



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES

CARRERA AGRONOMÍA

AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS FUNGOSOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE TUNA (*Opuntia ficus-indica*, (L.) Mill), EN LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE RECURSOS NATURALES

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGRÓNOMA

AUTORA: MARÍA FERNANDA ESPINOZA CASTRO

DIRECTOR: Ing. FERNANDO JOSÉ RIVAS FIGUEROA Ph.D

Riobamba- Ecuador
2021

© 2021, María Fernanda Espinoza Castro

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

Yo, María Fernanda Espinoza Castro, 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 autor 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, 01 de diciembre de 2021.



María Fernanda Espinoza Castro

085027169-3

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

El Tribunal del trabajo de integración curricular certifica que: El trabajo de integración curricular: Tipo: Proyecto de Investigación, **AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS FUNGOSOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE TUNA (*Opuntia ficus-indica*, (L.) Mill), EN LABORATORIO DE FITOPATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE RECURSOS NATURALES**, realizado por la señorita: **MARÍA FERNANADA ESPINOZA CASTRO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
<p>Ing. Victor Alberto Lindao Cordova Ph.D. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</p>	 <small>Firmado electrónicamente por:</small> VICTOR ALBERTO LINDAO CORDOVA	<p>2021- 01-12</p>
<p>Ing. Rivas Figueroa Fernando José Ph.D. DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN</p>	 <small>Firmado electrónicamente por:</small> FERNANDO JOSE RIVAS FIGUEROA	<p>2021- 01-12</p>
<p>Ing. León Ruiz Juan Eduardo Ph.D. MIEMBRO DE TRIBUNAL</p>	<p>JUAN EDUARDO LEON RUIZ</p> <small>EDUARDO LEON RUIZ DN: cn=JUAN EDUARDO LEON RUIZ, o=ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO, ou=INFORMACIÓN, email=leonrui@esc.edu.ec</small>	<p>2021- 01-12</p>

DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón todo mi esfuerzo y empeño de este proyecto a mi familia, de manera especial a mis padres **Manuel Espinoza** y **Viviana Castro** que a pesar de todas las circunstancias, sacrificios y esfuerzos hicieron todo lo posible para que continuara con mis proyectos, a mis hermanos **María Elena Espinoza** y **Héctor Manuel Espinoza** por inculcarme siempre su apoyo y transmitir su fortaleza de seguir adelante y a mis queridos abuelos **Humberto Castro**, **Marieta Cortez** y **Gloria Elena Pimentel** por su inmenso amor hacia mí, su apoyo incondicional, mostrando el camino a la superación dándome la fuerza de seguir cuando ya no podía más. Por eso doy mi trabajo con mucho cariño y amor a mi familia.

MARÍA FERNANDA ESPINOZA CASTRO.

AGRADECIMIENTO

A **Dios** por bendecirme con la vida y ser mi fortaleza espiritual para culminar con mis proyectos. A **mis padres, a mis hermanos, a mis abuelos y a mi tía Gianella Castro** por su inmenso amor y apoyo incondicional siendo fuente de motivación para terminar con mi profesión académica. A la **Escuela Superior Politécnica de Chimborazo**, carrera de **Agronomía**, por abrirme las puertas y todos los conocimientos impartidos para mi formación profesional. Al **Ingeniero Fernando Rivas Ph.D.** por creer en mí para desarrollar este proyecto de investigación y brindándome todas las comodidades para desarrollarlo, de igual manera al **Ingeniero Pablo Alvarez Ph.D.** por su invaluable colaboración y guía fundamental en el desarrollo de este trabajo de investigación y al **Ingeniero Álvaro Rivera** por su calidad de tiempo y asesorías brindadas para el proyecto de investigación. A la **familia Montaña Méndez** por abrirme las puertas, su apoyo y transmitir ese calor familiar que uno necesita cuando uno se encuentra lejos del hogar. A **mis grandes amigas Sabrina Bedoya, Angie Montaña, Kiabeth Maffares y Evelyn Vásquez** que pese la distancia siempre me brindaron su apoyo con palabras motivadoras, forman parte de mis alegrías y aportaron a mis ganas de seguir adelante con mi carrera y a mis **compañeros de estudios/ amigos** quien he encontrado en el transcurso de mi formación académica, agradezco por su compañerismo, amistad y brindarme su apoyo, en especial a **José Vargas, Johana Moyolema y Josué Sanmiguel**. Agradezco con todo mi corazón todos y cada uno de ellos y a quienes de una u otra manera me apoyaron para el desarrollo de esta investigación, me encuentro realmente agradecida.

MARÍA FERNANDA ESPINOZA CASTRO.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	xv
RESUMEN	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN	1

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	3
1.1. Características climáticas de los lugares de estudio.....	3
1.1.1. Estación Experimental Tunshi.....	3
1.1.2. Chingazo Alto y Bajo	3
1.1.3. Alacao	3
1.2. Agentes fúngicos asociados al cultivo de Tuna.	3
1.2.1. Fusarium sp.....	3
1.2.1.1. Taxonomía.....	4
1.2.1.2. Signos y síntomas	4
1.2.2. Alternaria sp. y Capnodium sp.....	4
1.2.2.1. Taxonomía.....	4
1.2.2.2. Signos y síntomas	5
1.2.3. Colletotrichum sp y Glomerella sp.....	5
1.2.3.1. Taxonomía.....	5
1.2.3.2. Signos y síntomas	6
1.2.4. Pseudocercospora sp.	6
1.2.4.1. Taxonomía.....	6
1.2.4.2. Signos y síntomas	7
1.2.5. Cladosporium sp.....	7
1.2.5.1. Taxonomía.....	7

1.2.5.2.	<i>Signos y síntomas</i>	7
1.2.6.	<i>Scytalidium sp.</i>	8
1.2.6.1.	<i>Taxonomía</i>	8
1.2.6.2.	<i>Signos y síntomas</i>	8
1.2.7.	<i>Geotrichum sp.</i>	8
1.2.7.1.	<i>Taxonomía</i>	8
1.2.7.2.	<i>Signos y síntomas</i>	9
1.2.8.	<i>Armillaria sp.</i>	9
1.2.8.1.	<i>Taxonomía</i>	9
1.2.8.2.	<i>Signos y síntomas</i>	9
1.2.9.	<i>Rhizopus sp.</i>	10
1.2.9.1.	<i>Taxonomía</i>	10
1.2.9.2.	<i>Signos y síntomas</i>	10
1.2.10.	<i>Aecidium opuntiae Magn sin. Puccinia opuntiae (Magnus)</i>	10
1.2.10.1.	<i>Taxonomía</i>	10
1.2.10.2.	<i>Signos y síntomas</i>	11
1.3.	Método de aislamiento, conservación y caracterización de microorganismos fungosos.....	11
1.3.1.	<i>Métodos de Aislamiento de microorganismos.</i>	11
1.3.2.	<i>Purificación de hongos</i>	12
1.3.3.	<i>Métodos de Conservación de aislados.</i>	12
1.3.4.	<i>Caracterización e identificación.</i>	13
1.3.4.1.	<i>Caracterización microscópica</i>	13
1.3.4.2.	<i>Caracterización macroscópica</i>	13
1.4.	Generalidades del cultivo.....	14
1.4.1.	<i>Importancia económica.</i>	14
1.4.2.	<i>Taxonomía</i>	15
1.4.3.	<i>Fenología</i>	16
1.4.4.	<i>Condiciones agroclimáticas</i>	16

CAPITULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	18
-----------	---------------------------	-----------

2.1.	Características del lugar	18
2.1.1.	<i>Localización en campo</i>	18
2.1.2.	<i>Ubicación geográfica del área de estudio</i>	18
2.1.3.	<i>Condiciones climáticas</i>	18
2.1.4.	<i>Clasificación ecológica</i>	19
2.1.5.	<i>Localización en el laboratorio</i>	19
2.2.	Materiales y equipos.....	19
2.2.1.	<i>Materiales de campo</i>	19
2.2.2.	<i>Materiales y equipos de oficina</i>	19
2.2.3.	<i>Materiales y equipos de laboratorio</i>	19
2.2.3.1.	<i>Material biológico</i>	19
2.2.3.2.	<i>Materiales</i>	20
2.2.3.3.	<i>Reactivos</i>	20
2.2.3.4.	<i>Equipos.....</i>	20
2.3.	Metodología	20
2.3.1.	<i>Recolección de muestras de Tuna.</i>	20
2.3.2.	<i>Aislamiento y purificación de microorganismos a nivel “in vitro”.</i>	21
2.3.3.	<i>Caracterización e identificación de los microorganismos fungosos.....</i>	22
2.3.3.1.	<i>Caracterización cultural</i>	22
2.3.3.2.	<i>Caracterización morfológica.....</i>	22
2.3.4.	<i>Conservación de aislados fungosos asociados al cultivo de Tuna usando el método de Castellani y glicerol a -20 °C</i>	23
2.4.	Método de evaluación y datos registrados	23
2.4.1.	<i>Descripción de síntomas y signos asociados al cladodio de la Tuna</i>	23
2.4.2.	<i>Número de aislados de cladodios</i>	24
2.4.3.	<i>Georreferenciación de los lugares de muestreo</i>	24
2.4.4.	<i>Condiciones climáticas</i>	24
2.4.5.	<i>Porcentaje de incidencia y severidad de la infección según el daño de cladodio de Tuna.....</i>	24
2.4.5.1.	<i>Porcentaje de incidencia</i>	24
2.4.5.2.	<i>Gado de severidad.....</i>	25

CAPITULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
-----------	--	-----------

3.1.	Determinación de síntomas y signos expresados en porcentaje de incidencia y severidad presentes en los cladodios de tuna en relación a las condiciones climáticas.....	26
3.2.	Aislamiento, identificación y caracterización de los microorganismos fungosos asociados al cultivo de tuna.....	33
3.3.	Análisis y comparación de los aislados fungosos asociados al cultivo de Tuna..	44
	CONCLUSIONES.....	46
	RECOMENDACIONES.....	49
	GLOSARIO	
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Clasificación taxonómica de la especie <i>Fusarium</i> sp.	4
Tabla 2-1: Clasificación taxonómica de la especie <i>Alternaria</i> sp.	4
Tabla 3-1: Clasificación taxonómica de la especie <i>Capnodium</i> sp.	5
Tabla 4-1: Clasificación taxonómica de la especie <i>Colletotrichum</i> sp.	5
Tabla 5-1: Clasificación taxonómica de la especie <i>Pseudocercospora</i> sp.	6
Tabla 6-1: Clasificación taxonómica de la especie <i>Cladosporium</i> sp.	7
Tabla 7-1: Clasificación taxonómica de la especie <i>Scytalidium</i> sp.	8
Tabla 8-1: Clasificación taxonómica de la especie <i>Geotrichum</i> sp.	8
Tabla 9-1: Clasificación taxonómica de la especie <i>Armillaria</i> sp.	9
Tabla 10-1: Clasificación taxonómica de la especie <i>Rhizopus</i> sp.	10
Tabla 11-1: Clasificación taxonómica de la especie <i>Puccinia</i> sp.	10
Tabla 12-1: Clasificación taxonómica de la especie <i>Opuntia ficus indica</i>	15
Tabla 1-2: Ubicación geográfica de las localidades de estudio de la Provincia de Chimborazo.	18
Tabla 2-2: Resumen de las condiciones climáticas de la provincia de Chimborazo.	18
Tabla 1-3: Porcentaje de incidencia según su tipo de sintomatología.	29
Tabla 2-3: Porcentaje de Severidad según su tipo de sintomatología.	30
Tabla 3-3: Frecuencia de Hongos aislados obtenidos de los cladodios de Tuna (<i>Opuntia ficus</i> <i>indica</i> (L.) Mill) en las diferentes localidades de la provincia de Chimborazo.	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Morfología y crecimiento de colonias.....	14
Figura 1-2: Recolección y preparación de muestras a partir de cladodio de tuna con sintomatología de enfermedades fungosas.....	21
Figura 1-3: Sintomatología tipo A en los cladodios de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) (A-B). Área necrótica de formar irregular (C) Vista parental en el estereoscopio.	26
Figura 2-3: Sintomatología tipo B en los cladodios de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) (A-B) Necrosis de forma circular y exudados (C). Vista parental en el estereoscopio	27
Figura 3-3: Sintomatología tipo C en los cladodios de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) (A-B). Presencia de clorosis y área negruzcas (C) Vista parental en el estereoscopio.	27
Figura 4-3: Sintomatología tipo D en los cladodios de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) (A-B) Necrosis irregular con agrietamientos (C) Vista parental en estereoscopio.....	28
Figura 5-3: Sintomatología tipo E en los cladodios de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) (A-B) Pústulas anaranjadas (C) Vista parental en el estereoscopio.	28
Figura 6-3: Aislados obtenidos de los cladodios de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) enfermos. (A- B) Colonias puras en medio Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA).....	34
Figura 7-3: Caracterización macroscópica de <i>Alternaria</i> sp. aislado de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) (A) Anverso de la colonia en PDA (B) Reverso de la colonia en PDA.....	34
Figura 8-3: Caracterización microscópica de <i>Alternaria</i> sp. aislado de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) (A-C) Conidióforos con lente 20x y 40x (B) Hifas septadas (C) Conidios.....	35
Figura 9-3: Caracterización macroscópica de <i>Fusarium</i> sp. aislado de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) (A) Anverso de la colonia en PDA (B) Reverso de la colonia en PDA..	36
Figura 10-3: Caracterización microscópica de <i>Fusarium</i> sp. aislado de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) (A) Macroconidios (B) Falsas cabezas (C) Monofialides (D) Microconidios.....	37
Figura 11-3: Caracterización macroscópica de <i>Scytalidium</i> sp. aislado de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) (A) Anverso de la colonia en PDA (B) Reverso de la colonia en PDA.....	38
Figura 12-3: Caracterización microscópica de <i>Scytalidium</i> sp. aislado de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) (A) Conidios en lente 20x (B-C) Antroconidios del hongo.....	39
Figura 13-3: Caracterización macroscópica de <i>Trichoderma</i> sp. aislado de Tuna (<i>Opuntia ficus</i>	

	<i>indica</i> (L.) (A) Anverso de la colonia en PDA (B) Reverso de la colonia en PDA	40
Figura 14-3:	Caracterización microscópica de <i>Trichoderma</i> sp. aislado de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) (A-C) Conioforos ramificados (B) Fialosporas. (D) Conidios.....	41
Figura 15-3:	Caracterización macroscópica de <i>Geotrichum</i> sp. aislado de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) (A) Anverso de la colonia en PDA (B) Reverso de la colonia en PDA	41
Figura 16-3:	Caracterización microscópica de <i>Geotrichum</i> sp. aislado de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) (A) Hifas septadas. (B-C) Antroconidios (D) Conidios.....	42
Figura 17-3:	Caracterización macroscópica de <i>Cladosporium</i> spp. aislado de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) (A) Anverso de la colonia en PDA (B) Reverso de la colonia en PDA	43
Figura 18-3:	Caracterización microscópica de <i>Cladosporium</i> sp. de aislado de Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) (A) Conidioforo. (B-C) Conidios.....	44

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: Porcentaje de incidencia según su tipo sintomatológico en la tuna	29
Gráfico 2-3: Porcentaje de severidad según su tipo sintomatológico en la tuna.	31
Gráfico 3-3: Relación de las condiciones climáticas con la Incidencia y Severidad.	32
Gráfico 4-3: Frecuencia de Hongos aislados obtenidos de los cladodios de tuna (<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill) en las diferentes localidades de la provincia de Chimborazo.	45

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: COLECTA DE CLADODIOS DE TUNA ENFRMOS EN LAS DIFERENTE LOCALIDADES DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO.

ANEXO B: ESQUEMA DE AISLSAMIENTO DE MICROORGANISMOS A PARTIR DE CLADODIOS DE TUNA ENFERMOS.

ANEXO C: ESQUEMA DE CONSERVACIÓN DE AISLADOS FÚNGICOS.

ANEXO D: ESQUEMA DESARROLLO DE MICROCULTIVOS.

ANEXO E: RESUMEN DE PROCESAMIENTOS MUESTRAS DE CLADODIOS DE TUNA.

ANEXO F: RESUMEN DE MORFOTIPOS DE LA CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA DE LOS AISLADOS FÚNGICOS.

ANEXO G: RESUMEN DE NÚMERO DE AILADOS FÚNGICOS OBTENIDOS POR LOCALIDAD.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ESPOCH:	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
PDA	Potato Dextrose Agar
PDOT	Plan de Ordenamiento Territorial
SNA	Spezieller Nährstoffarmer Agar

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo aislar microorganismos fungosos asociados al cultivo de Tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill), a nivel de laboratorio para la cual se colectaron muestras de cladodios completos en diferentes estados de desarrollo, con presencia de áreas necróticas, manchas cloróticas, hendiduras, pústulas y presencia de halos, en zonas productoras de las localidades de Tunshi, Chingazos, Alacao y el campus principal Escuela Superior Politécnica de Chimborazo de la provincia de Chimborazo. Se aislaron los hongos sembrando porciones de los cladodios afectados con lesiones características de microorganismos fúngicos previamente desinfectados en medio papa dextrosa agar (PDA) que permitió promover el crecimiento microbiano y obtener aislados puros de los mismo. Fueron obtenidas un total de 44 aislados fúngicos los cuales posteriormente se identificaron en base a características culturales y morfológicas y el uso de las claves taxonómicas de diferentes autores. De acuerdo con la forma de crecimiento, coloración del micelio y la morfología de los conidios, arthroconidios, hifas y esporas se lograron identificar diferentes aislados fúngicos asociados a la tuna. Se obtuvo una gran diversidad de hongos, como los géneros *Alternaria* sp. con una prevalencia del 50% en las diferentes localidades, seguidos por los géneros *Fusarium* sp. (9,09 %), *Scytalidium* sp. (9,09%), *Cladosporium* sp. (6,82%), *Geotrichum* sp. (6,82%), *Trichoderma* sp. (4,55%), *Armillaria* sp. (2,27%) *Rhizopus* sp. (2,27%) y finalmente hongos no identificados (9,09%). Este estudio constituye uno de los primeros realizados en la provincia de Chimborazo sobre el microbiota asociado a este cultivo de creciente importancia, nuevos estudios complementarios son necesarios para clarificar la posición taxonómica y papel de los microorganismos fúngicos encontrados en las diferentes localidades.

Palabras clave: <CARACTERIZACIÓN>, <IDENTIFICACIÓN>, <SINTOMATOLOGÍA>, <AGENTES CAUSALES>, <TUNA (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill)>, <AISLAMIENTO>, <HONGOS>, <CHIMBORAZO>, <ECUADOR>

Firmado electrónicamente por:
**CRISTHIAN
FERNANDO
CASTILLO RUIZ**



2211-DBRA-UTP-2021

ABSTRACT

The present investigation aimed to isolate fungal microorganisms associated to the cultivation of Tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill), at laboratory level that is why samples of complete cladodes were collected in different stages of development with presence of necrotic areas, chlorotic spots, cracks, pustules and presence of halos, in producing areas of the localities of Tunshi, Chingazos, Alacao and the main campus of the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo in the province of Chimborazo. Fungi were isolated by sowing portions of the affected cladodes with characteristic lesions of fungal microorganisms previously disinfested in potato dextrose agar medium (PDA) that allowed promoting microbial growth and obtaining pure isolates of the same. A total of 44 fungal isolates were obtained, which were later identified based on cultural and morphological characteristics and the use of taxonomic keys from different authors. According to the growth form, mycelial coloration, and morphology of conidia, arthroconidia, hyphae and spores, different fungal isolates associated with prickly pear were identified. A great diversity of fungi was obtained, such as the genera *Alternaria* sp. with a prevalence of 50% in the different localities, genera *Fusarium* sp. (9.09 %), *Scytalidium* sp. (9.09%), *Cladosporium* sp. (6.82%), *Geotrichum* sp. (6.82%), *Trichoderma* sp. (4.55%), *Armillaria* sp. (2,27%) *Rhizopus* sp. (2.27%) and finally unidentified fungi (9.09%). This study is one of the first studies carried out in the province of Chimborazo on the microbiota associated to this important crop. New complementary studies are necessary to clarify the taxonomic position and role of the fungal microorganisms found in the different places.

Key words: <CHARACTERIZATION>, <IDENTIFICATION>, <SYMPOMATOLOGY>, <CAUSAL AGENTS>, <TUNA (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill)>, <ISOLATION>, <FUNGI>, <CHIMBORAZO>, <ECUADOR>



INTRODUCCIÓN

La tuna (*Opuntia ficus-indica*) es una planta xerófica que pertenece a la familia de las cactáceas siendo endémicas del continente americano, adaptada a regiones áridas y semiáridas en el cual se conocen diversos usos en la medicina y la nutrición humana (Feugang et al., 2006). Actualmente el consumo del fruto de la tuna viene creciendo continuamente en todo el mundo por sus valores nutricionales, como también por sus características sensoriales, proporcionados por el aroma y sabor características de la especie (Robles, 2009, p.12).

En Ecuador es un cultivo que se avizora su incremento productivo debido a su alta demanda y consumo de su fruta cobrando mayor importancia mundial e incremento en sus exportaciones a países como Italia, Sudáfrica, Chile e Israel (Ramírez et al., 1995). Sus frutos son consumidos en forma natural tanto por campesinos como por pobladores locales y son comercializados en los principales mercados del país.

Además de que representa en el medio rural gran importancia económica, existe falta de asistencia técnica, investigaciones y desconocimiento por parte de los agricultores este recurso no ha alcanzado altos niveles de producción, al contrario, se ve afectado por problemas fitosanitarios reportados como *Fusarium* sp., como principal patógeno que causa la enfermedad conocida como “lágrima de espelma” tanto en tunales jóvenes como adultas; también se encontró la enfermedad denominada “antracnosis” producida por el hongo *Colletotrichum* sp., y una asociación de hongos *Alternaria* sp., y *Capnodium* sp., que produce la “mancha plateada” generalmente en plantas de más de 5 años (Alvarado et al., 2017) que pueden ocasionar daños en todos los órganos como el sistema radical, tallo, cladodios y frutos, generando en cierta gravedad y disminución de los frutos (Bañico, 2015, p.15).

Los trabajos de investigación científica a nivel nacional con respecto a las enfermedades son reducidos, y por tanto el conocimiento y la literatura que existe sobre el tema son escasos; como consecuencia de ello, se presenta una confusión de síntomas y agentes causales lo cual dificulta su control (Bañico, 2015, p.15).

OBJETIVOS

Objetivo general

- Aislar microorganismos fungosos asociados al cultivo de Tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill), a nivel de laboratorio.

Objetivos específicos

- Determinar síntomas y signos presentes en los cladodios de Tuna.
- Aislar microorganismos fungosos a partir de cladodios enfermos de Tuna.
- Caracterizar la morfología y el crecimiento de los hongos asociados al cultivo de tuna, en medios de cultivo “*in vitro*”.
- Identificar los microorganismos fungosos asociados al cultivo de Tuna.
- Conservar los aislados fungosos asociados al cultivo de tuna.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Características climáticas de los lugares de estudio

1.1.1. *Estación Experimental Tunshi*

La estación experimental Tunshi- ESPOCH se encuentra ubicada en la parroquia Licto del Cantón Riobamba. Se diferencian tres pisos climáticos: Ecuatorial frío alta montaña, Ecuatorial mesotérmico semi- húmedo y Ecuatorial mesotérmico seco; la precipitación media anual es 650 mm, siendo los meses de diciembre a mayo con mayor precipitación fluctuando de 500 a 1250 mm/ año; la temperatura media anual es de 14°C; altitud de 2821 msnm; y a humedad relativa es varía entre el 59% y en los meses críticos (PDOT, Licto, 2015).

1.1.2. *Chingazo Alto y Bajo*

La comunidad Chingazo Alto se encuentra ubicada en la parroquia San Gerardo del cantón Guano. Se diferencian dos pisos climáticos: mesotérmico semi-húmedo y el clima de alta montaña; la precipitación media anual es 1275 mm, teniendo dos estaciones con mayor precipitación entre febrero-mayo y octubre-noviembre fluctuando de 500 a 2000 mm/ año; la temperatura fluctúa entre es de 12 a 20 °C; altitud de 2887.6 msnm; y a humedad relativa es varía entre el 58 % y en los meses críticos (PDOT, San Gerardo, 2015).

1.1.3. *Alacao*

La comunidad Alacao se encuentra ubicada en la parroquia la Matriz del cantón Guano; la precipitación media anual es 31,15 mm; la temperatura fluctúa entre es de 10 a 20 °C; altitud de 2987.6 msnm; y a humedad relativa es varía entre el 72 % y en los meses críticos (PDOT, La Matriz, 2015).

1.2. Agentes fúngicos asociados al cultivo de Tuna.

1.2.1. *Fusarium sp.*

1.2.1.1. Taxonomía

Tabla 1-1: Clasificación taxonómica de *Fusarium* sp.

Taxonomía	
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Nectriaceae
Género	<i>Fusarium</i> Link ex Grey, 1821
Especies	<i>F. oxysporum, lunatum, solani, nirenbergiae, arborescens</i> y <i>equiseti</i> .

Fuente: (ISTC).

1.2.1.2. Signos y síntomas

Esta enfermedad es conocida como “Lágrima de espelma” o lagrima de vela debido a que la secreción que sale de los cladodios es de color blanquecino que al gotear se solidifica dándole esa forma característica. Los síntomas comienzan con una mancha acuosa de forma circular, en el centro de color café oscuro con bordes acuosos (Alvarado et al., 2017, p.43).

A medida que progresa la enfermedad el área de la mancha se deprime llegando a alcanzar de 2,5 cm a 5 cm con una coloración café, distribuyéndose por todos los bordes del cladodio llegando a cubrir más del 50 % del área. Finalmente se marchita y luego forma una costra de color negro cubierta de un polvillo blanco sobre la superficie del cladodio causan perforaciones que son típicas de la enfermedad, tanto en el centro como en los bordes del cladodio (Alvarado et al., 2017).

1.2.2. *Alternaria* sp. y *Capnodium* sp.

1.2.2.1. Taxonomía

Tabla 2-1: Clasificación taxonómica de *Alternaria* sp.

Taxonomía	
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Subdivisión	Pezizomycotina

Clase	Dothideomycetes
Orden	Pleosporales
Familia	Pleosporaceae
Género	<i>Alternaria</i>
Especies	<i>A. arborescens, yaliinficiens, alternata y tenuissima.</i>

Fuente: (ISTC).

Tabla 3-1: Clasificación taxonómica de *Capnodium* sp.

Taxonomía	
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Ascomycetes
Orden	Capnodiales
Familia	Capnodiaceae
Género	<i>Capnodium</i>
Especies	<i>Capnodium citri</i> , Mont 1849

Fuente: (Martinez , s.f.).

1.2.2.2. Signos y síntomas

Denominada “Mancha Plateada o mal de Oro”. Se encuentra principalmente en plantaciones con más de cinco años de edad y en poblaciones silvestres, la enfermedad se extiende desde la base de la planta con áreas cloróticas y una puntuación rojiza alrededor de espinas sobre los cladodios y frutos los cuales después se tornan oscuros y necróticos (FAO, et al.,2018, p. 120).

En lesiones de mayor tamaño se observan en el centro una tonalidad café oscuro, en otras puede observarse en el centro una depresión y esta rodeadas por un halo carnoso, la enfermedad es reconocible ya que estas manchas se rodean de un polvillo gris o pardo que al pasar los días forman una mancha de color pardo que cubre la totalidad de las pencas (Alvarado et al.,2017, p.53).

1.2.3. *Colletotrichum* sp.

1.2.3.1. Taxonomía

Tabla 4-1: Clasificación taxonómica de *Colletotrichum* sp.

Taxonomía	
Reino	Fungi

Filo	Ascomycota
Clase	Hypocreomycetidae
Orden	Glomerellales
Familia	Glomerellaceae
Género	<i>Colletotrichum</i>
Especies	<i>Colletotrichum</i> sp.

Fuente: (ISTC).

1.2.3.2. Signos y síntomas

Colletotrichum es un género de hongos fitopatógenos que causan síntomas como “antracnosis” que también ocasiona enfermedades como cánceres y pudriciones, se manifiesta en lesiones semicirculares con hundimientos en forma de anillos concéntricos y se ha encontrado en las puntuaciones negras sobre la mancha la fase sexual que es *Glomerella* sp. (Rojo Báez, et al.,2017).

Inicia en la base de las espinas con pequeñas manchas cloróticas amarillentas que se distribuyen alrededor de las espinas en forma aislada, mientras progresa la enfermedad la mancha va tomando una coloración café rojiza y luego una coloración café claro, mostrando luego anillos concéntricos de coloración café rojiza más acentuada, entre estos anillos se encuentran puntuaciones negras que se extienden por toda la mancha, las puntuaciones son peritecios que contienen en su fase sexual a *Glomerella* sp. En las últimas fases las manchas se unen y forman manchas irregulares con bordes ondulados por los bordes del cladodio. Se presume que *Colletotrichum* sp. asociado el estadio avanzado de la enfermedad (Alvarado et al.,2017, p.43).

1.2.4. *Pseudocercospora* sp.

1.2.4.1. Taxonomía

Tabla 5-1: Clasificación taxonómica de *Pseudocercospora* sp.

Taxonomía	
Reino	Hongos
Filo	Ascomycota
Clase	Dothideomycetes
Orden	Capnodiales
Familia	Mycosphaerellaceae
Género	<i>Pseudocercospora</i> Speg. (1910)

Fuente: (Braun, 2006).

1.2.4.2. Signos y síntomas

Pseudocercospora sp. inicia con la decoloración a un color claro con puntos pequeños de color olivo. Posteriormente las manchas se tornan café oscuro y con un diámetro de a 3-4 cm, presentando además un margen amarillo y la parte central se hunde. Luego la parte afectada se deseca y en muchas ocasiones se desprende dejando orificios que atraviesan el cladodio. Se ha detectado otro síntoma, aunque menos frecuente, que se caracteriza por manchas indefinidas que pueden invadir el cladodio total o parcialmente (De Jesús Méndez et al., 2007, p.12).

1.2.5. *Cladosporium* sp.

1.2.5.1. Taxonomía

Tabla 6-1: Clasificación taxonómica de *Cladosporium* sp.

Taxonomía	
Reino	Hongos
Filo	Ascomycota
Clase	Dothideomycetes
Orden	Capnodiales
Familia	Davidiellaceae
Género	<i>Cladosporium</i> .
Especies	<i>C. cyttariicola</i> , <i>C. herbarum</i> , <i>C. ushuwaiense</i> y <i>C. cladosporioides</i>

Fuente: (Speg, 1923).

1.2.5.2. Signos y síntomas

El hongo del género *Cladosporium* conocido como el “moho” se observa en forma de puntos negros, apenas distinguibles, alineados longitudinalmente. A simple vista tienen la apariencia de tierra depositada sobre los cladodios ocasionando en cladodios y frutos clorosis, pudriciones y por consiguiente la disminución del valor comercial (sinavimo, 2021). En ataques severos, gran parte de la superficie foliar se ve afectada ocasionando una reducción del rendimiento y en la calidad del fruto. En ataques severos se produce el marchitamiento de las hojas y una defoliación parcial de la planta, pudiendo ocurrir la muerte de esta. (Medina, 2011, p.14).

1.2.6. *Scytalidium* sp.

1.2.6.1. *Taxonomía*

Tabla 7-1: Clasificación taxonómica de *Scytalidium* sp.

Taxonomía	
Reino	Hongos
Filo	Ascomycota
Clase	Leotiomicetos
Orden	Helotiales
Familia	Chaetomiaceae
Género	<i>Scytalidium</i>
Especie	<i>Scytalidium lignicola</i>

Fuente: (Braun, 2006).

1.2.6.2. *Signos y síntomas*

Esta causa síntomas similares al “cáncer del tallo” empezando con una pudrición seca que evoluciona hacia una apariencia escamosa en la base de los cladodios (Souza et al., 2010).

Los tejidos infectados excretan abundante exudado amarillento (FAO et al., 20018), ocasionando la muerte regresiva, con la presencia de masas de esporas negras que se ubican debajo de la corteza, produciendo pequeños puntos circulares anaranjados hundidos, que posteriormente, se vuelven chancros. En la superficie de estos últimos se forman picnidios y por último los cladodios se pudren (Sánchez et al., 2019).

1.2.7. *Geotrichum* sp.

1.2.7.1. *Taxonomía*

Tabla 8-1: Clasificación taxonómica de *Geotrichum* sp.

Taxonomía	
Reino	Hongos
Filo	Ascomycota
Clase	Saccharomycetes
Orden	Saccharomycetales
Familia	Dipodascaceae

Género	<i>Geotrichum</i>
Especie	<i>Geotrichum candidum</i> Link, 1809

Fuente: (Speg, 1923).

1.2.7.2. Signos y síntomas

La característica sintomatológica de *Geotrichum* sp. es que causa una podredumbre blanda, parda, acuosa acompañado por un olor agrio. En el comienzo de la infección se puede apreciar una mancha de un color un poco más claro, que en poco tiempo se convierten en mohos de tono blanco y beige en la superficie de las zonas afectadas (León et al.,1980). A medida que avanza la enfermedad, se forma una capa blanquecina de crecimiento micelar sobre la superficie, produce un exudado que hace que la piel se desintegre y generando un olor característico que facilita su detección y el diagnóstico de la enfermedad (León et al.,1980, p.3).

1.2.8. *Armillaria* sp.

1.2.8.1. Taxonomía

Tabla 9-1: Clasificación taxonómica de *Armillaria* sp.

Taxonomía	
Reino	Hongos
Filo	Basidiomycota
Clase	Agaricomycetes
Orden	Agaricales
Familia	Physalacriaceae
Género	<i>Armillaria</i>
Especies	<i>A. Sparrei</i> , <i>A. Montagnei</i> (Herink, 1973).

Fuente: (Braun, 2006).

1.2.8.2. Signos y síntomas

Las plantas de nopal infectadas por *Armillaria* sp. generalmente produce clorosis en los cladodios y disminución en el desarrollo de los frutos como resultado de la desorganización del floema y la alteración del flujo de minerales y agua; Coloniza el tronco y las raíces principales de la planta y produce un micelio blanco con cordones de hifas, llamadas rizomorfos, que dispersan los tejidos infectados contaminando las plantas vecinas. Los síntomas de pudrición basal pueden ser

observados con la liberación de un exudado viscoso. Las porciones podridas de los troncos presentan un borde rojizo brillante el cual se extiende por encima de la línea del suelo. La enfermedad puede afectar las raíces principales (FAO et al., 2018, p.119).

1.2.9. *Rhizopus* sp.

1.2.9.1. Taxonomía

Tabla 10-1: Clasificación taxonómica de *Rhizopus* sp.

Taxonomía	
Reino	Hongos
Filo	Mucoromycota
Orden	Mucorales
Familia	Mucoraceae
Género	<i>Rhizopus</i>
Especie	<i>Rhizopus</i> (Ehrenb, 1820).

Fuente: (Speg, 1923).

1.2.9.2. Signos y síntomas

El género *Rhizopus* sp. produce una podredumbre de desarrollo rápido de color marrón, acuosa, blanda y con descomposición interna. Con el desarrollo de la podredumbre al poco tiempo se observa el crecimiento micelar de color blanco con unos esporangios globulares que con el tiempo adquieren un color negro. Los tejidos afectados al principio desprenden un aroma rancio, pero en poco tiempo las levaduras y bacterias que se depositan en ellos hacen que desprendan un aroma rancio (Agrios, 1988, p.12).

1.2.10. *Aecidium opuntiae* Magn *sin. Puccinia opuntiae* (Magnus)

1.2.10.1. Taxonomía

Tabla 11-1: Clasificación taxonómica de *Puccinia* sp.

Taxonomía	
Reino	Hongos
Filo	Basidiomycota
Clase	Pucciniomicetos

Orden	<i>Pucciniales</i>
Familia	<i>Pucciniaceae</i>
Especies	<i>Puccinia opuntiae</i> (Magnus) Arthur Holw, 1898.

Fuente: (gbif, 1995).

1.2.10.2. Signos y síntomas

Conocida como "roya" en Sudamérica, esta enfermedad es causada por *Puccinia opuntiae*, la cual produce pústulas amarillo-anaranjadas sobre la superficie de los cladodios y frutas. Conforme la lesión se seca, se desarrolla una depresión en los cladodios. Una sintomatología similar fue descrita por Goldanich (1964) para una roya costrosa y el agente causal fue atribuido a *Phyllosticta opuntiae* Sacc. & Speg (FAO et al., 2018, p.119).

1.3. Método de aislamiento, conservación y caracterización de microorganismos fungosos.

1.3.1. Métodos de Aislamiento de microorganismos.

Para el cultivo y crecimiento de los hongos en el laboratorio, es decir el desarrollo del micelio en cajas de Petrí, se deben utilizar determinados medios de cultivo, los cuales deben proporcionar al hongo los nutrimentos requeridos para su crecimiento y desarrollo (Guzmán et al., 1993: p.91-100).

Se emplean medios de cultivo sólidos con agar, los cuales actúan a manera de sustrato al solidificar como una gelatina. El medio de cultivo que se utilizará dependerá de la especie de hongo que se quiere cultivar, ya que cada especie tiene sus propios requerimientos nutricionales (Guzmán et al., 1993: p.91-100).

1.3.1.1. Aislamiento por diseminación en superficie.

Se extiende el inóculo con una espátula de siembra una mínima cantidad de muestra (50µL) rotando múltiples veces el medio sólido y luego incubadas (Camacho, 2015, p.26).

1.3.1.2. Aislamiento por disolución en medio sólido.

Consiste en realizar diluciones sucesivas del inóculo de manera gradual de la muestra en tubos de

agar fundido, suero fisiológico o algún otro diluyente con la finalidad de sembrar la menor cantidad de colonias en el medio sólido (Camacho, 2015, p.26).

1.3.2. Purificación de hongos

1.3.2.1. Método de cultivos de punta de hifa.

Se realiza a partir de una porción de hongo en el centro de la placa con medio de cultivo con bajo contenido nutricional (Agar al 3%); adicionándole una sustancia bacteriostática apropiada. En cuanto se desarrollen hifas separadas en el medio, se ubica una punta con un microscopio estereoscopio a 80 – 120x o con el objetivo 10x de un microscopio para realizar el corte de la hifa detrás de la célula terminal con bisturí de uso oftálmico desinfectado previamente con alcohol y flameado, mismo que con ayuda de un bloque de agar rectangular que contenga la hifa se transfiere a una placa o un tubo con el medio inclinado para que crezca (French et al.,1980, p. 154).

1.3.2.2. Cultivo Monospórico

Consiste en la realización de suspensiones de esporas asépticamente, mismo que será vertido un volumen adecuado sobre la superficie de placas Petri con medio de cultivo, escurriendo el exceso inmediatamente (Para así reducir la concentración de esporas y tener una buena separación entre una y otra), para luego ubicar las esporas con ayuda de un microscopio o estereoscopio. Una vez ubicada la espора, se corta un bloque del agar con solo una espора ocupe el bloque y se transfiere a una caja Petri con medio de cultivo (French et al.,1980, p. 154).

1.3.2.3. Método de observar en capilares.

Partiendo de una suspensión de espора de baja concentración en agar enfriado a 45°C en tubos capilares finos de vidrio se absorbe la suspensión y se observa microscópicamente para ubicar las esporas y se corta un trozo que solo contenga una, siendo sembrado en un medio apropiado (AA, APA u otro) en una cámara aséptica (French et al.,1980, p. 154).

1.3.3. Métodos de Conservación de aislados.

La conservación de los hongos consiste en mantenerlos viables, eliminando la necesidad de repiques frecuentes, impidiendo así las mutaciones en general, una de cuyas consecuencias es la pérdida de virulencia. En la actualidad existen varios métodos para conservar los hongos por

periodos prolongados, los mismos que implican el uso de material variado (Cañedo et al.,2004, p.46).

1.3.3.1. *Conservación en sílica gel.*

El uso de sílica gel es un método de conservación que consiste en extraer la fase líquida de las estructuras. Es un método seguro, si se siguen bien las instrucciones, y fácil de rehabilitar al microorganismo con todos sus atributos (Cañedo et al.,2004, p.46).

1.3.3.2. *Conservación por liofilización.*

La liofilización es otro de los métodos de conservación de hongos por tiempo prolongado. Si bien es muy recomendado, requiere contar con un liofilizador, lo que no siempre está al alcance de todos los investigadores (Cañedo et al.,2004, p.46).

La liofilización es un proceso de conservación, que también involucra la deshidratación de las conidias o cualquier otra estructura propagativa (micelio, conidias, etc.) (Cañedo et al.,2004, p.46).

1.3.4. *Caracterización e identificación.*

Desde una perspectiva investigativa la caracterización es una fase descriptiva con fines de identificación de los componentes, acontecimientos, actores, procesos y contexto de una experiencia, un hecho o un proceso (Sanchez , 2010, p.26).

1.3.4.1. *Caracterización microscópica*

En el estudio microscópico para su identificación, se utiliza un microscopio óptico donde se observa el tipo de hifas, su estructura, tamaño y grosor promedio de las hifas, conidios (Dominguez et al.,2012, p.51).

1.3.4.2. *Caracterización macroscópica*

Dentro de las características macroscópicas se debe observar color de la cepa, aspecto, textura y coloración de ambas caras y la producción de pigmentos (Dominguez et al.,2012, p.51).

Según Estrada y Ramírez (2019: p.93), permite determinar las características morfológicas (macroscópicas) de hongos, a partir de un período de incubación del cultivo puro (compuesta por

un solo microorganismo), en los diferentes medios de cultivo (PDA, Agar-Nutriente, Corn Meal Agar, etc.), que facilita la visualización de diferentes características de las colonias al crecer y se determinan ciertas características en cuanto la forma, superficie, coloración de ambas caras, topografía, margen, producción de pigmentos, aspecto, etc.).



Figura 1-1. Morfología y crecimiento de colonias.

Fuente:(Madigan, 2009, p. 321).

- Caracterización morfológica.

Se basa en inducir la formación de conidios en los aislados monospóricos, en medio de cultivo Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA) para facilitar la formación de conidios; para la identificación los aislados fúngicos se realizan láminas de portaobjeto, con una gota de lactoglicerol facilitar la observación bajo el microscopio las estructuras reproductivas de las colonias. Para la evaluación de las características morfológicas en los aislados fúngicos, se considera características morfológicas como la forma y tamaño de las estructuras reproductivas. La identificación y clasificación de las diferentes especies de hongos según los criterios morfológicos, se desarrolla a partir de las siguientes claves taxonómicas: Gerlach y Nirenberg (1982), Nelson et al., (1983), Barnett y Hunter (1998), Balmas et al., (2000) así como Leslie y Summerell (2006).

1.4. Generalidades del cultivo.

1.4.1. Importancia económica.

La tuna *Opuntia ficus indica* es una planta importante en la economía rural y las regiones áridas en general debido a los altos rendimientos y otros usos que se pueden obtener en grandes áreas donde no hay suficiente lluvia para sembrar las exigentes especies en aguas y suelo, que la

Opuntia ficus indica. Esta planta es muy eficiente para adaptarse y desarrollarse cuando convergen múltiples factores limitantes, lo que no es favorable para la mayoría de las especies de plantas. (Amaya, 2009, p.5).

Ecuador tiene un clima diverso, con un gran potencial para el cultivo de tuna y la capacidad de realizar actividades de producción agrícola en respuesta a la creciente demanda del mercado. Existe una demanda creciente de las propiedades nutricionales y medicinales de esta fruta. Hay más de 20 especies de tunas en el mundo, pero en Ecuador se reproducen cuatro especies: la tuna amarilla sin espina, tuna amarilla con espina, tuna blanca y tuna silvestre silvestre (El comercio, 2001).

Además, existen otras opciones de producción que pueden darse en estos ecosistemas, siendo el factor limitante el elemento agua, y sus diversas aplicaciones son conocidas en medicina. En la nutrición humana, los minerales esenciales (calcio, fósforo, potasio, selenio, cobre y zinc), y buenas cantidades de vitamina C (Feugang et al., 2006), como alimento para ganado bovino (Reveles et al.,2010) y finalmente en la agroindustria que esta planta se usa como hábitat para el crecimiento y producción de la cochinilla del carmín *Dactylopius coccus* C., una plaga es económicamente viable para uso repetido como colorante natural, y quienes han aprendido a venderla se consideran una buena alternativa para aquellas personas que han aprendido a comercializarla (Chávez et al.,2009, p.19).

1.4.2. Taxonomía

Tabla 12-1: Clasificación taxonómica de *Opuntia ficus indica*.

<i>Tuna</i>	
Reino	Plantae
División	Antophyta.
Clase	Dicotiledónea.
Subclase	Archyclamidea.
Orden	Opuntiales (Cactales).
Familia	Opuntiaceae (Cactaceae).
Subfamilia	Opuntioidea
Género	<i>Opuntia</i>
Especie	<i>Opuntia</i> spp.
N. binomial	<i>O. ficus-indica</i> (L.) 1768 Mill.
N. Vulgar	“Tuna”, “nopal”

Fuente: (Bañico, 2015).

1.4.3. Fenología

La diferenciación visual de los pimpollos se puede realizar cuando el diámetro del brote alcanza aproximadamente los 4 mm. El período de desarrollo de la flor, desde brote hasta su madurez, es de aproximadamente 25-37 días (Bonamici, 2005). La peculiaridad de estas plantas es que el desarrollo de las flores es asincrónico: es posible producir yemas reproductivas, floración inversa y frutos jóvenes al mismo tiempo en un momento específico, y algunas especies florecen hasta por segunda vez (Inglese et al.,2002, p.163).

El período de desarrollo del fruto varía según las condiciones climáticas (especialmente con la temperatura) desde 59 a 150 días (Bonamici, 2005).

1.4.4. Condiciones agroclimáticas

1.4.4.1. Altitud

El nopal prolifera desde los 800 hasta los 2 600 de altura sobre el nivel del mar (Hernandez et al.,2015, p.10).

1.4.4.2. Clima

Templado sub-húmedo (Hernandez et al.,2015, p.10).

1.4.4.3. Temperatura

Requiere un medio anual del 6- 28°C (Hernandez et al.,2015, p.10).

1.4.4.4. Precipitación

La precipitación puede oscilar entre los 300 y 700 mm de lluvia anual (Hernandez et al.,2015, p.10).

1.4.4.5. Topografía

En laderas, terrenos planos y valles. Las plantaciones más grandes se encuentran en laderas (Hernandez et al.,2015, p.10).

1.4.4.6. *Suelo*

Suelos con textura franca (Es decir con un buen drenaje que no sea arenoso, ni arcilloso) Ph 6.5 - 8.5. Los mejores suelos para el cultivo de tuna son suelos arenosos, calcáreos bien drenados, de profundidad media, con pH neutros o preferentemente alcalinos. El suelo tiene una alta tasa de fertilidad natural y requiere una profundidad de al menos 30 cm para que la planta esté viva (Hernandez et al.,2015, p.10).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Características del lugar

2.1.1. Localización en campo

La investigación de campo se llevó a cabo en las diferentes localidades productoras de Tuna tales como Tunshi, Alacao, Chingazos, y la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo de la provincia de Chimborazo, Ecuador.

2.1.2. Ubicación geográfica del área de estudio

Tabla 1-2: Ubicación geográfica de las localidades de estudio de la Provincia de Chimborazo.

LOCALIDAD	LATITUD	LONGITUD	ALTITUD (m)
Tunshi	1,75 °S	78,63 °O	2728,7
Alacao	1,58 S°	78,61 O°	2787,7
Chingazo	1,59 S°	78,62 O°	2853,7
EsPOCH	1,66 °S	78,68 O°	2830

Fuente: GPS, 2020.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

2.1.3. Condiciones climáticas¹

Tabla 2-2: Resumen de las condiciones climáticas de la provincia de Chimborazo.

Precipitación promedio anual (mm)	450 mm
Temperatura media anual (°C)	13,5
Humedad relativa (%)	80- 85
Velocidad del viento (m/s)	1

¹ Datos obtenidos del Plan Estratégico de Desarrollo Económico Local de la Provincia de Chimborazo, 2015.

2.1.4. Clasificación ecológica

El Ministerio del Ambiente (2012) dentro de su clasificación se refiere a la zona como Bosque siempreverde de tierras bajas al sur de la cordillera oriental de los Andes, descritos como bosque que por lo general tienen una topografía accidentada con un sistema complejo de pendientes fuertes, crestas, valles y barrancos, en estos últimos existe más cantidad de nutrientes para el crecimiento de vegetación.

2.1.5. Localización en el laboratorio

Las actividades investigativas referente al aislamiento de microorganismos fungosos asociados a la Tuna, se desarrolló en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo – ESPOCH ubicado en la Av. Pedro Vicente (Panamericana Sur km 1 1/2), de la ciudad de Riobamba de la provincia de Chimborazo, Ecuador, a una superficie de 979,7 km² y a una latitud de 9807000 UTM y longitud de 764600 UTM.

2.2. Materiales y equipos

2.2.1. Materiales de campo

Estilete, Caja de cartón, Guantes de cuero, papel periódico, libreta de campo, GPS, Marcadores, Cinta métrica, piola, matriz o planilla de registro de información, lápiz, fotografías impresas de y signos de enfermedades de los cladodios (Tamaño A4).

2.2.2. Materiales y equipos de oficina

Computadora, Impresora, Internet, Flash memory, Papelería en general, Lápices y borradores y carpetas.

2.2.3. Materiales y equipos de laboratorio

2.2.3.1. Material biológico

Cladodios de Tuna enfermos con sintomatología atípica de manchas negra, necrosis. Hendiduras y pústulas naranjas.

2.2.3.2. *Materiales*

Vasos precipitados, matraces Erlenmeyer, placas Petri, pipetas, micropipeta, puntas para, probetas, pinzas, asa de siembra, bisturí, Tubos de ensayo, Tubos eppendorf, Tubos de centrifuga, Cubre y porta objetos, Espátulas, Mechero de bunsen, Palillos, Papel filtro, bolsas de papel estériles, papel periódico, papel toalla, envases plásticos, papel aluminio, Parafilm, Canastilla, vidrio fusible, micropipeta, tarrinas plásticas, Cinta adhesiva, Fosforera, Marcadores, Cámara fotográfica y Libreta de apuntes.

2.2.3.3. *Reactivos*

Agua destilada estéril, Hipoclorito de sodio, Medios de cultivos: Agar-Agua al 2,8%, Potato Dextrose Agar PDA 3.9%, Corn Meal Agar 1.7%, Lacto-glicerol, azul de metileno, Alcohol, Sulfato de estreptomicina, Chloramphenicol, y Sabouraud Glucosado Agar al 6% (NEOGEN), Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA).

2.2.3.4. *Equipos*

Cámara de flujo laminar, agitador orbital, Incubadora, Balanza analítica, Baño María, Microscopio óptico, Estereoscopio, cámara fotográfica, Autoclave, Vortex y Ultracongelador, centrifuga, licuadora, autoclave, microondas, destilador de agua, refrigeradora, secador de vidrio.

2.3. Metodología

2.3.1. Recolección de muestras de Tuna.

Se colectaron cladodios de tuna (*Opuntia ficus-indica*) enfermos con lesiones características por microorganismos fúngicos en los meses de septiembre del 2020 a febrero del 2021, en las diferentes localidades de Tunshi, Chingazos, Alacao y ESPOCH de la provincia de Chimborazo. Las muestras fueron debidamente identificadas, georeferenciadas y codificadas.

Los cladodios de Tuna enfermos fueron tomados directamente de la planta con ayuda de herramientas previamente desinfectadas como estilete y Navaja que permitieron realizar un corte limpio de la muestra. Las muestras fueron envueltas en papel periódico y colocados dentro de una caja de cartón de manera separadas debidamente etiquetadas y registradas en la matriz de información con su código, nombre, lugar y fecha de recolección. Se mantuvo las muestras a

temperatura ambiente 22-25°C para su inmediato procesamiento en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

2.3.2. *Aislamiento y purificación de microorganismos a nivel “in vitro”.*

El aislamiento de hongos fúngicos se realizó mediante aislamiento indirecto en el laboratorio de Fitopatología de la ESPOCH, en base a la metodología propuesta por Alfenas y Mafia (2016), que consiste en sembrar porciones de los órganos afectados en medio enriquecido de nutrientes para promover el crecimiento microbiano y obtener aislados puros de los mismo.

2.3.2.1. *Preparación de Muestras.*

Con la finalidad de eliminar presencia de patógenos en su superficie, las muestras de tuna fueron cortados con ayuda de un bisturí aséptico en porciones de 5 – 8 mm del tejido enfermo y esterilizadas con agua corriente por 1 min, luego con alcohol al 70% por 1 minuto, posteriormente en hipoclorito de sodio al 3% por 5 min, para finalmente por 1 min se retiró el exceso de cloro con agua destilada estéril y secadas en papel absorbente estéril antes de la siembra en el medio.

A partir de la previa desinfestación las secciones de muestras fueron sembradas en cajas Petri con medio de cultivo estéril agar- agua al 3% e incubados a 25°C ± 1 durante 2 a 7 días. La flora microbiana (fúngica y bacteriana) presentes se transfirió a los medios estériles PDA al 3,9% y Agar Nutritivo al 2,8%, respectivamente, y se incubaron a 25° C±1 durante 7 días.



Figura 1-2. Recolección y preparación de muestras a partir de cladodio de tuna con sintomatología de enfermedades fungosas.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

2.3.2.2. Purificación de microorganismos asociados a la Tuna.

La purificación de las cepas se realizó a partir del reislamiento referido por Hornubia et al.,(1995) de colonias de microorganismos fúngicos que se obtuvieron previamente. Los hongos seleccionados en condiciones asépticas fueron sembrados con pequeños fragmentos de micelio del hongo y depositadas en el centro de la caja Petri medio estéril PDA al 3.9%. Los cultivos puros fueron registrados e incubados en posición invertida a 25 °C a 35°C durante 24h a 48h, finalmente después de aproximadamente de 15 a 21 días las colonias fueron almacenados en la refrigeradora del laboratorio.

2.3.2.3. Cultivos Monospóricos

Se realizó a partir del hongo previamente purificado mismo que se tomó un fragmento de la zona del micelio de la colonia con asas estériles dentro de la cámara de flujo laminar y se sumergió en una suspensión en un tubo de ensayo con 10 ml de agua estéril, luego fue agitado por 1 min y se vertió sobre las cajas Petri con medio Agar- Agua al 2%, inmediatamente se eliminó el exceso de agua de las cajas por decantación. Por último, las cajas Petri se incubaron a 25°C en posición vertical durante 24h. Transcurrido el tiempo, con ayuda de un estereoscopio se localizó los conidios germinados con ayuda de un estereoscopio y se transfirió de manera individual a la caja Petri con 20 ml de medio de cultivo PDA con antibiótico las cuales fueron incubadas de forma invertida a 25 °C hasta la obtención de colonias puras (Balmas et al.,2000).

2.3.3. Caracterización e identificación de los microorganismos fungosos.

2.3.3.1. Caracterización cultural

La caracterización cultural se realizó mediante la observación y descripción de las colonias en medio de cultivo PDA, misma que se tuvo en cuenta la textura, forma, margen, crecimiento aéreo de los aislados, color del anverso y el reverso de la colonia en base a la escala de colores propuesta por Munsell (Rivas, 2015, p.36).

2.3.3.2. Caracterización morfológica

En el análisis morfológico se utilizó dos técnicas de observación microscópica, las recomendadas por Rivas (2015) mediante placas y Giraldo (2016: p.28) mediante microcultivos, para ello se promovió previamente la formación de estructuras reproductivas en medio de cultivo Spezieller

Nahrstoffarmer Agar (SNA). La primera fue a partir de la preparación de láminas portaobjeto con una gota de lactoglicerol con azul metileno la cual se colocó sobre la porción de micelio y se cubrió con el cubre objetos para su observación microscópica de las estructuras reproductivas. En la segunda técnica mediante caja Petri estéril se colocó 1 vidrio fusible en forma de triángulo como soporte para el portaobjetos estéril que poseía una porción de 1x1cm de Spezieller Nahrstoffarmer Agar (SNA) y el fragmento del hongo en las cuatro puntas del Agar. El microcultivo se incubó de 3 a 7 días y transcurrido el tiempo se observó con el microscopio los conidios de los diferentes aislados obtenidos.

Se registró en una base de datos la formación de esporas, forma y color de los conidios; también como ausencia o presencia de septos, pigmentos, ausencia o presencia de fiálides, clamidosporas, ascas, basidios, esporangios, rizoides, conidióforos y conidios. Para la identificación de las especies de hongos según los criterios morfológicos, se utilizaron las siguientes claves taxonómicas de Ellis (1971), López et al. (1999), Keissler et al. (2012), y Cundóm y Cabrera (2002) para el género *Alternaria* sp., Leslie y Summerell (2006: pp.113) y Balmas et al., (2000: pp.16-22) para *Fusarium* sp., Crous et al. (2006) y Phillips et al. (2013) para *Neoscytalidium dimidiatum*, Rifai (1969), Samuel et al. (1998) y Barnett y Hunter (1999) para el género *Trichoderma* sp., Barnett y Hunter (1999) y León y Arosemena, (1980) para *Geotrichum* sp, y finalmente Malone y Muskett (1964) y Frazier (1976) para el género *Cladosporium* sp.

2.3.4. Conservación de aislados fungosos asociados al cultivo de Tuna usando el método de Castellani y glicerol a -20 °C

El método que se basó en la conservación del cultivo del hongo en agua destilada estéril mismo que consistió en cortar cubos de 1 cm³ de un cultivo esporulado y colocarlos dentro de frascos de 1,5 ml esterilizados, que contenían el agua destilada estéril (Castellani, 1967).

El método de congelación de los cultivos en freezer a -20°C, fue mediante cortes de cubos de 1 cm³ de un cultivo esporulado, que luego fueron colocados dentro de frascos estériles de 1,5 ml que contenían glicerol estéril al 40% y 60% de agua estéril (Gutiérrez et al.,2017).

2.4. Método de evaluación y datos registrados

2.4.1. Descripción de síntomas y signos asociados al cladodio de la Tuna

De muestras colectadas de las diferentes localidades se registró las manifestaciones

sintomatológicas externas-visibles de los cladodios de Tuna atacadas por microorganismos fúngicos, mediante fotografías y descripción de las mismas en una base datos correspondiente.

2.4.2. *Número de aislados de cladodios*

Se desarrolló una planilla de información que contenía lo siguiente: Código, Tipo de colecta (Cultivo o silvestre), localidad, propietario, ubicación geográfica, descripción de signos y síntomas visibles, observaciones.

2.4.3. *Georreferenciación de los lugares de muestreo*

Se registró de las diferentes localidades de estudio con ayuda el dispositivo GPS “Sistema de Posicionamiento Global”, donde se tomó la ubicación geográfica altura, longitud y latitud de cada localidad.

2.4.4. *Condiciones climáticas*

Las condiciones climáticas como: Temperatura (T°), Humedad Relativa (%HR) y Precipitación (PP) fue tomada a dos metros de cada localidad; se obtuvieron los datos en las fechas de junio del 2020 a julio del 2021, a través de NASA-POWER, que es una página web que proporciona datos meteorológicos de investigación de la NASA mediante satélites.

2.4.5. *Porcentaje de incidencia y severidad de la infección según el daño de cladodio de Tuna.*

La evaluación de incidencia y severidad se efectuó en la fase de campo en plantas de tunales jóvenes y adultas en las diferentes localidades de Tunshi, Chingazos, Alacao y la ESPOCH de la provincia de Chimborazo, se siguió el método de muestreo no probabilístico por conveniencia, organizado de formar lineal por hileras a partir de un tamaño de muestra estipulado para cada localidad.

2.4.5.1. *Porcentaje de incidencia*

Para la incidencia se tomó el número de cladodios enfermos por planta en relación con el número total de cladodios analizados representados con un total de 653 cladodios analizados para la

localidad de Tunshi, 1397 para Chingazo, 1446 para la localidad de Alacao y 1054 para la EsPOCH y se expresó en porcentaje, para ello se utilizó la siguiente fórmula tomada de Ayala (2008):

$$\%I = \frac{\text{Número de cladodios enfermas} \times 100}{\text{N}^{\circ} \text{ total de cladodios analizadas}}$$

Los datos se recolectaron a nivel de campo al momento de registro de datos.

2.4.5.2. *Porcentaje de severidad.*

En severidad se calculó el porcentaje de área foliar afectada del cladodio para ello seleccionó solo un cladodio por planta mismo con un total de 25 cladodios analizados para la localidad de Tunshi, 49 para Chingazo, 24 para la localidad de Alacao y 25 para la EsPOCH, se llevó un registro fotográfico con fondo azul y usando el programa Asses 2.0 se calculó el porcentaje de severidad de determinada sintomatología del cladodio de Tuna.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Determinación de síntomas y signos expresados en porcentaje de incidencia y severidad presentes en los cladodios de tuna en relación a las condiciones climáticas.

Los síntomas y signos asociados a los cladodios de tuna se determinaron en las localidades de Tunshi, Chingazos, Alacao y ESPOCH de la provincia de Chimborazo en cladodios con anomalías o algún tipo de alteración en su estructura como áreas necróticas, manchas cloróticas, hendiduras, pústulas y presencia de halos, considerando el patrón de distribución. La sintomatología observada en los diferentes cladodios de Tuna se detalla a continuación:

En la sintomatología tipo A se reconocieron manifestaciones en el cladodio con diferente progreso de la enfermedad como áreas cloróticas alrededor de las espinas o heridas las cuales después tornan formas irregulares de color oscuros y necróticos. En estado avanzado se evidencia manchas que se rodean de un polvillo gris o pardo que forman una mancha de color pardo que cubre la totalidad de las pencas (**Figura 1-3**).

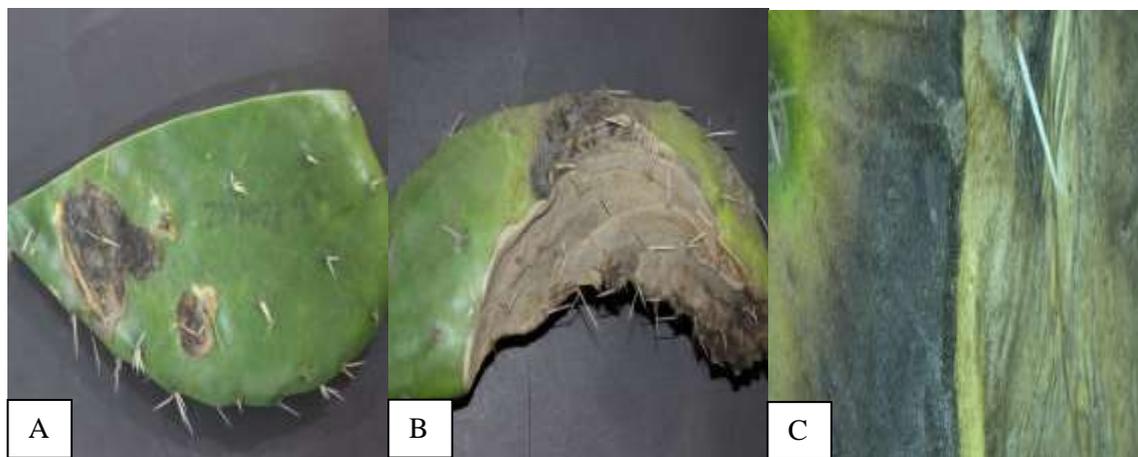


Figura 1-3. Sintomatología tipo A en los cladodios de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (A-B). Área necrótica de forma irregular (C) Vista parental en el estereoscopio.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

La sintomatología tipo B se caracterizó por áreas necróticas con depresión desde el centro de forma circular de color marrón oscuro con bordes acuosos o de colores naranjas a marrón oscuro. Presencia de exudado de color blanquecino o crema (**Figura 2-3**).

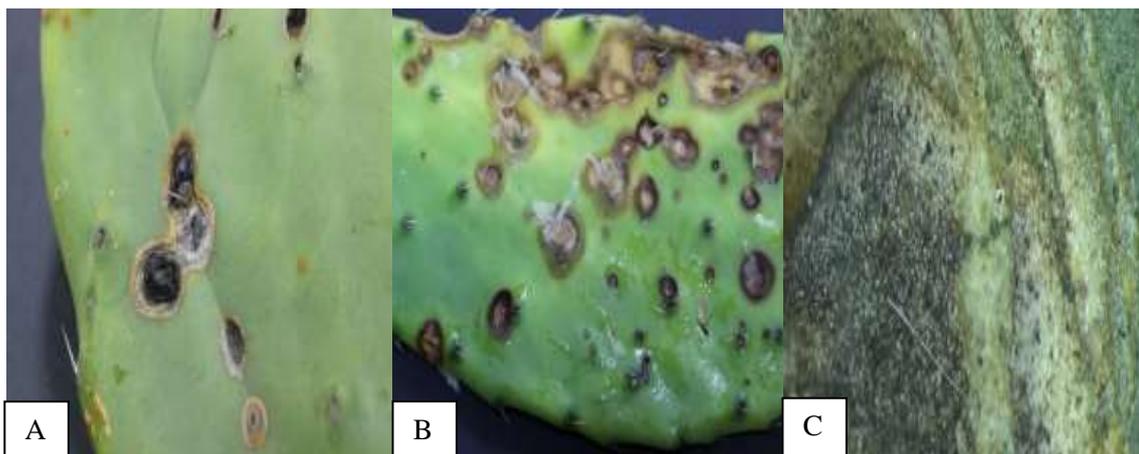


Figura 2-3. Sintomatología tipo B en los cladodios de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (A-B). Necrosis de forma circular y exudados (C). Vista parental en el estereoscopio.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

La sintomatología tipo C se definió por la presencia de necrosis, clorosis sin un patrón definido con agrietamiento sobre la superficie de la epidermis de los cladodios (**Figura 3-3**).

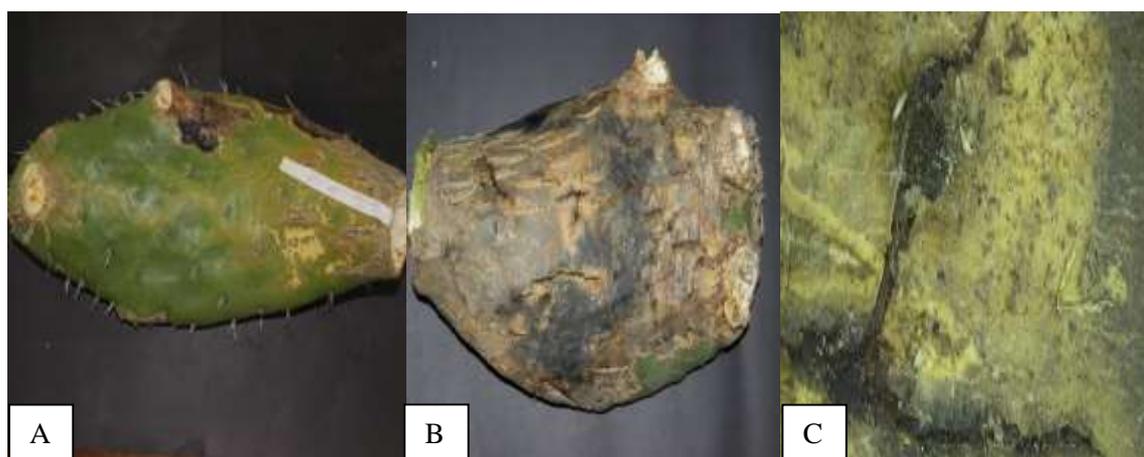


Figura 3-3. Sintomatología tipo C en los cladodios de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (A-B). Presencia de clorosis y área negruzcas (C). Vista parental en el estereoscopio.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

La sintomatología tipo D se identificó como una necrosis irregular de color marrón claro a blanco con agrietamientos en la superficie de la epidermis presente en bordes y la parte interna de la mayoría del cladodio (**Figura 4-3**).

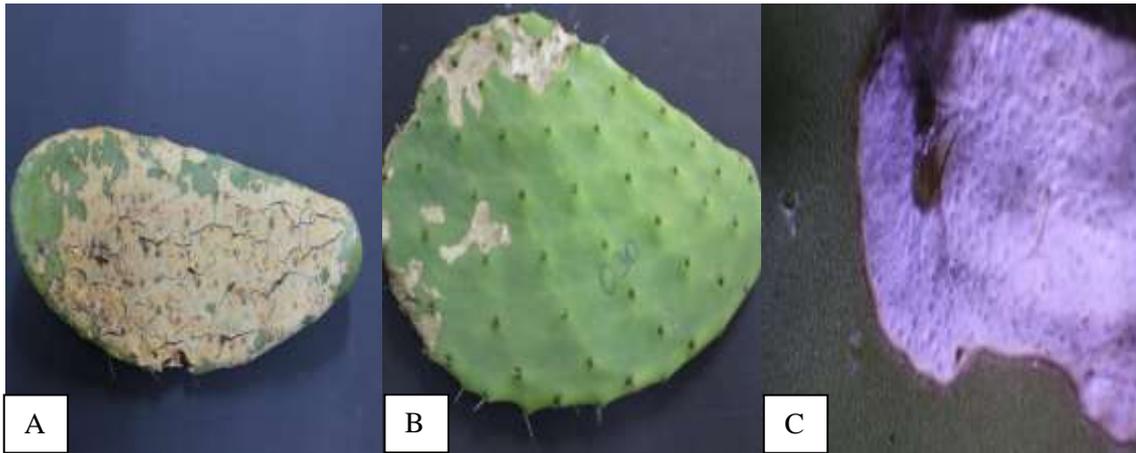


Figura 4-3. Sintomatología tipo D en los cladodios de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (A-B) Necrosis irregular con agrietamientos (C) Vista parental en estereoscopio.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

La sintomatología tipo E se representó por pústulas de color amarillo naranja de forma circular sobre superficie del cladodio (**Figura 5-3**).

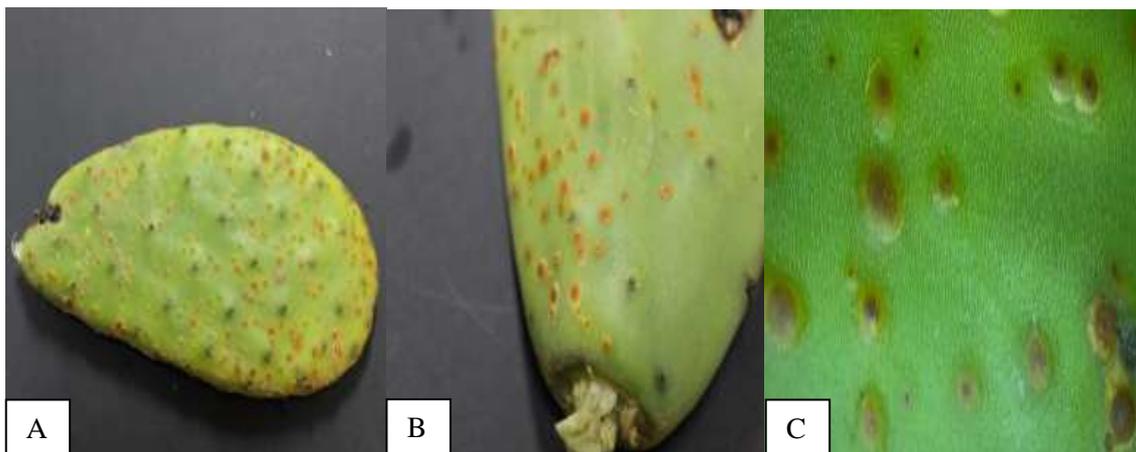


Figura 5-3. Sintomatología tipo E en los cladodios de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (A- B) Pústulas anaranjadas (C) Vista parental en el estereoscopio.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Las manifestaciones de síntomas y signos se caracterizaron por cinco tipos que permitió cuantificar el porcentaje de incidencia a nivel cladodio como a nivel de plantas de tuna (**Tabla 1-3**); también se evaluó el porcentaje de severidad en campo de las manifestaciones sintomatológicas para cada tipo de las principales zonas productoras de tuna de la provincia de Chimborazo (**Tabla 2-3**).

Tabla 1-3: Porcentaje de incidencia promedio según su tipo de sintomatología.

Tipo de síntoma	% Incidencia a nivel de Planta					% Incidencia a nivel de Cladodio				
	Tunshi	EsPOCH	Alacao	Chingazo	PROM.	Tunshi	EsPOCH	Alacao	Chingazo	PROM.
A	4	20	18,6	75,9	29,6	0,31	1,8	1,22	13,85	4,3
B	40	64,4	57,1	95,8	64,3	3,22	6,64	7,19	22,47	9,9
C	0	0	25	6,9	7,9	0	0	1,85	0,92	0,7
D	84	100	91,4	71,9	86,8	17,92	53,23	47,15	31,45	37,4
E	12	91,1	96,4	31,8	57,8	2,14	52,37	60,45	8,28	30,8
PROM.	28,0	55,1	57,7	56,5	PROM.	4,7	22,8	23,6	15,4	16,6

Realizado por: Espinoza María, 2021.

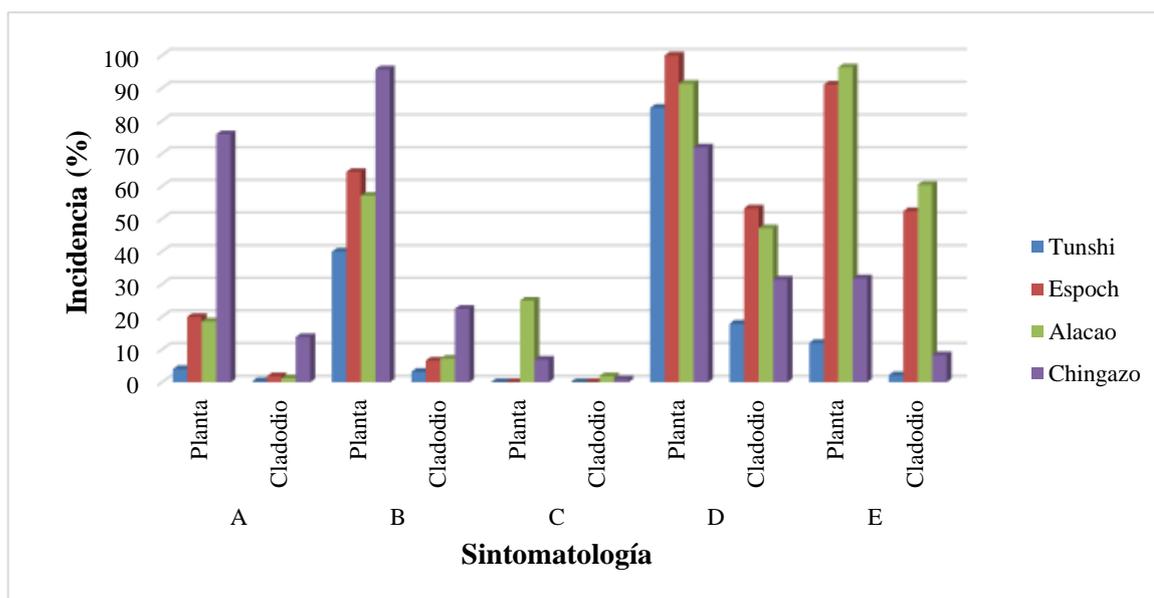


Gráfico 1-3. Porcentaje de incidencia promedio según su tipo sintomatológico en la tuna.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

El mayor porcentaje de incidencia promedio según su tipo de sintomatología a nivel de planta (**Gráfico 1-3**) corresponde al síntoma D caracterizado por necrosis irregular con agrietamiento con una media del 86,8% donde se encontraron los siguientes: los valores más alto se registraron en la localidad de EsPOCH (100%) y Alacao (91,4%), seguidos por las localidades de Tushi (84%) y Chingazo (71,9%). Por otra parte, para el síntoma B (áreas necróticas de formar circular y exudado) con el 64,3% fueron los siguientes: el valor más alto se registró en la localidad de Chingazo (95,8%), le siguieron las localidades de EsPOCH (20%) y Alacao (18,6%), mientras que el valor bajo se registró en la localidad de Tunshi (40%). Por otro lado, los valores para el síntoma E (pústulas anaranjadas) con el 57,8% fueron los siguientes: los valores más altos se registraron en las localidades de Alacao (96,4%) y EsPOCH (91,1%), mientras que los valores más bajos se registraron en las localidades de Chingazo (31,8%) y Tunshi (12%). En cambio, los valores promedios de incidencia para el síntoma A (áreas cloróticas y manchas de color pardo) con el

29,6% fueron los siguientes: el valor más alto se registró en la localidad de Chingazo (75,9%), luego le siguieron las localidades de Espoch (20%) y Alacao (18,6%), mientras que el valor más bajo se registró en la localidad de Tunshi (4%). Y el menor porcentaje de incidencia promedio según su tipo de sintomatología a nivel de planta corresponde al síntoma C con la presencia de necrosis y clorosis con valores del 7,9% donde se encontraron los siguientes: el valor más alto se registró en la localidad de Alacao (25%), mientras que los valores bajos se registraron en la localidad de Chingazo (6,9%), mientras para las localidades de la Espoch y Tunshi no se registraron datos con este síntoma (**Tabla 1-3**).

A nivel de cladodio el porcentaje de incidencia promedio (**Gráfico 1-3**) fue representado por el síntoma D con necrosis irregular y agrietamiento es del 37,4% y se encontraron los siguientes valores: siendo el más alto en la localidad de Espoch (53,23%) y Alacao (47,15%), luego le siguieron las localidades de Tushi (17,92%) y Chingazo (31,45%). Por otra parte, los valores promedios de incidencia para el síntoma E (pústulas anaranjadas) con el 30,8% fueron los siguientes: los valores más altos se registraron en las localidades de Alacao (60,54%) y Espoch (52,37%), mientras que los valores más bajos se registraron en las localidades de Chingazo (8,28%) y Tunshi (2,14%). Por otro lado, los valores promedios del síntoma B (áreas necróticas de formar circular y exudado) con el 9,9% fueron los siguientes: el valor más alto se registró en la localidad de Chingazo (22,47%), le siguieron las localidades de Alacao (7,19%) y Espoch (6,64%), mientras que el valor bajo se registró en la localidad de Tunshi (3,22%). En cambio, los valores promedios de incidencia para el síntoma A (áreas cloróticas y manchas de color pardo) con el 4,3% fueron los siguientes: el valor más alto la localidad de Chingazo (13,85%), luego le siguieron las localidades de Espoch (1,8%) y Alacao (1,22%), mientras que el valor más bajo es de Tunshi (0,31%). Por último, el menor porcentaje de incidencia promedio corresponde al síntoma C con la presencia de necrosis y clorosis con valores del 0,7% donde se encontraron los siguientes: la localidad de Alacao (0,92%) como el mas alto, mientras que los valores bajos se registraron en la localidad de Chingazo (1,85%) y en las localidades de Espoch y Tunshi no se registraron datos con este síntoma. (**Tabla 1-3**).

Tabla 2-3: Porcentaje de Severidad promedio según su tipo de sintomatología.

Tipo Síntoma	% Severidad				PROM.
	Tunshi	Espoch	Alacao	Chingazo	
A	0,31	47,6	24,6	17,62	22,5
B	5,7	5,93	6,9	13,07	7,9
C	0	0	40,1	12,92	13,3
D	33,7	14,1	73,5	73,21	48,6
E	22	4,75	20,9	15	15,7

PROM.	12,3	14,5	33,2	26,4	-
-------	------	------	------	------	---

Realizado por: Espinoza María, 2021.

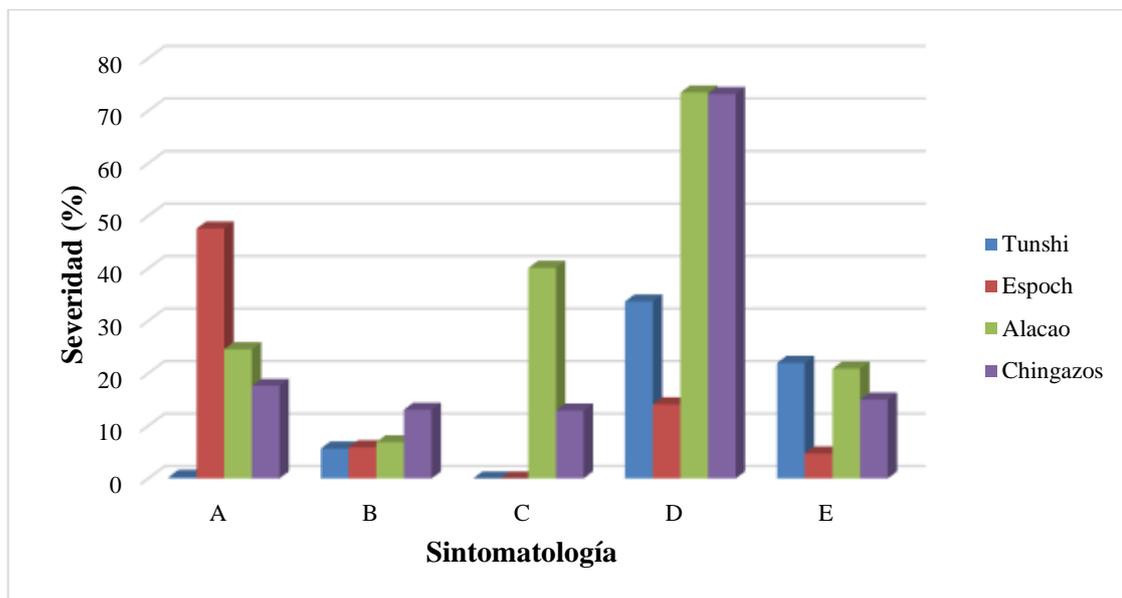


Gráfico 2-3. Porcentaje de severidad promedio según su tipo sintomatológico en la tuna.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

El mayor porcentaje de severidad promedio según su tipo de sintomatología (**Gráfico 2-3**) fue representado por el síntoma D mismo que es caracterizado por necrosis irregular con agrietamiento y con el 48,6% donde se encontraron los siguientes valores: correspondiendo al más alto la localidad de Alacao (73,5%), Chingazo (73,21%), luego le siguieron las localidades de Tushi (33,7%) y Espoch (14,1%). Por otra parte, los valores promedios de incidencia para el síntoma A (áreas cloróticas y manchas de color pardo) con el 22,5% fueron los siguientes: el valor más alto se registró en la localidad de Espoch (47,6%), Alacao (24,6%) Chingazo (17,62%), el valor más bajo se registró en la localidad de Tunshi (0,31%). Por otro lado, los valores promedios de incidencia para el síntoma E (pústulas anaranjadas) con el 15,7% fueron los siguientes: los valores más altos se registraron en las localidades de Tunshi (22%), Alacao (20,9%) mientras que los valores más bajos se registraron en las localidades de Chingazo (15%) y Espoch (9,1%). En cambio, el síntoma C con la presencia de necrosis y clorosis con valores del 13,3% donde se encontraron los siguientes: el valor más alto se registró en la localidad de Alacao (40,1%), mientras que los valores bajos se registraron en la localidad de Chingazo (12,92%) y para las localidades de la Espoch y Tunshi no se registraron datos con este síntoma. Finalmente, el menor porcentaje de severidad promedio según su tipo de sintomatología corresponde al síntoma B (áreas necróticas de formar circular y exudado) con el 7,9% fueron los siguientes: el valor más alto se registró en la localidad de Chingazo (13,07%), le siguieron las localidades de Alacao (6,9%), Espoch (5,93%) y mientras que el valor bajo se registró en la localidad de Tunshi (5,7%).

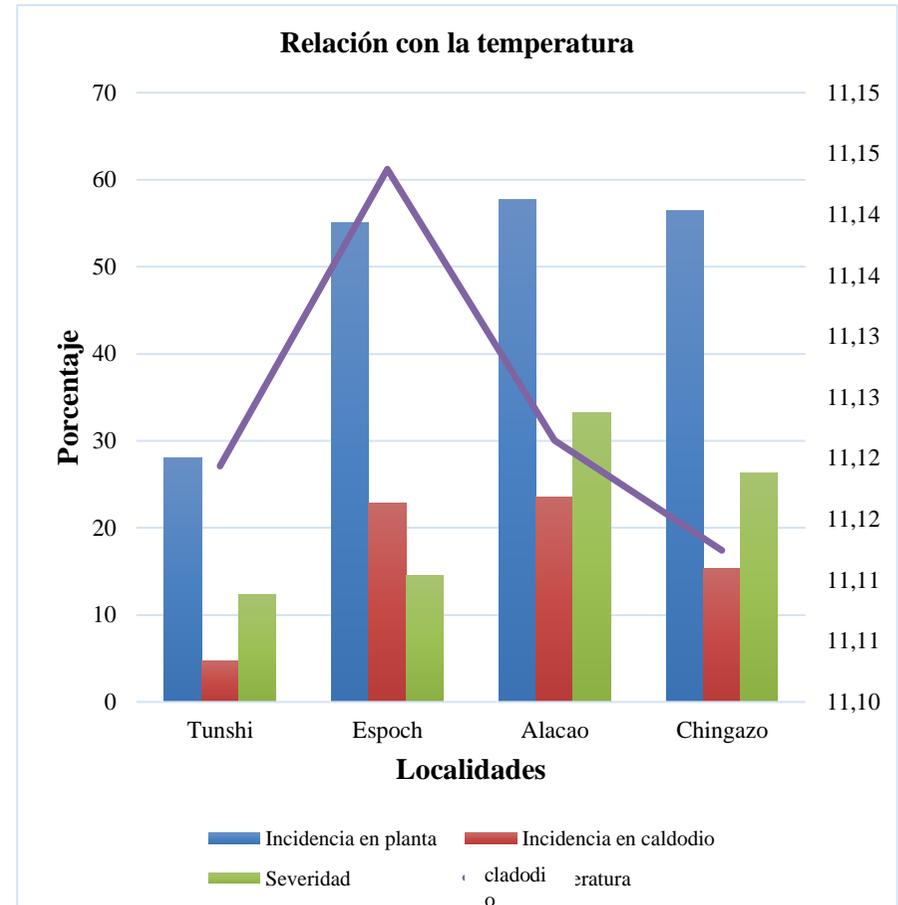
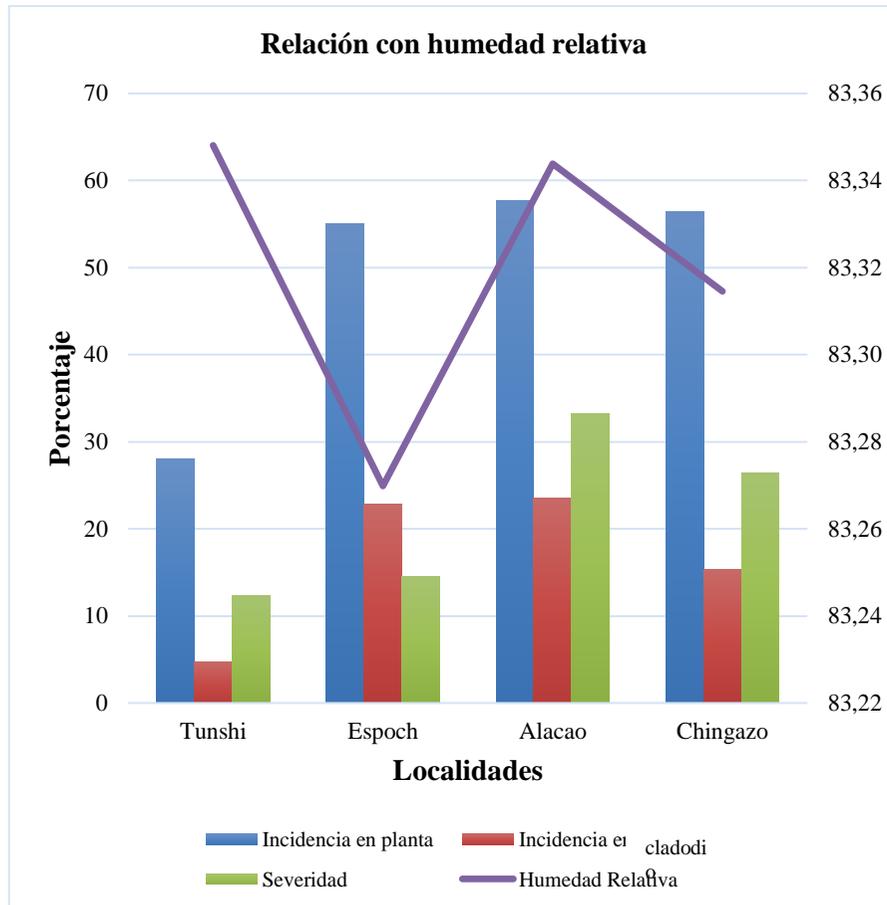


Gráfico 3-3. Relación de las condiciones climáticas con la Incidencia y Severidad.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Los datos promedios de incidencia (**Gráfico 3-3**) a nivel de planta fueron de 57,7% para la localidad de Alacao, el 23,6% a nivel cladodio y el 33,2% de severidad esto es debido a que encuentran a una baja densidad de siembra y con condiciones ambientales favorables que favorecen a la propagación y distribución de las enfermedades, consecuente la localidades chingazos con el 56,6% de incidencia en planta, el 15,4% a nivel de cladodio y el 26,4% de severidad, consecutivamente seguido por la Epoch con una incidencia del 55,1% a nivel planta, el 22,8% en cladodios y el 14,5% de severidad; Finalmente tenemos a Tunshi con los valores más bajos con relación a la incidencia del 28% a nivel de planta, el 4,72% en cladodios y la severidad del 12,3% respectivamente, lo cual evidenció el número de plantas afectadas en el período evaluado es mucho menor en relación a las otras localidades, a que a pesar que las condiciones climáticas del lugar son favorables para el patógeno las plantas presentan resistencia debido a su manejo agronómico y separación entre plantas.

El porcentaje de incidencia y severidad presente en las diferentes localidades de estudio fue diferente en la tuna con una similitud a las regiones agroecológicas concordando con Kurowski et. al, (2009) que menciona que las condiciones climáticas son factores importantes para la presencia y desarrollo de los hongos, haciéndolo susceptible a las plantas. Por otro lado, cabe recalcar que las enfermedades se ven reducidas debido a que la epidermis del cladodio de tuna es cerosa y limita la fijación de la humedad misma por la cual los patógenos no tienen las condiciones para desarrollarse.

Durante el periodo de evaluación en campo la humedad relativa fue mayor al 80% en todas las localidades, considerado como una humedad elevada es favorable para la germinación y penetración de esporas fúngicas (Zambolin, et. al, 2014), mientras que para la temperatura se mantuvo por debajo de los 11 °C mismo que en temperatura templadas la cantidad del inóculo es mayor afectando las partes aéreas de la planta (Passamani, et. al, 2014). La temperatura interactúa en el desarrollo de la enfermedad en el huésped, influyendo en la germinación, penetración de infección del huésped, supervivencia y predisposición del huésped.

3.2. Aislamiento, identificación y caracterización de los microorganismos fungos asociados al cultivo de tuna.

Se obtuvieron un total de 44 aislados de los cladodios de tuna (**Figura 6-3**) de síntomas caracterizados como necrosis, clorosis, hendiduras, pústulas y presencia de halos.

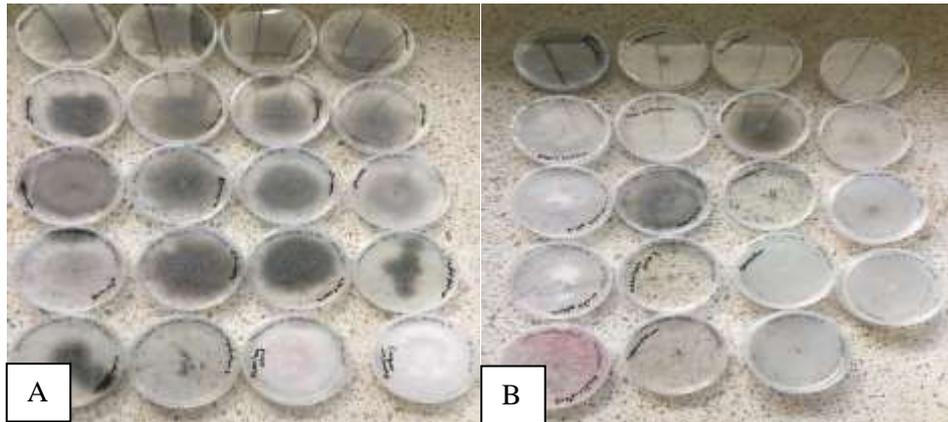


Figura 6-3. Aislados obtenidos de los cladodios de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) enfermos.

(A- B). Colonias puras en medio Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA).

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Las colonias que se desarrollaron en el medio de cultivo PDA mostraron diferentes características morfológicas macroscópicas y microscópicas. El color y el tipo de micelio fueron las principales características que se consideraron para seleccionar los 6 microorganismos fungosos morfológicamente diferentes después de los 8 días de incubación a 25°C. Estos aislados se presentan los resultados de caracterización e identificación a continuación:

Morfotipo_1: *Alternaria* sp.

El crecimiento de la colonia del género *Alternaria* sp. en medio de cultivo PDA presentó una apariencia algodonosa de color blanco en el anverso y color negro parduzco en su reverso que con el tiempo se tornaron grisáceas (Munsell, 2009: p.10) (**Figura 7-3**); Del mismo modo reflejó una forma circular con elevación media y márgenes enteros a ondulados (Madigan, 2009, p. 321).

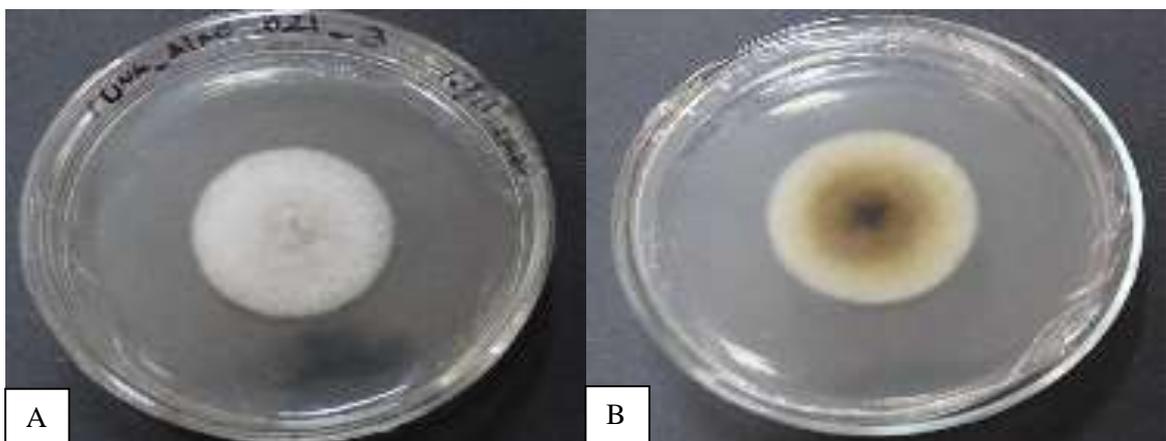


Figura 7-3. Caracterización macroscópica de *Alternaria* sp. aislado de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (A) Anverso de la colonia en PDA (B) Reverso de la colonia en PDA.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Microscópicamente, las estructuras morfológicas del género *Alternaria* sp. mostraron hifas septadas o tabicadas con tonalidades levemente marrón (**Figura 8-3 B**). Los conidióforos se manifestaron simples con uno o varios conidios de color marrón claro a oscuro (**Figura 8-3 C**) de igual manera los conidios son multiformes de forma elipsoides u ovoides, con un pico cónico corto aproximadamente con cinco septos transversales y en varios tamaños (**Figura 8-3 D**).

Estos resultados referentes a su caracterización macroscópica y microscópica concuerdan a los obtenidos por Ellis (1971), López et al. (1999), Keissler et al. (2012), y Cundóm y Cabrera (2002) para el género *Alternaria* sp. lo que indica que las colonias son color blanco al inicio y luego se vuelven de color grisáceas. Las hifas son septadas y de colores café pardo. Los conidióforos simples, erectos, oliváceos-café o marrón claro, con uno o varios poros apicales; conidios formados en cadena o individualmente, elipsoidales a ovoides, oliváceos-café claro, septados transversalmente (4 a 9 septos) y con pocos o ningún septo longitudinal para *A. alternata*.

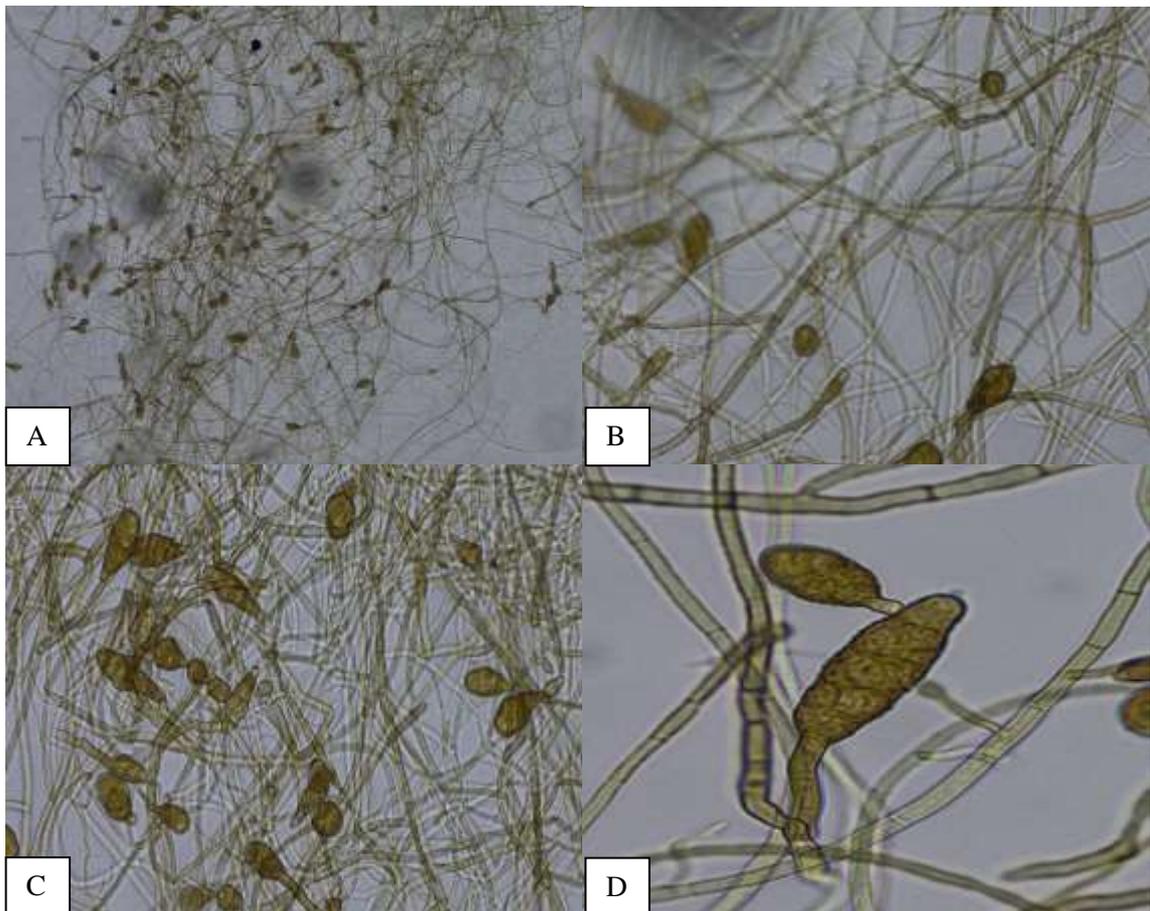


Figura 8-3. Caracterización microscópica de *Alternaria* sp. aislado de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (A-C) Conidióforos con lente 20x y 40x (B) Hifas septadas (C) Conidios.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Morfotipo_2: *Fusarium* sp.

El crecimiento de la colonia de *Fusarium* sp. en medio de cultivo PDA presentó una apariencia algodonosa de color gris claro rojizo en el anverso y color marrón rojizo en su reverso (Munsell, 2009: p.18) (**Figura 9-3.**); mostró una forma filamentosa con elevación media y márgenes filamentosos (Madigan, 2009, p. 321).

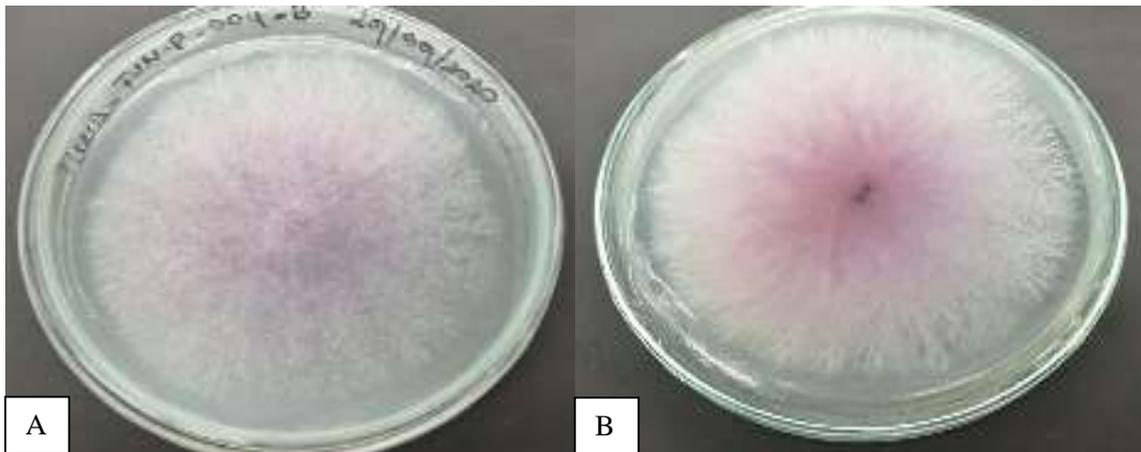


Figura 9-3. Caracterización macroscópica de *Fusarium* sp. aislado de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (A) Anverso de la colonia en PDA (B) Reverso de la colonia en PDA.

Realizado por: María Espinoza, 2021.

Las estructuras morfológicas del aislado *Fusarium* sp. presentaron macroconidios relativamente curvados en forma de gancho con 3- 4 septos (**Figura 10-3 A**), los microconidios se formaron en falsas cabezas en forma ovoide (**Figura 10-3 B**), se observó monofialides en forma de frasco o de bolos y polifialides (**Figura 10-3 C**), finalmente los microconidios son de forma ovoide o elipsoidal (**Figura 10-3 D**). No presentaron clamidosporas.

Estos resultados referentes a su caracterización macroscópica y microscópica concuerdan a los obtenidos por Leslie y Summerell (2006: pp.113) y Balmas et al., (2000: pp.16-22) para este género. lo que indica que el género *Fusarium* sp. produce microconidios hialinos, pequeños y elípticos; conidióforos alargados o cortos. También presenta macroconidios finos alargados con tres a cinco células puntiagudas que poseen una pared delgada.

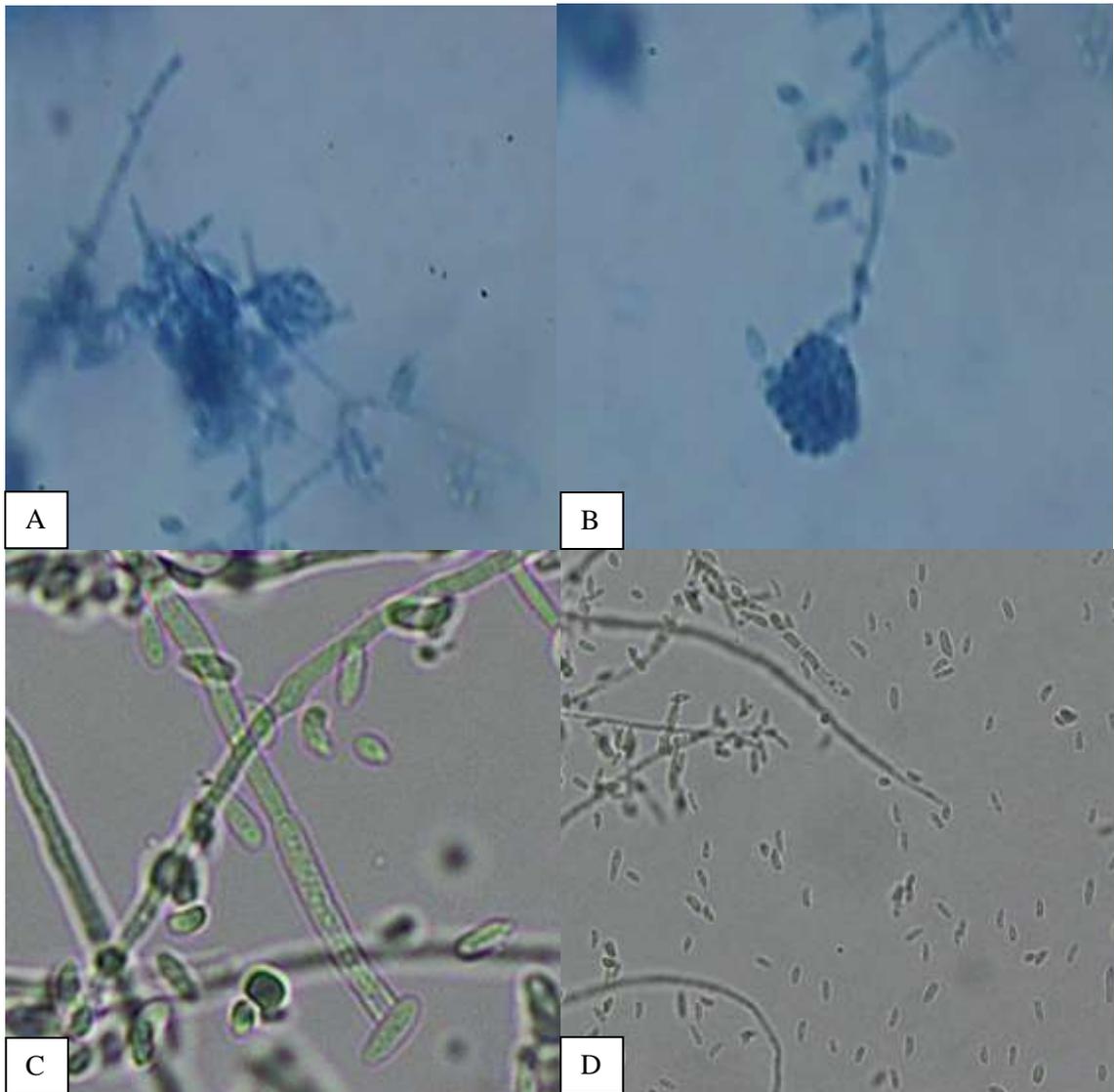


Figura 10-3. Caracterización microscópica de *Fusarium* sp. aislado de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (A) Macroconidios (B) Falsas cabezas (C) Monofiálides (D) Microconidios.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Morfotipo_3: *Scytalidium* sp.

El crecimiento de la colonia del género *Scytalidium* sp. en medio de cultivo PDA presentó una apariencia de textura viscosa de color amarillo a naranja para ambas caras de la caja Petri (Munsell, 2009: p.18) (**Figura 11-3.**); Del mismo modo reflejó una forma circular con elevación plana y márgenes erosionado (Madigan, 2009, p. 321).

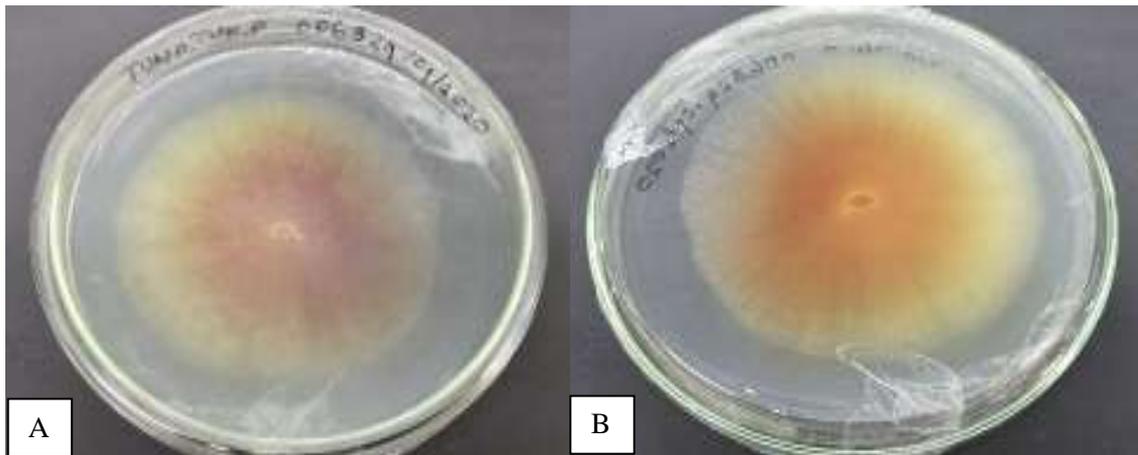


Figura 11-3. Caracterización macroscópica de *Scytalidium* sp. aislado de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) (A) Anverso de la colonia en PDA (B) Reverso de la colonia en PDA.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Microscópicamente, las estructuras morfológicas del género *Scytalidium* sp. presentaron hifas modificadas septadas o tabicadas con tonalidades ligeramente de color marrón (**Figura 12-3 A**). Los conidios forman un sin números de artroconidios en cadenas y en forma rectangulares alargados (**Figura 12-3 B-C**).

Estos resultados referentes a su caracterización macroscópica y microscópica concuerdan con *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) ya que algunas especies de género *Scytalidium* sp. fueron reclasificados por lo que sugiere y coincide con los obtenidos por Crous et al. (2006) y Phillips et al. (2013) de Crous & Slippers, Retana et al., (2018) para el género *Neoscytalidium* sp. lo que indica que las colonias se describen como un hongo que forma artroconidios holoblásticos, catenados, de paredes delgadas, pulverulentos, desarticulados, cilíndrico-truncados, oblongo-obtusos, fuscos, crassitunicados y con 0 a 2 septos. El micelio es aéreo y exhibe una morfología del tipo coelomicetosa (sinasexual), el cual es inmerso, ramificado y septado. Las células conidiógenas son discretas, determinadas o indeterminadas, hialinas, ampuliformes, lisas, doliformes o cilíndricas, que proliferan enteroblásticamente, en algunas ocasiones ocurren engrosamientos periclinales distintivos. Las colonias del hongo son con micelio de color verde oliva oscuro y de apariencia algodonosa. Los resultados obtenidos en esta investigación difieren de lo anterior ya en nuestra investigación los colores y apariencia variaron.

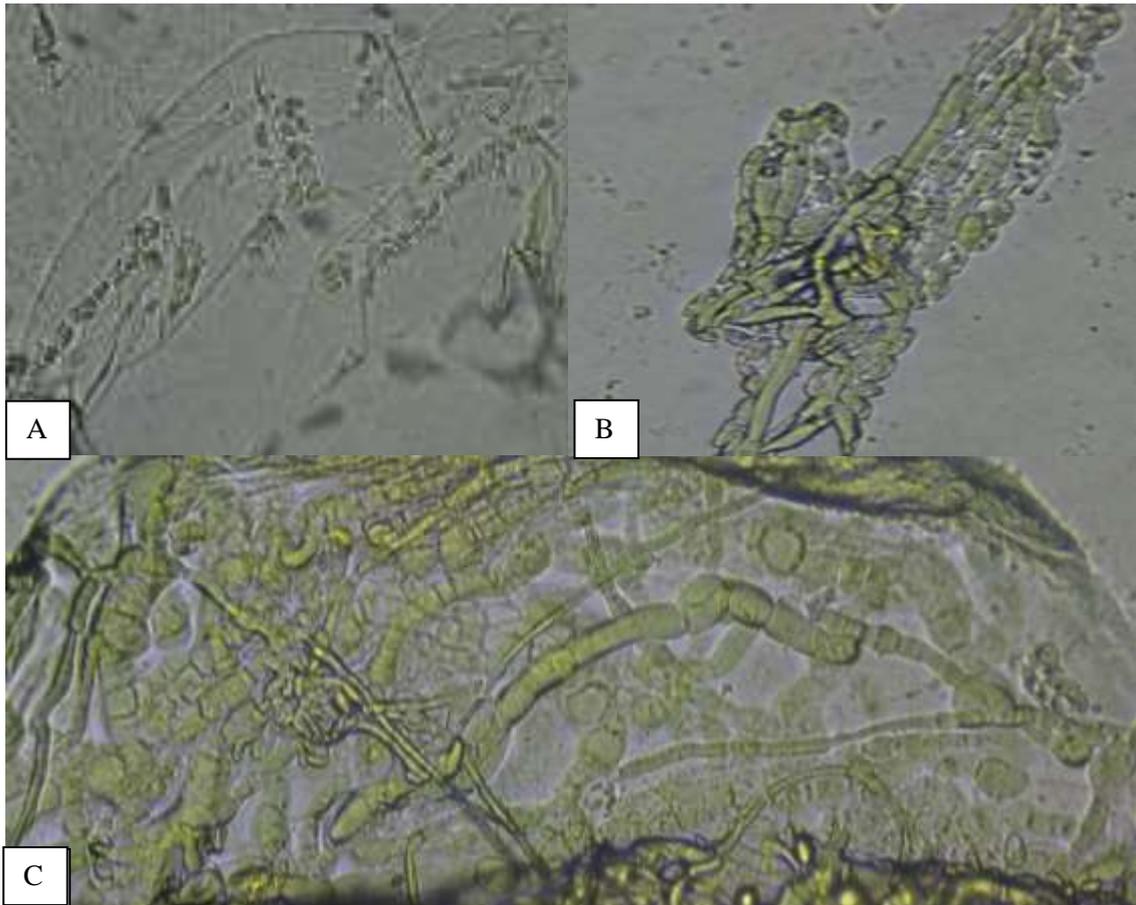


Figura 12-3. Caracterización microscópica de *Scytalidium* sp. aislado de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (A) Conidios en lente 20x (B-C) Antroconidios del hongo.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Morfotipo_4: *Trichoderma* sp.

El crecimiento de la colonia del genero *Trichoderma* sp. en medio de cultivo PDA presentó una apariencia algodonosa de color blanco al inicio y luego tornaron rápidamente a color negro aceituna a medida que transcurría el tiempo para ambas caras de la colonia (Munsell, 2009: p.18) (**Figura 13-3.**); Del mismo modo reflejó una forma rizoide con elevación umbonada y márgenes filamentosos (Madigan, 2009, p. 321).

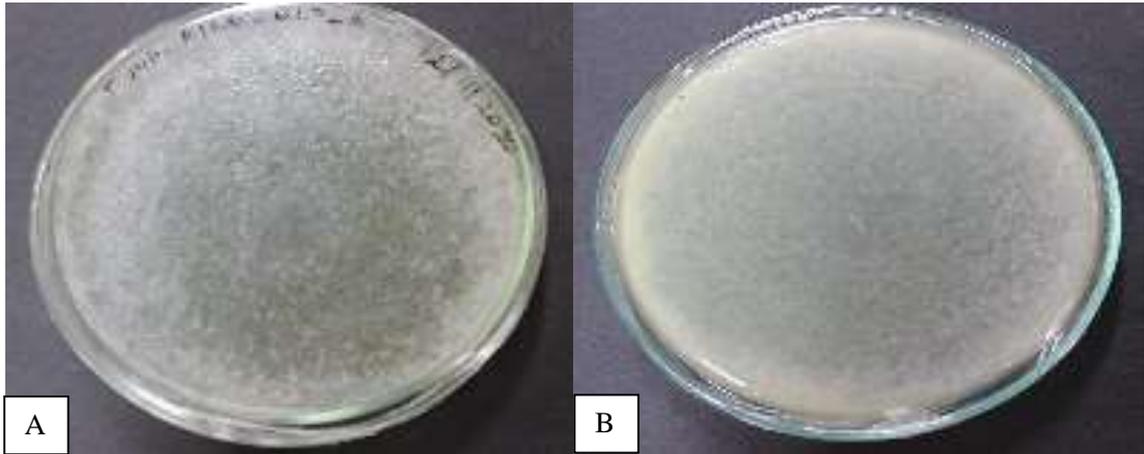
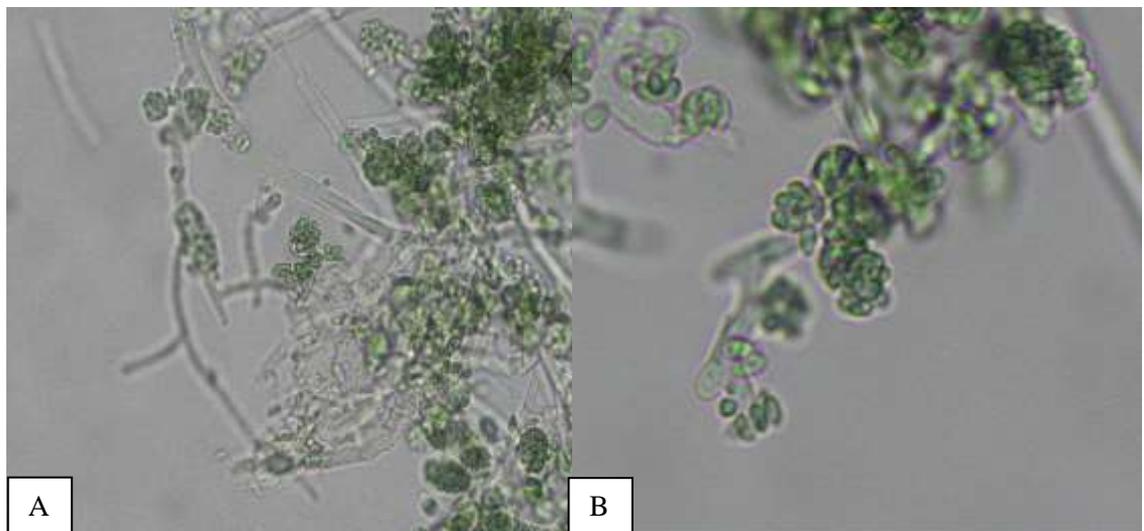


Figura 13-3. Caracterización macroscópica de *Trichoderma* sp. aislado de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.)) (A) Anverso de la colonia en PDA (B) Reverso de la colonia en PDA.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Microscópicamente, las estructuras morfológicas del género *Trichoderma* sp. mostraron hifas hialinas tabicadas de paredes lisas. Los conidióforos se manifestaron simples, no ramificados con fiálides terminales en forma cilíndrica (**Figura 14-3 A-C**), asimismo los conidios en fialosporas ovoides o elipsoides (**Figura 14-3 B**), con tonalidades ligeramente verde, aparentemente lisas, que se producen solas y sucesivamente se acumulan en el extremo de cada fiálide para formar una cabeza globosa (**Figura 14-3 D**).

Estos resultados referentes a su caracterización macroscópica y microscópica concuerdan a los obtenidos por Rifai (1969), Samuel et al. (1998) y Barnett y Hunter (1999) referente al género *Trichoderma* sp, indica que las colonias son algodonosas son de colores verdes con bordes regulares. Los conidióforos son ramificados con fiálides en forma de botella y los conidios subglobosas, de color verde pálido y lisas.



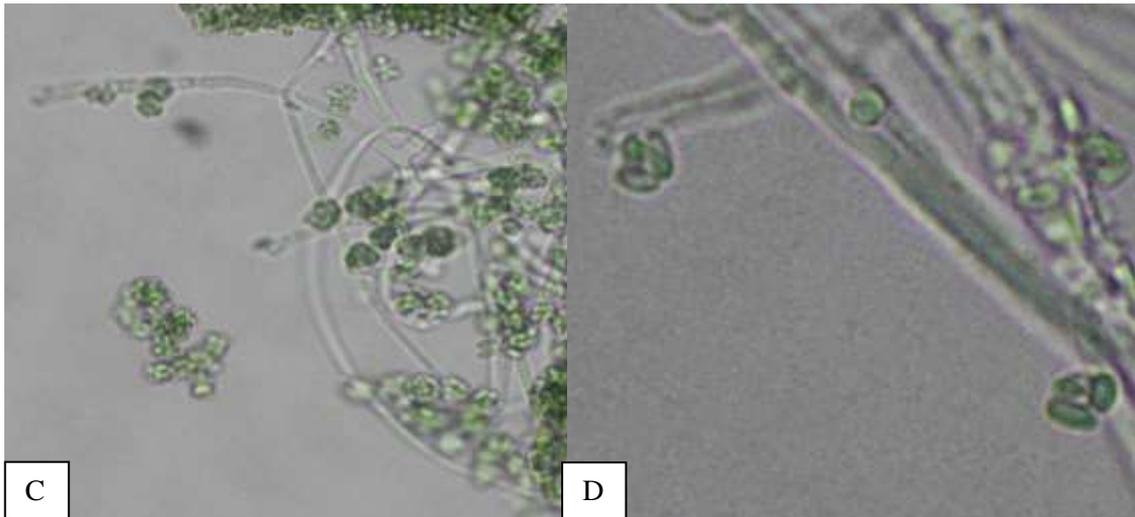


Figura 14-3. Caracterización microscópica de *Trichoderma* sp. aislado de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.)) (A-C) Conioforos ramificados (B) Fialosporas. (D) Conidios.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Morfotipo_5: *Geotrichum* spp.

El crecimiento de la colonia del género *Geotrichum* spp. en medio de cultivo PDA presentó una apariencia viscosa de color blanco para ambas caras de la caja Petri el anverso y el reverso (Munsell, 2009: p.18) (**Figura 15-3.**); Del mismo modo reflejó una forma irregular con elevación plana y márgenes erosionado (Madigan, 2009, p. 321).

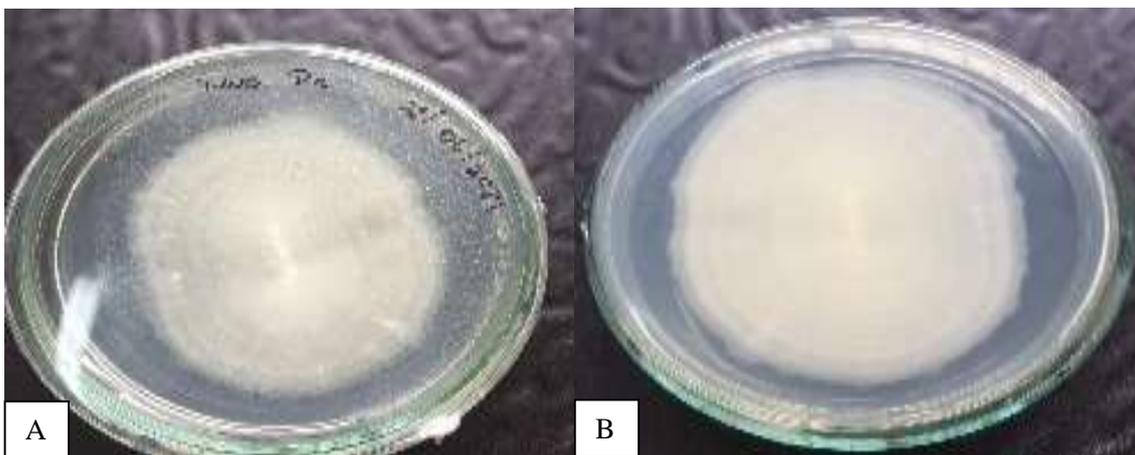


Figura 15-3. Caracterización macroscópica de *Geotrichum* sp. aislado de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.)) (A) Anverso de la colonia en PDA (B) Reverso de la colonia en PDA.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Las estructuras morfológicas del género *Geotrichum* spp. mostraron hifas hialinas, tabicadas o septadas de forma rectangular (**Figura 16-3 A**), que da origen a los conidios del mismo color

(Figura 16-3 D) a partir de artroconidios en cadenas y en forma rectangulares alargados con extremos truncados (Figura 16-3 B-C).

Estos resultados referentes a su caracterización macroscópica y microscópica son similares a los obtenidos por Barnett y Hunter (1999) y León y Arosemena, (1980) referente al género *Geotrichum* sp. mismo que indica el hongo posee un micelio blanco que al fragmentarse da origen a esporas del mismo color y de forma rectangular.

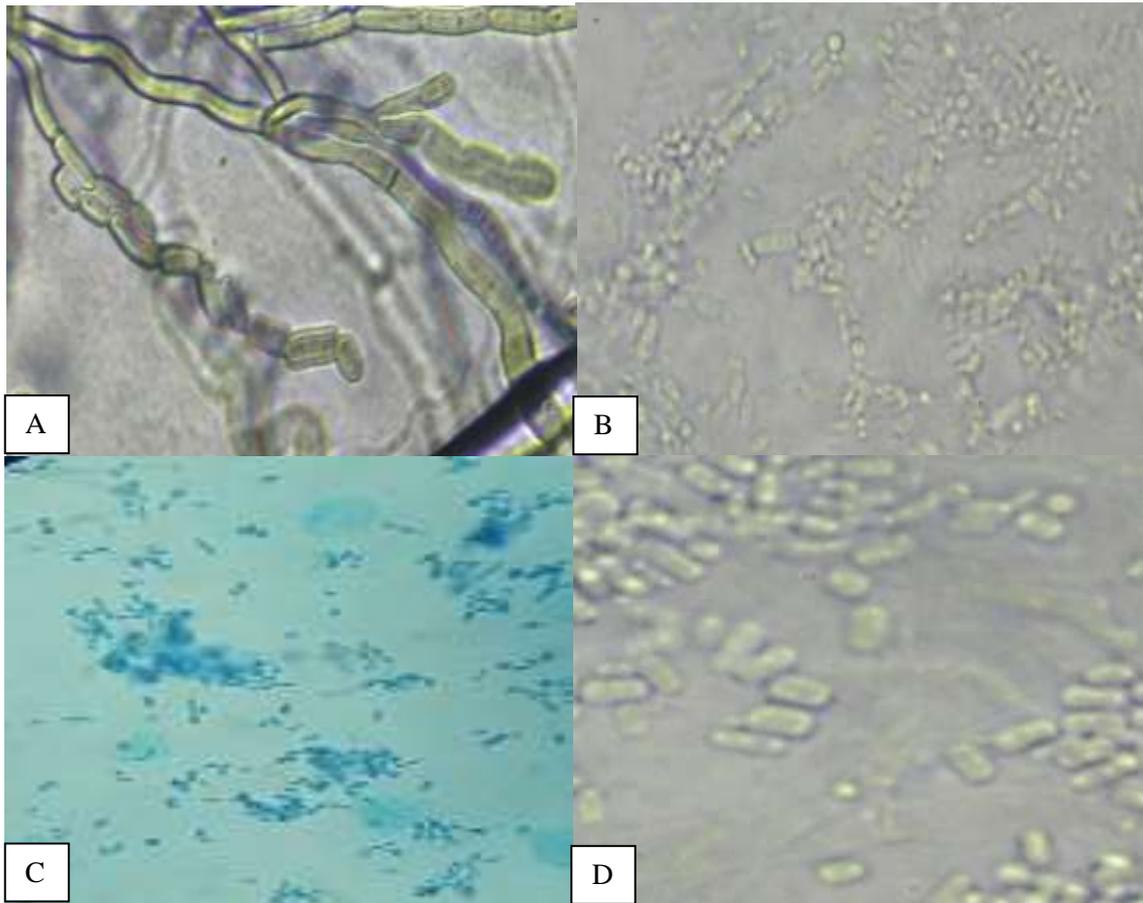


Figura 16-3. Caracterización microscópica de *Geotrichum* sp. aislado de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (A) Hifas septadas. (B-C) Artroconidios (D) Conidios.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Morfotipo_6: *Cladosporium* sp.

El crecimiento de la colonia del genero *Cladosporium* sp. en medio de cultivo PDA presentó una apariencia aterciopelada de color gris en el anverso y color negro aceituna en su reverso (Munsell, 2009: p.18) (**Figura 17-3.**); Del mismo modo reflejó una forma circular con elevación plana y márgenes enteros (Madigan, 2009, p. 321).

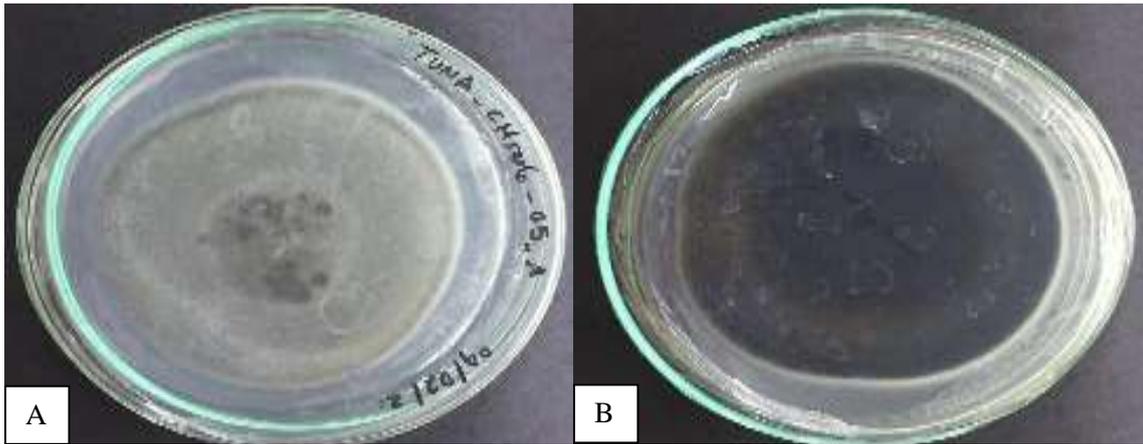


Figura 17-3. Caracterización macroscópica de *Cladosporium* spp. aislado de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.)) (A) Anverso de la colonia en PDA (B) Reverso de la colonia en PDA.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

Microscópicamente, las estructuras morfológicas del género *Cladosporium* sp. mostraron hifas hialinas a oscuras y septadas. Los conidióforos ramificados y septados de color oscuro (**Figura 18-3 A**). Los conidios unicelulares que se presentaron en cadenas simples y cortas de forma ovoide o elipsoide con pico cónico corto en un extremo y de color olivo claro a oscuros (**Figura 18-3 B-C**).

Estos resultados referentes a su caracterización macroscópica y microscópica concuerdan a los obtenidos por Malone y Muskett (1964) y Ho et al. (1999), Frazier (1976). para el género *Cladosporium* sp. indicando que las colonias son de coloración de oliváceo gris pálido a oliváceo gris oscura, polvosas. Las hifas hialinas, septadas, lisas con colores hialinos. Los conidióforos de color oliváceo claro a oliváceo, ramificados o no ramificados cerca del ápice o parte media, rectos lisos y septados. Los conidios oscuros con una o dos células de forma ovoide, cilíndricas o irregulares.

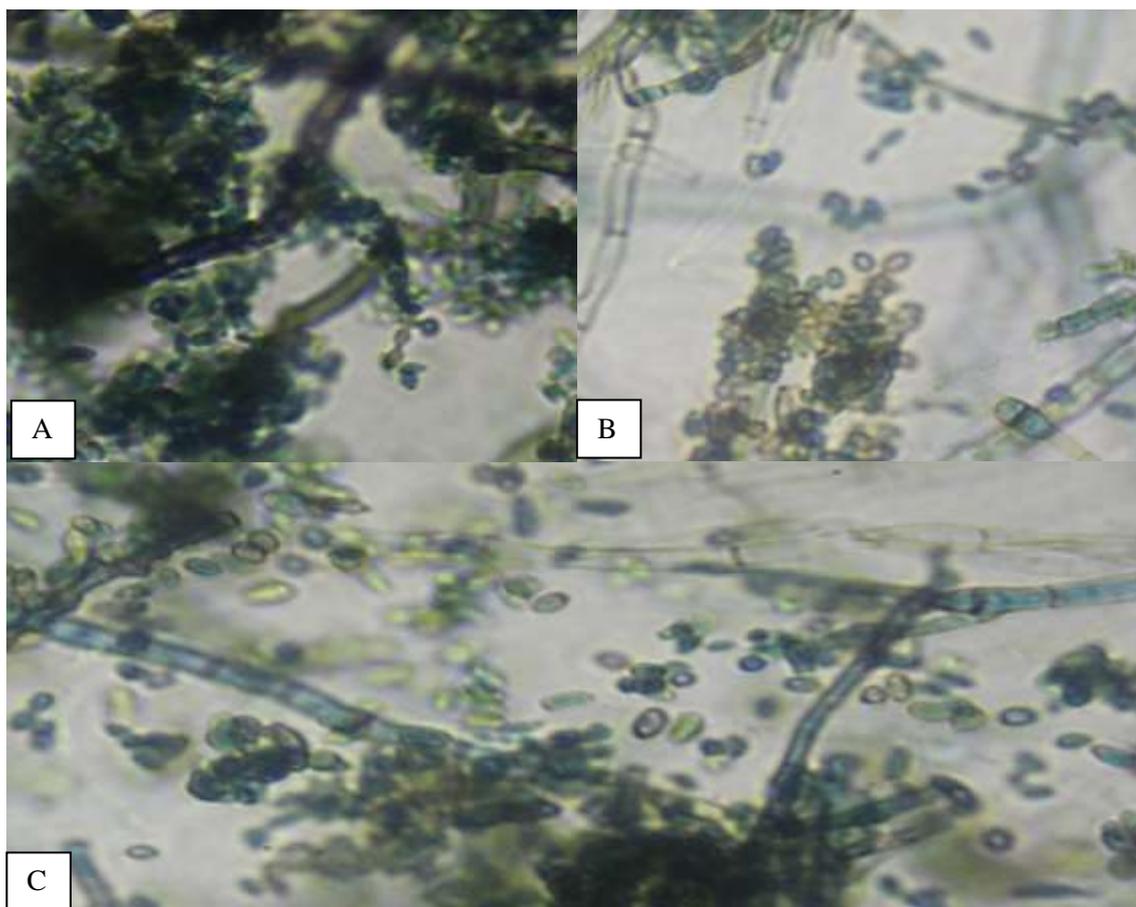


Figura 18-3. Caracterización microscópica de *Cladosporium* sp. de aislado de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (A) Conidioforo. (B-C) Conidios.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

3.3. Frecuencia de los aislados fúngicos asociados al cultivo de Tuna.

Los hongos con mayor frecuencia fue el género *Alternaria* sp., representados en su minoría por un conjunto de aislados fúngicos como *Fusarium* sp, *Cladosporium* sp., *Scytalidium* sp. *Trichoderma* sp. *Geotrichum* sp., *Armillaria* sp. y *Rhizopus* sp (Tabla 3-3).

Tabla 3-3: Frecuencia de Hongos aislados obtenidos de los cladodios de Tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) en las diferentes localidades de la provincia de Chimborazo.

Hongo fitopatogeno	Número aislados	Porcentaje
<i>Alternaria</i> sp.	22	50,00
<i>Fusarium</i> sp.	4	9,09
<i>Scytalidium</i> sp.	4	9,09
No indentificados	4	9,09

<i>Cladosporium</i> sp.	3	6,82
<i>Geotrichum</i> sp.	3	6,82
<i>Cladosporium</i> sp.	3	6,82
<i>Rhizopus</i> sp.	1	2,27
<i>Armillaria</i> sp.	1	2,97

Realizado por: Espinoza María, 2021.

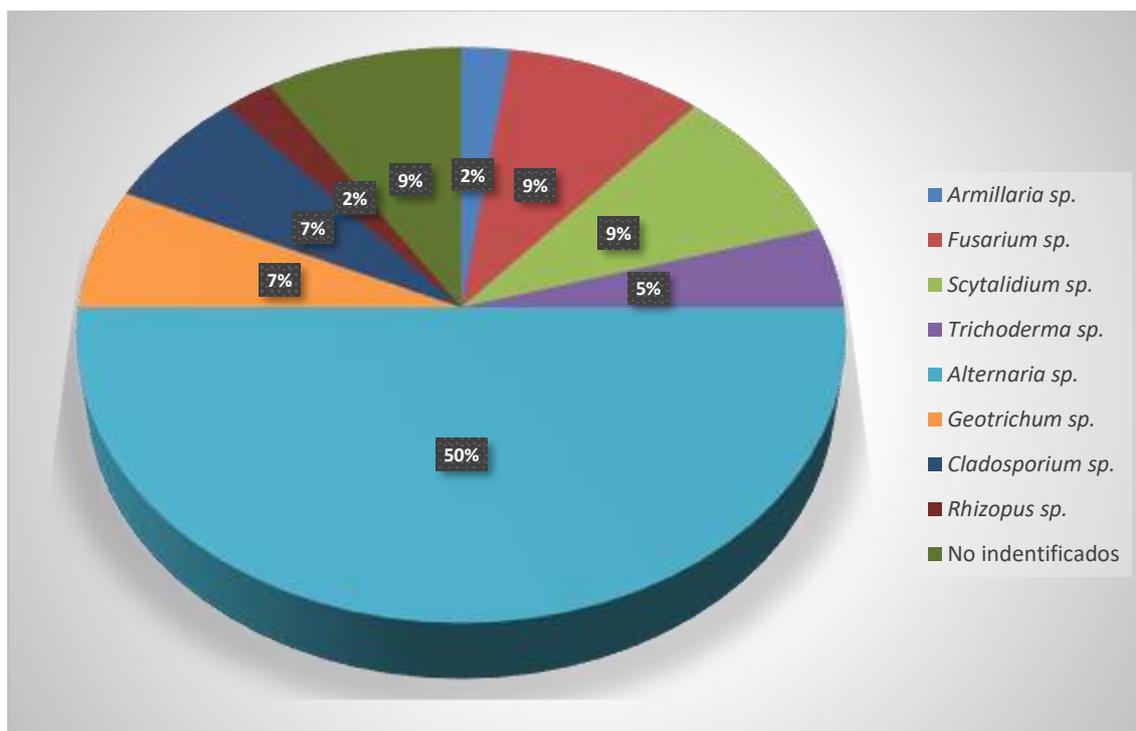


Gráfico 4-3. Frecuencia de Hongos aislados obtenidos de los cladodios de tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) en las diferentes localidades de la provincia de Chimborazo.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

El género *Alternaria* sp. se representó con la mayor prevalencia (50%) en todas las muestras obtenidas en las diferentes localidades (Gráfico 4-3), seguidos por una prevalencia media de los diversos géneros, *Fusarium* sp. con el 9,09 %, *Scytalidium* sp. el 9,09%. y el 9,09% para hongos no identificados; Consecutivamente tenemos los géneros *Cladosporium* sp. con el 6,82%, *Geotrichum* sp. el 6,82%, *Trichoderma* sp. con el 4,55%, *Armillaria* sp. el 2,27% y finalmente el género *Rhizopus* sp. con el 2,27%.

La prevalencia del género *Alternaria* sp. es mayor debido a que es un hongo fitopatógeno con gran importancia causante de daños en cladodios y frutos que tiene la capacidad por sí solo de causar enfermedades en varias plantas de la familia Solanaceae y cactáceas (Nabahat et al, 2016, p. 12), capaz de debilitar a la planta y convertirlos en un blanco fácil para el ingreso del saprófito

Cladosporium sp (Bosquez, 2018, p.6). También se debe principalmente a que muchas de las especies de *Alternaria* sp. se han reportado como saprófito debido a heridas, las cuales son producto de las podas consecutivas, además, en la plantación se encuentran insectos principalmente hemípteros que provocan lesiones al alimentarse. Asimismo, el crecimiento y roce entre los cladodios generan daño mecánico que facilita el ingreso de patógeno (Retana, 2018, p.18).

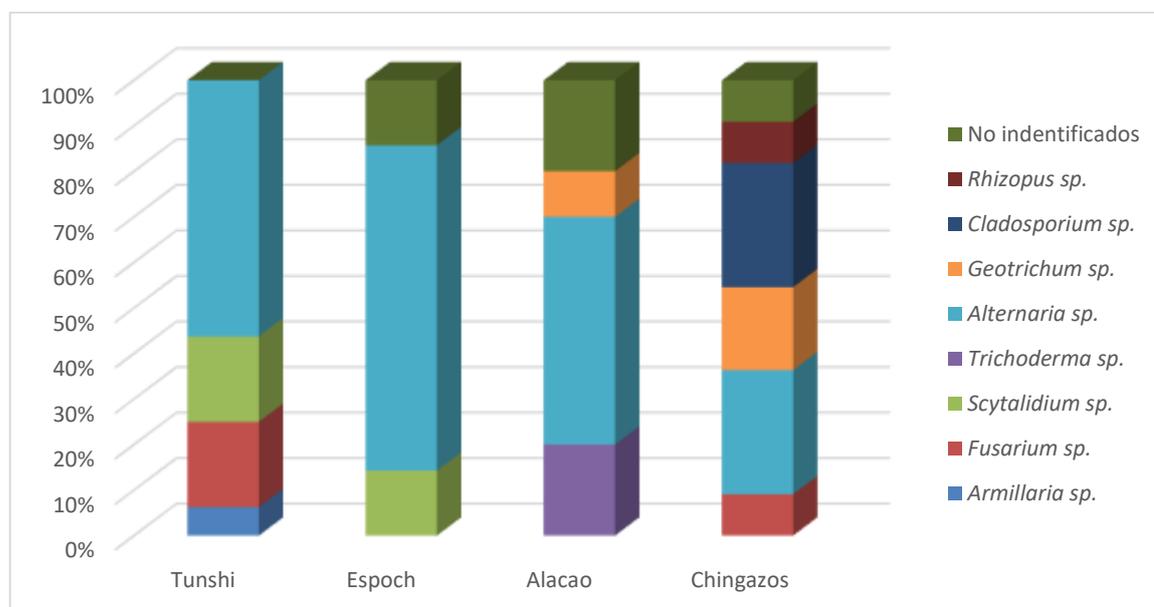


Gráfico 5-3. Frecuencia relativa a nivel de género obtenidos de los cladodios de tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) en las diferentes localidades de la provincia de Chimborazo.

Realizado por: Espinoza María, 2021.

La frecuencia relativa con valores altos correspondió al género *Alternaria* sp. (50%) encontrado mayoritariamente en las localidades de la Espoch (71,4%), seguido por Tunshi (56,3%), Alacao (50%) y Chingazos (27,3%). Por otra parte, los valores más frecuentes para el género *Fusarium* sp. (9,09%) los valores más alto se registró en la localidad de Tunshi (18,8%) y Chingazos (9,1%), mientras que para las localidades de Espoch y Alacao no se encontró de este género. Por otro lado, el género *Scytalidium* sp. (9,09%) se presentó con valor mas alto en la localidad Tunshi (18,8%) y Espoch (14,3%), mientras que para las localidades de Chingazo y Alacao no se encontró microorganismo de este género, consecutivamente tenemos los géneros *Cladosporium* sp. (6,82%), encontrado solo en la localidad Chingazos (27,3%) y para las localidades de Espoch, Tunshi y Alacao no se encontró microorganismo de este género, para el género *Geotrichum* sp. (6,82%) encontrado mayoritariamente en la localidad los Chingazos (18,2%) y Alacao (10%) mientras que para las localidades de Tunshi y Espoch no se encontró microorganismo de este género, *Trichoderma* sp. (4,55%), presentó con valor más alto en la localidad Alacao (20%) mientras que para las localidades de Chingazo, Espoch y Alacao no se encontró microorganismo

de este género, para *Armillaria* sp. el (2,27%) fue representado mayoritariamente por la localidad Tunshi (6,3%) y mientras que para las localidades de Chingazo Espoch y Alacao no se encontró este género, para el género de *Rhizopus* sp (2,27%) presentó con valor más alto en la localidad Chingazos (9,1%) mientras que para las localidades de Tunsho Espoch y Alacao no se encontró microorganismo de este género, Finalmente los microorganismos fúngicos no identificados (9,09%) encontrándose en las localidades de Alacao (20%), Espoch (14,3%) y Chingazos (9,01%).

CONCLUSIONES

1. Los síntomas y signos asociados a los cladodios de tuna se determinaron en las diferentes localidades de la provincia de Chimborazo, mediante el agrupamiento de 5 tipos, el síntoma A por áreas necróticas de coloración negruzca, síntoma B necrosis con depresión desde el centro de forma circular y presencia de exudados de color cremas a blancos, el síntoma C por clorosis y áreas negruzcas, síntoma D necrosis irregular con agrietamientos de color marrón a blanco y síntoma E presencia de pústulas anaranjadas; siendo el síntoma D que presentó los valores más altos de incidencia a nivel planta con el 86,8%, el 37,4% a nivel cladodio y de severidad el 48,6% respectivamente a nivel de cladodio.
2. Se obtuvo un total de 44 aislados de microorganismos fungosos a partir de cladodios de tuna con sintomatología externa visibles ubicados en las localidades productoras de Tunshi, Chingazos, Alacao y la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. La sintomatología estudiada en los cladodios se manifestó principalmente por áreas necróticas, manchas cloróticas, hendiduras, pústulas y presencia de halos de colores grises, cafés oscuros, negros y naranjas.
3. Se identificó y caracterizó morfológica y culturalmente diferentes microorganismos fungosos en cladodios de Tuna como el género *Alternaria* sp. que se representó con una prevalencia del 50%, seguidos por *Fusarium* sp. con el 9,09 %, *Scytalidium* sp. el 9,09%, *Cladosporium* sp. con el 6,82%, *Geotrichum* sp. el 6,82%, *Trichoderma* sp. con el 4,55%, *Armillaria* sp. el 2,27% *Rhizopus* sp. con el 2,27% y finalmente el 9,09% para hongos no identificados.
4. Se cuenta con una colección de 44 aislados fúngicos conservados a -20 °C lo mismo que están registrados en una base de datos en donde consta datos informativos de las muestras colectadas.

RECOMENDACIONES

1. Desarrollar pruebas de patogenicidad en cladodios de Tuna para determinar la patogenicidad y agresividad de los hongos obtenidos en este estudio y corroborar la sintomatología externa de cada aislado fúngico.
2. Se recomienda realizar análisis moleculares de los hongos encontrados para verificar su identificación morfológica y llegar a nivel de especie.
3. Probar otros medios de cultivo y diferentes condiciones de incubación para lograr la esporulación y consecuentemente identificar los hongos no identificados en la presente investigación.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Aislamiento: Proceso de separación de un microorganismo a partir de su hospedante o ambiente y su cultivo en un medio nutritivo (Ulloa et al., 2006, p.14).

Agar: Sustancia similar a la gelatina obtenida de algas marinas y utilizadas para solidificar medios de cultivo en los que se cultivan y estudian los microorganismos (Marquez Dávila et al, 2021).

Agrietamiento: Aparición o formación de grietas en una superficie (Marquez Dávila et al, 2021).

Arthroconidio/a: Tipo de conidio holoártico que se caracteriza por la conversión de un elemento hifal preexistente, de crecimiento determinado, que se desprende por desarticulación, como ocurre en *Geotrichum*. Sin. de artrospora (Ulloa et al., 2006, p.37).

Aseptado: Una hifa o una espora sin septos. Antónimo de septado (Marquez Dávila et al, 2021).

Cancro: Lesión necrótica y con frecuencia hundida, en el tallo, rama de una planta (Marquez Dávila et al, 2021).

Caracterización: Es una fase descriptiva con fines de identificación de los componentes, acontecimientos, actores, procesos y contexto de una experiencia, un hecho o un proceso (Sanchez, 2010, p.26).

Cónico: Relacionado con el cuerpo geométrico que tiene forma de cono (Marquez Dávila et al, 2021).

Conidio: Espora fúngica asexual nucleada, inmóvil que se desarrolla externamente o se libera de la célula a partir de un conidióforo (Marquez Dávila et al, 2021).

Conidióforo: Hifa simple o ramificada, que se especializan en la producción de esporas asexuales, la cual se forman una o más conidios (Ulloa et al., 2006, p.121).

Conservación: Es mantenerlo viables por tiempos prolongados (Marquez Dávila et al, 2021).

Clorosis: Alteración de la pigmentación (generalmente amarillamiento) de los tejidos normalmente verdes, debido a la destrucción de la clorofila o a la imposibilidad de sintetizarla (Marquez Dávila et al, 2021).

Desinfectación: Que desinfecta o es capaz de desinfectar. Agente químico o físico que destruye los microorganismos infecciosos o patógenos (Ulloa et al., 2006, p.152).

Endófito/ta: Hongo que vive dentro de tejidos vegetales sin mostrar signos externos de su presencia, como ciertos parásitos fúngicos de pastos, los cuales son tóxicos para los alimentos que se alimentan (Ulloa et al., 2006, p.77).

Enfermedad: Cualquier desviación de lo normal debida a la acción de un agente patógeno o de un factor ambiental adverso que afecta a una planta y conduce al desarrollo de síntomas (Marquez Dávila et al, 2021).

Epidermis: La capa superficial de las células presente en las partes de la planta (Marquez Dávila et al, 2021).

Especie: Un grupo de individuos morfológicamente similares, capaces de reproducirse de manera sexual o definido por similitud de secuencias de ADN. El nombre de una especie corresponde a un binomio (Marquez Dávila et al, 2021).

Espora: Pequeña unidad de propagación, unicelular o multicelular, asexual o sexual, móvil o inmóvil, que es capaz de originar un nuevo individuo (Ulloa et al., 2006, p.202).

Fiálide: Tipo de célula conidiógena, de forma de botella que producen conidios blásticos (fialoconidios o fialosporas) en sucesión basípeta a partir de un locus (monofiálide; con una abertura) o varios loci (polifiálide) sin que haya aumento de la longitud de la fiálide misma (Ulloa et al., 2006, p.236).

Fialospora: Espora de reproducción asexual formada por abstricción en el ápice de la fiálide; se aplica principalmente a los estados conidiales y espermaciales de hongos (Ulloa et al., 200.; p.202).

Fitopatógeno: Microorganismo que genera enfermedades en las plantas (Marquez Dávila et al, 2021).

Hifa: Ramificación estructural simple de un micelio de hongo (Ulloa et al., 2006, p.286).

Hendidura: Abertura estrecha, alargada y poco profunda en una superficie (Marquez Dávila et al, 2021).

In vitro: In vitro: en cultivo; fuera del hospedante (Marquez Dávila et al, 2021).

Incidencia: es el número de casos nuevos de una enfermedad en una población determinada y en un periodo determinado (Marquez Dávila et al, 2021).

Macroconidios: Conidio o espora de reproducción asexual, encurvado y sigmoide, que se distingue del microconidio tanto por su mayor tamaño como por ser multicelular (Ulloa et al., 2006, p.352).

Macroscópico: que puede observarse sin ayuda de un lente de aumento o un microscopio (Marquez Dávila et al, 2021).

Medio de Cultivo: medio nutritivo preparado en el que se cultivan microorganismos o células vegetales (Marquez Dávila et al, 2021).

Micelio: Conjunto o masa de hifa que constituye el cuerpo vegetativo o talo del hongo (Ulloa et al., 2006, p.364).

Microconidos: Conidio pequeño, generalmente unicelular. En los hongos conidiales los conidios funcionan como esporas asexuales (Ulloa et al., 2006, p.376).

Microscópico: muy pequeño. // Que puede observarse sólo mediante el microscopio (Marquez Dávila et al, 2021).

Monofialide: Se aplica a una fiálide (célula conidiógena) que tiene un solo sitio o locus a través del cual se producen los conidios. Sin. monofiálide. (Ulloa et al., 2006, p.352).

Morfotipo: consiste en el tipo morfológico que caracteriza a un grupo determinado de organismos (Marquez Dávila et al, 2021).

Necrosis: Muerte de las células y decoloro extensos de un organismo por procesos patológicos (Marquez Dávila et al, 2021).

Patógeno: Parásito o agente que causa la enfermedad (Marquez Dávila et al, 2021).

Pústulas: Pequeña elevación de la epidermis en forma de ampolla creada cuando las esporas se forman debajo y empujan hacia afuera (Marquez Dávila et al, 2021).

Purificación: : El aislamiento y concentración de partículas virales en forma pura, libre de

componentes celulares (Marquez Dávila et al, 2021).

Saprófito: Organismo que se nutre de los desechos o tejidos muertos de otro y desempeña un papel clave en el reciclaje natural de los minerales (Marquez Dávila et al, 2021).

Severidad: Es el porcentaje de la superficie del órgano enfermo, ya sea de hojas, tallos, raíces o frutos afectado por la enfermedad y varía entre 0 y 100. El ejemplo típico de esta forma de estimar la enfermedad es el que se utiliza para evaluar manchas foliares (Marquez Dávila et al, 2021).

Septado: Que tiene tabiques o septos (Marquez Dávila et al, 2021).

Síntoma: Manifestación visible en la planta del proceso de la enfermedad. Expresada mediante cambios morfológicos o fisiológicos (Marquez Dávila et al, 2021).

Sintomatología: Parte de la patología vegetal que estudia los síntomas de las enfermedades, así como la etiología estudia sus causas (Marquez Dávila et al, 2021).

Signo: Características de un patógeno o sus partes o productos que se observan sobre una planta hospedante (Marquez Dávila et al, 2021).

Taxonomía: Ciencia de la clasificación de los organismos vivos (Marquez Dávila et al, 2021).

BIBLIOGRAFÍA

AGRIOS, George. *Patología de planta*. London : Academic Press, 1988. Vol. 3.

ALFENAS, A.C; & MAFIA, R.G. *Métodos de Fitopatología*. 2ª Ed. Universidad Federal de Viçosa. Viçosa, Brasil: Editora UFV, 2016, pp. 59-63

ALVARADO, Vinicio; & SANTÍN, Jaime. “Plagas y enfermedades de la tuna *Opuntia ficus indica* L. en las condiciones ecológicas de la provincia de Loja”. *Redib*, Loja : ISSN 1390-3683, 2017. - 1 : Vol. 7.

AMAYA ROBLES, Julio. Cultivo de Tuna. Trujillo- Perú : [s.n.], 2009.

BALMAS, V.; SANTORI, A., & CORAZZA, L. “Le specie di *Fusarium* piú comuni in Italia”. Suggestimenti per il loro riconoscimento. Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale. *Petria Giornale di Patologia delle Piante*, vol.10, n°1 (2000), (Italia) pp. 1-60.

BAÑICO, Richard. Epidemiología de lesiones sugestivas con enfermedades bacterianas y fúngicas en *Opuntia* sp. “tuna” en la localidad de Wari. [Trabajo de titulación] [Tesis para obtener el título profesional de biólogo en la especialidad de microbiología]. - Ayacucho : [s.n.], 2015. - pág. 63.

BARNETT, H.L.; & HUNTER, B.B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4ª Ed. Saint Paul, Minnesota-United States of America: The American Phytopathological Society, 1998. ISBN: 0890541922. pp.1-237

BONAMICI, Ivano. Agrobot [En línea] *El cultivo de Tuna*. - 2005. [Consulta: 13 de Diciembre de 2020]. Disponible en:
[http://www.agrobot.com/Documentos/I_1_7_Cultivos/339_mi000001tu\[1\].htm](http://www.agrobot.com/Documentos/I_1_7_Cultivos/339_mi000001tu[1].htm).

BOSQUEZ GUERRA, Carolina. Caracterización morfológica y molecular de *Alternaria alternata* hongo fitopatógeno causante del secamiento descendente del cáliz, en frutos de *Physalis* peruviana en la Sierra centro-norte del Ecuador. [Trabajo de titulación] [Tesis para obtener título en Micorbiología]. Pontifica universidad católica del Ecuador, Facultad de ciencias exactas naturales, Escuela de ciencias biológicas. 2018. págs. 6-15.

BRAUM, U. SIB [En línea] // *Sistema de información de Biodiversidad*. 2006. [Consulta: 19 de

Septiembre de 2020]. Disponible en: <https://sib.gob.ar/taxonomia/genero/pseudocercospora>.

CAMACHO LÓPEZ, Christian. Caracterización y evaluación de bacterias para producción de bioplástico de origen microbiano utilizando como sustrato agua residual de la industria láctea [En línea]// En línea [Tesis] [Pregrado]. Escuela superior Politécnica de Chimborazo. 2015 . [Consulta: 12 de Diciembre de 2020]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4962#sthash.QNisiOdK.dpdf>.

CAÑEDO, Verónica; & AMES, Teresa; Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos [En línea]. [Consulta: Octubre de 2004. - 12 de Noviembre de 2020]. Disponible en: <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>.

CASTELLANI, A. *Further researches on the long viability and growth of many pathogenic fungi and some bacteria in sterile distilled water.* - [s.l.] : Mycopathol et Mycol Appl, 1967. Vol. 6.

CHÁVEZ MORENO, C.; TECANTE A.; & CASAS A. *The Opuntia (Cactaceae) and Dactylopius (Hemiptera: Dactylopiidae) in Mexico: a historical perspective of use.* México : Biodivers Conserv (2009) 18: 3337–3355, 2009.

DE JESÚS MÉNDEZ, S.; TALAVERA, Daniel ;& GARCÍA, Javier. “Identificación y control de las enfermedades más comunes en el nopal”. *Respym Mariny* : [s.n.], 2007. - 14. - pág. 9.

DOMINGUEZ, Romero; et al. “Aislamiento y purificación del Hongo Ectomicorrizótico *Helvella lacunosa* en diferentes medios de cultivo”. *Redalyc*. Toluca- México: Tropical and Subtropical Agroecosystems, 16 (2013): 51 - 59, 2012.

EL COMERCIO *La tuna cuatro variedades que se producen en el país* // El comercio. Quito-Ecuador : [s.n.], 2001.

FAO; & ICARDA *Ecología del cultivo, manejo y usos del Nopal.* Producción animal. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y el Centro Internacional de Investigaciones Agrícolas en Zonas Áridas Roma. 2018. [Consulta: 15 de Diciembre de 2020.]. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/Tuna/25-Ecologia_del_cultivo.pdf.

FEUGANG, Jean; et al. “Uso nutricional y medicinal de los cladodios y frutos de nopal (*Opuntia*

sp.)". *Redalyc* .Arizona : 11, 2006. - Vols. 2574-89.

FRENCH, Eduardo R.; & HEBERT, Teddy T. *Métodos de investigación Fitopatológica*. - San José : IICA, 1980. - Vol. 43 : pág. 154.

GBIF. *Puccinia opuntiae (Magnus) Arthur y Holw.* [En línea] // gbif.com. - Proc. A.m. philos. Soc. 64: 189 (1925), 1995. [Consulta: 15 de Diciembre de 2020]. Disponible en: <https://www.gbif.org/species/3379993>.

GUTIERREZ, Alejandra; et al. Organización y conservación de la colección de hongos patógenos y simbiontes de insectos y otros artrópodos del CEPAVE (CONICET-UNLP), [En línea] // La Plata, Argentina. - Argentina de Microbiología [en línea]. 2017. [Consulta: 15 de Diciembre de 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.09.007>.

GUZMÁN, Gastón; et al. *El cultivo de los hongos comestibles*. Guadalajara. Instituto tecnológico nacional, 1993. págs. 91-100.

HERNANDEZ ESPITIA, Ana; & GASCA PRIETO, Aureliano. “Uso del Nopal para la producción de biocombustible” [En línea]. *Academica. edu*. [Consulta: Agosto de 2015. 12 de Diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.academia.edu/18962969/Cultivo_Nopal_Biodiesel.

HORNUBIA, M.; et al. *Biotecnología Forestal: Técnicas de micorrización y micropropagación de plantas Murcia*. España : Universidad de Murcia, 1995.

INGLESE, P.; SCHIRRA, M.; & BASILE, F. *Cactus pear fruit production*. Cacti Biology and uses / aut. libro Press University of California. London- England : In Nobel PS (Ed), 2002.

KUROWSKI, T. P.; & WYSOCKA U. Comunidades de hongos colonizando granos de avena descascarada y cruda cultivados bajo un sistema de agricultura orgánica. *Scielo*. Mexico : Scielo Mexico, 2009. - 54.

LEÓN, G. H.; & AROSEMENA, D. M. El Cultivo del Tomate en el Valle de Culiacán Para Consumo Fresco. [Monografía]. Universidad autónoma Agraria Antonio Narro. Sinaloa, México. SARH, 1980.

MARQUEZ DÁVILA, Kadir J.; VEGA JARA, Liliana; & ALVAREZ BENAUTE, Luisa

M. *Glosario de términos agronómicos*. Huánuco, Perú : Biblioteca Nacional del Perú N° 2021-02993, 2021.

MARTINEZ, E. *Fumagina* [En línea]// EcuRed. [Consulta: 15 de Diciembre de 2020]. Disponible en: <https://www.ecured.cu/Fumagina>.

MEDINA, Rocío. Caracterización morfológica y molecular de aislamientos de *Cladosporium*. [Trabajo final de grado] . Universidad de la plata, Facultad de ciencias exactas. 2011. [Consulta: 09 de Agosto de 2021. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/67014/Documento_completo__.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

MINISTERIO DEL AMBIENTE. *Sistema de clasificación de los Ecosistemas del Ecuador Continental*. [En línea]. 2012. [Consulta: 14 de Diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/09/LEYENDA-ECOSISTEMAS_ECUADOR_2.pdf.

MUNSELL Color. *Munsell Color Charts for Plant Tissues*. New Windsor, New York-United States of America: Munsell Color, 1977, pp.2-17.

PASSAMANI, Fabiana Reinis; et al. “Efecto de la temperatura, la actividad del agua y el pH sobre el crecimiento y la producción de ocratoxina A por *Aspergillus niger* y *Aspergillus carbonarius* de uvas brasileñas”. *SciELO*. Brazil: Brazillian grapes, 2014. - 11 : Vol. 77.

PLAN DE ORDENAMIENTO TERRITORIAL, Licto. Tunshi [Informe] = Tunshi / GAD Parroquial Licto. - Riobamba : [s.n.], 2015. - pág. 40.

RAMÍREZ, P.; FLORES C.; & DE LUNA E. Mercado mundial de la tuna. *Redalyc* - Chapingo : [s.n.], 1995.

RETANA SÁNCHEZ, Kenneth; BLANCO MENESES, Mónica; & CASTRO ZUÑIGA, Oscar. “Etiología del cáncer del tallo provocado por *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz) en *Hylocereus costaricensis*, en Costa Rica”. *SciELO*. Costa Rica. 2018. Vol. 43.

REVELES HERNÁNDEZ, Manuel; & FLORES ORTIZ, Miguel. *El manejo del nopal forrajero en la producción del ganado bovino*. VIII Simposium-Taller Nacional y 1er Internacional" Producción y Aprovechamiento del Nopal. 2010. Vol. 5.

RIVAS FIGUEROA, Fernando. Etiología y caracterización del cogollo de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) en San Lorenzo, Esmeraldas, Ecuador. [Trabajo de Titulación]. [Doctoral] Central “Marta Abreu” de las Villas, Santa Clara, Cuba. 2015. pp. 36-38. [Consulta: 14 de Diciembre de 2020]. Disponible en: <https://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/6889/Tesis%20Dr.%20Fernando%20Rivas%20Figueroa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

ROBLES, Amaya. *Cultivo de tuna (Opuntia ficus indica)*. - Trujillo-Perú : [s.n.], 2009. - Vol. 18.

ROJO BÁEZ, Indira; et al. actual de *Colletotrichums* sp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Scielo*. Sinaloa - México : Scielo, 2017. - 3 : Vol. 35.

SANCHEZ, A. *Fundación universitaria católica del Norte* [En línea] // Definición del concepto de caracterización. - 2010. [Consulta: 12 de Diciembre de 2020]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3854/1/13T0800%20.pdf>.

SÁNCHEZ UPEGUI, Alexander. *Manual de redacción académica e investigativa: cómo escribir, evaluar y publicar artículos* [en línea]. Medellín-Colombia: Católica del Norte Fundación Universitaria, 2011, pp. 180-189. [Consulta: 28 mayo 2021]. ISBN: 9789589905913. Disponible en: <https://www.ucn.edu.co/institucion/sala-prensa/documents/manual-de-redaccion-mayo-05-2011.pdf>

SINAVIMO. *Sistema Nacional Argentino de vigilancia y Monitoreo de plagas* [En línea]. [Consulta: 2021. - Agosto de 2021]. Disponible en: <https://www.sinavimo.gob.ar/plaga/cladosporium-pini-ponderosae>.

SPEG. *Sistema de información de Biodiversidad* [En línea] // Sistema de información de Biodiversidad. - SIB, 1923. [Consulta: 10 de Agosto de 2021].

ULLOA, Miguel; & HANLIN, Richard. *Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología*. Saint Paul, Minnesota-United States of America: The American Phytopathological Society, 2006. ISBN: 9780890543412, pp.1-237

ZAMBOLIN, Junior Jesus; & RODRIGUEZ F. A. *Essencial da Fitopatologia. Epidemiologia de Doenças de Plantas*. Universidade Federal de Viçosa : [s.n.], 2014.

CRISTHIAN
FERNANDO
CASTILLO
RUIZ

Firmado digitalmente por
CRISTHIAN
FERNANDO
CASTILLO RUIZ
Fecha: 2021.12.22
22:12:26 -05'00'

ANEXOS

ANEXO A: COLECTA DE CLADODIOS DE TUNA ENFRMOS EN LAS DIFERENTE LOCALIDADES DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO.



ANEXO B: ESQUEMA DE AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS A PARTIR DE CLADODIOS DE TUNA ENFERMOS



Cladodio con lesiones sintomatológico



Cortes de 5-8 mm del tejido enfermo



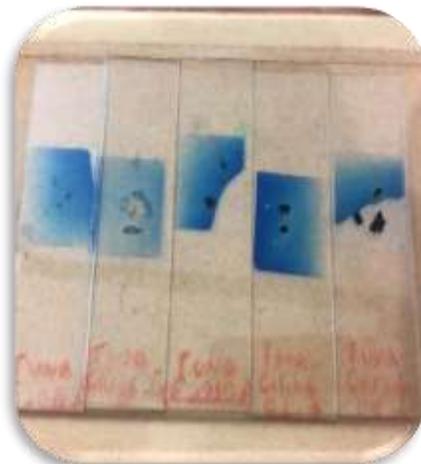
Segmentos de cladodio enfermo en medio estéril



Trasferencia de micelio



Observación a nivel microscópico



Realización de placas de portaobjetos

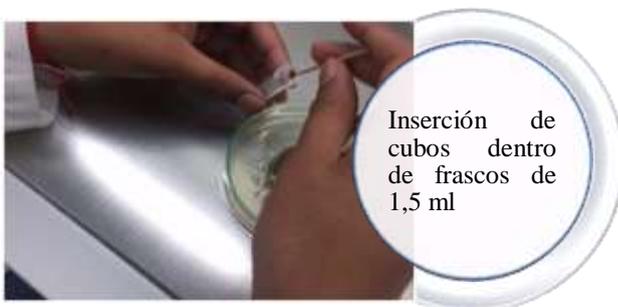


Colonia pura en medio PDA



Incubación de cajas Petri

ANEXO C: ESQUEMA DE CONSERVACIÓN DE AISLADOS FÚNGICOS

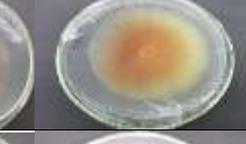
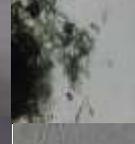


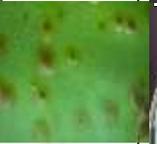
ANEXO D: ESQUEMA DESARROLLO DE MICROCULTIVOS

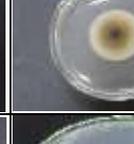


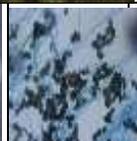
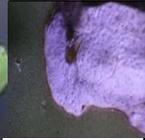
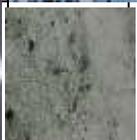
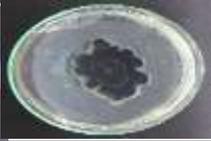
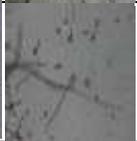
ANEXO E: RESUMEN DE PROCESAMIENTOS MUESTRAS DE CLADODIOS DE TUNA.

LOCALIDAD	CÓDIGO	REP.	PROCESAMIENTO DE MUESTRAS					IDENTIFICACIÓN	
			CLADODIO	ESTÉRIL	CAMARA HÚMIDA	ANVERSO CULTIVO PURO	REVERSO CULTIVO PURO		PLACAS
TUNSHI	Tuna_Tun_P_001	A					-		1. <i>Alternaria</i> sp.
		B						FALTA	2. <i>Alternaria</i> sp.
	Tuna_Tun_P_002	B					-		3. <i>Alternaria</i> sp.
	Tuna_Tun_P_003	A					-		4. <i>Alternaria</i> sp.
		B					-		5. <i>Armillaria</i> sp.
	Tuna_Tun_P_004	A							6. <i>Alternaria</i> sp.

		B							7. <i>Fusarium</i> sp.
Tuna_Tun_P_005		A					-		8. <i>Alternaria</i> sp.
		B							9. <i>Alternaria</i> sp.
Tuna_Tun_P_006		A							10. <i>Alternaria</i> sp.
		B							11. <i>Scytalidium</i> sp.
Tuna_Tun_P_007		A							12. <i>Alternaria</i> sp..
Tuna_Tun_P_008		B							13. <i>Scytalidium</i> sp.
Tuna_Tun_P_009		A							14. <i>Fusarium</i> sp.

		B							15. <i>Scytalidium</i> sp.
		C							16. <i>Fusarium</i> sp.
ALACAO	Tuna_Alac_013	A							17. <i>Trichoderma</i> sp.
		B							18. <i>Trichoderma</i> sp.
	Tuna_Alac_017	A							19. NO IDENTIFICADO
		B							20. NO IDENTIFICADO
	Tuna_Alac_018	A							21. <i>Alternaria</i> sp.
		B							22. <i>Alternaria</i> sp.

	Tuna_Alac_019	A							23. <i>Alternaria</i> sp.
		B							24. <i>Alternaria</i> sp.
	Tuna_Alac_021	B							25. <i>Alternaria</i> sp.
	Tuna_Alac_024	A							26. <i>Geotrichum</i> sp.
ESPOCH	Tuna_E_026	A							27. <i>Alternaria</i> sp.
		B							28. <i>Scytalidium</i> sp.
	Tuna_E_027	B			-			-	29. <i>Alternaria</i> sp.
	Tuna_E_029	A							30. NO IDENTIFICADO

		B							31. <i>Alternaria</i> sp.
	Tuna_E_030	A							32. <i>Alternaria</i> sp.
		B							33. <i>Alternaria</i> sp.
CHINGAZ OS	Tuna_Ching_01	A		-					34. <i>Alternaria</i> sp.
		B		-					35. <i>Alternaria</i> sp.
	Tuna_Ching_02	B		-					36. <i>Cladosporium</i> sp.
	Tuna_Ching_03	A		-					37. <i>Cladosporium</i> sp.
	Tuna_Ching_04	A		-					38. NO IDENTIFICADO

ANEXO F: RESUMEN DE MORFOTIPOS DE LA CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA DE LOS AISLADOS FÚNGICOS.

LOCALIDAD	CÓDIGO	RE P.	CARACTERIZACIÓN CULTURA						
			Forma	Elevación	Margen	Color Anv.	Color	Color Rev.	Color
TUNSHI	Tuna_Tun_P_001	A	Irregular	Umbonada	Ondulado	10YR 8/2	gris claro	1 FOR GLEY 6/10Y	
		B	Circular	Convexa	Erosiano	7,5YR 8/2	gris	10YR 8/6	amarillo naranja
	Tuna_Tun_P_002	B	Circular	Convexa	Erosiano	10YR 8/2	gris claro	10YR 8/3	
	Tuna_Tun_P_003	A	Irregular	Umbonada	Erosiano	2,5Y 8/2	gris claro	2,5Y 8/3	
		B	Irregular	Umbonada	Erosiano	10YR 8/8	amarillo naranja	10YR 8/9	amarillo naranja
	Tuna_Tun_P_004	A	Irregular	Umbonada	Filamento	2,5 8/3	amarillo pálido	10YR 3/4	marrón
		B	Filamentosa	Elevada	Filamento	7,5R 7/1	gris claro rojizo	7,5R 5/3	marrón rojizo opaco
	Tuna_Tun_P_005	A	Circular	Convexa	Ondulado	10YR 8/3	amarillo ligero	10YR 8/4	naranja
		B	Irregular	Umbonada	Lobulado	7,5YR 7/2	gris	10YR 8/6	amarillo naranja
	Tuna_Tun_P_006	A	Circular	Elevada	Erosiano	10YR 7/2	amarillo naranja apagado	10YR 7/3	amarillo apagado
		7,5	Circular	Plana	Erosiano	7,5 YR 7/8	amarillo naranja	7,5 YR 7/8	amarillo naranja
	Tuna_Tun_P_007	A	Irregular	Umbonada	Ondulado	7,5YR 7/2	gris	10YR 8/6	amarillo naranja

	Tuna_Tun_P_008	B	Circular	Elevada	Ondulado	2,5Y 8/1	BLANCO	10YR 8/6	amarillo naranja
	Tuna_Tun_P_009	A	Filamento sa	Elevada	Filamento so	2,5Y 8/1	BLANCO	10YR 8/3	amarillo ligero
		B	Circular	Elevada	Ondulado	2,5Y 8/1	BLANCO	10YR 8/3	amarillo ligero
		C	Irregular	Plana	Lobulado	10R 5/8	rojo	10R 5/8	rojo
ALACAO	Tuna_Alac_013	A	Rizoide	Umbonada	Filamento so	5Y 3/2	negro aceituna	5Y 3/2	negro aceituna
		B	Rizoide	Umbonada	Filamento so	5Y 3/2	negro aceituna	5Y 3/2	negro aceituna
	Tuna_Alac_017	A	Irregular	Elevada	Erosiano	2,5Y 8/6	amarillo bajo	5YR 5/8	marrón
		B	Irregular	Elevada	Erosiano	2,5Y 8/6	amarillo bajo	5YR 5/8	marrón
	Tuna_Alac_018	A	Circular	Convexa	Ondulado	2,5Y 6/2	amarillo grisáceo	2,5Y 6/6	marrón brillante
		B	Circular	Elevada	Ondulado	2,5Y 8/1	gris claro	2,5Y 3/1	negro parduzco
	Tuna_Alac_019	A	Circular	Elevada	Ondulado	2,5Y 7/4	amarillo	2,5Y 5/3	gris amarillento
		B	Circular	Convexa	Filamento so	2,5Y 8/1	BLANCO	2,5Y 3/1	negro parduzco
	Tuna_Alac_021	B	Circular	Elevada	Entero	2,5Y 8/1	BLANCO	2,5Y 3/1	negro parduzco
Tuna_Alac_024	A	Irregular	Plana	Erosiano	2,5Y 8/1	BLANCO	2,5Y 8/1	BLANCO	
ESPOCH	Tuna_E_026	A	Circular	Elevada	Erosiano	10YR 6/4	amarillo naranja apagado	10YR 6/4	amarillo naranja apagado
		B	Filamento sa	Elevada	Erosiano	2,5Y 8/1	BLANCO	2,5Y 8/1	BLANCO
	Tuna_E_027	B	Circular	Umbonada	Erosiano	2,5Y 6/2	amarillo grisáceo	2,5Y 6/2	amarillo grisáceo
	Tuna_E_029	A	Filamento sa	Elevada	Erosiano	2,5Y 8/1	BLANCO	2,5Y 8/1	BLANCO
		B	Circular	Elevada	Ondulado	5Y 6/1	gris	5Y 6/1	gris

	Tuna_E_030	A	Circular	Elevada	Ondulado	2,5Y 6/2	amarillo grisáceo	2,5Y 6/2	amarillo grisáceo
		B	Circular	Convexa	Ondulado	5Y 8/1	gris claro	Fore gley 4/10GY	negro verdoso
CHINGAZ OS	Tuna_Ching_0 1	A	Irregular	Elevada	Ondulado	5B 7/1	gris azulado claro	7,5Y 3/1	negro aceituna
		B	Irregular	Elevada	Ondulado	5B 7/1	gris azulado claro	7,5Y 3/1	negro aceituna
	Tuna_Ching_0 2	B	Irregular	Plana	Entero	10Y 5/2	gris aceituna	10Y 2/1	negro
	Tuna_Ching_0 3	A	Irregular	Plana	Entero	10Y 5/2	gris aceituna	10Y 4/1	gris
	Tuna_Ching_0 4	A	Irregular	Plana	Ondulado	10YR 4/3	marrón amarillento	10YR 4/3	marrón amarillento
	Tuna_Ching_0 5	A	Circular	Plana	Entero	7,5Y 5/1	gris	7,5Y 3/1	negro aceituna
	Tuna_Ching_0 6	A	Irregular	Umbona da	Entero	7,5Y 8/2	BLANCO	7,5Y 8/2	BLANCO
FRUTO	Tuna_B	A	Circular	Plana	Erosiano	2,5Y 8/1	BLANCO	2,5Y 8/1	BLANCO
	Tuna_Dr	A	Circular	Plana	Erosiano	2,5Y 8/1	BLANCO	2,5Y 8/1	BLANCO
	Tuna_R1	A	Rizoide	Elevada	Erosiano	5Y 8/3	amarillo pálido	5Y 8/3	amarillo pálido
	Tuna_R2	A	Filamento sa	Plana	Filamento so	5YR 8/1	gris ligero	5YR 8/1	gris ligero

ANEXO G: RESUMEN DE NÚMERO DE AISLADOS FÚNGICOS OBTENIDOS POR LOCALIDAD.

N°	Hongo fitopatógeno	Tunshi	Epoch	Alcao	Chingazos
1	<i>Armillaria</i> sp.	1	0	0	0
2	<i>Fusarium</i> sp.	3	0	0	1
3	<i>Scytalidium</i> sp.	3	1	0	0
4	<i>Trichoderma</i> sp.	0	0	2	0
5	<i>Alternaria</i> sp.	9	5	5	3
6	<i>Geotrichum</i> sp.	0	0	1	2
7	<i>Cladosporium</i> sp.	0	0	0	3
8	<i>Rhizopus</i> sp.	0	0	0	1
9	No indentificados	0	1	2	1
	TOTAL	16	7	10	11



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO
DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL
APRENDIZAJE



UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS
REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 22 / 12 / 2021

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)

Nombres – Apellidos: María Fernanda Espinoza Castro

INFORMACIÓN INSTITUCIONAL

Facultad: *Recursos Naturales*

Carrera: Agronomía

Título a optar: Ingeniera Agrónoma

CRISTHIAN FERNANDO CASTILLO RUIZ
Firmado digitalmente por
CRISTHIAN FERNANDO
CASTILLO RUIZ
Fecha: 2021.12.22
22:15:03 -05'00'



2211-DBRA-UTP-2021

