

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

“CARACTERIZACIÓN PATOGENICA DE AISLADOS DE *Cladosporium fulvum* Cooke. PROCEDENTES DE INVERNADERO DEL SECTOR IZAMBA CANTÓN AMBATO”

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO
REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERO AGRÓNOMO.

AUTOR:

Andrés Gabriel Velasco López

TUTOR:

Ing. Michel Leiva Mora Dr.C.

CEVALLOS- ECUADOR

2021-2022

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

“El suscrito Velasco López Andrés Gabriel, portador (a) de cédula identidad número: 1805187125 libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “CARACTERIZACIÓN PATOGENICA DE AISLADOS DE *Cladosporium fulvum* Cooke. PROCEDENTES DE INVERNADERO DEL SECTOR IZAMBA CANTÓN AMBATO” es original, autentico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas”.

.....
Andrés Gabriel Velasco López

DERECHOS DE AUTOR

“Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “CARACTERIZACIÓN PATOGENICA DE AISLADOS DE *Cladosporium fulvum* Cooke. PROCEDENTES DE INVERNADERO DEL SECTOR IZAMBA CANTÓN AMBATO”, como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él”.

.....
Andrés Gabriel Velasco López.

**“CARACTERIZACIÓN PATOGENICA DE AISLADOS DE *Cladosporium fulvum*
Cooke. PROCEDENTES DE INVERNADERO DEL SECTOR IZAMBA
CANTÓN AMBATO”**

REVISADO POR:

.....

Ing. Michel Leiva Mora Dr.C.

TUTOR

DEDICATORIA

A Dios, por guiarme, darme la sabiduría e inteligencia y cuidar de mis pasos para lograr tan anhelada meta.

A mi madre que con esfuerzo y trabajo siempre me ha inculcado el ser una persona esforzada, valiente y perseverante, cualidades que han permitido plasmar en mí el cumplimiento de la meta alcanzada.

A mi padre que desde el cielo ha sido mi motivación e inspiración a nunca rendirme ante cualquier adversidad de la vida, y cumplir con la promesa de llegar a ser un profesional.

A mi esposa que estuvo desde el inicio de mi carrera incentivándome a no desistir del objetivo propuesto, anhelando que llegue a ser un excelente profesional.

A cada uno de mis hermanos que aportaron con cada uno de sus consejos y apoyo moral, motivándome a ser cada día mejor.

A mi hija Aitana por ser el motor que me inspira a seguir adelante cada día, siendo un ejemplo de superación para ella.

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento principal a Dios, quien puso en mi salud, vida, inteligencia y perseverancia para llegar a ser un profesional.

Agradezco a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato por darme la apertura de inicio, formación y culminación en vida profesional.

A mi Tutor de tesis Ing, Michael Leiva Mora Dr. C. que con paciencia apporto sus conocimientos, consejos y enseñanzas siendo guía para concluir esta investigación.

Al Ing. Marco Pérez y Ing. David Guerrero por impartir sus conocimientos y opiniones para la culminación de este proyecto.

Velasco López Andrés Gabriel.

ÍNDICE

CAPITULO I	13
MARCO TEÓRICO.....	13
1.1. INTRODUCCIÓN	13
1.2. Antecedentes Investigativos.....	15
1.3. Categorías fundamentales o marco conceptual.....	18
1.3.1. Cultivo de Tomate (<i>S. lycopersicum</i>)	18
1.3.2. Clasificación taxonómica	19
1.3.3. Descripción Botánica.....	19
1.3.4. Requerimientos edafoclimáticos del tomate.....	20
1.3.5. Plagas y enfermedades	20
1.3.6. Moho de la hoja del tomate (<i>C. fulvum</i>).....	22
1.3.6.1. Clasificación taxonómica.....	23
1.3.6.2. Ciclo de la enfermedad	23
1.4. Objetivos e hipótesis	24
1.4.1. Objetivo general	24
1.4.2. Objetivos específicos.....	25
CAPÍTULO II	26
METODOLOGÍA	26
2.1. Ubicación del experimento	26
2.2. Equipos y materiales	26
2.2.1. Equipos	26
Para desarrollar el experimento se utilizaron los siguientes equipos:.....	26

2.2.2. Materiales.....	27
2.3. Factores de estudio.....	28
2.4. Diseño Experimental.....	28
2.5. Manejo del experimento	28
2.6. VARIABLES RESPUESTA.....	32
2.7. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	32
CAPÍTULO III.....	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
3.1. Concentración de conidios (conidio ml ⁻¹) utilizando Cámaras de recuento de Neubauer (Thermo Scientific™ - BRAND™717820).....	33
3.2. Índice de infección expresado en porcentaje.	35
3.3. Grados de afectación acorde a la escala de evaluación desde 0, 1, 2, 3, 4, 5.....	39
CAPÍTULO IV.....	61
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	61
4.1. Conclusiones.....	61
4.2. Recomendaciones	62
BIBLIOGRAFÍA	63
ANEXOS	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	19
Clasificación Taxonómica	19
Tabla N°2.....	21
Plagas	21
Tabla N°3.....	22
Enfermades	22
Tabla N°4.....	28
Aislados del cantón Ambato	28
Tabla N°5.....	34
Concentración de conidios utilizando cámaras de recuento de Neubauer	34
Tabla N° 6.....	36
Índice de infección de <i>C. fulvum</i> en <i>S. Lycopersicum</i>	36
Tabla N° 7. Escala de evaluación de afectación de <i>C. Fulvum</i>	40
Tabla N° 8.....	41
Grado de infección de <i>C. fulvum</i> en <i>S. Lycopersicum</i>	41
Tabla N° 9.....	51
Descripción de síntomas y signos	51

ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICOS

Gráfico N°1.....	23
Clasificación taxonómica de <i>C. fulvum</i>	23
Gráfico N°2. Protocolo de activación de los aislados de la Colección de cultivo de <i>C. fulvum</i>	29
Gráfico N°3. Protocolo para sembrar cultivares diferenciales de <i>Solanum lycopersicum</i>	30
Gráfico N°4. Protocolo de inoculación con suspensiones conidiales de <i>C. fulvum</i>	31

RESUMEN

El moho gris de la hoja o también denominado *Cladosporium fulvum* fue descrito por Cooke en 1883, el mismo que se desarrolla en diferentes cultivos, pero ataca especialmente en el cultivo de tomate ya que posee condiciones favorables para su diseminación. Para la presente investigación se tuvo como objetivo evaluar patogenicidad de aislados monospóricos de *Cladosporium fulvum* Cooke procedentes de muestras de *Solanum lycopersicum* L. del sector Izamba, Tungurahua, Ecuador. Para evaluar la patogenicidad se procedió activar los aislados de la Colección de cultivo de *C. fulvum* depositada en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato en medios de cultivo PDA para poder realizar el conteo con la cámara de Neubauer, para la siembra de cultivares diferenciales se procedió a utilizar sustratos, estiércol de llama que fueron depositados en tarrinas de un litro para posteriormente ser inoculados con *C. fulvum* obteniendo como resultados una concentración diferente para cada cultivar (Cf0 -77 ml⁻¹, Cf2 -96 ml⁻¹, Cf4-90,9 ml⁻¹, Cf5-65 ml⁻¹ y Cf6-68 ml⁻¹), además un mayor porcentaje de infección en el cultivar Cf5 con un 58% mientras que los cultivares Cf0, Cf2, Cf4 y Cf6 mantienen una media entre 20-30 % en cuanto se refiere al factor de estudio en el cual se determinó que los primeros signos y síntomas de la enfermedad ocasionada por *C. fulvum* se presentan machas cloróticas en el haz de las hojas.

Palabras claves: concentración, inoculación, siembra, signos, síntomas

SUMMARY

The gray mold of the leaf or also called *Cladosporium fulvum* was described by Cooke in 1883, the same one that develops in different crops, but attacks especially in the tomato crop since it has favorable conditions for its dissemination. For the present investigation, the objective was to evaluate the pathogenicity of monosporic isolates of *Cladosporium fulvum* Cooke from samples of *Solanum lycopersicum* L. from the Izamba sector, Tungurahua, Ecuador. To evaluate the pathogenicity, the isolates from the *C. fulvum* culture collection deposited in the Microbiology laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the Technical University of Ambato were activated in PDA culture media to be able to count with the Neubauer, for the sowing of differential cultivars we proceeded to use substrates, llama manure that were deposited in one-liter tubs to later be inoculated with *C. fulvum*, obtaining as results a different concentration for each cultivar (Cf0 -77 ml⁻¹, Cf2 -96 ml⁻¹, Cf4-90.9 ml⁻¹, Cf5-65 ml⁻¹ and Cf6-68 ml⁻¹), in addition to a higher percentage of infection in the Cf5 cultivar with 58% while the Cf0 cultivars, Cf2, Cf4 and Cf6 maintain an average between 20-30% in terms of the study factor in which it was determined that the first signs and symptoms of the disease caused by *C. fulvum* are chlorotic spots on the upper part of the leaves.

Keywords: concentration, inoculation, planting, signs, symptoms

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1.INTRODUCCIÓN

El cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) perteneciente a la familia Solanácea y al género *Solanum* posee una historia que remonta varios siglos atrás, investigaciones demuestran que el tomate es originario de la región de los Andes en América del sur fue domesticado por civilizaciones precolombinas convirtiéndose así en uno de los alimentos habituales en su dieta diaria. Después de la llegada de los españoles a América el tomate fue introducido a Europa y posteriormente se extendió de manera rápida en todo el mundo (Alarcón, 2019)

El cultivo de tomate en la actualidad es reconocido como uno de las verduras de mayor comercialización tanto a nivel mundial como nacional debido a su incremento de producción anual y su rendimiento alcanzando así una producción aproximada de 215 millones de toneladas métricas. Los países de mayor producción del presente cultivo son México (2.9 millones de toneladas), España (1,5 millones de toneladas), Estados Unidos (683 000 toneladas) entre otros. (Arteaga, 2022)

El tomate es uno de los cultivos de mayor demanda debido a su versatilidad y su gran valor nutricional ya que contiene vitaminas A, C, E y K nutrientes de gran importancia para el adecuado funcionamiento del sistema inmunológico, así como también antioxidantes tales como licopeno, carotenoides entre otros los cuales ayudan a combatir el estrés oxidativo del cuerpo además de prevenir enfermedades crónicas y cardiovasculares. (Salguero, 2016)

El cultivo de tomate es de gran importancia para la economía agrícola del Ecuador ya que este cultivo se adapta muy bien a las condiciones geográficas y climáticas con las que cuenta

nuestro país permitiendo así obtener una producción durante todo el año. El tomate ecuatoriano se caracteriza por su sabor, tamaño y calidad lo cual le ha permitido posicionarse como uno de los productos de exportación más apetecidos en diversos mercados internacionales. Las principales provincias de mayor producción son Pichincha, Guayas, Cotopaxi, Imbabura, Tungurahua entre otras, se estima que el área cultivada aproximada es de 1980 ha a nivel nacional alcanzando una producción de 62 680 toneladas métricas. (Ausay, 2018)

La provincia de Tungurahua es reconocida por su alta producción de tomate de muy buena calidad, sabor y tamaño. Las condiciones geográficas y climáticas de la provincia de Tungurahua son adecuadas para el correcto desarrollo del cultivo permitiendo obtener una producción del 70 % aproximadamente, el sistema de producción que ha generado mejores resultados es mediante la utilización de invernaderos el cual a permitido obtener mejores rendimientos y calidad del producto. El cultivo de tomate en la provincia de Tungurahua no solo impulsa la economía de la zona, sino que también contribuye al desarrollo socioeconómico del país al generar oportunidades de empleo (Pinargote, 2020)

Sin embargo, dicho cultivo se ha visto afectado por diversos factores tales como edáficos, climáticos, ciertas plagas y enfermedades causadas por bacterias, hongos, virus e insectos entre otros que de una u otra manera alteran el rendimiento y calidad del producto lo que conlleva a los agricultores a obtener pérdidas económicas. (Fernández, 2022)

El cultivo de tomate en sus diferentes etapas fenológicas se ha visto afectado por diversas enfermedades fúngicas las mismas que provocan diversos daños en toda la planta incluso pueden provocar la muerte; entre las principales enfermedades se pueden mencionar a: tizón tardío, tizón temprano, marchitez fúngica, pudrición de la base del tallo, cenicilla, podredumbre gris y negra entre otras. Una de las enfermedades que más afecta al cultivo de tomate en nuestro país es el moho gris de la hoja causada por el hongo *P. fulva*. (Guerrero, 2001)

C. fulvum fue descrito en el año de 1883 por el botánico inglés *M.C. Cooke*, mediante la observación de muestras de hojas traídas desde Carolina del sur, el presente hongo se desarrolla en climas templados y con porcentajes de humedad relativa alta. El hongo de la hoja es considerado como una de las enfermedades que provocan mayores pérdidas económicas a los productores, sus principales signos se pueden observar en la hojas viejas del cultivo presentando zonas amarillentas, una deformación y mientras avanza la infección se puede observar que las hojas se tornan de color verde oliváceo provocando así la caída prematura de las hojas es decir una defoliación precoz en la parte superior de la planta la cual puede provocar hasta la muerte de las mismas (Pérez, 2019)

1.2. Antecedentes Investigativos

El cultivo de tomate originario de Ecuador, México y Perú es considerado como uno de los cultivos de mayor importancia debido a su alto valor nutricional. Ciertas investigaciones demuestran que en el año de 1990 el cultivo fue difundido en todo el mundo debido a su alta producción y comercio, llegando a posicionarse como el quinto cultivo hortícola de gran importancia a nivel mundial y por el área cultivada (4 782 753 ha), así como también es reconocido como el tercer cultivo de acuerdo al volumen de producción (177 042 359 tn) y el segundo lugar de acuerdo a la categoría de rendimiento (370 168 kg/ha) teniendo como producción bruta aproximada un valor de 95 618,15 USD. (Acosta, 2016)

Bernal (2010) en su investigación menciona que la humedad relativa (Hr), Temperatura (T°) y aireación son los factores que influyen de forma directa en el manejo del cultivo. Al tener una temperatura sobre los 30 °C y una Hr mayor a 80 % el cultivo se ve propenso a sufrir un incremento de plagas y enfermedades afectado así de manera directa en la eficiencia de los controles químicos preventivos aplicado con anterioridad lo cual conlleva a grandes pérdidas económicas e incluso la pérdida de todo el cultivo.

Fernández (2019) mencionó que dentro de las enfermedades fúngicas que más afectan al cultivo de tomate se encuentra el moho gris de la hoja cuyo agente causal es el hongo *C. fulvum* el cual al no ser detectado en su etapa inicial puede provocar grandes daños, sus principales

síntomas pueden ser observado en las hojas viejas ya que el mismo se extiende hasta la parte superior del cultivo produciendo así una necrosis en la planta , por otra parte el agente patógeno empieza a producir conidios en el envés de la hoja el mismo que sobrevive como saprófito tanto a nivel del suelo como en invernáculos.

Leucentini *et al .*, (2020), en su investigación analizo los polimorfismos presentes en los agentes denominados Avr pertenecientes al hongo *P. fulva* demostrando que el crecimiento y desarrollo lento del hongo es considerado como una de las características propias del mismo además señaló que la variabilidad genética reportada no tiene una relación específica con sitio de estudio, ni con el tipo o raza del aislado, llegando así a la conclusión que le moho desarrollado por las razas de estudio pueden ser controladas mediante el cultivo de híbridos de tomate que contengan genes de resistencia de tipo R en su codificación.

Medina *et al.*, (2018) en su investigación realizada sobre la biodiversidad y razas de *Cladosporium fulvum* en el cultivo de tomate teniendo como resultados la existencia de las razas 0 y 2 prevaleciendo la raza 2 en un 81%, en cuanto a los asilados en estudio determinaron el poliformismo a nivel de los genes avr, así como tambien demostraron que las muestras utilizadas en la investigacion carecen de genes de resistencia tales como Cf4, Cf5 y Cf9 lo que genera que el cultivar sea más propenso al ataque del hongo por otra parte mencionaron que existe una diversidad considerable de *C. fulvum* provocada por los cambios a nivel genético que se produce en el genoma y en los genes de avirulencia.

Braun & Crous (2019) en su protocolo de diagnóstico para *P. fulva* mencionaron que para determinar la presencia del agente causal se debe partir de material vegetal fresco con el fin de observar con facilidad los síntomas y signos propios de la enfermedad. Los primeros síntomas que se manifiestan a los diez días de la infección inicialmente son manchas de pequeño tamaño con un color verde amarillento presentando pequeñas agregaciones hifales de color blanco sobre las mismas; mientras la infección avanza se puede observar defoliaciones, clorosis, el enrollamiento de las hojas e incluso la presencia de micelio sobre peciolo, tallos y frutos.

C.fulvum es considerado como el agente causal que más ataca a cultivos bajo invernadero principalmente ataca a las hojas y muy rara vez a los frutos. Durante el proceso de infección el hongo se encarga de producir proteínas afectoras las cuales intervienen en la colonización del agente fitopatógeno provocando manchas de tipo cloróticas en el haz y presencia de micelios de color gris palido , mientras que en el envés de la hoja se pueden observar el parasitismo del hongo provocando manchas de color marrón pardo al momento de la fructificación del mismo. (Martínez, Salazar, & Ramos, 2020)

En la investigación realizada sobre la interrelación entre *S. lycopersicum* y *C. fulvum* bajo condiciones controladas en Cuba analizaron la caracterización tanto patogénica, molecular y cultural de la muestra en estudio conformada por 36 aislados de *C. fulvum* las mismas que fueron recolectadas de diferentes localidades del país, teniendo como resultados que los aislamientos del hongo en estudio presentaban características de tipo cultural similares, así como también identificaron la raza 9 de *C. fulvum* por primera vez, además demostraron que los híbridos de tomate sembrados en las diferentes localidades del país carecen del gen de resistencia Cf-9 o su vez mencionaron que los aislados en estudio no desarrollaron el gen Avr9 en su codificación. (Bernal, Martínez, & Díaz, 2019)

Torres *et al.*, (2008), en su investigación basada en el biocontrol del moho foliar del tomate causado por *C. fulvum* empleando cuatro hongos antagonistas, evaluaron la aplicación de nuevas alternativas para el control del agente causal en estudio teniendo como resultados que a temperaturas entre 24°C y 28°C la interacción que existe entre el hongo antagónico sobre el agente causal es buena, así como también determinaron que *Trichoderma harzianum* H. a temperaturas de 24°C controla con mayor eficacia a *C.fulvum* ocupando un mayor porcentaje de área a comparación de *C. fulvum*, así como también que a temperaturas de 28°C *Trichoderma virens* Pers ex S. obtuvo un mayor efecto antagonista. Además, identificaron que bajo condiciones de invernadero el hongo antagonista que mejores resultados presento fue *T. harzianum* reduciendo el porcentaje de severidad a un 19,35%.

Los hongos son considerados como uno de los grupos más extensos de los organismos, los cuales cumplen diversas funciones para mantener un equilibrio de los ecosistemas. Iturrieta

(2020) en su investigación basada en el estudio de la taxonomía y diversidad de los géneros *Alternaria* y *Cladosporium* obtuvo como resultados que dichos generos presentan una taxonomía compleja así como también determinó la caracterización fenotípica de los aislados en estudio y las regiones parciales de los genes de resistencia codificantes.

1.3.Categorías fundamentales o marco conceptual

1.3.1. Cultivo de Tomate (*S. lycopersicum*)

El cultivo de tomate conocido como fruto con ombligo es originario de la región Andina el mismo que fue introducido en el siglo XVI en el continente europeo. El tomate riñón es una planta de tipo herbáceo perenne la cual es cultivada de forma anual. Arteaga (2022) mencionó que el tomate es una fuente rica de vitaminas (A, B, D y C), ácidos orgánicos y aminoácidos, por lo cual es implementado en las dietas diarias ya sea fresca o procesado al natural o convertido en extractos concentrados.

A nivel mundial el cultivo de tomate es considerado como una de las hortalizas con mayor importancia económica debido a que su producción anual aproximada es de 150 millones de toneladas de las cuales tan solo el 75% se lo consume fresco y el 25 % de manera procesada. En el Ecuador el tomate es considerado como una de las hortalizas de suma importancia ya que se encuentra dentro de la canasta familiar aportando de esa forma un gran valor para la agricultura de nuestro país. Las provincias de mayor producción son Santa Elena, Imbabura, Azuay, Tungurahua, Pichincha entre otras. Dicha hortaliza es producida en condiciones bajo invernadero en la cual se puede controlar temperatura y humedad obteniendo así una baja incidencia de plagas y enfermedades que puedan afectar a la obtención de productos de calidad y en si a su rendimiento. (Acosta, 2016)

1.3.2. Clasificación taxonómica

Según Jano (2009) el tomate perteneciente a la familia de las solanáceas presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Tabla 1

Clasificación Taxonómica

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Subclase	<i>Asteridae</i>
Familia	<i>Solanaceae.</i>
Género	Solanum
Especie	<i>lycopersicon</i>

1.3.3. Descripción Botánica

El cultivo de tomate posee un sistema radicular conformado por una raíz principal corta y débil, así como también de raíces secundarias y adventicias las cuales pueden alcanzar una profundidad de 1,5 metros. El tallo es herbáceo, frágil y de tipo pubescente en las primeras etapas del cultivo, tiene un diámetro de entre 2 a 4 cm de grosor y una longitud que depende de la variedad a cultivar las cuales pueden llegar hasta los 4 o 5 metros de alto, el mismo que esta recubierto por pelos glandulares que segregan una sustancia de viscosa color verde amarillento y con un olor que repele a varios insectos. (Alarcón, 2019)

Sus hojas son alternas, compuestas con un borde dentado y hendidias comprendidas entre 7 a 9 foliolos cubiertas por pelos glandulares. El tomate se caracteriza por poseer una floración en

forma de racimos los mismos que pueden ser simples o ramificados comprendidos entre 3 a 10 flores con un péndulo corto cuyo cáliz es gamosépalo y su corola gamopétala de color amarillo con 6 a 10 lóbulos, posee un fruto en forma de baya plurilocular o globosa, lisa y de color rojo al llegar a su madurez, el diámetro del fruto depende del cultivar el cual oscila entre 2 a 16 cm con un peso entre 450 a 600 g el mismo que está constituido por el pericarpio, tejido placentario el cual alberga a las semilla. (Alarcón, 2019).

1.3.4. Requerimientos edafoclimáticos del tomate

Los tomates son muy exigentes con los tipos de suelo, por lo que se recomienda un pH de 5 a 6,8 pueden tolerar una acidez de al menos 6400 ppm y necesitan una textura media a permeable. Generalmente se adaptada a un clima templado, pero en algunas zonas crecen bajo invernaderos para crear un ambiente adecuado (Novak, 2021).

El cultivo requiere una temperatura óptima de 20 a 30 °C durante el día y de 1 a 17 °C por la noche, por lo que temperaturas por encima o por debajo de estos valores pueden causar problemas a las plantas. La humedad relativa del 60% al 80% asegura un buen desarrollo, durante la polinización y producción también un exceso de humedad da origen de la existencia de enfermedades y trastornos, así como la intensidad de la luz debe reducirse para no afectar el proceso fecundación (Raghukumar, 2017).

1.3.5. Plagas y enfermedades

Como todos los cultivos, el tomate se ve afectado por una serie de plagas y enfermedades que tienen síntomas visibles e invisibles en los tejidos de la planta que causan necrosis foliar parcial o muerte de la planta, reduciendo la productividad y calidad del cultivo (Agrios, 2005). Sin embargo, estas condiciones están influenciadas por tres factores, tales como huésped, patógeno, ambiente.

Tabla N°2*Plagas*

Plagas	Nombre científico	Afección
Minador	<i>Liriomyza trifoli</i> Burgues	Ocasionan daños en las hojas formando galerías que reducen notablemente la fotosíntesis de la planta.
Mosca blanca	<i>Bemisia tabaco</i> Gennadius	Portadoras de virus con un alto nivel de resistencia.
Pulgón verde	<i>Myzus persicae</i> Sultzer	Provocan daños en el envés de las hojas extrayendo la sabia y debilitando gradualmente a la planta.
Trips	<i>Frankliniella occidentalis</i> Pergande	Debilitan a la planta, forman picaduras en las hojas y succionan el contenido de la célula vegetal.
Araña roja	<i>Tetranychus</i> spp.	Se presentan necrosis de color amarillo debido a la succión del insecto en la planta.
Polilla del tomate	<i>Tuta absoluta</i> spp.	Originan galerías en tallos, hojas y frutos necrosando a la planta.
Vasates	<i>Aculops lycopersici</i> Tryon	Ocasionan daños en frutos, hojas y tallos provocando irregularidades y necrosis evitando el desarrollo de la planta.
Gusanos Cortadores	<i>Agrotis</i> spp y <i>Pseudoleucania</i> Staudinger	Se alimentan principalmente de los frutos en estado de desarrollo ocasionan orificios.

(Guzmán, 2017)

Tabla N°3*Enfermedades*

Enfermedades	Nombre científico	Afección
Mal del talluelo	<i>Fusarium</i> sp, <i>Pythium</i> sp, <i>Sclerotium</i> sp y <i>Rhizoctonia</i> sp	Se presenta generalmente en los semilleros provocando una pudrición en raíz y cuello de la planta.
Tizón temprano	<i>Alternaria solani</i> Cooke	Ocasiona daños en hojas con manchas irregulares de color café e incluso afectando tallo y frutos.
Tizón tardío	<i>Phytophthora infestans</i> Mill	Provoca una defoliación en hojas debido a sus manchas color marrón llegando a dañar tallos y frutos.
Bacteriosis	<i>Erwinia carotovora</i> Smith	Presenta la pudrición de la planta, tronco y frutos con un mal olor.
Oidio	<i>Oidium lycopersic</i> Cooke & Masse	Se manifiesta en hojas y tallos un polvo blanco o cenicilla.
Marchitez por Verticillium	<i>Verticillium dahliae</i> Klebahn	Marchitamiento y amarillamiento en hojas desde la parte inferior hasta provocar la muerte de la planta.
Nemátodo	<i>Meloidogyne</i> sp.	Provoca la marchitez de la planta lentamente debido a los nódulos presentes en sus raíces.
Marchitez de la hoja	<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl.	Ocasionan daños en hojas, raíz y tronco.

(Godoy, 2018)

1.3.6. Moho de la hoja del tomate (*C. fulvum*)

El hongo fue descrito por primera vez en el año de 1883 por Cooke en Inglaterra utilizando muestras de hojas enviadas desde los Estados Unidos (Cooke, 1883). El tomate se introdujo en Europa desde Centroamérica en el siglo XVI, por lo que la enfermedad

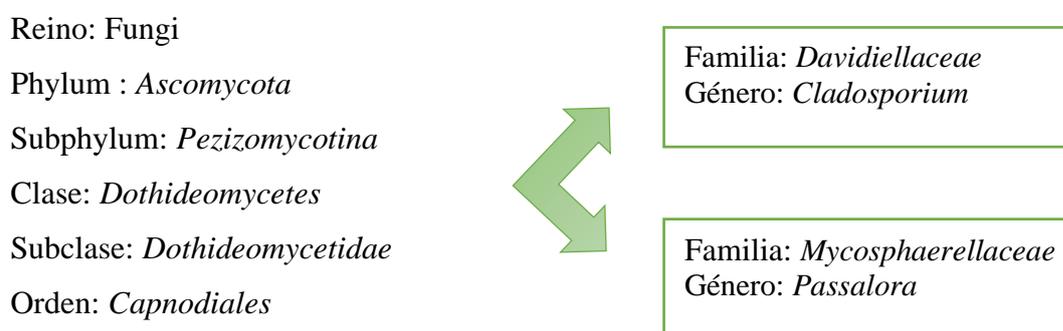
era completamente desconocida, pero rápidamente fue descrita, se cree que en condiciones como la alta humedad evitarían que se produjera la enfermedad, pero el cultivo intensivo bajo invernadero crea un entorno propicio para la propagación de patógenos (McGilp, 2018). Es considerada una enfermedad destructora y catalogada como una de los patógenos con gran impacto a nivel mundial dejando grandes pérdidas económicas en el ámbito agrícola sin embargo no existen registros de este en humedades inferiores al 80 % (Bernal R. , 2010).

1.3.6.1. Clasificación taxonómica

Gráfico N°1

Clasificación taxonómica de *C. fulvum*.

Novak (2021) mencionó que el moho gris del tomate presenta la siguiente taxonomía:



1.3.6.2. Ciclo de la enfermedad

El patógeno que causa el moho en las hojas de los tomates puede sobrevivir como saprófito a temperaturas extremadamente bajas, ya sea durante un año en restos de plantas en el suelo o en restos de plantas en el suelo. Así, se crean condiciones favorables para su desarrollo, dando como resultado la formación de conidios, por lo que se las considera el vector de infección más importante estos conidios se fijan en la parte superficial de las hojas y forman hifas que entrarán en las células por los estomas abiertos y las colonizarán, los principales síntomas se presentarán en los primeros 10 días después de la inoculación, por lo que su reproducción entre las plantas es bastante rápida, liberando los conidios suspendidos en el aire, pueden dispersarse mediante sistemas de riego, implementos agrícolas, viento, insectos y ropa de trabajadores que son infectados en hojas viejas y nuevas. (Freire, 2019)

Material vegetal

Las semillas de tomate se sembraron en bolsas de plásticas de polietileno de 20x20 cm, con un sustrato de compost húmedo al 70%, las plántulas se las trasplantaron inmediatamente manteniéndoles bajo invernadero a una temperatura de 26,2 °C y una humedad relativa del 60% manteniendo un fotoperiodo normal (Bernal, 2010).

Producción del inóculo

Para la preparación de la suspensión de conidios (inóculo), se tomó una caja Petri en crecimiento de colonias que tenían alrededor de 10 días creciendo en el medio de cultivo PDA encubadas a 20° C a oscuridad.

Inoculación

Las cajas fueron raspadas mediante un pincel (N° 12) y se añadieron 10 ml de agua desionizada estéril. Esta suspensión se pasó por cuatro capas de gasa (quirúrgicas) y posteriormente se prepararon diluciones del inóculo con ayuda de una cámara de Neubauer se ajustaron las concentraciones del inóculo en cada aislado a una cantidad de 1×10^5 conidios $\times \text{ml}^{-1}$.

1.4. Objetivos e hipótesis

1.4.1. Objetivo general

- Evaluar patogenicidad de aislados monospóricos de *Cladosporium fulvum* Cooke procedentes de muestras de *Solanum lycopersicum* L. del sector Izamba, Tungurahua Ecuador.

1.4.2. Objetivos específicos

- Producir conidios de *Cladosporium fulvum* en medio de cultivo PDA.
- Desarrollar plantas sanas de cultivares diferenciales de *Solanum lycopersicum*.
- Inocular plantas de los cultivares diferenciales de *Solanum lycopersicum* con suspensiones conidiales de *Cladosporium fulvum* en condiciones de invernadero.
- Evaluar síntomas y signos en las plantas de cultivares diferenciales de *Solanum lycopersicum* inoculadas.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación del experimento

La investigación se realizará en el cantón Cevallos en la provincia de Tungurahua en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato. Se localiza a una altitud de 2800 msnm, en sus coordenadas geográficas son 01° 24' 27" de latitud Sur y 78° 35' 00" de longitud al Oeste, ubicado al Sureste de Ambato a 19.31 km.

2.2. Equipos y materiales

2.2.1. Equipos

Para desarrollar el experimento se utilizaron los siguientes equipos:

- Cabina de flujo laminar (PURIFIER TM -MAGELLAN).
- Balanza analítica (OHAUS - PioneerTMM)
- Destilador de agua (DIRECT - Q / MILLOPONE).
- pH metro (BANTE 900).
- Microondas (PANASONYC)
- Refrigeradora (INDURAMA).
- Micropipetas (THERMO SCIENTIFIC).
- Autoclave (MIDMARK).
- Agitador vortex (Thermo Scientific, 88882009)
- Balanza de precisión (Ohaus®, EX124)
- Microscopio (MOTIC, BA210LED)
- Estereoscopio (MOTIC, SMZ-140)
- Incubadora (MEMMERT modelo 400)
- Pistola eléctrica COMPRESOR PEP5580 (PTK)

2.2.2. Materiales

Para asegurar el desarrollo de la fase experimental se utilizaron los siguientes materiales:

- Muestras de hojas de tomate con signos de la enfermedad del moho gris.
- Bolsas de papel Craft.
- Bisturí (STAINLESS N°4).
- Alcohol al 70% (WEIR).
- Aguja de inoculación.
- Mechero de Bunsen.
- Tijeras.
- Pinzas metálicas (MEDITEC 20 cm).
- Cajas Petri (90 ml de diámetro)
- Tubos de ensayo (20 mm* 150 mm).
- Medios de cultivo PDA (DIFCO).
- Cloranfenicol (SIGMA).
- Vidrio fusible.
- Papel aluminio (DIAMOND).
- Papel de liberación.
- Cubre objeto (EUROTUBO®).
- Porta objeto (EUROTUBO®).
- Macetas.
- Sustrato TS4 Y TS1 (KLASMANN).
- Tubos eppendorf.
- Parafilm (NOVACHEM).
- Colorante Lactofenol azul (LOBA CHEMIE).
- Gotero.
- Zapatones.
- Mascarillas.
- Bata quirúrgica.
- Gorros quirúrgicos.
- Glicerol (COMOSUP®).

- Pipeta de Pasteur
- Hipoclorito de sodio (LOBA CHEMIE).

2.3. Factores de estudio

- Factor 1: Aislados
- Factor 2: Respuestas de cultivares diferenciales

2.4. Diseño Experimental

Para la caracterización cultural y morfológica se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Sin embargo, para los ensayos de patogenicidad-agresividad y para determinar la reacción de diferentes cultivares comerciales de tomate frente a la inoculación artificial con los aislados monospóricos de *C. fulvum* se utilizó un diseño de bloques al azar.

2.5. Manejo del experimento

Objetivo 1. Producir conidios de *C. fulvum* en medio de cultivo PDA.

Tabla N°4

Aislados del cantón Ambato

Nombre del aislado	Invernaderos				
	Lote 1	Lote 2	Lote3	Lote 4	Lote 5
<i>Cfo</i>	X				
<i>Cf1</i>			X		
<i>Cf2</i>				X	
<i>Cf3</i>		X			
<i>Cf4</i>					X
<i>Cf5</i>			X		
<i>Cf6</i>	X				
<i>Cf7</i>			X		
<i>Cf8</i>			X		
<i>Cf9</i>		X			
<i>Cf10</i>					

Protocolo de activación del crecimiento de los aislados de la Colección de cultivo de *C. fulvum*

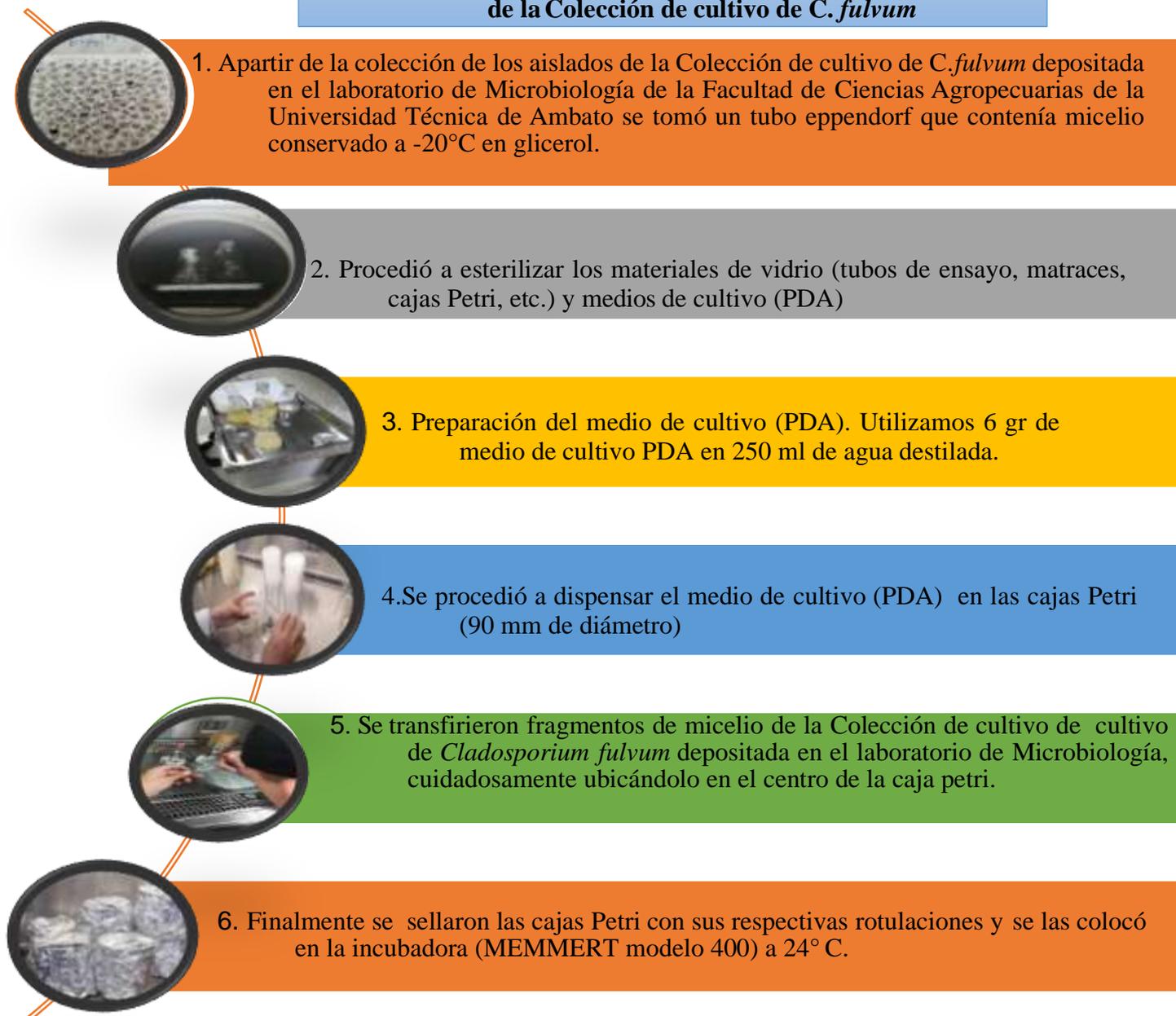


Gráfico N°2. Protocolo de activación de los aislados de la Colección de cultivo de *C. fulvum*

Objetivo 2. Desarrollar plantas sanas de cultivares diferenciales de *Solanum lycopersicum*



Gráfico N°3. Protocolo para sembrar cultivares diferenciales de *Solanum lycopersicum*

Objetivo 3. Inocular plantas de los cultivares diferenciales de *S. lycopersicum* con suspensiones conidiales de *C. fulvum* en condiciones de invernadero.

Protocolo de inoculación con suspensiones conidiales de *Cladosporium fulvum*



Gráfico N°4. Protocolo de inoculación con suspensiones conidiales de *C. fulvum*

2.6. VARIABLES RESPUESTA

Objetivo 1: Producir conidios de *C. fulvum* en medio de cultivo PDA.

- Variable respuesta: Concentración de conidios (conidios 10^5 conidios ml^{-1}) utilizando Cámaras de recuento de Neubauer (Thermo Scientific™ - BRAND™717820)

Objetivo 2: Desarrollar plantas sanas de cultivares diferenciales de *S. lycopersicum*.

- Variable respuesta: Índice de infección expresado en porcentaje. Se utiliza la siguiente fórmula:

$$I.I (\%) = \frac{\Sigma a. b}{(N - 1). T}$$

Donde:

II (%) = Índice de infección expresado en porcentaje.

a = número de hojas evaluadas por planta.

b = grado de afectación acorde con la escala.

N = número de escala de afectación.

T = total de hojas evaluadas.

Objetivo 3: Inocular plantas de los cultivares diferenciales de *S. lycopersicum* con suspensiones conidiales de *C. fulvum* en condiciones de invernadero.

Objetivo 4: Evaluar síntomas y signos en las plantas de cultivares diferenciales de *S. lycopersicum* inoculadas.

- Variable respuesta signos: Con grados de afectación acorde a la escala de evaluación desde 0, 1, 2, 3, 4, 5.
- Variable respuesta signos y síntomas: Percepción del crecimiento micelial en el envés de las hojas de tomate inoculados bajo invernadero (observados bajo estereoscopio modelo MOTIC, SMZ 140).

2.7. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Los datos registrados fueron analizados mediante el paquete estadístico SPSS versión 26.0. Por lo tanto, se analizaron los criterios de distribución normal mediante

la prueba de Kolmogorov Smirnov y para determinar la homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Levene. Para aquellas variables cuyos datos cumplan con ambos requerimientos se realizó un ANOVA de clasificación simple. Para separar las medias se utilizó la prueba de Tuckey. Para las variables cuyos datos no cumplan los requerimientos de normalidad y homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Kruskal Wallis completado con una prueba de U Mann Whitney. Para un nivel de significación de un 95 %.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Objetivo 1: Producir conidios de *C. fulvum* en medio de cultivo PDA.

3.1. Concentración de conidios (conidio ml⁻¹) utilizando Cámaras de recuento de Neubauer (Thermo Scientific™ - BRAND™717820)

Al realizar el recuento de concentración de conidios con la cámara de Neubauer en *C. Fulvum* se constató el cultivar Cf2 presenta 96 ml, seguido del Cf4 con 90.9 ml a comparación del Cf5 que tuvo una menor concentración de conidios con 65ml. Murillo & Galarza (2023), señalaron en su investigación que para el conteo de conidios con la cámara de Neubauer se aplicó el mismo protocolo al de nuestra investigación en el cual se preparó muestras homogenizadas del patógeno con el propósito de llenar la cámara y tener a los organismos en todos los cuadrantes buscando de esta manera una selectividad del agente causal por lo que este procedimiento es 100 % eficaz y concuerdan con nuestros resultados (Tabla N°5).

Tabla N°5.

Concentración de conidios utilizando cámaras de recuento de Neubauer

Cultivar de tomate	Concentración de conidios (conidio ml-1)	Correspondencia micelial
Cf0 A1-A10	77ml	
Cf2 A1-A10	96 ml	
Cf4 A1-A10	90.9ml	
Cf5 A1-A10	65ml	
Cf6 A1-A10	68ml	

Objetivo 2: Desarrollar plantas sanas de cultivares diferenciales de *S. lycopersicum*.

3.2. Índice de infección expresado en porcentaje.

Como se puede apreciar en la tabla N°6 se obtuvo el mayor porcentaje de infección en el cultivar Cf5 con un 58% mientras que los cultivares Cf0, Cf2, Cf4 y Cf6 mantienen una media entre 20-30 % de índice de infección. Torres et al., (2020) en su investigación manifiestan que realizaron una evaluación en vivo en la cual se tomó datos de severidad y el nivel de daño el cual representa el porcentaje de infección de *C. fulvum* aplicadas en 6 cultivares de tomate siendo el porcentaje de infección más alto mayor al 75% en dos de los cultivares y el resto presentó un 50% debido a que se mantuvo condiciones adecuadas tanto de temperatura que oscila entre los 24- 28 °C con una humedad relativa del 68%.

Mientras que Bernal et al., (2019), en su investigación mencionaron que las condiciones ambientales favorecen el desarrollo del patógeno presentando porcentajes de infección superiores al 50% en cuatro cultivares de tomate analizados tomando en cuenta que mediante este proceso de experimentación puede presentarse mutaciones o resistencia del mismo patógeno.

Tabla N° 6.

Índice de infección de *C. Fulvum* en *S. Lycopersicum*

Cultivar de tomate	N°. de Aislado de <i>C. Fulvum</i>	Índice de infección (%)
Cf0	Aislado 1	20
Cf0	Aislado 2	0
Cf0	Aislado 3	40
Cf0	Aislado 4	0
Cf0	Aislado 5	60
Cf0	Aislado 6	60
Cf0	Aislado 7	0
Cf0	Aislado 8	0
Cf0	Aislado 9	20
Cf0	Aislado 10	20
Media		22%
Cf2	Aislado 1	0
Cf2	Aislado 2	20
Cf2	Aislado 3	20
Cf2	Aislado 4	40
Cf2	Aislado 5	0
Cf2	Aislado 6	40

Cf2	Aislado 7	0
Cf2	Aislado 8	60
Cf2	Aislado 9	40
Cf2	Aislado 10	20
Media		24%
Cf4	Aislado 1	0
Cf4	Aislado 2	20
Cf4	Aislado 3	60
Cf4	Aislado 4	80
Cf4	Aislado 5	60
Cf4	Aislado 6	0
Cf4	Aislado 7	20
Cf4	Aislado 8	0
Cf4	Aislado 9	0
Cf4	Aislado 10	60
Media		30%
Cf5	Aislado 1	60
Cf5	Aislado 2	0
Cf5	Aislado 3	0

Cf5	Aislado 4	80
Cf5	Aislado 5	60
Cf5	Aislado 6	80
Cf5	Aislado 7	80
Cf5	Aislado 8	60
Cf5	Aislado 9	80
Cf5	Aislado 10	80
Media		58%
Cf6	Aislado 1	40
Cf6	Aislado 2	0
Cf6	Aislado 3	40
Cf6	Aislado 4	20
Cf6	Aislado 5	0
Cf6	Aislado 6	20
Cf6	Aislado 7	40
Cf6	Aislado 8	40
Cf6	Aislado 9	40
Cf6	Aislado 10	0
Media		24%

Objetivo 4: Evaluar síntomas y signos en las plantas de cultivares diferenciales de *S. lycopersicum* inoculadas.

3.3. Grados de afectación acorde a la escala de evaluación desde 0, 1, 2, 3, 4, 5

En la escala de evaluación de los grados de afectación se presenta para los cultivares Cf0 y Cf2 los grados entre 0 a 3 el cual representa del 21-50% de las hojas con signos, mientras que para el Cf4 y Cf5 mantienen un rango del 0 al 4 con el 51-70 %, a diferencia del Cf6 que se su escala se encuentra entre 0 y 2 manteniendo un 6-20% de afectación en el follaje (Tabla N°8). Martínez *et al.*, (2021) y sus colaboradores evaluaron la incidencia de *C.Fulvum* en tomate observando que el mayor porcentaje de afectación se presentó a los 46 días después de la inoculación del patógeno corroborando con los resultados obtenidos en nuestra investigación, detectando la infección de los cultivares principalmente en la parte inferior de la planta extendiéndose progresivamente hacia la parte superior. Los grados de afectación se encuentra estrechamente ligado con las condiciones de temperatura y humedad haciendo que el patógeno incida sobre la edad de la planta y la incidencia de la enfermedad ya que en condiciones de humedad relativa superiores al 80% y temperaturas de 20-25 °C no frenan la velocidad de su desarrollo (Thomma *et al.*, 2019).

Tabla N° 7. Escala de evaluación de afectación de *C. Fulvum*

Grado de afectación	Signos
0	Hoja completamente sana
1	Hojas con signos de <i>C. fulvum</i> . 1-5% de la superficie
2	Hojas con signos de <i>C. fulvum</i> . 6-20% de la superficie
3	Hojas con signos de <i>C. fulvum</i> . 21-50% de la superficie
4	Hojas con signos de <i>C. fulvum</i> . 51-70% de la superficie
5	Hojas con signos de <i>C. fulvum</i> . >71% de la superficie

Tabla N° 8.

Grado de infección de *C. Fulvum* en *S. Lycopersicum*

Cultivar de tomate	Aislado de <i>C. fulvum</i>	Signos	Grado de afectación
Cf0	Aislado 1		1
Cf0	Aislado 2	No presenta signos	0
Cf0	Aislado 3		2
Cf0	Aislado 4	No presenta signos	0
Cf0	Aislado 5		3

Cf0	Aislado 6		3
Cf0	Aislado 7	No presenta signos	0
Cf0	Aislado 8	No presenta signos	0
Cf0	Aislado 9		1
Cf0	Aislado 10		1
Cf2	Aislado 1	No presenta signos	0

Cf2	Aislado 2		1
Cf2	Aislado 3		1
Cf2	Aislado 4		2
Cf2	Aislado 5	No presenta signos	0
Cf2	Aislado 6		2

Cf2	Aislado 7	No presenta signos	0
Cf2	Aislado 8		3
Cf2	Aislado 9		2
Cf2	Aislado 10		1
Cf4	Aislado 1	No presenta signos	0
Cf4	Aislado 2		1

Cf4	Aislado 3		3
Cf4	Aislado 4		4
Cf4	Aislado 5		3
Cf4	Aislado 6	No presenta signos	0
Cf4	Aislado 7		1

Cf4	Aislado 8	No presenta signos	0
Cf4	Aislado 9	No presenta signos	0
Cf4	Aislado 10		3
Cf5	Aislado 1		3
Cf5	Aislado 2	No presenta signos	0
Cf5	Aislado 3	No presenta signos	0
Cf5	Aislado 4		4
Cf5	Aislado 5		3

Cf5	Aislado 6		4
Cf5	Aislado 7		4
Cf5	Aislado 8		3

Cf5	Aislado 9		4
Cf5	Aislado 10		4
Cf6	Aislado 1		2
Cf6	Aislado 2	No presenta signos	0

Cf6	Aislado 3		2
Cf6	Aislado 4		1
Cf6	Aislado 5	No presenta signos	0
Cf6	Aislado 6		1
Cf6	Aislado 7		2

Cf6	Aislado 8		2
Cf6	Aislado 9		2
Cf6	Aislado 10	No presenta signos	0

Con respecto a la variable descripción de signos y síntomas nuestros resultados de los distintos cultivares Cf0, Cf2, Cf4, Cf5 y Cf6 concuerdan con la investigación realizada por Torres *et al.*, (2020) los cuales mencionan que la sintomatología de la enfermedad se observó con la aparición de pequeñas manchas amarillentas, grisáceas sobre los haces de las hojas a los 16 días de haber realizado la inoculación, sin embargo; este hongo ataca principalmente al cultivo de tomate bajo cubierta en condiciones controladas, lo cual afecta al rendimiento y calidad del fruto.

Además Leucentini *et al.*, (2020) y sus colaboradores indican que los primeros signos y síntomas de la enfermedad ocasionada por *C. fulvum* se presentan machas cloróticas en el haz de las hojas y el envés se puede observar un tercielo de color pardo y en algunos casos verde oliváceo.

Tabla N° 9.

Descripción de síntomas y signos

Cultivar de tomate	Aislado de <i>C. fulvum</i>	Signos y síntomas	Descripción
Cf0	Aislado 1		Crecimiento micelial de coloración grisácea, con amarillamiento oscuro de hoja.
Cf0	Aislado 2		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.
Cf0	Aislado 3		Presencia de crecimiento micelial y manchas cloróticas con amarillamiento en la hoja.
Cf0	Aislado 4		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.

Cf0	Aislado 5		Presencia de crecimiento micelial con manchas cloróticas y amarillamiento en la hoja.
Cf0	Aislado 6		Presencia de crecimiento micelial, de color grisáceo con amarillamiento de hoja.
Cf0	Aislado 7		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.
Cf0	Aislado 8		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.
Cf0	Aislado 9		Baja incidencia de crecimiento micelial, no existe mucha afectación por parte del hongo.
Cf0	Aislado 10		Presencia de crecimiento micelial con manchas grisáceas y amarillamiento en la hoja.

Cf2	Aislado 1		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.
Cf2	Aislado 2		Presencia de crecimiento micelial de color grisáceo.
Cf2	Aislado 3		Bajo crecimiento micelial de color grisaseo con un coloramiento pálido de la hoja.
Cf2	Aislado 4		Presencia de crecimiento micelial y manchas cloróticas con amarillamiento en la hoja.
Cf2	Aislado 5		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.

Cf2	Aislado 6		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.
Cf2	Aislado 7		Presencia de crecimiento micelial y manchas cloróticas con amarillamiento en la hoja.
Cf2	Aislado 8		Bajo crecimiento micelial, no existe mucha afectación por parte del hongo.
Cf2	Aislado 9		Presencia de crecimiento micelial y manchas cloróticas con amarillamiento en la hoja.
Cf2	Aislado 10		Bajo crecimiento micelial, no existe mucha afectación por parte del hongo.

Cf4	Aislado 1		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.
Cf4	Aislado 2		Baja incidencia de crecimiento micelial.
Cf4	Aislado 3		Crecimiento micelial moderado, con amarillamiento de la hoja.
Cf4	Aislado 4		Alto crecimiento micelial, manchas cloróticas y amarillamiento en la hoja.
Cf4	Aislado 5		Crecimiento micelial moderado, con amarillamiento de la hoja.
Cf4	Aislado 6		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.

Cf4	Aislado 7		Bajo crecimiento micelial, no existe mucha afectacion por parte del hongo.
Cf4	Aislado 8		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.
Cf4	Aislado 9		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.
Cf4	Aislado 10		Crecimeinto micelial moderado, y presencia de manchas grisaseas con amarillamiento de hoja.
Cf5	Aislado 1		Crecimiento micelial moderado, y presencia de manchas grisáceas con amarillamiento de hoja.

Cf5	Aislado 2		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.
Cf5	Aislado 3		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.
Cf5	Aislado 4		Crecimiento micelial de gran consideración con manchas grisáceas y amarillamiento de hoja.
Cf5	Aislado 5		Crecimiento micelial moderado, y presencia de manchas grisáceas con amarillamiento de hoja.
Cf5	Aislado 6		Crecimiento micelial de gran consideración con manchas grisáceas y amarillamiento de hoja.

Cf5	Aislado 7		Crecimiento micelial de gran consideración con manchas grisáceas y amarillamiento de hoja.
Cf5	Aislado 8		Crecimiento micelial moderado, y presencia de manchas grisáceas con amarillamiento de hoja.
Cf5	Aislado 9		Crecimiento micelial de gran consideración con manchas grisáceas y un color pálido de hoja.
Cf5	Aislado 10		Crecimiento micelial alto con manchas grisáceas y amarillamiento de hoja.
Cf6	Aislado 1		Bajo crecimiento micelial, pocas manchas de color grisáceo.

Cf6	Aislado 2		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.
Cf6	Aislado 3		Bajo crecimiento micelial, pocas manchas de color grisáceo.
Cf6	Aislado 4		Bajo crecimiento micelial, pocas manchas de color grisáceo, amarillamiento de hoja.
Cf6	Aislado 5		No presenta signos ni síntomas de crecimiento micelial.
Cf6	Aislado 6		Bajo crecimiento micelial, pocas manchas de color grisaseo.
Cf6	Aislado 7		Bajo crecimiento micelial, pocas manchas de color grisaseo.

Cf6	Aislado 8		Crecimiento micelial moderado con amarillamiento en la hoja.
Cf6	Aislado 9		Crecimiento micelial moderado con amarillamiento en la hoja.
Cf6	Aislado 10		No presenta signos ni síntomas.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Se logró producir conidios de *C. Fulvum* mediante la utilización de medios sólidos PDA que favoreció a la rápida reproducción del patógeno y el recuento en la cámara de Neubauer teniendo una concentración diferente para cada uno de los cultivares Cf0 -77 ml⁻¹, Cf2 -96 ml⁻¹, Cf4-90,9 ml⁻¹, Cf5-65 ml⁻¹ y Cf6-68 ml⁻¹ respectivamente.
- Se desarrollaron plantas sanas de cultivares diferenciales de *S. lycopersicum* las cuales fueron sembradas en tarrinas de volumen de 1 litro que contenían sustrato +suelo + estiércol de llama, las mismas que contaban con un sistema de riego mediante nebulizadores.
- Al inocular plantas de los cultivares diferenciales de *S. lycopersicum* con suspensiones conidiales de *C. fulvum* se constató que el mayor porcentaje de infección en el cultivar fue el Cf5 con un 58% mientras que los cultivares Cf0, Cf2, Cf4 y Cf6 mantienen una media entre 20-30 % de índice de infección.
- En la evaluación de los grados de afectación se pudo concluir que para los cultivares Cf0 y Cf2 los grados van entre 0 a 3 el cual representa del 21-50% de las hojas con signos, mientras que para el Cf4 y Cf5 mantienen un rango del 0 al 4 con el 51-70 %, a diferencia del Cf6 que se su escala se encuentra entre 0 y 2 manteniendo un 6-20% de afectación en el follaje.
- Se determinó que los primeros signos y síntomas de la enfermedad ocasionada por *C. fulvum* se presentan machas cloróticas en el haz de las hojas y el envés se puede observar un tercielo de color pardo y en algunos casos verde oliváceo o grisáceo de acuerdo a la etapa de la enfermedad.

4.2. Recomendaciones

- Proseguir con la caracterización patogénica de aislados de *C. fulvum* en todos los cantones de la provincia de Tungurahua.
- Utilizar cultivares diferenciales de tomate ya establecidos en la provincia de Tungurahua para determinar la composición de razas existentes de *C. fulvum*.
- Se recomienda utilizar medios de cultivos sólidos como el PDA para una mejor activación del patógeno.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, J. (2016). Evaluación del comportamiento agronómico de nuevos híbridos de tomate hortícola "*Lycopersicum esculentum*" bajo cubierta plástica. *Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Carrera de Ingeniería Agronómica*, 1-89. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/19038/1/Tesis-122%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20381.pdf>.
- Agrios, G. (2005). "Plant Pathology".
- Alarcón, A. (2019). Calidad poscosecha del tomate (*Solanum lycopersicum L.*) cultivado en sistemas ecológicos de fertilización. *Universidad Politécnica de Madrid*, 1-201. Disponible en: https://oa.upm.es/21908/1/ALEJANDRO_ALARCON_ZAYAS.pdf.
- Arteaga, M. (2022). Comportamiento agronómico de cultivares de tomate riñón (*Lycopersicum esculentum* Mill) en Puellaro – Pichincha. *UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ. Colegio de Ciencias e Ingenierías*, 1-60. Disponible en: <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/11106/1/22943.pdf>.
- Ausay, E. (2018). Respuesta de tomate riñón (*Lycopersicum esculentum* mill) cv dominic bajo invernadero a dos relaciones nitrato/amonio mediante fertiriego por goteo. *ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA*, 45-60. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4264/3/13T0808%20.pdf>.
- Bernal, A., Martínez, B., & Díaz, A. (2006). Efecto de los medios de cultivo y temperatura en el crecimiento de *Cladosporium fulvum* COOKE (*Sin. passalora fulva*). *Fitosanidad*, 25-28. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209116158004>.
- Bernal, R. (2010). Enfermedades de Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) en invernadero en las zonas de Salto y Bella unión. *Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología de INIA*, 1-71. Disponible en:

<http://www.inia.uy/publicaciones/documentos%20compartidos/18429230710110412.pdf>.

Braun, U., & Crous, T. (2019). Protocolo de Diagnóstico: *Passalora fulva* (Cooke). *Senasica , agricultura sana para el bienestar*, 1-35 Disponible en :<http://sinavef.senasica.gob.mx/CNRF/AreaDiagnostico/DocumentosReferencia/Documentos/ProtocolosFichas/Protocolos/HongosFitopatogenos/PD%20P.%20fulva%20Pub%20V.%201.pdf>.

Cooke, M. (1883). New American fungi. *Grevillea*, 12,32.

Crous, P. (2007). Delimiting *Cladosporium* from morphologically similar genera. *Studies in Mycology*, 33-56.

Fernández, F. (2019). “*Cladosporium spp.*, antagónico a *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke., *Drechslera turcica* Pass. y *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht”. *Universidad Nacional de Cajamarca . Facultad de Ciencias Agrarias . Escuela Académico Profesional de Agronomía*, 1-73. Disponible en: <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/3779/TESIS%E2%80%9CCladosporium%20spp.%2C%20antag%C3%B3nico%20a%20Cercospora%20coffeicola%20Berk.%20%26%20Cke%2C%20Drechslera%20turcica%20Pass..pdf?sequence=1>.

Fernández, F. (2022). *Cladosporium spp.*, antagónico a *Cercospora coffeicola* Berk. & Cke., *Drechslera turcica* Pass. y *Phragmidium mucronatum* (Per.) Schlecht”. *UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGRONOMÍA*, 24-73. Disponible en: <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/3779/TESIS%E2%80%9CCladosporium%20spp.%2C%20antag%C3%B3nico%20a%20Cercospora%20coffeicola%20Berk.%20%26%20Cke%2C%20Drechslera%20turcica%20Pass..pdf?sequence=1>.

Godoy, P. (s.f.).

Godoy, P. (2018). Principales plagas y enfermedades en lechuga, tomate y cebolla. *Ciren*, 44.

- Guerrero, N. (2001). Evaluacion de la produccion comercial de tomate riñon bajo invernadero en la finca California. *Universidad Andina Simón Bolívar* , 1-106. Disponible en: <https://repositorio.uasb.edu.ec/bitstream/10644/2736/1/T0148-MBA-Guerrero-Evaluaci%c3%b3n.pdf>.
- Guzmán, A. (2017). Manual de cultivo del Tomate al aire Libre. *INIA*, 1-49.
- Iturrieta, I. (2020). Identification and phylogeny of clinical and environmental isolates of *alternaria*, *cladosporium* and other genera of dematiaceous hyphomycetes. *Unidad de Microbiología, Departamento de Ciencias Médicas Básicas, Universitat Rovira i Virgili*, 34-80. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=292551>.
- Jano, F. (2009). Cultivo y producción de Tomate. *El Cercado*, 13-23.
- Leucentini, C., Medina, R., Troncozo, M., & Yanil, S. (2020). Diversidad y razas de *cladosporium fulvum*, el agente causal del moho de la hoja del tomate. *Scielo*, 1-14. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/66665/Documento_completo_.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Martínez, L., Salazar, P., & Ramos, V. (2020). *Fulvia fulva* (Cooke) en el cultivo de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). 1-2 Disponible en: https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/plataforma_conocimiento/fichas/pdf/fd_121.pdf.
- McGilp, L. (2018). Caracterización de *Passalora fulva* y hongos asociados al moho de la hoja del tomate en túneles altos de Minnesota y el manejo de enfermedades comunes del tomate de túnel alto. *University of Minnesota Digital Conservancy*, 1-44.
- Medina, R., Troncozo, M., & Yanil, S. (2018). Diversidad y Razas de *Cladosporium fulvum* , el agente causal del Moho de la hoja de tomate . 1-14. Disponible en : http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/66665/Documento_completo_.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Novak, A. (2021). Cultivo de tomate bajo invernadero. *J Plant*, 1-128.

- Pérez, A. (2019). La interacción tomate-*Cladosporium fulvum* : Un modelo experimental para el estudio de interacciones patógeno-planta (I). *Departamento de Microbiología de la Universidad de Málaga*, 1-50. Disponible en : <https://www.uma.es/estudios/centros/Ciencias/publicaciones/encuentros/encuentros59/tomate.html>.
- Pinargote, J. (2020). Respuesta Sanitaria y Productiva del Tomate Riñón establecido bajo diferentes sistemas intercalados de producción. *Escuela superior politécnica agropecuaria de manabí manuel félix lópez. Dirección de carrera:Agrícola*, 1-46. Disponible en : <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1332/1/TTA05D.pdf>.
- Raghukumar, S. (2017). Requerimientos edafoclimáticos del tomate . *Springer*, 1-15.
- Salguero, L. (2016). “Evaluación de cuatro híbridos de tomate riñón (*Lycopersicum esculentum*) con dos densidades de plantación”. *UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO. FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS. CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA*, 34-50. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27066/1/Tesis-185%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20546.pdf>.
- Torres, E., Iannacone, J., & Gomez, H. (2008). Biocontrol del moho foliar del tomate (*Cladosporium fulvum*) empleando cuatro hongos antagonistas (.Bragantia, Campinas), 1-10. Disponible: <https://www.scielo.br/j/brag/a/xZpcGk4tDBp7QFvpZqq9Mtv/?format=pdf>.

ANEXOS

AMBATOAA101

CF0

$$22,31,53,46,50,51,34,41,45,48,32,60,47,38,36 = 634/16 = 39,62$$

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$3,9 \times 10^5 * V_x = 1 \times 10^5 * 300 \text{ml}$$

$$V_x = \frac{3 \times 10^7}{3,9 \times 10^5} = \frac{30 \times 10^6}{3,9 \times 10^5}$$

$$V_x = 7,69 \times 10$$

$$V_x = 77 \text{ml}$$

AMBATOBA301

CF2

$$29,33,28,32,30,40,21,21,32,39,32,35,31 = 403/13 = 31$$

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$3,1 \times 10^5 * V_x = 1 \times 10^5 * 300 \text{ml}$$

$$V_x = \frac{3 \times 10^7}{3,1 \times 10^5} = \frac{30 \times 10^6}{3,1 \times 10^5}$$

$$V_x = 9,6 \times 10$$

$$V_x = 96 \text{ml}$$

AMBATO CA501

CF4

$$25,30,35,27,31,33,40,22,45,48 = 336/10 = 33,6$$

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$3,3 \times 10^5 * V_x = 1 \times 10^5 * 300 \text{ml}$$

$$V_x = \frac{3 \times 10^7}{3,3 \times 10^5} = \frac{30 \times 10^6}{3,3 \times 10^5}$$

$$V_x = 9,09 \times 10$$

$$V_x = 90,9 \text{ml}$$

AMBATO DA701

CF5

41,34,26,42,38,36,63,45=325/8=40.6

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$4.6 \times 10^5 * V_x = 1 \times 10^5 * 300 \text{ml}$$

$$V_x = \frac{3 \times 10^7}{4.6 \times 10^5} = \frac{30 \times 10^6}{4.6 \times 10^5}$$

$$V_x = 6.5 \times 10$$

$$V_x = 65 \text{ml}$$

AMBATO EA901

CF6

56,60,75,29,30,45,32,55,26,35=443/10=44.3

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$4.4 \times 10^5 * V_x = 1 \times 10^5 * 300 \text{ml}$$

$$V_x = \frac{3 \times 10^7}{4.4 \times 10^5} = \frac{30 \times 10^6}{4.4 \times 10^5}$$

$$V_x = 6.8 * 10$$

$$V_x = 68 \text{ml}$$