



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES**  
**CARRERA AGRONOMÍA**

**EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE TRES AISLADOS  
DE *Fusarium* spp. ASOCIADOS CON EL SISTEMA RADICULAR  
EN MORA (*Rubus glaucus* Benth), EN INVERNADERO**

**Trabajo de Integración Curricular**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**AUTOR:**

**LUIS ROLANDO CHASIG POMBOZA**

Riobamba – Ecuador

2022



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES**  
**CARRERA AGRONOMÍA**

**EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE TRES AISLADOS  
DE *Fusarium* spp. ASOCIADOS CON EL SISTEMA RADICULAR  
EN MORA (*Rubus glaucus* Benth), EN INVERNADERO**

**Trabajo de Integración Curricular**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**AUTOR:** LUIS ROLANDO CHASIG POMBOZA

**DIRECTOR:** Ing. FERNANDO JOSÉ RIVAS FIGUEROA PhD.

Riobamba – Ecuador

2022

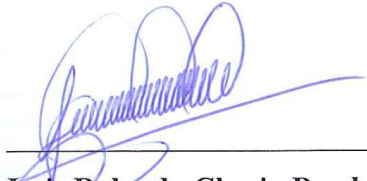
© 2022, Luis Rolando Chasig Pomboza

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

Yo, **LUIS ROLANDO CHASIG POMBOZA**, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi total 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 Integración Curricular; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 02 junio del 2022.

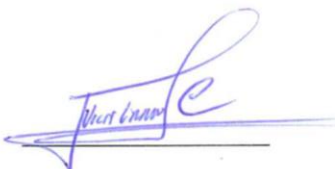
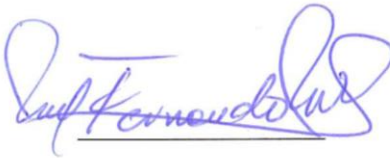
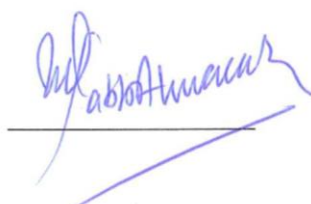


---

**Luis Rolando Chasig Pomboza**  
**180516229-2**

**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, **EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE TRES AISLADOS DE *Fusarium* spp. ASOCIADOS CON EL SISTEMA RADICULAR EN MORA (*Rubus glaucus* Benth), EN INVERDERO**, realizado por el señor: **LUIS ROLANDO CHASIG POMBOZA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Victor Lindao Córdoba PhD. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2022-06-02
Ing. Fernando José Rivas Figueroa PhD. <b>DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2022-06-02
Ing. Pablo Álvarez Romero. PhD. <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>		2022-06-02

## **DEDICATORIA**

Dedico con todo mi corazón este proyecto a Dios, a la Virgen del Quinche y a mi familia en especial a mis padres Luis Alberto Chasig y Magdalena Pomboza, pues sin ellos no lo habría logrado. Con su amor y dedicación me han mostrado el camino hacia la superación y triunfo en la vida, dándome ejemplo de humildad y sacrificio, enseñándome a valorar todo lo que tengo, por eso les doy mi trabajo en ofrenda por su paciencia, apoyo incondicional y amor, los amo.

Rolando

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por brindarme salud y sabiduría, luego a mis padres y hermanos/nas quienes confiaron y me apoyaron siempre, brindándome palabras de aliento en todo momento para alcanzar un nuevo logro en mi vida.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Recursos Naturales, Escuela de Agronomía, por abrirme sus puertas y acogerme como segundo hogar donde viví gratos momentos que siempre recordare, a todos los docentes quienes con mucho entusiasmo inculcaron en mi todo el conocimiento para ser un buen profesional.

Al Doctor Fernando Rivas, como director, supo guiarme de la manera más acertada y desinteresada, con mucho esfuerzo, motivación y conocimientos en la elaboración y desarrollo de esta investigación. Al Ing. Pablo Álvarez por su asesoría y tiempo brindado de la mejor manera en la parte escrita del trabajo. Al Ing. Álvaro Rivera, por su tiempo y asesoría brindada en la parte de laboratorio. Gracias al trabajo y a la paciencia de los tres, fue posible la realización y culminación de este trabajo.

A mis compañeros de estudio y amigos, gracias al compañerismo, amistad y apoyo moral que me manifestaron, han aportado considerablemente a mis ganas de seguir adelante con mi carrera profesional.

A todos ellos y a quienes de una u otra manera colaboraron con esta investigación se los agradezco desde lo más profundo de mi alma.

¡Gracias!

Rolando

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	¡Error! Marcador no definido.
INTRODUCCIÓN.....	1

## CAPÍTULO I

<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1. Generalidades agronómicas del cultivo de mora.....</b>	<b>4</b>
1.1.1. <i>Origen y distribución.....</i>	4
1.1.2. <i>Historia de la mora en Ecuador.....</i>	4
<b>1.2. Origen de la Mora.....</b>	<b>5</b>
1.2.1. <i>Clasificación Taxonómica de la Mora.....</i>	5
1.2.2. <i>Morfología de la Mora.....</i>	5
1.2.3. <i>Cultivo de la mora.....</i>	6
1.2.3.1. <i>Agua.....</i>	6
1.2.3.2. <i>Temperatura.....</i>	6
1.2.3.3. <i>Luminosidad.....</i>	6
1.2.3.4. <i>Viento.....</i>	6
1.2.4. <i>Manejo Agronómico de la Mora.....</i>	6
1.2.4.1. <i>Riego.....</i>	6
1.2.4.2. <i>Podas.....</i>	6
1.2.5. <i>Principales problemas fitosanitarios de la mora.....</i>	7
1.2.6. <i>Mora (Rubus glaucus Benth).....</i>	9
1.2.7. <i>Características culturales y morfológicas del género de Fusarium spp. Asociadas al sistema radical.....</i>	10
<b>1.3. Patogenicidad.....</b>	<b>10</b>
1.3.1. <i>Evaluación de la patogenicidad de Fusarium spp. en modelos vegetales.....</i>	10
1.3.1.1. <i>Fusarium spp.....</i>	10
1.3.2. <i>Aplicación de los postulados de Koch.....</i>	11
<b>1.4. Métodos de aislamiento.....</b>	<b>11</b>



1.4.1.	<i>Aislamiento directo</i> .....	11
1.4.2.	<i>Aislamiento Indirecto</i> .....	12

## CAPÍTULO II

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	13
2.1.	<b>Características del lugar</b> .....	13
2.1.1.	<i>Localización en campo</i> .....	13
2.1.2.	<i>Ubicación Geográfica</i> .....	13
2.1.3.	<i>Condiciones climáticas del ensayo</i> .....	13
2.2.	<b>Materiales y Equipos</b> .....	14
2.2.1.	<i>Material Biológico</i> .....	14
2.2.2.	<i>Medios de cultivo</i> .....	14
2.2.3.	<i>Soluciones</i> .....	14
2.2.4.	<i>Materiales de laboratorio</i> .....	14
2.2.5.	<i>Equipos de laboratorio</i> .....	14
2.2.6.	<i>Materiales de campo y equipos de campo</i> .....	15
2.3.	<b>Metodología</b> .....	15
2.3.1.	<i>Reactivación de las cepas de <i>Fusarium spp.</i></i> .....	15
2.3.2.	<i>Caracterización de los aislados obtenidos</i> .....	15
2.3.2.1.	<i>Características culturales</i> .....	15
2.3.2.2.	<i>Características morfológicas</i> .....	15
2.3.3.	<i>Caracterización de la patogenicidad de los hongos filamentos obtenidos</i> .....	16
2.3.3.1.	<i>Adquisición de material vegetal para pruebas de patogenicidad</i> .....	16
2.3.3.2.	<i>Manejo de las plantas</i> .....	16
2.3.3.3.	<i>Registro de las condiciones de temperatura y humedad relativa durante el ensayo</i> .....	16
2.3.4.	<i>Diseño del ensayo</i> .....	16
2.3.4.1.	<i>Tasa de crecimiento micelial</i> .....	16
2.3.4.2.	<i>Experimento in vivo</i> .....	17
2.3.5.	<i>Preparación del inóculo de especies de <i>Fusarium spp.</i></i> .....	18
2.3.5.1.	<i>Preparación del inóculo</i> .....	18
2.3.5.2.	<i>Cálculo de la concentración de inóculo</i> .....	18
2.3.6.	<i>Método de inoculación</i> .....	18
2.3.6.1.	<i>Método de inoculación mediante daño al sistema radical más inmersión de las raíces en la suspensión de inóculo</i> .....	18
2.3.6.2.	<i>Método de inoculación mediante drench al sustrato</i> .....	19
2.3.7.	<i>Evaluación de cepas inoculadas en campo</i> .....	19

2.3.7.1.	<i>Incidencia</i> .....	19
2.3.7.2.	<i>Severidad</i> .....	19
2.3.7.3.	<i>Evaluación de síntomas internos</i> .....	20
2.3.8.	<b><i>Reaislamiento de agentes fúngicos inoculados</i></b> .....	20
2.3.8.1.	<i>Procesamiento de plantas</i> .....	20
2.3.8.2.	<i>Registro de síntomas</i> .....	20
2.3.8.3.	<i>Procesamiento estadístico</i> .....	21

### CAPITULO III

3.	<b>MARCO DE RESULTADOS</b> .....	22
3.1.	<b>Sintomatología observada en las pruebas de patogenicidad</b> .....	22
3.2.	<b>Incidencia y severidad</b> .....	25
3.2.1.	<i>Incidencia final</i> .....	25
3.2.2.	<i>Área bajo la curva para la incidencia</i> .....	27
3.2.3.	<i>Severidad final</i> .....	29
3.2.4.	<i>Área bajo la curva de la severidad</i> .....	31
3.3.	<b>Caracterización cultural y morfológica de los agentes fúngicos obtenidos en el cultivo de mora</b> .....	33
3.3.1.	<i>Tasa de crecimiento micelial</i> .....	33
3.3.2.	<i>Características culturales y morfológicas</i> .....	35
3.3.2.1.	<i>Fusarium oxysporum</i> .....	35
3.3.2.2.	<i>Fusarium solani</i> .....	36
3.3.2.3.	<i>Fusarium redolens</i> .....	37
3.3.3.	<b><i>Evaluación de la patogenicidad de los aislados fúngicos inoculados</i></b> .....	38
3.3.3.1.	<i>Evaluación de la patogenicidad de F. oxysporum, F. redolens y F. solani</i> .....	38
3.3.3.2.	<i>Reaisladamiento de especies fúngicas inoculadas</i> .....	39
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	44
	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	45
	<b>GLOSARIO</b>	
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Clasificación Taxonómica de la Mora.....	5
<b>Tabla 2-1:</b>	Enfermedades de la mora .....	7
<b>Tabla 3-1:</b>	Plagas de la mora.....	8
<b>Tabla 1-2:</b>	Tratamientos establecidos para la evaluación de la tasa de crecimiento micelial	17
<b>Tabla 2-2:</b>	Tratamientos, pruebas de patogenicidad en la mora.....	17
<b>Tabla 3-2:</b>	Escala cualitativa de daños foliares .....	19
<b>Tabla 1-3:</b>	Análisis de varianza de incidencia final de <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> y <i>F. redolens</i> .....	26
<b>Tabla 2-3:</b>	Test de Tukey al 0,05 de la incidencia final de las tres cepas de <i>Fusarium</i> spp.	27
<b>Tabla 3-3:</b>	Análisis de varianza del área bajo la curva para la incidencia de <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> y <i>F. redolens</i> .....	28
<b>Tabla 4-3:</b>	Test de Tukey al 0,05 del área bajo la curva para la incidencia de <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> y <i>F. redolens</i> . .....	29
<b>Tabla 5-3:</b>	Análisis de varianza de severidad final de <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> y <i>F. redolens</i> por método de inmersión y drench .....	30
<b>Tabla 6-3:</b>	Test de Tukey al 0,05 del área bajo la curva para la severidad final de las tres cepas de <i>Fusarium</i> spp. ....	31
<b>Tabla 7-3:</b>	Análisis de varianza de área bajo la curva de la severidad de <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> y <i>F. redolens</i> . .....	32
<b>Tabla 8-3:</b>	Test de Tukey al 0,05 de la incidencia final de las tres cepas de <i>Fusarium</i> spp.	33
<b>Tabla 9-3:</b>	Análisis de varianza de la tasa de crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. solani</i> y <i>F. redolens</i> .....	34
<b>Tabla 10-3:</b>	Test de Tukey al 0,05 de la tasa de crecimiento micelial de las tres cepas de <i>Fusarium</i> .....	34

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-3:</b>	Síntomas causados por <i>F. oxysporum</i> y <i>F. solani</i> . Secado de hojas .....	23
<b>Figura 2-3:</b>	Síntomas del patógeno ( <i>Fusarium redolens</i> ), necrosis progresiva de las hojas jóvenes .....	23
<b>Figura 3-3:</b>	Síntomas externos ocasionados por <i>F. solani</i> y <i>F. redolens</i> .....	24
<b>Figura 4-3:</b>	Corte transversal de la corona de planta de mora cultivar castilla .....	25
<b>Figura 5-3:</b>	Características culturales y morfológicas de <i>F. oxysporum</i> .....	36
<b>Figura 6-3:</b>	Características culturales y morfológicas de <i>F. solani</i> .....	37
<b>Figura 7-3:</b>	Características culturales y morfológicas de <i>F. redolens</i> cultivados en SNA y CLA .....	38
<b>Figura 8-3:</b>	Cepas inoculadas de <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> y <i>F. redolens</i> (a, b, c). Cepas reaisladas de <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> y <i>F. redolens</i> (d, e, f) .....	39

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b>	Incidencia de tres cepas de <i>Fusarium</i> , por inmersión, drench y agua) .....	26
<b>Gráfico 2-3:</b>	Área bajo la curva para la incidencia de las tres cepas de <i>Fusarium</i> .....	28
<b>Gráfico 3-3:</b>	Severidad final de las cepas de <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> y <i>F. redolens</i> . .....	30
<b>Gráfico 4-3:</b>	Severidad final de las cepas de <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> y <i>F. redolens</i> .....	32
<b>Gráfico 5-3:</b>	Velocidad de crecimiento radial de micelio (mm/día).....	34

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** PROCESO DE OBTENCIÓN DEL CALDO FÚNGICO DE LAS TRES CEPAS
- ANEXO B:** ADQUISICIÓN Y MANEJO DE LAS PLANTAS EN EL INVERNADERO
- ANEXO C:** INOCULACIÓN DE *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*, POR EL MÉTODO DE INMERSIÓN Y DRENCH
- ANEXO D:** TRANSPORTE DE LAS PLANTAS AL LABORATORIO Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS A REAISLAR
- ANEXO E:** HUMEDAD RELATIVA Y TEMPERATURA PROMEDIO REGISTRADA CADA 8 DÍAS DURANTE LA INVESTIGACIÓN EN CAMPO.
- ANEXO F:** EVALUACIÓN DE LA TASA DE CRECIMIENTO MICELIAL (mm/día) DE LOS AISLADOS FÚNGICOS EN MEDIO PDA A UNA TEMPERATURA DE 30 °C
- ANEXO G:** PLANTAS CON SÍNTOMAS DEL BLOQUE 1 MÁS UN TESTIGO
- ANEXO H:** PANTAS CON SÍNTOMAS DEL BLOQUE 2 MÁS UN TESTIGO
- ANEXO I:** PANTAS CON SÍNTOMAS DEL BLOQUE 3 MÁS UN TESTIGO

## RESUMEN

Esta investigación consistió en evaluar el nivel de patogenicidad y agresividad de los hongos *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Fusarium redolens* asociados a la pudrición de corona en plantas sanas de mora en invernadero. El proceso inició con la reactivación de las tres aislados fúngicos cultivados en medio PDA durante 7 días, luego para la preparación del inóculo (suspensiones conidiales) las cepas fueron cultivadas en medio líquido V8 (agar bacteriológico, agua destilada, carbonato de calcio y jugo de vegetales V8) durante 7 días a 26 °C en el agitador – incubador orbital. Posterior al micelio cultivado se procedió a tamizar para separar las esporas del micelio y obtener una suspensión de esporas. Finalmente se procedió a realizar el conteo de los aislados fúngicos, permitiendo de esta manera realizar el ajuste en su concentración de  $1 \times 10^6$  propágulos/mL. La inoculación se realizó mediante dos métodos: Inoculación mediante daño al sistema radicular más inmersión de las raíces en la suspensión de inóculo que consistió sumergir la planta libre de la funda en la suspensión del inóculo durante 3 minutos y regresar a la misma funda con el sustrato, el método de inoculación mediante drench al sustrato que consistió en colocar 20 ml de inóculo en el sustrato alrededor de la corona de la planta de mora. Las plantas inoculadas por el método de inmersión por las tres cepas presentaron una sintomatología externa (marchitamiento de la planta, manchas necróticas desde el borde de las hojas) y sintomatología interna (leve pudrición de los tejidos de la corona y necrosamiento de los pelos absorbentes) demostrando ser patogénicas todas las cepas inoculadas. Las plantas inoculadas por el método drench mostraron sintomatología más severa, muerte de la planta, secado de las hojas viejas y jóvenes; se recomienda estudiar controles biológicos con las cepas de *Fusarium* spp. estudiadas.

**Palabras clave:** <PATOGENICIDAD>, <NECROSIS DE LA CORONA>, <(Fusarium oxysporum, Fusarium solani y Fusarium redolens)>, <MARCHITAMIENTO FOLIAR>, <DRENCH>, <SUSPENSIONES>, <CONIDIALES>.

  
D.B.K.A.  
Ing. Cristian Castillo

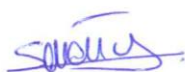
1448-DBRA-UTP-2022



## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the pathogenicity and aggressiveness level of the fungi *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, and *Fusarium redolens* associated with crown rot in healthy blackberry plants in greenhouses. The process started with the reactivation of the three fungal isolates grown on a PDA medium for seven days, then for inoculum preparation, (conidial suspensions) the strains were cultivated in a V8 liquid medium (bacteriological agar, distilled water, calcium carbonate, and V8 vegetable juice) for seven days at 26 °C in the orbital shaker-incubator. After the mycelium was cultured, it was sieved to separate the spores from the mycelium and obtain a spore suspension. Finally, it was proceeded to count the fungal isolates, thus allowing it to adjust their concentration to  $1 \times 10^6$  propagules/mL. Inoculation was carried out through two methods. Inoculation was by means of damage to the root system plus root immersion in the inoculum suspension, which consisted of immersing the plant free of the sheath in the inoculum suspension for 3 minutes and returning to the same sheath with the substrate, the method of inoculation by drenching to the substrate consisted of placing 20 ml of inoculum in the substrate around the crown of the blackberry plant. Plants inoculated by the immersion method by the three strains showed external symptomatology (wilting of the plant, necrotic spots from the edge of the leaves) and internal symptomatology (slight rotting of the crown tissues and necrosis of the absorbing hairs) showing that all the inoculated strains were pathogenic. Plants inoculated by the drench method showed more severe symptomatology, plant death, and drying from old and young leaves. It is recommended to study biological controls with the studied strains of *Fusarium* spp.

**Keywords:** <PATHOGENICITY>, <CROWN NECROSIS>, < (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*. and *Fusarium redolens*)>, <FOLIAR WILT>, <DRENCH>, <SUSPENSIONS>, <CONIDIALS>.



**Silvana Patricia Céleri Quinde**

**CC. 0602669830**



## INTRODUCCIÓN

En los últimos años el cultivo de mora ha tomado una gran potencialidad en el mercado nacional es así como en el 2019 el precio por canasta de 20 lb aumento en un 10% en comparación al año 2018 donde su precio fue de 11,41 USD/ 20 lb. Al inicio del año 2015 el envío de mora hacia otros países aumento de 44 toneladas a 68 toneladas, registrándose una ligera disminución de la exportación en el 2018 representado por un 11 % que significa 60 toneladas menos esto según (Barrera et al., 2017, p. 9).

La mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) comienza a incrementar sus zonas de producción encontrándose distribuido principalmente en las provincias de Tungurahua, Cotopaxi, Bolívar, Chimborazo, Pichincha, Azuay, Imbabura y Carchi, predominando la provincia de Bolívar alcanzar un rendimiento 6.90 t/ha y Tungurahua que posee un rendimiento de 8 t/ha. La mora se encuentra distribuida a lo largo de todo el callejón interandino, en el país se reporta alrededor de 5000 ha de mora en producción, que involucra de manera directa a cerca de 15000 pequeños productores y medianos productores de la sierra, de los cuales alcanzan rendimientos promedio de 5 t/ha/año, el cual se debe mejorar a través de programas integrales que ayude a mejorar los rendimientos (Barrera et al., 2017, pp. 9-15).

Existen varios géneros de hongos asociados como causantes de enfermedades de origen fungoso en el cultivo de mora los cuales afectan el desarrollo normal de la planta principalmente del género *Fusarium* asociadas al marchitez vascular (Forero et al., 2017, p. 90), causando pérdidas económicas en diferentes cultivos. Si bien, el desconocimiento de diversas enfermedades fúngicas presentes en el suelo que ocasionas daño al sistema radical, las malas prácticas de manejo del cultivo de mora son algunas de las causas que lleva a los agricultores del Ecuador a obtener bajos rendimientos y realizar muchas aplicaciones de fungicidas para luchar contra las enfermedades, elevando de tal manera sus costos de producción lo que repercute en un bajo beneficio económico y baja calidad del fruto. Para lograr la transferencia de nuevos conocimientos sobre la identificación y manejo de enfermedades en este cultivo frutícola.

Por esta causa en el presente trabajo se procedió a evaluar los síntomas y el porcentaje de incidencia de las plantas inoculadas con tres aislados de *Fusarium* spp. mediante dos métodos de inoculación, realizando pruebas de patogenicidad para demostrar el potencial de infección de los aislados.

## **IMPORTANCIA**

A partir de los últimos años el cultivo de mora aumentado su demanda ya que su facilidad de procesar y consumirla como fruta de mesa hace que sea mucho más apetecida por los consumidores, también es utilizada como materia prima en la industria, además su precio en los mercados por libra resulta rentable cuando más bajo esta su precio. Muchos agricultores tanto jóvenes como adultos han visto el cultivo de mora como otra fuente de ingreso disminuyendo la migración a las ciudades. Por este motivo el cultivo de mora ha tomado gran importancia no solamente en la provincia de Chimborazo sino también en las provincias de la sierra centro del Ecuador, y esto se debe a que genera de manera directa e indirectamente significativo número de empleo, siendo una oportunidad más para los pequeños agricultores.

## **PROBLEMA**

El desconocimiento de la sintomatología de diferentes agentes fúngicos asociados principalmente al sistema radicular causantes el marchitamiento del área foliar y necrosis del sistema radicular en el cultivo de mora ha ocasionado bajos rendimientos en el sector agropecuario.

Actualmente no se encuentran disponibles estudios de la patogenicidad de *Fusarium* en mora que es considerado como el principal agente causal de la marchitez en el cultivo, por lo cual es necesario realizar investigaciones *in vivo* para conocer su patogenicidad y agresividad.

## **JUSTIFICACIÓN**

Actualmente la mora es considerada como un recurso alimenticio de calidad, siendo rica tanto en minerales como en vitaminas, ligeramente dulce y de muy buen sabor pudiendo consumirse en estado natural, refrescos, conservas, etc. Además, es una fruta rica en vitaminas y minerales, tales como vitamina C, vitaminas del complejo B, hierro, calcio, fósforo (IICA, 1966, p. 16).

La mora ha estado relegada a pequeñas parcelas de tipo familiar, especialmente en las provincias de Pichincha, Imbabura, Tungurahua y Chimborazo. Donde se avisto afectados los métodos de propagación por hongos patógenos que atacan al sistema radical, siendo el más importantes *Phytophthora* spp., *Dactylonectria torresensis* y *Fusarium* spp. que se encuentran en los suelos o sustratos provocando síntomas de marchitez y necrosis en la zona foliar y pudrición a nivel de la raíz. En este sentido, se conoce el caso del hongo patógeno del género *Fusarium* spp. que causa marchites vascular, decadencia radicular y putrefacción del pie y del tallo. Consecuentemente, se

trabajaré con éste patógeno para profundizar los conocimientos que orienten un mejor manejo de los cultivos en las diferentes zonas de importancia productiva de mora de castilla.

## **OBJETIVOS**

### **General**

Evaluar la patogenicidad de tres aislados de *Fusarium* spp. asociados con el sistema radicular del cultivo mora (*Rubus glaucus* Benth) en invernadero.

### **Específicos**

- Evaluar la patogenicidad de tres aislados de *Fusarium* spp. inoculados en platas sanas de mora de castilla.
- Caracterizar cultural y morfológicamente los aislados obtenidos a partir de fragmentos de raíz de mora.
- Determinar la incidencia y severidad de ataque de los aislados de *Fusarium* spp. en plantas sanas de mora.

## **HIPÓTESIS**

### **Nula**

Ninguno de los tres aislados de *Fusarium* spp. asociados con el sistema radical provocan síntomas de pudrición en mora (*Rubus glaucus* Benth).

### **Alternativa**

Al menos un aislado de *Fusarium* spp. asociado al sistema radical causa síntomas de pudrición en mora (*Rubus glaucus* Benth).

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1. Generalidades agronómicas del cultivo de mora

##### 1.1.1. Origen y distribución

Según Franco y Giraldo (1999; citado en Iza, 2018, p. 3), la mora de castilla es originaria de las zonas altas tropicales de América, encontrándose principalmente en Estados Unidos, México, Honduras, El Salvador, Panamá, Colombia y Ecuador. En Ecuador la producción de mora se encuentra distribuida en toda la franja del callejón interandino, siendo las principales provincias productoras Tungurahua, Chimborazo, Cotopaxi, Bolívar, Carchi, Imbabura y Pichincha.

La planta de mora (*Rubus glaucus*) presenta una increíble diversidad morfológica, se reportan 21 especies del género *Rubus*, esto se debe a que cultivan en diversos ambientes y se muestran en diversos grados de domesticación tanto como para las variedades silvestres y cultivadas; entre las principales especies silvestres y cultivadas esta: *Rubus floribundus* (mora silvestre), *Rubus glabratus* (mora de la virgen) y *Rubus adenotrichas* (mora silvestre), *Rubus roseus* (mora silvestre), *Rubus azuayensis*, *Rubus glaucus* (mora de Castilla), etc., cultivadas desde 2 200 hasta 4 000 m.s.n.m. (Iza, 2018, p. 3). La producción de mora en nuestro país se da durante todo el año lo cual es una ventaja competitiva con el resto de los países de estaciones, ya que, a más de satisfacer las necesidades del mercado nacional, se puede abastecer los mercados internacionales (INIAP, 2016, p. 31).

##### 1.1.2. Historia de la mora en Ecuador

Es originaria de América se adapta a una amplia faja climática siendo posible de cultivar desde 1 500 a 3 200 m.s.n.m de acuerdo con esta altitud la temperatura sería de 6 a 22 °C (INIAP, 2016, p. 32). “La mora son arbusto por lo general espinosos sin embargo existen otras variedades que no tienen espinas debido a mutaciones. El sistema radical es superficial, aunque en algunas especies y variedades pueden profundizar notablemente, sus tallos nacen desde la base y van formando una macolla que se pueden extender varios metros de diámetro. El hábito de crecimiento puede ser erecto, semirrecto o típicamente rastrero” (Baraona y Sancho, 1998, p. 15).

## 1.2. Origen de la Mora

“En todo el mundo existe una variedad de especies al género de las moras y las frambuesas, siendo en su mayoría nativas de las regiones serenas de América del Norte y Asia. En el país, se conoce fruto desde épocas muy antiguas, en años pasados capilla de Orosí en Cartago, construida en el siglo XVII, existen pinturas de racimos de mora” (Baraona y Sancho, 1998, p. 17).

Bajo el nombre de mora o zarzamora se agrupa una gran diversidad de especies del género *Rubus*, de la familia Rosácea. Se diferencia de las frambuesas en que en éstas los carpelos (la parte jugosa comestible) se separan del receptáculo.

### 1.2.1. Clasificación Taxonómica de la Mora

Según Morillo (2011, p. 4) la planta de mora esta clasifica taxonómicamente de la siguiente manera:

**Tabla 1-1:** Clasificación Taxonómica de la Mora

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Antofita
<b>Clase</b>	Dicotiledónea
<b>Subclase</b>	Arquiclamidae
<b>Orden</b>	Rosale
<b>Familia</b>	Rosaseae
<b>Género</b>	<i>Rubus</i>
<b>Especie</b>	<i>glaucus</i>

Fuente: Morillo, 2011

### 1.2.2. Morfología de la Mora

- Raíz Principal
- Tallos
- Hojas
- Flor
- Fruto

### ***1.2.3. Cultivo de la mora***

De acuerdo con Morillo (2011, p. 16) el cultivo de mora requiere de:

#### ***1.2.3.1. Agua***

Requerimiento de 3 mm diarios.

#### ***1.2.3.2. Temperatura***

Zonas templadas con alta humedad relativa.

#### ***1.2.3.3. Luminosidad***

Este cultivo reacciona muy bien con luminosidad intensa, debido a que estimula una máxima expresión de colorido y sabor del fruto.

#### ***1.2.3.4. Viento***

Es esencial el aporte del viento o brisas suaves que ayudan a prevenir enfermedades fungosas en la planta.

### ***1.2.4. Manejo Agronómico de la Mora***

#### ***1.2.4.1. Riego***

En la mora el agua es de la mayor importancia durante la formación de la fruta y en su maduración. Después de la fructificación solo una pequeña cantidad de agua se necesita para mantener los procesos vitales. Cuando hay insuficiencia de agua durante la fructificación, hay bajos rendimientos y la fruta no tiene jugo. En las épocas secas y calientes el riego debe ser más frecuente que en la primavera y en el otoño.

#### ***1.2.4.2. Podas***

“Esta etapa consiste en cortar algunas ramas de una planta para que se pueda desarrollar más rápido y rinda mejor sus frutos al momento de la cosecha, dándole fuerza a la planta mediante la

poda para un mejor desarrollo. Además, se realiza la práctica de poda en hojas y flores para mejorar la producción y también es denominada poda” (IICA, 1966, p. 16).

Por tratarse de plantas semileñosas, de vegetación permanente o siempre verde y de hábito guiador, se siembra en espalderas sostenidas con postes y alambre hasta una altura de 2 metros desde el suelo. “Se aplica una poda en cabeza, semejante a la que se usa en el cultivo de la uva. Sembrando acodos enraizados de pocos meses se empieza por guiar 3 o 4 ramas que se amarran al primero, segundo y tercer alambre a medida que van creciendo. En 2 a 3 años la brotación de ramas llega a formar una cabeza o ramaje denso. Para esta época la poda consiste en suprimir ramas viejas que ya no producen, ramas enfermas y algunos chupones vigorosos que podrían debilitar el resto de las ramas en producción” (IICA, 1966, p. 16).

### 1.2.5. Principales problemas fitosanitarios de la mora

A continuación, se observará las distintas enfermedades que existen y afectan principalmente a la mora.

**Tabla 2-1:** Enfermedades de la mora

ENFERMEDADES		
Enfermedad	Síntomas	Intervención y manejo
Putridón del fruto o moho gris ( <i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex. Fr.)	Los síntomas se notan principalmente en las flores de la mora; es decir en las partes reproductivas de la planta.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se debe optar por realizar las labores con las podas y limpiar los caminos además de quemar flores y frutos fuera del suelo cultivado.</li> </ul>
Antracnosis del fruto, muerte descendente o secadera <i>Colletotrichum gloesporioides</i> (Penz.) Penz. y Sacc.	Los síntomas se reflejan en aquellas ramas o tallos de la planta que tienen cortes o heridas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Realizar periódicamente las podas fuera del lugar de trabajo.</li> </ul>
Roya <i>Gerwasia lagerheimii</i> (Magnus) Buriticá	Esta enfermedad es provocada por un hongo que refleja un color anaranjado en las hojas y en el envés de la misma se forman pequeños tumores.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Mantenga el cultivo libre de malezas, especialmente el área de la gotera. Así también pode las ramas y hojas afectadas, recoja el material y entiérrelo”.</li> </ul>
Mildeo polvoso, cenicilla o crespeta <i>Oidium</i> sp.	“Esta enfermedad refleja síntomas como aparición de parches cloróticos sobre la superficie, acompañados de deformaciones y	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Realizar la correcta fertilización y podas.</li> </ul>

	desarrollándose un color blanquecino y aspecto polvoso, del cual hace referencia a su nombre la enfermedad”.	
Mildeo veloso <i>Peronospora sparsa</i> Berk.	“En los tallos, ramas y pecíolos se presentan coloraciones moradas con bordes indefinidos. Además, se evidencia tejidos afectados tornándose más oscuros; luego, sobre los sitios donde se originó la enfermedad aparecen ampollas pequeñas de color blanco”.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Monitorear permanentemente el cultivo. Mantener una buena aireación dentro del cultivo mediante la poda permanente de las ramas que han fructificado y de las improductivas”.</li> </ul>
Marchitez y pudrición de las raíces <i>Verticillium</i> spp., <i>Fusarium</i> spp. y <i>Rosellinia</i> sp.	Esta enfermedad se produce por hongos mismos que se encuentran en el suelo reflejando marchitamiento y muerte en la planta. Estos hongos del suelo son algunas especies de los géneros <i>Verticillium</i> , <i>Fusarium</i> y <i>Rosellinia</i> . Aunque puede haber ligeras diferencias en los síntomas causados por cada patógeno.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “No establecer cultivos de mora en suelos arcillosos”.</li> <li>• “Construir los drenajes necesarios; arrancar las plantas afectadas, llevarlas fuera del lote y enterrarlas”.</li> </ul>
Agalla de la corona <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Smith & Townsend) Conn.	Esta enfermedad se propaga principalmente por las herramientas empleadas para la siembra y el agua ayuda a su dispersión, provocando tumores en el cuello de la planta.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “En primer lugar, se recomienda obtener el material de propagación a partir de plantas sanas”</li> <li>• “Evitar también la movilización de suelo desde zonas donde se encuentre la bacteria”.</li> </ul>

Fuente: Leiva, 2011

**Tabla 3-1:** Plagas de la mora

PLAGAS		
Plaga	Daños	Manejo/ control
Barrenador de tallos y ramas, <i>Hepialus</i> spp.	Este insecto perfora las ramas y hojas de la planta, en si sus larvas impidiendo el desarrollo de la misma y dañando en si la producción.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Realizar control de malezas en plato; regular el sombrero mediante poda de ramas, además hacer fertilización oportuna, para que la planta emita nuevos brotes”.</li> </ul>
Burrita de la virgen, <i>Compsus</i> spp.	“Las larvas de este insecto caen al suelo mismas que se entierran rápidamente y comienzan de las	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Realizar a tiempo las podas sanitarias, eliminar los residuos</li> </ul>



	raíces más gruesas consumiendo la epidermis y la corteza de las raíces secundarias y de la raíz pivotante”.	vegetales y mantener el cultivo libre de arvenses.
Perla de tierra <i>Eurhizococcus colombianus</i>	“La plaga se adhiere a la raíz y chupa la savia, allí también se reproduce y forma nudosidades o quistes en la raíz, que bloquean el paso del agua y de nutrientes en la planta”.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ningún tratamiento químico es eficiente, de ahí la importancia de las medidas preventivas y del manejo integrado.</li> </ul>
Barrenador del cuello de la planta <i>Zascelis spp</i>	Esta plaga provoca daños muy graves ya que se esparce rápidamente logrando su objetivo que es la muerte en la planta. Además, provoca en la planta un mínimo desarrollo en su tallo dando como resultado que la calidad de cosecha disminuya.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Realice la propagación del cultivo en su finca para sembrar materiales libres de plaga. Haga revisiones periódicas de la base del tallo cuando observe plantas débiles o cloróticas”.</li> </ul>
Mosca de la fruta <i>Anastrepha spp</i>	La mosca de la fruta afecta en su totalidad a muchos cultivos como su nombre lo dice en especial a la fruta causando pérdidas en la cosecha. Es una mosca de colores pequeña y muy hábil al volar.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se debe aplicar medidas fitosanitarias para evitar las moscas en frutas.</li> </ul>
Babosas <i>Milax gagates</i> <i>Draparnaud</i>	Las babosas son un peligro ya que se alimentan de cultivos que se encuentran en reproducción dejando hoyuelos en las hojas de las plantas en especial dañan los semilleros.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Ubicar las plantas de vivero en estibas elevadas del suelo y dejar espacio entre las filas donde se organizan las bolsas”.</li> <li>• Evitar que se acumule humedad, distribuir cebos en las zonas donde se observe mayor humedad en el terreno.</li> </ul>

Fuente: Leiva, 2011

### 1.2.6. Mora (*Rubus glaucus Benth*)

Se debe conocer como es esta especie ya que de tal forma diferenciaremos entre las demás especies existentes, y conoceremos más a fondo características relevantes de este cultivo.

Esta mora es una variedad que tiene como características un sistema radicular muy ramificado y sin forma definida, sus tallos están formados por cañas erectas muy vigorosas con espinas al final de las cuales se desarrollan los frutos, las hojas son alternas trifoliadas usualmente las flores son blancas o rosadas. Finalmente, el fruto es una polidrupa agrupada en racimos, cuando el fruto madura es de color rojo oscuro a negro de forma cónica con un peso promedio de 8,4 g y un grado

Brix de 11 ácido. En el Ecuador esta es una de las variables comerciales de mayor importancia. “Los sitios representativos donde se cultiva son: San Gabriel, Otavalo, Tabacundo, Yaruquí, Pelileo, Biblián y Guaranda. En estos lugares la cosecha se inicia al décimo mes desde el trasplante, con un ciclo de producción de 8 a 9 meses” (Aquelina, 2021, p. 19).

### ***1.2.7. Características culturales y morfológicas del género de *Fusarium* spp. Asociadas al sistema radical***

En el proceso de identificar los complejos de *Fusarium*, se inicia obteniendo cultivos de una sola espora (cultivo monospórico). Se deben considerar ciertos aspectos para identificar la especie (Guerrero, 2021, p. 9):

- a. Forma de los macroconidios
- b. Número de septos de macroconidios
- c. Número de septos de microconidios
- d. Presencia o ausencia de microconidios
- e. Forma y modo de formación de microconidios
- f. Naturaleza de los conidióforos
- g. Tamaño de las fiálides
- h. Presencia de clamidosporas
- i. Diámetros de colonias a 25 °C y 30 °C. después de 72 h con PDA
- j. Color de la placa (parte ventral)

## **1.3. Patogenicidad**

Es la habilidad que tienen los agentes infecciosos ya sean virus, bacterias, hongos entre otros para provocar enfermedades en huéspedes susceptibles de tal manera que va a depender de la severidad de las cepas y de la adaptación de los agentes patógenos al ambiente o en la planta (Linares, 2010, p. 12).

### ***1.3.1. Evaluación de la patogenicidad de *Fusarium* spp. en modelos vegetales***

#### ***1.3.1.1. *Fusarium* spp.***

“*Fusarium* es un hongo filamentoso saprófito del suelo que se ha caracterizado por ser patógeno de diferentes hospederos, con un enorme impacto por considerarse patógeno emergente. Su

habilidad para causar enfermedad en un amplio rango de hospederos lo convierten un organismo modelo para analizar mecanismos patogenicidad” (Linares, 2010, p. 24).

“Las pruebas de patogenicidad en los tres modelos de plantas no mostraron los síntomas asociados con marchitez en plantas, es decir que no ocasionaron enfermedad. Por otro lado, la colonización y necrosis de los haces vasculares, independientemente de la especie y el origen de los aislamientos, indicaron los alcances infecciosos de *Fusarium* spp.” (Forero et al., 2017, p. 90).

### ***1.3.2. Aplicación de los postulados de Koch***

Muchas enfermedades se las puede diagnosticar con facilidad mediante la observación de las estructuras del organismo patógeno mientras que por otro lado existen presencia simultánea de varios organismos para lo cual es imposible identificar la enfermedad para lo cual es pertinente aplicar los postulados que fueron emitidos por Koch mismos que fueron establecidos en 1882, son un criterio que permite conocer sin duda si un organismo es causante de una enfermedad. Los postulados son los siguientes:

1. Aislamiento del organismo de los tejidos enfermos.
2. Cultivo del organismo en un medio artificial.
3. Inoculación de una planta sana con el organismo.
4. Reproducción de los síntomas de la enfermedad en la planta inoculada.
5. Reaislamiento del organismo.

Además, se menciona que se debe omitir la fase 2 en el caso de aquellos parásitos que no crecen en medios artificiales (Cifuentes, 1990, p. 26).

## **1.4. Métodos de aislamiento**

Según Alfenas y Mafia (2016, p. 56) determinan algunas técnicas de aislamiento que consiste en obtener colonias fúngicas puras de tejido enfermo del hospedador, a partir de órganos enfermos. Los métodos de aislamiento básico son:

### ***1.4.1. Aislamiento directo***

Es el proceso de transferir diferentes estructuras del patógeno ya sea esporas, hifas, rizomorfos, esclerocios directamente de un órgano afectado al ambiente adecuado para un cultivo. Para trabajar con esporas en algunas muestras, es necesario provocar la esporulación del hongo

mediante la instalación de una cámara húmeda con un tiempo de uno a tres días a una temperatura de 25 °C, para esto es aconsejable utilizar placas Petri o bandejas envueltas en una bolsa de plástico transparente con una tapa transparente para observar el crecimiento del micelio. Para mantener la humedad dentro de la placa Petri es necesario colocar papel filtro humedecido para obtener un microclima óptimo para el desarrollo del hongo (Alfenas y Mafia, 2016, p. 58).

Otro método es el uso de medio de Agar Agua que se puede utilizar como medio de soporte para la germinación de esporas ya que también funciona como una cámara de humedad (Alfenas y Mafia, 2016, p. 60). De esta forma se ha logrado buenos resultados con aislamiento directo de:

- Producción de conidióforos y conidios libres en hifomicetos.
- Producción de picnidios y acérvulos en Coelomicetes con cirros conidiales en ápices de estas estructuras.
- Producción de peritecios en ascomicetes, teniendo en algunos casos la acumulación de
- Ascosporas exudadas en los ápices de estas estructuras.

#### ***1.4.2. Aislamiento Indirecto***

Este método está basado en replicar porciones de tejido infectado o muestras de suelos, órganos infectados al medio de cultivo. El procedimiento cambia acorde con el tipo de tejido u órgano infectado, sea este carnoso, no carnoso, leñosos, no leñoso o sustrato del que se recupere el organismo. El patógeno en muchos casos se encuentra dentro de la planta sin producir síntomas ni signos en la superficie del órgano afectado. De esta manera el área afectada o el tejido muerto es invalida para otros organismos saprofitos, lo que obstaculiza la obtención del patógeno en cultivo puro, de tal manera se debe hacer el aislamiento del material recién infectado siempre y cuando esto sea posible, considerando que el patógeno está creciendo activamente en el área afectada y evita el crecimiento en menor cantidad de saprofitos invasores (Alfenas y Mafia, 2016, p. 64). “Los fragmentos de micelio, que se obtuvieron de la corona y de tallos, se sembraron en placas Petri (Ø=90 mm). Se observaron los fragmentos de micelios de los aislados obtenidos en un microscopio óptico Zeiss (200x) para confirmar su identidad con el género *Fusarium*”. Además “los aislados se conservaron a 4°C en el cepario del Laboratorio de Micología Vegetal del CENSA” (Duarte, 2016, p. 174).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

Esta investigación se desarrolló en diferentes etapas: la primera consistió en la reactivación de los hongos filamentosos del género *Fusarium* a partir de un cultivo puro. Los aislamientos obtenidos se caracterizaron cultural y morfológicamente realizado en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales (FRN) de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH). La prueba de patogenicidad se realizó en plantas de mora de 4 meses de edad var. Catilla, colocadas en el invernadero de Fitopatología que está ubicado en la Estación Experimental Tunshi perteneciente a la ESPOCH. Para verificar la patogenicidad del hongo en las plantas se realizó un proceso de reaislamiento a partir de las plantas inoculadas.

#### 2.1. Características del lugar

##### 2.1.1. Localización en campo

La siguiente investigación, se efectuó en la estación experimental Tunshi de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, parroquia Licto, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo.

##### 2.1.2. Ubicación Geográfica

- Latitud: 01°45'S
- Longitud: 78°37'W
- Altitud: 2756 msnm

##### 2.1.3. Condiciones climáticas del ensayo

- Temperatura: 14,53°C
- Humedad relativa: 75.03%
- Precipitación: 531 mm/año

## **2.2. Materiales y Equipos**

### **2.2.1. Material Biológico**

168 plantas de mora (*Rubus glaucus* Benth) cv. De Castilla, inóculo de hongo perteneciente al complejo *Fusarium oxysporum*, inóculo de hongos perteneciente al complejo *Fusarium redolens*, inóculo de hongos perteneciente al complejo *Fusarium solani*

### **2.2.2. Medios de cultivo**

Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA) ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , KCl, Glucosa, Sucrosa, Agar Bacteriológico, agar Água (Bacto™ Agar), papa dextrosa agar (PDA Difco™), agar Sabouraud, carnation Leaf Agar (CLA), v8 medio líquido (Agar Bacteriológico, sumo de vegetales V8, agua destilada, Carbonato de calcio).

### **2.2.3. Soluciones**

Estreptomicina, chloranfenicol, glicerina al 70%.

### **2.2.4. Materiales de laboratorio**

Cajas de Petri de plástico, cajas de Petri de vidrio (90 mm Ø), mechero Bunsen, micropipeta, puntas de micropipetas (1000 µL), bisturí, probeta gradual (500 ml), probeta gradual (100ml), agujas de disección en acero recto, pinzas de laboratorio (longitud 200 mm), vaso de precipitación (100 ml), matraz Erlenmeyer (500 ml), placas porta y cubre objetos, marcador permanente punta fina, cinta para fina.

### **2.2.5. Equipos de laboratorio**

Autoclave (BKQ-B100II), cámara de flujo laminar vertical (BIOBASE BSC-1500IIA2-X), incubadora (J.P. SELECTA 2001249), destilador de agua, ultracongelador (BIOECO WS 8000), baño María (CENCO 97013-16), microondas (LG Smart Inverter), cámara de recuento, Neubauer-improved (8100204), secador de vidrio (SELECTA 2000381), agitador magnético (COMECTA – IVYMEN 2096007), balanza de precisión (RADWAG AS 220.R2), microscopio óptico (SWIFT6 M10), estereoscopio (SWIFT6 M10).

### **2.2.6. Materiales de campo y equipos de campo**

Olla de aluminio (100 L), cocina industrial, tanque plástico (100 L), balde plástico (12 L), jarra plástica graduada (1 L), cilindro gas doméstico, probeta graduada (100 ml), fundas polietileno para vivero de (34x 25), insumos (fertilizantes, insecticidas, acondicionadores de agua), sustrato estéril (turba BM2), jeringuillas, registrador de temperatura y humedad relativa (HOBO), libreta de apuntes, cámara fotográfica, regadera, bomba tipo mochila manual, tijera de podar, azadón.

## **2.3. Metodología**

### **2.3.1. Reactivación de las cepas de *Fusarium spp.***

Se reactivaron las cepas de *Fusarium* identificadas como *Fusarium oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*, a partir de un cultivo puro. Según Guerrero (2021, p. 13) estas muestras se obtuvieron del muestreo de tejidos del sistema radicular y foliar de diez plantas de mora ubicadas en la parroquia San Luis y San Isidro, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo que presentaron síntomas como área foliar marchita, hojas color café, secas y marchitamiento parcial de los folíolos en los bordes. Fueron repicadas e incubadas a una temperatura de 28°C sin fotoperiodo, en un medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), evaluando constantemente su crecimiento aproximadamente por unos 7 días hasta que los hongos llenen completamente las cajas Petri.

### **2.3.2. Caracterización de los aislados obtenidos**

#### **2.3.2.1. Características culturales**

Los aislados fúngicos se repicaron en cajas Petri con PDA y fueron incubadas a  $26 \pm 2$  °C en oscuridad, durante 7 días. Una vez crecidas las colonias se tomaron discos con sacabocados de 5 mm de diámetro y fueron colocados en el centro de las cajas Petri con PDA. Se usaron 3 cajas por aislado para determinar sus características.

#### **2.3.2.2. Características morfológicas**

Las características morfológicas se evaluaron mediante la técnica de micro cultivo siguiendo los criterios establecidos de Alfenas y Mafia (2016, p. 68), con la preparación de medio SNA y CLA para determinar las características de los conidióforos, conidios, clamidosporas y esporodoquios. Para acelerar la formación de estructuras reproductivas cada cepa fue transferida a un medio de cultivo específico, SNA para facilitar la formación de macroconidios y microconidios, incluyendo

en el medio de cultivo fragmentos de papel filtro (Whatman<sup>TM</sup> N°1) estéril de 1 cm<sup>2</sup>. Para inducir a la formación de clamidosporas se utilizó medio de cultivo CLA, incorporando hojas de clavel estéril al mismo.

Las diferentes cepas de *Fusarium* spp. fueron repicadas en los medios SNA y CLA e incubadas a una temperatura de 27°C durante 7 días con fotoperiodo (lámparas LEICA DM 150) para inducir la formación de las diferentes estructuras necesarias para la caracterización morfológica de cada aislado fúngico.

### ***2.3.3. Caracterización de la patogenicidad de los hongos filamentos obtenidos***

La prueba de patogenicidad de los aislados fúngicos fue realizada en el invernadero de la Estación Experimental Tunshi de la ESPOCH en el mes de octubre del año 2021 y la preparación del inóculo y reaislamiento en el laboratorio de Fitopatología de la ESPOCH.

#### ***2.3.3.1. Adquisición de material vegetal para pruebas de patogenicidad***

Las plantas de mora con espinas de 4 meses de edad (cultivar mora de Castilla) fueron obtenidas del vivero frutícola y hortícola “Curay” localizado en el cantón Montalvo provincia de Tungurahua.

#### ***2.3.3.2. Manejo de las plantas***

La nutrición de las plantas se realizó de acuerdo con los requerimientos nutricionales del cultivo mediante fertirriego con agua hervida durante 2 meses y periodo de seguimiento del ensayo.

#### ***2.3.3.3. Registro de las condiciones de temperatura y humedad relativa durante el ensayo***

La temperatura y humedad relativa fueron registradas utilizando un Datalogger HOBO®.

### ***2.3.4. Diseño del ensayo***

#### ***2.3.4.1. Tasa de crecimiento micelial***

Para evaluar la tasa de crecimiento micelial se usó un diseño completo al azar. Para este experimento se usaron 3 repeticiones, cada repetición estaba constituida por una caja de Petri.



**Tabla 1-2:** Tratamientos establecidos para la evaluación de la tasa de crecimiento micelial

Tratamiento	Aislado fúngico	Medio de cultivo	Temperatura °C
T1R1	<i>F. oxysporum</i>	PDA	28
T1R2	<i>F. oxysporum</i>	PDA	28
T1R3	<i>F. oxysporum</i>	PDA	28
T2R1	<i>F. solani</i>	PDA	28
T2R2	<i>F. solani</i>	PDA	28
T2R3	<i>F. solani</i>	PDA	28
T3R1	<i>F. redolens</i>	PDA	28
T3R2	<i>F. redolens</i>	PDA	28
T3R3	<i>F. redolens</i>	PDA	28

Realizado por: Chasig Luis, 2022

#### 2.3.4.2. Experimento in vivo

Para la evaluación de la patogenicidad y severidad de las plantas de mora, las variables en estudio fueron: Incidencia y severidad, en donde se utilizó un diseño de bloques completos al azar factorial en donde los factores fueron los métodos de inoculación (drench e inmersión) y los aislados fúngicos (*F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*).

Para esto se usaron 168 plantas de mora distribuidas en tres bloques con 8 tratamientos y distribuidos al azar dentro de cada bloque.

**Tabla 2-2:** Tratamientos, pruebas de patogenicidad en la mora

Tratamiento	Código	Especie y método	Tratamiento	Código	Tratamiento	Código
T1	A1 B1		T1	A1 B1	T1	A1 B1
T2	A2B1		T2	A2B1	T2	A2B1
T3	A3B1		T3	A3B1	T3	A3B1
T4	A1B2		T4	A1B2	T4	A1B2
T5	A2B2		T5	A2B2	T5	A2B2
T6	A3B2		T6	A3B2	T6	A3B2
T7	A4B1		T7	A4B1	T7	A4B1
T8	A4B2		T8	A4B2	T8	A4B2

Realizado por: Chasig Luis, 2022

### **2.3.5. Preparación del inóculo de especies de *Fusarium* spp.**

#### *2.3.5.1. Preparación del inóculo*

Partiendo de cultivos monospóricos de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens* respectivamente, fueron repicadas cada una de las cepas en cajas Petri (90 mm Ø) en PDA estéril más Estreptomizina y cloranfenicol, incubadas a 26 °C sin fotoperiodo. Transcurridos catorce días discos de micelio de 5mm fueron transferidos a medio de cultivo líquido (sumo de vegetales, agua destilada, carbonatos de cal), e incubadas en un agitador orbital (COMECTA – IVYMEN 2096007) a una temperatura de 26 °C y a 160 rpm/min durante 7 días. El inóculo producido fue ajustado a una concentración de  $1 \times 10^6$  macroconidios \* mL<sup>-1</sup>, utilizando una cámara de Neubauer, Neubauer-improved (8100204).

#### *2.3.5.2. Cálculo de la concentración de inóculo*

Se realizó un conteo de conidios para cada solución utilizando una cámara de Neubauer. Una vez obtenidos los datos se ajustó la concentración a  $1 \times 10^6$  conidios \* mL<sup>-1</sup>, utilizando la fórmula de concentración:  $V1 \times C1 = V2 \times C2$ .

### **2.3.6. Método de inoculación**

Una vez obtenida la concentración deseada de cada una de las cepas, se llevó a cabo la prueba de patogenicidad. La suspensión de esporas fue inoculada en las plantas de mora de 6 meses de edad utilizando los siguientes métodos de inoculación:

- Inoculación mediante daño al sistema radicular más inmersión de las raíces en la suspensión de inóculo.
- Inoculación mediante drench al sustrato.

#### *2.3.6.1. Método de inoculación mediante daño al sistema radical más inmersión de las raíces en la suspensión de inóculo*

El método de inóculo se realizó mediante daño a las raíces apicales más la inmersión de las raíces en una solución de conidios (4916 mL) durante 3 min. Previamente a las plantas de mora se retiró el sustrato donde también sufrieron daño a la raíz y no fue necesario realizar el corte. Después se procedió a trasplantar nuevamente las plantas con el mismo sustrato retirado anteriormente.

### 2.3.6.2. Método de inoculación mediante drench al sustrato

Este método se llevó a cabo inyectando 20 mL de la suspensión de conidios en el sustrato, tipo drench lo más cercano al tallo principal.

### 2.3.7. Evaluación de cepas inoculadas en campo

Para la evaluación de las cepas en campo, se determinó la incidencia y severidad.

#### 2.3.7.1. Incidencia

Se evaluó la incidencia de *Fusarium* spp. en las plantas de mora, que se llevó a cabo cada 4 días y se realizó el cálculo mediante la fórmula planteada por la Sociedad Inglesa de Micología:

$$\text{Incidencia (I) (\%)} = \text{Numero de plantas afectadas} / \text{número total de plantas evaluadas}$$

Los síntomas a nivel foliar y del área radicular fueron registrados fotográficamente. El reisolamiento de los agentes fúngicos inoculados, se realizó siguiendo el protocolo de desinfección, establecido por Alfenas y Mafia (2016, p. 70).

#### 2.3.7.2. Severidad

Para determinar la severidad que presentó cada planta fue evaluada cualitativamente mediante la escala de notas propuesta por Pastrana et al. (2017, p. 2066) (Tabla 2-3), con algunas modificaciones. Los registros se valoraron escrita y fotográficamente. Los valores obtenidos fueron transformados a porcentaje de infección utilizando la fórmula propuesta.

$$INF = \frac{\sum(\text{Grado de la Escala} * \text{frecuencia}) * 100}{(\text{Número total de unidades} * \text{grado máximo de la escala})}$$

**Tabla 3-2:** Escala cualitativa de daños foliares

Escala de notas descriptiva	
<b>Grado</b>	<b>Porcentaje de marchitamiento</b>
<b>0</b>	No presenta síntomas
<b>1</b>	Secado y muerte de hojas bajas más viejas
<b>2</b>	Hojas viejas sintomáticas acompañado de marchitamiento de las hojas más jóvenes y/o retraso del crecimiento
<b>3</b>	Síntomas foliares graves y ennegrecimiento del tallo

---

## 4 Planta muerta

---

**Fuente:** Pastrana et al., 2017

**Realizado por:** Chasig Luis, 2022

### 2.3.7.3. *Evaluación de síntomas internos*

Se determinó cualitativamente mediante fotografías, el porcentaje de necrosis a nivel de la corona se determinó al finalizar el ensayo y se registró el avance del daño ocasionado a la corona realizando un corte transversal en el caso del bloque 1 y 2 y un corte longitudinal en el bloque 3.

### 2.3.8. *Reaislamiento de agentes fúngicos inoculados*

#### 2.3.8.1. *Procesamiento de plantas*

Las plantas de mora de cada uno de los tratamientos que mostraron síntomas fueron llevadas al laboratorio para el procesamiento de las muestras, cada una de las plantas fueron lavadas con agua hasta retirar todo el sustrato adherido al sistema radical. Posteriormente la corona fue cortada en forma transversal obteniendo aproximadamente cortes de 5 a 8 mm en las secciones de tejido enfermo, estos fragmentos fueron lavados, desinfectados con alcohol al 70% durante 1 min, luego se colocó en una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 2 min, y finalmente se realizó dos enjuagues con agua destilada estéril durante 30 s cada vez.

Posteriormente se realizó cámaras húmedas, colocando 4 fragmentos de tejido desinfectados en medio PDA y fueron incubadas a 25°C en oscuridad durante 8 días.

Al observar el micelio crecido en los tejidos colocados en las cajas de Petri, se procedió a transferir con agujas de disección una cantidad de micelio a cada una de las cajas de Petri con medio PDA, estas cajas fueron selladas, etiquetadas y se colocaron en la incubadora a 28 °C en oscuridad durante 15 días evaluando constantemente su crecimiento.

#### 2.3.8.2. *Registro de síntomas*

Se realizó un registro fotográfico de la parte foliar y radical. La valoración de síntomas internos de la corona en cada plata en estudio se realizó fotográficamente con una cámara de alta resolución registrando la presencia o ausencia de marchitamiento vascular en la corona cortada longitudinalmente.

#### 2.3.8.3. *Procesamiento estadístico*

Para el experimento *in vitro* se utilizó un diseño completo al azar, se hizo un análisis de varianza y prueba de Tukey al 5%, para el experimento *in vivo* se utilizó un diseño de bloques completos al azar factorial, se hizo un análisis de varianza y prueba de Tukey al 5%. Todos los análisis se hicieron utilizando el programa R. 4.1.2.

## CAPITULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS

#### 3.1. Sintomatología observada en las pruebas de patogenicidad

Al realizar la inoculación de las plantas de mora cultivar mora de catilla con espinas de 6 meses de edad los primeros síntomas externos observados fueron marchitamiento de las hojas bajera viejas, estos síntomas fueron observados a los 8 días después de la inoculación de la cepa de *F. oxysporum* con el método de inoculación drench al sustrato, estos síntomas no se evidenciaron en las plantas control, como se observa en la **Figura 1-3 (c)**. De la misma forma los primeros síntomas observados por el método de inoculación mediante el daño al sistema radicular más inmersión de las raíces en la suspensión de inóculo, como síntoma inicial se evidencio un retraso en el crecimiento y clorosis leve de algunas hojas. Severidad del 0,05% e incidencia del 2,4% únicamente síntomas en las hojas, no se encontró presencia de marchitamiento, y decoloración en haces vasculares que se observa en la siguiente **Figura 1-3**. El progreso de la enfermedad se vio de forma más clara en el Tratamiento 2 *Fusarium solani* método drench del Bloque III como se observa en la **Figura 2-3**. Al transcurrir el tiempo el marchitamiento fue avanzando a las hojas jóvenes provocando una necrosis desde el borde apical hacia el interior de esta, ocasionando un ennegrecimiento progresivo de la hoja, lo cual no se evidenció en el control, como se muestra en la **Figura 2-3, c**. Además, se observó un oscurecimiento del tallo **Figura 2-3, b** en algunas plantas de mora inoculadas por el método drench.

En las plantas inoculadas con las cepas de *F. solani* y *F. redolens*, mediante el método drench se observaron síntomas externos asociados con marchitamiento en las hojas bajas en el Bloque I y Bloque II, como se observa en la **Figura 3-3** a los 14 días después de la inoculación. Lo cual fue diferente a las plantas control donde no presentaron los síntomas mencionados anteriormente y se puede observar en la **Figura 3-3**.

**Realizado por:** Chasig Luis, 2022



**Figura 1-3.** Síntomas causados por *F. oxysporum* y *F. solani*. Secado de hojas



**Figura 2-3.** Síntomas del patógeno (*Fusarium redolens*), necrosis progresiva de las hojas jóvenes

**Realizado por:** Chasig Luis, 2022





**Figura 3-3.** Síntomas externos ocasionados por *F. solani* y *F. redolens*

**Realizado por:** Chasig Luis, 2022

Los síntomas internos se observaron a nivel de la corona de las plantas de mora al momento de realizar un corte transversal, evaluando el nivel de necrosamiento (muerte del tejido) que cada una de las plantas de los diferentes tratamientos presentaron a nivel de la corona. Las plantas de mora inoculadas con las cepas de *F. oxysporum*, *F. redolens* y *F. solani* por el método de inmersión y drench no presentaron necrosamiento a nivel de la corona y su daño se evidenció en los pelos absorbentes provocando necrosis y muerte de estos tejidos como se observa en la **Figura (4-3)**.





**Figura 4-3.** Corte transversal de la corona de planta de mora cultivar castilla

Realizado por: Chasig Luis, 2022

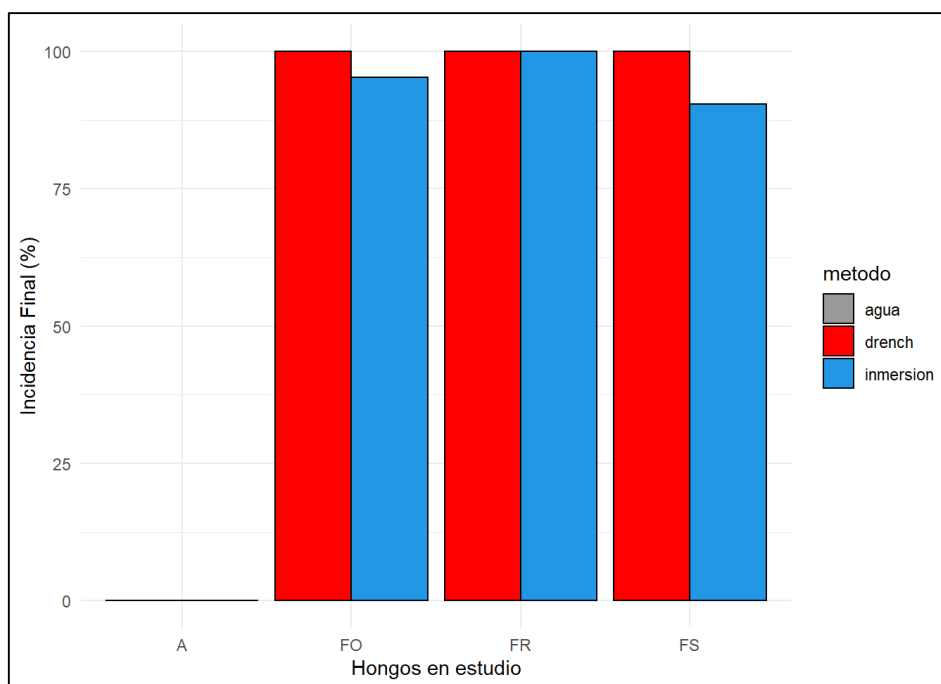
### 3.2. Incidencia y severidad

#### 3.2.1. Incidencia final

En la presente investigación se evaluó la incidencia final del marchitamiento ocasionado por las diferentes especies de *Fusarium* spp. estudiadas en plantas de mora, determinando que al utilizar el método de drench ninguna de las cepas de *Fusarium* tuvo un comportamiento diferente (**Gráfico 1-3**), mientras que al utilizar el método de inmersión *F. redolens* obtuvo un porcentaje mayor de incidencia final y *F. solani* obtuvo menor incidencia como se indica en el **Gráfico 1-3**. Además, en el análisis de varianza se presentó una alta diferencia significativa para los hongos inoculados por el método de drench con un p-valor de  $2 \times 10^{-16}$ , y para los métodos de inoculación se presentaron una diferencia significativa p-valor  $3,15 \times 10^{-2}$  **Tabla 1-3**.

Por otro lado, la prueba de Tukey 5% para los distintos tratamientos presentó dos grupos estadísticos; grupo "a" (*F. o*: drench, *F. s*: drench, *F. r*: drench; *F. o*: inmersión, *F. s*: inmersión

y *F. r.*: inmersión) **Tabla 2-3**; en el grupo “b” tratamiento control (agua), como se indica en la **Tabla 2-3**.



**Gráfico 1-3.** Incidencia de tres cepas de *Fusarium*, por inmersión, drench y agua)

**Realizado por:** Chasig Luis, 2022

**Tabla 1-3:** Análisis de varianza de incidencia final de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*

F. V	SC	GL	CM	F	p-valor	Significancia
Hongos	42951	3	14317	789,219	<2e-16	***
Método	102	1	102	5,625	0,0315	*
Bloque	0	2	0	0,000	1,0000	
Hongo*Método	6	2	34	1,875	0,1876	
Error	272	15	18			

Nota:

p-valor: > 0,01 y > 0,05: ns (No significativo)

p-valor: > 0,01 y < 0,05: \* (Significativo)

p-valor: < 0,01 y < 0,05: \*\* (Altamente significativo)

**Realizado por:** Chasig Luis, 2022

**Tabla 2-3:** Test de Tukey al 0,05 de la incidencia final de las tres cepas de Fusarium spp.

Hongos	Medias	N	Rangos de significancia
Fo: drench	100,0000	7	a
Fr: drench	100,0000	7	a
Fr: inmersión	100,0000	7	a
Fs: drench	100,0000	7	a
Fo: inmersión	95,23810	7	a
Fs: inmersión	90,4762	7	a
A: agua	0,000	7	b

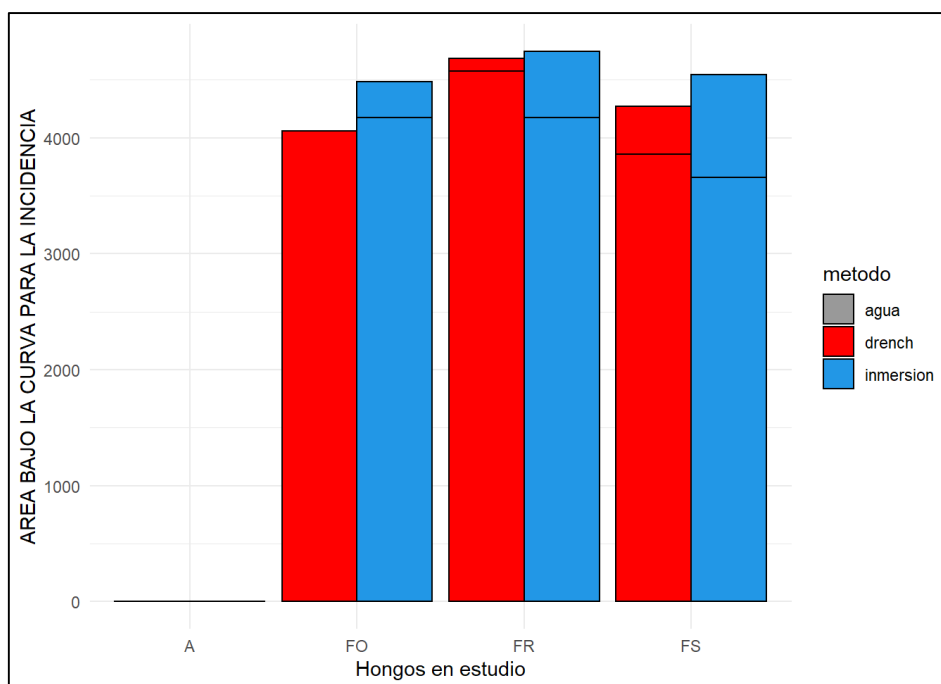
**Realizado por:** Chasig Luis, 2022

### 3.2.2. Área bajo la curva para la incidencia

En el análisis del área bajo la curva para la incidencia se observó que, por el método de inmersión, la mayor área bajo la curva fue para *F. redolens* (**Gráfico 3-3**). De la misma manera por el método de inoculación de drench la mayor área bajo la curva correspondió al mismo *F. redolens* (**Gráfico 3-3**). Asimismo, se observó que la mayor área bajo la curva fue para el método inmersión de las raíces en la suspensión de inóculo, ya que este método implica las lesiones en las raíces facilitando la penetración del patógeno e incremento el nivel de daño en la raíz.

En el análisis de varianza existió diferencias significativas para el factor hongos inoculados con un p-valor  $7,99 \times 10^{-8}$ , por otro lado, para los métodos de inoculación no existió diferencias significativas con un p-valor  $9,44 \times 10^{-1}$  **Tabla 3-3**.

La prueba de Tukey 5% para los diferentes tratamientos mostros dos grupos estadísticos; en el grupo “a” las cepas (*F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens* con el método de inmersión y *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolen* con el método drench) **Tabla 4-3** y en el grupo “b” encontramos el tratamiento control (agua) **Tabla 4-3**.



**Gráfico 2-3.** Área bajo la curva para la incidencia de las tres cepas de *Fusarium*

Realizado por: Chasig Luis, 2022

**Tabla 3-3:** Análisis de varianza del área bajo la curva para la incidencia de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*

F. V	SC	GL	CM	F	p-valor	Significancia
<b>Hongos</b>	44581866	3	14860622	68,623	7,99e-08	***
Método	1134	1	1134	0,005	0,944	
Bloque	151973	2	75986	0,351	0,711	
Hongo*Método	185125	2	92562	0,427	0,662	
Error	2598639	12	12165553			

Nota:

p-valor: > 0,01 y > 0,05: ns (No significativo)

p-valor: > 0,01 y < 0,05: \* (Significativo)

p-valor: < 0,01 y < 0,05: \*\* (Altamente significativo)

Realizado por: Chasig Luis, 2022

**Tabla 4-3:** Test de Tukey al 0,05 del área bajo la curva para la incidencia de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*.

Hongos	Medias	N	Rangos de significancia
Fr: inmersión	4533,333	7	a
Fr: drench	4457,143	7	a
Fs: drench	4114,286	7	a
Fo: inmersión	3895,238	7	a
Fs: inmersión	3857,1443	7	a
Fo: drench	3666,667	7	a
A: agua	0,000	7	b

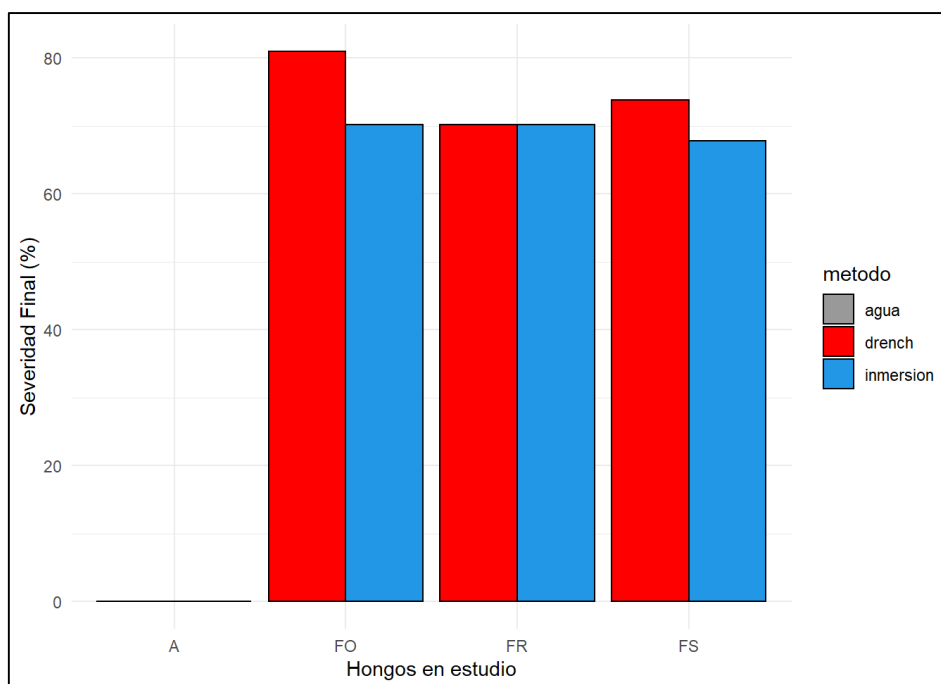
**Realizado por:** Chasig Luis, 2022

### 3.2.3. Severidad final

En el análisis de la severidad final del marchitamiento ocasionado por las diferentes especies de *Fusarium* spp. estudiadas en plantas de mora, se determinó una mayor severidad con la cepa de *F. oxysporum* con el método de drench (**Gráfico 3-3**), mientras que al utilizar el método de inmersión con el hongo *F. solani* obtuvo un porcentaje menor de severidad final y finalmente para *F. redolens* se obtuvo igual porcentaje severidad para ambos métodos **Gráfico 3-3**.

El análisis de varianza se presentó una alta diferencia significativa para los hongos inoculados por el método de drench con un p-valor de  $1,16 \times 10^{-15}$ , de la misma manera para los métodos de inoculación se presentaron una alta diferencia significativa con un p-valor  $7,32 \times 10^{-3}$  **Tabla 5-3**. Lo cual significa que el método de inoculación (drench o inmersión) con las cepas de *Fusarium* spp. influye en la gravedad del daño ocasionado a las plantas de mora.

La prueba de Tukey 5% para los distintos tratamientos presentó tres grupos estadísticos; grupo “a” (*F. o:* drench) siendo el grupo que mayor daño presento cerca de un 80 % pese a que la incidencia fue aproximadamente igual, seguido por el grupo “ab” (*F. s:* drench); grupo “b” (*F. r:* drench; *F. o:* inmersión, *F. s:* inmersión y *F. r:* inmersión); y grupo “c” control (agua), como se indica en la **Tabla 6-3**.



**Gráfico 3-3.** Severidad final de las cepas de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*.

Realizado por: Chasig Luis, 2022

**Tabla 5-3:** Análisis de varianza de severidad final de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens* por método de inmersión y drench

F. V	SC	GL	CM	F	p-valor	Significancia
Hongos	23576	3	7859	543,627	<1.61e-15	***
Método	139	1	139	9,608	0,00732	**
Bloque	4	2	2	0,147	0,86447	
Hongo*Método	86	2	43	2,990	0,08074	
Error	217	15	14			

Nota:

p-valor: > 0,01 y > 0,05: ns (No significativo)

p-valor: > 0,01 y < 0,05: \* (Significativo)

p-valor: < 0,01 y < 0,05: \*\* (Altamente significativo)

Realizado por: Chasig Luis, 2022

**Tabla 6-3:** Test de Tukey al 0,05 del área bajo la curva para la severidad final de las tres cepas de *Fusarium* spp.

Hongos	Medias	N	Rangos de significancia
Fo: drench	80,95238	7	a
Fs: drench	73,80952	7	ab
Fo: inmersión	70,23810	7	b
Fr: drench	70,23810	7	b
Fr: inmersión	70,23810	7	b
Fs: inmersión	67,85714	7	b
A: agua	0,000	7	c

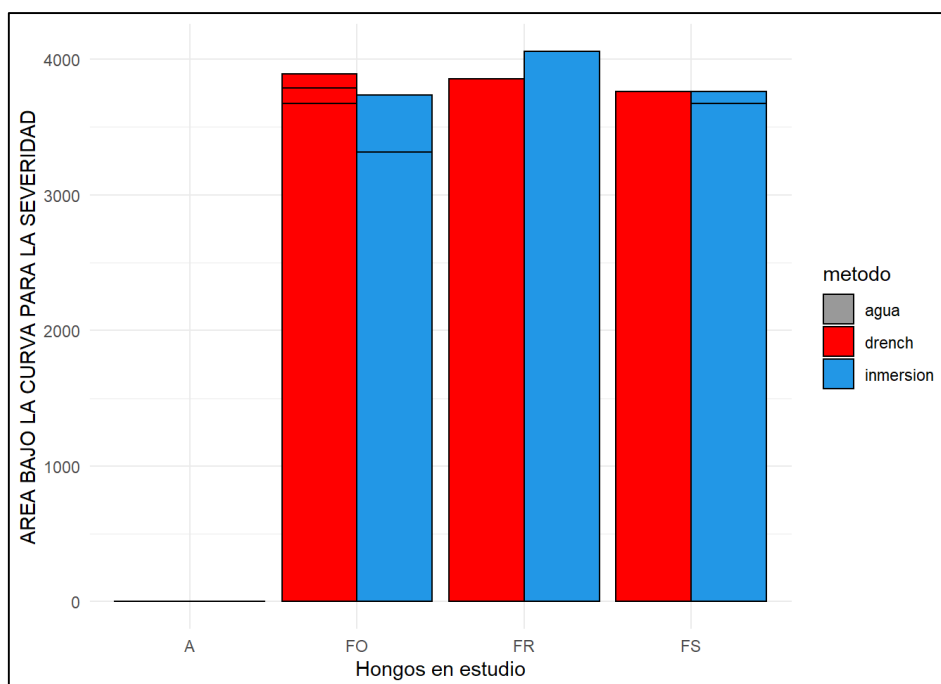
Realizado por: Chasig Luis, 2022

### 3.2.4. Área bajo la curva de la severidad

En el análisis del área bajo la curva para la severidad se observó que por el método de inmersión quien presentó una mayor área bajo la curva fue *F. redolens*. De la misma manera en el caso de *F. oxysporum* por el método de inoculación de drench fue quien presento una mayor área bajo la curva (**Gráfico 4- 3**). Asimismo, se observó que para *F. solani* por los dos métodos mostro una igual en el área bajo la curva.

En el análisis de varianza existió una alta diferencias significativas para el factor hongos inoculados con un p-valor  $1,44 \times 10^{-10}$ , por otro lado, para los métodos de inoculación no existió diferencias significativas con un p-valor  $2,22 \times 10^{-1}$  **Tabla 7-3**.

Por otro lado, la prueba de Tukey 5% para los distintos tratamientos presentó dos grupos estadísticos; grupo “a” (*F. o:* drench, *F. s:* drench, *F. r:* drench, *F. o:* inmersión, *F. s:* inmersión y *F. r:* inmersión) **Tabla 8-3**; en el grupo “b” tratamiento control (agua), como se indica en la **Tabla 8-3**.



**Gráfico 4-3.** Severidad final de las cepas de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*

Realizado por: Chasig Luis, 2022

**Tabla 7-3:** Análisis de varianza de área bajo la curva de la severidad de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*.

F. V	SC	GL	CM	F	p-valor	Significancia
<b>Hongos</b>	33851821	3	11283940	204,683	1.44e-10	***
Método	91327	1	91327	1,657	0,222	
Bloque	78028	2	39014	0,708	0,512	
Hongo * Método	107331	2	5366	0,973	0,406	
Error	661546	12	55129			

Nota:

p-valor: > 0,01 y > 0,05: ns (No significativo)

p-valor: > 0,01 y < 0,05: \* (Significativo)

p-valor: < 0,01 y < 0,05: \*\* (Altamente significativo)

Realizado por: Chasig Luis, 2022



**Tabla 8-3:** Test de Tukey al 0,05 de la incidencia final de las tres cepas de *Fusarium* spp.

Hongos	Medias	N	Rangos de significancia
<i>Fo</i> : drench	100,0000	7	a
<i>Fs</i> : drench	100,0000	7	a
<i>Fr</i> : inmersión	100,0000		a
<i>Fr</i> : drench	100,0000	7	a
<i>Fs</i> : inmersión	95,23810	7	a
<i>Fo</i> : inmersión	90,4762	7	a
A: agua	0,000	7	b

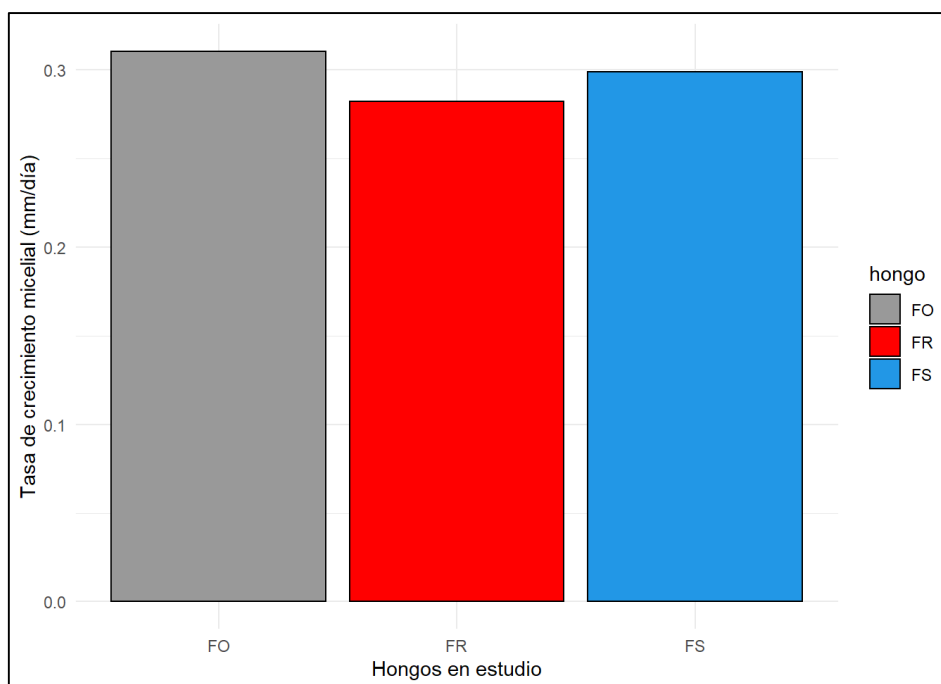
Realizado por: Chasig Luis, 2022

### 3.3. Caracterización cultural y morfológica de los agentes fúngicos obtenidos en el cultivo de mora

#### 3.3.1. Tasa de crecimiento micelial

A partir del tejido necrosado a nivel de la corona de las plantas de mora inoculadas con las tres cepas y previo a un aislamiento puro, se observó diferencias significativas con relación a la tasa de velocidad de crecimiento micelial para *Fusarium oxysporum* aislado con alta velocidad de crecimiento de (3,10 mm/día) presentando una ligera diferencia significativa respecto a *F. solani* donde su velocidad fue menor con (2,97 mm/día) y *F. redolens* de (2,86 mm/día). **ANEXO F** En el análisis de varianza existió diferencia significativa para el factor hongos cultivados con un p-valor  $3,8 \times 10^{-2}$ , **Tabla 9-3**.

Mientras que en la prueba de Tukey 5% para las diferentes cepas presentaron 3 grupos estadísticos; en el grupo **a** tenemos a la cepa *F. oxysporum* con una media de 0,31 mm/día; en el grupo **ab** encontramos a la cepa *F. solani* con una media de 0,29 mm/día y en el grupo **b** la cepa *F. redolens* con una media de 0,28 mm/día **Tabla 10-3**.



**Gráfico 5-3.** Velocidad de crecimiento radial de micelio (mm/día)

Realizado por: Chasig Luis, 2022

**Tabla 9-3:** Análisis de varianza de la tasa de crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*

F. V	SC	GL	CM	F	p-valor	Significancia
<b>Hongos</b>	0,0012041	2	0,0006021	5,926	0,038	*
<b>Error</b>	0,0006	6	0,0001016			

Nota:

p-valor: > 0,01 y > 0,05: ns (No significativo)

p-valor: > 0,01 y < 0,05: \* (Significativo)

p-valor: < 0,01 y < 0,05: \*\* (Altamente significativo)

Realizado por: Chasig Luis, 2022

**Tabla 10-3:** Test de Tukey al 0,05 de la tasa de crecimiento micelial de las tres cepas de *Fusarium*.

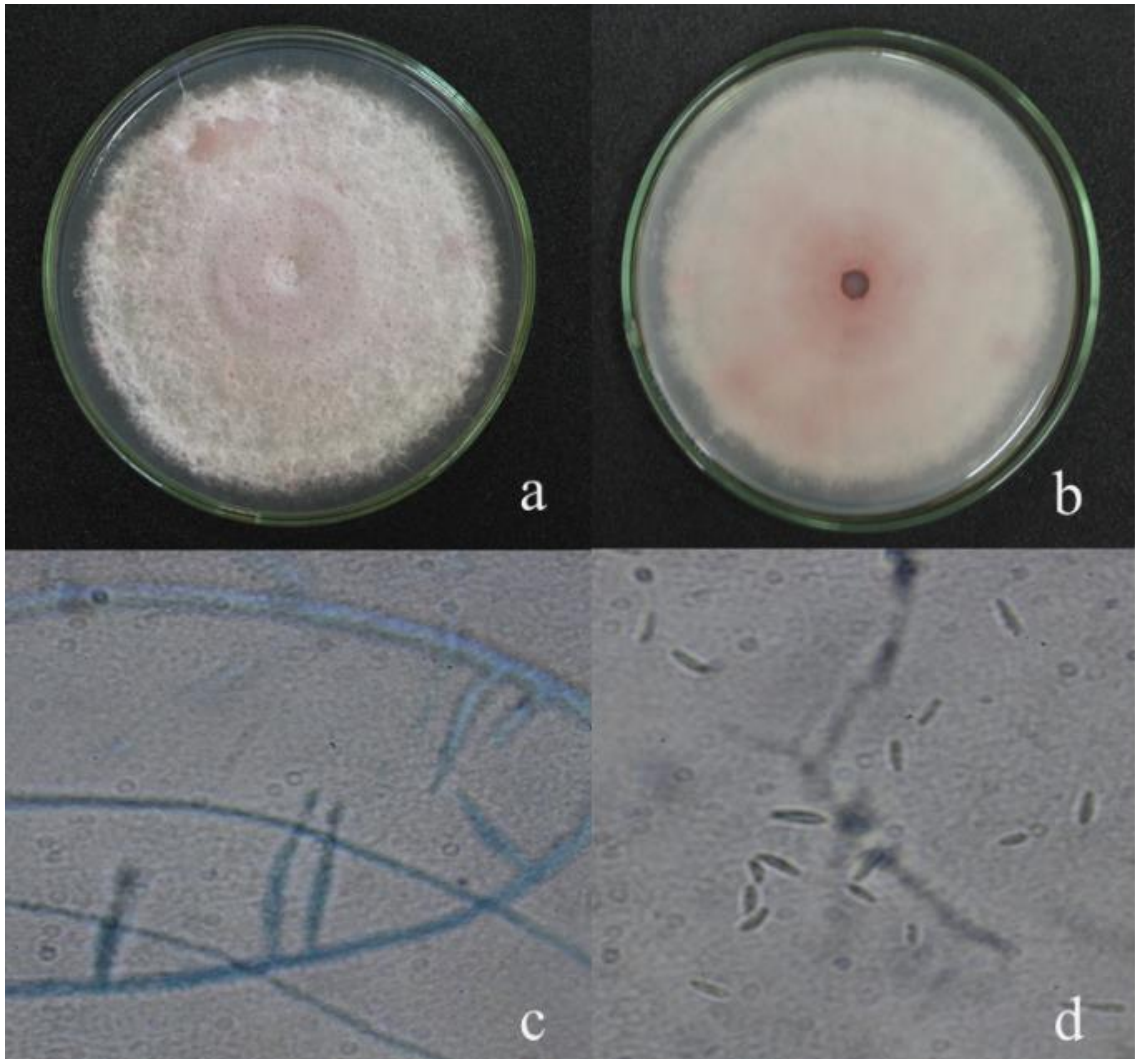
Hongos	Medias	n	Rangos de significancia
Fo	0,31	3	A
Fs	0,29	3	Ab
Fr	0,28	3	B

Realizado por: Chasig Luis, 2022

### 3.3.2. Características culturales y morfológicas

#### 3.3.2.1. *Fusarium oxysporum*

Los aislados obtenidos de *F. oxysporum* cultivadas y crecidas de forma rápida en medio PDA e incubadas a 28°C con una tasa de crecimiento micelial 3,10 mm/día. Mostraron en el reverso de la colonia una coloración de violeta pálido (PANTONE 1905C) y en el anverso fue de color blanco, con un borde en forma crenada, textura algodonosa y no presenta líquido de transpiración. Se observó las características morfológicas de *F. oxysporum* como los conidióforos que presentaron en forma de monofiálides cortos a manera de botella o de bolo, se evidencio macroconidios de una longitud promedio de 36,87 µm de largo x 2,94 µm de ancho en forma de oz. En los microconidios mostraron dimensiones promedio de 7,85 µm de largo x 3,02 de ancho, en forma oval, reniformes y normalmente elipsoides. La célula apical de los macroconidios se mostró en forma de gancho y su célula basal fue en forma de pie. Generalmente en los macroconidios se observó presencia de 3 septos (**Figura 5-3**).



**Figura 5-3.** Características culturales y morfológicas de *F. oxysporum*

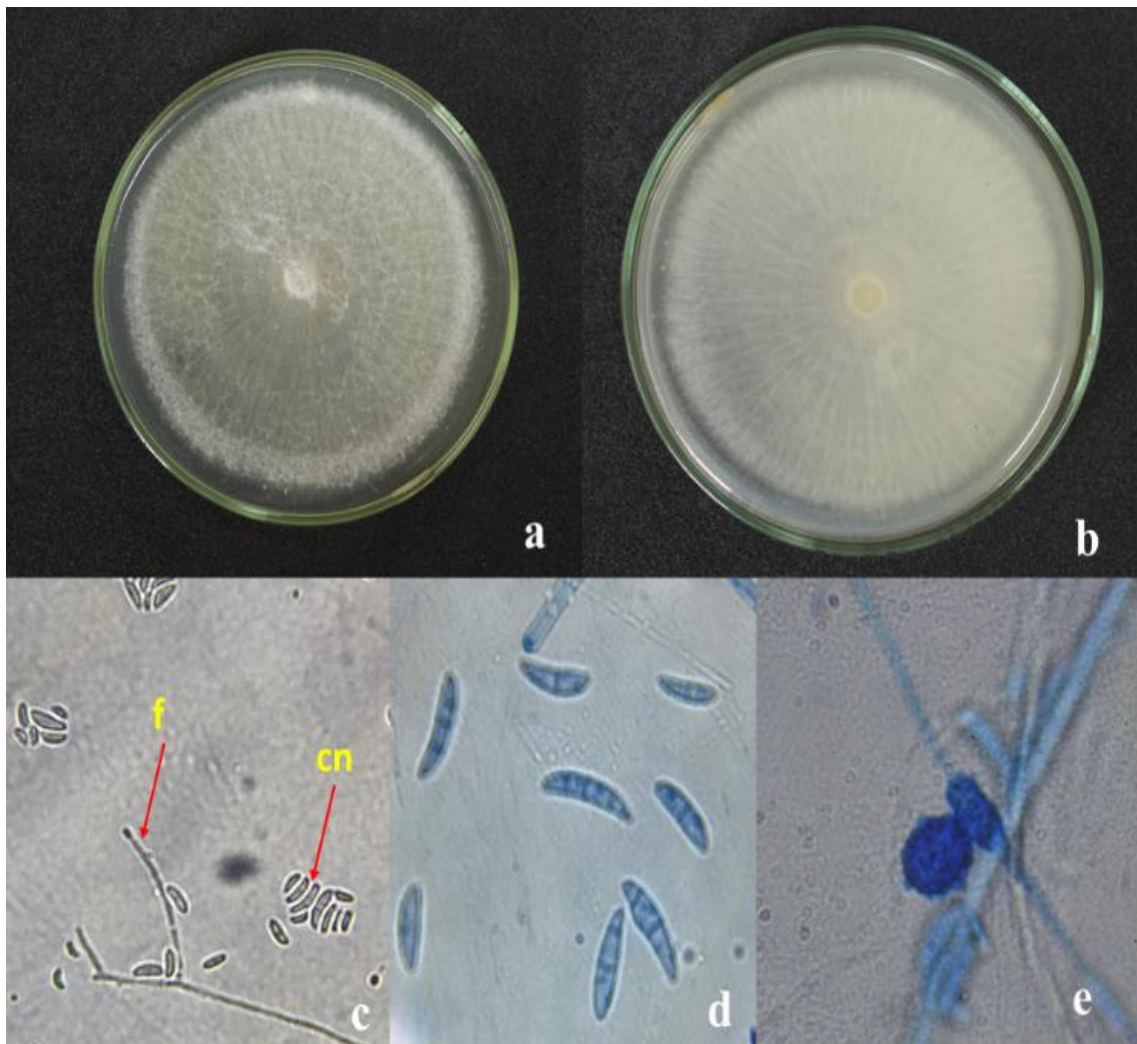
**Realizado por:** Chasig Luis, 2022

### 3.3.2.2. *Fusarium solani*

Los aislados obtenidos de *F. solani* cultivadas y crecidas de forma rápida en medio PDA e incubadas a 28°C con una tasa de crecimiento micelial 2,97 mm/día. Mostraron en el reverso de la colonia una coloración de blanco con crema (PANTONE 100C) y en el anverso fue de color blanco, con un borde en forma crenada, textura algodonosa con ausencia de líquido de transpiración (**Figura 6-3 a, b**).

Se observó las características morfológicas de *F. solani*, donde formaron macroconidios de dimensiones promedio de 35,84 µm de largo x 4,37 µm de ancho curvados levemente con 4 septos bien definidos (**Figura 6-3 c, d, e**). Los microconidios presentaron dimensiones de 8,47 µm de largo x 3,02 µm de ancho en forma reniforme. Se observaron conidióforos en forma de

monofiálides a largados y conidióforos agrupados longitudinalmente (**Figura 6-3 f, cn, c**). Clamidosporas acopladas con paredes verrugosas de forma globosa (**Figura 6-3 e**).



**Figura 6-3.** Características culturales y morfológicas de *F. solani*

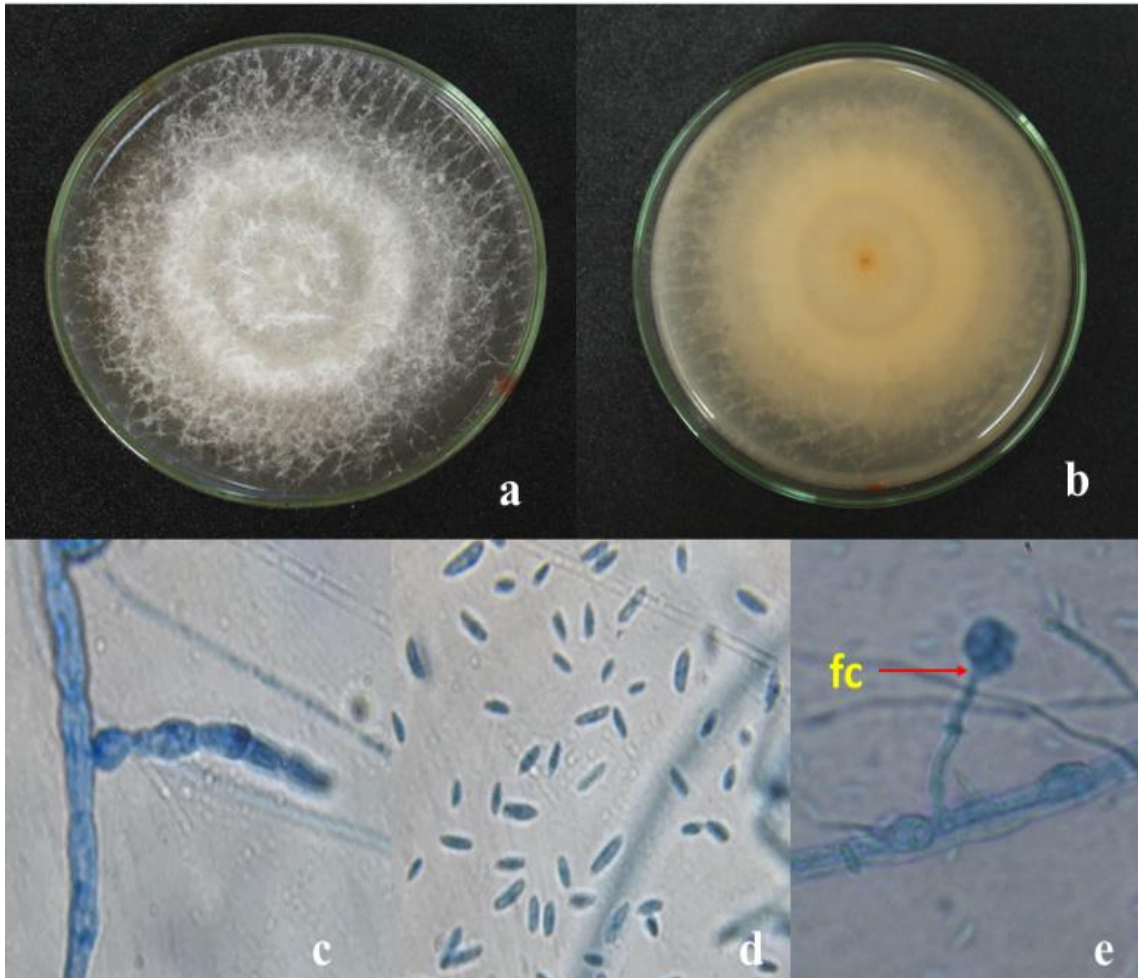
Realizado por: Chasig Luis, 2022

### 3.3.2.3. *Fusarium redolens*

Los aislados obtenidos de *F. redolens* cultivadas y crecidas de forma rápida en medio PDA e incubadas a 28°C con una tasa de crecimiento micelial 2,86 mm/día. Mostraron en el reverso de la colonia una coloración de blanco con crema (PANTONE 1205C) y en el anverso fue de color crema (PANTONE 1205C), con un borde en forma crenada, textura algodonosa con ausencia de líquido de transpiración (**Figura 7-3 a, b**).

Las características morfológicas observadas en los aislados de *F. redolens*, formaron monofiálides cortos (**Figura 7-3 c**), microconidios con ausencia de septos en algunos casos y presencia de uno

o dos septos en otros, macroconidios de una longitud promedio de 35,66  $\mu\text{m}$  de largo x 3,67  $\mu\text{m}$  de ancho en forma de bote con presencia de 3 septos en algunos casos (**Figura 7-3 d**). Presencia de falsas cabezas con microconidios con ausencia de septos (**Figura 7-3 d**).



**Figura 7-3.** Características culturales y morfológicas de *F. redolens* cultivados en SNA y CLA  
Realizado por: Chasig Luis, 2022

### 3.3.3. Evaluación de la patogenicidad de los aislados fúngicos inoculados

#### 3.3.3.1. Evaluación de la patogenicidad de *F. oxysporum*, *F. redolens* y *F. solani*

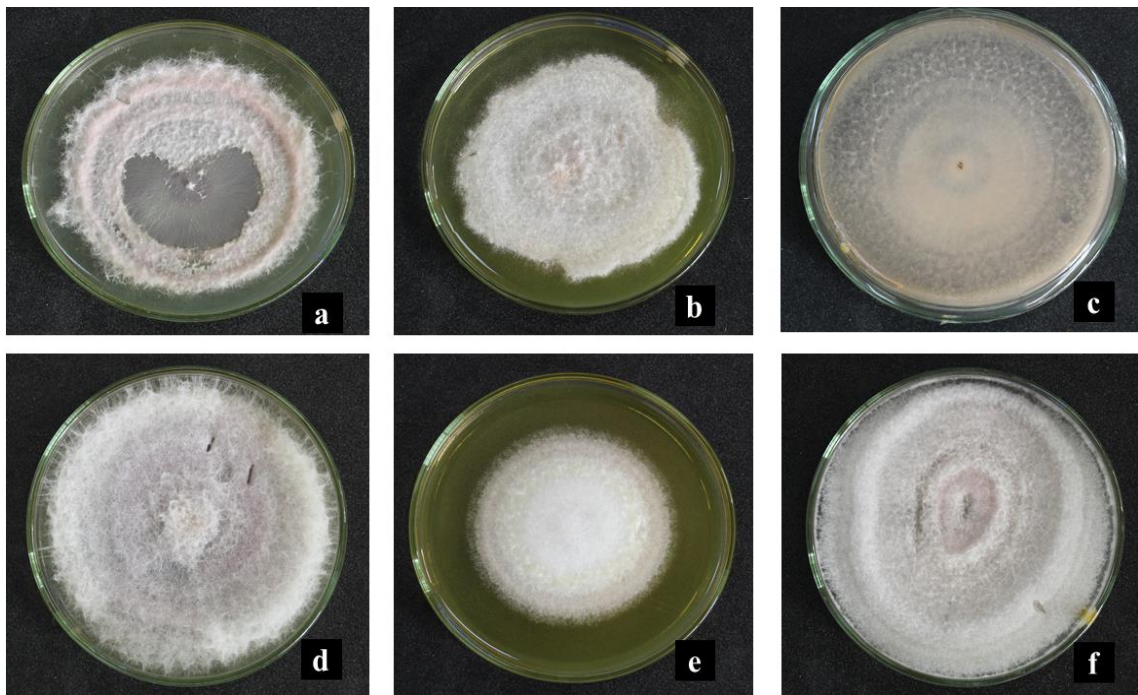
Las plantas sanas de mora de 6 meses de edad inoculadas con *F. oxysporum*, *F. redolens* y *F. solani* presentaron síntomas similares asociados al marchitamiento. Los síntomas iniciales que se observó fue un amarillamiento del área foliar, empezando desde las hojas bajas, se observó una necrosis en los ápices de las hojas extendiéndose por todo el margen, la necrosis se presentó principalmente en las hojas bajas posteriormente fue avanzando hasta la muerte de la hoja y de la planta. En la corona se observó ligeras manchas color marrón en el tejido vascular.



### 3.3.3.2. Reaislamiento de especies fúngicas inoculadas

En el estudio realizado por Guerrero (2021, p. 21) se aislaron las cepas de *Fusarium* spp. que estuvieron asociados con el marchitamiento foliar de las plantas de mora. Se realizaron las inoculaciones y se observaron síntomas similares a las mencionadas por Guerrero.

En el presente estudio partieron de las tres cepas obtenidas por Guerrero (2021, p. 38) (*F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*) **Figura 8-3**, se inocularon en plantas sanas de mora cultivar castilla de donde se reaislaron siguiendo el protocolo de desinfección mencionadas por Alfenas y Mafia (2016, p. 71) para el aislamiento de hongos filamentosos asociados al sistema radicular en plantas de mora previamente establecidas en campo. Las características culturales y morfológicas de los reaislados obtenidos correspondieron a los mismos aislado que fueron inoculados originalmente por Guerrero (2021, p. 45) de *F. oxysporum*, *F. redolens* y *F. solani*, donde se identificaron estructuras similares en ambos casos, recabando el cumplimiento con los postulados de Koch.



**Figura 8-3.** Cepas inoculadas de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens* (a, b, c). Cepas reaisladas de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens* (d, e, f).

Realizado por: Chasig Luis, 2022

## Discusión

En Ecuador la mora es un cultivo de importancia trascendental que se desarrolla en zonas subtropicales y frías que va desde los 2200 msnm a 3200 msnm, sin embargo, algunas patologías asociadas al marchitamiento afectan la producción. Pastrana et al. (2017, p. 2068) y Guerrero (2021, p. 71) han reportado como agente asociado a esas enfermedades a *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*, como agentes patogénicos. Sin embargo, Guerrero en la zona de San Luis y San Isidro en el cantón Riobamba observó la sintomatología asociada con el marchitamiento y aisló *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens* posteriormente inóculo e identifico que estos hongos están asociados a esta sintomatología.

En el presente estudio partiendo de los aislados obtenidos por Guerrero (2021, p. 85) se realizaron inoculaciones en plantas sanas de mora, probando también diferentes métodos de inoculación para verificar si el método de inoculación por inmersión más daño a la raíz o drench al sustrato, tuvieron mayor incidencia en el nivel de avance de la enfermedad.

Enfermedad causada por el hongo *Fusarium* con los tres tipos de cepas que se utilizaron en la investigación, al realizar el análisis de incidencia final se identificaron rangos semejantes según el Test de Tukey a un grado de significancia del 5%, debido a que la marchitez puede causar pérdidas del 50 a 100% en la producción de plántulas y 50% en la producción de la fruta. Desafortunadamente no existen medidas de control para el manejo integrado, por lo que, en los últimos años esta enfermedad se ha extendido por todas las zonas productoras de la mora (Acuña, 2019, p. 6).

Esto se dio debido a que algunas especies del género *Fusarium* son habitantes del suelo y se reconocen por su impacto económico negativo en la agricultura mundial, ya que son agentes causales del marchitamiento vascular y pudrición basal de una gran variedad de plantas (CIAT, 2019, p. 155). Uno de los puntos más importantes que se identificaron en la investigación fue la acción de *F. oxysporum*, en los cultivos de mora debido a que cumple dos fases importantes: una saprofítica muy activa durante la que puede vivir en el suelo y en los residuos vegetales por espacio de 20 años y puede inhabilitar el uso del suelo para nuevas cosechas; y, una fase parasítica patógena de plantas, este hongo es, sin duda, una de las especies económicamente más importantes de todo el género *Fusarium*. Dadas sus características como saprófito o patógeno especializado, este hongo puede asociarse con otros microorganismos y formar un sinergismo, por lo cual la determinación de patogenicidad es fundamental en la identificación de estos microorganismos.



La patogenicidad es la capacidad relativa que tiene un microorganismo fitopatógeno para producir una enfermedad (Iza, 2018, p. 13). Por tanto, al determinar el área bajo la curva para la incidencia final se obtuvieron resultados semejantes con las cepas de *Fusarium* con los métodos de inmersión y drench, debido a que al realizar la prueba de Tukey al 5% no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y no existen estudios previos que los comprueben, por lo tanto hay que seguir la metodología de los postulados de Koch para verificar o no la hipótesis que el o los microorganismos son la causa para que se produzca la enfermedad, como lo referencia Rodríguez (2018, p. 24).

Una parte importante en la incidencia final de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens* más los métodos drench, inmersión y agua, fue reconocer una relación muy estrechamente entre la enfermedad con el microorganismo fitopatógeno, es decir el fitopatógeno debe estar asociado con la enfermedad en todas las plantas enfermas que se examinen (Baraona y Sancho, 1998, p. 19). Además, que se debe aislar y obtener un cultivo axénico del microorganismo en estudio y anotar sus características (morfológicas, culturales, bioquímicas entre otras) (Olalde, 2016, p. 301). Así, mismo se estableció que los microorganismos de estudio y desarrollado en cultivo axénico debe ser inoculados en plantas sanas de la misma especie de donde se aisló. Las plantas inoculadas deben reproducir los mismos síntomas de la enfermedad (Galora, 2016, p. 45). Por último, se determinó que el microorganismo fitopatógeno debe ser reaislado otra vez en cultivos axénicos y sus características deberán ser exactamente igual (Acuña, 2019, p. 11).

El marchitamiento de la mora es una de las enfermedades más importantes de este cultivo, se ha asociado más frecuentemente con *F. oxysporum* y en menor frecuencia con *F. solani*. Estas mismas especies fueron aisladas del cultivo de mora, aunque no se completaron los postulados de Koch, en la severidad final como se identificó en el análisis anterior. En el trabajo se confirmó la patogenicidad de las tres especies de *Fusarium* y se evidenciaron diferencias en la prevalencia de estas especies (Sánchez, 2015, p. 36).

Los síntomas presentados por las plántulas de mora desarrollados en el *in vivo* de inductividad en el sustrato correspondieron a los descritos por otros investigadores (Rosas, 2015, p. 42). Los resultados obtenidos de las plantas se identificaron como *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens* en el análisis del área bajo la curva para la severidad final se identificó que el progreso de la enfermedad fue típico de los inducidos por patógenos cuyo inóculo presente en el suelo genera un solo ciclo de infección (monomolecular). De confirmarse este comportamiento en condiciones de campo, el éxito de control podría depender principalmente de la capacidad para suprimir el inóculo primario o inicial; sin embargo, esto podría no ocurrir por el carácter perenne del cultivo

y ciclos sucesivos de crecimiento de raíz. *F. oxysporum* por el método de drench fue la especie prevalente en la investigación.

En los resultados obtenidos se comprobó que la enfermedad de la marchitez se encuentra asociada a *Fusarium* spp, de los cuales se identificó a *F. oxysporum*. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Andrade et al. (2021, p. 314), quienes concluyeron que el género *Fusarium* está asociado con la marchitez y pudrición de la raíz y base del tallo en plantas de *Capsicum*, debido a que el fitopatógeno *F. oxysporum* en el medio de cultivo presentó diversidad de pigmentación tal y como afirman las claves Arellano (2018, p. 25) y el manual de laboratorio de CIAT (2019, p. 164), quienes describen que *F. oxysporum* y *F. solani* producen pigmentación violeta en el medio de cultivo. Además, estos resultados también coinciden con Villanueva et al. (2013, p. 700) que, en medios de cultivos sintéticos, especies como *F. oxysporum* y *F. solani*, mientras que *F. redolens* da una pigmentación pueden presentar pigmentación blanquecina, amarillenta y esta pigmentación se relaciona con la difusión en el medio de cultivo a partir del micelio y puede variar en el desarrollo del hongo.

Basados en las características culturales y morfológicas de la cepa de *F. oxysporum*, fueron similares a las expuestas por Arellano (2018, p. 26), donde mencionan que las colonias de *Fusarium oxysporum* son compactas con un color violeta pálido por el reverso de la caja y por el anverso un color blanco cremoso, con una textura algodonosa, además las dimensiones promedio de las macroconidios son de 7,89 µm de largo x 2,87 de ancho. Los macroconidios con 3 septos y su célula basal en forma de pie a diferencia de su célula apical en forma de gancho, así mismo, se identificó que las esporas del hongo son fácilmente reconocibles al microscopio por su forma de medialuna o de canoa.

Las características culturales y morfológicas observadas en los aislados de *F. solani* fueron similares a mencionados por Berruezo (2018, p. 138).

Las características culturales y morfológicas de *Fusarium redolens* observadas y descritas fueron similares a las características citadas por Mejía (2015, p. 56). Además, que se determinó que este tipo de hongo entra a la planta a través de las raíces y coloniza el sistema vascular del xilema bloqueando el flujo de agua y nutrientes. La progresión de la enfermedad resulta en el colapso de las hojas en el pecíolo, la rajadura de la base del pseudotronco y, eventualmente, la muerte de la planta (Barragán, 2018, p. 19).

La tasa de crecimiento micelial guardar relación con los resultados obtenidos por Arellano (2018, p. 27), que aislamientos de *F. oxysporum* procedentes de plantas del género *Rubus* presentan rápido

crecimiento, los cuales en medio puede presentar velocidades de crecimiento de entre 12.83 - 12.33 mm/día. Esto se podría relacionar que los aislados del fitopatógeno al presentar una alta velocidad de crecimiento permiten una mayor y eficaz colonización de los suelos llegando a producirse pérdidas de hasta de todas las plantaciones cultivadas como manifiesta Guerrero (2021, p. 79) en las zonas de muestreo.

En conclusión, se logró el aislamiento y la identificación morfológica de los aislados de *Fusarium* spp. a partir de cultivos de mora, representando la más alta incidencia *Fusarium redolens* por los dos métodos, los cuales están relacionados con la marchitamiento y muerte de estos cultivos, lo que conlleva a grandes pérdidas económicas.

## CONCLUSIONES

- En la presente investigación se evaluó la patogenicidad de tres aislados de *Fusarium* asociados con el sistema radical del cultivo mora en invernadero, en el cual se determinó que las plantas de mora inoculadas con las cepas patógenas, por el método drench presentaron síntomas externos asociados a manchas necróticas en la parte apical de la hoja, tomando una coloración café oscuro y marchitamiento de la parte foliar.
- Se identificó que las especies de *Fusarium* fueron patógenas en las plantas sanas inoculadas, siendo el más agresivo *Fusarium oxysporum* seguido por *Fusarium solani* y finalmente *Fusarium redolens*
- Se identificaron las características culturales y morfológicas de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium redolens* y *Fusarium solani* de los aislados fúngicos asociados al marchitamiento de la corona en las plantas de mora.
- Los tres aislados de *Fusarium* spp. inoculados en las plantas de mora fueron patogénicos causando sintomatología externa (necrosis en la parte apical de las hojas jóvenes, marchitamiento y secado foliar) y sintomatología interna pudrición leve a la corona y tallo principal).

## RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de evaluación de medidas de manejo cultural, biológico, químico, para *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Fusarium redolens*, principales agentes patógenos asociado al marchitamiento de la corona de mora.
- Realizar estudios en otras zonas productoras de mora a nivel nacional para determinar la agresividad y patogenicidad de patógenos asociados al marchitamiento de la corona de mora.
- Realizar estudios de manejo de la enfermedad mediante pruebas de antagonismo *in vitro* y en campo contra las especies de *Fusarium* spp y pruebas de sensibilidad con productos fungicidas con diferentes modos de acción.
- Por último, se recomienda estudiar la interacción *Fusarium* con plantas de mora mediante el uso de herramientas moleculares con el fin de determinar posibles efectores involucrados en la patogénesis y a su vez, genes involucrados en los mecanismos de defensa de la planta.

## **GLOSARIO**

**Aislado:** Cepa de un organismo que es mantenido en cultivo puro, ya sea activo o preservado, bajo condiciones de laboratorio (Ulloa y Hanlin, 2006, p. 14).

**Caracterización:** Es un tipo de descripción cualitativa que puede recurrir datos o a lo cuantitativo con el fin de profundizar el conocimiento sobre algo. Para cualificar ese algo previamente se deben identificar y organizar los datos; y a partir de ellos, describir (caracterizar) de una forma estructurada; y posteriormente, establecer su significado (sistematizar de forma crítica) (Ulloa y Hanlin, 2006, p. 14).

**Clamidospora:** Espora asexual de pared gruesa que se forma por la modificación de una célula de las hifas de un hongo (Peña y Páez, 2011, p. 2).

**Conidio:** Es una espora fúngica asexual con núcleo, de forma fija que se desarrolla externamente o se libera de la célula que la forma (Peña y Páez, 2011, p. 2).

**Conidióforo:** hifa simple o ramificada, que esta morfológicamente y/o fisiológicamente diferenciada de una hifa somática para producir y porta conidios; estos generalmente se encuentran sobre células conidiógenas especializadas, las cuales se pueden disponer de diversas maneras (Ulloa y Hanlin, 2006, p. 14).

**Esporangiospora:** espora producida en un esporangio en cualquiera de sus modalidades; pueden ser inmóviles (aplanosporas o flageladas y móviles (zoosporas) (Ulloa y Hanlin, 2006, p. 206).

**Espora:** Pequeña unidad de propagación unicelular o multicelular, asexual o sexual, móvil o inmóvil, que es capaz de originar un nuevo individuo (Cortes, 2019, párr. 1).

**Hifa:** filamento tubular que representa la unidad estructural (talo) de la mayoría de los hongos (Ulloa y Hanlin, 2006, p. 236).

**Inoculación:** Acto o proceso de inocular, especialmente es la introducción de un patógeno en un organismo vivo (Cortes, 2019, párr. 1).

**Infectar:** proceso por el cual un organismo entra, invade y establece una relación de patogenicidad con un organismo hospedante (Ulloa y Hanlin, 2006, p. 154).

**Inoculo:** Material fúngico que es transferido (micelio, esporas) que es transferido a un organismo un sustrato o un micelio de cultivo con el fin de propagarlo (Ulloa y Hanlin, 2006, p. 342).

**Fiálides:** Tipo de célula conidiógena, de forma de botella que produce conidios blásticos (fialoconidios o fialosporas) en sucesión basípeta a partir de un locus (monofiálide; con una abertura) o varios loci (polifialide) sin que haya aumentado de la longitud de la fiálide misma (Peña y Páez, 2011, p. 76).

**Medio:** Sustrato nutritivo líquido o solido que se utiliza para el cultivo artificial de hongos y otros microorganismos (Peña y Páez, 2011, p. 24).

**Necrosis:** Muerte parcial o total de células o tejidos (Ulloa y Hanlin, 2006, p. 45).

**Radical:** órgano encargado de satisfacer diferentes requerimientos como su anclaje en el sustrato, la adquisición y el transporte de los recursos del suelo (agua y nutrientes esenciales), y el almacenamiento de los mismo (Ulloa y Hanlin, 2006, p. 14).

**Síntoma:** reacciones o alteraciones internas o externas que sufre una planta como resultado de su enfermedad (Peña y Páez, 2011, p. 86).

## BIBLIOGRAFÍA

**ACUÑA, O.** Determinación del rango de hospedante de especies patogénicas asociadas al género *Fusarium* en cinco cultivos agrícolas (Tesis) (Ingeniería). [en línea] Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, Facultad de Ciencia Agrarias, Escuela Profesional de Agronomía. Tarapoto-Perú. 2019. pp. 6-11. [Consulta: 03 mayo 2022]. Disponible en: <https://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/3319/AGRONOMIA%20-%20Oscar%20Acu%20c3%20b1a%20Tananta.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**ALFENAS, A.; & MAFIAS, R.** *Métodos em fitopatologia. Viciosa*. 2da ed. Sao Paulo-Brasil: UFV, 2016. ISBN: 978-85-7269-559-6. pp. 56-71.

**ANDRADE, P.; et al.** “Control *in vitro* de *Fusarium* sp. asociado al cultivo de cebolla mediante *Trichoderma harzianum*”. Revista Mexicana de FITOPATOLOGÍA [en línea], 2021, (México) 39(2), pp. 314-328. [Consulta: 05 mayo 2022]. ISSN: 0185-3309. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v39n2/2007-8080-rmfi-39-02-314.pdf>.

**AQUELINA, B.** Análisis Temporal de la Marchitez de la Taya (*Caesalpinia spinosa* L.) (Trabajo de titulación) (Ingeniería). [en línea] Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma. Chachapoyas-Perú. 2021. p. 19. [Consulta: 22 febrero 2022]. Disponible en: <https://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14077/2384/Canlla%20Pilco%20Maria%20Aquelina%20%28c%29.pdf?sequence=5&isAllowed=y>.

**ARELLANO, M.** Detección de *Fusarium oxysporum* en cultivos de uvilla (*Physalis peruviana* L.) en la Sierra norte y centro del Ecuador (Disertación) (Doctorado). [en línea] Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Biológicas. Quito-Ecuador. 2018. pp. 25-27. [Consulta: 06 mayo 2022]. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/14683/Detecci%20de%20Fusarium%20oxysporum%20en%20cultivos%20de%20uvilla%20%28Physalis%20peruviana%20L.%29%20en%20la%20Sierra%20norte%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**BARAONA, M.; & SANCHO, E.** *Manzana, Melocotón, Fresa Y Mora. Fruticultura*. San José-Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia, 1998. ISBN: 978-9977-64-638-1. pp. 15-19.



**BARRAGÁN, C.** Aspectos epidemiológicos de la pudrición radical rosada e identificación de *Fusarium* spp. en bulbo de cebolla, cultivada en el estado de Morelos (Tesis) (Maestría). [en línea] Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Morelos-México. 2018. p. 19. [Consulta: 05 mayo 2022]. Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/26545/Tesis%20C%3%a9sar%20Jovanny%20Barrag%c3%a1n%20Sol.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**BARRERA, V.; et al.** *Tipificación de los productores de mora de Ecuador para optimizar sus estrategias de medios de vida* [en línea]. Quito-Ecuador: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), 2017. pp. 9-15. [Consulta: 02 febrero 2022]. Disponible en: <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4660/1/iniapscCD199.pdf>.

**BERRUEZO, L.** Caracterización morfológica, biológica y molecular de los complejos *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani* asociados al cultivo de *Nicotiana tabacum* L. en el Noroeste Argentino (Tesis) (Doctorado). [en línea] Universidad Nacional de Salta, Facultad de Ciencias Naturales. Salta-Argentina. 2018. p. 138. [Consulta: 06 mayo 2022]. Disponible en: [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/80238/CONICET\\_Digital\\_Nro.5acbfa37-c88e-4e7a-9123-5487fde6795d\\_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/80238/CONICET_Digital_Nro.5acbfa37-c88e-4e7a-9123-5487fde6795d_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y).

**CIAT.** *Informe final técnico proyecto “Productores de lulo y mora competitivos mediante selección participativa de clones élite, manejo integrado del cultivo y fortalecimiento de cadenas de valor FONTAGRO Mora Lulo”* [en línea]. Palmira-Ecuador: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), 2019. pp. 155-164. [Consulta: 03 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.fontagro.org/new/uploads/adjuntos/616-06-InformeTecnicoFinal.pdf>.

**CIFUENTES, D.** *Prácticas de patología vegetal, identificación de especies de fusarium* [en línea]. Murcia-España: EDITUM Editores, 1990. p. 26. [Consulta: 02 marzo 2022]. ISBN: 978-84-7684-981-1. Disponible en: [https://books.google.com.uy/books?id=obwClj2YB\\_wC&pg=PP9&hl=es&source=gbs\\_selected\\_pages&cad=2#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.uy/books?id=obwClj2YB_wC&pg=PP9&hl=es&source=gbs_selected_pages&cad=2#v=onepage&q&f=false).

**CORTES, F.** *Diccionario médico-biológico, histórico y etimológico* [en línea]. Salamanca-España: Universidad de Salamanca, 2019. [Consulta: 29 marzo 2022]. ISBN: 8478005722. Disponible en: <https://dicciomed.usal.es/palabra/>.

**DUARTE, Y.; et al.** “Identificación y caracterización de aislamientos de *Fusarium* spp. presentes en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en Cuba”. *Revista de Protección Vegetal* [en línea], 2016,

(Cuba) 31(3), pp. 173-183. [Consulta: 17 febrero 2022]. ISSN: 1010-2752. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v31n3/rpv04316.pdf>.

**FORERO, C.; et al.** “Evaluación de la capacidad patogénica de *Fusarium* spp. en modelos vegetal y murino.” Revista argentina de microbiología [en línea], 2017, (Argentina) 50(1), pp. 90-96. [Consulta: 10 marzo 2022]. ISSN: 1851-7617. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v50n1/v50n1a14.pdf>.

**GALORA, O.** Control orgánico de *Fusarium* (*Fusarium oxysporium*) en arveja (*Pisum sativum*) en la provincia del Tungurahua cantón Píllaro parroquia presidente Urbina (Trabajo de investigación) (Ingeniería). [en línea] Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ingeniería Agronómica. Cevallos-Ecuador. 2016. p. 45. [Consulta: 04 mayo 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/22825/1/Tesis-131%20%20Ingenier%c3%ada%20Agron%c3%b3mica%20-CD%20401.pdf>.

**GUERRERO, A.** Evaluación de la patogenicidad de tres aislados de (*Fusarium* Spp) asociados al sistema radicular en mora (*Rubus glaucus* Benth), en invernadero (Trabajo de titulación) (Ingeniería). [en línea] Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Recursos Naturales, Carrera de Ingeniería Agronómica. Riobamba-Ecuador. 2021. pp. 9-85. [Consulta: 10 abril 2022]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/15654/1/13T00936.pdf>.

**IICA.** *Frutales de clima templado* [en línea]. Turrialba-Costa Rica: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA), 1966. p. 16. [Consulta: 03 marzo 2022]. Disponible en: [https://books.google.co.ve/books?id=SN4OAQAIAAJ&pg=PA16&hl=es&source=gbs\\_toc\\_r&cad=3#v=onepage&q&f=false](https://books.google.co.ve/books?id=SN4OAQAIAAJ&pg=PA16&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=3#v=onepage&q&f=false).

**INIAP.** La cadena de valor de la mora y sus impactos en la región andina del Ecuador [en línea]. Quito-Ecuador: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), 2016. pp. 31-32. [Consulta: 12 marzo 2022]. Disponible en: <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4700/1/iniapsbt171.pdf>.

**IZA, M.** Diferenciación morfológica de seis cultivos de mora (*Rubus glaucus* Benth) en el valle de Tumbaco (Trabajo de titulación) (Ingeniería). [en línea] Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas, Carrera de Ingeniería Agronómica. Quito-Ecuador. 2018. pp. 3-13. [Consulta: 24 marzo 2022]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15161/1/T-UCE-0004-A80-2018.pdf>.

**LEIVA, L.** *Manejo fitosanitario del cultivo de mora* [en línea]. 2da ed. Bogotá-Colombia: Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), 2012. pp. 13-23. [Consulta: 27 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/getattachment/b7e061eb-ebd3-4f80-9518-c771712405eb/-nbsp3bmanejo-fitosanitario-delcultivo-de-la-mora.aspx>.

**LINARES, M.** *Fusarium spp.: Un modelo para el análisis de patógeno Multihospedero*. Bogotá (Trabajo de titulación) (Ingeniería). [en línea] Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Bogotá-Colombia. 2010. pp. 12-24. [Consulta: 26 marzo 2022]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/4712/tesis574.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**MEJÍA, E.** Aislamiento e identificación de *Fusarium spp.* en cebolla y de bacterias antagónicas para su control (Tesis) (Maestría). [en línea] Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Morelos-México. 2015. p. 56. [Consulta: 05 mayo 2022]. Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/16469/Tesis%20Mej%c3%ada%20Ram%c3%adrez%20Eduardo.pdf?sequence=3&isAllowed=y>.

**MORILLO, D.** Respuesta del cultivo de moras (*Rubus glaucus*) a la aplicación de dos tipos de bioles de frutas en dos dosis. Tumbaco, Pichincha (Trabajo de titulación) (Ingeniería). [En línea] Escuela Politécnica del Ejército, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Quito-Ecuador. 2011. pp. 4-16. [Consulta: 27 marzo 2022]. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/4856/T-ESPE-IASA%20I-004574.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**OLALDE, G.; et al.** “Caracterización de *Fusarium spp.*, fitopatógeno de aguacate (*Persea americana* Miller var. *drymifolia* (Schltdl. y Cham.)) en Michoacán, México”. Rev. FCA UNCUY [en línea], 2020, (México) 52(2), pp. 301-3016. [Consulta: 04 mayo 2022]. ISSN: 1853-8665. Disponible en: <https://revistas.uncu.edu.ar/ojs3/index.php/RFCA/article/view/3875/2808>.

**PASTRANA, A.; et al.** “*Fusarium oxysporum* f.sp. *mori*, a New Forma Specialis causing *Fusarium* Wilt of Blackberry”. APS Publications [en línea], 2017, (México) 101(2), pp. 2066-2072. [Consulta: 15 enero 2022]. ISSN: 0191-2917. Disponible en: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/epdf/10.1094/PDIS-03-17-0428-RE>.

**PEÑA, R.; & PÁEZ, J.** *Glosario General de fitopatología* [en línea]. Sunja-Colombia: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, 2011. pp. 2-86. [Consulta: 04 abril 2022]. Disponible en: <https://virtual.uptc.edu.co/ova/fito/archivo/glosario.pdf>.

**RODRÍGUEZ, E.** Caracterización de aislamientos de *Fusarium* spp. obtenidos de zonas productoras de uchuva (*Physalis peruviana*) en Cundinamarca y Boyacá (Tesis) (Maestría). [en línea] Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Escuela de Posgrado. Bogotá-Colombia. 2013. p. 24. [Consulta: 03 mayo 2022]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/50425/07790760.2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**ROSAS, J.** Integración de extractos fitotóxicos en la estrategia de manejo y control de *Fusarium oxysporum* en tomate (*Lycopersicon esculentum* P. Mill) en invernadero (Tesis) (Ingeniería). [en línea] Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias, Carrera de Ingeniería en Horticultura y Fruticultura. Quevedo-Ecuador. 2015. p. 42. [Consulta: 04 mayo 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/1282/1/T-UTEQ-0005.pdf>.

**SÁNCHEZ, D.** Biocontrol de *Fusarium oxysporum* f.sp. cepae, patógeno de suelo en cebolla con aislamientos nativos de *Trichoderma* de la región Patagonia Norte (Tesis) (Maestría). [en línea] Universidad Nacional del Comahue, Facultad de Ciencias Agrarias. Neuquén-Argentina. 2015. p. 36. [Consulta: 04 mayo 2022]. Disponible en: <http://rdi.uncoma.edu.ar/bitstream/handle/uncomaid/6786/TESIS%20FINAL.pdf?sequence=4&isAllowed=y>.

**ULLOA, M.; & HANLIN, R.** *Nuevo diccionario ilustrado de micología*. Minnesota-U.S.A.: The American Phytopathological Society, 2006. ISBN: 978-0-890054-3412. pp. 14-342.

**VILLANUEVA, R.** “Control de bacterias patógenas y hongos de postcosecha con extractos del pigmento de *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*)”. *Agrociencia* [en línea], 2013, (México) 47(1), pp. 691-705. [Consulta: 04 mayo 2022]. ISSN: 1405-3195. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v47n7/v47n7a6.pdf>.

  
DBRA  
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo



## ANEXOS

### ANEXO A: PROCESO DE OBTENCIÓN DEL CALDO FÚNGICO DE LAS TRES CEPAS



Se preparo medio V8



Se coloco 4 discos de micelio por cada cepas en medio liquido



se incubo a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1$  durante 168 h.



Se obtuvo la concentración deseada del caldo fúngico



Se filtro las esperas y micelio



Se observo el aparecimiento de un alo blancuecino alrededor de la boca del Erlenmeyer

## ANEXO B: ADQUISICIÓN Y MANEJO DE LAS PLANTAS EN EL INVERNADERO



Adquisición de las de las plantas de mora cultivar castilla



Instalación y etiquetado de las plantas en campo



Esterilización del agua para riego y fertilización



Instalación de Datalogger HOBO® para la recolección de datos de temperatura y HR



Fertilización tipo drench



Manejo y riego de las plantas en campo



ANEXO C: INOCULACIÓN DE *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. redolens*, POR EL MÉTODO DE INMERSIÓN Y DRENCH



Método de inmersión



Método drench

**ANEXO D: TRANSPORTE DE LAS PLANTAS AL LABORATORIO Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS A REAISLAR**



Se seleccionó las plantas que presentaron mayor síntomas



Se empaqueto las plantas para su transporte previamente identificadas



Se transporto al laboratorio de fitopatología



Se realizó cortes de 5 a 8 mm de la zona afectada



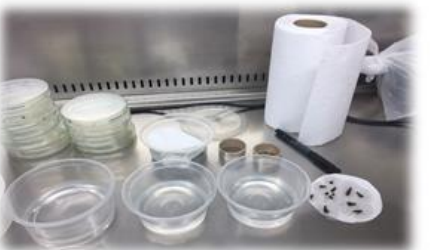
Se dejo secar por un instante



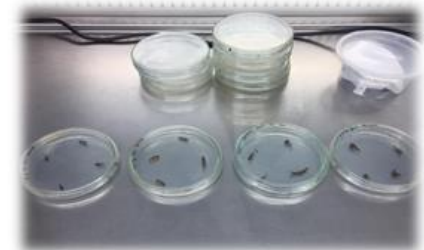
Se procedió a retirar todo el sustrato adherido a la raíz



Se lava los fragmentos por 40 s



Se aplico el protocolo de desinfección de los fragmentos obtenidos



Siembra de los fragmentos en medio PDA



**ANEXO E: HUMEDAD RELATIVA Y TEMPERATURA PROMEDIO REGISTRADA CADA 8 DÍAS DURANTE LA INVESTIGACIÓN EN CAMPO.**

FECHA	DÍAS	RH PROMEDIO	PROMEDIO T MAX	PROMEDIO T MIN	PROMEDIO T
03/09/2021	1	47,1	18,9	9,9	14,4
08/09/2021	8	59,6	27,7	9,8	18,7
16/09/2021	16	64,2	32,2	8,6	20,4
24/09/2021	24	63,8	32,7	9,0	20,9
02/10/2021	32	62,3	33,4	9,6	21,5
09/10/2021	40	63,5	33,0	10,3	21,6
17/10/2021	48	66,5	33,8	10,9	22,4
25/10/2021	56	67,0	34,5	11,1	22,8
02/11/2021	64	70,6	36,7	11,5	24,1
10/11/2021	72	63,9	33,7	10,6	22,1
18/11/2021	80	62,8	32,2	11,5	21,8
26/11/2021	88	65,2	32,5	10,2	21,4
04/12/2021	96	59,2	32,9	10,6	21,8
Promedios		62,7	31,9	10,3	21,1

**ANEXO F: EVALUACIÓN DE LA TASA DE CRECIMIENTO MICELIAL (mm/día) DE LOS AISLADOS FÚNGICOS EN MEDIO PDA A UNA TEMPERATURA DE 30 °C**

Repetición	Hongo	Medio de cultivo	Crecimiento en x (mm)	Crecimiento en y (mm)	Media	TCM
1	<i>F. oxysporum</i>	PDA	9,11	8,92	9,02	0,3
2	<i>F. oxysporum</i>	PDA	9,86	9,62	9,74	0,315
3	<i>F. oxysporum</i>	PDA	9,11	8,5	8,8	0,316
1	<i>F. solani</i>	PDA	9,1	8,73	8,91	0,29
2	<i>F. solani</i>	PDA	9,04	8,72	8,88	0,302
3	<i>F. solani</i>	PDA	9,23	9,35	9,29	0,306
1	<i>F. redolens</i>	PDA	9,07	8,87	8,97	0,283
2	<i>F. redolens</i>	PDA	8,02	7,96	7,99	0,269
3	<i>F. redolens</i>	PDA	9,18	8,45	8,82	0,294

ANEXO G: PLANTAS CON SÍNTOMAS DEL BLOQUE 1 MÁS UN TESTIGO



**ANEXO H: PANTAS CON SÍNTOMAS DEL BLOQUE 2 MÁS UN TESTIGO**





**ANEXO I: PANTAS CON SÍNTOMAS DEL BLOQUE 3 MÁS UN TESTIGO**





**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL**

**REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

**Fecha de entrega:** 28 / 07 / 2022

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Luis Rolando Chasig Pomboza
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Recursos Naturales
<b>Carrera:</b> Agronomía
<b>Título a optar:</b> Ingeniero Agrónomo
<b>f. responsable:</b> Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz

  
D.B.R.A.  
Ing. Cristhian Castillo

