



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

**INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* EN PLANTACIONES DE PITAHAYA (*Hylocereus* sp.) EN LA PROVINCIA DE MORONA SANTIAGO**

**Trabajo de Integración Curricular**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERA AGRÓNOMA**

**AUTORA:**

**YAJAIRA MAGALY MERINO GUALANCAÑAY**

Riobamba – Ecuador

2023



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

**INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* EN PLANTACIONES DE PITAHAYA (*Hylocereus* sp.) EN LA PROVINCIA DE MORONA SANTIAGO**

**Trabajo de Integración Curricular**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERA AGRÓNOMA**

**AUTORA:** YAJAIRA MAGALY MERINO GUALANCAÑAY

**DIRECTOR:** Ing. PABLO ISRAEL ÁLVAREZ ROMERO, PhD.

Riobamba – Ecuador

2023

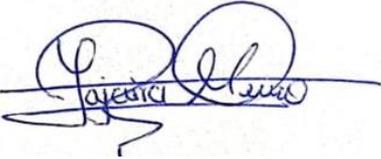
© 2023, Yajaira Magaly Merino Gualancañay

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

Yo, Yajaira Magaly Merino Gualancañay, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

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

Riobamba, 11 de diciembre de 2023



**Yajaira Magaly Merino Gualancañay**

**C.I. 065000765-1**

**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, **INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* EN PLANTACIONES DE PITAHAYA (*Hylocereus* sp.) EN LA PROVINCIA DE MORONA SANTIAGO**, realizado por la señorita: **YAJAIRA MAGALY MERINO GUALANCAÑAY**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal 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. Rosa del Pilar Castro Gómez, PhD. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2023-12-11
Ing. Pablo Israel Álvarez Romero, PhD. <b>DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2023-12-11
Ing. Norma Erazo Sandoval, PhD. <b>ASESORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2023-12-11

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo está dedicado a mis padres Marco Merino y Inés Gualancañay que me apoyaron y contuvieron en los momentos buenos y malos, gracias por enseñarme a afrontar las dificultades a través de los problemas, me han enseñado a ser la persona que soy hoy, mis principios, mis valores, mi perseverancia y mi empeño; también quiero dedicarle este trabajo, a mis hermanas Mishel y Stephany, quienes siempre me acompañaron y brindaron una palabra de aliento, con muchos consejos y sobre todo mucho cariño. Muchas gracias.

Yajaira

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a mis padres por todo el esfuerzo que han hecho para que pudiera llegar a realizar este trabajo, a mis hermanas por todo el apoyo que me han brindado; agradezco al Ingeniero Pablo Álvarez por los conocimientos brindados y por sus orientaciones; agradezco a la Ingeniera María Fernanda Espinoza por la paciencia y apoyo brindado en todo momento; además a mi pareja quien ha sido la persona que siempre ha estado dándome su apoyo y siendo mi gran soporte en esta etapa, finalmente agradezco a todos mis amigos que siempre han estado en las buenas y en las malas con sus ocurrencias y palabras de aliento. Muchas gracias por todo.

Yajaira

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xiii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY .....	xv
INTRODUCCIÓN .....	1

### CAPÍTULO I

<b>1.</b>	<b>Problema de investigación.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1.</b>	<b>Planteamiento del problema.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2.</b>	<b>Objetivos .....</b>	<b>2</b>
<b>1.2.1.</b>	<i>Objetivo general .....</i>	<i>2</i>
<b>1.2.2.</b>	<i>Objetivos específicos.....</i>	<i>2</i>
<b>1.3.</b>	<b>Justificación .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4.</b>	<b>Hipótesis.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4.1.</b>	<i>Hipótesis nula.....</i>	<i>3</i>
<b>1.4.2.</b>	<i>Hipótesis alterna.....</i>	<i>3</i>

### CAPÍTULO II

<b>2.</b>	<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.</b>	<b>Virus.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2.</b>	<b>Componentes de los virus de plantas.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2.1.</b>	<i>Composición y estructura .....</i>	<i>4</i>
<b>2.2.2.</b>	<i>Tamaño .....</i>	<i>5</i>
<b>2.3.</b>	<b>Clasificación de virus .....</b>	<b>5</b>
<b>2.3.1.</b>	<i>De acuerdo con el ácido nucleico .....</i>	<i>5</i>
<b>2.3.2.</b>	<i>De acuerdo con la forma.....</i>	<i>6</i>
<b>2.3.3.</b>	<i>De acuerdo con la clasificación de Baltimore .....</i>	<i>7</i>
<b>2.4.</b>	<b>Mecanismos de transmisión .....</b>	<b>8</b>
<b>2.5.</b>	<b>Métodos de control de virus de plantas.....</b>	<b>9</b>
<b>2.6.</b>	<b>Virus asociados a cactáceas .....</b>	<b>10</b>

2.6.1.	<b><i>Cactus virus X (CVX)</i></b> .....	10
2.6.1.1.	<i>Taxonomía</i> .....	10
2.6.1.2.	<i>Síntomas y daños</i> .....	10
2.6.1.3.	<i>Métodos de diseminación</i> .....	11
2.6.1.4.	<i>Hospederos</i> .....	11
2.6.2.	<b><i>Schlumbergera virus X (SchVX)</i></b> .....	11
2.6.2.1.	<i>Taxonomía</i> .....	11
2.6.2.2.	<i>Síntomas y daños</i> .....	12
2.6.2.3.	<i>Métodos de diseminación</i> .....	12
2.6.2.4.	<i>Hospederos</i> .....	12
2.6.3.	<b><i>Pitaya virus X (PiVX)</i></b> .....	12
2.6.3.1.	<i>Taxonomía</i> .....	12
2.6.3.2.	<i>Síntomas y daños</i> .....	13
2.6.3.3.	<i>Métodos de diseminación</i> .....	13
2.6.4.	<b><i>Zygocactus virus X (ZyVX)</i></b> .....	13
2.6.4.1.	<i>Taxonomía</i> .....	13
2.6.4.2.	<i>Síntomas y daños</i> .....	13
2.6.4.3.	<i>Métodos de diseminación</i> .....	14
2.7.	<b>Generalidades del cultivo de pitahaya</b> .....	14
2.7.1.	<b><i>Origen de la pitahaya</i></b> .....	14
2.7.2.	<b><i>Importancia del cultivo de pitahaya en Ecuador</i></b> .....	14
2.7.3.	<b><i>Taxonomía de la pitahaya</i></b> .....	15
2.8.	<b>Requerimientos edafoclimáticos</b> .....	16
2.9.	<b>Morfología de la pitahaya</b> .....	16
2.10.	<b>Producción de la pitahaya</b> .....	17
2.11.	<b>Cultivo de la pitahaya</b> .....	18
2.11.1.	<b><i>Propagación</i></b> .....	18
2.11.2.	<b><i>Plantación</i></b> .....	18
2.11.3.	<b><i>Control de crecimiento y desarrollo</i></b> .....	18
2.11.4.	<b><i>Fertilización y técnica de riego</i></b> .....	18
2.12.	<b>Plagas y enfermedades</b> .....	19
2.12.1.	<b><i>Enfermedades que afectan a la pitahaya</i></b> .....	19
2.12.2.	<b><i>Plagas que afectan a la pitahaya</i></b> .....	20

### CAPÍTULO III

<b>3.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	21
<b>3.1.</b>	<b>Características del lugar</b> .....	21
<b>3.1.1.</b>	<i>Localización en campo</i> .....	21
<b>3.1.2.</b>	<i>Características geográficas en campo</i> .....	21
<b>3.1.3.</b>	<i>Características climáticas en campo</i> .....	22
<b>3.1.4.</b>	<i>Localización del laboratorio</i> .....	23
<b>3.1.5.</b>	<i>Características geográficas del laboratorio</i> .....	23
<b>3.1.6.</b>	<i>Características climáticas del laboratorio</i> .....	23
<b>3.2.</b>	<b>Materiales y equipos</b> .....	23
<b>3.2.1.</b>	<i>Materiales, equipos y reactivos de campo</i> .....	23
<b>3.2.1.1.</b>	<i>Materiales</i> .....	23
<b>3.2.1.2.</b>	<i>Equipos</i> .....	24
<b>3.2.1.3.</b>	<i>Reactivos</i> .....	24
<b>3.2.2.</b>	<i>Materiales, equipos y reactivos de laboratorio</i> .....	24
<b>3.2.2.1.</b>	<i>Materiales</i> .....	24
<b>3.2.2.2.</b>	<i>Equipos</i> .....	24
<b>3.2.2.3.</b>	<i>Reactivos</i> .....	24
<b>3.2.2.4.</b>	<i>Material biológico</i> .....	25
<b>3.2.3.</b>	<i>Materiales y equipos de oficina</i> .....	25
<b>3.2.3.1.</b>	<i>Materiales</i> .....	25
<b>3.2.3.2.</b>	<i>Equipos</i> .....	25
<b>3.3.</b>	<b>Metodología</b> .....	25
<b>3.3.1.</b>	<i>Muestreo y recolecta de material vegetal en las diferentes plantaciones de pitahaya en la provincia de Morona Santiago</i> .....	25
<b>3.3.2.</b>	<i>Extracción de ARN viral de las muestras recolectadas</i> .....	26
<b>3.3.3.</b>	<i>Síntesis de ADN complementario</i> .....	29
<b>3.3.4.</b>	<i>PCR con Primers específicos Cactus virus X y Schlumbergera virus X</i> .....	31
<b>3.3.5.</b>	<i>Electroforesis</i> .....	32
<b>3.3.6.</b>	<i>Secuenciamiento</i> .....	33
<b>3.3.7.</b>	<i>Análisis moleculares</i> .....	34
<b>3.3.8.</b>	<i>Variables y métodos de evaluación</i> .....	34
<b>3.3.8.1.</b>	<i>Incidencia</i> .....	34
<b>3.3.8.2.</b>	<i>Severidad</i> .....	34

## CAPÍTULO IV

<b>4.</b>	<b>MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
<b>4.1.</b>	<b>Evaluación de la Incidencia y Severidad.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1.1.</b>	<i>Síntomas de las muestras recolectadas .....</i>	<i>36</i>
<b>4.1.2.</b>	<i>Incidencia a nivel de planta .....</i>	<i>38</i>
<b>4.1.3.</b>	<i>Severidad a nivel de planta .....</i>	<i>40</i>
<b>4.2.</b>	<b>Distribución de virus Schlumbergera virus X y Cactus virus X.....</b>	<b>41</b>
<b>4.3.</b>	<b>Secuenciamiento .....</b>	<b>43</b>
<b>4.4.</b>	<b>Discusión .....</b>	<b>46</b>

## CAPÍTULO V

<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>49</b>
<b>5.1.</b>	<b>Conclusiones .....</b>	<b>49</b>
<b>5.2.</b>	<b>Recomendaciones .....</b>	<b>49</b>

## GLOSARIO

## BIBLIOGRAFÍA

## ANEXOS

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2-1:</b> Clasificación de Baltimore .....	8
<b>Tabla 2-2:</b> Taxonomía de <i>Cactus virus X</i> .....	10
<b>Tabla 2-3:</b> Taxonomía de <i>Schlumbergera virus X</i> .....	11
<b>Tabla 2-4:</b> Taxonomía de <i>Pitaya virus X</i> .....	12
<b>Tabla 2-5:</b> Taxonomía de <i>Zygocactus virus X</i> .....	13
<b>Tabla 2-6:</b> Taxonomía de la pitahaya.....	15
<b>Tabla 2-7:</b> Morfología de la Pitahaya.....	16
<b>Tabla 2-8:</b> Enfermedades de la pitahaya .....	19
<b>Tabla 2-9:</b> Plagas de la pitahaya.....	20
<b>Tabla 3-1:</b> Ubicación geográfica de las localidades muestreadas en el cantón Palora.....	22
<b>Tabla 3-2:</b> Condiciones climáticas del cantón Palora .....	22
<b>Tabla 3-3:</b> Ubicación geográfica del laboratorio.....	23
<b>Tabla 3-4:</b> Condiciones climáticas del laboratorio.....	23
<b>Tabla 3-4:</b> Perfil térmico para síntesis de ADN complementario .....	30
<b>Tabla 3-5:</b> Primers usados para las PCR .....	31
<b>Tabla 3-6:</b> Perfil térmico para el proceso PCR .....	32
<b>Tabla 3-7:</b> Escala diagramática de síntomas del virus <i>Schlumbergera virus X</i> .....	35
<b>Tabla 4-1:</b> Incidencia a nivel de planta en las distintas localidades del cantón Palora .....	39
<b>Tabla 4-2:</b> Severidad a nivel de planta en las distintas localidades del cantón Palora.....	41
<b>Tabla 4-3:</b> Distribución de virus en las plantaciones de pitahaya del cantón Palora .....	42
<b>Tabla 4-4:</b> Identificación molecular de las muestras en estudio mediante BLASTn en el GenBank del NCBI.....	44

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 2-1:</b>	Morfología de los virus. A. Virus isométricos ( <i>Cucumovirus</i> ). B. Virus alargado filamentoso flexible ( <i>Potexvirus</i> ). C. Virus baciliformes ( <i>Badnavirus</i> ).....	7
<b>Ilustración 3-1:</b>	Ubicación geográfica del cantón Palora.....	21
<b>Ilustración 3-2:</b>	Extracción del ARN viral.....	27
<b>Ilustración 3-3:</b>	Extracción de ARN viral de las muestras.....	28
<b>Ilustración 3-4:</b>	Proceso de síntesis de ADN complementario .....	29
<b>Ilustración 3-5:</b>	Síntesis de ADN complementario .....	30
<b>Ilustración 3-6:</b>	PCR con Primers específicos .....	31
<b>Ilustración 3-7:</b>	Proceso de electroforesis.....	32
<b>Ilustración 3-8:</b>	Electroforesis.....	33
<b>Ilustración 4-1:</b>	Manchas anulares y clorosis presentes en las muestras recolectadas.....	36
<b>Ilustración 4-2:</b>	Anillos cloróticos presentes en las muestras recolectadas .....	37
<b>Ilustración 4-3:</b>	Deformaciones y arrugamientos de las muestras recolectadas.....	38
<b>Ilustración 4-4:</b>	Incidencia a nivel de planta.....	39
<b>Ilustración 4-5:</b>	Severidad a nivel de planta.....	40
<b>Ilustración 4-6:</b>	Distribución de virus .....	42
<b>Ilustración 4-7:</b>	Árbol filogenético de virus.....	45

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

- ANEXO A:** CÁLCULOS PARA PREPARACIÓN DE MIX PARA RT Y PCR
- ANEXO B:** RECOLECCIÓN DE MUESTRAS EN LAS DIFERENTES LOCALIDADES DEL CANTÓN PALORA DE LA PROVINCIA DE MORONA SANTIAGO
- ANEXO C:** EXTRACCIÓN DE ARN COMPLEMENTARIO
- ANEXO D:** CUANTIFICACIÓN DE ARN
- ANEXO E:** PROCESO DE RETROTRANSCRIPCIÓN (RT)
- ANEXO F:** PROCESO DE PCR CON PRIMERS ESPECÍFICOS
- ANEXO G:** ELECTROFORESIS
- ANEXO H:** GELES REVELADOS EN ELECTROFORESIS (POSITIVOS)

## RESUMEN

En el cultivo de pitahaya, se han identificado diversos problemas fitosanitarios que están afectando la producción, entre ellos, la presencia de los virus *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* en los cultivos de pitahaya (*Hylocereus* sp.). Esto representa una posible limitación para la producción y sostenibilidad de las plantaciones de pitahaya. Por ende, el propósito de esta investigación fue determinar la frecuencia y distribución de los virus *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* en plantaciones de pitahaya (*Hylocereus* sp.) en la provincia de Morona Santiago. Para llevar a cabo el estudio, se realizaron muestreos y recolecciones de material vegetal (cladodios) en 20 fincas del cantón Palora. Se recolectaron 10 cladodios con síntomas y 10 sin síntomas. Posteriormente, se extrajo el ácido ribonucleico (ARN) viral, se sintetizó ácido desoxirribonucleico (ADN) complementario utilizando el Kit FastGene Scriptasa II Cdna, se llevó a cabo la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con primers específicos para *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* mediante el Kit FastGene TAQ 2X ReadyMix PCR, se realizó electroforesis, se llevó a cabo el proceso de secuenciación en la empresa MACROGEN COREA y, finalmente, se realizó un análisis molecular utilizando el método Neighbor-Joining a nivel de nucleótidos implementado en MEGAX. Los resultados obtenidos permitieron evaluar la incidencia y severidad de los virus, así como su distribución en las diferentes fincas. Se registró una incidencia promedio del 24% de infección por virus y una severidad promedio del 15% en todas las fincas. En cuanto a la distribución, se observó que de las diez fincas evaluadas en el cantón Palora, ubicado en la provincia de Morona Santiago, nueve mostraron la presencia del virus *Schlumbergera virus X*, siendo la finca nueve (Finca Easwealth) la única excepción. Sin embargo, ninguna de ellas exhibió la presencia del virus *Cactus virus X*.

**Palabras clave:** <FITOPATOLOGÍA>, <VIRUS FITOPATÓGENOS>, <PITAHAYA (*Hylocereus* sp.)>, <*Schlumbergera virus X*>, <*Cactus virus X*>, <SÍNTOMAS>, <INCIDENCIA>, <SEVERIDAD>, <DISTRIBUCIÓN>.



## SUMMARY

Several phytosanitary problems have been identified in the *pitahaya* crop affecting production such as the presence of *Cactus virus X* and *Schlumbergera virus X* in *pitahaya* (*Hylocereus* sp.) crops. This represents a possible limitation for the production and sustainability of crops. Therefore, this investigation aimed to determine the frequency and distribution of these viruses in Morona Santiago province. Sampling and collecting of plant material (cladodes) were carried out in 20 farms in Palora canton. Ten cladodes with symptoms and ten without symptoms were collected. Subsequently, viral RNA was extracted, complementary DNA was synthesized using the FastGene Scriptase II Cdna Kit, PCR was carried out with specific primers for *Cactus virus X* and *Schlumbergera virus X* using the FastGene TAQ 2X ReadyMix PCR Kit, electrophoresis was performed, the sequencing process was carried out in the company MACROGEN COREA and, finally, a molecular analysis was performed using the Neighbor-Joining method at nucleotide level implemented in MEGAX. The results obtained permitted to evaluate the incidence and severity of the viruses, as well as their distribution in the different farms. An average incidence of 24% of virus infection and an average severity of 15% was recorded in all farms. In terms of distribution, it was observed that nine of the ten farms evaluated in this canton showed the presence of *Schlumbergera virus X*, and the farm number nine (Easwealth farm) was the only exception. However, none of them showed the presence of *Cactus virus X*.

**Key words:** <PHYTOPATHOLOGY>, <PHYTOPATHOGENIC VIRUS>, <PITAHAYA (*Hylocereus* sp.)>, <*Schlumbergera virus X*>, <*Cactus virus X*>, <SYMPTOMS>, <INCIDENCE>, <SEVERITY>, <DISTRIBUTION>.



Esthela Isabel Colcha Guashpa

060302067-8

0012-DBRA-UPT-2024

## INTRODUCCIÓN

Desde el año 2005, la pitahaya ha ganado reconocimiento en el mercado internacional y ha sido muy bien recibida. En la actualidad, esta fruta se ha convertido en uno de los productos exóticos más destacados en las exportaciones no convencionales de Ecuador. En el año 2019, Estados Unidos se convirtió en el principal importador de pitahaya, adquiriendo 3.267,83 toneladas métricas en solo tres años, superando a Hong Kong, que era el principal comprador hasta el 2018. Los principales destinos de exportación para esta fruta son Asia, Estados Unidos y Europa, representando el 42%, 50,6% y 4,1% de las importaciones respectivamente. Mientras tanto, en la región, los principales países receptores son Perú, Colombia y Chile. Los productores tienen expectativas de que este mercado pueda expandirse aún más, especialmente en China y Rusia, debido a la naturaleza exótica de la pitahaya. El Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), en colaboración con la Asociación de Productores de Pitahaya del Ecuador (APPE) y otras empresas multinacionales, están trabajando en busca de una mayor expansión (Verona et al., 2020: pág. 12)

El crecimiento en la demanda tanto a nivel nacional como internacional del fruto de la pitahaya ha impulsado un significativo proceso de expansión en el país, aprovechando el potencial de este cultivo. Sin embargo, la alteración en las condiciones climáticas debido a la reciente ola invernal representa una amenaza grave para las plantaciones existentes. El aumento y la frecuencia de las lluvias aumentan los niveles de humedad en el aire y el suelo, lo que favorece la incidencia y la severidad de plagas y enfermedades que obstaculizan el desarrollo óptimo del sistema productivo (Mora, 2012: págs. 8-10).

El objetivo de este estudio fue determinar el porcentaje de incidencia y distribución de estos virus en las plantaciones de pitahaya en la provincia de Morona Santiago. Así mismo, se busca compartir esta información con los productores para que puedan implementar medidas preventivas y estrategias de gestión para controlar la propagación de los virus en sus cultivos. Además, este estudio podría ser un paso importante hacia la creación de un programa de propagación de pitahaya certificada, libre de virus. Este programa podría ser desarrollado en colaboración con instituciones académicas o gobiernos locales con el fin de garantizar la calidad y salud de las plantas de pitahaya en el futuro.

# CAPÍTULO I

## 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1. Planteamiento del problema

Los patógenos que afectan a las plantas, incluyendo los virus, son conocidos por tener efectos perjudiciales en el crecimiento y desarrollo de las plantas. En el caso del cultivo de pitahaya, se han identificado varios problemas fitosanitarios que están reduciendo la producción, incluyendo la presencia de los virus *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* en los cultivos de pitahaya (*Hylocereus* sp.).

Estos problemas fitosanitarios representan una potencial limitación para la producción y sostenibilidad de las plantaciones de pitahaya. Muchos de estos problemas están siendo reportados por primera vez en el país y aún no se comprende completamente su impacto en los niveles de producción y la calidad de los frutos. Además, estos virus pueden coexistir en infecciones mixtas, y hasta el momento no existen informes que detallen el daño que pueden causar en los niveles de producción o en la calidad de la fruta. Esta situación subraya la importancia de investigaciones y medidas preventivas para abordar estos desafíos fitosanitarios en la industria de la pitahaya.

### 1.2. Objetivos

#### *1.2.1. Objetivo general*

Determinar la incidencia y distribución de los virus *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* en plantaciones de pitahaya (*Hylocereus* sp.) en la provincia de Morona Santiago.

#### *1.2.2. Objetivos específicos*

- Determinar la incidencia de los virus *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* en plantaciones de pitahaya (*Hylocereus* sp.) en la provincia de Morona Santiago.
- Identificar la distribución de los virus *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* en plantaciones de pitahaya (*Hylocereus* sp.) en la provincia de Morona Santiago.

### **1.3. Justificación**

La creciente demanda internacional en los mercados de Europa, Asia y América ha creado oportunidades significativas para la comercialización de pitahayas producidas en Ecuador. En respuesta a esta demanda, se ha observado un aumento gradual en la superficie destinada al cultivo de esta fruta en el país. Ambas especies de pitahaya tienen el potencial de convertirse en uno de los cultivos más prometedores a nivel internacional para Ecuador.

Sin embargo, para que esta industria siga prosperando, es fundamental contar con apoyo técnico respaldado por el conocimiento científico necesario para gestionar las plagas y enfermedades emergentes que se están desarrollando localmente. Estas amenazas fitosanitarias a menudo pueden ser nuevas o diagnosticadas de manera incorrecta. En este contexto, se han identificado los virus *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X*, de los cuales no existen registros a nivel nacional, pero se ha observado su presencia en investigaciones preliminares en plantaciones de pitahaya en la Costa Ecuatoriana.

Por lo tanto, el propósito de este estudio es profundizar en el conocimiento de estos virus, lo que permitirá un manejo más efectivo de los cultivos en las diferentes zonas de importancia productiva de pitahaya en la provincia de Morona Santiago. Esta investigación contribuirá a garantizar la salud de las plantas de pitahaya y a mantener la competitividad de la industria en los mercados internacionales.

### **1.4. Hipótesis**

#### ***1.4.1. Hipótesis nula***

Los virus *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* no están presentes ni distribuidos en ninguna plantación de pitahaya en la provincia de Morona Santiago.

#### ***1.4.2. Hipótesis alterna***

Al menos uno de los virus *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X* está presente y distribuido en las diferentes plantaciones de pitahaya en la provincia de Morona Santiago.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Virus

Los virus son considerados "parásitos" de las células porque solo pueden crecer y multiplicarse cuando invade una célula hospedera. Cuando un virus entra en una célula, esta última se convierte en su huésped (Sánchez et al., 2017: pág. 15).

Los virus pueden ingresar en una variedad de organismos, incluyendo microorganismos, a través de un proceso conocido como infección. En la mayoría de los casos, esta infección conlleva la aparición de enfermedades. Los virus pueden tener varios efectos en la célula infectada. Pueden causar una rápida destrucción de la célula o, en otros casos, no destruir la célula y en su lugar mantenerse dentro de ella durante un largo período de tiempo, reproduciéndose y generando más virus. En algunos casos, esta reproducción viral puede dar lugar a retrasos en la manifestación de los síntomas de una enfermedad (Sánchez et al., 2017: pág. 16).

#### 2.2. Componentes de los virus de plantas

##### 2.2.1. Composición y estructura

Es cierto que todos los virus que infectan a las plantas están compuestos, al menos, por una cadena de ácido nucleico, que puede ser ADN o ARN, pero nunca ambos simultáneamente, y por una o más proteínas que son codificadas por ese ácido nucleico. Estas proteínas forman una capa protectora que se llama cápside o cubierta viral. En cuanto a la estructura de la cápside, muchos virus de plantas utilizan un solo tipo de proteína que se repite para configurarla. Sin embargo, en algunos casos, la cápside puede estar compuesta por hasta siete proteínas diferentes. Además, algunos virus de plantas pueden tener una segunda capa de proteínas alrededor de la cápside. También, algunos virus adquieren una membrana lipoproteica adicional a partir de la célula huésped, formando lo que se conoce como una envoltura viral (Sociedad Española De Fitopatología, 2016: págs. 27-28).

En resumen, la estructura viral puede variar considerablemente entre diferentes tipos de virus de plantas, pero todos comparten la característica fundamental de estar compuestos por ácido nucleico y proteínas que forman una cápside o cubierta protectora.

### **2.2.2. Tamaño**

Los virus son entidades infecciosas extremadamente pequeñas y, por lo tanto, su medición exacta requiere el uso de herramientas como el microscopio electrónico. Este tipo de microscopio permite observar y determinar la forma de las partículas virales, entonces para medir los virus, se utiliza el nanómetro como unidad de medida. Un nanómetro es igual a una mil millonésima parte de un metro ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ). Debido a su tamaño diminuto, los virus son mucho más pequeños que las células y son invisibles a simple vista, lo que hace que el uso de técnicas de microscopía avanzadas sea esencial para su estudio y caracterización (Garrido, 2018: pág. 3).

La mayoría de los virus esféricos tienen un diámetro que oscila entre aproximadamente 25 y 50 nanómetros (nm). Estos virus suelen ser de forma redonda u ovalada y pueden variar en tamaño dentro de ese rango; en cuanto a los virus alargados, suelen tener una longitud que varía entre unos 300 y 500 nm, con un diámetro más estrecho de alrededor de 15-20 nm. Sin embargo, es importante señalar que existen virus alargados que pueden alcanzar tamaños mucho mayores, llegando incluso a los 2000 nm o 2 micrómetros (Garrido, 2018: pág. 3).

### **2.3. Clasificación de virus**

#### **2.3.1. De acuerdo con el ácido nucleico**

Según Garrido (2018), el ácido nucleico viral puede ser ADN o ARN, y contiene la información genética necesaria para la síntesis de proteínas virales y la replicación de nuevas partículas virales. En relación con el peso total del virión (la partícula viral completa), el ácido nucleico suele representar un porcentaje que varía entre el 5% y el 40%.

- **ARN monocatenario de sentido positivo (ARNss)**, funcionan como ARN mensajero (ARNm) para la síntesis de las proteínas virales. Esto significa que el ARN viral puede ser directamente traducido por la maquinaria celular del huésped para producir las proteínas virales necesarias para la replicación y la formación de nuevas partículas virales; es importante porque permite que los virus de plantas inicien rápidamente la síntesis de proteínas virales una vez que infectan la célula huésped, ya que el ARN viral es directamente legible por los ribosomas celulares (Sociedad Española De Fitopatología, 2016: pág. 31).

- **ARN monocatenario de sentido negativo (ARNssN)**, es un componente de algunos virus de plantas. A través de una enzima codificada por el ARN complementario al genoma viral, conocida como ARN polimerasa dependiente de ARN, que se encuentra presente en la partícula viral, se

realiza la transcripción del ARN genómico a ARNm. Este proceso es fundamental para la síntesis de proteínas virales y la replicación del virus dentro de la célula huésped (Sociedad Española De Fitopatología, 2016: pág. 31).

**-ARN de doble cadena (ARNds)** es otro tipo de genoma que se encuentra en ciertos virus. En este caso, la polimerasa viral es responsable de sintetizar el ARNm utilizando una de las dos cadenas del ARN de doble cadena como plantilla. Este proceso permite que el virus produzca ARNm a partir de su genoma de ARNds, lo que es esencial para la síntesis de proteínas virales y otros procesos necesarios para la replicación y la propagación del virus dentro de la célula huésped (Sociedad Española De Fitopatología, 2016: pág. 31).

**-ADN de doble cadena**, en donde el ADN viral es liberado en el núcleo de las células infectadas, donde puede ser transcrito por la ARN polimerasa del huésped. Este proceso de transcripción implica la creación de ARNm a partir del ADN viral. El ARNm producido se utiliza luego para la síntesis de proteínas virales y otros procesos necesarios para la replicación y propagación del virus (Sociedad Española De Fitopatología, 2016: pág. 32).

**-ADN de una sola cadena (ADNss)**, en los primeros momentos de la replicación dentro de la célula huésped, dependen de las enzimas del huésped para convertir su ADN de cadena simple en ADN de doble cadena (ADNds). La formación de ADNds es un paso crucial en la replicación de estos virus de ADNss, ya que el ADNds es más estable y puede servir como plantilla para la síntesis de nuevas copias del genoma viral (Sociedad Española De Fitopatología, 2016: pág. 32).

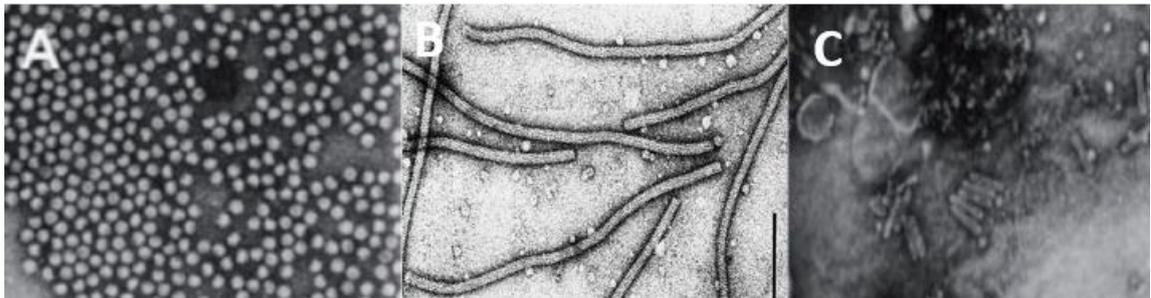
### ***2.3.2. De acuerdo con la forma***

De acuerdo con Garrido (2018), la morfología de los virus patógenos de plantas generalmente se puede clasificar en tres formas principales, según la apariencia geométrica de las partículas virales: alargadas, isométricas (esféricas) y baciliformes.

**-Esféricos**, en su mayoría, tienen un diámetro que oscila entre aproximadamente 25 y 50 nanómetros (nm). En estos virus, el material genético (ácido nucleico) se encuentra empaquetado y resguardado del entorno dentro de una estructura llamada cápside. Las proteínas que componen esta cápside representan aproximadamente el 40-60% del peso total de la nucleocápside y se organizan en unidades estructurales conocidas como capsómeros (Garrido, 2018: pág. 3).

-**Alargadas**, las partículas virales alargadas pueden tener una forma rígida o flexuosa. Tienen una estructura helicoidal o en forma de espiral (Garrido, 2018: pág. 3).

-**Baciliformes**, las partículas virales baciliformes tienen una forma alargada y cilíndrica similar a un bacilo. Algunos ejemplos de virus con esta morfología son los virus del grupo Potexvirus (Garrido, 2018: pág. 3).



**Ilustración 2-1:** Morfología de los virus. A. Virus isométricos (*Cucumovirus*). B. Virus alargado filamentososo flexible (*Potexvirus*). C. Virus baciliformes (*Badnavirus*)

**Fuente:** (Sociedad Española De Fitopatología, 2016: p. 30)

### ***2.3.3. De acuerdo con la clasificación de Baltimore***

La clasificación de Baltimore es un sistema que se utiliza para categorizar los virus en función de su material genético y su estrategia de replicación. Fue desarrollado por el microbiólogo David Baltimore en 1971. Esta clasificación se basa en la forma en que los virus sintetizan el ARN mensajero (ARNm) durante su ciclo de replicación (Palomar, 2013: pág. 2).

Los principales tipos de virus según la clasificación de Baltimore son los siguientes:

**Tabla 2-1:** Clasificación de Baltimore

<b>GRUPO I</b>	<b>Virus de ADN de doble cadena (dsDNA):</b> Estos virus tienen un genoma compuesto por ADN de doble cadena y utilizan su propio ADN como plantilla para sintetizar ARNm.
<b>GRUPO II</b>	<b>Virus de ADN de cadena sencilla (ssDNA):</b> Estos virus tienen un genoma compuesto por ADN de cadena sencilla y deben convertirlo en ADN de doble cadena antes de replicarse.
<b>GRUPO III</b>	<b>Virus de ARN de doble cadena (dsRNA):</b> Estos virus tienen un genoma compuesto por ARN de doble cadena y replican su genoma utilizando una ARN polimerasa de ARN-dependiente.
<b>GRUPO IV</b>	<b>Virus de ARN de cadena positiva (+ssRNA):</b> Estos virus tienen un genoma compuesto por ARN de cadena positiva, que se utiliza directamente como ARNm para la síntesis de proteínas.
<b>GRUPO V</b>	<b>Virus de ARN de cadena negativa (-ssRNA):</b> Estos virus tienen un genoma compuesto por ARN de cadena negativa y requieren la síntesis de una molécula de ARN positivo (complementaria) para la traducción de sus proteínas.
<b>GRUPO VI</b>	<b>Virus de ARN retrotranscrito (ssRNA-RT):</b> Estos virus tienen un genoma compuesto por ARN, pero primero deben convertirlo en ADN complementario mediante una transcriptasa inversa (reverse transcriptase) para luego integrarlo en el genoma del huésped.
<b>GRUPO VII</b>	<b>Virus de ADN retrotranscrito (dsDNA-RT):</b> Estos virus tienen un genoma compuesto por ADN, pero primero se transcribe a ARN, y luego se invierte nuevamente a ADN para integrarse en el genoma del huésped.

**Fuente:** (Moredo et al., 2019: págs. 10-12).

**Realizado por:** Merino, Y., 2023.

## 2.4. Mecanismos de transmisión

La mayoría de las plantas poseen una pared celular rígida, lo que significa que los virus ingresan al citoplasma de las células huésped mediante un proceso traumático. Esto suele ocurrir a través de vectores, como organismos vivos, o debido a lesiones causadas por herramientas o el contacto entre las propias plantas. En el caso de los virus que afectan a cultivos agrícolas importantes, su transmisión y supervivencia a menudo dependen de vectores bióticos, es decir, organismos vivos (Garrido, 2018: pág. 7).

**-Propagación vegetativa,** la transmisión de virus en el material de siembra es un tema de gran importancia. La mayoría de estos virus son sistémicos, lo que significa que pueden encontrarse

en cualquier parte de la planta utilizada como medio de propagación, siempre y cuando provenga de plantas enfermas (Garrido, 2018: pág. 8).

La transmisión de virus a través del injerto se ha convertido en un método ampliamente utilizado, ya que casi todos los virus pueden ser transmitidos de esta manera. Incluso algunos virus cuyos vectores aún no se conocen han sido transmitidos exitosamente mediante injerto. Es importante destacar que no es necesario que el tejido injertado crezca para que ocurra la transmisión del virus; basta con que se establezca la unión entre el tejido infectado y el tejido sano de la planta receptora (Garrido, 2018: pág. 8).

**-Transmisión mecánica**, es una de las formas en que los viroides se dispersan, siendo la segunda vía más común. La notable estabilidad de los ARNs viroidales hace que no se descompongan y que sigan siendo infecciosos incluso cuando se encuentran en herramientas de corte durante varios días o incluso semanas. Esta característica tiene un impacto significativo en la epidemiología de los viroides en el campo, ya que contribuye a su propagación y persistencia en las plantas hospedantes (Sociedad Española De Fitopatología, 2016: pág. 44).

**-Transmisión por semilla**, se refiere a la forma en que algunos virus son transmitidos a través de las semillas de plantas que están infectadas, lo que se conoce como transmisión vertical. El virus puede estar presente en la cutícula, el endospermo o el embrión de la semilla. Es importante destacar que no todas las semillas de plantas infectadas contienen el virus, y el porcentaje de semillas que da lugar a plantas infectadas varía, generalmente, entre el 1% y el 50% (Garrido, 2018: pág. 8).

## **2.5. Métodos de control de virus de plantas**

Según Garrido (2018), la identificación precisa de los virus es fundamental para su control efectivo. Los métodos y procedimientos utilizados para la identificación varían según el virus en cuestión, las instalaciones disponibles y el nivel de confiabilidad necesario en la identificación. La información necesaria para identificar virus fitopatógenos puede diferir de un grupo viral a otro.

**-Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**, es una técnica de laboratorio en la cual secuencias específicas de ADN se amplifican de manera rápida y precisa utilizando oligonucleótidos iniciadores (conocidos como "primers") y una enzima de ADN termoestable llamada Taq ADN polimerasa. El ADN utilizado como punto de partida en una PCR se obtiene a partir de tejido vegetal infectado o de virus purificados. Esta técnica permite amplificar selectivamente

fragmentos de ADN de interés, lo que facilita la identificación y el estudio de material genético específico, como el ADN viral (Sociedad Española De Fitopatología, 2016: pág.109).

-**Electroforesis**, en el caso de los virus, se emplea electroforesis como una técnica para detectar sus dos componentes principales: las proteínas y los ácidos nucleicos. La proteína de la cápside viral puede estar presente en concentraciones elevadas en tejidos infectados, lo que significa que una comparación sencilla de los patrones de proteínas entre el material sano y el infectado podría indicar la presencia del patógeno. Sin embargo, cuando la concentración de la cápside viral es baja, la presencia de proteínas de la planta puede complicar la interpretación de los resultados. Cada virus en particular muestra un patrón de electroforesis característico, el cual depende del tamaño y la disposición de su genoma, lo que facilita su identificación (Garrido, 2018: págs. 16-17).

## 2.6. Virus asociados a cactáceas

### 2.6.1. *Cactus virus X* (CVX)

#### 2.6.1.1. Taxonomía

Según Liao (2003), la infección causada por el virus CVX en plantas de la especie *Hylocereus* spp. ha sido registrada en informes procedentes de Taiwán, China, Corea y Brasil.

**Tabla 2-2:** Taxonomía de *Cactus virus X*

<b>Nombre científico:</b>	<i>Cactus virus X</i>
<b>Reino:</b>	Riboviria
<b>Filo:</b>	Kitrinoviricota
<b>Clase:</b>	Alsuviricetes
<b>Orden:</b>	Tymovirales
<b>Familia:</b>	Alphaflexiviridae
<b>Género:</b>	<i>Potexvirus</i>
<b>Especies:</b>	<i>Cactus virus X</i>

**Fuente:** (Schoch, et al., 2020).

**Realizado por:** Merino, Y., 2023.

#### 2.6.1.2. Síntomas y daños

Los síntomas causados por la infección por CVX pueden variar y algunas plantas pueden parecer asintomáticas. Algunas plantas muestran síntomas severos, además del moteado sistémico. El

moteado suele ser acompañado de alteraciones morfológicas observadas durante el crecimiento y desarrollo de las plantas, aereolas distorsionadas, espinas deformadas y necrosis (Duarte et al. 2008).

#### 2.6.1.3. Métodos de disseminación

Los medios mecánicos como el injerto (o el contacto de planta a planta) son solo la transmisión conocida proceso. Todavía no hay evidencia de transmisión por semilla. Sin embargo, existe una posibilidad en la transmisión de polen de CVX (Duarte et al. 2008).

#### 2.6.1.4. Hospederos

*Austrocylindropuntia*, *Cereus*, *Echinocereus*, *Echinopsis*, *Epiphyllum*, *Eriocereus*, *Ferrocactus*, *Hylocereus*, *Lobivia*, *Mammillaria*, *Notacactus*, *Opuntia*, *Pereskia*, *Platyopuntia*, *Saguaro*, *Schlumbergera*, y *Zygocactus* (Jirón, 1997).

### 2.6.2. *Schlumbergera virus X* (SchVX)

#### 2.6.2.1. Taxonomía

El virus SchVX se detectó en Brasil en plantas de *Hylocereus undatus* que presentaban manchas o manchas cloróticas (Duarte et al., 2008).

**Tabla 2-3:** Taxonomía de *Schlumbergera virus X*

<b>Nombre científico:</b>	<i>Schlumbergera virus X</i>
<b>Reino:</b>	Riboviria
<b>Filo:</b>	Kitrinoviricota
<b>Clase:</b>	Alsuviricetes
<b>Orden:</b>	Timovirales
<b>Familia:</b>	Alphaflexiviridae
<b>Género:</b>	<i>Potexvirus</i>
<b>Especies:</b>	<i>Schlumbergera virus X</i>

Fuente: (Schoch et al., 2020).

Realizado por: Merino, Y., 2023.

#### 2.6.2.2. Síntomas y daños

Según Duarte et al (2008), los síntomas que se presentan en los cultivos son: manchas anulares cloróticas, y deformación de arrugamiento de cladodios.

#### 2.6.2.3. Métodos de diseminación

Transmisión mecánica por contacto físico entre una planta infectada y otra sana, debido a diversos factores; por ejemplo, el viento o la lluvia, las heridas provocadas por animales herbívoros, o la manipulación del humano en los cultivos, durante las cosechas o en la realización de injertos (Jirón, 1997).

#### 2.6.2.4. Hospederos

*Austrocylindropuntia*, *Cereus*, *Echinocereus*, *Echinopsis*, *Epiphyllum*, *Eriocereus*, *Ferrocactus*, *Hylocereus*, *Lobivia*, *Mammillaria*, *Notacactus*, *Opuntia*, *Pereskia*, *Platyopuntia*, *Saguaro*, *Schlumbergera*, y *Zygocactus* (Jirón, 1997).

### 2.6.3. *Pitaya virus X* (PiVX)

#### 2.6.3.1. Taxonomía

De acuerdo con Mao (2008), se informó que la infección por PiVX en plantas de *Hylocereus* spp. se registró por primera vez en Taiwán.

**Tabla 2-4:** Taxonomía de *Pitaya virus X*

<b>Nombre científico:</b>	<b><i>Pitaya virus X</i></b>
<b>Reino:</b>	Riboviria
<b>Filo:</b>	Kitrinoviricota
<b>Clase:</b>	Alsuviricetes
<b>Orden:</b>	Timovirales
<b>Familia:</b>	Alphaflexiviridae
<b>Género:</b>	<i>Potexvirus</i>
<b>Especies:</b>	<i>Pitaya virus X</i>

**Fuente:** (Schoch CL, et al., 2020).

**Realizado por:** Merino, Y., 2023.

### 2.6.3.2. Síntomas y daños

Presencia de ligeras manchas y un tono amarillento en los tallos de las plantas de pitahaya (Sastry et al., 2019: págs. 1226-1227).

### 2.6.3.3. Métodos de disseminación

El virus se propaga mediante mecanismos que no requieren un vector. La transmisión del virus se produce por medio de la inoculación mecánica de la savia. El uso de material de siembra infectado representa la principal fuente de propagación del virus (Sastry et al., 2019: págs. 1226-1227).

## 2.6.4. *Zygocactus virus X* (ZyVX)

### 2.6.4.1. Taxonomía

La infección por ZyVX en plantas de *Hylocereus undatus* se ha registrado en Brasil y Taiwán, de acuerdo con los informes de Duarte et al. (2008) y Mao (2008).

**Tabla 2-5:** Taxonomía de *Zygocactus virus X*

<b>Nombre científico:</b> <i>Zygocactus virus X</i>	
<b>Reino:</b>	Riboviria
<b>Filo:</b>	Kitrinoviricota
<b>Clase:</b>	Alsuviricetes
<b>Orden:</b>	Timovirales
<b>Familia:</b>	Alphaflexiviridae
<b>Género:</b>	<i>Potexvirus</i>
<b>Especies:</b>	<i>Zygocactus virus X</i>

Fuente: (Schoch, et al., 2020).

Realizado por: Merino, Y., 2023.

### 2.6.4.2. Síntomas y daños

Las plantas de pitahaya que están infectadas con el virus presentan manchas o áreas cloróticas en su follaje (Sastry et al., 2019: pág. 1227).

#### *2.6.4.3. Métodos de disseminación*

Este virus se puede transmitir mecánicamente a través de la savia de las plantas y también mediante el proceso de injerto (Sastry et al., 2019: pág. 1227).

### **2.7. Generalidades del cultivo de pitahaya**

#### *2.7.1. Origen de la pitahaya*

La pitahaya se cultiva en varias naciones de clima tropical y subtropical. Los pueblos precolombinos domesticaron este fruto, el cual originalmente recolectaban en su forma silvestre para propósitos medicinales y como alimento. A pesar de que la población desconocía este fruto, su consumo comenzó a destacarse en 1990 debido a sus propiedades y beneficios. En la actualidad, esta fruta es ampliamente reconocida como una de las frutas exóticas, atrayendo la atención por su forma y color únicos, además de sus valores nutricionales; esto también ha captado el interés de los comerciantes (Verona et al., 2020: pág. 14).

Además, según las afirmaciones de Medina (2015), se establece que la pitahaya tuvo su inicio en naciones como Perú, Ecuador y Colombia. Además, el autor hace referencia a sus segmentados tallos y su naturaleza trepadora. A lo largo del tiempo, esta especie ha experimentado alteraciones debido a la selección realizada por los seres humanos, resultando en diversas variantes de la pitahaya en distintas regiones. Es importante destacar que en algunos países se le conoce también como pitaya (Verona et al., 2020: pág. 15).

#### *2.7.2. Importancia del cultivo de pitahaya en Ecuador*

En Ecuador, la pitahaya es objeto de cultivo y está experimentando una tendencia creciente de consumo. Este producto resulta atractivo en el mercado estadounidense debido a su sabor distintivo. La demanda en los mercados internacionales está impulsando un aumento constante en los cultivos de pitahaya. Las compañías ecuatorianas señalan que las ventas están en constante ascenso, especialmente en lo que respecta a la variedad de pitahaya amarilla (Rodríguez, 2015).

El sector agrícola constituye una faceta dinámica y esencial de la economía, dando empleo a una significativa proporción de la fuerza laboral. Además, la producción agrícola mayormente se destina a la exportación, mientras que el resto se consume localmente. Por lo tanto, la producción y venta de pitahayas no solo influye en la activación económica de las familias que residen en el

cantón Palora y en la provincia de Morona Santiago, sino también en el ámbito más amplio. Esto se debe a que casi la mitad de la población, un 49,6%, está involucrada en la agricultura y la ganadería, que representan sus principales fuentes de ingresos (Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal, 2015).

Durante el transcurso del año 2021, se logró exportar un total de 17.895 toneladas de pitahaya mediante 5.975 envíos que contaron con la certificación de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario, conocida como Agrocalidad. Esta cifra representa un aumento de casi el 60% en comparación con el año anterior, 2020, en el cual se enviaron 11.260 toneladas de este fruto. La distribución abarcó alrededor de 27 naciones en todo el mundo, siendo Estados Unidos el principal destino con aproximadamente el 84% de las exportaciones, seguido por Colombia y Singapur con el 5,4% y el 2,7%, respectivamente. Hasta el 31 de diciembre de 2021, se habían registrado un total de 2.051 sitios de producción de pitahaya destinados a la exportación, debidamente registrados ante Agrocalidad. Estos sitios están ubicados en 21 provincias del territorio ecuatoriano. En este contexto, Morona Santiago lidera con un 65% de los sitios de producción registrados a nivel nacional, seguida por Manabí con el 8%, y Pichincha con el 5,5% (AGROCALIDAD, 2022).

### 2.7.3. Taxonomía de la pitahaya

El *Hylocereus* es una especie que ha sido introducida en diversas regiones del mundo debido a sus beneficios y características nutricionales, además de su asequibilidad como fruta. Esta especie es capaz de adaptarse a entornos áridos y semiáridos. Estas plantas tienen la particularidad de crecer sobre árboles en zonas boscosas o bien son cultivadas en áreas naturales y también en huertos familiares (INIAP, 2001: p. 77).

**Tabla 2-6:** Taxonomía de la pitahaya

<b>Nombre científico:</b>	<i>Hylocereus spp.</i>
<b>Reino:</b>	Plantae
<b>Clase:</b>	Angiospermae
<b>Orden:</b>	Opuntiales
<b>Familia:</b>	Cactáceas
<b>Género:</b>	<i>Hylocereus</i>

Fuente: (INIAP, 2001: pág.77).

Realizado por: Merino, Y., 2023.

## 2.8. Requerimientos edafoclimáticos

**Temperatura:** La pitahaya prospera en climas cálidos y subhúmedos, y muestra un buen crecimiento incluso en áreas secas (Infoagro, 2012: pág. 3).

**Luz:** La pitahaya necesita una exposición significativa a la luz para que pueda florecer y completar sus etapas posteriores de desarrollo. Sin embargo, se debe evitar una radiación solar directa excesiva, ya que podría tener un impacto negativo en la planta (Infoagro, 2012: pág. 4).

**Sustrato:** Este fruto es conocido por su adaptabilidad a terrenos secos y con piedras, lo que lo caracteriza como una planta resistente. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que es sensible al exceso de agua en el suelo, por lo que debe evitarse el encharcamiento; requiere de suelos con textura franco-arcillosos a franco-arenosos, con un contenido de materia orgánica mayor al 5%; un pH de 5.3 (Infoagro, 2012: pág. 4).

## 2.9. Morfología de la pitahaya

**Tabla 2-7:** Morfología de la Pitahaya

<b>Raíz</b>	La pitahaya presenta dos tipos distintos de raíces. El primero de ellos consiste en una raíz principal que no penetra en profundidad en el suelo y raíces secundarias altamente ramificadas. El segundo tipo se refiere a las raíces adventicias, las cuales emergen en los lados planos de los tallos. A medida que estas raíces adventicias crecen, se introducen en el suelo y desarrollan las características propias de raíces convencionales.
<b>Tallo</b>	La pitahaya presenta un color verde y se caracteriza por tener tres aristas que incluyen areolas a lo largo de sus bordes. Estas areolas están provistas de grupos de espinas, que miden alrededor de 2 a 4 mm, y son conocidas como ramas u hojas modificadas. Un aspecto importante es que las pitahayas abren sus estomas exclusivamente durante las noches, lo cual representa una adaptación fisiológica que tiene como objetivo reducir la pérdida de agua.
<b>Flor</b>	La pitahaya tiene una forma tubular y es hermafrodita, con el ovario ubicado en la parte inferior y cubierto de espinas. Sus dimensiones oscilan entre 20 y 40 cm de largo y hasta 25 cm de diámetro en su parte más amplia, presentando una apariencia altamente llamativa. Aunque en teoría pueden ocurrir entre 7 y 9 ciclos de floración, en la práctica, se suelen presentar alrededor de 5 a 6 ciclos. Esto se debe a que algunos

---

ciclos no llegan a desarrollarse completamente o son débiles, debido a razones relacionadas con la nutrición o el clima.

---

**Fruto** La pitahaya se asemeja a una baya redondeada y presenta dimensiones que varían entre 8 y 15 cm de longitud, con un diámetro que oscila entre 6 y 10 cm. Esta fruta contiene una pulpa dulce y abundante. Su piel se caracteriza por ser roja o amarilla, y está recubierta por escamas foliáceas o brácteas que se distribuyen de manera helicoidal.

---

**Fuente:** (García, 2003: pág. 9)

**Realizado por:** Merino, Y., 2023.

La pitahaya se diferencia de otras plantas en términos de sus raíces, tallo, flores y fruto, ya que cada uno presenta características únicas. Asimismo, es evidente que la pitahaya proviene de una planta trepadora, lo cual implica cuidados especiales en comparación con otras plantas. Esta planta requiere un entorno húmedo y tropical, pero debido a estas condiciones, es más susceptible a plagas y enfermedades. Por lo tanto, es fundamental comprender las particularidades de la planta de pitahaya para poder tomar medidas apropiadas si se detectan anomalías en su estructura (García, 2003: pág. 9).

## **2.10. Producción de la pitahaya**

La pitahaya muestra una notable adaptación en regiones de clima cálido. Debido a su naturaleza cactácea, tiene la capacidad de soportar altas temperaturas, llegando hasta un máximo de 38-40 °C. Además, es resistente a condiciones de sequía, aunque no tolera el estancamiento de agua en el suelo (García, 2003: pág. 10).

Durante su etapa de floración, esta planta requiere de lluvias, pero es importante considerar que lluvias excesivas pueden llevar a la caída de las flores. La pitahaya prospera particularmente en climas cálidos y subhúmedos, y también demuestra adaptabilidad a climas secos. Por otro lado, es importante destacar que no puede sobrevivir en climas caracterizados por temperaturas bajas (García, 2003: pág. 10).

## **2.11. Cultivo de la pitahaya**

### ***2.11.1. Propagación***

La propagación de la pitahaya se lleva a cabo mediante esquejes obtenidos de plantas maduras que son divididas. También es posible propagarla a partir de semillas, aunque este método puede generar plantas con características menos uniformes (Box, 2005: pág. 16).

### ***2.11.2. Plantación***

La pitahaya de color amarillo puede ser cultivada en Canarias durante cualquier época del año sin dificultades significativas. La recomendación es plantar alrededor de 450 plantas por hectárea (con una disposición de 4x3 metros), y para mantener las plantas en posición, es necesario instalar tutores de soporte. Se sugiere plantar varios ejemplares por tutor, como se menciona en el trabajo de Box (2005, pág. 16).

### ***2.11.3. Control de crecimiento y desarrollo***

La planta es guiada utilizando sistemas de enrejado, lo que implica la necesidad de llevar a cabo podas de saneamiento una vez al mes durante la temporada de producción (Box, 2005: pág. 16).

### ***2.11.4. Fertilización y técnica de riego***

No existe una fórmula precisa de fertilización para la pitahaya, ya que no hay evidencia de estudios a nivel mundial que la respalden. Sin embargo, se ha observado que, en Canarias, la planta muestra una respuesta favorable a la aplicación de fertilizantes nitrogenados, especialmente en forma de compuestos amoniacales. Por lo tanto, es esencial suministrar los fertilizantes recomendados para lograr el rendimiento deseado en la pitahaya. Estos fertilizantes contienen componentes como fósforo y potasio (Box, 2005: pág. 17).

En relación con el riego, se utiliza el sistema de goteo con fertirrigación, aplicando alrededor de 3-4 litros de agua y 3-5 gramos de abono por planta y por día. Se sugiere realizar el riego principalmente durante los meses de verano y otoño. La fertilización es un aspecto crucial que debe considerarse, ya que resulta indispensable para obtener un buen rendimiento en los cultivos. Los fertilizantes son una fuente de nutrientes esenciales que enriquecen el suelo y contribuyen a

la calidad de los cultivos. En este contexto, es posible utilizar distintos tipos de fertilizantes, incluyendo opciones químicas, orgánicas e inorgánicas (Box, 2005: pág. 17).

## 2.12. Plagas y enfermedades

La distinción entre plagas y enfermedades se puede explicar de la siguiente manera: en el caso de las plagas, se podría afirmar que se trata de organismos vivos que compiten con los seres humanos en la búsqueda de agua y alimentos, lo que resulta en daños para los entornos agrícolas y actividades humanas. En contraste, las enfermedades son aquellas que han sido identificadas desde tiempos antiguos, caracterizadas por su naturaleza infecciosa o no infecciosa, y que afectan a partes específicas o estructuras de las plantas (INIAP, 2001: pág. 78).

La planta de pitahaya puede experimentar problemas fitosanitarios que pueden limitar su desarrollo en condiciones climáticas normales. Sin embargo, cuando se producen lluvias abundantes e intensas, la incidencia de estos problemas fitosanitarios tiende a aumentar considerablemente. A continuación, se mencionan algunos de los problemas que pueden surgir en estas condiciones:

### 2.12.1. Enfermedades que afectan a la pitahaya

**Tabla 2-8:** Enfermedades de la pitahaya

<b>ENFERMEDADES DE LA PITAHAYA</b>	
<b>Pudrición basal por <i>Fusarium Oxysporum Schlttdl</i></b>	La transmisión a larga distancia ocurre a través de materiales de propagación contaminados, equipos y herramientas. A nivel local, se propaga mediante el agua de riego o a través del movimiento del aire.
<b>Antracnosis causada por <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.)</b>	La antracnosis es una enfermedad causada por un hongo que afecta tanto a las pencas como a los frutos. En el país se han registrado casos con una incidencia del 16,6%. Los síntomas comienzan con pequeñas manchas redondas de color marrón, que a medida que se expanden en el tejido, se vuelven lesiones negras con una apariencia hundida y seca. En casos graves, la parte afectada de la penca puede desprenderse, lo que provoca espacios vacíos. Esto reduce la superficie foliar disponible para la fotosíntesis y afecta el tamaño de los frutos.

<b>Pudrición suave de la penca causada por <i>Erwinia</i> sp.</b>	<i>Erwinia</i> sp. es un tipo de bacteria capaz de sobrevivir en ambientes con baja disponibilidad de oxígeno. Esta bacteria afecta a las pencas de la pitahaya, manifestando síntomas de manchas amarillas con una apariencia húmeda. Estas manchas conllevan a la descomposición del tejido, acompañada por un olor intenso.
---	--

Fuente: (MORA, 2012: pág.10).

Realizado por: Merino, Y., 2023.

### 2.12.2. Plagas que afectan a la pitahaya

**Tabla 2-9:** Plagas de la pitahaya

PLAGAS DE LA PITAHAYA		
NOMBRES	DAÑO	CONTROL
<b>Nemátodos</b>	Llegan a atrofiar las raíces	Carbofurán
<b>Hormigas</b>	Daños en los brotes tiernos	Destruir casas y Malathion
<b>Avispas</b>	Daños en los brotes tiernos	Decis
<b>Áfidos</b>	Llegan a deformar los frutos y brotes tiernos	Evisect
<b>Ácaros</b>	Manchan e incluso deforman los frutos	Omite

Fuente: (INIAP, 2001: pág.78)

Realizado por: Merino, Y., 2023.

## CAPÍTULO III

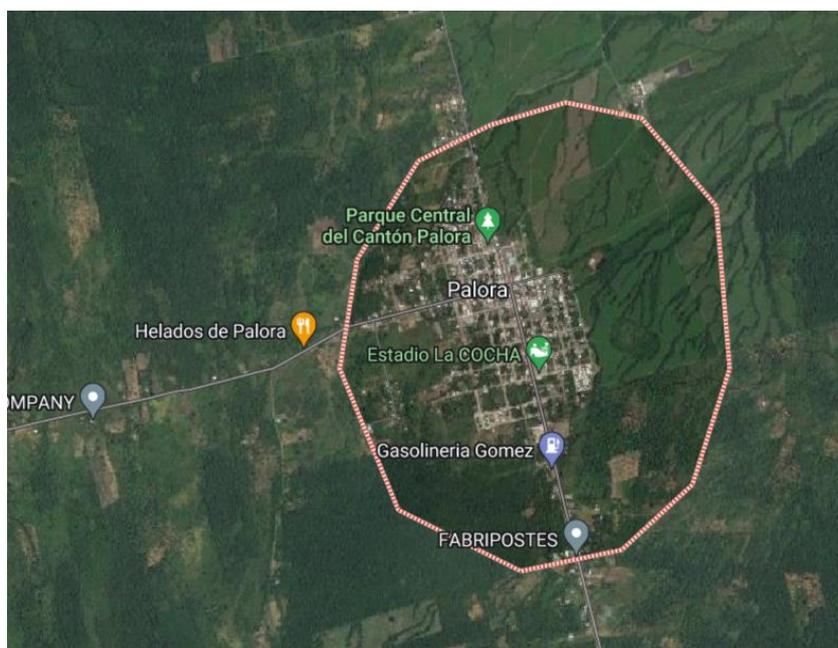
### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Características del lugar

##### 3.1.1. Localización en campo

La presente investigación se llevó a cabo en el cantón Palora, provincia Morona Santiago, en la cual se muestreo un total de 20 fincas, recolectando un total de 20 cladodios por finca; 10 muestras con síntomas y 10 muestras asintomáticas.

##### 3.1.2. Características geográficas en campo



**Ilustración 3-1:** Ubicación geográfica del cantón Palora

Fuente: (Google EARTH, 2023).

Realizado por: Merino, Y., 2023.

**Tabla 3-1:** Ubicación geográfica de las localidades muestreadas en el cantón Palora

N° Fincas	CANTÓN N	LOCALIDAD	PROPIETARIO/ ORIGEN	COORDENADAS		
				LATITUD	LONGITUD	ALTUR A
1	Palora	Simón Bolívar	Guido Álvarez	-1° 43' 46.578"	-83° 52' 45.105"	774
2	Palora	Sangay	Patricio León	-1° 43' 47.557"	-83° 52' 41.163"	929
3	Palora	Agua potable	Gloria López	-1° 44' 19.938"	-83° 59' 8.43"	939
4	Palora	Agua potable	Carlos Ortiz	-1° 46' 7.125"	-83° 58' 38.344"	974
5	Palora	Sangay	Aníbal Andrade	-1° 41' 17.980"	-83° 57' 27.558"	884
6	Palora	Finca Tierra Dulces	Patricio Carreño	-1° 42' 47.984"	-78° 0' 28.022"	918
7	Palora	Los Lirios	Bayron Ortiz	-1° 46' 7.125"	-83° 58' 38.344"	919
8	Palora	Sangay	Justo Castañeda	-1° 44' 22.344"	-83° 58' 26.734"	931
9	Palora	Finca Easwealth	Pablo Badillo	-1° 44' 19.938"	-83° 59' 8.43"	905
10	Palora	Sangay	Wilson Altuna	-1° 44' 22.344"	-83° 58' 26.734"	931
11	Palora	La Planada	Marco Tamayo	-1° 46' 7.125"	-83° 58' 38.344"	915
12	Palora	Palora	Carlos López	-1° 43' 46.578"	-149° 52' 45.1056"	897
13	Palora	Palora	Ruvira Iván	1° 42' 41.615"	149° 56' 39.814"	887
14	Palora	Palora	Juan Chicaiza	-1° 43' 18.66"	-149° 56' 42.0684"	889
15	Palora	Sangay	Patricio González	-1° 44' 41.04"	149° 56' 42.226"97	930
16	Palora	Palora	Luis Tigre	-19° 29' 25.56"	-135° 26' 35.3934"	936
17	Palora	Arapicos	Carlos Araujo	-1° 46' 6.919"	-136° 11' 54.3114"	780
18	Palora	Palora	Edwin Chicango	-1° 42' 51.901"	-149° 57' 38.27"	888
19	Palora	Palora	Carlos Cruz	-1° 42' 47.401"	-149° 57' 23.87"	892
20	Palora	Palora	Ángel Ortiz	-1° 42' 49.290"	-149° 57' 23.59"	893

Realizado por: Merino, Y., 2023.

### 3.1.3. Características climáticas en campo

**Tabla 3-2:** Condiciones climáticas del cantón Palora

<b>Temperatura media anual:</b>	22.5°C
<b>Precipitación media anual:</b>	3500 mm
<b>Humedad relativa:</b>	82 %
<b>Altura:</b>	920 m.s.n.m

Realizado por: Merino, Y., 2023.

### 3.1.4. Localización del laboratorio

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo, Ecuador, en donde se realizó todos los procesos a partir de la extracción del ARN viral, proceso de RT, PCR, y Electroforesis.

### 3.1.5. Características geográficas del laboratorio

**Tabla 3-3:** Ubicación geográfica del laboratorio

<b>Lugar:</b>	Riobamba
<b>Altitud:</b>	2850 m.s.n.m
<b>Longitud:</b>	78° 40' 59'' W
<b>Latitud:</b>	01° 38' 51'' S

**Fuente:** (Estación Meteorológica ESPOCH, 2020).

**Realizado por:** Merino, Y., 2023.

### 3.1.6. Características climáticas del laboratorio

**Tabla 3-4:** Condiciones climáticas del laboratorio

<b>Temperatura media anual:</b>	13.8°C
<b>Precipitación media anual:</b>	571.8mm
<b>Humedad relativa:</b>	48,80%

**Fuente:** (Estación Meteorológica ESPOCH, 2020).

**Realizado por:** Merino, Y., 2023.

## 3.2. Materiales y equipos

### 3.2.1. Materiales, equipos y reactivos de campo

#### 3.2.1.1. Materiales

Tijeras de podar, fundas ziploc, marcadores, estilete o navaja, guantes, cinta masking, planilla de registro de información, caja de cartón grande, cooler.

### 3.2.1.2. Equipos

Cámara fotográfica (CANNON), GPS.

### 3.2.1.3. Reactivos

Alcohol al 70% e hipoclorito de sodio al 30%.

## 3.2.2. Materiales, equipos y reactivos de laboratorio

### 3.2.2.1. Materiales

Funda de Tubos eppendorf de 1.5 mL, funda de Tubos eppendorf de 2 mL, microtubos (0.2 mL), puntas de micropipetas (10 µL, 100 µL y 1000 µL), probeta graduada (500 mL), gradilla para microtubos (2 mL y 1.5 mL), papel film, jeringas (5 mL y 10 mL), caja de guantes de nitrilo, caja de mascarillas, papel toalla, papel aluminio, cinta adhesiva, morteros, pistilos, Erlenmeyer (100 mL), embudo, fundas plásticas transparentes.

### 3.2.2.2. Equipos

Autoclave (BIOBASE BKQ-B100II), Secador de vidrio (SELECTA 200038), Balanza de precisión (RADWAG AS220.R2), Micropipeta (Eppendorf), Mechero de alcohol, Termo-bloque (HM100-PRO), Centrifuga (EPPENDORF5424), Ultra congelador (BIOBASE BDF-40V450), Microondas (PANASONIC 900W), Destilador de agua (BOECO WS 8000), Vórtex (QILINBEIER QL-901), Biospectrofotometro (EPPENDORF Basic), Cuba electroforesis (FISHER SCIENTIFIC FB-SB-710), Fuente de poder para electroforesis (FISHER SCIENTIFIC FB300), Termociclador (EPPENDORF Vapoprotect), Transiluminador UV (FISHER SCIENTIFIC 88<sup>a</sup>), Refrigeradora (Durex).

### 3.2.2.3. Reactivos

Agua destilada, Acetato de potasio (Buffer), Beta mercapto etanol, Isopropanol, Wash Buffer con etanol, Sílica, Agua ultrapura, Master Mix, 2X (Go Taq® Hot Star Green, Intercalante (Diamond™ Nucleic Acid Dye), Tris-Borate-EDTA Buffer (SIGMA), 10X BlueJuice™ Gel Loading Buffer (Invitrogen), DNA Ladder Bench Top 100 kb (PROMEGA), Blue/Orange Loading Dye 6X (PROMEGA), Agarosa.

#### *3.2.2.4. Material biológico*

Muestras de cladodios de pitahaya con síntomas de *Cactus virus X* (CVX) y *Schlumbergera virus X* (SchVX).

#### *3.2.3. Materiales y equipos de oficina*

##### *3.2.3.1. Materiales*

Lápices, borradores, esferos, cuaderno, marcador permanente, resma de hojas, flash memory.

##### *3.2.3.2. Equipos*

Computadora, impresora.

### **3.3. Metodología**

#### *3.3.1. Muestreo y recolecta de material vegetal en las diferentes plantaciones de pitahaya en la provincia de Morona Santiago*

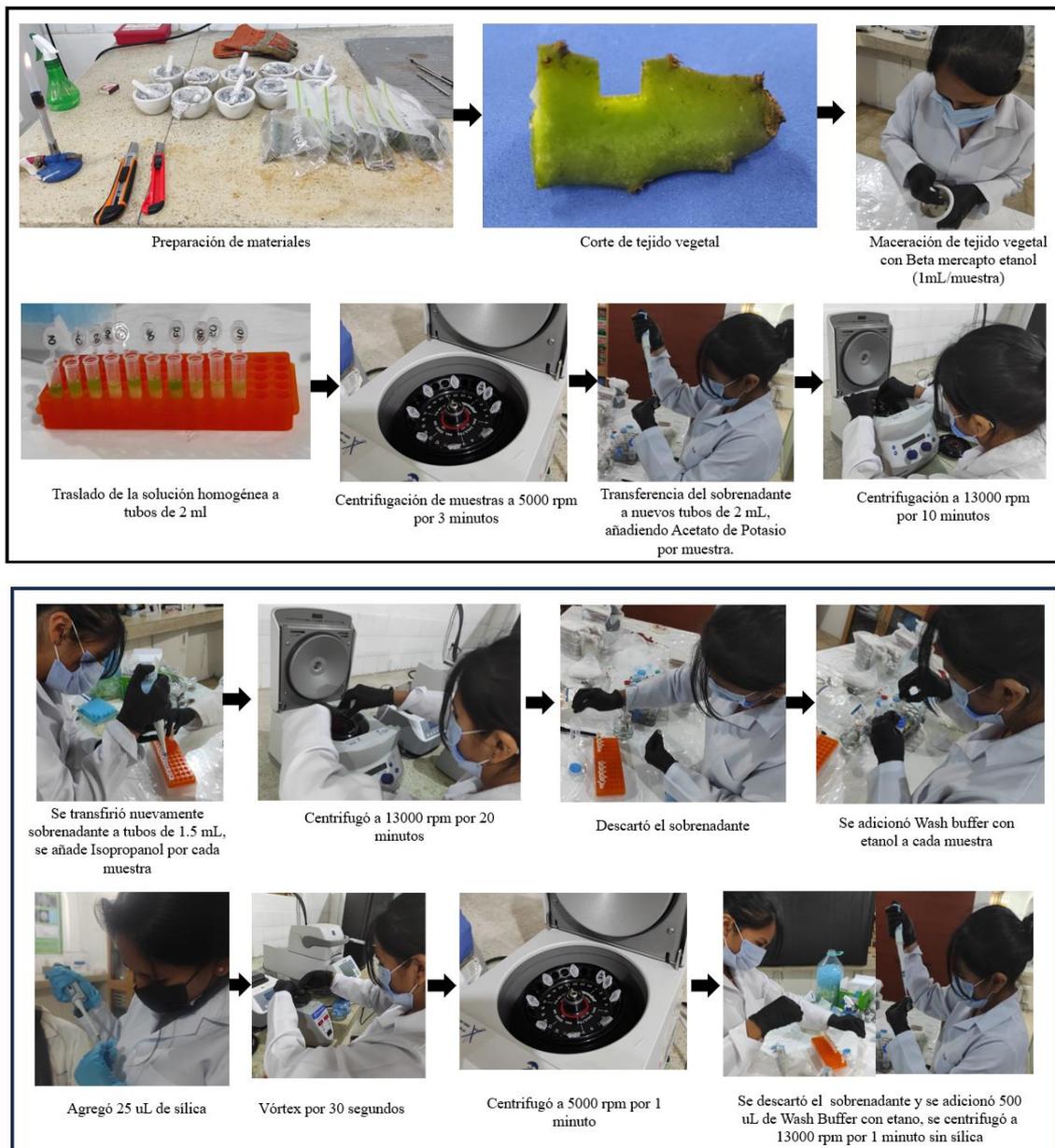
Se seleccionaron un total de 20 fincas de pitahaya en la provincia de Morona Santiago, en cada una de estas fincas se realizó un muestreo dirigido a síntomas asociados a enfermedades virales como moteados, anillos cloróticos, amarillamientos y deformaciones que fueron consideradas “sospechosas”. Además, se tomó un número igual de muestras a partir de plantas asintomáticas (sin síntomas). De cada finca se tomó 10 muestras de cladodios de plantas “sospechosas” y 10 asintomáticas.

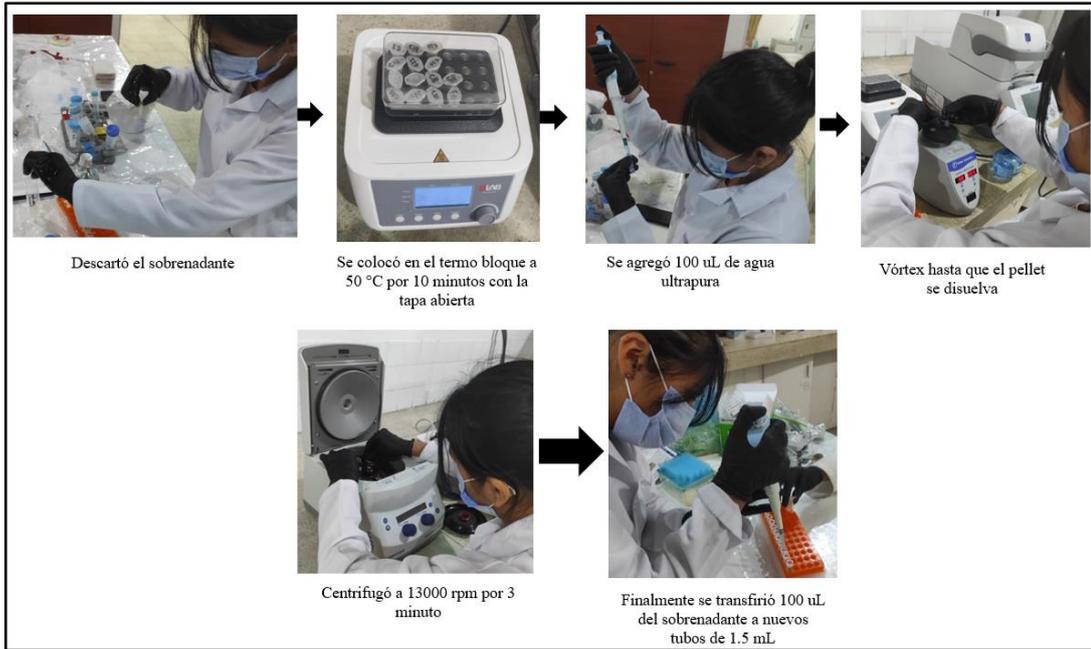
Para la recolección de las muestras, primero, se tomó las coordenadas del sitio u parcelas de pitahaya, y se colocó los materiales de protección como guantes; se desinfectó las herramientas de muestreo ya sea estilete o navaja con alcohol al 70%; se realizó un corte de las muestras de órganos afectados (cladodios) que presentaron la sintomatología de los virus, se evitó recolectar muestras podridas; además se llenó planillas de información como: la ubicación y nombre de la parcela, fecha de muestreo, datos del técnico o dueño de la parcela, nombre del cultivo y a su vez observaciones generales con respecto a los síntomas de la enfermedad en campo.

Las muestras se almacenaron en funda ziploc; y depositadas en un cooler para evitar que las muestras sufran algún tipo de daño en su traslado al laboratorio, además se rotulo a cada una de las muestras para su identificación; y se las conservó a una temperatura de  $-40^{\circ}\text{C}$ .

### 3.3.2. Extracción de ARN viral de las muestras recolectadas

La obtención del ARN viral se llevó a cabo a partir del material vegetal recolectado en diversas plantaciones de pitahaya ubicadas en el cantón Palora, dentro de la provincia de Morona Santiago, mediante el siguiente procedimiento (Ilustración 3-2):

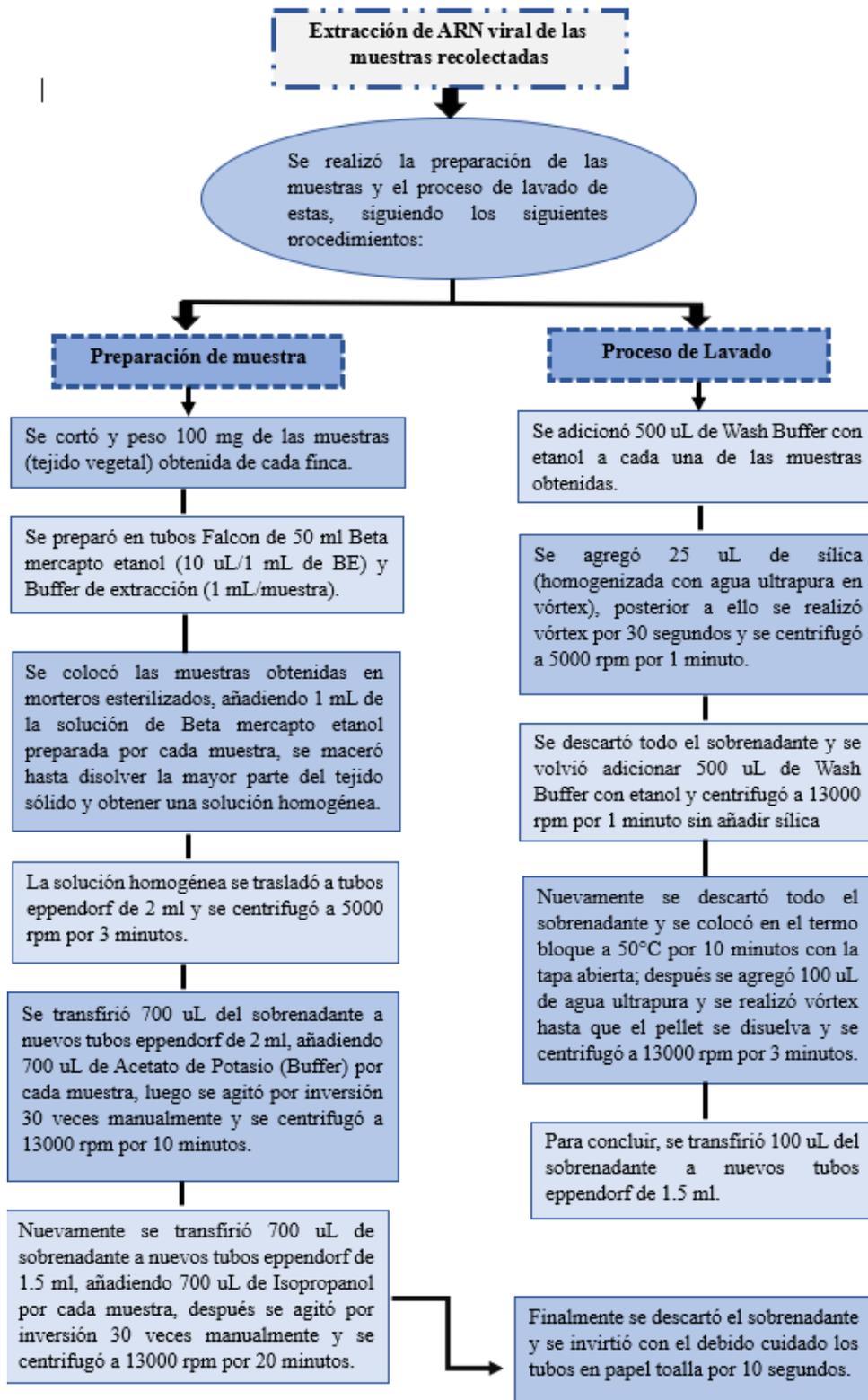




**Ilustración 3-2:** Extracción del ARN viral

Realizado por: Merino, Y., 2023.

A continuación, se describen los pasos detallados a seguir para la extracción del ARN viral.



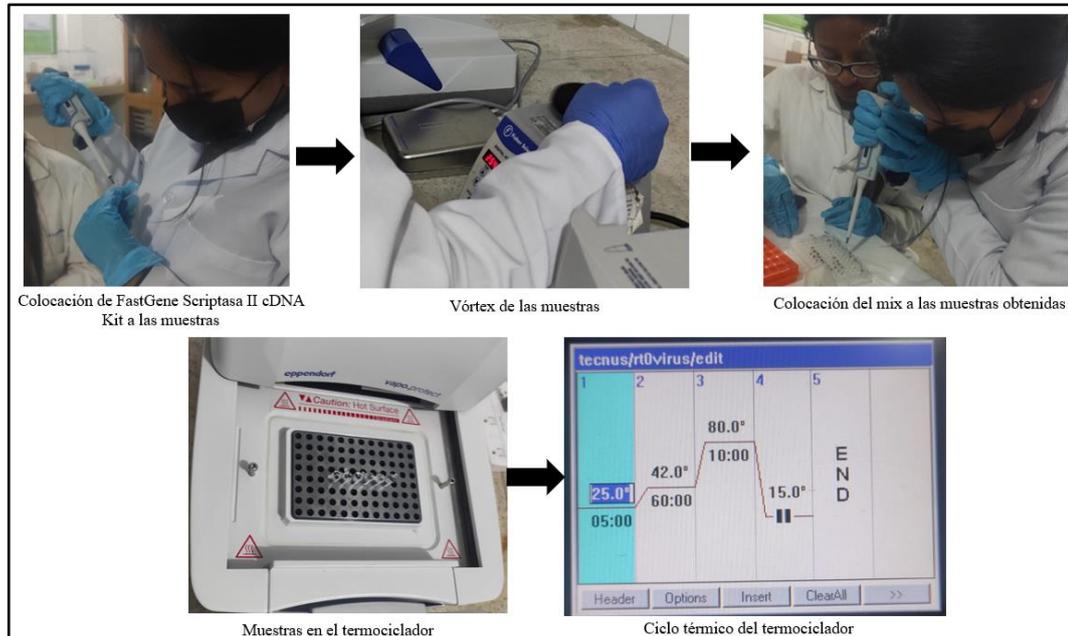
**Ilustración 3-3:** Extracción de ARN viral de las muestras

**Fuente:** (Halgren et al., 2007).

**Realizado por:** Merino, Y., 2023.

### 3.3.3. Síntesis de ADN complementario

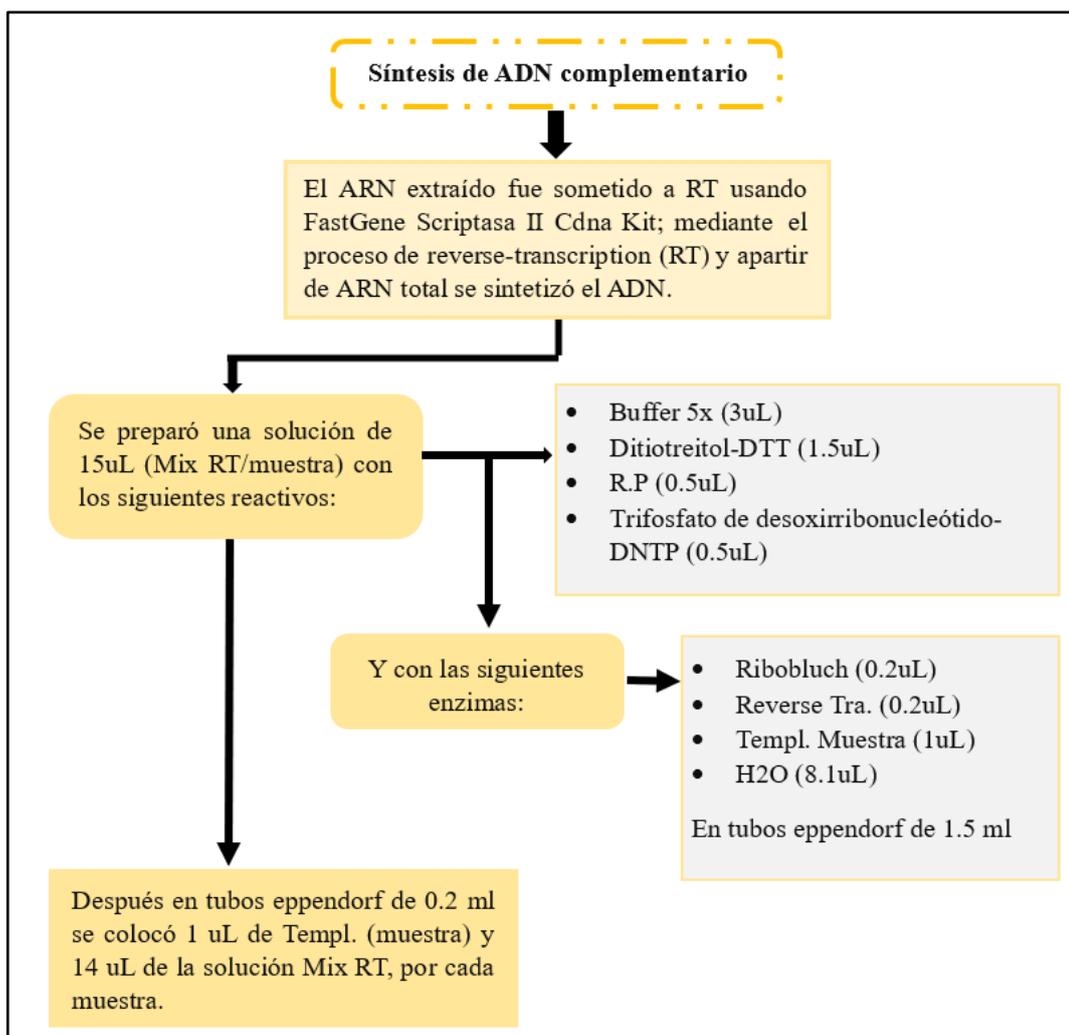
Para llevar a cabo la síntesis de ADN complementario, se empleó el Kit FastGene Scriptasa II Cdna, siguiendo el siguiente protocolo (Ilustración 3-5):



**Ilustración 3-4:** Proceso de síntesis de ADN complementario

Realizado por: Merino, Y., 2023.

A continuación, se exponen los pasos detallados a seguir para llevar a cabo la síntesis de ADN complementario, según se muestra en la Ilustración 3-6.



**Ilustración 3-5:** Síntesis de ADN complementario

**Fuente:** (Espinoza y Quito, 2023).

**Realizado por:** Merino, Y., 2023.

Se colocó las muestras en el termociclador (EPPENDORF), con un tiempo aproximado de 1 hora y 15 minutos con el siguiente ciclo (Tabla 3-13):

**Tabla 3-10:** Perfil térmico para síntesis de ADN complementario

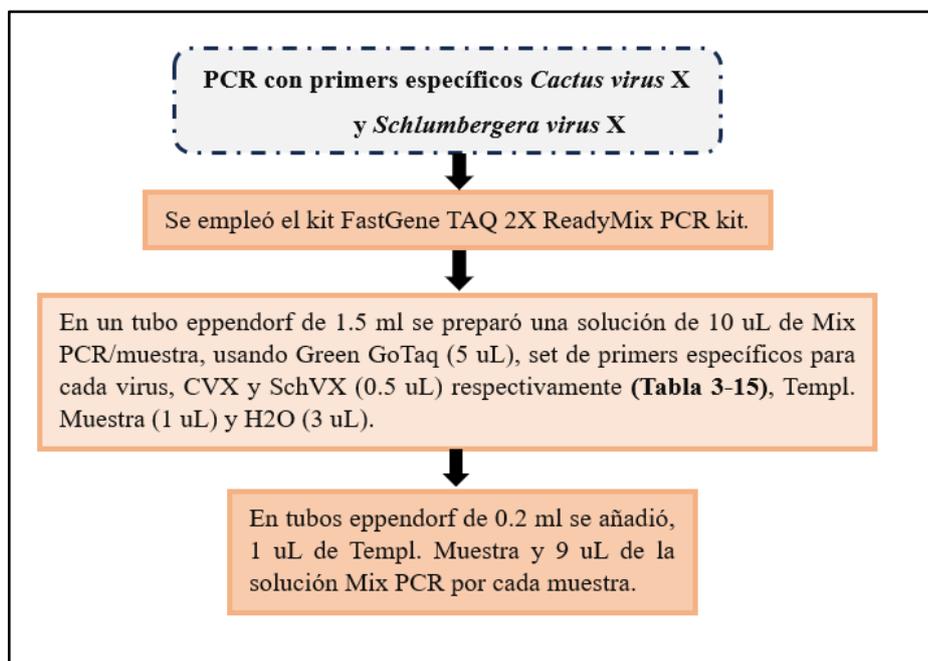
Perfil térmico		
Etapa	Tiempo	Temperatura
Desnaturalización	5 min	25°C
Alineamiento	60 min	42°C
Extensión	10 min	80°C

**Fuente:** (Espinoza & Quito, 2023).

**Realizado por:** Merino, Y., 2023.

### 3.3.4. PCR con Primers específicos *Cactus virus X* y *Schlumbergera virus X*

Para realizar la amplificación mediante PCR, se utilizó el Kit FastGene TAQ 2X ReadyMix PCR, siguiendo el procedimiento detallado en la Ilustración 3-7.



**Ilustración 3-6:** PCR con Primers específicos

**Fuente:** (Espinoza & Quito, 2023).

**Realizado por:** Merino, Y., 2023.

**Tabla 3-11:** Primers usados para las PCR

Nombre	Código	Secuencia
<i>Cactus virus X</i> (CVX)	CVX F (Forward)	CCAAAGGAACCTATCGCCTTTG
	CVX R (Reverse)	GGAGGAGCATTTGAGATCGAG
<i>Schlumbergera virus X</i> (SchVX)	SchVX F (Forward)	CGAGAACTACAAGCTAGCCATG
	SchVX R (Reverse)	CTCCCGTTAGCCTCATGATCT

**Fuente:** (Espinoza & Quito, 2023).

**Realizado por:** Merino, Y., 2023.

Para la amplificación se colocó las muestras en un termociclador (EPPENDORF), por un tiempo aproximado de 1 hora y 30 minutos, para el siguiente ciclo (Tabla 3-16):

**Tabla 3-6:** Perfil térmico para el proceso PCR

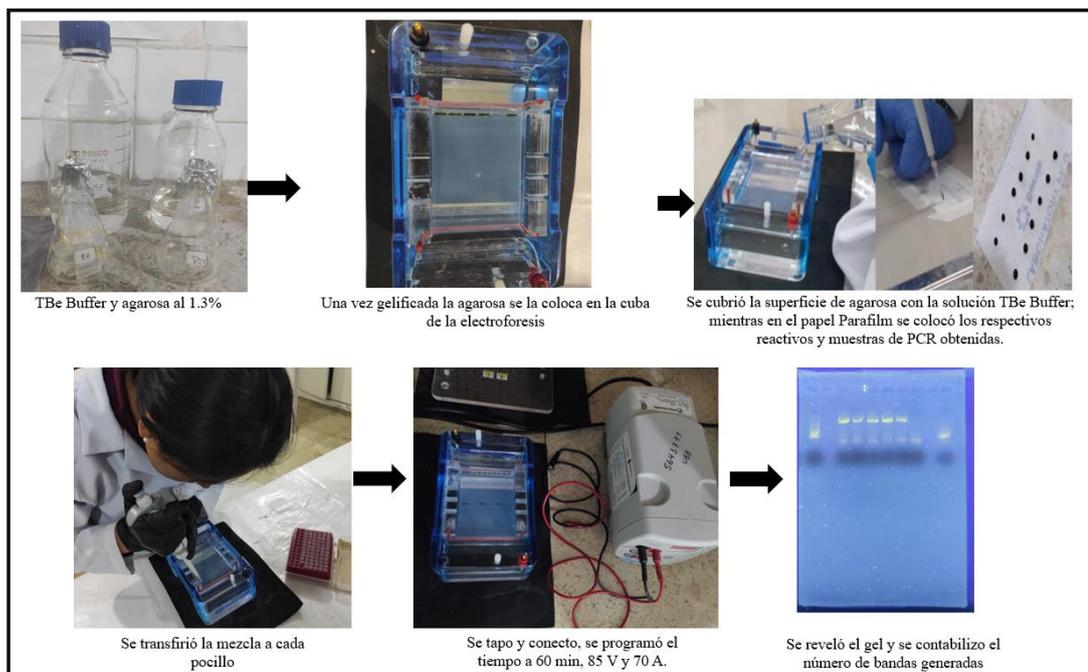
Perfil térmico			
Etapas	Tiempo	Temperatura	Ciclos
<b>Desnaturalización inicial</b>	3 min	94°C	
<b>Desnaturalización</b>	40 s	94°C	
<b>Anelamiento</b>	40 s	54°C	
<b>Extensión</b>	40 s	72°C	40
<b>Extensión final</b>	5 min	72°C	

Fuente: (Espinoza & Quito, 2023).

Realizado por: Merino, Y., 2023.

### 3.3.5. Electroforesis

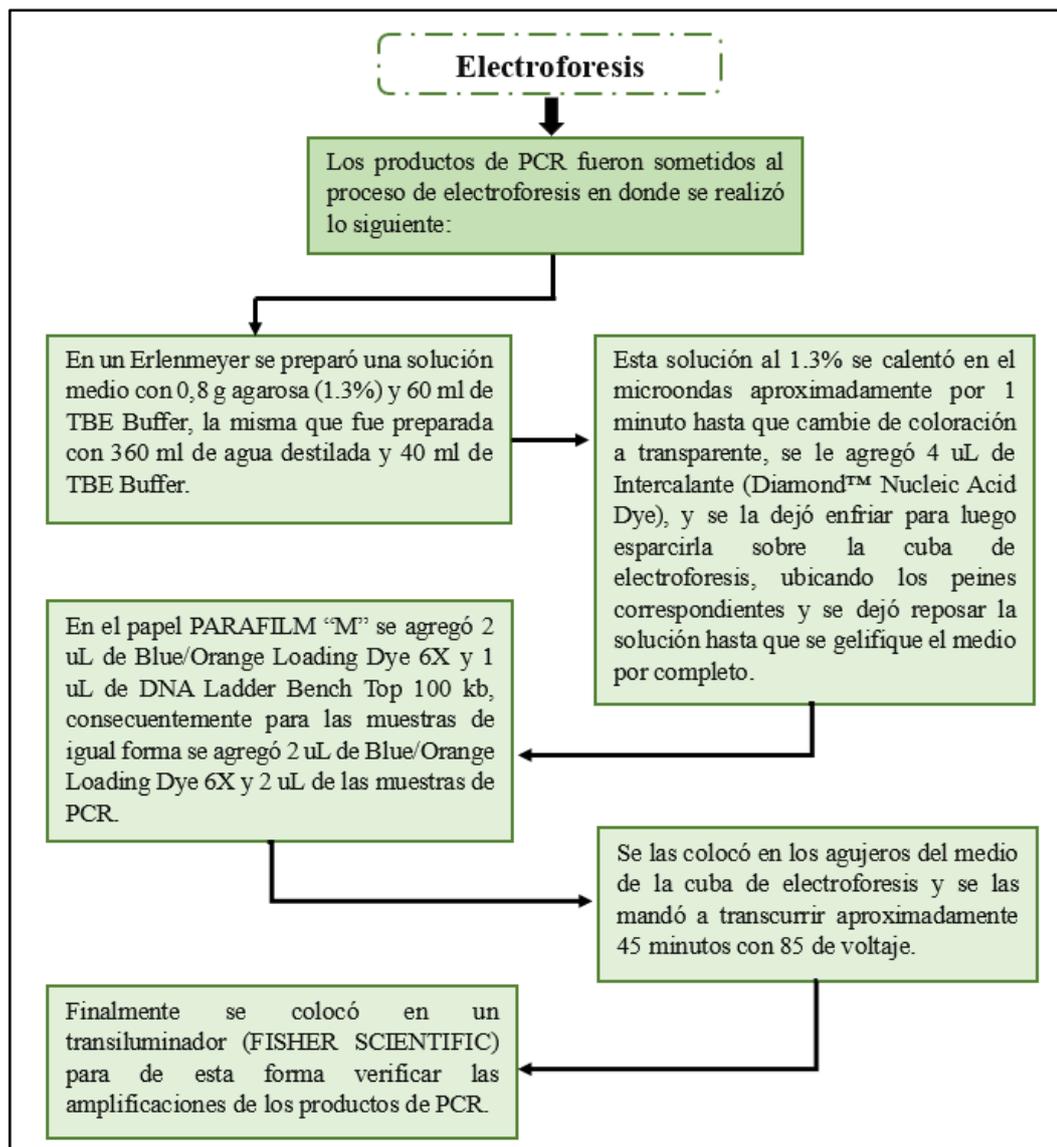
El proceso de electroforesis se realizó el siguiente procedimiento (Ilustración 3-8):



**Ilustración 3-7:** Proceso de electroforesis

Realizado por: Merino, Y., 2023.

Se llevaron a cabo los siguientes pasos para el procedimiento de electroforesis, tal como se indica en la Ilustración 3-8.



**Ilustración 3-8:** Electroforesis

**Fuente:** (Cedia et al, 2023).

**Realizado por:** Merino, Y., 2023.

### 3.3.6. Secuenciamiento

Para el proceso de secuenciamiento, las muestras fueron enviadas a la empresa MACROGEN COREA, en donde en base a los resultados positivos del proceso de electroforesis, se señaló que muestras presentan el virus *Cactus virus X* (CVX) o *Schlumbergera virus X* (SchVX) dentro de las diferentes fincas.

### **3.3.7. Análisis moleculares**

Se realizó análisis filogenéticos, usando el método Neighbor-Joining a nivel de nucleótidos implementado en MEGAX, considerando la secuenciación de diversos géneros pertenecientes a la familia Alphaflexiviridae.

### **3.3.8. Variables y métodos de evaluación**

#### **3.3.8.1. Incidencia**

Para determinar la incidencia se tomó en cuenta la cantidad de plantas enfermas, relacionado con la totalidad de plantas analizadas por finca de acuerdo con las muestras; en donde se aplicó la siguiente fórmula propuesta por Ayala (2008):

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

#### **3.3.8.2. Severidad**

Se estimó la severidad en base a la gravedad de la enfermedad presentada en los cladodios, a través del porcentaje del área foliar que presenten daño o la sintomatología de los virus *Cactus virus X* (CVX) y *Schlumbergera virus X* (SchVX) en estudio; para su evaluación se tomó en cuenta la siguiente escala dada por Cedia et. al. (2023).

**Tabla 3-7:** Escala diagramática de síntomas del virus *Schlumbergera virus X*

Escala de daño	Descripción	
1	Manchas redondeadas cloróticas leves, menor a un 10% del cladodio y sin manchas anulares.	
2	Manchas cloróticas redondeadas más notorias entre un 10 a 20% del cladodio y sin manchas anulares.	
3	Manchas cloróticas redondeadas notorias entre un 20 a 30% del cladodio y presencia de manchas anulares.	
4	Manchas Cloróticas y manchas anulares entre un 30 a 50% del cladodio con dimensiones entre 0.5 a 1 cm.	
5	Manchas cloróticas y manchas anulares de más de 1 cm de diámetro, muy notorias entre un 50 a 70%. Las manchas se fusionan entre sí, formando grandes masas cloróticas.	

Realizado por: Merino, Y., 2023.

## CAPÍTULO IV

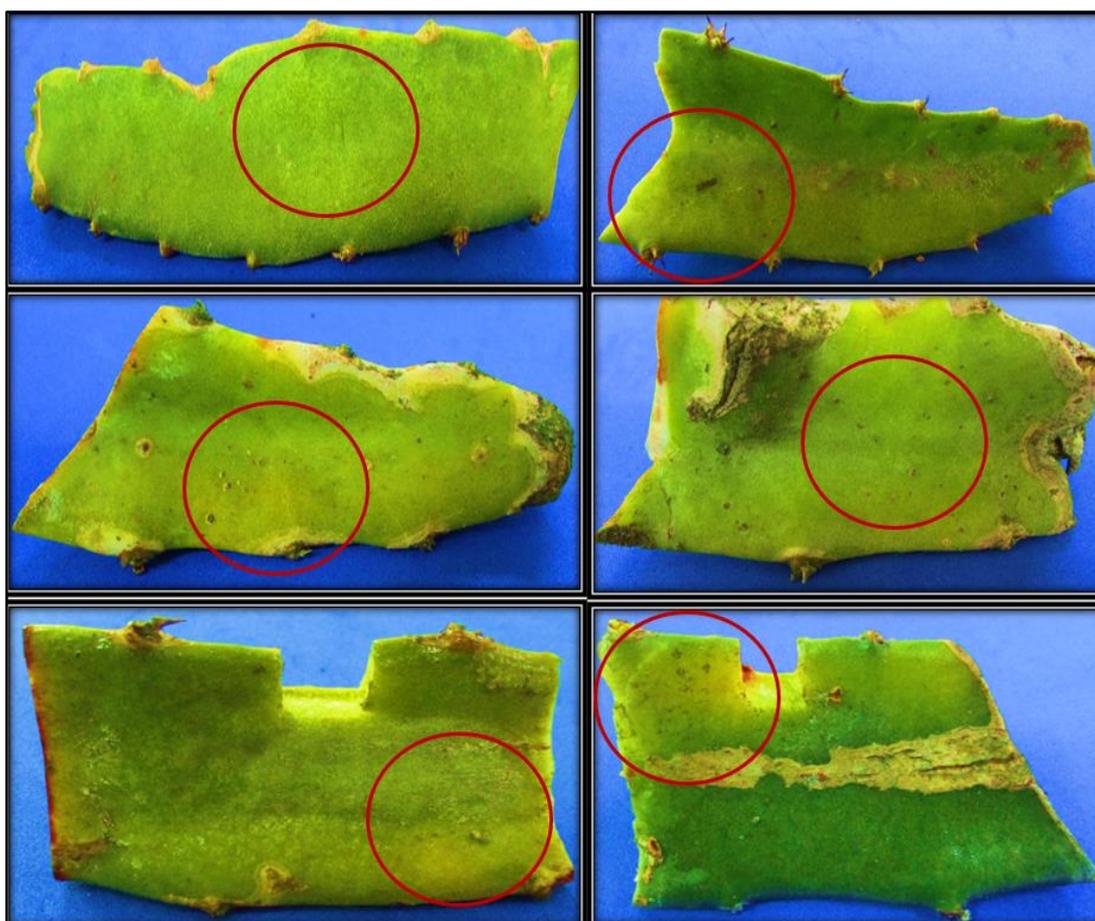
### 4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Evaluación de la Incidencia y Severidad

##### 4.1.1. Síntomas de las muestras recolectadas

Usando la escala de síntomas dada por Cedia et. al. (2023), se identificó entre todas las plantas cuáles presentaban algún tipo de síntoma. Los síntomas asociados con el virus de pitahaya SchVX que se observaron en los cladodios recolectados fueron muy similares en su totalidad. Se identificaron moteados, manchas anulares y clorosis, los cuales pueden manifestarse de manera leve, casi imperceptible o muy notoria.

A continuación, se muestra la sintomatología manifestada en las muestras recolectadas:



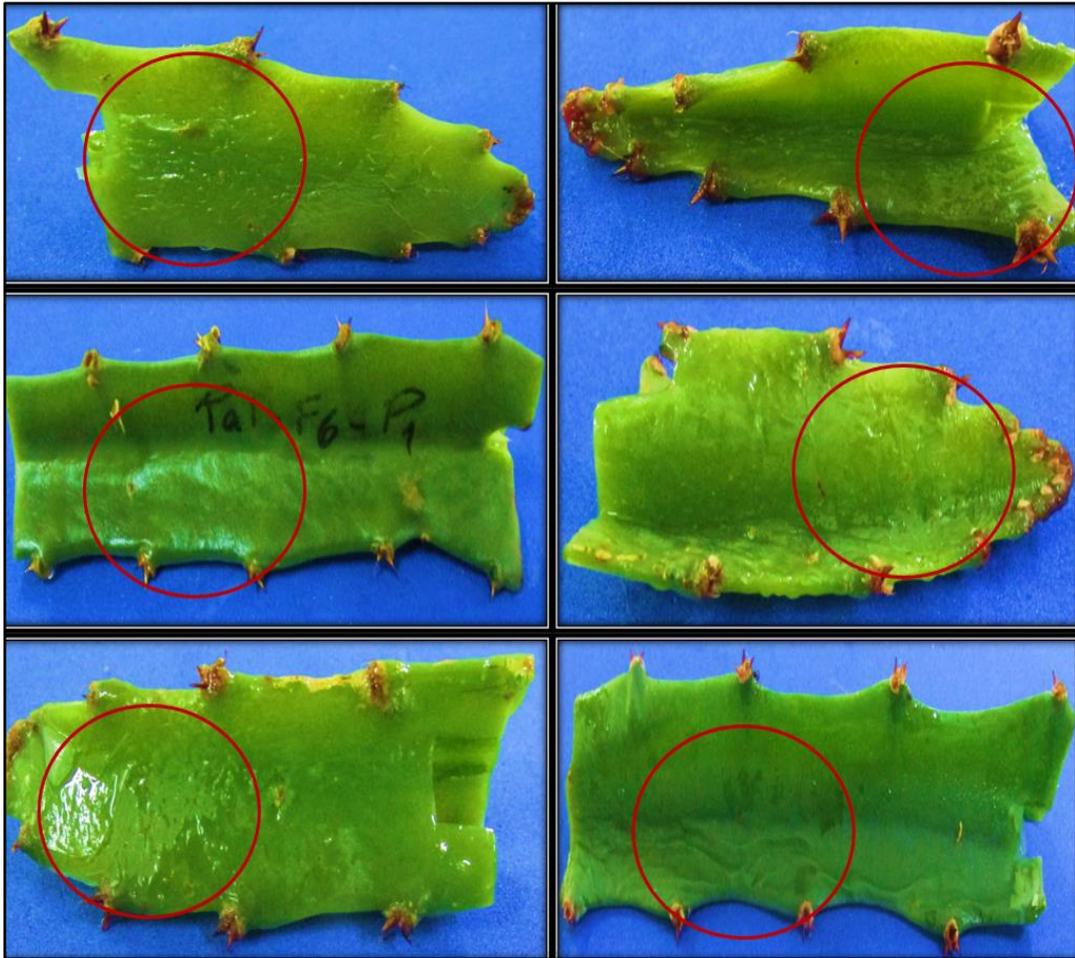
**Ilustración 4-1:** Manchas anulares y clorosis presentes en las muestras recolectadas

Realizado por: Merino, Y., 2023.



**Ilustración 4-2:** Anillos cloróticos presentes en las muestras recolectadas

Realizado por: Merino, Y., 2023.

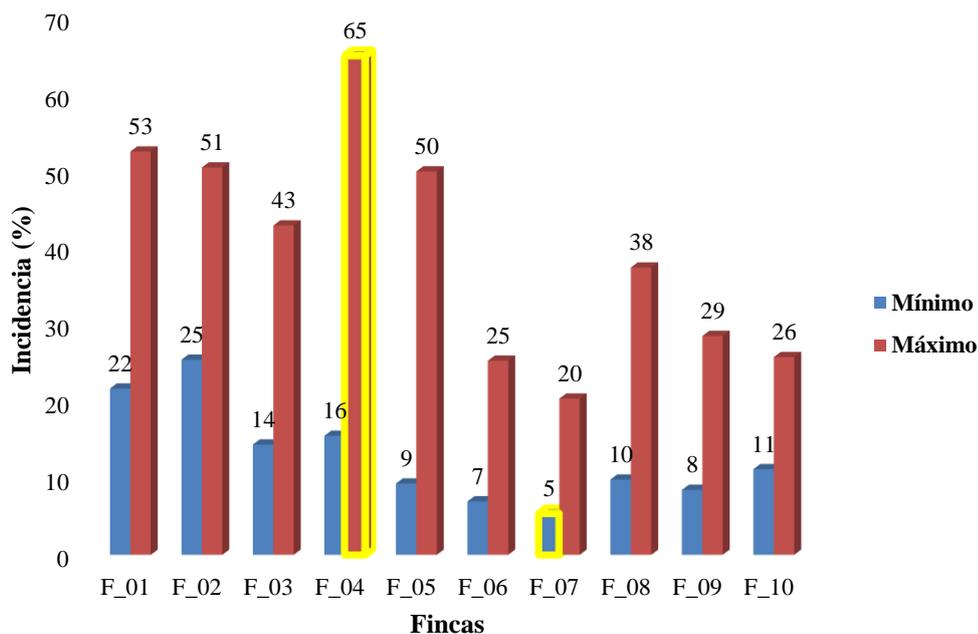


**Ilustración 4-3:2** Deformaciones y arrugamientos de las muestras recolectadas

Realizado por: Merino, Y., 2023.

#### ***4.1.2. Incidencia a nivel de planta***

A continuación, se detalla la evaluación de la incidencia en diferentes fincas y localidades en el cantón Palora, junto con los valores mínimo, máximo y promedio de la incidencia (Ilustración 4-4) (Tabla 4-1).



**Ilustración 4-3:** Incidencia a nivel de planta

Realizado por: Merino, Y., 2023.

**Tabla 4-12:** Incidencia a nivel de planta en las distintas localidades del cantón Palora

CANTÓN	LOCALIDAD	INCIDENCIA			
		Nº FINCA	Mínimo	Máximo	Promedio
Palora	Simón Bolívar	F_01	22	53	41
Palora	Sangay	F_02	25	51	36
Palora	Agua potable	F_03	14	43	29
Palora	Agua potable	F_04	16	65	33
Palora	Sangay	F_05	9	50	25
Palora	Finca Tierra Dulces	F_06	7	25	14
Palora	Los Lirios	F_07	5	20	14
Palora	Sangay	F_08	10	38	19
Palora	Finca Easwealth	F_09	8	29	14
Palora	Sangay	F_10	11	26	16
<b>PROMEDIO</b>			13	40	24

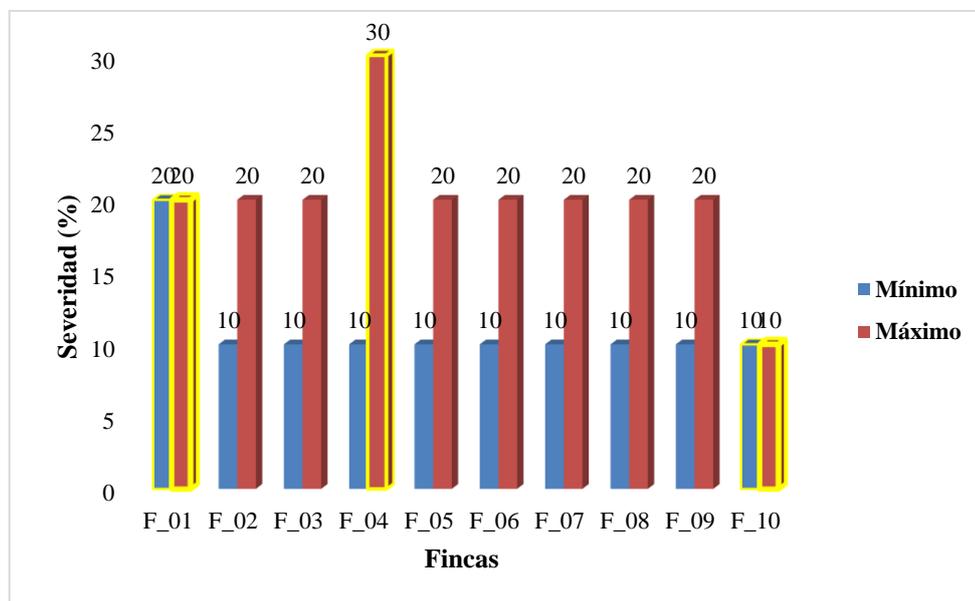
Realizado por: Merino, Y., 2023.

En el caso de la finca **F\_01** en la localidad de Simón Bolívar, la incidencia varía de 22% como mínimo a 53% como máximo, con un valor promedio de 41%; **F\_02** en la localidad de Sangay tiene una incidencia que varía de 25% (mínimo) a 51% (máximo), con un promedio de 36%; **F\_03**

en la localidad de Agua Potable tiene una incidencia que varía de 14% (mínimo) a 43% (máximo), con un promedio de 29%; **F\_04** en la localidad de Agua Potable tiene una incidencia que varía de 16% (mínimo) a 65% (máximo), con un promedio de 33%; **F\_05** en la localidad de Sangay tiene una incidencia que varía de 9% (mínimo) a 50% (máximo), con un promedio de 25%; **F\_06** en la localidad de Finca Tierra Dulces tiene una incidencia que varía de 7% (mínimo) a 25% (máximo), con un promedio de 14%; **F\_07** en la localidad de Los Lirios tiene una incidencia que varía de 5% (mínimo) a 20% (máximo), con un promedio de 14%; **F\_08** en la localidad de Sangay tiene una incidencia que varía de 10% (mínimo) a 38% (máximo), con un promedio de 19%; **F\_09** en la localidad de Finca Easwealth tiene una incidencia que varía de 8% (mínimo) a 29% (máximo), con un promedio de 14%; **F\_10** en la localidad de Sangay tiene una incidencia que varía de 11% (mínimo) a 26% (máximo), con un promedio de 16%. El promedio general para todas las fincas es con una incidencia mínima promedio de 13%, un máximo promedio de 40% y un promedio general de incidencia del 24%.

#### 4.1.3. Severidad a nivel de planta

A continuación, se muestra datos de severidad en diferentes fincas y localidades en el cantón Palora, con valores mínimo, máximo y promedio de severidad (Tabla 4-2) (Ilustración 4-2).



**Ilustración 4-4:** Severidad a nivel de planta

Realizado por: Merino, Y., 2023.

**Tabla 4-2:** Severidad a nivel de planta en las distintas localidades del cantón Palora

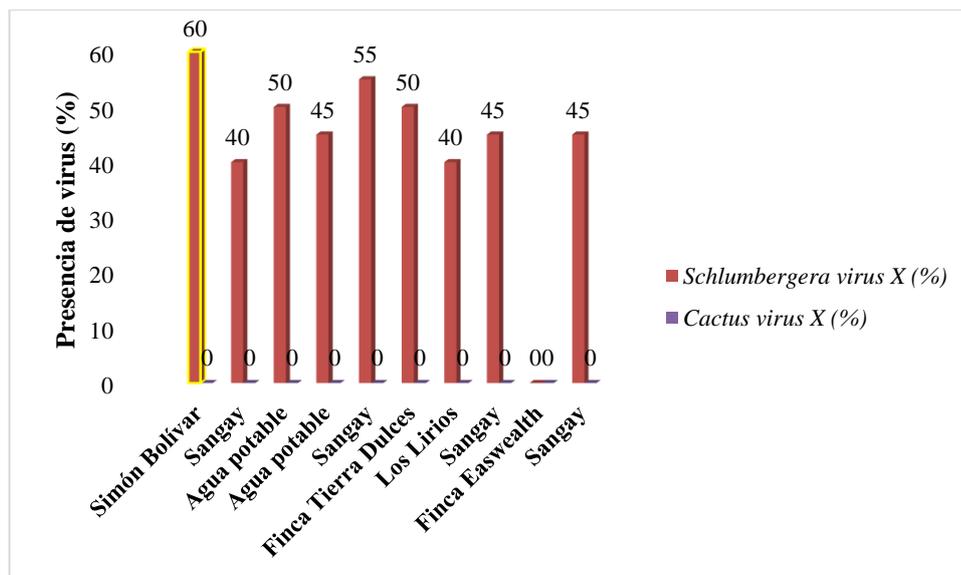
CANTÓN	LOCALIDAD	SEVERIDAD			
		Nº FINCA	Mínimo	Máximo	Promedio
Palora	Simón Bolívar	F_01	20	20	20
Palora	Sangay	F_02	10	20	16
Palora	Agua potable	F_03	10	20	15
Palora	Agua potable	F_04	10	30	18
Palora	Sangay	F_05	10	20	14
Palora	Finca Tierra Dulces	F_06	10	20	14
Palora	Los Lirios	F_07	10	20	15
Palora	Sangay	F_08	10	20	14
Palora	Finca Easwealth	F_09	10	20	11
Palora	Sangay	F_10	10	10	10
<b>PROMEDIO</b>			11	20	15

Realizado por: Merino, Y., 2023.

En el caso de la finca **F\_01** en la localidad de Simón Bolívar, la severidad presenta un valor promedio de 20; **F\_02** en la localidad de Sangay tiene una severidad que varía de 10 (mínimo) a 20 (máximo), con un promedio de 16; **F\_03** en la localidad de Agua Potable tiene una severidad que varía de 10 (mínimo) a 20 (máximo), con un promedio de 15; **F\_04** en la localidad de Agua Potable tiene una severidad que varía de 10 (mínimo) a 30 (máximo), con un promedio de 18; **F\_05** en la localidad de Sangay tiene una severidad que varía de 10 (mínimo) a 20 (máximo), con un promedio de 14; **F\_06** en la localidad de Finca Tierra Dulces tiene una severidad que varía de 10 (mínimo) a 20 (máximo), con un promedio de 14; **F\_07** en la localidad de Los Lirios tiene una severidad que varía de 10 (mínimo) a 20 (máximo), con un promedio de 15; **F\_08** en la localidad de Sangay tiene una severidad que varía de 10 (mínimo) a 20 (máximo), con un promedio de 14; **F\_09** en la localidad de Finca Easwealth tiene una severidad que varía de 10 (mínimo) a 20 (máximo), con un promedio de 11; **F\_10** en la localidad de Sangay tiene una severidad constante de 10.

#### 4.2. Distribución de virus *Schlumbergera virus X* y *Cactus virus X*

A continuación, se muestra la distribución de los virus *Schlumbergera virus X* y *Cactus virus X* en diferentes fincas y localidades en el cantón Palora (Tabla 4-19) (Ilustración 4-16).



**Ilustración 4-5:** Distribución de virus

Realizado por: Merino, Y., 2023.

**Tabla 4-3:** Distribución de virus en las plantaciones de pitahaya del cantón Palora

N° Fincas	CANTÓN	RECINTO	LOCALIDAD	<i>Schlumbergera virus X (%)</i>	<i>Cactus virus X (%)</i>	Total (%)
<b>F_01</b>	Palora	Tashapi	Simón Bolívar	60	0	60
<b>F_02</b>	Palora	Sangay	Sangay	40	0	40
<b>F_03</b>	Palora	Palora	Agua potable	50	0	50
<b>F_04</b>	Palora	Palora	Agua potable	45	0	45
<b>F_05</b>	Palora	Palora	Sangay	55	0	55
<b>F_06</b>	Palora	Palora	Finca Tierra Dulces	50	0	50
<b>F_07</b>	Palora	Los Laureles	Los Lirios	40	0	40
<b>F_08</b>	Palora	Los Laureles	Sangay	45	0	45
<b>F_09</b>	Palora	10 de agosto	Finca Easwealth	0	0	0
<b>F_10</b>	Palora	Palora	Sangay	45	0	45

Realizado por: Merino, Y., 2023.

Los datos presentados en la (Tabla 4-3) y la (Ilustración 4-6), están relacionados con la presencia de los virus *Schlumbergera virus X* y *Cactus virus X* en diferentes localidades del cantón Palora;

se registró el 60% de casos positivos del virus *Schlumbergera virus X* en la localidad de "Simón Bolívar"; en la localidad de "Sangay", se halló el 40% de casos confirmados de esta misma infección; en la localidad de "Agua potable", se identificó el 50% de casos positivos, mientras que en otra área con el mismo nombre, se reportó el 45% de casos positivos; en la localidad Sangay se registró el 55% de casos positivos; en la localidad de "Finca Tierra Dulces", se registró el 50% de casos positivos. "Los Lirios" presentó el 40% de casos positivos de la enfermedad. Nuevamente, en la localidad de "Sangay", se detectó el 45% de casos positivos. No se encontraron casos positivos del virus *Schlumbergera virus X* en la localidad de "Finca Easwealth". Por último, en la localidad de Sangay, se confirmó el 45% de casos positivos de esta infección.

### **4.3. Secuenciamiento**

Las secuencias de nucleótidos obtenidas y alineadas utilizando la base de datos BLAST del Centro Nacional de Información Biotecnológica indicaron lo siguiente:

La muestra Past\_F1\_02 coincide con *Schlumbergera virus X* con un alto porcentaje de identidad del 99.04%; Past\_F1\_03 también corresponde a *Schlumbergera virus X* con un porcentaje de identidad del 98.5%; en el caso de la muestra Past\_F1\_04, se relaciona con *Schlumbergera virus X* con un porcentaje de identidad del 99.73%; Past\_F1\_06 muestra correspondencia con *Schlumbergera virus X* con un sólido porcentaje de identidad del 99.42%; Pal\_F8\_08 se asocia con *Schlumbergera virus X* con un porcentaje de identidad del 96.80% y por último la muestra Pal\_F8\_09 también se relaciona con *Schlumbergera virus X* con un porcentaje de identidad del 95.09%.

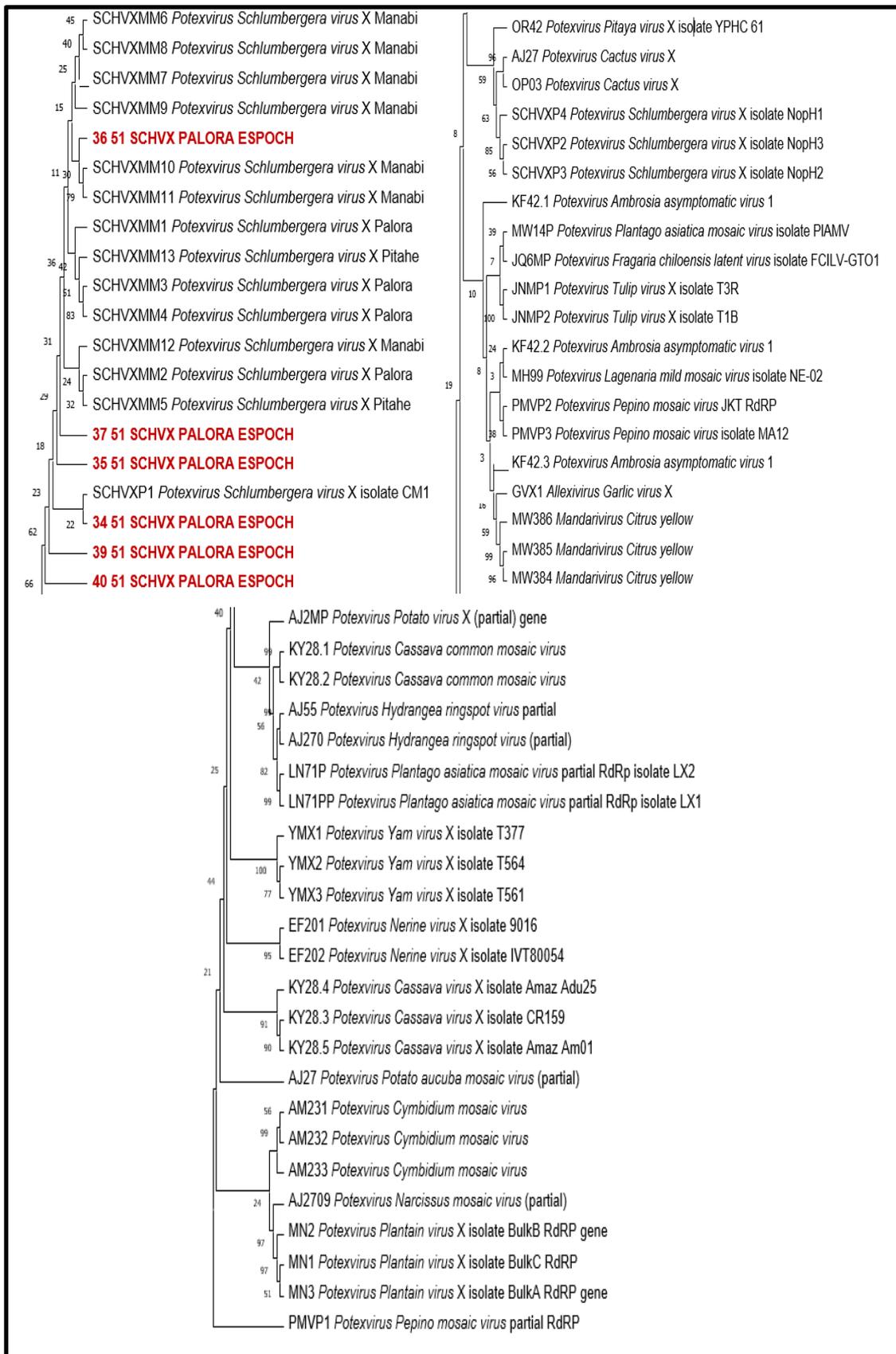
**Tabla 4-4:** Identificación molecular de las muestras en estudio mediante BLASTn en el GenBank del NCBI

<b>Código</b>	<b>Patógeno</b>	<b>Porcentaje de Identidad</b>	<b>Número de acceso al Gen Bank</b>	<b>Tamaño Nucleótido</b>	<b>E-value</b>	<b>Origen</b>
<b>Past_F1_02</b>	<i>Schlumbergera virus X</i>	99.04	OQ559403.1	537	0.0	Ecuador
<b>Past_F1_03</b>	<i>Schlumbergera virus X</i>	98.5	OQ559414.1	534	0.0	Ecuador
<b>Past_F1_04</b>	<i>Schlumbergera virus X</i>	90.73	OQ559417.1	514	0.0	Ecuador
<b>Past_F1_06</b>	<i>Schlumbergera virus X</i>	99.42	OQ559408.1	517	0.0	Ecuador
<b>Past_F5_08</b>	<i>Schlumbergera virus X</i>	90.73	OQ559417.1	514	0.0	Ecuador
<b>Pal_F8_08</b>	<i>Schlumbergera virus X</i>	96.80	OQ559408.1	594	0.0	Ecuador
<b>Pal_F8_09</b>	<i>Schlumbergera virus X</i>	95.09	OQ559408.1	434	0.0	Ecuador

Realizado por: Merino, Y., 2023.

### **Análisis molecular**

Se empleó el enfoque de Neighbor-Joining a nivel de nucleótidos utilizando MEGAX, considerando la secuenciación de diversos géneros pertenecientes a la familia Alphaflexiviridae. Se incluyeron varias especies de estos géneros y se organizaron de la siguiente manera (Ilustración 4-7):



**Ilustración 4-6:** Árbol filogenético de virus

Realizado por: Merino, Y., 2023.

#### 4.4. Discusión

Según los resultados obtenidos en este estudio, se ha determinado que la causa probable de los problemas que afectan a las plantas de pitahaya, como las manchas anulares y deformaciones graves, es la presencia de virus. Además, se observó que el rango de hospedantes afectados es limitado, ya que solo algunas especies de plantas mostraron daños. Estos hallazgos sugieren que la presencia de virus específicos puede estar relacionada con los síntomas observados en las plantas de pitahaya, y que estas infecciones pueden ser selectivas en cuanto a las especies vegetales afectadas.

Los hallazgos obtenidos coinciden con los resultados presentados por Maliarenko y Murak (2013), quienes registraron la asociación entre un virus perteneciente al género *Potexvirus* y la inducción de lesiones locales en las plantas *Chenopodium quinoa* y *Celosia amaranticolor* al utilizar macerados de diversas especies de cactáceas. Esto sugiere la posible presencia de al menos un *Potexvirus* en las muestras de pitahaya. En contraste, los resultados no concuerdan con los informes de Duarte y su equipo (2008), quienes observaron daño sistémico en las mismas plantas al emplear macerados de *Opuntia tuna*, *Schlumbergera truncata* e *Hylocereus undatus*.

Además, en los ensayos de RT-PCR se logró detectar de manera evidente la presencia del virus *Schlumbergera virus X* (SchVX), clasificado en el género *Potexvirus*. Esto sugiere que la detección podría estar identificando otro *Potexvirus* específico de las cactáceas, como el virus *Opuntia virus X* (OpVX), *Zygocactus virus X* (ZyVX), o el virus *Cactus virus X* (CVX), todos los cuales guardan estrecha relación con el SchVX. (Koenig et al., 2004; Duarte et al., 2008).

Estas correspondencias se reflejaron en los porcentajes de similitud de las secuencias obtenidas al ser cotejadas con las secuencias almacenadas en la base de datos GenBank. Se logró un porcentaje del 90% para *Potexvirus*, en línea con los porcentajes de similitud de las secuencias del virus *Schlumbergera virus X* (SchVX), perteneciente al género *Potexvirus* y presente en cactáceas, según lo reportado en la investigación de Koenig y colaboradores en 2004.

La utilización de la secuenciación masiva de RNA-seq ha probado ser exitosa en diversos estudios, posibilitando la detección de secuencias asociadas a virus previamente conocidos y, lo que es aún más relevante, el hallazgo de virus nuevos que hasta ese momento no habían sido identificados.

Algunos de estos nuevos virus se han detectado en cultivos de importancia económica en diferentes regiones del mundo. Por ejemplo, se han encontrado en uvas en California y Sudáfrica (Al Rwahnih et al., 2009; Coetzee et al., 2010), en camotes en Honduras y Guatemala (Kreuze et al., 2009; Kashif et al., 2012), y en jitomates en México (Li et al., 2013).

La secuenciación del ARNm proporciona una ventaja adicional al suministrar información integral sobre el transcriptoma de la planta en una única ejecución. Esto posibilita la realización de análisis detallados sobre la manera en que la planta huésped reacciona ante la infección viral y cómo el virus puede afectar el sistema de respuesta de la planta a través del proceso de silenciamiento génico inducido (Nagano et al., 2015).

Un aspecto esencial de la RNA-seq es su capacidad para llevar a cabo una amplificación y secuenciación en profundidad, superando los métodos tradicionales. Esto ha permitido secuenciar íntegramente los genomas de los virus que se encuentran en la pitahaya. Estos resultados confirman la utilidad universal de la tecnología RNA-seq, ya que posibilita la obtención de secuencias virales completas o parciales en situaciones en las que no se disponen de información previa sobre los posibles virus presentes.

Evaluar el impacto económico directo de estos virus en el cultivo de pitahaya puede plantear desafíos debido a la propagación vegetativa de los cladodios en este tipo de cultivo. No obstante, es plausible que la mayoría de los cultivares en esa región estén infectados con al menos uno de los virus identificados en el estudio. Los cladodios que presentan daños significativos, como deformidades o manchas anulares amarillas intensas, generalmente se eliminan durante la cosecha. Esta práctica podría ocasionar una disminución en la producción, dado que los cladodios afectados son descartados antes de la comercialización, lo que podría traducirse en pérdidas económicas para los productores.

Adicionalmente, el método de propagación vegetativa también complica la aplicación de medidas fitosanitarias efectivas. La transmisión mecánica de los virus entre plantas, que puede suceder debido al manejo manual durante la cosecha de los cladodios jóvenes, incrementa la complejidad en el control y la prevención de la propagación de estos virus en el cultivo de pitahaya.

De acuerdo con la referencia de Suárez et al. (2021), la identificación morfológica de secuencias debe considerar dos parámetros clave. En primer lugar, el valor de E (E-value) debe ser cercano a 0,0. En segundo lugar, el porcentaje de identidad debe estar en un rango del 90% al 100%. Estos criterios son importantes para una identificación precisa y confiable de las secuencias.

Entonces, según la información proporcionada, todas las muestras cumplen con los criterios mencionados para la identificación morfológica de secuencias. Todas ellas tienen un porcentaje de identidad mayor al 90.73% y un valor de E (E-value) igual a 0,0. Estos resultados sugieren una alta similitud morfológica entre las secuencias analizadas y las referencias utilizadas en el estudio.

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

Se registró una incidencia promedio del 24% de infección por virus en plantas en varias plantaciones de pitahaya en el cantón Palora. La localidad con la mayor incidencia fue "Agua Potable" con un 65%, mientras que la menor fue en la localidad de Los Lirios con un 5%. En cuanto a la severidad, el promedio fue del 15%, siendo "Agua Potable" la localidad con la mayor severidad, alcanzando el 30%, según los datos recopilados durante el muestreo y la recolección.

Se logró determinar la existencia y la identidad del virus *Schlumbergera Virus X* (SchVX), clasificado en el género *Potexvirus*. Las plantas afectadas presentaban síntomas característicos, como manchas anulares y deformidades graves. Este hallazgo constituye una valiosa contribución para comprender la diversidad viral que afecta a este cultivo. Además, es importante señalar que no se detectó la presencia del virus *Cactus virus X* (CVX) en las fincas analizadas.

Respecto a la distribución, se observó que de las diez fincas evaluadas en el cantón Palora, ubicado en la provincia de Morona Santiago, nueve mostraron la presencia del virus *Schlumbergera virus X*, siendo la finca nueve (Finca Easwealth) la excepción; no obstante, ninguna de ellas exhibió la presencia del virus *Cactus virus X*.

#### 5.2. Recomendaciones

Llevar a cabo una caracterización biológica exhaustiva del virus *Schlumbergera virus X* (SchVX), es decir secuenciar completamente el genoma mediante productos obtenidos a través de RT-PCR.

Realizar comparaciones a nivel transcriptómico entre plantas de pitahaya infectadas con los virus y plantas que estén libres de virus. Estas comparaciones permitirán investigar las posibles relaciones en la respuesta de defensa de la planta a la infección viral, así como explorar las implicaciones que los virus podrían tener en el metabolismo de la planta.

Efectuar análisis en muestras de plantas de la familia Cactácea, ya que esto permitiría realizar comparaciones posteriores entre las secuencias nucleotídicas de los virus presentes en plantas cultivadas y plantas silvestres de la misma familia. Estas comparaciones podrían arrojar

información valiosa sobre la diversidad y la interacción de los virus en diferentes tipos de plantas de cactus, lo que podría contribuir a una comprensión más completa de la epidemiología viral en esta familia botánica.

Realizar análisis posteriores que involucren la inoculación de macerados de cladodios dañados en cladodios que estén libres de virus y que hayan germinado a partir de semillas. Posteriormente, se podría llevar a cabo el diagnóstico mediante ensayos de RT-PCR utilizando oligonucleótidos específicos para la proteína de la cápside (CP), con la expectativa de observar la aparición de las manchas anulares. Este enfoque experimental podría ayudar a confirmar la relación causal entre la presencia de ciertos virus y los síntomas observados en las plantas de pitahaya, brindando así una comprensión más sólida de la patología viral en estas plantas.

## **GLOSARIO**

**Electroforesis:** Procedimiento para separar partículas cargadas según sus diferencias de migración en un campo eléctrico (Ryan y Ray, 2017, págs. 80-125).

**Gel de agarosa:** Agar altamente purificado (Ryan y Ray, 2017, págs. 80-125).

**Gen:** Secuencia de DNA que codifica para un polipéptido o molécula de RNA (Ryan y Ray, 2017, págs. 80-125).

**Género:** Grupo bien definido de especies que se distingue claramente de otros microorganismos (Ryan y Ray, 2017, págs. 80-125).

**Incidencia:** El número de casos nuevos de una enfermedad dentro de un periodo especificado (Ryan y Ray, 2017, págs. 80-125).

**Necrosis:** Muerte del tejido (Ryan y Ray, 2017, págs. 80-125).

**Patogénico:** Capaz de ocasionar enfermedad (Ryan y Ray, 2017, págs. 80-125).

**PCR (Por sus siglas en ingles reacción en cadena de polimerasa):** técnica de análisis del genoma mediante la amplificación ilimitada de porciones específicas del DNA, aunque sean minúsculas (Ulloa, 2006, pág.43).

**Primers:** los iniciadores de la PCR, también denominados cebadores o primers, son oligonucleótidos sintéticos que hibridan con la región, complementaria al DNA molde, que se desea amplificar y propician el inicio de la reacción de elongación por la Taq DNA polimerasa (Ulloa, 2006: pág. 47).

**Síntoma:** Reacciones o alteraciones internas o externas que sufre una planta como resultado de su enfermedad (Peña et al., 2015: págs. 11).

**Sintomatología:** Parte de la patología vegetal que estudia los síntomas de las enfermedades, así como la etiología estudia sus causas (Pío Font Quer, 2010: págs. 1003)

## BIBLIOGRAFÍA

1. **AGROCALIDAD.** *Exportaciones de pitahaya crecieron casi 60% en 2021.* [ en línea]. Ecuador: MAG-AGROCALIDAD, 2022. [Consulta: 15 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.agrocalidad.gob.ec/exportacionesde-pitahaya-crecieron-casi-60-en-2021/#:~:text=Durante%20el%20a%C3%B1o%202021%2C%20se.>
2. **BOX, M.** *Prontuario de agricultura. Cultivos agrícolas* [en línea]. Madrid-España: Aedos, 2005. [Consulta: 20 julio 2023]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=Glts8S4zuWAC&pg=PA897&dq=fertilizaci%C3%B3n+de+la+pitahaya&hl=es419&sa=X&ved=2ahUKewiag56H3b71AhUZRzABHY6TC5M4FBD0AXoECACQAq#v=onepage&q&f=false>
3. **CABRERA, A.** *Agar-Agar* [en línea]. México: El Universal, 2019. [Consulta: 12 agosto 2023]. Disponible en: <https://www.eluniversal.com.mx/menu/que-es-el-agar-agar>
4. **CRUZ SÁNCHEZ, E.; et al.** “Respuesta de la pitahaya roja (*Hylocereus undatus*) a la aplicación de dos abonos orgánicos sólidos en la zona de San Carlos, Los Ríos, Ecuador”. *Scielo* [en línea], 2019, (Ecuador) 37(3), págs. 2-3. [Consulta: 22 julio 2023]. ISSN. 0718-3429. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-34292019000300099](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292019000300099)
5. **DE LA TORRE, A. R.; et al.** *Ocurrencia de un Tobamovirus asociado con manchas anulares amarillas en nopal tunero en México.* México: Agrociencia, 2007, págs. 763-773.
6. **GADM PALORA.** *Evaluación, actualización y fortalecimiento del plan de desarrollo y ordenamiento territorial del cantón Palora PDyOT PALORA.* Palora-Ecuador: Estudio Q3 Arquitectos Asociados, 2015, págs1-34.
7. **GARCÍA, M.** *Pitaya Cosecha Y Postcosecha* [en línea]. Tibaitatá-Colombia: Pronatta, 2003. [Consulta: 20 julio 2023]. Disponible en: [https://books.google.com.ec/books?id=hGc0pGGO6VYC&printsec=frontcover&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=hGc0pGGO6VYC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

- 8. INFOAGRO.** *El cultivo de pitahaya*. [en línea]. México: Nuevo Mundo, 2012. [Consulta: 22 de julio 2023]. Disponible en: [https://infoagro.com/documentos/el\\_cultivo\\_pitahaya.asp#menuHeaderSectors](https://infoagro.com/documentos/el_cultivo_pitahaya.asp#menuHeaderSectors)
- 9. INIAP.** *Cultivos De La Amazonia Ecuatoriana* [en línea]. Quito-Ecuador : ECORAE, 2001. [Consulta: 20 julio 2023]. Disponible en: [https://books.google.com.ec/books?id=dYgzAQAAMAAJ&printsec=frontcover&source=gb\\_s\\_g\\_e\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=dYgzAQAAMAAJ&printsec=frontcover&source=gb_s_g_e_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
- 10. JIMÉNEZ MARTINEZ, E.; et al.** “Identificación de las principales plagas que afectan la pitahaya (*Hylocereus undatus* Britt and Rose) en Carazo, Nicaragua”. *SciELO* [en línea], 2018, (Nicaragua), 26(01), págs. 192–209. [Consulta: 22 julio 2023]. ISSN 1997-9231. Disponible en: <https://doi.org/10.5377/rci.v26i01.9894>
- 11. JIRÓN, P.** *Perfil de exportación de la pitahaya (Hylocereus undatus)*. Managua-Nicaragua: For Export-APENN, 1997. Págs.. 1-89.
- 12. LIAO, J. Y.; et al.** “Detection and incidence of Cactus virus X in pitaya in Taiwan”. *SciELO*, vol. 12, no 4, (2003). págs. 225-234.
- 13. MONTESINOS CRUZ, Josefina A.; et al.** “Pitahaya (*Hylocereus* spp.) un recurso fitogenético con historia y futuro para el trópico seco mexicano”. *SciELO* [en línea]. 2015, vol. 36, n° 2. págs. 69-78. ISSN 1819-4087. [Consultado: 21 marzo 2023]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193243640007.pdf>
- 14. MORA, P.** *Manejo fitosanitario del cultivo de la pitahaya* [en línea]. Bogotá-Colombia: ICA, 2012. [Consulta: 01 mayo 2023]. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/getattachment/87a2482e-a36a-4380-80ae-11072d0c717c/-nbsp%3BManejo-fitosanitario-del-cultivo-de-pitahaya.aspx>.
- 15. PLOETZ, R.** “Lasiodiplodia theobromae en Cultivos Agrícolas de México: Taxonomía, Hospedantes, diversidad y control” *Revista mexicana de fitopatología* [en línea], 2003, (México) 33(1), pág. 3 [Consulta: 20 Mayo 2023]. ISSN 2007-8080. Disponible en: [www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092015000100054](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000100054)

- 16. RODRIGUEZ, P.** *Producción y comercialización de pitahayas en México Claridades Agropecuarias* [en línea]. México: CUESTAAM, 2000. [Consulta: 14 agosto 2023 ]. Disponible en: <https://info.aserca.gob.mx/claridades/revistas/082/ca082.pdf>
- 17. RYAN, K & RAY, C.** “Sherris. Microbiología médica”, *McGraw Hill* [en línea]. 2017, vol 6 (1). Págs.. 3-5. [Consulta: 25 de julio 2023]. ISSN 2023-0240. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2169&sectionid=162978735>
- 18. SALAZAR GONZÁLEZ, C.; et al.** “Caracterización molecular de Fusarium asociado a pudrición basal del fruto en pitahaya (*Selenicereus megalanthus*)” *Agronomía Mesoamericana* [en línea], 2016, (Costa Rica) vol 27 (2), pág. 7. [Consulta: 20 julio 2023]. ISSN 1021-7444. Disponible en: <https://doaj.org/article/e11efea92e724814aaf25ccf66638b22>
- 19. SCHOCH CL; et al.** *NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford)*. USA: PubMed, 2020. pág. 2-7.
- 20. SUARÉZ CONTRERAS, L.; & PEÑARANDA FIGUEREDO, F.** “Identificación molecular de hongos filamentosos y su potencial biotecnológico”. *Bioteología en el sector agropecuario y agroindustrial* [en línea], 2021, (Colombia) vol. 20 (1), págs. 199-204. [Consulta: 6 octubre 2023]. ISSN 1692-3561. Disponible en: [1692-3561-bsaa-20-01-194.pdf](https://doi.org/10.15446/bioteologia.2021.20.1.199)
- 21. ULLOA, Miguel; & HANLIN, Richard.** *Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología*. [en línea]. México DF-México: Minnesota-Biodiversidad, 2007. [Consulta: 20 Marzo 2023]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/262546012\\_Nuevo\\_diccionario\\_ilustrado\\_de\\_micologia](https://www.researchgate.net/publication/262546012_Nuevo_diccionario_ilustrado_de_micologia)
- 22. VERONA RUIZ, A.; Et al.** “Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Cultivo, características físicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos”. *SCIENTA AGROPECUARIA* [en línea], 2020, (Perú) vol. 11 (3), págs. 12-19. [Consulta: 24 julio 2023]. ISSN 2306-6744. Disponible en: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.16>



## ANEXOS

### ANEXO A: CÁLCULOS PARA PREPARACIÓN DE MIX PARA RT Y PCR

Cálculo para el proceso de RT

#### ***Solución 15 uL (Mix RT)/muestra***

##### ***Reactivos***

- Buffer 5x = 3uL \* (# de muestras a procesar)
- DTT = 1,5uL \* (# de muestras a procesar)
- R. P. = 0,5uL \* (# de muestras a procesar)
- DNTP = 0,5uL \* (# de muestras a procesar)

##### ***Enzimas***

- Ribobluch = 0,2uL \* (# de muestras a procesar)
- Reverse Tra. = 0,2uL \* (# de muestras a procesar)
- H2O = 8,1uL \* (# de muestras a procesar)
- Templ.(muestra) = 1uL

#### ***Solución 6,25 uL (Mix PCR)/muestra***

- FastGene (2x) = 3,13 uL \* (# de muestras a procesar)
- Forward = 0,5uL \* (# de muestras a procesar)
- Reverse = 0,5uL \* (# de muestras a procesar)
- H2O = 1,13 uL \* (# de muestras a procesar)
- Templ (muestra) = 1uL

Cálculo para el proceso de Electroforesis

#### ***Solución medio 1,3% (electroforesis)***

- Agarose = 0,8 g
- 40 ml TBe Buffer con 360ml agua destilada = 60 ml

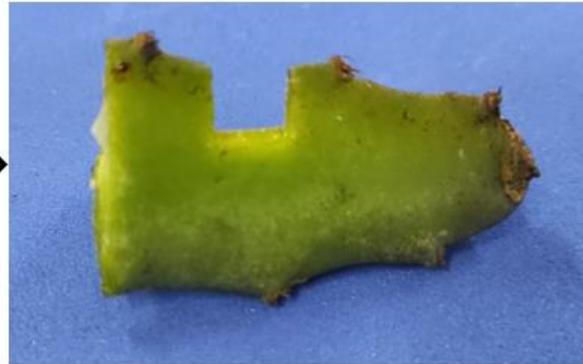
**ANEXO B: RECOLECCIÓN DE MUESTRAS EN LAS DIFERENTES LOCALIDADES DEL CANTÓN PALORA DE LA PROVINCIA DE MORONA SANTIAGO**



## ANEXO C: EXTRACCIÓN DE ARN COMPLEMENTARIO



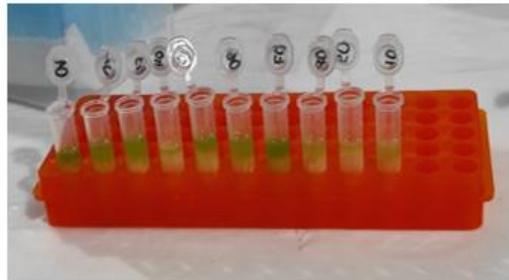
Preparación de materiales



Corte de tejido vegetal



Maceración de tejido vegetal con Beta mercapto etanol (1mL/muestra)



Traslado de la solución homogénea a tubos de 2 ml



Centrifugación de muestras a 5000 rpm por 3 minutos



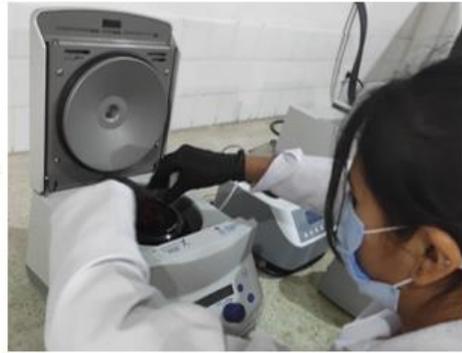
Transferencia del sobrenadante a nuevos tubos de 2 mL, añadiendo Acetato de Potasio por muestra.



Centrifugación a 13000 rpm por 10 minutos



Se transfirió nuevamente sobrenadante a tubos de 1.5 mL, se añade Isopropanol por cada muestra



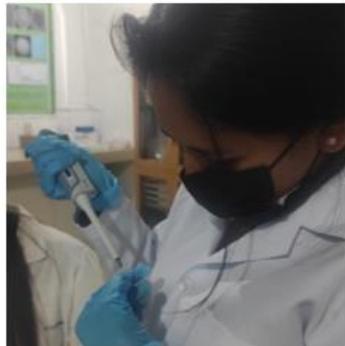
Centrifugó a 13000 rpm por 20 minutos



Descartó el sobrenadante



Se adicionó Wash buffer con etanol a cada muestra



Agregó 25 uL de sílica



Vórtex por 30 segundos



Centrifugó a 5000 rpm por 1 minuto



Se descartó el sobrenadante y se adicionó 500 uL de Wash Buffer con etano, se centrifugó a 13000 rpm por 1 minuto sin sílica



Descartó el sobrenadante



Se colocó en el termo bloque a 50 °C por 10 minutos con la tapa abierta



Se agregó 100 uL de agua ultrapura



Vórtex hasta que el pellet se disuelva



Centrifugó a 13000 rpm por 3 minuto

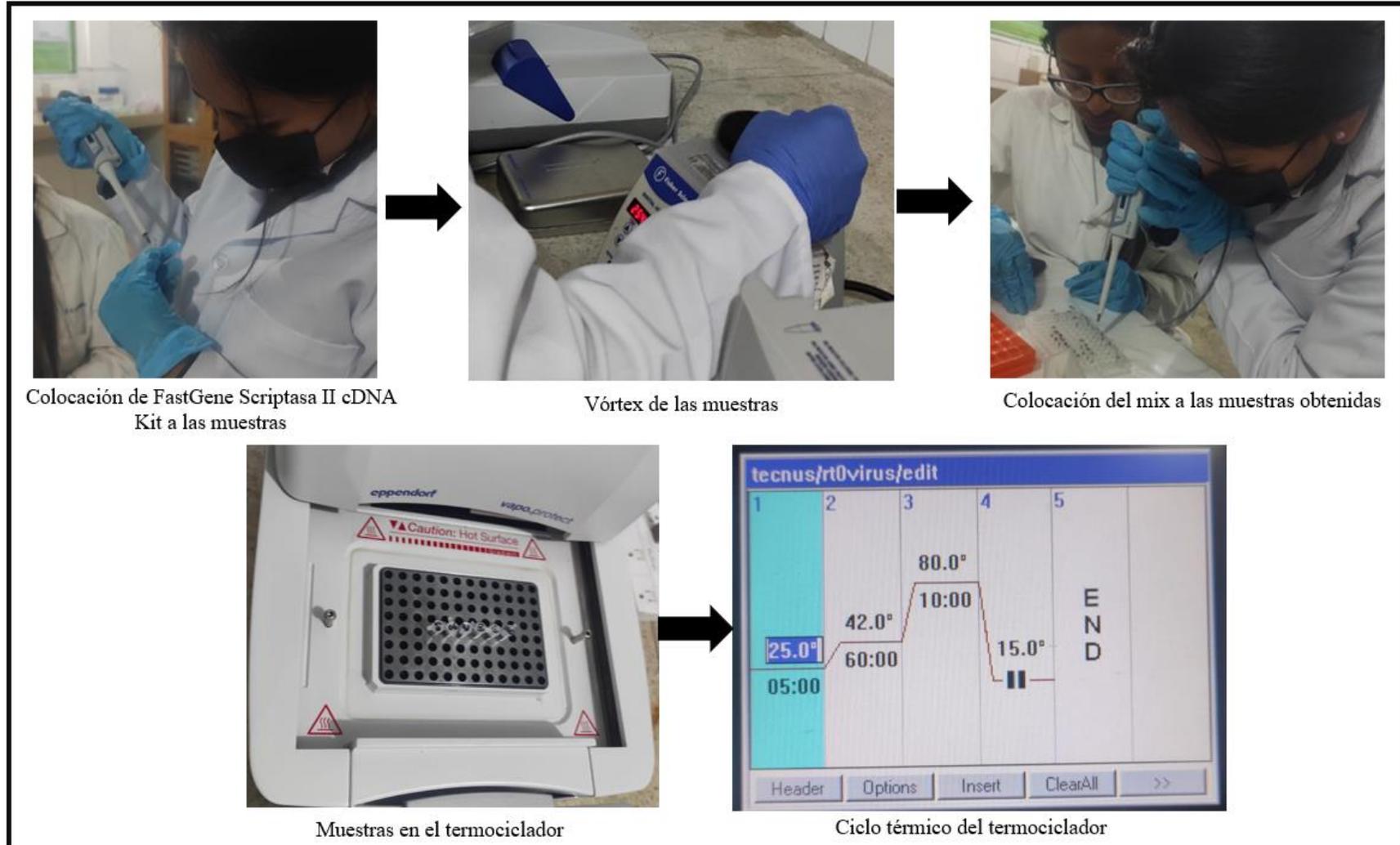


Finalmente se transfirió 100 uL del sobrenadante a nuevos tubos de 1.5 mL

## ANEXO D: CUANTIFICACIÓN DE ARN



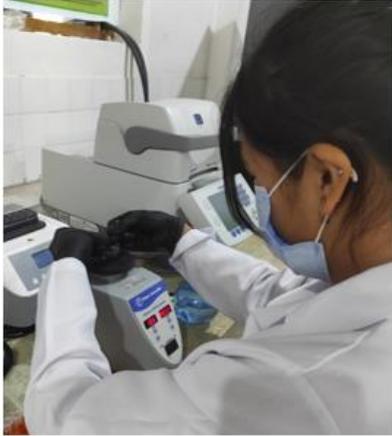
## ANEXO E: PROCESO DE RETROTRANSCRIPCIÓN (RT)



ANEXO F: PROCESO DE PCR CON PRIMERS ESPECÍFICOS



Colocación de FastGene TAQ 2X ReadyMix PCR kit



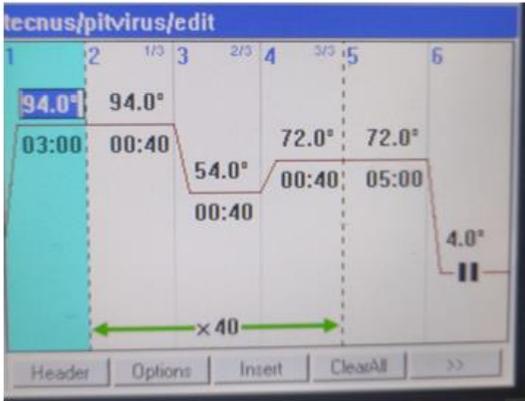
Vórtex de las muestras



Colocación del mix a las muestras



Muestras en el termociclador



Ciclo térmico del termociclador

## ANEXO G: ELECTROFORESIS



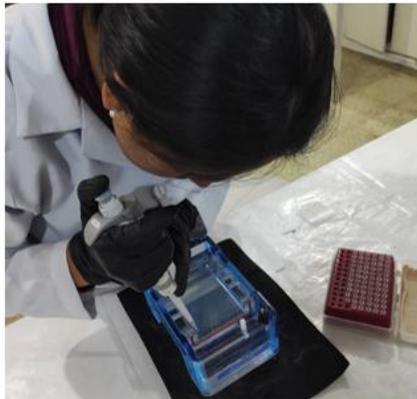
TBe Buffer y agarosa al 1.3%



Una vez gelificada la agarosa se la coloca en la cuba de la electroforesis



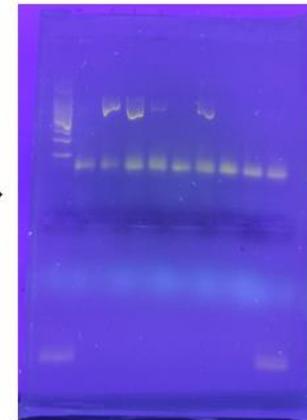
Se cubrió la superficie de agarosa con la solución TBe Buffer; mientras en el papel Parafilm se colocó los respectivos reactivos y muestras de PCR obtenidas.



Se transfirió la mezcla a cada pocillo

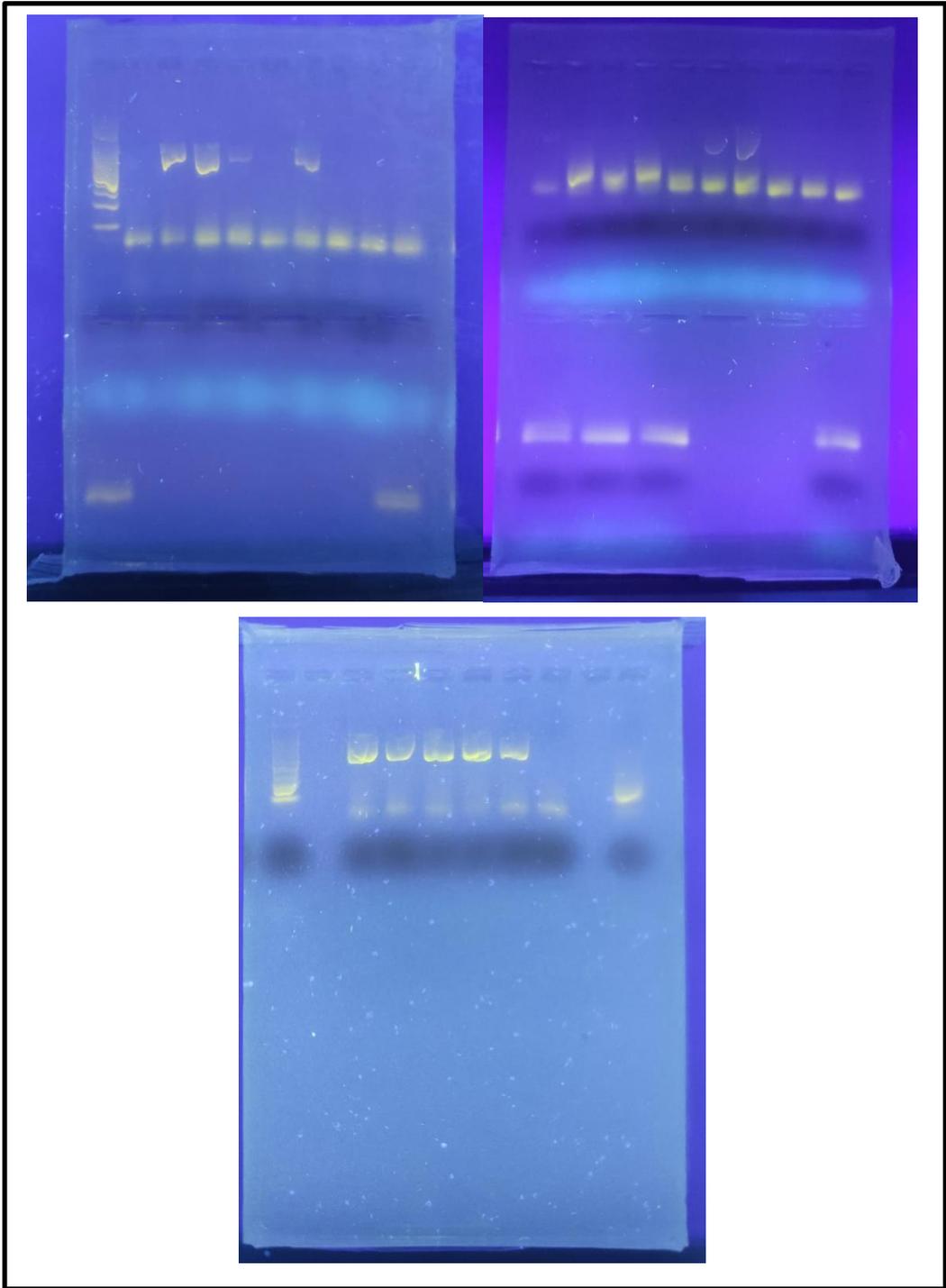


Se tapó y conectó, se programó el tiempo a 60 min, 85 V y 70 A.



Se reveló el gel y se contabilizó el número de bandas generadas

**ANEXO H: GELES REVELADOS EN ELECTROFORESIS (POSITIVOS)**





ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE  
CHIMBORAZO

DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL  
APRENDIZAJE



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

Fecha de entrega: 18 / 01 / 2024

<b>INFORMACIÓN DE LA AUTORA</b>	
<b>Nombres – Apellidos:</b> Yajaira Magaly Merino Gualancañay	
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>	
<b>Facultad:</b> Recursos Naturales	
<b>Carrera:</b> Agronomía	
<b>Título a optar:</b> Ingeniera Agrónoma	
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b>	 Ing. Fernanda Arévalo M.

