso y parecido al algodón en medio de cultivo, a menudo con algunos matices de rosa, púrpura, o amarillo (**Figura 2663-3**); conidióforos variables, delgados y simples, o robustos, cortos, ramificado irregularmente o con un verticilo de fiálides, solos o agrupados en esporoquios; conidios (fialosporas) hialinas, variables, principalmente de dos tipos, a menudo contenidas en pequeñas cabezas húmedas; macroconidios de varias celdas, ligeramente curvadas o dobladas en los extremos puntiagudos, típicamente en forma de canoa; Microconidios de células I, ovoide u oblonga, poste individualmente o encadenado; algunos conidios intermedios, de 2 o 3 celdas, oblongos o ligeramente curvo; parásito en plantas superiores o saprofito en material vegetal en descomposición.. De paredes gruesas clamidosporas comunes en algunas especies (Barnett y Hunter, B 1998, p.138) (**Figura 2764-3**).

Lezcano, Martínez y Alonso (2012) en el estudio realizado mencionan varios colores más con los que se puede presentar este género tales como blanquecino, crema blancuzco, salmón, puede variar de melocotón a naranja, blanquecino con tonalidades coral claro a pardo naranja, rojo intenso, amarillo cremoso, entre otros (**Figura 2665-3**).



Figura 2766-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Fusarium* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipo –N: *Alternaria* spp.

Las colonias de hongos identificados como *Alternaria* spp. (**Mrf-N**, ver **Tabla 8-3**), desarrollados en medio de cultivo PDA, presentan formas irregulares y circulares, elevación plana, margen entero, ondulado y lobulados, superficie plana y textura algodonosa (**Tabla 8-3**). Los colores del reverso van desde el grisáceo a verde, para el anverso tenemos colores como café oscuro y gris verdoso (**Figura 2867-3**).

Tabla 8-3: Características culturales de los morfotipos identificados como *Alternaria* spp

| Morfotipos | Forma | Elevación | Margen | Superficie | Textura | Color anverso* | Color reverso* | Pigmento difusible en el medio |
|------------|-----------|-----------|----------|------------|------------|--------------------------|--------------------|--------------------------------|
| Mrf 3 | Irregular | Plana | Lobulado | Plana | Algodonosa | Verde (418) | Café oscuro (412) | - |
| Mrf 4 | Irregular | Plana | Lobulado | Plana | Algodonosa | Verde (418) y gris (413) | Café oscuro (412) | - |
| Mrf 8 | Circular | Plana | Ondulado | Plana | Algodonosa | Grisáceo (414) | Café oscuro (476) | - |
| Mrf 13 | Circular | Plana | Entero | Plana | Algodonosa | Grisáceo verdoso (415) | Gris verdoso (449) | - |

* Escala de colores Pantone para la descripción

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

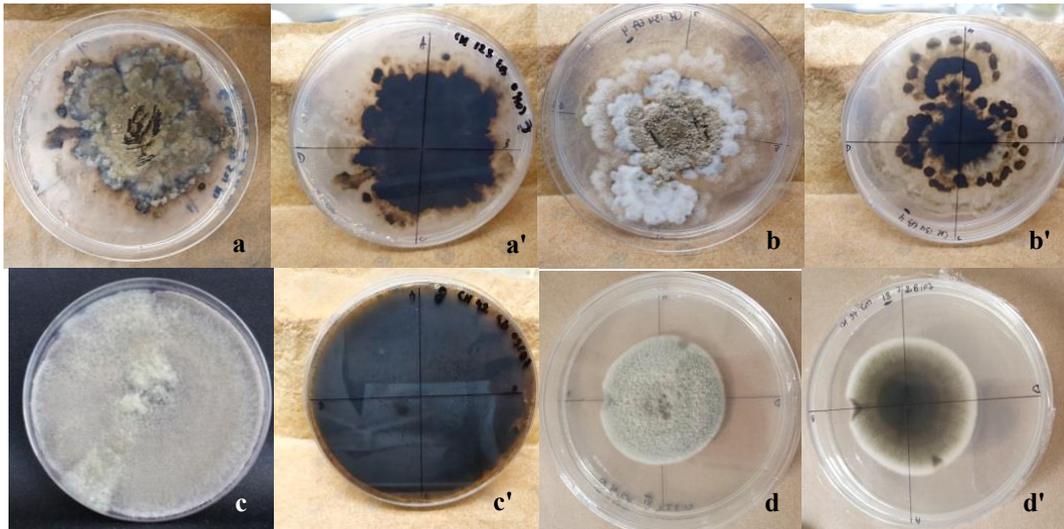


Figura 28-3: Características culturales de *Alternaria* spp. Mrf 1 (a-a'), Mrf 13 (b-b'), Mrf 14 (c-c'), Mrf 21 (d-d'), Mrf 48 (e-e'), Mrf 49 (f-f'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d', e', f').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Los caracteres culturales obtenidos en la presente investigación para el género *Alternaria* spp. se coincide con los descritos por Rivas (2014) en donde menciona que las colonias son planas y algodonosas, con una coloración blanca grisácea inicialmente y posterior se pueden tornar de color café hasta verde oliva oscuro, en el reverso se torna una coloración café oscuro a negro (**Figura 2868-3**).

Las características morfológicas para este género según Barnett y Hunter (1998, p.132) son: conidióforos oscuros, en su mayoría simples; determinado o simpodial, más bien corto o alargado; conidios (porosporas) oscuros, típicamente con septos transversales y longitudinales; de diversas formas, obclava a elíptica u ovoide, con frecuencia llevada acropetalmente en apéndice apical simple o ramificado (**Figura 2969-3**).



Figura 29-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Alternaria* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipo –N: *Ulocladium* spp

Las colonias de hongos identificados como *Ulocladium* spp. (Mrf-N, ver **Tabla 9-3**), desarrollados en medio de cultivo PDA, presentan formas irregulares, elevación plana, margen desflecado y rizoidal, superficie plana y textura algodonosa (**Tabla 9-3**). Los colores del anverso son similares en una gama de color amarillo, amarillo claro, anaranjado y del anverso café anaranjado y rojizo (**Figura 3070-3**).

Tabla 9-3: Características culturales de los morfotipos identificados como *Ulocladium* spp

| Morfotipos | Forma | Elevación | Margen | Superficie | Textura | Color anverso* | Color reverso* | Pigmento difusible en el medio |
|------------|-----------|-----------|------------|------------|------------|--|-------------------------|--------------------------------|
| Mrf 25 | Irregular | Plana | Desflecado | Plana | Algodonosa | Amarillo (3945) | Marrón anaranjado (174) | Anaranjado |
| Mrf 27 | Irregular | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Tomate amarillento (153) | Anaranjado rojizo (504) | Amarillento |
| Mrf 30 | Irregular | Plana | Desflecado | Plana | Algodonosa | Blanco (11-0203 TSX) y anaranjado (1675) | Café anaranjado (181) | Anaranjado |
| Mrf 34 | Irregular | Plana | Desflecado | Plana | Algodonosa | Amarillo (122) y blanco (000C white) | Café anaranjado (180) | Amarillento |

* Escala de colores Pantone para la descripción

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

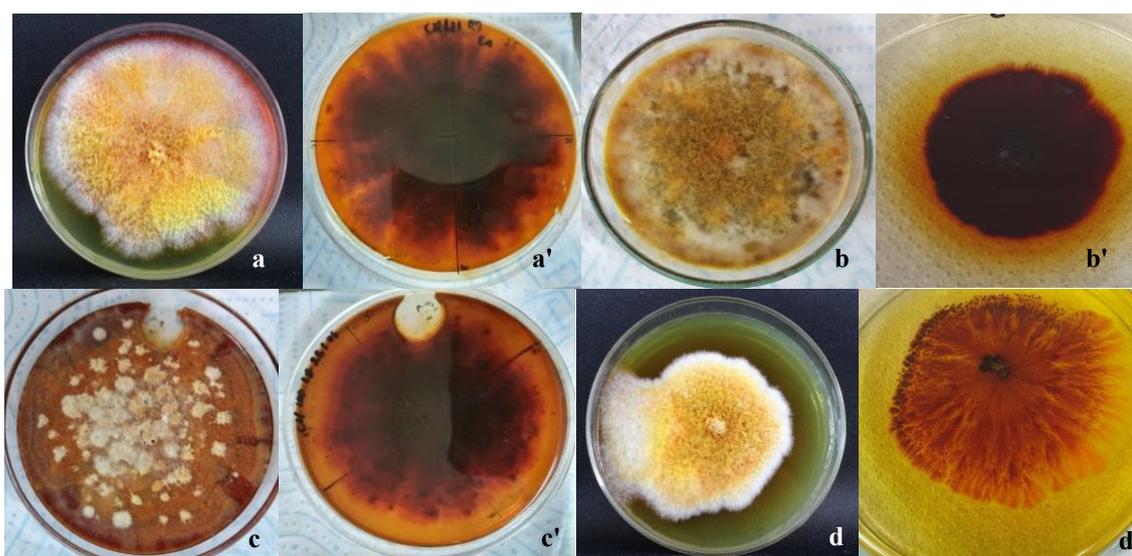


Figura 3071-3: Características culturales de *Ulocladium* spp. Mrf 25 (a-a'), Mrf 27 (b-b'), Mrf 30 (c-c'), Mrf 25 (d-d'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Las características reportadas por Figueroa (2017, p.60) mencionando que las colonias presentan un color grisáceo a negro en el anverso y en el reverso color negro, con una textura afelpada y terrosa, la superficie es plana.

La vista bajo el microscopio para identificar este tipo de hongo coincide con la propuesta por Runa, Park y Pryor (2008) y Barnett, H y Hunter (1998) mencionadas anteriormente (**Figura 14-3**) (**Figura 3172-3**).



Figura 3173-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Ulocladium* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipo-21: *Penicillium* spp

Las colonias de hongos identificados como *Penicillium* spp. (**Mrf-21**), desarrollados en medio de cultivo PDA, presentan formas irregulares y circulares, elevación plana, margen entero y ondulado, superficie plana y textura pulverulenta (**Figura 3274-3**). El color del anverso presenta un verde azulado (5565) y de reverso un verde azulado claro (559) (**Figura 3275-3**).

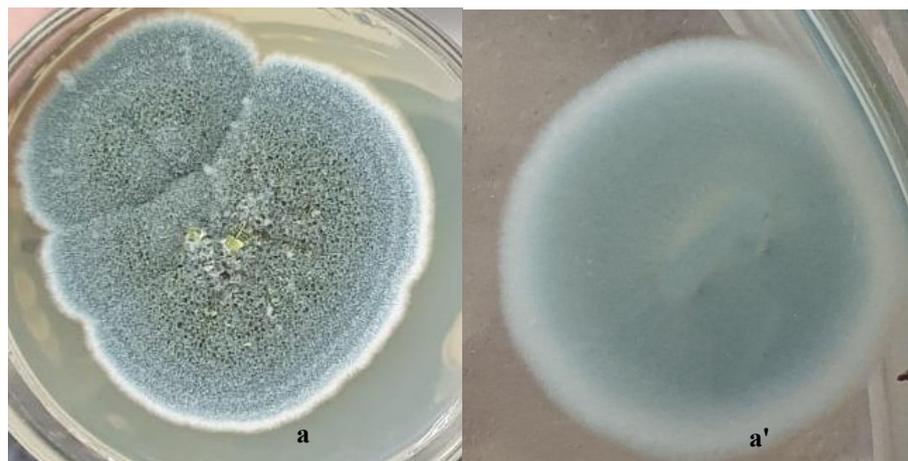


Figura 3276-3: Características culturales de *Penicillium* spp . Mrf 25 (a-a').

Color del anverso de la colonia (a').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

El morfotipo 21 perteneciente a las hojas enfermas tiene características similares a las descritas previamente en la **(Figura 177-3)** sustentadas en el trabajo realizado por Lezcano, Martínez y Alonso (2009), obteniendo en su estudio colonias de color verde grisáceo, a menudo con bordes de color blanco que llegan a tornarse verde grisáceo **(Figura 178-3)**. También encontramos en otras especies colonias con colores como anaranjado, amarillo, pardo claro o púrpura, con superficies aterciopeladas, ligeramente algodonosa o con pequeños haces (fascículos) de conidióforos (Carrillo [sin fecha], p.62) **(Figura 3279-3)** .

La identificación se la realizó basándose en las siguientes características morfológicas los conidióforos que surgen del micelio solos o con menos frecuencia en sinnemas, ramificado cerca del ápice, penicilado, terminando en un grupo de fiálides; conidias (fialosporas) hialinas o de colores brillantes en masa, unicelulares, en su mayoría globosos u ovoides, en cadenas basípetas secas (Barnett y Hunter, 1998, p.94) **(Figura 3380-3)**,

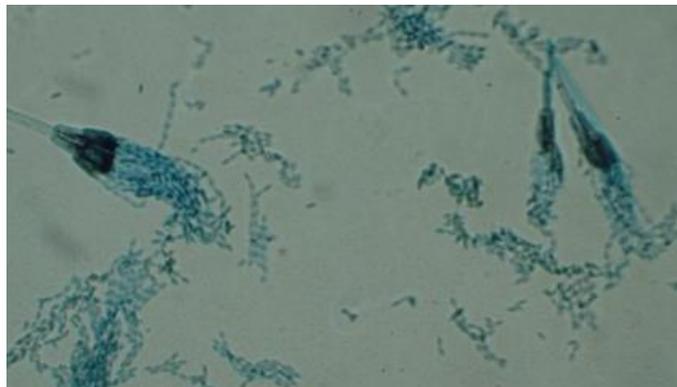


Figura 33-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Penicillium* spp

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipo-24: *Cladosporium* spp

La colonia identificada como *Cladosporium* spp. (**Mrf 24**) desarrollado en medio de cultivo PDA, presentan una forma irregular, elevación umbilicada, margen desfleado, superficie con surcos radiados y textura aterciopelada **(Figura 3481-3)**. El color del anverso presenta varios anillos como verde grisáceo (5777) y en el anverso café oscuro (412) **(Figura 3482-3)**.

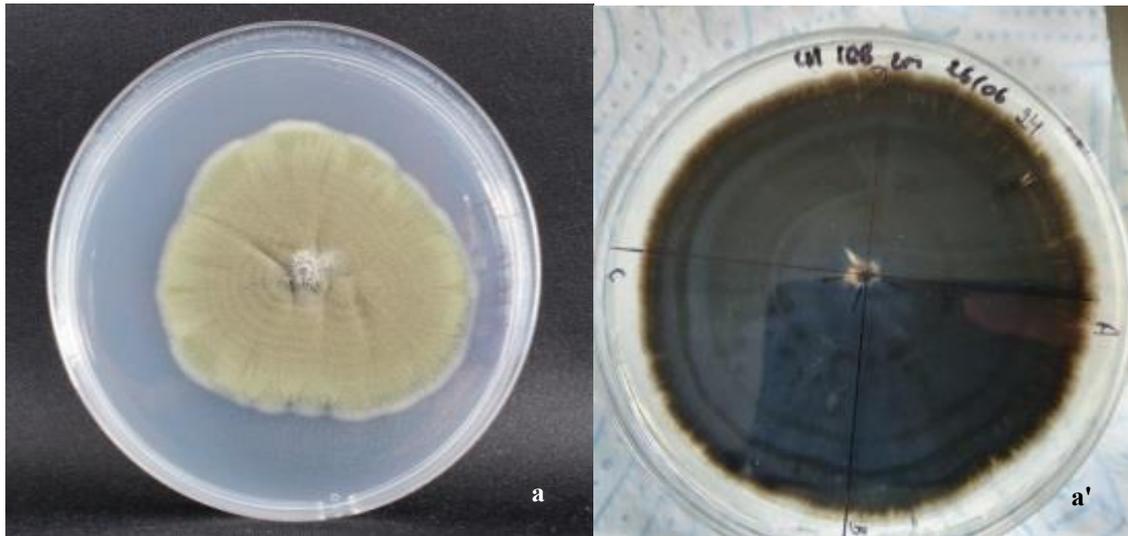


Figura 34-3: Características culturales de *Cladosporium* spp. Mrf 24 (a). Color del anverso de las colonias (a').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Este género fue descrito previamente en las hojas sanas presentando características similares a las mencionadas anteriormente en la **(Figura 983-3)** como las describe Delgado, Castaño y Villegas, (2013), mencionando que los aislados de *Cladosporium* después de días de sembrados en medio de cultivo PDA, presentando diferentes tonalidades de color pero en su gran mayoría predominó el color verde oliváceo como fondo del aislamiento y en algunos casos rodeado de un color gris claro, (DataBio [sin fecha]) tiene una textura aterciopelada que con el tiempo desarrolla tipo de masa algodonosa en el centro coincidiendo en la colonia descrita previamente **(Figura 3484-3)**. Para el color del reverso Lezcano, Martínez y Alonso, (2009) mencionan que presentan una coloración negro oliváceo **(Figura 3485-3)**. Pueden presentar colonias aterciopeladas, pulverulentas o vellosas, algunas con pliegues radiales o surcos radiales, desde blanco a crema que con el tiempo tienden a oscurecerse en tonos verde oliva y en algunos casos gris verdoso o marrones (Lezcano, Martínez y Alonso, 2009).

La identificación bajo el microscopio se la realizó teniendo como base las siguientes características morfológicas: conidióforos altos, oscuros, erguidos, ramificados diversamente cerca del ápice, agrupados o solo; conidios (blastóforos) oscuros, de 1 o 2 celdas, de forma y tamaño variables, de ovoides a cilíndricas a irregulares, algunas típicamente con forma de limón; a menudo en cadenas acropétalas simples o ramificadas (Barnett y Hunter, 1998, p.106). **(Figura 3586-3)**



Figura 35-3: Vista bajo el microscopio para la identificación de *Cladosporium* spp.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

Morfotipos-N: por identificar

Las colonias de hongos por identificar (**Mrf-N**, ver **Tabla 10-3**), desarrollados en medio de cultivo PDA, presentan formas variadas tales como irregulares, circulares y filamentosas, en el caso de la elevación puede observar plana, elevada y umbilicada, los márgenes son rizoidal, entero, ondulado y lobulados, superficie con surcos radiados, plana, textura algodonosa y granulosa (**Tabla 10-3**). Los colores del anverso y reverso varían con una variedad de tonalidades y colores (**Figura 3687-3**).

Tabla 102-3: Características culturales de hongos por identificar a partir de hojas enfermas.

| Morfotipos | Forma | Elevación | Margen | Superficie | Textura | Color anverso* | Color reverso* | Pigmento difusible en el medio |
|------------|-------------|-----------|----------|------------|------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| Mrf 1 | Circular | Plana | Ondulado | Plana | Granulosa | Café grisáceo (437) | Beige (4665) | |
| Mrf 5 | Circular | Plana | Entero | Plana | Algodonosa | Gris (454) | Café oscuro (462) | |
| Mrf 7 | Circular | Plana | Entero | Plana | Algodonosa | Gris (Cl grey 3) | Café oscuro (Wm grey 11) | |
| Mrf 9 | Circular | Plana | Entero | Plana | Algodonosa | Café grisáceo (Wm grey 8) | Café oscuro (462) | |
| Mrf 10 | Filamentosa | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Blanco (000C white) | Blanco (11-4899 TCX) | |
| Mrf 12 | Filamentosa | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Blanco (000C white) | Blanco (11-4899 TCX) | |
| Mrf 14 | Irregular | Plana | Ondulado | Plegada | Algodonosa | Beige (129) | Beige anaranjado (1585) | |

| | | | | | | | |
|--------|-----------|------------|----------|-----------------|------------|--|-----------------------------|
| Mrf 15 | Irregular | Elevada | Ondulado | Plana | Algodonosa | Gris (414) | Gris oscuro (426) |
| Mrf 16 | Irregular | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Blanco (000C white) | Café anaranjado claro (160) |
| Mrf 19 | Irregular | Plana | Rizoidal | Plana | Algodonosa | Blanco cremoso (11-0203) | Café (146) |
| Mrf 20 | Irregular | Plana | Ondulado | Plana | Algodonosa | Gris claro (Cl grey 6) | Negro (Black) |
| Mrf 23 | Circular | Umbilicada | Lobulado | Plana | Algodonosa | Blanco (000C white) y café amarillento (458) | Beige (467) |
| Mrf 28 | Circular | Plana | Entero | Plana | Algodonosa | Gris oscuro (Cl grey 6) | Café oscuro (476) |
| Mrf 29 | Circular | Plana | Entero | Plana | Algodonosa | Gris claro (Cl grey 1) | Café oscuro (476) |
| Mrf 31 | Circular | Plana | Ondulado | Plana | Granulosa | Café claro (479) | Café claro (480) |
| Mrf 32 | Circular | Plana | Ondulado | Plana | Algodonosa | Blanco (000C white) | Amarillo opaco (395) |
| Mrf 33 | Irregular | Umbilicada | Lobulado | Surcos radiados | Algodonosa | Blanco (000C white) | Blanco (000C white) |

* Escala de colores Pantone para la descripción

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

La identificación de estos morfotipos queda pendiente para una posterior investigación aplicando diferentes técnicas las cuales ayuden a producir esporas y de esa manera identificarlos, siendo una ellas el uso de diferentes medios de cultivo que induzcan a la esporulación debido a que tienen diferente fuente de energía como el medio SNA que es un agar bajo en nutrientes (Herrera y Laurentin 2012).

Es importante para la esporulación de hongos fitopatógenos mantenerlos en condiciones muy similares a su hábitat natural incorporando al medio de cultivo tejido vegetal, proporcionarles estimulantes como acículas de pino, papel filtro u hojas de clavel (Alaniz, 2012)

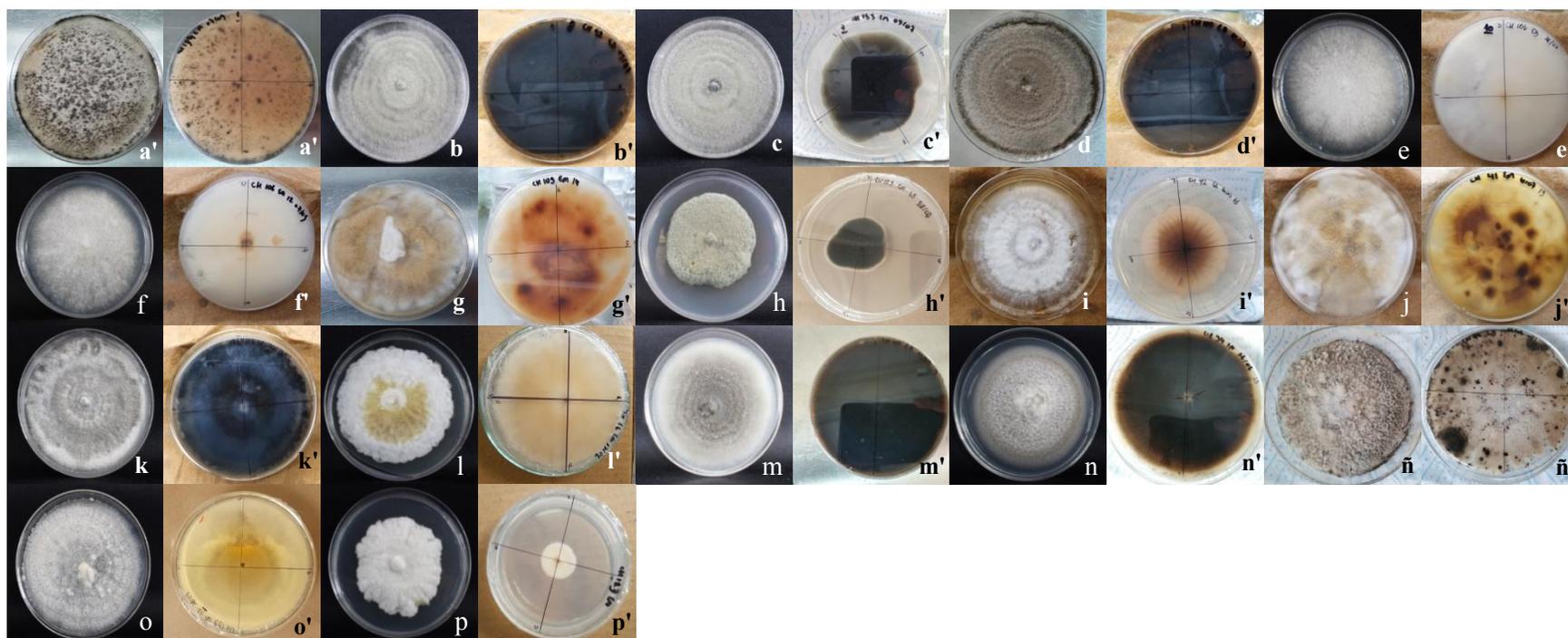


Figura 3688-3: Características culturales de microorganismos fúngicos por identificar Mrf 1 (a-a'), Mrf 5 (b-b'), Mrf 7 (c-c'), Mrf 9 (d-d'), Mrf 10 (e-e'), Mrf 12 (f-f'), Mrf 14 (g-g'), Mrf 15 (h-h'), Mrf 16 (i-i'), Mrf 19 (j-j'), Mrf 20 (k-k'), Mrf 23 (l-l'), Mrf 28 (m-m'), Mrf 29 (n-n'), Mrf 31 (ñ-ñ'), Mrf 32 (o-o'), Mrf 33 (p-p'). Color del anverso de las colonias (a', b', c', d', e', f, g', h', i', j', k', l', m', n', ñ', o', p').

Realizado por: Cuadrado, J. 2021.

3.2 Diversidad de la microbiota cultivada asociada con la filosfera de individuos de capulí (*P. serotina* Mc Vaugh).

3.3.1 Índice de Margalef (Riqueza específica)

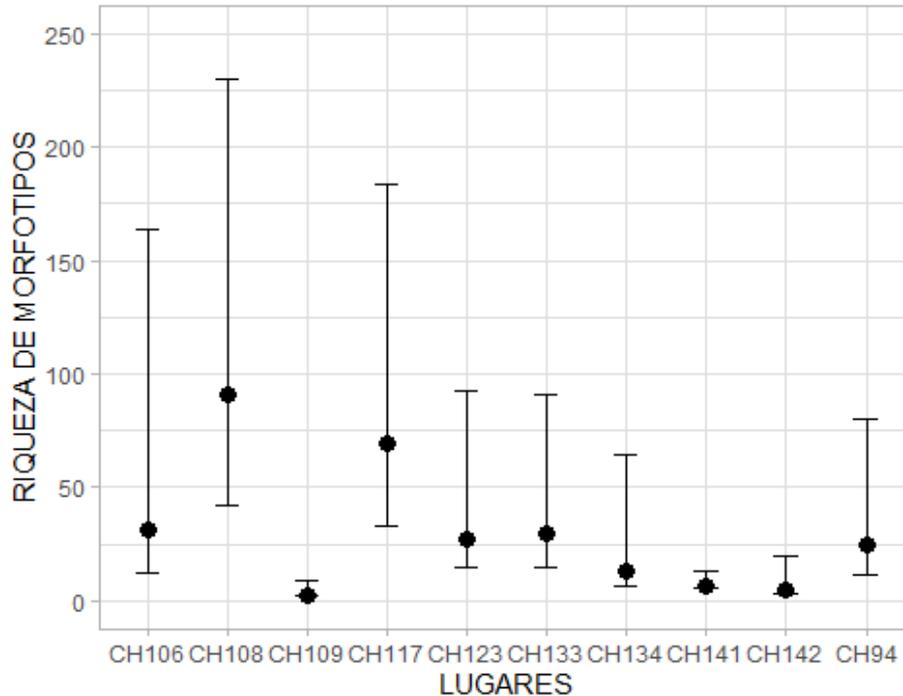


Gráfico 20-3: Riqueza de morfotipos a partir de hojas sanas

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El índice calculado según los intervalos de confianza nos indican que el individuo CH 108 (Guano) posee más riqueza específica que los demás debido a que posee más especies a comparación de los demás con un valor de 69.7, no pasa igual con los individuos CH 109 (Guano), CH 141 (Cundwana) y CH 142 (Cuandwana), los mismos que poseen una baja riqueza específica con valores de 2.5, 6.61 y 4.5 respectivamente, sin siquiera sobrepasar el rango de 25, los valores intermedios vienen a pertenecer a los individuos CH 134 (San Luis) (13.2) y CH 94 (Penipe) (25), los individuos que superan el rango de 25 son CH 133 (San Luis) (29.8), CH 123 (Cacha) (27.2), CH 106 (Guano) (31.6) y CH 117 (Licán) (69.7).

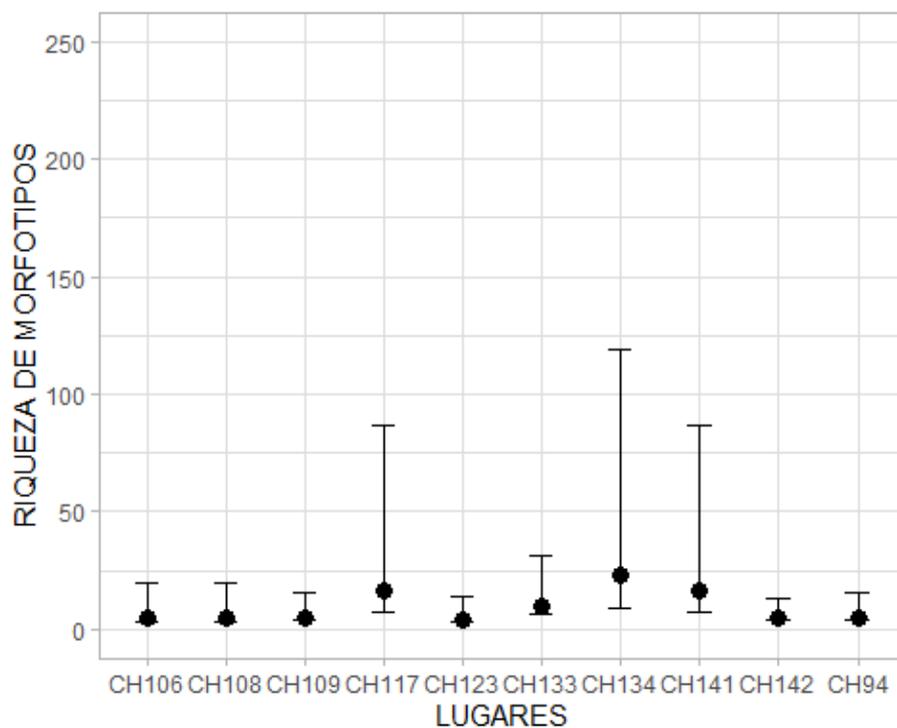


Gráfico 21-3: Riqueza de morfotipos a partir de hojas enfermas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

La riqueza específica que destaca, obteniendo así morfotipos más diversos es del individuo CH 134 (San Luis) con un valor de 22.8 siendo este el mayor, el valor más bajo es del individuo CH 123 (Cacha) con un valor de 3.8, también se puede observar a morfotipos que pertenecen al mismo rango como CH 108 (Guano), CH 106 (Guano), CH 109 (Guano), CH 142 (Cunduana) y CH 94 (Penipe), con valores como 4.5, 4.5, 4.88, 4.83, 4.89 respectivamente y finalmente se obtuvo en un rango superior a los individuos CH 117 (Licán) y CH 141 (Cunduana) con valores como 16,7 para los dos.

3.3.2 Índice de Simpson (Dominancia)

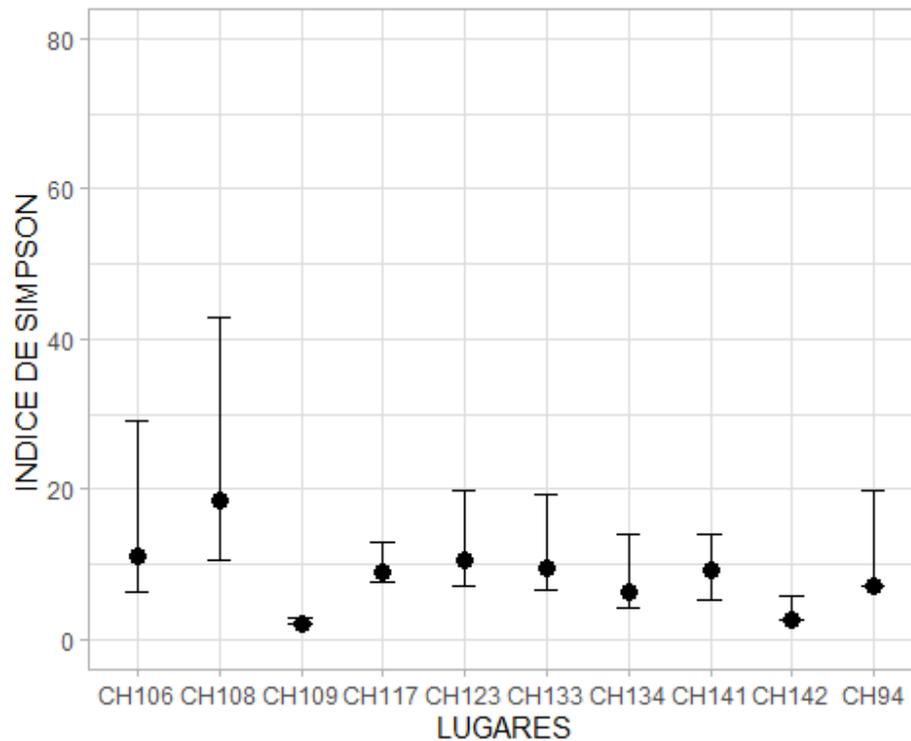


Gráfico 22-3: Índice de Simpson a partir de hojas sanas

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El índice de Simpson nos indica que individuo posee los morfotipos más dominantes, en este caso tenemos al individuo CH 108 (Guano) con un valor de 18.4 siendo el valor más alto, seguido de CH106 (Guano) (11.1) , CH 123 (Cacha) (10.5), CH 117 (Licán) (9.03), CH 133 (San Luis) (9,56), CH 141 (Cunduana) (9.17) , encontrándose todos casi en un mismo rango de valores, CH 134 (San Luis) (6.43) y CH 94 (Penipe) (7), tienen valores menores que los anteriores es decir que los individuos tienen menos morfotipos dominantes, por último los que llegan casi al límite inferior son CH 109 (Guano) y CH 142 (Cunduana), con valores de 2 y 2,67 respectivamente.

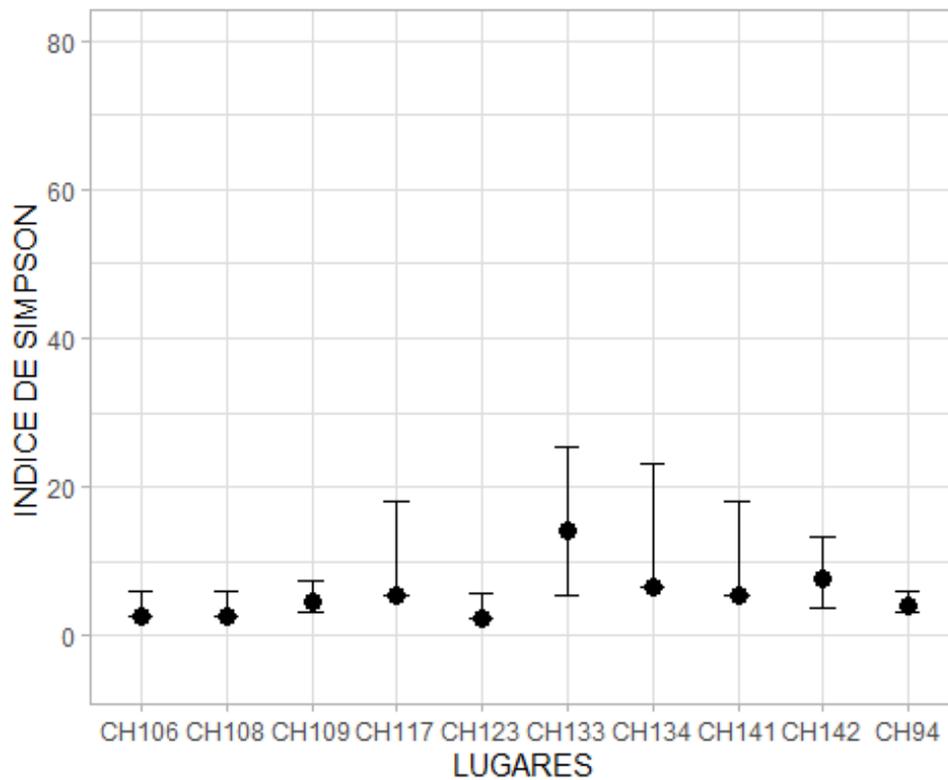


Gráfico 23-3: Índice de Simpson a partir de hojas enfermas

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

El individuo que tiene los morfotipos de hongos más dominantes es el CH 133 (San Luis) con un valor de 14 siendo el más alto, los individuos que poseen en menor cantidad los morfotipos dominantes son CH 108 (Guano), CH 123(Cacha) y CH 106 (Guano), con valores de 2.67, 2.27 y 2.67 respectivamente, los valores intermedios vienen a pertenecer a los individuos CH 117 (Licán), CH 134 (San Luis), CH 141 (Cunduana), CH 109 (Guano), CH 142(Cunduana) y CH 94 (Penipe), con valores como 5.44, 6.4, 5.44, 4.67, 7.5,4 respectivamente.

3.3.3 Índice de Shannon-Wiener (Equidad)

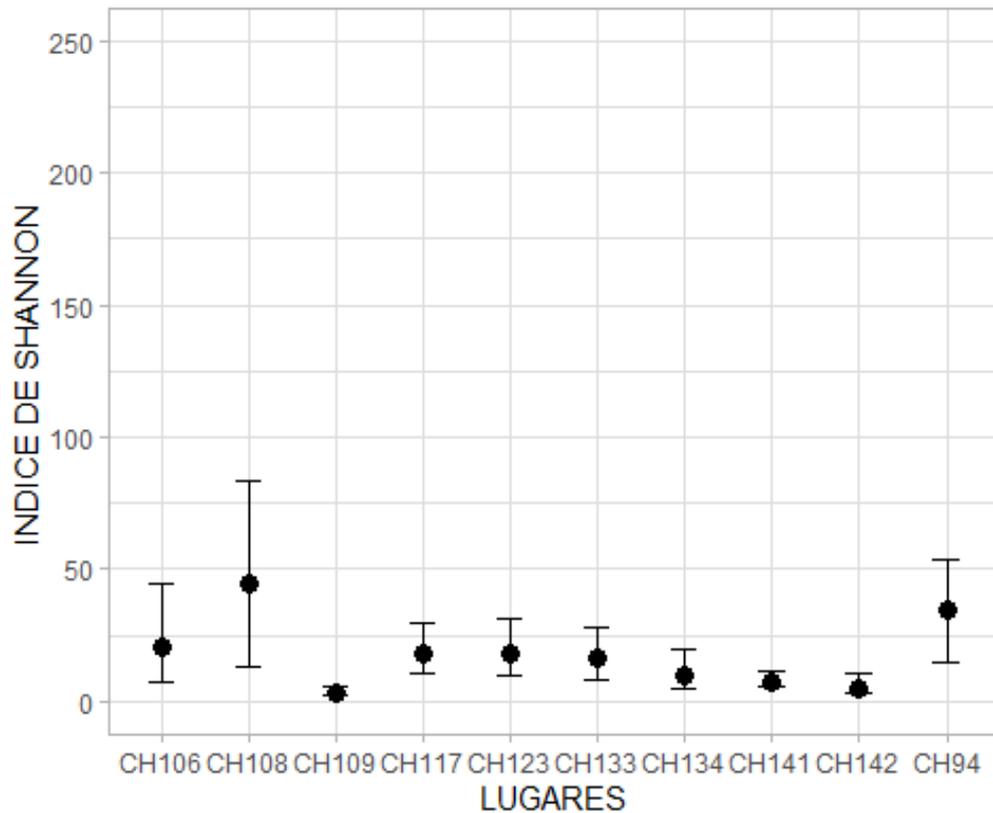


Gráfico 24-3: Índice de Shannon-Wiener a partir de hojas sanas

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

En el caso de este índice nos da como resultado que el individuo CH 108 (Guano) tiene más diversidad de morfotipos con un valor de 44.9, seguido de CH 94(Penipe) con un valor de 34.6, los valores más bajo de diversidad lo tienen individuos CH 109 (Guano), CH 142 (Cunduana), CH 141(Cunduana) y CH 134 (San Luis), con valores como 4.38, 4.89, 7.53 y 9.48 respectivamente, los demás individuos como CH 117 (Licán), CH 123 (Cacha), CH 106 (Guano) y CH 133 (San Luis), tienen valores intermedios como 18.2, 17.9, 21 y 16.5 respectivamente indicando que la diversidad es moderada.

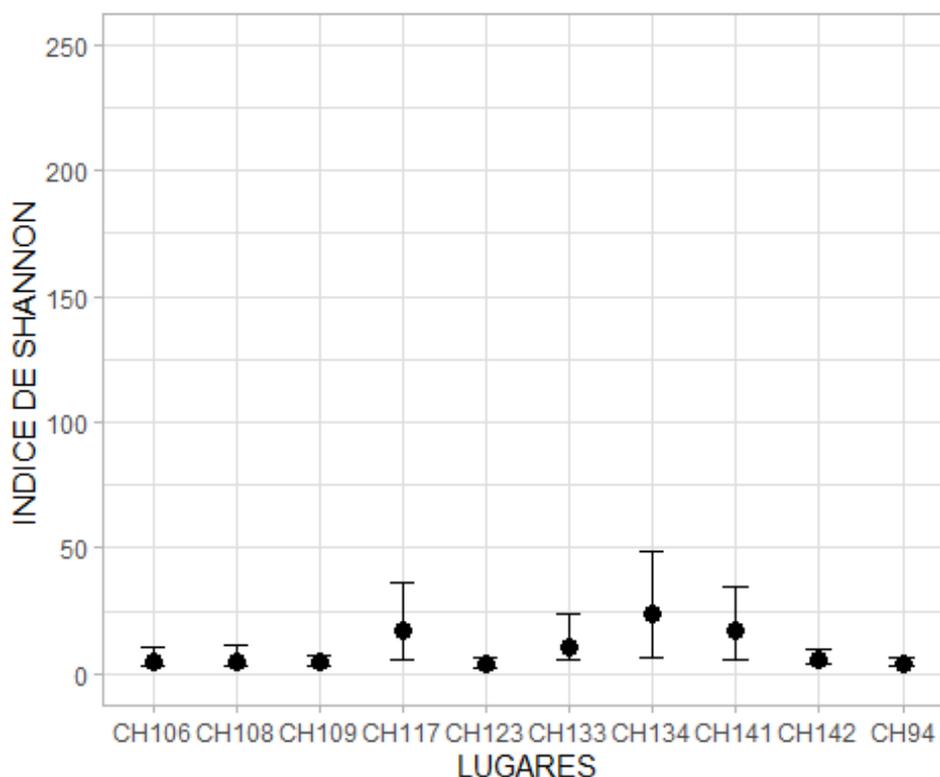


Gráfico 25-3: Índice de Shannon-Wiener a partir de hojas enfermas.

Realizado por: Cuadrado, J. 2021

En el gráfico se puede observar que el individuo CH 134 (San Luis) posee más diversidad de morfotipos con un valor de 23.8, cabe mencionar que casi todos se encuentran en el mismo rango con valores como 4,89 para el caso de los individuos CH 108 (Guano) y CH 106 Guano, para CH 109 (Guano), CH 94 (Penipe), CH 142 (Cunduana), valores como 4.72, 4.38 y 5.6 respectivamente, otros de los valores más altos con los de los individuos CH 141 (Cunduana) (17.6), CH 117 (Licán) (17.6) y CH 133 (San Luis) (10.7) el individuo CH 123 (Cacha) con un valor de 3,7 nos indica que la diversidad en él es muy baja.

Se puede observar que en todos los casos entre hojas sanas y hojas enfermas, hay mucha diferencia entre los índices de diversidad y riqueza, una de las razones es que las muestras de hojas sanas fueron aisladas a partir de tejido vegetal como se menciona en la metodología y los aislados de las hojas enfermas se las toma a partir de micelio luego de que las muestras pasen por cámara húmeda, una de las razones es la que mencionan Gamboa et al. (2002; citados en González, 2017) que tiene una fuerte relación lineal entre el tamaño de los fragmentos sembrados con el número de hongos aislados, en otras palabras, que la reducción del tamaño y el aumento del número de fragmentos de las hojas aumentan el número de especies que se aíslan.

CONCLUSIONES

1. Los aislados puros obtenidos a partir de hojas sanas y enfermas suman en total 87, de los cuales 42 fueron identificados. Los morfotipos obtenidos y que quedan por identificar a partir de hojas sanas son 28, hay varios morfotipos que presentan características importantes como olores, colores y con la capacidad de sellar completamente las cajas Petri, es decir actúa como adhesivo, los morfotipos obtenidos y que quedan por identificar a partir de hojas enfermas suman en total 17 de los cuales a lo posterior pueden servir para nuevas investigaciones.
2. Los hongos identificados para esta investigación a partir de hojas sanas son varios divididos en géneros como *Penicillium* spp con 8 morfotipos diferentes, *Aspergillus* spp 6 morfotipos, siendo los que en más proporción se encuentra, además se obtuvo *Trichoderma* spp, *Purpureocillium* spp, *Cladosporium* spp, *Cephalosporium* spp, *Ulocladium* spp, *Geotrichum* spp, *Pestalotiopsis* spp, *Chaetomium* spp, *Nigrospora* y *Helicomyces* spp, siendo algunos de estos reportados como endófitos por varios autores en sus investigaciones. En el caso de hongos saprófitos identificados a partir de hojas enfermas tenemos a los géneros *Fusarium* spp, *Alternaria* spp, *Ulocladium* spp, *Penicillium* spp y *Cladosporium* spp.
3. Los hongos identificados se los separó por género, observando que las características culturales y morfológicas sean las correctas para ubicarlos en el grupo que pertenecen, no fue posible llegar a realizar análisis moleculares, siendo estos los más adecuados para asegurarnos de que las identificaciones estén correctas abarcando hasta las especies.
4. La diversidad y riqueza entre hojas sanas y enfermas es notable, tenemos 56 morfotipos de nomófilos sanos, de los cuales 28 pertenecen a diferentes géneros, a comparación de las que corresponden a las hojas enfermas con 31 morfotipos de las cuales 14 pertenecen a diferentes géneros.

RECOMENDACIONES

1. Realizar análisis moleculares de por lo menos un aislado de cada morfotipo para futuras investigaciones.
2. Realizar pruebas de patogenicidad de los géneros como *Fusarium* spp, *Alternaria* spp, etc., para comprobar si ocasionan o no daños a la planta.
3. Realizar una investigación de los pigmentos producidos por los hongos para conocer a fondo sus características y dar un enfoque de uso al mismo.
4. Comprobar si los hongos reportados en los resultados a partir de hojas sanas son endófitos a partir de técnicas moleculares, tinción del micelio, la decoloración del tejido vegetal o el cultivo in-vitro, etc.

GLOSARIO

Endófitos: microorganismos que pasan la mayor parte o todo su ciclo de vida colonizando los tejidos de la planta hospedera, sin causar daño evidente.

Métulas: célula de un conidióforo que lleva las fiálides

Fiálide: célula conidiógena que produce conidios blásticos de manera basípeta

Septado: Provisto de septos o tabiques separadores.

Esporangiosporas o endosporas: son células libres dentro de una bolsa, no están adheridas a otras estructuras

Artrosporas o artroconidios: son esporas desarrolladas en una hifa previamente tabicada.

Basidiomicetos: son una división del reino Fungi que incluye los hongos que producen basidios con basidiosporas

Hialinos: tipo de textura, delgado y casi transparente.

Filosfera: Microambiente tridimensional que rodea una hoja (dentro de la hoja).

Porosporas: Esporas que son originadas como brotes por poros en la pared del conidióforo

Dictiosporas: son esporas multicelulares que se dividen tanto transversal como longitudinalmente, son propias de hongos dematiáceos.

Artrosporas o artroconidios: son esporas desarrolladas en una hifa previamente tabicada

Simposulosporas: Conidios que nacen por gemación, pero la célula conidiógena sigue creciendo después de la formación de cada conidio

Sinnemas: Tipología de anamorfo de muchos hongos imperfectos que está constituido por cordones hifales columnares cortos que crecen verticalmente respecto al sustrato, y en los que se desarrollan conjuntos de conidios sobre su parte apical

BIBLIOGRAFÍA

ABELLO, J. y KELEMU, S., 2007. Hongos endófitos: ventajas adaptativas que habitan en el interior de las plantas. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, vol. 7, no. 2, pp. 55. ISSN 0122-8706. DOI 10.21930/rcta.vol7_num2_art:70.

ACOSTA, A., 2019. *CARACTERIZACIÓN CARPOLÓGICA DE LA ESPECIE DE USO ALIMENTICIO PRUNUS SEROTINA KUNTH 1879 EN LA ZONA CENTRAL DE LOS ANDES DEL ECUADOR*. S.l.: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

AGRIOS, G., [sin fecha]. *Introducción a la fitopatología*. S.l.: s.n.

AGRUPACIÓN PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE Y LA PROMOCIÓN DEL EMPLEO RURAL, 2007. SAPRÓFITOS » Biodiversidad Fúngica. [en línea]. [Consulta: 7 enero 2021]. Disponible en: <http://www.adesper.com/projects/biodiversidadfungica/06.1.saprofitos.php>.

ALANIZ, Sandra, 2012. Métodos de esporulación. ,

ALANIZ, S, 2012. Métodos para inducir la esporulación de hongos fitopatógenos. [en línea]. [Consulta: 27 agosto 2021]. Disponible en: http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursometodosfito/12_Metodos_esporulacion_Sandra.pdf.

ALCALÁ, L., et.al.2015. Aspergillus y aspergilosis. *Seimc*, vol. 12, no. 2, pp. 77–78. ISSN 11301406.

ANDINO, E., 2015. *Escuela Superior Politécnica De Chimborazo*. S.l.: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

BARNETT, H. y HUNTER, B, 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi 4th Edition*. Cuarta. S.l.: s.n. ISBN 0-89054-192-2.

BARNETT, H. y HUNTER, Barry, 1998. *Illustrated Genera Of Imperfect Fungi*. 4ta. S.l.: s.n. ISBN 0890541922.

BOONMEE, S., et.al., 2014. Tubeufiales, ord. nov., integrating sexual and asexual generic names. *Fungal Diversity*, vol. 68, no. 1, pp. 239–298. DOI 10.1007/S13225-014-0304-7.

CABRAL, D., 1982. *Contribución al estudio de la filosfera de Eucalyptus viminalis : Dinámica de las poblaciones fúngicas*. S.l.: Universidadde Buenos Aires.

CAMPO, A. y DUVAL, V., 2014. Diversidad y valor de importancia para la conservación de la vegetación natural. Parque Nacional Lihué Calel (Argentina). *Anales de Geografía de la*

Universidad Complutense, vol. 34, no. 2, pp. 25–42. ISSN 19882378. DOI 10.5209/rev_AGUC.2014.v34.n2.47071.

CARBAJAL, F., 2017. *Universidad Nacional De San. S.l.: UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN TARAPOTO.*

CARRETERO, P. y CAMPAÑA, V., 2016. PROSPUESTAS DE REVITALIZACIÓN DE LA CONFECCIÓN ARTESANAL. , pp. 412–418.

CARRILLO, L., [sin fecha]. Los Hongos de los alimentos. , pp. 44–60.

CARRILLO, L., [sin fecha]. LOS HONGOS DE LOS ALIMENTOS Y FORRAJES. [en línea]. [Consulta: 25 agosto 2021 b]. Disponible en: <http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files/5penicilios.pdf>.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL, 1993. *Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones*. Cali, Colombia: s.n. ISBN 958-9183-15.8.

CHICHI, L., 2020. ASOCIADOS A UNA VARIEDAD COMERCIAL DE Carica papaya L . EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN. ,

COÊLHO, M., et.al., 2011. Isolation of endophytic bacteria from arboreal species of the Amazon and identification by sequencing of the 16S rRNA encoding gene. *Genetics and Molecular Biology*, vol. 34, no. 4, pp. 676–680. ISSN 14154757. DOI 10.1590/S1415-47572011005000045.

COELLO, C.D., et.al., 2017. Evaluación del crecimiento y producción de biomasa de dos cepas del género *Pleurotus* spp., cultivadas en un medio agar con diferentes sustratos. *Ciencia y Tecnología*, vol. 10, no. 2, pp. 33–39. ISSN 1390-4051. DOI 10.18779/cyt.v10i2.205.

COUTO, A. y GONCALVES, R., 2016. *Método em Fitopatologia*. Segunda Ed. S.l.: s.n.

CRUZ, R., 2014. *Geotrichum* Link. *Boletín Micológico*, vol. 29, no. 1, pp. 112394. ISSN 0719-3114. DOI 10.22370/bolmicol.2014.29.1.286.

DATABIO, 2017. *Penicillium* spp. [en línea]. [Consulta: 25 agosto 2021]. Disponible en: <https://www.insst.es/documents/94886/353749/Penicillum+spp+2017.pdf/57121544-9157-4bbe-a6eb-b394c83bf9e1>.

DATABIO, [sin fecha]. *Cladosporium* spp. . S.l.:

DELGADO, C., CASTAÑO, J. y VILLEGAS, B., 2013. CARACTERIZACIÓN DEL AGENTE CAUSANTE DE LA ROÑA DEL MARACUYÁ (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*

DEGENER) EN COLOMBIA. *Rev.acad. Colomb. Cienc*, pp. 216–227. ISSN 0370-3908.

DÍAZ, N., 2019. *Universidad nacional de tumbes*. S.l.: UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES.

DUARTE, M., 2015. *Control biológico del nematodo agallador de las raíces de la naranjilla Meloidogyne spp. mediante aislamientos nativos de hongos nematófagos*. Loja: Universidad Nacional de Loja.

ESTRADA, G. y RAMÍREZ, M., 2019. *Micología general*. Manizales-Caldas: s.n. ISBN 978-958-52337-1-3.

FIGUEROA, A., 2017. “DISEÑO DE UNA MICOTECA DE IMPORTANCIA CLÍNICA A PARTIR DE CEPAS REACTIVADAS EN EL LABORATORIO DE MICOLOGÍA CLÍNICA DE LA CARRERA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA DE LA PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR”. Quito: PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR.

FRESNEDO, J., SEGURA, S. y MURATALLA, A., 2011. Morphovariability of capuli in the central-western region of Mexico from a plant genetic resources perspective. *SpringerLink*, pp. 481–495. DOI 10.1007/s10722-010-9592-2.

GARCÍA, B., 2017. *CARACTERIZACIÓN DE PROCEDENCIAS DE Trichoderma spp EN LABORATORIO PARA EL CONTROL DE PATÓGENOS DE CAÑA DE AZÚCAR; SANTA LUCÍA COTZUMALGUAPA, ESCUINTLA*. S.l.: Universidad Rafael Landívar.

GONZÁLEZ, G., et.al., 2021. Caracterización morfofisiológica y molecular de hongos entomopatógenos asociados a *Hypothenemus hampei* en áreas cafetaleras de la comarca Ngäbe-Buglè. *Revista Ciencia Agropecuaria*, no. 22, pp. 78–85. ISSN 1998-7846.

GONZÁLEZ, P., 2017. *Diversidad y distribución de hongos endófitos en Plocama pendula Ait. (Endemismo canario)*. S.l.: UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA.

HEREDIA, G. y ARIAS, R., 2014. Hongos saprobios y endomicorrizógenos en suelos. *Agroecosistemas cafetaleros de Veracruz*, pp. 193–213.

HERNANDEZ, M. y MONTER, N., 2013. *Implantación a Microescala para Determinar las Características Fisiológicas de Hongos Miceliales y Levaduras en el Laboratorio de Microbiología General II de la Carrera de QFB de la FES Zaragoza*. S.l.: Universidad Nacional Autónoma de México.

HERRERA, I. y LAURENTIN, H., 2012. Evaluación de la esporulación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *sesami* en dos medios de cultivo y dos metodologías de inoculación en ajonjolí

(*Sesamum indicum*). ,

HUANACO, J., 2008. *Aislamiento de hongos filamentosos con actividades ligninolíticas en Calamagrostis nitidula Pilger*. Lima: UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS .

INIAP, 2013. Generación de bioconocimiento para la conservación y uso sostenible de la agrobiodiversidad nativa en el Ecuador en el apoyo a la alimentaria. PIC-12 INIAP-13 seguridad y soberanía. . SANTA CATALINA:

INTRIAGO, D., et.al. 2017. Evaluación de la variabilidad genética del capulí (*Prunus serotina* subsp. capulí) en tres provincias del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, vol. 34, no. 1–2, pp. 11. ISSN 2477-9113. DOI 10.26807/remcb.v34i1-2.231.

JIMBO, F., 2018. *APLICACIÓN DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS MICROBIOLÓGICAS A HONGOS LEVADURIFORMES, COMO APOYO EN EL DIAGNÓSTICO DE MICOSIS EN PACIENTES DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARIN DURANTE EL PERÍODO FEBRERO – JULIO DEL AÑO 2017*. Quito: Universidad Central Del Ecuador.

LEZCANO, J., MARTÍNEZ, B. y ALONSO, O., 2012. Caracterización cultural y morfológica e identificación de diez aislamientos de *Fusarium* procedentes de semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú almacenadas. , pp. 187–196.

LEZCANO, J.C., MARTÍNEZ, B. y ALONSO, O., 2009. Caracterización cultural y morfológica e identificación de 12 aislamientos fungosos de semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú Cultural and morphological characterization and identification of 12 fungal isolations in seeds of *Leucaena leucocephala* cv. . *Pastos y Forrajes*, vol. 32, no. 3.

LIMÓN, M., 2017. *Caracterización morfológica y molecular de Pestalotiopsis spp. asociado a cáncer de tallo de arándano (Vaccinium corymbosum L.) en el occidente de México*. S.l.: Universidad de Guadalajara.

LOGORAPID, [sin fecha]. Tabla de códigos Pantone y RGB - LogoRapid. [en línea]. [Consulta: 22 enero 2021]. Disponible en: <https://www.logorapid.com/pantone>.

LUANGSA-ARD, J., et.al., 2011. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiology Letters*, vol. 321, no. 2, pp. 141–149. ISSN 0378-1097. DOI 10.1111/J.1574-6968.2011.02322.X.

MÁRQUEZ, C., 2017. El capulí es augurio de la fertilidad en la cosmovisión andina | El Comercio. . 3 abril 2017.

- MARQUEZ, R., 2017. Micología. , pp. 8–9.
- MEDVEDEFF, M.G., CHADE, E.M., MERELES, B.E. y VEDOYA, M.C., 2008. Identificación de hongos levaduriformes de interés medico. . S.l.:
- MENDOZA, P. y TORRES, C., 2016. Determinación y comparación de microhongos del suelo de un bosque húmedo premontano en Dagua , Valle del Cauca. *Revista de Ciencias*, vol. 20, no. 2, pp. 27–35.
- MINISTERIO DE CULTURA DEL ECUADOR, 2013. Alimentario Patrimonio. 7, pp. 9.
- MORALES, L.,et.al., 2020. Caracterización de hongos asociados al cultivo de fresa y efecto antagonista in vitro de *Trichoderma harzianum*. *Revista mexicana de fitopatología*, vol. 38, no. 3, pp. 434–449. ISSN 0185-3309. DOI 10.18781/R.MEX.FIT.2005-7.
- MORALES, M., 2009. “LOS HONGOS” AUTORÍA MARIA LUISA MORALES GALLEGO TEMÁTICA BIOLOGIA ETAPA ESO, BACHILLERATO Resumen. , ISSN 1988-6047.
- MORALES, V. y RODRÍGUES, M., 2009. Micobiota endofítica asociada al cultivo del mango ‘ Haden ’ (*Mangifera indica* L .) en el oriente de Venezuela Endophytic fungi in mango ‘ Haden ’ (*Mangifera indica* L .) grown at Venezuela eastern Victoria MORALES RONDÓN y Mariela RODRÍGUEZ GONZÁLEZ . I. *Revista Científica UDO Agrícola*, vol. 9, no. 2, pp. 393–402.
- MOSTACERO, G., 2019a. *ETIOLOGÍA Y PATOGÉNESIS DE LA MANCHA DE OJO EN MAÍZ*. S.l.: Universidad Nacional de Cajamarca.
- MOSTACERO, G., 2019b. *ETIOLOGÍA Y PATOGÉNESIS DE LA MANCHA DE OJO EN MAÍZ (Zea mays L.) EN EL VALLE DEL SANTA*. S.l.: Universidad de Cajamarca.
- OCHOA, N., 2004. *EVALUACIÓN DE FACTORES DE VIRULENCIA DE HONGOS INFECCIOSOS EN CAMARÓN BLANCO (Litopenaeus vannamei)*. S.l.: Instituto Politécnico Nacional.
- ORTUÑO, N., MIRANDA, C. y CLAROS, M., 2013. Selección de cepas de *Trichoderma* spp. generadoras de metabolitos secundarios de interés para su uso como promotor de crecimiento en plantas cultivadas. , pp. 16–32. ISSN 2308-3867.
- PANICA, C., et.al., 2015. Desarrollo de un Sistema Experto de Identificación de Hongos más Comunes en Alimentos para la Cátedra de Microbiología Agrícola Resumen Introducción Objetivo Antecedentes. ,

PANIZO, M., et.al., 2005. Mantenimiento y preservación de hongos en agua destilada y aceite mineral. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, vol. 25, no. 1, pp. 35–40. ISSN 1315-2556.

PANTONE COLOR INSTITUTE, [sin fecha]. Acerca del Pantone Color Institute | Pantone. [en línea]. [Consulta: 22 enero 2021]. Disponible en: <https://www.pantone.com/color-consulting/about-pantone-color-institute>.

PEREIRA, S., 2014. *Aspergillus spp . en plantas de maní nativo y cultivado . Identificación , capacidad toxicogénica y control biológico cultivado . Identificación , capacidad Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires*. S.l.: “Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. <http://digital.bl.fcen.uba.ar>”.

PRADA, H., et.al., 2009. Caracterización morfológica y molecular del antagonismo entre el endofito *Diaporthe* sp. aislado de frailejón (*Espeletia* sp.) y el fitopatógeno *Phytophthora infestans*. *Revista Iberoamericana de Micología*, vol. 26, no. 3, pp. 198–201. ISSN 11301406. DOI 10.1016/j.riam.2009.01.002.

RANGEL, E., 2019. *CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE AISLADOS NATIVOS DE Aspergillus flavus EFICACES PARA EL CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN CON AFLATOXINAS DEL ENSILAJE DE MAÍZ EN AGUASCALIENTES*. Aguascalientes: Universidad autónoma de Aguascalientes .

RÍOS, W., VALDEZ, R. y JIMÉNEZ, J., 2017. Aislamiento, propagación y crecimiento de hongos comestibles nativos en residuos agroindustriales. *Scientia Agropecuaria*, vol. 8, no. 4, pp. 327–335. ISSN 2306-6741. DOI 10.17268/sci.agropecu.2017.04.04.

RIVAS, L., 2014. *Alternaria spp*. *Rev Chilena Infectol*. S.l.:

RODRIGUEZ, K., 2003. *ESTUDIO TAXONÓMICO (MORFOLÓGICO Y MOLECULAR) DE ESPECIES DEL GÉNERO CHAETOMIUM Y GÉNEROS AFINES Kendra Catalina Rodríguez Morejón Tesis Doctoral*. S.l.: UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI.

ROMERO, L., 2007. La sistemática, base del conocimiento de la biodiversidad. En: A. CONTRERAS, C. CONSUELO, I. GOYENECHÉ y U. ITURBE (eds.). Primera. Pachuca: s.n., pp. 67. ISBN 970-769-099-2.

ROMERO, O., et.al., 2009. The characteristics of *Trichoderma harzianum* as a limiting agent in edible mushrooms. *Rev. Colomb. Biotecnol*, vol. XI, no. Diciembre, pp. 143–151. ISSN 0123-3475.

RUNA, F., PARK, M.S. y PRYOR, B.M., 2008. Ulocladium systematics revisited: phylogeny and taxonomic status. *Mycological Progress* 2008 8:1, vol. 8, no. 1, pp. 35–47. ISSN 1861-8952. DOI 10.1007/S11557-008-0576-Y.

SALGADO, C. y CEPERO DE GARCÍA, M., 2005. Endophytic fungi in rose (*Rosa hybrida*) in Bogota, Colombia. *Revista Iberoamericana de Micología*, vol. 22, no. 2, pp. 99–101. ISSN 11301406. DOI 10.1016/s1130-1406(05)70016-4.

SÁNCHEZ, M., 2009. *Aislamiento y Caracterización Molecular y Agronómica de Trichoderma spp. Nativos del Norte de Tamaulipas*. S.l.: Insititutup Politécnico Nacional.

SÁNCHEZ, R., et.al., 2013. Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *Tip*, vol. 16, no. 2, pp. 132–146. ISSN 1405888X. DOI 10.1016/s1405-888x(13)72084-9.

SERRATO, S., 2019. *Aislamiento y caracterización de hongos endofíticos provenientes de pasto para uso agrícola*. S.l.: Pontificia Universidad Javeriana.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMACION FORESTAL, [sin fecha]. *Prunus serotina*. . S.l.:

TOLOZA, D. y LIZARAZO, L., 2014. Microbial Populations Associated with the Rhizosphere and Phyllosphere Plants of Cape Gooseberry (*Physalis peruviana* L .). *Revista de ciencias*, vol. 18, no. 2, pp. 27–38.

VÁSQUEZ, E., PIONTELLI, E. y GONZÁLES, F., 2003. ASPECTOS MORFOLOGICOS Y MOLECULARES (ITS- rDNA) EN ESPECIES DEL GENERO *Ulocladium* DE SUE-. , vol. 18, no. 1998.

VÁSQUEZ, J., 2010. *CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA Y PRODUCCIÓN DE Trichoderma harzianum Y Trichoderma viride EN UN CULTIVO ARTESANAL*. S.l.: PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA.

VILLEGAS, M., [sin fecha]. *Trichoderma pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible*. | Orius Biotech | Soluciones para la producción agropecuaria sostenible. . S.l.:

VINCES, E., 2019. *SELECCIÓN DE AISLADOS NATIVOS DE Purpureocillium spp Y MATERIALES ORGÁNICOS EN EL CONTROL DEL NEMATODO Meloidogyne incognita (Kofoid &White) Chitwood EN TOMATE*. Loja: Universidad Nacional de Loja.

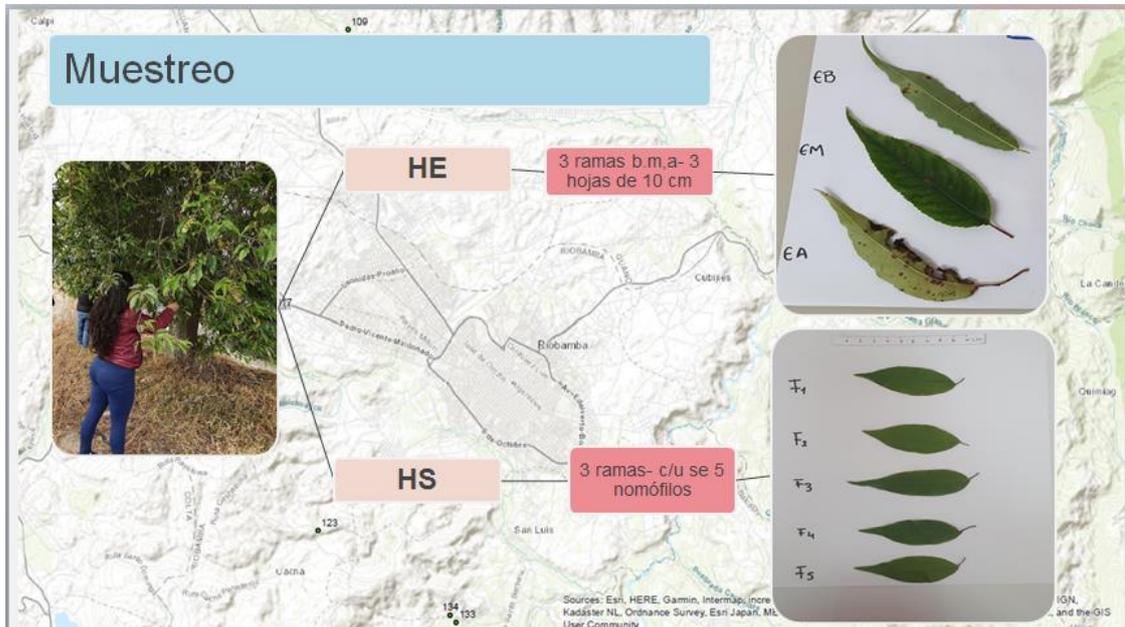
ZAMBRANO, L. y TORRES, C., 2016. *EVALUACIÓN, DIAGNÓSTICO Y BIOCONTROL DE FITOPATÓGENOS DE CAPSICUM FRUTESCENS (SOLANACEAE) EN GUACARÍ, VALLE*

DEL CAUCA. S.l.: Universidad del Valle.

ZHARARE, G.E., KABANDA, S.M. y POKU, J.Z., 2010. Effects of temperature and hydrogen peroxide on mycelial growth of eight *Pleurotus* strains. *Scientia Horticulturae*, vol. 125, no. 2, pp. 95–102. ISSN 03044238. DOI 10.1016/j.scienta.2010.03.006.

ANEXOS

ANEXO A: Muestreo



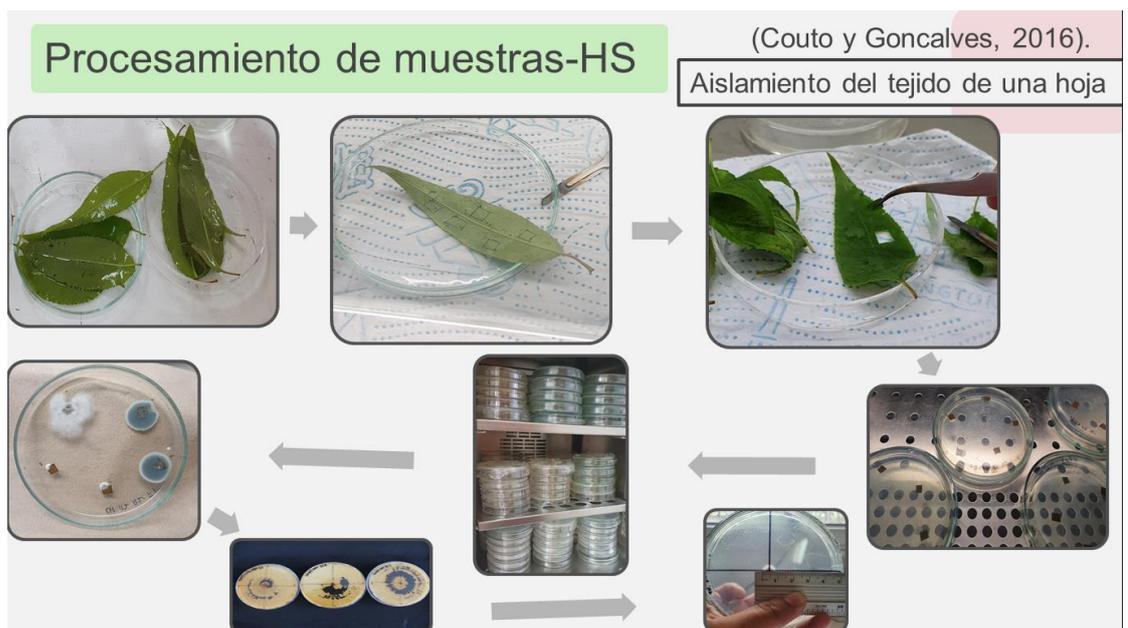
ANEXO B: Colecta, traslado, procesamiento general.



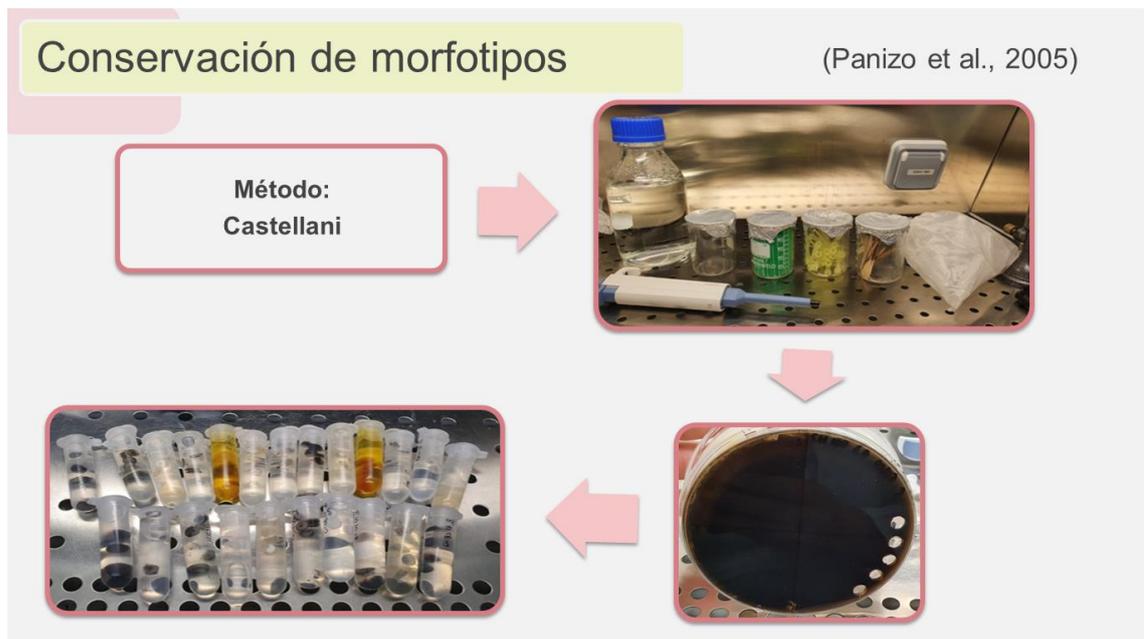
ANEXO C: Procesamiento de muestras hojas enfermas



ANEXO D: Procesamiento de muestras hojas sanas



ANEXO E: Conservación de morfotipos



ANEXO F: Identificación de morfotipos



ANEXO G: Certificado de obtención de resultados (crecimiento radial) en la Facultad de Ciencias Pecuarias

Yo, Luis Tello, técnico del laboratorio de Ciencias Biológicas perteneciente a la Facultad de Recursos Naturales, a petición de la interesada.

CERTIFICO:

Que la señorita Jenevith Alexandra Cuadrado Andrade, egresada de la carrera de Ingeniería Agronómica, con código 2346, realizó el uso del laboratorio de Ciencias Biológicas en la Facultad de Ciencias Pecuarias obteniendo como resultados los morfotipos a partir de hojas sanas con sus mediciones radiales respectivas mencionadas en la presente investigación.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, pudiendo la interesada hacer uso de este documento en lo que estime conveniente.

Atentamente,



Firmado electrónicamente por:
**LUIS ANDRES
TELLO FLORES**

Ing. Luis Tello Flores

Técnico de Ciencias Biológicas

