

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



Aislamiento y caracterización del agente causal del manchado de la hoja y necrosis del fruto de *Capsicum annuum* L. en cinco localidades de la Provincia de Tungurahua y una localidad de la provincia de Chimborazo.

**DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO
REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERA AGRÓNOMA.**

AUTORA:

MARÍA LILIANA LÓPEZ VILLACIS

TUTOR:

Ing. Mg. Rita Cumandá Santana Mayorga

CEVALLOS- ECUADOR

2023

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

La suscrita, LÓPEZ VILLACIS MARÍA LILIANA, portador (a) de cédula identidad número: 1804603486 libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “Aislamiento y caracterización del agente causal del manchado de la hoja y necrosis del fruto de *Capsicum annuum* L. en cinco localidades de la Provincia de Tungurahua y una localidad de la provincia de Chimborazo” 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”.



.....

María Liliana López Villacis

DERECHOS DE AUTOR

“Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DEL MANCHADO DE LA HOJA Y NECROSIS DEL FRUTO DE *Capsicum annuum* L. EN CINCO LOCALIDADES DE LA PROVINCIA DE TUNGURAHUA Y UNA LOCALIDAD DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO”, como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniera Agrónoma, 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 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, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o parte de él”



.....

María Liliana López Villacis

“Aislamiento y caracterización del agente causal del manchado de la hoja y necrosis del fruto de *Capsicum annuum* L. en cinco localidades de la provincia de Tungurahua y una localidad de la provincia de Chimborazo”

REVISADO POR:

.....

Ing. Mg. Rita Cumandá Santana Mayorga

TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN

FECHA

.....

16/03/2023

Ing. PhD. Oscar Patricio Núñez Torres.

PRESIDENTE TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN.

.....

16/03/2023

Ing. Mg. José Hernán Zurita Vásquez.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN.

.....

16/03/2023

Ing. Mg. Edgar Luciano Valle Velástegui.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN.

DEDICATORIA

Este presente trabajo de investigación está dedicado a Dios y a la Virgen por verme cuidado y bendecido cada día de mi vida, por brindarme la sabiduría, la inteligencia y sobre todo la confianza de poder creer en mí y alcanzar todas mis metas y sueños propuestos.

A mis padres Mario López y Patricia Villacis quienes sin importar el sacrificio que hicieran lucharon día a día por mi bienestar, por mi salud y sobre todo por mis estudios, por a ver inculcado en mí, valores como: la honestidad, el respeto y sobre todo la responsabilidad y gracias a ello ser la mujer que hoy en día soy, capaz de realizar todo lo que me propongo.

A mi querido hermano Javier quien siempre me apoyo incondicionalmente y estuvo presente en alegrías y tristezas, por ser esa persona que siempre cuida de mí y demostrarme que nunca tengo que darme por vencida, que luche por mis sueños. A mi cuñada Kasandra quien se convirtió en una hermana para mí, por brindarme su cariño, por impartirme valiosos consejos y sobre todo impulsarme a que luche y triunfe en mis estudios. A mi sobrina Sofía por ser ese angelito de luz que lleno mi corazón, que me inspiro a no dejarme vencer, tomar más fuerza y alcanzar este logro.

A mi abuelito papito Miguel que no se encuentra físicamente junto a mí, pero siempre está presente mi corazón, le agradezco por brindarme su amor y su cariño sincero por compartir con usted el sueño de ser Ingeniera Agrónoma, este logro lo dedico a usted y sé que estará muy orgulloso de mí. A mi abuelita mamita Marina por estar siempre a mi lado, por ser una persona llena de virtudes quien me ha brindado consejos que han sido útiles para mi vida. A mi abuelito papito Juan quien me ha enseñado que pese a las adversidades nunca hay que perder la fe, quien siempre ha estado pendiente de mí y del progreso de mis estudios.

A mis compañeros y profesores por haberme brindado su amistad y sus valiosos conocimientos en todos los años de mi formación académica. A mis amigos quienes estuvieron junto a mí con su apoyo incondicional, quienes fueron testigo de mi gran lucha, dedicación y esfuerzo en todos los años de formación académica.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios y la virgen por brindarme la protección en todo momento, también agradezco infinitamente a mi familia por su amor incondicional y su esfuerzo para lograr culminar mi carrera universitaria.

Mi eterna gratitud a mi querida Universidad Técnica de Ambato en especial a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Carrera de Ingeniería Agronómica, por a verme permitido estudiar en esta prestigiosa universidad y ser una excelente profesional.

Mi agradecimiento eterno a mi tutor de tesis Ing. Rita Santana, por ser más que una docente una amiga, por impartir valiosos conocimientos y contribuir en mi formación profesional culminando con éxito la presente investigación y de la misma manera al Ing. Dr. Michel Leiva por su apoyo, sus consejos y opiniones para la elaboración de este proyecto.

Agradezco a todos mis docentes universitarios los cuales con su dedicación y profesionalismo me compartieron importantes conocimientos e impulsaron a ser una gran profesional.

Mi eterna gratitud a mis amigas Anita Tamayo, Myriam Aponte y Gissela López por a ver sido siempre ese gran apoyo incondicional, por a verme brindado su amistad y cariño sincero. Ha sido un largo camino que hemos recorrido juntas y estoy muy feliz de ver realizado nuestro sueño el a ver culminando nuestros estudios universitarios.

María Liliana López Villacis

INDICE

RESUMEN	1
SUMMARY	2
CAPÍTULO I	3
MARCO TEÓRICO.....	3
1.1 Introducción.	3
1.2 Antecedentes investigativos	5
1.3 Categorías fundamentales o marco conceptual	7
1.3.1 Pimiento (Capsicum annum)	7
1.3.2 Clasificación taxonómica del pimiento	7
1.3.3 Características botánicas	8
1.3.4 Condiciones agroecológicas	9
1.3.5 Etapas fenológicas	10
Según Infoagro, (2017) . señala que la fenología de un cultivo está comprendida por las etapas que forman parte de su ciclo de vida.....	
1.3.6 Plagas y Enfermedades	11
- Áfidos o pulgones (<i>Aphisgossypii</i> , <i>Macrosiphumeu phorbiae</i> , <i>Myzuspersicae</i>).....	11
- Minador de Hojas (<i>Liriomyza trifolii</i> (<i>Burgess</i>)).....	12
- Mosca blanca <i>Bemisiatabaci</i> (<i>Gennadius</i>)	12
- Araña blanca (<i>Polyphagotarsonemus latus</i>)	12
- Trips (<i>Frankliniellaoccidentalis</i> (<i>Pergande</i>), <i>Thripspalmi</i> (<i>Karny</i>) y <i>Thripstabaci</i> (<i>Lindeman</i>)).....	12
- Nemátodos (<i>Meloidogyne javanica</i> , <i>M. arenaria</i> y <i>M. incognita</i>).....	12
- Marchitamiento o Pudrición del cuello , <i>Phytophthora</i> (<i>Phytophthoracapsici</i> , <i>Phytophthora de Bary</i>).....	13
- Cenicilla (<i>Oídium sp. Link.</i>)	13
- Marchitez vascular, Fusarium (<i>Fusarium oxysporum</i>)	13
- Marchitez, pudrición suave, Erwinia (<i>ErwiniaWinslow et al</i>).....	13
- Moho Blanco (<i>Sclerotinias clerotiorum</i> (<i>Lib.</i>) de Bary).....	13

-	Virus del Mosaico del Pepino CMV (<i>Cucumber Mosaic Virus</i>)	14
1.3.7	Moho gris (<i>Cladosporium fulvum</i>) del cultivo de pimiento (<i>Capsicum annuum</i>) ... 14	14
1.3.8	Clasificación taxonómica de Moho gris (<i>Cladosporium fulvum</i>)	14
Tabla 3. Clasificación taxonómica de Moho gris (<i>Cladosporium fulvum</i>) en el cultivo de pimiento. ...		15
1.3.9	Condiciones óptimas para el desarrollo de <i>C. fulvum</i>	15
1.3.10	Signos y síntomas de <i>C. fulvum</i>	15
1.3.11	Aislamiento en medio de cultivo	16
1.4	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	16
1.4.1	Hipótesis	16
1.4.2	Objetivos	16
CAPÍTULO II.....		17
2	METODOLOGÍA	17
2.1	Ubicación del experimento	17
Tabla 4. Ubicación del experimento.		17
2.2	Caracterización del lugar	17
2.3	Equipos y materiales	18
2.3.1	Equipos	18
2.3.1	Materiales	18
2.4	Factores en estudio	19
2.4.1	Factor 1 aislados procedentes de diferentes localidades	19
2.4.2	Tratamientos	19
2.5	Diseño experimental	20
2.6	Manejo del experimento	21
	Objetivo N° 1. Obtener los aislados monospóricos del agente causal del manchado de las hojas y necrosis de fruto	21
2.6.1	Objetivo N° 2. Caracterizar las colonias de los aislados fúngicos obtenidos en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA)	23
2.6.2	Objetivo N° 3. Describir las características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios de los aislados obtenidos	24
2.6.3	Objetivo N° 4. Inocular hojas y frutos sanos con los aislados obtenido	25
2.6.4	Objetivo N° 5. Reaislar a partir de hojas inoculadas y frutos inoculadas	29

2.7	VARIABLES RESPUESTA	30
2.7.1	Caracterización cultura.....	30
2.7.2	Caracterización morfológica.....	31
2.7.3	Proceso de la elaboración de datos obtenidos.....	31
CAPÍTULO III.....		32
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
3.1	Obtención de aislados monospóricos del agente causal del manchado de las hojas y necrosis de fruto.	32
Tabla N° 5. Desarrollo de un solo conidio insertado en medio de cultivo PDA de la colonia de <i>C. fulvum</i> en hoja de diferentes localidades.....		32
Tabla N° 6. Desarrollo de un solo conidio insertado en medio de cultivo PDA de la colonia de <i>C. fulvum</i> en fruto.....		34
3.2	Caracterización de las colonias de los aislados fúngicos obtenidos en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA).	36
Tabla N° 7. Características culturales de <i>C. fulvum</i> . en hoja.....		36
Tabla N° 8. Características culturales de <i>C. fulvum</i> en fruto.....		39
3.3	Descripción de las características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios de los aislados obtenidos.	42
Tabla N° 9. Descripción de las características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios de aislados de <i>C. fulvum</i> en hojas.....		42
Tabla N°10. Descripción de las características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios de aislados de <i>C. fulvum</i> en frutos.....		44
3.4	Inocular hojas y frutos sanos con los aislados obtenido.	47
Tabla N° 11. Índice de infección por planta tomando las hojas como unidad de evaluación.....		47
Tabla N° 12. Índice de infección por fruto como unidad de evaluación.....		49
3.5	Reaislar a partir de hojas inoculadas y frutos inoculadas.	51
Tabla N° 13. Reaislación a partir de hojas inoculadas.....		51
Tabla N° 14. Reaislación a partir de frutos inoculados.....		52
CAPÍTULO IV.....		54
4	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	54
4.1	CONCLUSIONES	54
4.2	RECOMENDACIONES	55
BIBLIOGRAFÍA.....		56
ANEXOS.....		61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonomía en el cultivo de pimiento	7
Tabla 2. Etapas fenológicas del pimiento.	11
Tabla 3. Clasificación taxonómica de Moho gris (<i>Cladosporium fulvum</i>) en el cultivo de pimiento.	15
Tabla 4. Ubicación del experimento.	17
Tabla N° 5. Desarrollo de un solo conidio insertado en medio de cultivo PDA de la colonia de <i>C. fulvum</i> en hoja de diferentes localidades.	32
Tabla N° 6. Desarrollo de un solo conidio insertado en medio de cultivo PDA de la colonia de <i>C. fulvum</i> en fruto.	34
Tabla N° 7. Características culturales de <i>C. fulvum</i> . en hoja.	36
Tabla N° 8. Características culturales de <i>C. fulvum</i> en fruto.	39
Tabla N° 9. Descripción de las características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios de aislados de <i>C. fulvum</i> en hojas.	42
Tabla N°10. Descripción de las características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios de aislados de <i>C. fulvum</i> en frutos.	44
Tabla N° 11. Índice de infección por planta tomando las hojas como unidad de evaluación	47
Tabla N° 12. Índice de infección por fruto como unidad de evaluación.	49
Tabla N° 14. Reaislación a partir de hojas inoculados.	51
Tabla N° 14. Reaislación a partir de frutos inoculados	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1. Obtención de aislados monospóricos.....	22
Figura N°2. Caracterización de colonias	23
Figura N°3. Características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios mediante el procedimiento de micro cultivo	24
Figura N°4. Inoculación en hojas	26
Figura N°5. Inoculación en frutos.	28
Figura N°6. Reaislamiento en medio de cultivo a partir de hojas y en frutos ya inoculados.	29
Figura N°7. Elevación de las colonias	30
Figura N°8. Borde de la colonia.	30
Figura N°9. Forma de la colonia.....	31
Figura N°10. Hojas de <i>Capsicum annuum</i> evaluadas posteriores a la inoculación a los (20,27,34) días.	47
Figura N°11. Frutos de <i>Capsicum annuum</i> evaluados posteriores a la inoculación a los (20,27,34) días.	49

RESUMEN

El manchado de la hoja y la necrosis del fruto causado por *C. fulvum* ocasiona manchas cloróticas en el haz de las hojas que conforme avanza el patógeno se tornan amarillentas y en el envés se producen unas manchas de color oscuro que se van tornando de color verde oliva, lo que ocasiona la pérdida parcial o total de hojas y con esto dejar expuesto a los frutos a quemaduras directas producidas por el sol. En el fruto se muestran lesiones de color bronceado a negro que a medida que el patógeno avanza se forma una especie de masa aterciopelada color verde olivo, ocasionando grandes problemas económicos en los productores. En la presente investigación tiene como objetivo obtener los aislados monospóricos del agente causal del manchado de las hojas y necrosis del fruto, la caracterización de las colonias, la descripción de las características morfológicas, la inoculación de hojas y frutos sanos, donde se procedió a realizar soluciones de 10^6 y finalmente el reaislamiento a partir de hojas y frutos inoculados. Se obtuvieron 6 aislados monospóricos obtenidos de hojas y 6 aislados monospóricos obtenidos de frutos de cinco localidades de la provincia de Tungurahua (Ambato, Baños, Patate, Pelileo y Mocha) y una localidad de la provincia de Chimborazo (Riobamba), cada aislado presenta características diferentes tanto en hoja como en fruto. las características morfológicas de aislados de *C. fulvum* donde se obtuvo un promedio del tamaño de hifas de $93,67 \mu\text{m}$ en aislados obtenidos a partir de hojas y un promedio de $99,18 \mu\text{m}$ en aislados obtenidos a partir de frutos. Los conidióforos con promedio de largo de $27,82 \mu\text{m}$ en aislados de hojas y promedio de $25,82 \mu\text{m}$ en aislados de frutos. En los conidióforos con promedio de largo de $5,11 \mu\text{m}$ y promedio de ancho de $3,67 \mu\text{m}$ en aislados de hojas y un promedio de largo de $5,8 \mu\text{m}$ y promedio de ancho de $4,03 \mu\text{m}$ en aislados de frutos. En la Inoculación de hojas y frutos sanos se determinó el índice de infección en (%) a medida que los primeros síntomas aparezcan y los días vayan avanzando las hojas y los frutos van contaminándose más y obteniendo un porcentaje de infección más alto. En el reaislamiento se obtuvieron las mismas colonias de *C. fulvum* en hojas y en frutos que se recolectaron al inicio de la investigación.

Palabras clave: *C. fulvum*, verde oliva, monospórico, reaislamiento, concentración.

SUMMARY

Leaf spotting and fruit necrosis caused by *C. fulvum* causes chlorotic spots on the upper side of the leaves that turn yellowish as the pathogen progresses and dark spots on the underside that turn olive green, causing partial or total loss of leaves and exposing the fruit to direct sunburn. The fruit shows tan to black lesions that, as the pathogen progresses, form a kind of olive-green velvety mass, causing great economic problems for growers. The objective of this research is to obtain monosporic isolates of the causal agent of leaf spot and fruit necrosis, the characterization of the colonies, the description of morphological characteristics, the inoculation of healthy leaves and fruits, where 106 solutions were made and finally the re-isolation from inoculated leaves and fruits. Six monosporic isolates obtained from leaves and six monosporic isolates obtained from fruits were obtained from five localities in the province of Tungurahua (Ambato, Baños, Patate, Pelileo and Mocha) and one locality in the province of Chimborazo (Riobamba), each isolate presenting different characteristics in both leaf and fruit. The morphological characteristics of isolates of *C. fulvum* showed an average hyphal size of 93.67 μm in isolates obtained from leaves and an average of 99.18 μm in isolates obtained from fruits. The conidiophores with average length of 27.82 μm in isolates from leaves and average of 25.82 μm in isolates from fruits. In conidiophores with average length of 5.11 μm and average width of 3.67 μm in leaf isolates and average length of 5.8 μm and average width of 4.03 μm in fruit isolates. In the inoculation of healthy leaves and fruits, the infection rate was determined in (%) as the first symptoms appear and as the days go by, the leaves and fruits become more contaminated and obtain a higher infection percentage. In the re-isolation, the same colonies of *C. fulvum* were obtained in leaves and fruits that were harvested at the beginning of the research.

Key words: *C. fulvum*, olive green, monosporic, re-isolation, concentration.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Introducción.

El pimiento es procedente de América del Sur, de la zona de Bolivia y Perú. Hoy en día aproximadamente la mitad de la producción del mundo se obtiene en el área del Mediterráneo (Vallespir, 2006). Este cultivo de género *Capsicum*, de la familia solanácea perteneciente a la especie *C.annuum L.* los pimientos cultivados bajo invernadero producen frutos de gran tamaño, de sabor dulce muy característico y son de tipo *grossum cylíndricum latum* (FAO, 2015).

El cultivo de pimiento (*Capsicum annuum L.*) en Ecuador, se ha visto favorecido ya que el país tiene características geográficas adecuadas para su buen desarrollo, siendo cultivadas en la Costa y parte de la Sierra, en especial en las provincias de Guayas, Santa Elena, Manabí. El Oro, Imbabura, Chimborazo Tungurahua y Loja. El pimiento proporciona una serie de beneficios al ser humano como prevenir enfermedades crónicas y degenerativas, también protege el sistema nervioso y cerebral. Este alimento es muy rico en fibra, vitamina C y B, antioxidantes y en vitamina A, esta hortaliza puede ser aprovechado tanto crudo, hervido o asado (Pinto, 2013).

La mayor superficie destinada a la producción de pimiento es el continente asiático donde China e India son los principales productores que ocupan más del 50 % de la superficie mundial y el segundo es África. Una gran productividad de pimiento existe en América, especialmente de pimientos dulces para el consumo en fresco. En América es notable la producción de México con 168.632 ha cultivados con pimientos secos y verdes, Estados Unidos con 31.000 ha cultivadas con pimientos verdes, y le siguen Argentina, Chile y Venezuela. En Sudamérica Argentina es el principal productor, ocupando una superficie de 6000 a 3000 ha que varía año a año (Pino, 2020).

La temperatura óptima para el buen desarrollo del cultivo de pimiento está entre 18 y 28 °C, donde mayor temperatura entre los 32 °C y en condiciones de baja humedad relativa, se producen abortos o caída de botones florales y flores, así como la reducción de la capacidad del polen para la fecundación de las flores. La temperatura nocturna mayor a 30 °C puede causar el aborto de todas las flores y botones florales; por el contrario, la polinización aumenta cuando la temperatura diaria baja de 20 °C, siendo esta la temperatura óptima para el cuaje. Es importante recalcar que a temperaturas por debajo del rango óptimo y durante la formación del

botón floral se pueden aparecer la formación de múltiples frutos, pero de menor tamaño y frutos con varias deformidades (**EDANE, 2015**).

El pimiento es una planta herbácea, perenne, presenta un ciclo de cultivo anual, con un tamaño en planta que varía entre los 0,5m. (según la variedad y cultivadas al aire libre) y más de 2m de altura (en híbridos cultivados bajo invernadero). El crecimiento de este cultivo es limitado y erecto, ya que partir de la cruz emite 2 o 3 ramificaciones y continúa ramificándose dicotómicamente hasta el término de su ciclo. Su sistema radical es pivotante y profundo. La hoja es lampiña y lanceolada. Las flores aparecen en cada nudo del tallo generalmente, son hermafroditas y poseen 5 estambres, que es la estructura masculina y un solo pistilo que es la parte femenina. El fruto es una baya hueca, de color (verde, rojo, amarillo). Las semillas se encuentran insertas en una placenta cónica de disposición central (**ECOTERRAZAS, 2013**).

El pimiento en el Ecuador es un cultivo de gran importancia a nivel socioeconómico, representando la principal fuente de ingresos de la mayoría de agricultores. Este cultivo presenta un buen nivel de adaptación a diferentes climas y pisos altitudinales, sembrándose tanto en Costa como en la Sierra. En el 2017 se dedicaban 1420 ha a este cultivo, con una producción que bordeaba las 6955 toneladas y un rendimiento promedio de 4,58 toneladas por ha (**Guato, 2017**).

Cladosporium spp es un hongo filamentoso, correspondiente al filo Ascomycota y al grupo de los dematiáceos, muestran una coloración oscura muy característico de este hongo. Microscópicamente poseen hifas finas, septadas, ramificadas color hialino a marrón. Las hifas sujetan cadenas ramificadas de conidios unicelulares, elipsoides o cilíndricos, algunos con forma de escudo debido a las cicatrices de unión entre ellos. Los conidios están formados por gemación sucesiva del conidio anterior, estando el conidio más joven y pequeño al final de la cadena. Macroscópicamente presentan colonias aterciopeladas, pulverulentas o vellosas, con pliegues radiales, de color blanco o crema que tienden a oscurecerse en tonos verde oliva y, a veces, gris verdoso o marrones (**INSST, 2022**).

Hongos del género *Cladosporium* son comunes en muchas partes del mundo, sus esporas se pueden encontrar en el aire, el suelo y el agua. Comúnmente también están aislados de áreas residenciales, de uso público y de productos alimenticios. Este hongo requiere condiciones climáticas frescas y húmedas para su buen desarrollo, esporulación, liberación de esporas, germinación y desarrollo de esta enfermedad y son activos a bajas temperaturas y alta humedad. Algunas especies son patógenas para varios cultivos, pueden causar enfermedades de las

plantas económicamente importantes. Los hongos comúnmente ocurren como saprótrofos en vestigios de plantas, el tipo de síntomas que presentan son punto negro en frutos y manchas marrones en las hojas (**Ogórek et al., 2012**).

Para el control del moho gris es recomendable utilizar tratamientos que se pueden hacer con anticipación a la cosecha o en poscosecha como parte de los tratamientos de lavado y conservado de los frutos. Para controlar y prevenir patógenos de las heridas, regularmente los tratamientos poscosecha que se desarrollen en el campo son menos efectivos. En cambio, los tratamientos precosecha son un buen medio de control cuando se ocasionan daños considerables durante la recolecta y cuando los tratamientos poscosecha no se pueden realizar a tiempo (**Alemán, 2015**).

1.2 Antecedentes investigativos

El pimiento *Capsicum annuum* L. es originario de la zona de Bolivia y Perú. Fue traído al Viejo Mundo por Colón en su primer viaje (1493). En el siglo XVI ya se había difundido su cultivo en España, desde donde se distribuyó al resto de Europa y del mundo con la colaboración de los portugueses. Su introducción en Europa supuso un avance culinario, ya que vino a complementar e incluso sustituir a otro condimento muy empleado como era la pimienta negra (*Piper nigrum* L.), de gran importancia comercial entre Oriente y Occidente (**Almácigos, 2010**).

En Ecuador habían 891 ha de pimiento sembradas en monocultivos por 1,734 Unidades de Producción Agropecuarias (UPAs), según el Censo Agropecuario 2000; otras 79 ha se sembraron en cultivos asociados. La producción fue de 5,000 toneladas. Más de la mitad de la superficie se encuentra en las provincias de Manabí y Guayas, en los meses de verano (entre Julio y Enero) (**Holguín, 2002**).

Los frutos de pimiento tienen una baja producción de etileno ya que son frutos no climatéricos. Las condiciones óptimas de almacenamiento son las siguientes: Con temperaturas de 7 a 10°C siendo óptimos de 8 a 9°C es una adecuada conservación manteniéndose alrededor de 2-3 semanas, dependiendo de la variedad, estado de madurez al momento de cosecha y tratamiento poscosecha utilizado. Si los frutos se mantienen a una temperatura superior a los 12°C, puede acelerarse la madurez si se almacenan por más de una semana. Los pimientos inmaduros (verdes) son más sensibles que los maduros al daño por enfriamiento. Los frutos de pimientos completamente rojos se pueden mantener una semana entre 4 a 7°C sin ningún tipo de daño por frío (**Alemán, 2015**).

(**Angel, 2006**). Realizo una investigación donde menciona que *Cladosporium spp* presenta una morfología cuya característica muestra coloración marrón intenso a negro, lisas, cariáceas y rugosas en cada una de las colonias, también pueden presentar variantes aterciopeladas, de color verde intenso y cubiertas por un micelio veloso. Las primeras conidias pueden ser lisas, microscópicamente las hifas son observadas con presencia de un color amarillo castaño, claramente septadas, con presencia de conidióforos libremente ramificados, con apariencia de pincel, de cuyos extremos parten largas cadenas de pequeños conidios oscuros, oval o elípticos, con evidentes puntos terminantes oscuros de inspección denominados disyuntores, de color amarillo castaño.

(**Delgado, et al. 2013**). Evaluaron en su investigación el desarrollo de aislamientos de *Cladosporium spp.* después de 8 días de ser sembrados en medio de cultivo PDA y conservados en una incubadora a una temperatura de 24°C, mostrando tonalidades diferentes, en el 67% de los aislados adquirieron un color verde oliváceo, siendo este color el predominante. El 20% de los aislamientos obtienen un color verde claro amarillento y el 13% restante muestran un color gris claro con círculos concéntricos. La textura de los aislamientos varía desde aterciopelada y corrugada en el centro, que con el tiempo presentan algún tipo de masa algodonosa y textura aterciopelada.

(**Medina, 2011**) menciona que, el ciclo del moho de la hoja comienza con la germinación de los conidios que se adhieren en el envés de las hojas inferiores, donde generan hifas que penetran a través de los estomas. Una vez en el interior de la hoja, la hifa aumenta de tamaño, engrosa su diámetro y genera hifas secundarias que colonizan los espacios intercelulares del parénquima esponjoso. La pared de la célula vegetal, que se encuentra en contacto con la hifa, Cuando las condiciones de humedad son favorables es decir superiores al 85% y la temperatura oscila entre 24 y 26°C y en un período aproximado de 20 días, se produce la infección de las hojas donde aparecen los primeros síntomas de la enfermedad, siendo unas pequeñas manchas difusas de color verde pálido-amarillento, que luego se tornan amarillas en el haz y finalmente color negro ocasionando una necrosis.

Alemán (2015) Señala que *Cladosporium spp.* se encuentra regularmente en la superficie del suelo y es común encontrarse en la atmósfera. No obstante, la pudrición de tomates y pimientos tiene una gran relevancia solo en condiciones de almacenamiento prolongado. Generalmente la podredumbre se debe a que un patógeno infecta a frutos a través de daños mecánicos o daños

por frío. Las lesiones son circulares y con borde definidos. En una etapa avanzada y bajo condiciones húmeda adecuadas, aparece abundante micelio de color verde oscuro.

1.3 Categorías fundamentales o marco conceptual

1.3.1 Pimiento (*Capsicum annuum*)

Dentro de la familia Solanaceae, se encuentran más de treinta especies del género *Capsicum* denominadas como: pimientos, ajíes o chiles. De estas más de treinta especies, sólo cinco han sido domesticadas y son objeto de cultivo habitual por el hombre y estas son las siguientes: *Capsicum annuum* a la que pertenecen la mayoría de las variedades de pimientos dulces, agridulces y algunos picantes cultivados alrededor de todo mundo, particularmente en Europa y América del Norte; *Capsicum frutescens* que comprende la mayoría de las variedades picantes cultivadas en América y Asia y, en menor medida en Europa, y *Capsicum chinense*, *Capsicum baccatum* y *Capsicum pubescens* cultivadas casi exclusivamente en México (*C. chinense*) y en Los Andes (*C. baccatum* y *C. pubescens*) (Garcia et al., 2015).

1.3.2 Clasificación taxonómica del pimiento

De acuerdo con Hanan (2009), la clasificación taxonómicamente es la siguiente:

Tabla 1.

Clasificación taxonomía en el cultivo de pimiento.

<i>Capsicum annuum L.</i>	
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Asteridae</i>
Orden:	<i>Solanales</i>
Familia:	<i>Solanaceae</i>
Subfamilia:	<i>Solanoideae</i>
Tribu:	<i>Capsiceae</i>
Género:	<i>Capsicum</i>
Especie:	<i>Capsicum annuum L., 1753</i>

Fuente: tomado de (Hanan, 2009).

1.3.3 Características botánicas

Según Fornaris, (2005). manifiesta que el pimiento tiene:

1.3.3.1 Planta –

Es normalmente erecta, en ocasiones puede ser casi rastreras, de 0,5 a 2 metros de altura, presentan tallos angulosos, pero según su maduración van cambiando en cilíndricos, leñoso en la base y su crecimiento es ramificado. El tallo principal produce de 8 a 15 hojas antes de que aparezca su primera floración y posteriormente da inicio a la ramificación, dividiéndose en su ápice en dos o tres ramas. Cada rama produce una o dos hojas, terminando en una flor y se divide otra vez en dos ramas de segundo orden. Este proceso continúa produciéndose constantemente en toda su producción.

1.3.3.2 Hojas

Son alternadas, simples, de forma ovada en ocasiones pueden ser casi lanceoladas, y con su punta ahusada o gradualmente estrecha y puntiaguda. Mantienen una base en forma de cuña o aguda, y pecíolos de 1 a 16 cm de largo. La lámina presenta un grosor fino y con márgenes enteros, varía en tamaño considerablemente de 10 a 15 cm, con poca o ninguna velloidad.

1.3.3.3 Sistema radicular

Este sistema se caracteriza por ser un sistema fuerte, extenso y considerablemente profundo por poseer la capacidad de penetrar en el suelo hasta profundidades de 0,9m a 1,20m de acuerdo a las condiciones físicas que presente el suelo. El potencial de desarrollo del sistema radicular es limitado cuando el pimiento es sembrado por trasplante y cuando el riego alcanza poca profundidad.

1.3.3.4 Inflorescencia

Las flores generalmente son hermafroditas, dado que presenta estructura masculina a la presencia de cinco estambres y de estructura femenina a un pistilo observándose en cada flor de la planta. Las flores de la especie *C. annuum*, se diferencian por ser de corola blanca (raramente púrpura), con sus pétalos regularmente rectos, sus anteras con antocianina, y su cáliz acampanado, con 5 a 7 ‘dientes’, el pedicelo es normalmente curvo antes de que la flor se expanda por completo. La flor abre dentro de las primeras dos o tres horas después de la salida del sol, manteniéndose abierta generalmente por menos de un día. El factor más importante que determina la florecida o diferenciación floral en el pimiento es la

temperatura del aire, especialmente la temperatura nocturna. El largo del día no parece afectar directamente la florecida.

1.3.3.5 Fruta

Principalmente crece solitaria, de forma colgante o erecta. Se la define como una baya hueca, con la presencia de dos a cinco lóbulos o celdas que se encuentran separadas por paredes internas cruzadas. Estas paredes son incompletas. Las frutas de los diferentes tipos de pimiento de la especie *C. annuum* se observa una gran variación en cuanto a su tamaño, su forma y su color. El tamaño de fruta en esta especie varía desde 0,60 cm hasta 30 cm de largo y de bien estrecha a más de 10 cm de diámetro. La forma varía desde globosa aplastada, esférica, cónica, linear (cilíndrica alargada), rectangular, cuadrada hasta en ocasiones en forma de bloque. Puede ser de superficie o corteza lisa, irregular o arrugada. El color de la fruta varía, tanto en color verde antes de su maduración y color rojo o amarilla terminando su maduración.

1.3.3.6 Polinización

En el pimiento ocurre auto-polinización, ya que su flor es generalmente hermafrodita y auto-compatible. También se ha reportado que ocurre polinización cruzada, por lo que se estaría considerando como una polinización cruzada pero facultativa. Este tipo de cruzamiento se debe a insectos polinizadores, principalmente abejas.

1.3.4 Condiciones agroecológicas.

1.3.4.1 Temperatura:

La excelente temperatura para el cultivo de *Capsicum annuum* oscila entre 18 y 28 °C. hay que considerar que a mayor temperatura que oscile entre 32 °C o más y en condiciones de baja humedad relativa ocasiona la caída de botones florales, flores y aborto de frutos, así como la reducción de la capacidad del polen para la fecundación de las flores. Y al contrario de presentarse temperaturas menores al rango óptimo, durante la formación del botón floral pueden mostrar alteraciones múltiples como frutos de menor tamaño y frutos deformes (EDANE, 2015).

1.3.4.2 Humedad relativa

La humedad relativa fluctúa entre el 50 % y el 70 %. A elevada Humedad relativa ayudan al incremento y desarrollo de enfermedades fúngicas en zonas aéreas del cultivo, lo cual ocasiona una inadecuada fecundación. De lo contrario a altas temperaturas y una baja Humedad relativa produce la caída de flores y de frutos recién cuajados. Para prevenir el exceso de Humedad relativa se debe tener una buena ventilación, regulación del riego y construcción de drenaje. La falta de humedad se corrigió mediante los intervalos de riego (EDANE, 2015).

1.3.4.3 Luminosidad

El pimiento es un cultivo que requiere de gran luminosidad, principalmente en los primeros estadios de reproducción. Cuando existe una radiación solar demasiado fuerte puede ocasionar lesiones como: rajaduras en el fruto, manchas, y coloraciones anormales a la madurez (EDANE, 2015).

1.3.4.4 Suelos

Los suelos óptimos para el cultivo del pimiento son aquellos que muestran textura media franca a franca arenosa, con una estructura suelta, buen drenaje, buena fertilidad natural y pH ligeramente ácido a neutro entre 5,8 a 7,0. Este cultivo tiene baja tolerancia a la salinidad del suelo y del agua de regadío (EDANE, 2015).

1.3.5 Etapas fenológicas

Según Infoagro, (2017). señala que la fenología de un cultivo está comprendida por las etapas que forman parte de su ciclo de vida.

Tabla 2.*Etapas fenológicas del pimiento.*

ETAPAS FENOLÓGICAS				
Germinación	Crecimiento vegetativo	Floración	Fructificación	Maduración
10 a 15 días	43 a 45 días	45 a 50 días	65 a 110 días	110 a 180 días
Esta etapa inicia desde la siembra hasta la emergencia de la planta en el suelo.	Tras la germinación empieza el crecimiento radicular y foliar de la planta.	Aparición de flores solitarias en los nudos del tallo, en esta etapa la planta es altamente susceptible a ataques de plagas y enfermedades.	Una vez que se produjo la polinización, inicia a salir el fruto desde el centro de la flor.	En el fruto se producen cambios en su composición, como su color, olor, textura y sabor que van de acuerdo a la producción de etileno.

Fuente: Tomado de **Infoagro, (2017).**

1.3.6 Plagas y Enfermedades

1.3.6.1 Plagas

- **Áfidos o pulgones** (*Aphisgossypii*, *Macrosiphumeu phorbiae*, *Myzuspersicae*)

Son insectos que se encuentran localizados en el envés de las hojas y brotes apicales de la planta, los cuales absorben la savia y depositan una saliva maligna que produce

encrespamiento de las hojas, ocasionando deformaciones y una coloración amarillenta en las hojas **Monsalve & Rosado (2020)**.

- **Minador de Hojas** (*Liriomyza trifolii* (Burgess))

Son larvas que afectan considerablemente a las hojas formando pequeños túneles curvos e irregulares. Estos insectos ocasionan daños graves como atraso en su desarrollo, pérdida parcial o totalmente de las hojas cuando la planta está en fructificación, lo que ocasiona que los frutos queden expuestos al sol directamente causando quemaduras en el fruto **Monsalve & Rosado (2020)**.

- **Mosca blanca** *Bemisia tabaci* (Gennadius)

Es un insecto que en estado adulto y en estado inmaduro afecta al cultivo de pimiento, este actúa absorbiendo la sabia y mediante esta acción transmite un virus ocasionando en los tejidos afectados un mosaico amarillento y fumagina **Monsalve & Rosado (2020)**.

- **Araña blanca** (*Polyphagotarsonemus latus*)

También conocidos como ácaros, estos ocasionan daños al succionar el contenido de las células vegetales y segregan sustancias que dificultan el crecimiento local, malformación y distorsión del crecimiento aéreo de la planta. Este insecto tiene prioridad por tejidos vegetales jóvenes y en desarrollo como: yemas apicales, hojas jóvenes y yemas florales **Monsalve & Rosado (2020)**.

- **Trips** (*Frankliniella occidentalis* (Pergande), *Thrips palmi* (Karny) y *Thrips tabaci* (Lindeman))

Son insectos que succionan la sabia de esta manera quitan el agua y nutrientes de partes tiernas de la planta ocasionando deformaciones, cicatrices tanto en hojas, flores y frutos. Estos daños pueden llevar a grandes pérdidas económicas y pueden salirse de control rápidamente **Monsalve & Rosado (2020)**.

- **Nemátodos** (*Meloidogyne javanica*, *M. arenaria* y *M. incognita*)

Los nematodos son unos delgados gusanos que se encuentran en la raíz formando nódulos muy vistosos, generalmente producen marchitez, amarillamiento o clorosis, enanismo, desarrollo lento, frutas pequeñas y bajo rendimiento **Monsalve & Rosado (2020)**.

1.3.6.2 Enfermedades

- **Marchitamiento o Pudrición del cuello**, *Phytophthora* (*Phytophthoracapsici*, *Phytophthora de Bary*).

Esta enfermedad es producida por un hongo que atacan principalmente al cultivo de pimiento produciendo efectos adversos como marchitamiento repentino, podredumbre del cuello o donde empieza el tallo de la planta, a veces puede iniciar por la raíz y en fases terminal la planta pierde gran cantidad de hojas, originando secamiento y termina en la muerte de toda la planta, ocasionando cuantiosas pérdidas económicas **Monsalve & Rosado (2020)**.

- **Cenicilla** (*Oidium sp. Link.*)

Esta enfermedad ataca principalmente a los folíolos de la planta de pimiento produciendo síntomas como manchas redondeadas de color blanquecinas y pulverulentas en el haz y en el envés se observa un polvo blanquecino. A medida que avanza la enfermedad la hoja se seca y se desprende lo que provoca defoliaciones severas, ocasionando quemaduras en los frutos al quedar expuestos directamente al sol **Monsalve & Rosado (2020)**.

- **Marchitez vascular, Fusarium** (*Fusarium oxysporum*)

Esta enfermedad causa graves daños en la planta como marchitamiento, retraso en el desarrollo normal de la planta y presenta necrosis con una coloración marrón donde comienza el tallo. Este patógeno avanza con gran velocidad cuando la planta tiene lesiones tanto en la raíz o en el tallo provocando que no permita la absorción tanto de agua como de nutrientes fundaméntales para el desarrollo adecuado de la planta **Monsalve & Rosado (2020)**.

- **Marchitez, pudrición suave, Erwinia** (*Erwinia Winslow et al*)

Esta enfermedad es causada por una bacteria que ocasiona lesiones visibles en el fruto de pimiento produciendo una pudrición acuosa con muy mal olor cuando aún está en la planta. Esta enfermedad se multiplica por gotas de lluvia, por medio de ataque de insectos o por instrumentos mal desinfectados en la poda **Monsalve & Rosado (2020)**.

- **Moho Blanco** (*Sclerotinias clerotiorum (Lib.) de Bary*)

Esta enfermedad causa graves problemas en toda la planta de pimiento como son: un marchitamiento leve en las hojas, heridas pequeñas de color café en la zona del tallo que al

pasar unos días se convierten en moho blanco, presenta una textura acuosa, la planta se debilitando por el tallo y finalmente termina muriendo **Monsalve & Rosado (2020)**.

- **Moho Gris** (*Botrytis cinerea Pers.: Fr*)

Es una enfermedad fúngica que afecta al cultivo de pimiento causando lesiones pardas en hojas, tallo y flores, en cambio en el fruto ocasionan una podredumbre blanda, acuosa y con presencia de micelio gris. Estas afecciones se inician a través de heridas o de instrumentos mal desinfectados ocasionando importantes daños al cultivo con pérdidas económicas muy significantes al productor **Monsalve & Rosado (2020)**.

- **Virus del Mosaico del Pepino CMV** (*Cucumber Mosaic Virus*)

Este virus ocasiona amarillamiento en las hojas tiernas, clorosis difusa, rizamiento de los nervios de las hojas, el fruto presenta apariencia más pequeña de lo normal, con anillos concéntricos y líneas irregulares y en la piel existe hundimiento al tacto. Los pulgones pueden ser los principales agentes de transmisión, aunque en ocasiones también pueden ser transmitidos por semillas **Monsalve & Rosado (2020)**.

1.3.7 **Moho gris** (*Cladosporium fulvum*) del cultivo de pimiento (*Capsicum annum*).

C. fulvum es un hongo asexual que pertenece al género *Cladosporium* es heterogéneo, comprende cerca de 20 géneros diferentes. El género *Cladosporium ss.*, abarca taxones tanto benéficos como patógenos. *C. fulvum* es un hongo biotrófico no obligado, el cual se puede cultivar in vitro en medios simples. Las colonias son de color verdoso a negro, y presentan un lento crecimiento. Los conidios aparecen en cadenas ramificadas largas que brotan de conidióforos pigmentados. *C. fulvum* muestra un micelio superficial bien desarrollado que comprende hifas ramificadas y septadas, paredes celulares compuestas de polisacáridos de glucano y quitina (**Thomma et al., 2005**).

1.3.8 **Clasificación taxonómica de Moho gris** (*Cladosporium fulvum*)

De acuerdo con **Medina, R (2011)**, la clasificación taxonómicamente es la siguiente:

Tabla 3.

Clasificación taxonómica de Moho gris (Cladosporium fulvum) en el cultivo de pimiento.

<i>Cladosporium fulvum</i>	
Reino:	Fungi
Phylum:	Ascomycota
Subphylum:	<i>Pezizomycotina</i>
Clase:	<i>Dothideomycetes</i>
Subclase:	<i>Dothideomycetidae</i>
Orden:	<i>Capnodiales</i>
Familia:	Davidiellaceae
Género:	<i>Cladosporium</i>
Especie:	<i>Cladosporium fulvum.</i>

Fuente: tomado de (Medina, 2011).

1.3.9 Condiciones óptimas para el desarrollo de *C. fulvum*.

Según Thomma et al (2005). Menciona que los conidios de *C. fulvum* por lo regular se propagan por el viento o por agua. Los conidios que se fijan en el lado abaxial de la hoja dan origen y desarrollo a esta enfermedad. Para una germinación adecuada de los conidios y formación de hifas en la superficie de la hoja se necesita una alta humedad relativa, es decir más del 85%.

1.3.10 Signos y síntomas de *C. fulvum*

Según FAUBA (2021). Señala que los síntomas iniciales son manchas de color verde pálido o amarillento sin márgenes definidos en el haz de la hoja. Cuando la enfermedad avanza se puede observar el desarrollo de un moho verde oliva en el envés de la hoja. Las hojas afectadas se marchitan y posteriormente tienden a caerse de la planta. Incluso son afectados los demás órganos de planta como flores, tallos y frutos.

Cladosporium en pimiento causa graves afecciones visibles en el fruto como: lesiones color bronceado claro al principio de la enfermedad. En cuanto van pasando los días las lesiones van convirtiéndose a color marrón oscuras o negras con márgenes marrón claro. Las lesiones se recubren por una densa capa de esporas aterciopeladas color verde olivo cuando están en condiciones de alta humedad. Este patógeno es transmitido al fruto mediante heridas, en el

interior del fruto las lesiones tienen forma esponjosa y un color grisáceo y su desarrollo es lento (Rosa 2005).

1.3.11 Aislamiento en medio de cultivo

Para el aislamiento adecuado y un buen desarrollo de *C. fulvum* utilizaron el medio de cultivo (PDA) Papa- Dextrosa-Agar dando resultados favorables a los 7 días de inoculado, donde existió una concentración de conidios bastante numerable, por lo que el crecimiento micelial y la esporulación se dio en un rango de temperatura óptima que oscila entre los 20 y 25°C y de esta manera se pudo diferenciar a cada uno de los aislados en cuanto a su crecimiento (Bernal et al., 2006).

1.4 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.4.1 Hipótesis

Mediante la obtención de aislados monospóricos fúngicos asociados con el manchado de la hoja y la necrosis de frutos de *C. annum*, se podrán caracterizar las colonias, la morfología de hifas, conidióforos y conidios, así como determinar su capacidad patogénica en hojas y frutos sanos con lo cual se diagnosticará el agente causal de esta enfermedad.

1.4.2 Objetivos

1.4.2.1 OBJETIVO GENERAL

Obtener aislados monospóricos a partir de hojas y frutos de pimiento *Capsicum annuum* L. con presencia de signos y síntomas del moho gris y necrosis del fruto, mediante la caracterización cultural, morfológica y patogénica del agente causal.

1.4.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1) Obtener los aislados monospóricos del agente causal del manchado de las hojas y necrosis de fruto.
- 2) Caracterizar las colonias de los aislados fúngicos obtenidos en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA).
- 3) Describir las características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios de los aislados obtenidos.
- 4) Inocular hojas y frutos sanos con los aislados obtenidos.
- 5) Reaislar a partir de hojas inoculadas y frutos inoculadas.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1 Ubicación del experimento

Las tomas de muestra de frutos como de hojas en condiciones de campo se las realizaron en las siguientes localidades.

Tabla 4.

Ubicación del experimento.

MUESTRA	PROVINCIA	CANTÓN	LOCALIDAD	GEOREFENCIA
1	Chimborazo	Riobamba	La Armenia	1° 23' 56.4" S 78°44'29" W
2	Tungurahua	Ambato	Quillan loma	1° 13' 15.18" S 78° 33' 52.74" W
3	Tungurahua	Baños	Ulba	1° 23' 47" S 78° 25' 29" W
4	Tungurahua	Pelileo	Benítez	1° 19' 39" S 78° 32' 27" W
5	Tungurahua	Patate	El obraje	1° 19' 00" S 78° 31' 00" W
6	Tungurahua	Mocha	Pinguilí	1°23'08"S 78°37'15"W

2.2 Caracterización del lugar

Los ensayos para el aislamiento y la caracterización de las colonias y la morfología se realizaron en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, ubicada en el sector de Querochaca, Cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua. Sus coordenadas geográficas son 01° 21' 0" de latitud Sur y 78° 36' 0" de longitud Oeste, a la altitud de 2882 msnm (**Tenesaca, 2015**).

Los ensayos de patogenicidad se realizaron bajo invernadero utilizando plantas sanas crecidas en fundas plásticas. La inoculación de plantas completamente sanas se llevó a cabo en el sector de Santa Lucia La Libertad perteneciente al Cantón Tisaleo, provincia de Tungurahua. Sus

coordenadas geográficas son 01° 21' 0" de latitud Sur y 78° 40' 0" de longitud Oeste, a la altitud de 3214 msnm. El reaislamiento de las cepas se efectuaron utilizando método de impresión de hojas en el medio de cultivo PDA utilizando sulfato de estreptomicina para evitar contaminantes bacterianos.

2.3 Equipos y materiales

Aislados monospóricos de *C. fulvum* procedentes de distintos invernaderos ubicados en cinco localidades de la Provincia de Tungurahua (Ambato, Baños, Patate, Pelileo y Mocha) y una localidad de la provincia de Chimborazo (Riobamba).

2.3.1 Equipos

- Microscopio (Volumen variable 1-5ml MICROLIT RBO-5)
- Micrómetro ocular (STEINDORFF MICROSCOPE).
- Incubadora (MEMMERT modelo 400)
- Refrigerador (FISHER SCIENTIFIC Thermo Scientific – Forma)
- Balanza analítica (EUROTECH –JF2204)
- pH-metro (AB150).
- Cabina de flujo laminar (INDELAB. Modelo IDL R48V Labolan).
- Mechero de Bunsen (lampara de alcohol – NOVACHEM)
- Pie de rey (Universal Digital Serie 799)
- Autoclave (M11 ultra clave).
- Destilador de agua (CWS-4 3.5LIT SIN TANQUE – Baltalab).

2.3.1 Materiales

- Marcadores permanentes (Marker pen).
- Bolsas plásticas con cierre (Ziploc).
- Cajas Petri de plástico estéril (90 mm x 15mm de diámetro).
- Medio de cultivo PDA (Difco®)
- Agua destilada.
- Pinzas rectas de acero inoxidable (Longitud 140mm).
- Tijera de acero inoxidable.
- Parafilm.
- Vaso de precipitado (250ml).
- Probeta (1000ml).
- Papel de filtro (Whatman ®)
- Macetas o Tarrinas (1000ml)

- Suelo apto para siembra.
- Abono orgánico.
- Escalpelo o bisturí (metálico).
- Cooler (20 lt).
- Porta objetos (26x76 mm).
- Cubre Objetos (22x22mm).
- Atomizador (santul 500ml).
- Alcohol (90%)
- Libreta de campo
- Membretes
- Tubos de ensayo de cristal (18x180mm- 35ml).
- Matraz aforado (250ml).
- Erlenmeyer (500ml).
- Asa de inoculación (acero inoxidable)
- Fosforera
- Papel Aluminio (Eurofoil 20m)
- Muestras de frutos de pimiento (variedad Morrón o Nathalie).
- Muestras de hojas de pimiento (variedad Morrón o Nathalie).

2.4 Factores en estudio

2.4.1 Factor 1 aislados procedentes de diferentes localidades.

T1 - Aislados procedentes de la localidad de Riobamba.

T2 - Aislados procedentes de la localidad Ambato.

T3 - Aislados procedentes de la localidad Baños.

T4 - Aislados procedentes de la localidad Patate.

T5 - Aislados procedentes de la localidad Pelileo.

T6 - Aislados procedentes de la localidad Mocha.

2.4.2 Tratamientos

2.4.2.1 Hojas

- T1. Muestras con síntomas y signos de manchado de la hoja de *Capsicum annum L* de la localidad de Riobamba.
- T2. Muestras con síntomas y signos de manchado de la hoja de *Capsicum annum L* de la localidad Ambato.

- T3. Muestras con síntomas y signos de manchado de la hoja de *Capsicum annum L* de la localidad Baños.
- T4. Muestras con síntomas y signos de manchado de la hoja de *Capsicum annum L* de la localidad Patate.
- T5. Muestras con síntomas y signos de manchado de la hoja de *Capsicum annum L* de la localidad Pelileo.
- T6. Muestras con síntomas y signos de manchado de la hoja de *Capsicum annum L* de la localidad Mocha.
- T7. Muestras completamente sanas de hojas (Control).

2.4.2.2 Frutos

- T1. Muestras con síntomas y signos de necrosis del fruto de *Capsicum annum L* de la localidad Riobamba.
- T2. Muestras con síntomas y signos de necrosis del fruto de *Capsicum annum L* de la localidad Ambato.
- T3. Muestras con síntomas y signos de necrosis del fruto de *Capsicum annum L* de la localidad Baños.
- T4. Muestras con síntomas y signos de necrosis del fruto de *Capsicum annum L* de la localidad Patate.
- T5. Muestras con síntomas y signos de necrosis del fruto de *Capsicum annum L* de la localidad Pelileo.
- T6. Muestras con síntomas y signos de necrosis del fruto de *Capsicum annum L* de la localidad Mocha.
- T7. Muestras completamente sanas de frutos (Control).

2.5 Diseño experimental.

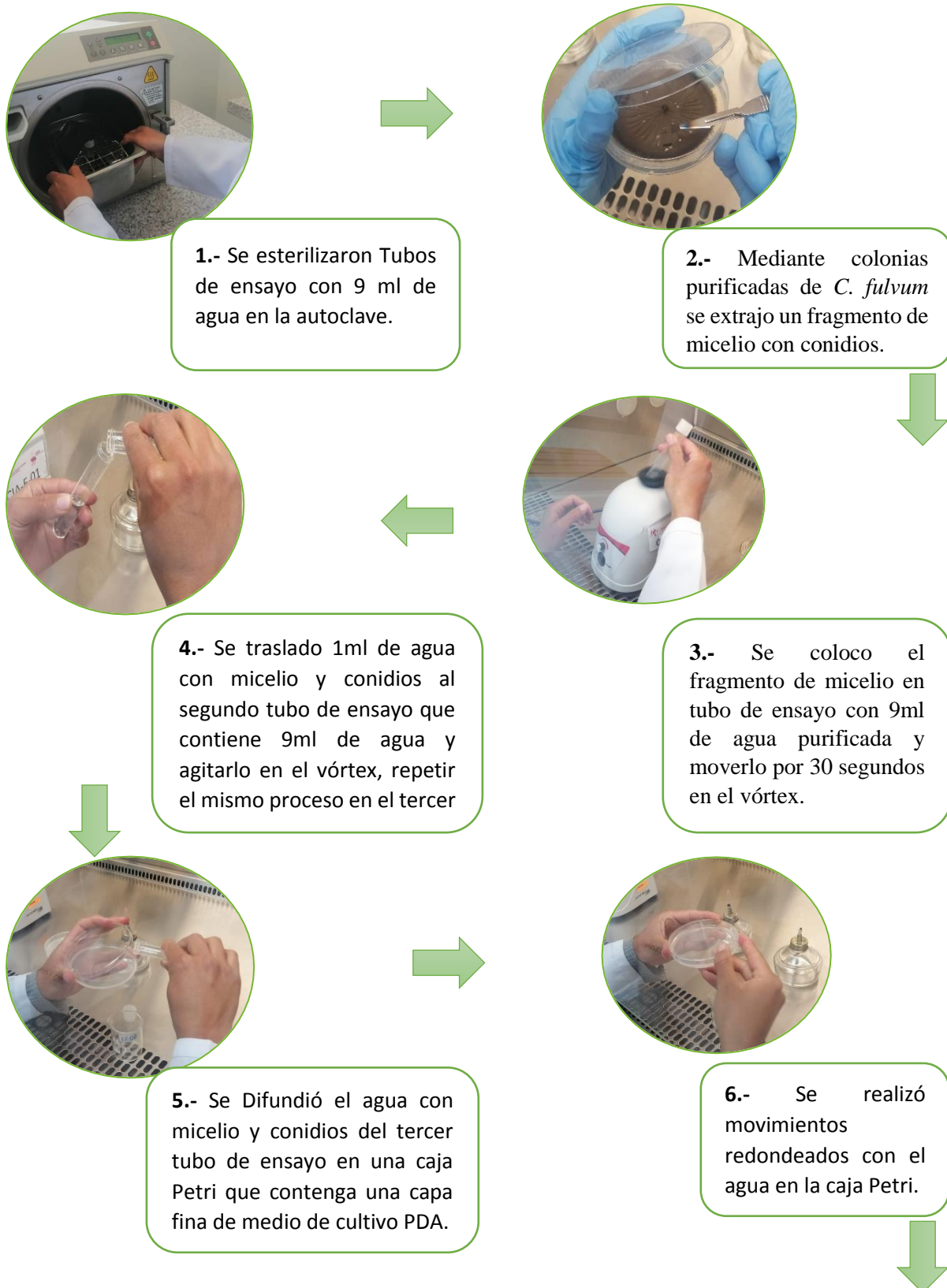
Para el aislamiento del agente causal del manchado de las hojas y necrosis del fruto a partir de diferentes muestras de hojas y frutos representativas del cultivo *Capsicum annum L* de una localidad de la provincia de Chimborazo y cinco localidades de la provincia de Tungurahua se empleó un diseño completamente aleatorizado. Se utilizó el análisis estadístico Kruskal Wallis.

2.6 Manejo del experimento.

Objetivo N° 1. Obtener los aislados monospóricos del agente causal del manchado de las hojas y necrosis de fruto.

Figura N°1.

Obtención de aislados monospóricos.





7.- Se procedió a eliminar el exceso de agua de la caja Petri.



8.- Se cubrieron con Parafilm los bordes de la caja Petri.



10.- Transcurrido 24 horas se procedió a observar en el microscopio conidios en el medio PDA de cada caja Petri.



9.- Se introdujeron las cajas Petri cubiertas con papel aluminio y se colocaron de forma vertical en la incubadora a 24°C durante 24 horas.



11.- Se seleccionó 1 conidio, el cual se lo colocó en una nueva caja Petri donde se cubrieron con papel aluminio e incubaron por 8 días a 24°C.



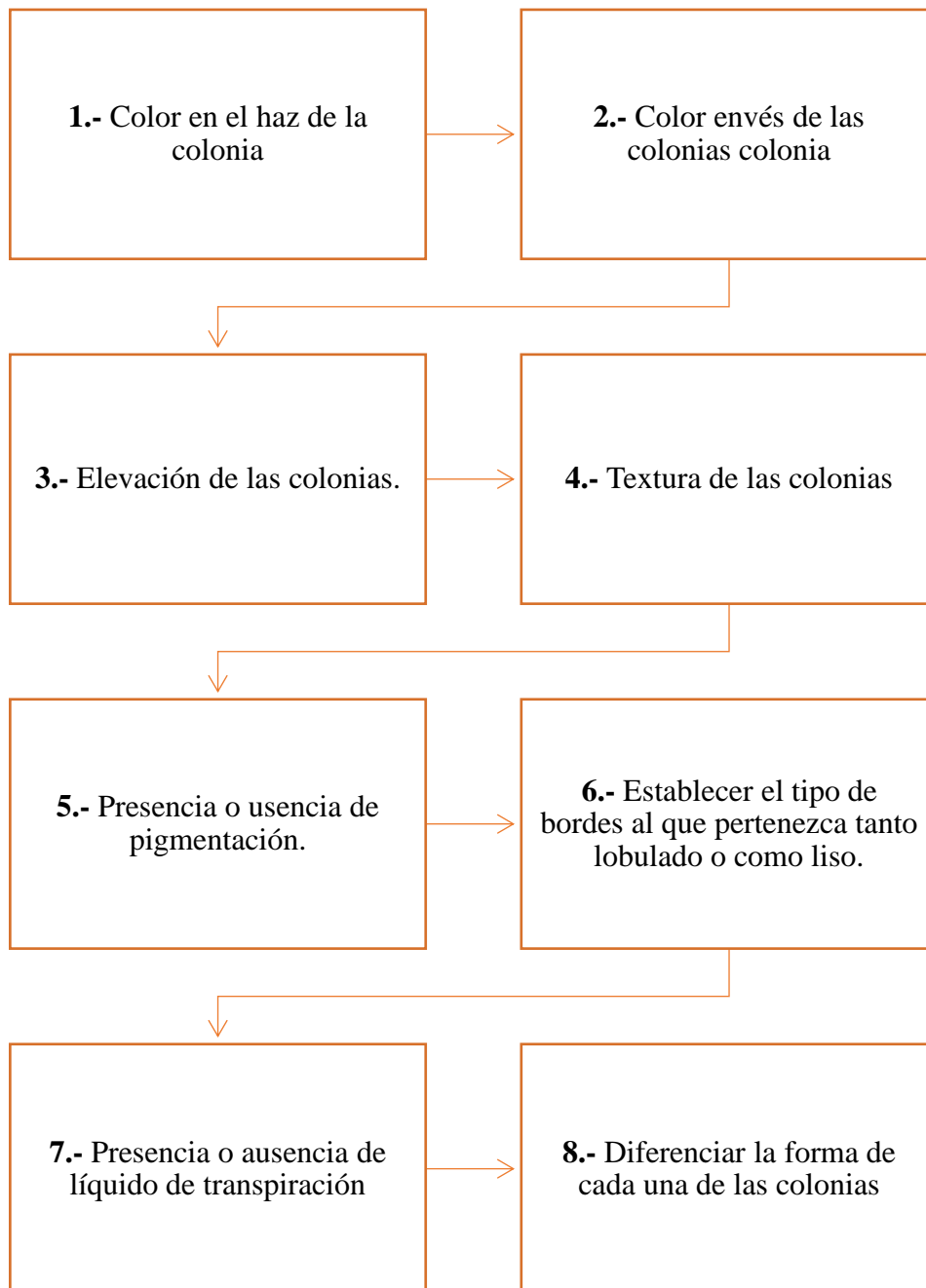
12.- Pasado 8 días se obtuvieron aislados monospóricos.

2.6.1 Objetivo N° 2. Caracterizar las colonias de los aislados fúngicos obtenidos en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA).

La caracterización cultural se llevó a cabo bajo cualidades morfológicas cualitativas y cuantitativas en diferentes colonias obtenidas como:

Figura N°2.

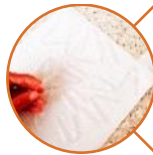
Caracterización de colonias



2.6.2 **Objetivo N° 3.** Describir las características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios de los aislados obtenidos.

Figura N°3.

Características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios mediante el procedimiento de micro cultivo



1.- Se cortó el vidrio fusible de 10 cm y se procedió a doblarlo en un mechero en un ángulo de aproximadamente de 30 grados.



2.- Se procedió a la preparación de medio de cultivo PDA



3.- Mediante la autoclave se esterilizaron los materiales como: vidrio fusible, porta y cubre objetos, medio de cultivo PDA, vaso de precipitación y papel filtro.



4.- En la tarrina desinfectada con alcohol al 70% se colocó papel filtro humedecido y el vidrio fusible, con el fin de que sirva de soporte.



5.- En el vaso de precipitación que contiene el medio de cultivo PDA se introdujo los extremos del porta objetos, seguidamente se colocó el cubre objetos y dejarlo enfriar.



6.- Posteriormente, se procedió a sembrar el hongo en los portaobjetos



7.- Para que exista un buen desarrollo de hifas conidios y conidióforos se incubaron durante 7 días a una temperatura de 24°C.



8.- Finalmente, con la ayuda del micrómetro ocular introducido en el microscopio electrónico se logró observar y medir hifas, conidióforos y conidios.

2.6.3 Objetivo N° 4. Inocular hojas y frutos sanos con los aislados obtenido.

- Procedimiento en hojas.

Figura N°4.

Inoculación en hojas

1.- Se Esterilizaron en la autoclave los siguientes materiales: pincel, agua destilada, tubos de ensayo, gasas, vasos de precipitación y embudo.



2.- En una caja Petri con aislado monospórico de hojas, se vertieron 10 ml de agua estéril y con la ayuda de un pincel se removió delicadamente a modo que se extraiga la mayor cantidad de conidios.



4.- Se preparó una solución de 600 ml de agua con conidios y mediante la cámara de Neubauer se ajustó a una concentración de 10^6



3.- Se Filtró el líquido obtenido del aislado monospórico mediante el uso de tres gasas.



5.- Se Inocularon las hojas sanas de las plantas con la ayuda de un atomizador.



6.- Se cubrieron la planta inoculadas con una funda plástica transparente durante 24 horas.



7.- Pasado las 24 horas se retiraron las fundas plásticas y se esperó aproximadamente 20 días para que muestren signos y síntomas de la enfermedad *C. fulvum*.



- **Procedimiento en frutos**

Figura N°5.

Inoculación en frutos.

1.- Se Esterilizaron en la autoclave los siguientes materiales: pincel, agua destilada, tubos de ensayo, gasas, vasos de precipitación y embudo.



2.- Se desinfectaron cada uno de los frutos de pimiento con alcohol al 70%



4.- Se Filtraron el líquido obtenido del aislado monospórico de frutos mediante el uso de tres gasas.



3.- En una caja Petri con aislado monospórico de frutos, se vertieron 10 ml de agua estéril y con la ayuda de un pincel se removi6 delicadamente a modo que se extraiga la mayor cantidad de conidios.



5.- Se preparo una solución de 600 ml de agua con conidios y mediante la cámara de Neubauer se ajustó a una concentración de 10^6 .



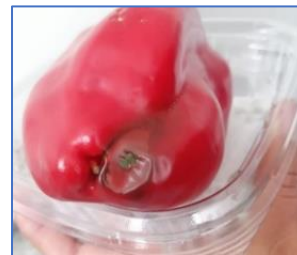
6.- Se Inoculo el fruto de pimiento sumergiéndolo en un recipiente con la suspensión de conidios antes preparada.



8.- Pasado aproximadamente 10 días los frutos mostraron signos y síntomas de la enfermedad *C. fulvum*.



7.- Cada fruto de pimiento se colocaron en una tarrina con papel filtro humedecido para mantener condiciones óptimas para el desarrollo de *C. fulvum*.



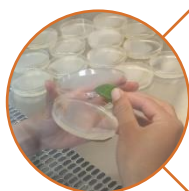
2.6.4 Objetivo N° 5. Reaislar a partir de hojas inoculadas y frutos inoculadas.

Figura N°6.

Reaislamiento en medio de cultivo a partir de hojas y en frutos ya inoculados.



1.- Se prepararon cajas Petri con medio de cultivo PDA en concentración de 39 g en 1000 ml de agua destilada y con sulfato de estreptomicina para evitar crecimiento bacteriano.



2.- Para el reaislamiento de muestras de hojas se utilizó el método de impresión, mediante la recolección de hojas inoculadas con *C. fulvum*.



3.- Para el reaislamiento de muestras de frutos se utilizó el método de siembra directa de frutos inoculados con *C. fulvum*



4.- Seguidamente se etiquetaron las cajas Petri y se sellaron con Parafilm.



5.- Se cubrieron las cajas Petri con papel aluminio y se colocaron en la incubadora a 24 °C para que desarrolle el micelio.



6.- Finalmente, al paso de 7 días se verificaron que los aislados son los mismos que fueron inoculados anteriormente.

2.7 VARIABLES RESPUESTA

2.7.1 Caracterización cultura

- Color en el haz y el en vez de la colonia







Para la determinación del color tanto en el anverso como en el reverso de las colonias se utilizó la tabla de Munsell para una correcta identificación (Munsell, 2009).

- Elevación de las colonias.

Se describió visualmente la elevación de las colonias según la figura N° 7 que menciona (Diaz, 2018).

Figura N° 7.

Elevación de las colonias.

PLANA 	ACUMINADA 
PLANOCONVEXA 	UMBILICADA 
CONVEXA 	PAPILADA 

- Textura de las colonias.

Para la descripción visual de las texturas de las colonias, se identificó si fueron granulosa, pulverulenta, vellosa, aterciopelada o algodonosa según (Gonzales 2017).

- Pigmentación del medio de cultivo.







Se describieron si presentan o no pigmentación en el medio de cultivo de acuerdo a (Gonzales 2017).

- Bordes de las colonias.

Se describieron visualmente que tipo de bordes presentaron las colonias según la figura N° 8 que menciona (Diaz, 2018).

Figura N° 8.

Bordes de las colonias.

REDONDEADO 	ESPICULADO 
ONDULADO 	FILAMENTOSO 
LOBULADO 	RIZOIDE 

- **Presencia o ausencia de líquido de transpiración.**

Se determinó la ausencia o presencia de líquido de transpiración visualmente según (Jácome 2021).

- **Forma de la colonia.**

Se describió visualmente que tipo de forma presenta las colonias según la figura N° 9 que menciona (Diaz, 2018).

Figura N° 9.

Forma de las colonias

PUNTIFORME 	IRREGULAR 
CIRCULAR 	RIZOIDE 
FILAMENTOSA 	FUSIFORME 

2.7.2 Caracterización morfológica

- Mediante el micrómetro ocular cuantificar el tamaño de 30 hifas.
- Mediante el micrómetro ocular cuantificar el tamaño de 30 conidióforos.
- Mediante el micrómetro ocular cuantificar el tamaño de 30 conidios.
- Índice de infección

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

2.7.3 Proceso de la elaboración de datos obtenidos.

Mediante la utilización de la base de datos en Excel se procedió a evaluar y registrar las características culturales y morfológicas de los aislados tanto en hojas como en frutos.

También se registraron datos que fueron analizados mediante el programa SPSS de la versión 26.0 por medio del análisis estadístico Kruskal Wallis.

CAPÍTULO III





RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1 Obtención de aislados monospóricos del agente causal del manchado de las hojas y necrosis de fruto.

Se logro obtener 6 aislados monospóricos de hoja y 6 aislados monospóricos del fruto de cinco localidades de la provincia de Tungurahua (Ambato, Baños, Pelileo, Patate y Mocha) y una localidad de la provincia de Chimborazo (Riobamba)

Tabla N° 5.

Desarrollo de un solo conidio insertado en medio de cultivo PDA de la colonia de C. fulvum en hoja de diferentes localidades.

N° de aislados	Localidad	Fotografía de la colonia	
		Anverso	Reverso
1	Ambato		
2	Baños		


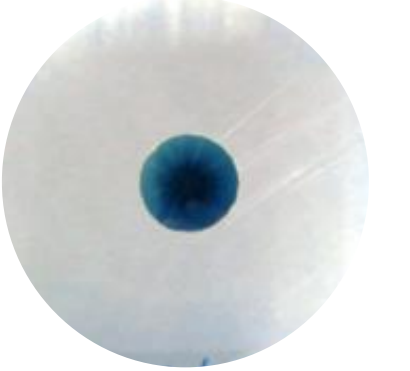








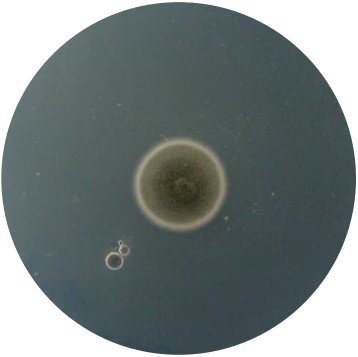




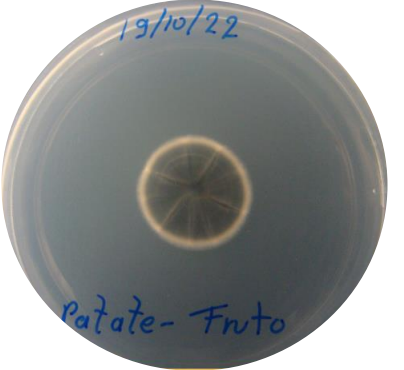



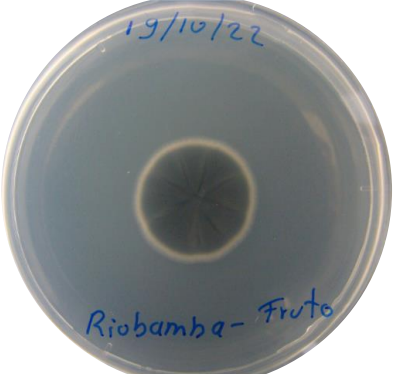
3	Pelileo		
4	Patate		
5	Mocha		
6	Riobamba		

Tabla N° 6.

Desarrollo de un solo conidio insertado en medio de cultivo PDA de la colonia de C. fulvum en fruto.

N° de aislados	Localidad	Fotografía de la colonia	
		Anverso	Reverso
1	Ambato		
2	Baños		
3	Pelileo		

4	Patate		
5	Mocha		
6	Riobamba		

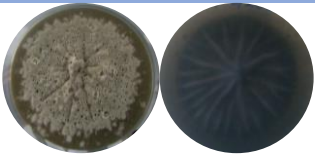
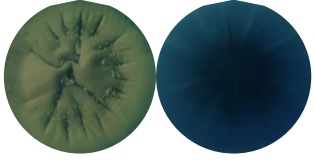
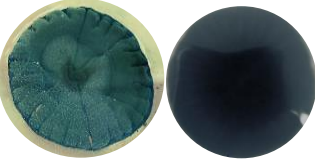
Como se observa en la tabla N° 5 como en la tabla N° 6, se logró tener 1 aislado monospórico por cada localidad teniendo en cuenta que, 6 aislados monospóricos son de hoja y 6 aislados monospóricos son de fruto del cultivo de *C. annuum*. Obteniendo así un total de 12 aislados monospóricos de *C. fulvum* (Bernal et al., 2006) indica que las mejores condiciones de temperatura para el óptimo desarrollo de *C. fulvum*, oscila entre 20°C a 25°C obteniendo así resultados favorables en la obtención de aislados monospóricos.

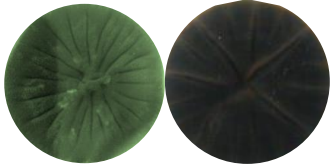

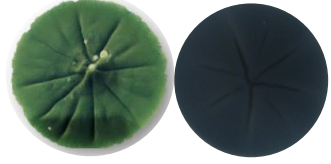
3.2 Caracterización de las colonias de los aislados fúngicos obtenidos en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA).

Para la caracterización se tomaron en cuenta 6 aislados de **HOJAS** de cinco localidades de la provincia de Tungurahua (Ambato, Baños, Pelileo, Patate y Mocha) y una localidad de la provincia de Chimborazo (Riobamba)

Tabla N° 7.

Características culturales de C. fulvum. en hoja.

Localidad	Color del haz.	Color del envés.	Elevación	Textura	Pigmentación	Bordes	Líquido de transpiración	Forma	Imagen
Riobamba	Verde oliva	Negro	Planoconvexa	Aterciopelada	Si	Redondeado	No	Circular	
Ambato	Verde oliva	Negro	Planoconvexa	Aterciopelada	Si	Redondeado	Si	Circular	
Baños	Verde oliva	Negro	Planoconvexa	Aterciopelada	Si	Lobulado	No	Circular	

Patate	Verde oliva	Negro	Planoconvexa	Aterciopelada	Si	Redondeado	No	Circular	
Pelileo	Verde oliva	Negro	Planoconvexa	Aterciopelada	Si	Redondeado	No	Circular	
Mocha	Verde oliva	Negro	Planoconvexa	Aterciopelada	Si	Lobulado	No	Circular l	

En los aislado de *C. fulvum* de las diferentes localidades en hojas se pudo identificar en la tabla N° 7 las siguientes características culturales como:

En la caracterización de la colonia se evaluó el **color del haz** de los aislados en las 6 localidades muestra una uniformidad presentando un color verde oliva.

En la caracterización de la colonia se evaluó el **color del envés** de los aislados en las 6 localidades muestra una homogeneidad presentando un color negro.

En la caracterización de la colonia se evaluó la **textura** de los aislados en las 6 localidades muestra una homogeneidad presentando una textura aterciopelada.

En la caracterización de la colonia se evaluó la **elevación** de los aislados de las 6 localidad muestran una igualdad ya que todos presentan una elevación planoconvexa.

En la caracterización de la colonia se evaluó la **pigmentación** de los aislados de las 6 localidad muestran una semejanza ya que todos no presentan pigmentación.

En la caracterización de la colonia se evaluó los **bordes** de los aislados en los que Riobamba, Ambato, Patate y Pelileo muestran bordes lisos a diferencia de Baños y Mocha muestran bordes lobulados.

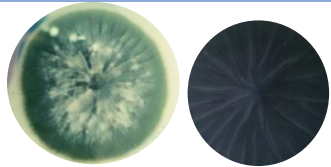
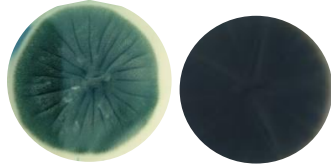
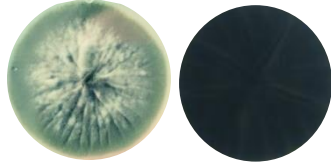
En la caracterización de la colonia se evaluó el **líquido de transpiración** de los aislados en los que Riobamba, Baños, Patate, Pelileo y Mocha no muestran liquido de transpiración a diferencia de Ambato que si muestra liquido de transpiración.

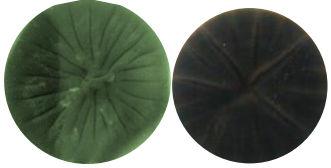

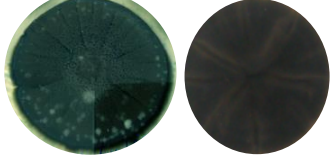
En la caracterización de la colonia se evaluó la **forma** de los aislados en los que muestran semejanzas ya que todos los aislados son de forma elipsoidal.

Para la caracterización se tomaron en cuenta 6 aislados de **FRUTOS** de cinco localidades de la provincia de Tungurahua (Ambato, Baños, Pelileo, Patate y Mocha) y una localidad de la provincia de Chimborazo (Riobamba)

Tabla N° 8.

Características culturales de C. fulvum en fruto.

Localidad	Color del haz.	Color del envés.	Elevación	Textura	Pigmentación	Bordes	Líquido de transpiración	Forma	Imagen
Riobamba	Verde oliva	Negro	Planoconvexa	Aterciopelada	Si	Redondeado	No	Circular	
Ambato	Verde oliva	Negro	Planoconvexa	Aterciopelada	Si	Lobulado	No	Circular	
Baños	Verde oliva	Negro	Planoconvexa	Aterciopelada	Si	Redondeado	No	Circular	

Patate	Verde oliva	Negro	Planoconvexa	Aterciopelada	Si	Redondeado	No	Circular	
Pelileo	Verde oliva	Negro	Planoconvexa	Aterciopelada	Si	Redondeado	No	Circular	
Mocha	Verde oliva	Negro	Planoconvexa	Aterciopelada	Si	Redondeado	No	Circular	

En los aislado de *C. fulvum* de las diferentes localidades en frutos se pudo identificar en la tabla N° 8 las siguientes características culturales como:

En la caracterización de la colonia se evaluó el **color del haz** de los aislados en las 6 localidades muestra una uniformidad presentando un color verde oliva.

En la caracterización de la colonia se evaluó el **color del envés** de los aislados en las 6 localidades muestra una homogeneidad presentando un color negro.

En la caracterización de la colonia se evaluó la **elevación** de los aislados de las 6 localidad muestran una igualdad ya que todos presentan una elevación planoconvexa.

En la caracterización de la colonia se evaluó la **textura** de los aislados de las 6 localidad mostrando una textura aterciopelada en todas las muestras.

En la caracterización de la colonia se evaluó la **pigmentación** de los aislados de las 6 localidad muestran una semejanza ya que todos si presentan pigmentación.

En la caracterización de la colonia se evaluó los **bordes** de los aislados en los que Riobamba, Baños, Patate, Pelileo y Mocha muestran bordes lisos a diferencia de Ambato muestra un borde redondeado.

En la caracterización de la colonia se evaluó el **líquido de transpiración** de los aislados en los que todas las colonias no muestran la presencia de líquido de transpiración.

En la caracterización de la colonia se evaluó la **forma** de los aislados en los que muestran semejanzas ya que todos los aislados son de forma circular.



Se puede determinar que en la provincia de Tungurahua y en la provincia de Chimborazo se encuentra *C. fulvum* con frecuencia en el cultivo de pimiento. Según **INSST (2022)** Menciona, que las colonias de *C. fulvum* al ser observadas en el microscópico óptico muestran texturas aterciopeladas, vellosas, presentan pliegues radiales, se caracterizan por tener un color blanco o crema al inicio de su crecimiento, pero tienden a oscurecerse a medida que van creciendo y los tonos pasan a color verde oliva, en ocasiones color gris verdoso o marrón y en el reverso presentan color negro. **Infante (2014)** Indica, que *C. fulvum* pueden ser de diferente estructura como: formas elipsoidales, oblongos, esféricos, sub esféricos, circular o fusiformes, en la base de la colonia forman una cicatriz la cual puede ser unicelular o tener de 1 a 3 septos transversales, paredes lisas, verrugosas o equinada, color oliváceo a marrón oscuro característico de este hongo

3.3 Descripción de las características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios de los aislados obtenidos.

En la siguiente investigación, mediante la realización de micro cultivos tanto de hojas como de frutos de 5 localidades de la provincia de Tungurahua y 1 localidad de la provincia de Chimborazo, se midieron mediante el micrómetro ocular y el microscopio óptico 30 hifas, 30 conidióforos y 30 conidios de cada aislado. La descripción de las características morfológicas fue evaluada en una base de datos en Excel y se tomaron en cuenta los promedios de cada aislado.

Tabla N° 9.

Descripción de las características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios de aislados de C. fulvum en hojas.

Localidad	Hifas (µm)	Conidióforos (µm)	Conidios (µm)		Imagen
			Largo	Ancho	
Ambato	81,89	25,32	8,01	6,30	
Baños	94,82	24,17	3,35	2,63	


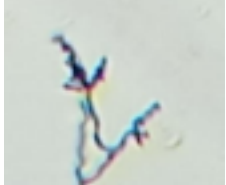







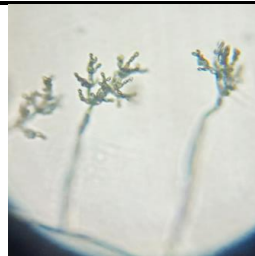
Pelileo	93,77	27,84	3,87	2,82	
Patate	99,68	29,42	3,94	2,96	
Mocha	94,03	32,37	7,95	4,53	
Riobamba	97,84	27,78	3,55	2,76	
PROMEDIO	93,67	27,82	5,11	3,67	

Tabla N°10.

Descripción de las características morfológicas de hifas, conidióforos y conidios de aislados de C. fulvum en frutos.

Localidad	Hifas (µm)	Conidióforos (µm)	Conidios (µm)		Imagen
			Largo	Ancho	
Ambato	93,12	30,38	7,03	4,20	
Baños	116,30	32,44	5,12	4,01	
Pelileo	92,26	20,69	4,20	2,89	

Patate	83,79	27,71	7,81	5,19	
Mocha	98,37	24,43	3,94	2,82	
Riobamba	111,24	19,24	7,16	5,06	
PROMEDIO	99,18	25,82	5,88	4,03	

En la tabla N° 9 y N° 10 se puede observar la descripción de las características morfológicas de los aislados monospóricos de 5 localidades de la provincia de Tungurahua y 1 localidad de la provincia de Chimborazo obtenidos de aislados en HOJAS y de aislados en FRUTOS de pimiento.

Análisis de hifas procedentes de aislados en hojas donde se analizó la presencia de variaciones significativas en cuanto al largo, teniendo en cuenta que el valor máximo oscila entre 99 μm y el mínimo entre 25 μm , obteniendo un promedio de 93,67 μm , y en aislados obtenidos de frutos presentan un valor máximo oscila entre 100 μm y el mínimo entre 20 μm , obteniendo un promedio de 99,18 μm . según **Medina (2011)** menciona que, el crecimiento de las hifas se da mediante la extensión de sus ápices mediante el crecimiento polarizado y mediante ramificaciones, al conjunto de las hifas se las denomina micelio. El tamaño de las hifas presenta un tamaño promedio que fluctúa desde 0.5 μm a 100 μm , ya que el micelio se puede extender y alcanzar gran extensión **Moreno (2000)**.

Los conidióforos procedentes de aislados en hojas presentan variaciones significativas en cuanto a su tamaño tomando en cuenta como 40 μm como máximo y 7 μm como mínimo, obteniendo un promedio de 27,82 μm ., y en aislados obtenidos de frutos presenta un tamaño máximo de 56 μm y un mínimo de 3 μm , obteniendo un promedio de 25,82. según **Medina (2011)** indica que, 7 días post inoculación los conidióforos emergen y presentan características morfológicas como un tamaño de 50 μm como máximo y 10 μm como mínimo respectivamente mediante el microscopio.

Los conidios procedentes de aislados en hojas presentan variaciones significativas en cuanto a su tamaño como largo, teniendo como máximo 9 μm y un valor mínimo de 2 μm , a diferencia del ancho los valores máximos fueron de 5 μm y de 1 μm mínimo, obteniendo un promedio de largo del conidio de 5,11 μm y un promedio del ancho del conidio 3,67 μm . y en aislados obtenidos de frutos presentan un tamaño en cuanto a largo de un valor máximo de 9 μm y 1 μm mínimo y en cuanto a el ancho un valor máximo de 5 μm y mínimo de 1 μm , obteniendo un promedio de largo de conidio de 5,88 μm y un promedio del ancho del conidio de 4,03 μm . según **Braun & Crous (2003)** manifiesta que, el crecimiento de la colonia y la morfología de *C. fulvum* presenta color verde oliva en la colonia donde sus conidios presentan las siguientes características conidios en cadenas, globosos, elípticos, uniseptados o aseptados, con una escala máxima de 10 μm de largo. **Bizkaia (2008)**. Indica que, mediante el microscopio se observan conidios de diferentes tamaños que oscilan entre 12 a 47 μm de largo y de 4 a 10 μm de ancho.

3.4 Inocular hojas y frutos sanos con los aislados obtenido.

En el siguiente procedimiento, por medio de la inoculación con una suspensión de conidios de 10^6 en plantas y frutos completamente sanos tomando en cuenta 3 plantas por cada localidad y 3 plantas que no van a ser inoculadas, obteniendo un total de 21 plantas y 3 frutos por cada localidad y 3 frutos que no van a ser inoculados, obteniendo un total de 21 frutos. Se evaluaron el índice de infección en los días (20,27,34) posteriores a la inoculación y cuando aparezca la enfermedad (tabla N° 11 y figura N°7).

Tabla N° 11.

Índice de infección por planta tomando las hojas como unidad de evaluación

Índice de infección promedio por planta tomando las hojas como unidad de evaluación							
Tratamiento		20 dpi		27 dpi		34 dpi	
N°	Localidad	Promedio (%)	Rango	Promedio (%)	Rango	Promedio (%)	Rango
1	Control	0	a	0	a	0	a
2	Riobamba	16,33	a b	28,33	a b	46,67	a b
3	Mocha	16,67	a b	41,67	b c	55,33	b c
4	Baños	18,33	a b c	32,67	a b	45,33	a b
5	Patate	21,67	b c	42,00	b c	58,00	b c
6	Ambato	22,00	b c	36,67	a b c	55,00	b c
7	Pelileo	27,67	c	47,67	c	63,00	c

Figura N°10.

Hojas de Capsicum annum evaluálas posteriores a la inoculación a los (20,27,34) días.



En la evaluación realizada a los 20 días posteriores a la inoculación en hojas de *C. annuum* en 5 localidades de la provincia de Tungurahua y 1 localidad de la provincia de Chimborazo, se observó en la tabla N° 11, existen diferencias estadísticas significativas respecto al porcentaje de infección, se determinó que Pelileo obtuvo un promedio de 27,67 % siendo la localidad que más presenta el índice de infección de *C. fulvum*, a diferencia del tratamiento que no fue inoculado (Control), el cual obtuvo un promedio de 0 % el cual no presenta ningún porcentaje de infección es decir no se contaminó de *C. fulvum*.

En la evaluación realizada a los 27 días posteriores a la inoculación en hojas de *C. annuum*, se observó en la tabla N° 11 diferencias estadísticas significativas respecto al porcentaje de infección, se determinó que Pelileo obtuvo un promedio de 47,67 % siendo la localidad que más presenta el índice de infección de *C. fulvum*, a diferencia del tratamiento que no fue inoculado, el cual obtuvo un promedio de 0 % el cual no presenta ningún porcentaje de infección es decir no se contaminó de *C. fulvum*.

En la evaluación realizada a los 34 días posteriores a la inoculación en hojas de *C. annuum*, se observó en la tabla N° 11 donde mostraron diferencias estadísticas significativas respecto al porcentaje de infección, se determinó que Pelileo obtuvo un promedio de 63,00 siendo la localidad que más presenta el índice de infección de *C. fulvum*, a diferencia del tratamiento que no fue inoculado, el cual obtuvo un promedio de 0 el cual no presenta ningún porcentaje de infección es decir no se contaminó de *C. fulvum*.

Tabla N° 12.

Índice de infección por fruto como unidad de evaluación.

Índice de infección promedio por fruto como unidad de evaluación.							
Tratamiento		20 dpi		27 dpi		34 dpi	
N°	Localidad	Promedio (%)	Rango	Promedio (%)	Rango	Promedio (%)	Rango
1	Control	0	a	0	a	0	a
2	Baños	0	a	20,00	a b	40,00	a b
3	Mocha	6,67	a b	26,67	a b	46,67	a b
4	Ambato	13,33	a b c	40,00	b c	60,00	b c
5	Riobamba	30,00	b c	53,33	b c	73,33	b c
6	Pelileo	40,00	b c	46,67	b c	66,67	b c
7	Patate	46,67	c	66,67	c	86,67	c

Figura N°11.

Frutos de Capsicum annum evaluados posteriores a la inoculación a los (20,27,34) días.



En la evaluación realizada a los **20 días** posteriores a la inoculación en hojas de *C. annuum* en 5 localidades de la provincia de Tungurahua y 1 localidad de la provincia de Chimborazo, se observó en la tabla N° 11, existen diferencias estadísticas significativas respecto al porcentaje de infección, se determinó que Patate obtuvo un promedio de 46,67 % siendo la localidad que más presenta el índice de infección de *C. fulvum*, a diferencia del tratamiento que no fue inoculado (Control), el cual obtuvo un promedio de 0 % el cual no presenta ningún porcentaje de infección es decir no se contaminó de *C. fulvum*.

En la evaluación realizada a los **27 días** posteriores a la inoculación en hojas de *C. annuum*, se observó en la tabla N° 11 diferencias estadísticas significativas respecto al porcentaje de infección, se determinó que Patate obtuvo un promedio de 66,67 % siendo la localidad que más presenta el índice de infección de *C. fulvum*, a diferencia del tratamiento que no fue inoculado, el cual obtuvo un promedio de 0 % el cual no presenta ningún porcentaje de infección es decir no se contaminó de *C. fulvum*.

En la evaluación realizada a los **34 días** posteriores a la inoculación en hojas de *C. annuum*, se observó en la tabla N° 11 donde mostraron diferencias estadísticas significativas respecto al porcentaje de infección, se determinó que Patate obtuvo un promedio de 86,67 % siendo la localidad que más presenta el índice de infección de *C. fulvum*, a diferencia del tratamiento que no fue inoculado, el cual obtuvo un promedio de 0 el cual no presenta ningún porcentaje de infección es decir no se contaminó de *C. fulvum*.

Según **Van et al. (2007)** indica que, el procedimiento de inoculación en plantas sanas consiste en: la suspensión de 1×10^6 conidios/ml pulverizando 5 ml sobre el envés de las hojas de las plantas a estudiarse, las plantas tienen que ser cubiertas completamente con un plástico transparente por 48 horas a 100 % Humedad Relativa, seguidamente se incubaron los conidios en condiciones estándar de un invernadero entre 16 a 8 horas de luz y oscuridad a una Humedad Relativa entre 70%. El avance de la enfermedad *C. fulvum* se observó durante 15-18 días posteriores a la inoculación.

Según **Torres et al. (2008)** menciona que, se aplicó 50 ml de una disolución de 10^8 conidios de *C. fulvum* sobre folíolos completamente sanos de las plantas a temperatura entre 24°C a 28°C y a una humedad relativa (HR) entre los 70% a 80% hasta la manifestación de síntomas en las hojas a partir de 14 a 16 días.

3.5 Reaislar a partir de hojas inoculadas y frutos inoculadas.

En este procedimiento se reaislo hojas y frutos que fueron inoculados y que ya presentaron la enfermedad en medio de cultivo PDA.

Tabla N° 13.

Reislación a partir de hojas inoculadas.

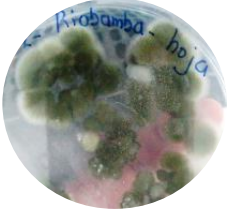


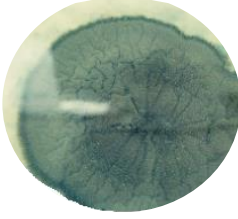


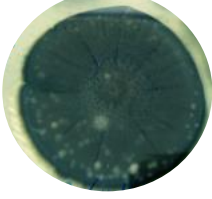
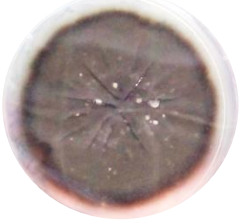
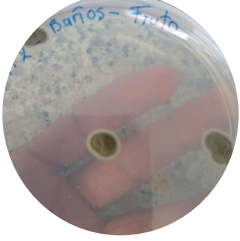
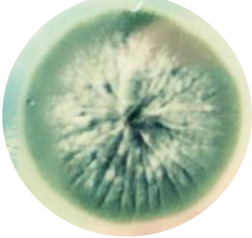
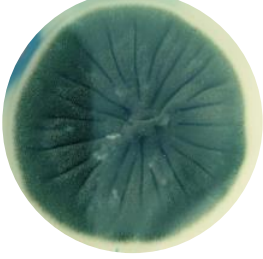

Aislado N°	Localidad	Imagen
1	Riobamba	
2	Ambato	
3	Baños	
4	Patate	
5	Pelileo	
6	Mocha	

Tabla N° 14.*Reislación a partir de frutos inoculados.*

Aislado N°	Localidad	Imagen
1	Riobamba	
2	Ambato	
3	Baños	
4	Patate	
5	Pelileo	
6	Mocha	

En la tabla N° 13 y N° 14 se puede observar la Reaislación a partir de hojas inoculadas y frutos inoculadas en 5 localidades de la provincia de Tungurahua y 1 localidad de la provincia de Chimborazo.

Mediante hojas y frutos que anteriormente fueron inoculados y que ya presentan síntomas, se tomaron muestras tanto de hojas como frutos para proceder a sembrarlos en medio de cultivo PDA. Se realizaron los mismos procedimientos que se hicieron al inicio de la investigación, para las hojas se realizó la siembra mediante el método de impresión de hojas y para el fruto se realizó la siembra directa a partir del fruto que contiene micelio de *C.fulvum* en cajas Petri con 15 ml de PDA (Papa- Dextrosa -Agar). Finalmente, las cajas que fueron sembradas con este patógeno fueron guardadas en la incubadora a 19°C durante 7 días y se observó que los aislados obtenidos son el resultado de las colonias que fueron inoculadas inicialmente.

Bernal et al. (2006) afirma que la temperatura y el medio de cultivo son muy importantes para el crecimiento adecuado de micelio de hongos. El medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar) influye significativamente en el crecimiento micelial de *C. fulvum* y entre 21°C y 25°C de temperaturas menciona que es muy favorables para el desarrollo adecuado de este patógeno y si la temperatura supera los 30°C menciona que no es favorable para el crecimiento micelial.

Rosa (2005) menciona que *C. fulvum* provoca lesiones bronceadas oscuras en el fruto de pimiento y al pasar los días las lesiones se ponen más oscuras y con la presencia de bordes claros. Cuando este patógeno está en óptimas condiciones las esporas recubren con una densa masa color verde olivo toda la lesión. El patógeno ingresa al fruto por medio de alguna herida.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- 1) Concluida esta investigación se obtuvieron 6 aislados monospóricos de *C.fulvum* procedentes de hojas y 6 aislados monospóricos de *C.fulvum* procedentes de frutos de 5 localidades de la provincia de Tungurahua y un aislado de la provincia a de Chimborazo.
- 2) Se caracterizaron las colonias de *C.fulvum* donde las 12 colonias tanto de hoja como de fruto presentaron un color verde oliva en el haz y un color negro en el envés. Se menciona que en los 12 aislados presentaron una textura aterciopelada. En las 12 colonias presentaron una elevación planoconvexa. en los 12 aislados presentan pigmentación. Ala vez que los aislados a partir de hojas de las localidades de (Riobamba, Ambato, Patate y Pelileo) presentan bordes redondeados y de (Baños y Mocha) presentan bordes lobulados y en los aislados a partir de frutos de las localidades de (Riobamba, Baños, Patate, Pelileo y Mocha) muestran bordes redondeado y solo de (Ambato) presenta bordes lobulados. Mientras que en los aislados a partir de hojas de las localidades de (Riobamba, Baños, Patate, Pelileo y Mocha) no presentan liquido de transpiración a diferencia de (Ambato) que si obtuvo liquido de transpiración y en aislados a partir de frutas todas las colonias no presentaron liquido de transpiración. Finalmente, en los 12 aislados procedentes de hojas como de frutos todos tiene forma circular.
- 3) Se describieron las características morfológicas de aislados de *C. fulvum* donde se obtuvo un promedio de hifas de 93,67 μm en aislados obtenidos a partir de hojas y un promedio de 99,18 μm en aislados obtenidos a partir de frutos. Los conidióforos obtuvieron un promedio de 27,82 μm en aislados obtenidos a partir de hojas y un promedio de 25,82 μm en aislados obtenidos a partir de frutos. En los conidióforos se obtuvo un promedio de largo de 5,11 μm y un promedio de ancho de 3,67 μm en aislados obtenidos a partir de hojas y un promedio de largo de 5,8 μm y un promedio de ancho de 4,03 μm en aislados obtenidos a partir de frutos.

- 4) En la Inoculación de hojas y frutos sanos con los aislados obtenido se evaluaron el índice de infección tanto en hojas y como en frutos, donde se determinó que a medida que los primeros síntomas aparezcan y los días vayan avanzando las hojas y los frutos van contaminándose más y obteniendo un porcentaje de infección más alto.
- 5) En el reaislamiento se obtuvieron las mismas colonias de *C.fulvum* en hojas y en frutos que se recolectaron al principio de la investigación.

4.2 RECOMENDACIONES

- 1) Se recomienda la utilización de medio de cultivo PDA (Papa- Dextrosa -Agar) cuando se quiera asilar *C. fulvum* ya que en este medio tiene un excelente crecimiento micelial.
- 2) Utilizar extracto de estreptomicina cuando quiera aislar hongos ya que es un excelente antibiótico el cual no permite el desarrollo de bacterias.
- 3) Emplear diferentes cultivares de *C.annuum* para precisar la composición de razas de *C.fulvum* en diferentes cantones

BIBLIOGRAFÍA

- Alemán L (2015). CONTROL DE LAS PODREDUMBRES DE PIMIENTO (*Capsicum annuum* var. California) CON ÁCIDO PEROXIACÉTICO. <https://core.ac.uk/download/60433036.pdf>
- Almacigos. (2010). El cultivo de pimiento. <http://www.almacigos.cl/bt/EL%20CULTIVO%20DEE%20PIMTENTO.pdf>
- Angel, D (2006). Evaluación de técnicas de conservación para hongos filamentosos y levaduriformes – *Cladosporium*. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8280/tesis260.pdf?sequence=1>
- Bernal, A; Martínez, B; Díaz, M; Herrera, L & Díaz, A (2006) EFECTO DE LOS MEDIOS DE CULTIVO Y LA TEMPERATURA EN EL CRECIMIENTO DE *CLADOSPORIUM FULVUM COOKE* (SIN. *PASSALORA FULVA*). <https://www.reDALYC.org/pdf/2091/209116158004.pdf>
- Bizkaia (2008). Cladosporiosis en tomate. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/plataforma_conocimiento/fichas/pdf/fd_121.pdf
- Braun, U & Crous, S (2003). Protocolo de Diagnóstico: *Passalora fulva* (Moho de la hoja). <http://sinavef.senasica.gob.mx/CNRF/AreaDiagnostico/DocumentosReferencia/Documentos/ProtocolosFichas/Protocolos/HongosFitopatogenos/PD%20P.%20fulva%20Pubb%20V.%201.pdf>
- Delgado, C; Castaño, J & Villegas, B (2013). CARACTERIZACIÓN DEL AGENTE CAUSANTE DE LA ROÑA DEL MARACUYÁ (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* DEGENER) EN COLOMBIA. <http://www.scielo.org.co/pdf/racefn/v37n143/v37n143a05.pdf>

Diaz, R (2018). Morfología de las Colonias. <https://labdemicrobiologia.wixsite.com/scientist-site/morfolog-a-de-las-colonias>

ECOTERRAZAS (2013). El cultivo del pimiento. <https://www.ecoterrazas.com/blog/el-cultivo-del-pimiento/>

EDANE (2015). El cultivo del pimentón (*Capsicum annum L*) bajo invernadero. https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos_jul_2015.pdf

FAO, (2015). PRODUCCIÓN VEGETAL- Pimiento (*Capsicum spp.*). <https://www.fao.org/3/s8630s/s8630s08.htm#TopOfPage>

FAUBA (2021). Moho de la hoja. https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=14934

Fornaris, G (2005). Conjunto Tecnológico para la Producción de Pimiento. <https://www.upr.edu/eea/wp-content/uploads/sites/17/2016/03/PIMIENTO-Character%C3%ADsticas-de-la-Planta-v2005.pdf>

García, T; Coletto, J & Velázquez, R (2015). LA HISTORIA DEL PIMIENTO. <https://www.unex.es/conoce-la-uex/centros/eia/archivos/iag/2015/2015-14-historias-de-plantas-ii-la-historia-del.pdf>

Gonzales, E (2017). Textura de hongos. <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/microambiental/wp-content/uploads/2016/08/TP-8-Micolog%C3%ADa.pdf>

Guato, M (2017). Evolución de tres híbridos de pimiento (*Capsicum annum L.*). <https://wordpress.com/typo/?subdomain=felixmaocha>

Hanan, A & Mondragón, J (2009) Taxonomía *Capsicum annum* L. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/capsicumannuum/fichas/ficha.htm#:~:text=Categor%C3%ADas%20taxon%C3%B3micas%20superiores,%3A%20Asteridae%3B%20Orden%3A%20Solanales>.

Holguín, P & romero E (2002) ESTUDIO DE PREFACTIBILIDAD PARA LA PRODUCCION DE PIMIENTO EN LA PENINSULA DE SANTA ELENA. <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/474/1/919.pdf>

Infante, F (2014). Aeromicología de Córdoba: Cladosporium Link ex Fr. <http://www.uco.es/aerobiologia/hongos/cladospo.htm>

Infoagro, (2017). La absorción de nutrientes en pimiento (chile) – etapa fenológica. https://www.infoagro.com/documentos/la_absorcion_nutrientes_pimiento_chile.asp

INSST (2022). Cladophialophora bantiana (Xylohypha bantiana, Cladosporium bantianum, C. trichoides). <https://www.insst.es/agentes-biologicosbasebio/hongos/cladophialophora-bantiana>

INSST (2022). Cladosporium spp. <https://www.insst.es/agentes-biologicosbasebio/hongos/cladosporium-spp>

Jácome, D (2021). Aislamiento, caracterización cultural y morfológica de aislados monospóricos del agente causal del moho gris de la hoja de *Solanum lycopersicum* L. en la provincia de Tungurahua. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/34298/1/Tesis297%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20%20J%C3%A1come%20Pilco%20Dayana%20Estefan%C3%ADa.pdf>

- Medina, R (2011). “Caracterización morfológica y molecular de aislamientos de *Cladosporium*.”. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/67014/Documento_completo_.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Monsalve, M & Rosado, M (2020) Estudio fenológico de 3 variedades de Pimentón (*Capsicum annum* L.) en el municipio de Valledupar departamento del Cesar. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/34708/jdsanchezmon.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Moreno (2000). Correlación de la tasa de crecimiento radial y la tasa de crecimiento específico de hongos filamentosos aislados de la planta Espeletia barclayana. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/56850/tesis.PDF?sequence=1>
- Munsell (2009). Color Verde oliva oscuro. <http://www.colores.org.es/verde-oliva-oscurο.php>
- Ogórek, R., Lejman, A., Pusz, W., Miłuch, A., & Miodyńska, P. (2012). Características y taxonomía de los hongos *Cladosporium*. https://www.researchgate.net/profile/Rafal-Ogorek/publication/233818972_Characteristics_and_taxonomy_of_Cladosporium_fungi/links/0912f50be286d8ddcc000000/Characteristics-and-taxonomy-of-Cladosporium-fungi.pdf
- Pino, M (2020). CULTIVO Y MANEJO DEL PIMIENTO (*Capsicum annum* L.). [file:///C:/Users/Liliana/Downloads/Gu%C3%ADa%20de%20Pimiento%202020%20\(4\).pdf](file:///C:/Users/Liliana/Downloads/Gu%C3%ADa%20de%20Pimiento%202020%20(4).pdf)
- Pinto, M (2013). EL CULTIVO DEL PIMIENTO Y EL CLIMA EN EL ECUADOR. <https://www.inamhi.gob.ec/meteorologia/articulos/agrometeorologia/El%20cultivo%20del%20pimiento%20y%20el%20clima%20en%20el%20Ecuador.pdf>

Rosa, E (2005). Conjunto Tecnológico para la Producción de Pimiento – ENFERMEDADES. <https://www.upr.edu/eea/wp-content/uploads/sites/17/2016/03/PIMIENTO-Enfermedades-v2005.pdf>

Tenesaca, M (2015). FENOLOGÍA Y PROFUNDIDAD RADICAL DEL CULTIVO DE GIRASOL (*Helianthus annuus*) var. *Sunbright* EN EL SECTOR QUEROCHACA, CANTÓN CEVALLOS, PROVINCIA DE TUNGURAHUA. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/10401/1/Tesis97%20%20%20Ingenier%c3%ada%20Agron%c3%b3mica%20-CD%20320.pdf>

Thomma, B; Van, P & Crous, P (2005). *Cladosporium fulvum* (syn. *Passalora fulva*), un patógeno vegetal altamente especializado como modelo para estudios funcionales en plantas patógenas Mycosphaerellaceae. <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1364-3703.2005.00292.x>

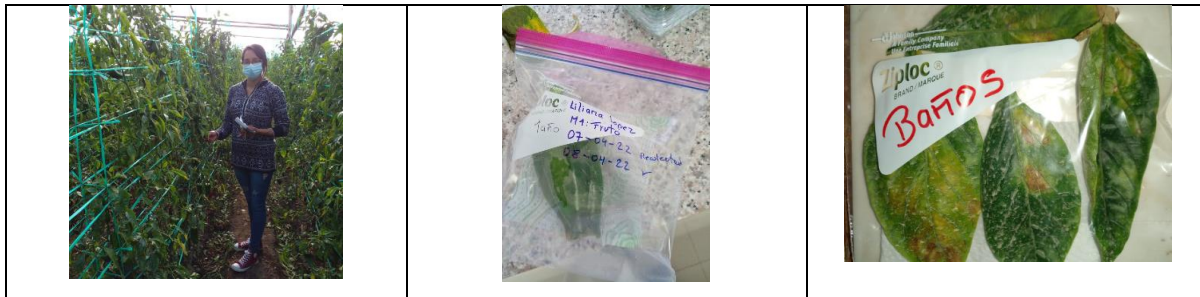
Torres, E; Iannacone, J & Gomez H (2008) BIOCONTROL DEL MOHO FOLIAR DEL TOMATE CLADOSPORIUM FULVUM EMPLEANDO CUATRO HONGOS ANTAGONISTAS. <https://www.scielo.br/j/brag/a/xZpcGk4tDBp7QFvpZqq9Mtv/?format=pdf&lang=es>

Vallespir, A (2006). El pimiento en el mundo. <http://www.horticom.com/tematicas/pimientos/pdf/capitulo1.pdf>

Van, H; Bolton, M; Stergiopoulos, I; Pierre, J & Bart, P (2007): The Chitin-Binding *Cladosporium fulvum* Effector Protein Avr4 Is a Virulence Factor. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/epdf/10.1094/MPMI-20-9-1092>

ANEXOS

Anexo N° 1. Recolección de muestras de hojas y frutos con signos y síntomas de *C.fulvum*



Anexo N° 2. Preparación de cámaras húmedas en frutos.



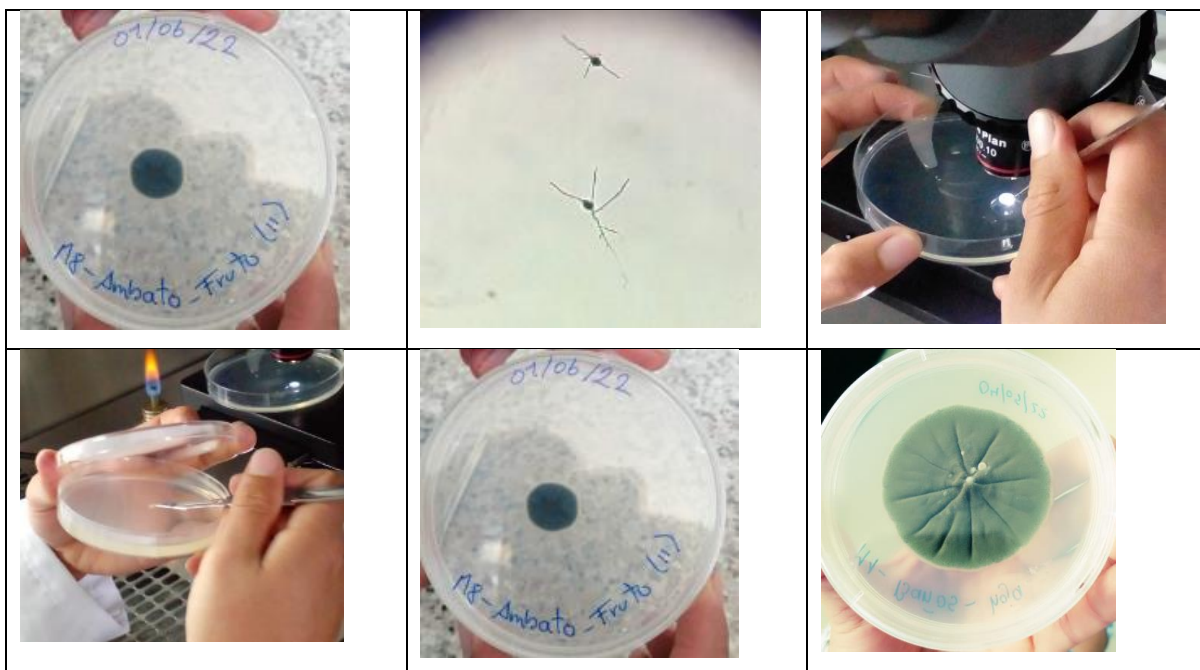
Anexo N° 3. Preparación del medio de cultivo PDA.



Anexo N° 4. Siembra de *C. fulvum* en cajas Petri con medio de cultivo.



Anexo N°5 . obtención de aislados monospóricos.









Anexo N°6. Caracterización morfológica de hifas, conidióforos y conidios.



Anexo N° 7. Inoculación de hojas y frutos completamente sanos a partir de las colonias monospóricas obtenidos.



Anexo N° 8. Escala para evaluar el porcentaje de infección de la enfermedad en hojas.

ESCALA	0	1	2	3	4	5
(%) DAÑO	0 %	1 – 5 %	6 – 25 %	26 – 50 %	51 – 75 %	>75 %
IMAGEN						

Anexo N° . Escala para evaluar el porcentaje de infección de la enfermedad en frutos.

ESCALA	0	1	2	3	4	5
(%) DAÑO	0 %	1 – 5 %	6 – 25 %	26 – 50 %	51 – 75 %	>75 %
IMAGEN	