



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE AGRONOMÍA

“Aislamiento y caracterización del agente causal de pudriciones en el cultivo de *Allium sativum* L.”

Propuesta del proyecto de investigación como requisito para obtener el título de Ingeniera Agrónoma

AUTOR

MONICA TATIANA TITUAÑA CAJAHUISHCA

TUTOR

ING. DAVID ANÍBAL GUERRERO CANDO

CEVALLOS – ECUADOR

2023

AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

La suscrita MONICA TATIANA TITUAÑA CAJAHUISHCA, portadora de la cedula de identidad número: 1805507868, libre y voluntariamente declaro que el trabajo de investigación titulado: **“Aislamiento y caracterización del agente causal de pudriciones en el cultivo de *Allium sativum* L.”** es original, autentica y personal. En tal virtud, declaro que el contenido será de mi sola responsabilidad legal y académica.



MONICA TATIANA TITUAÑA CAJAHUISHCA

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulada: **“Aislamiento y caracterización del agente causal de pudriciones en el cultivo de *Allium sativum* L.”** 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 cualquier copia de este informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

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



MONICA TATIANA TITUAÑA CAJAHUISHCA

"Aislamiento y caracterización del agente causal de pudriciones en el cultivo de *Allium sativum* L."

REVISADO POR:

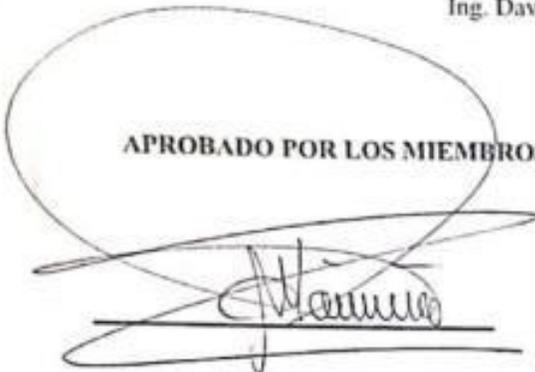


Ing. David Anibal Guerrero Cando

TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO

FECHA



Ing. Patricio Nuñez Torres, Ph.D.

PRESIDENTE

30/08/2023



Ing. Agr. Mg. Segundo Curay Q.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO

30/08/2023



Ing. Mg. Hernán Zurita

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO

30/08/2023

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación está dedicado a Dios y a la Virgen del Quinche por a verme brindado 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 Nelson Tituaña y Yolanda Cajahuishca quienes me apoyaron moral y económicamente en lo que podían, por a ver inculcado en mí, valores como; la responsabilidad, la honestidad y el respeto. Sobre todo, a mi madre por ser muy constante en mi vida y nunca dejarme sola.

A mis hermanos Kevin y Johan por haber estado en los momentos de alegrías y tristezas. Además, por haber estado incondicionalmente en mi vida.

A mi abuelita Luz María que siempre me ha brindado su ayuda moral, por brindarme su amor y su cariño sincero. A mi abuelito Alberto Lema que no se encuentra físicamente junto a mí, pero siempre está en mi corazón, le agradezco por su cariño sincero y por apoyarme al principio de esta carrera, este logro lo dedico a usted y sé que estará muy orgulloso de mí.

A mis profesores por haberme compartido sus valiosos conocimientos en todos los años de mi formación académica.

AGRADECIMIENTO

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

Mi sincero agradecimiento a mi querida Universidad Técnica de Ambato en especial a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Carrera de Agronomía por a verme permitido estudiar en tan prestigiosa y excelente Universidad.

Mi agradecimiento eterno a mi tutor de tesis Ing. David Guerrero, por ayudarme a construir en mi formación profesional, culminando con éxito la presente investigación y de la misma manera al Dr. Michel Leiva y Dra. Viviana Rodríguez por su apoyo, opiniones y consejos para la elaboración de este proyecto.

Mi eterna gratitud a mi amiga Grimaneza Moreno por haberme ayudado en todo lo que necesitaba, por darme una amistad más buena y sincera que he conocido, por acompañarme en todo el transcurso de esta carrera, por compartir buenos y malos momentos conmigo. Ha sido un largo camino que hemos recorrido y estoy muy feliz de haber culminado juntas nuestros estudios universitarios.

INDICE

RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
MARCO TEÓRICO.....	3
1.1. JUSTIFICACIÓN.....	3
1.2. Antecedentes investigativos	5
1.3. Categorías fundamentales o marco conceptual	6
1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	20
CAPÍTULO II.....	21
2. METODOLOGÍA.....	21
2.1. Ubicación del experimento.....	21
2.3. Equipos y materiales	22
2.4. Manejo del Experimento	24
2.5. Variables respuesta.....	29
CAPÍTULO III	33
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
3.1. Aislamiento de microorganismos asociados con la pudrición en el cultivo de ajo (<i>Allium sativum</i> L.).....	33
3.2. Caracterización cultural y morfológica de los agentes causales del cultivo de ajo (<i>Allium sativum</i> L.).....	39
CAPÍTULO IV	48
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	48
4.1. CONCLUSIONES	48

INDICE DE TABLA

Tabla 1	7
<i>Taxonomía del ajo</i>	7
Tabla2 <i>Taxonomía Sclerotium cepivorum</i>	14
Tabla3 <i>Taxonomía de Fusarium oxysporum</i>	16
Tabla4 <i>Taxonomía de Penicillium allii</i>	17
Tabla 5 <i>Composición PDA</i>	19
Tabla 6 <i>Desarrollo de las colonias de los hongos sembrados en medio de cultivo PDA de las colonias de Sclerotium cepivorum Berk, F. oxysporum y P. allii</i>	34
Tabla 7	39
<i>Crecimiento de las colonias</i>	39
Tabla8 <i>Caracterización cultural del aislado Sclerotium cepivorum Berk</i>	40
Tabla 9 <i>Caracterización cultural del aislado Penicillium allii</i>	41
Tabla 10 <i>Caracterización cultural del Aislado Fusarium oxysporum</i>	42
Tabla 11 <i>Definición paramétrica de Fusarium Oxysporum</i>	45
Tabla 12 <i>Definición paramétrica de la morfología de Penicillium allii</i>	46
Tabla 13 <i>Definición paramétrica de la morfología de Scerotium cepivorum</i>	47

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.....	21
<i>Localización de la recolección de muestras.....</i>	21
Figura 2 <i>Diagrama de actividades realizadas para la recolección de muestras en el cultivo de Allium sativum.....</i>	24
Figura 3 <i>Diagrama de aislamiento directo: Cámara húmeda.....</i>	25
Figura 4.....	26
Figura 5 <i>Diagrama de la preparación del PDA.....</i>	27
Figura 6.....	28
<i>Diagrama de siembra en PDA.....</i>	28
Figura 7 <i>Diagrama Tinción de Lactofenol.....</i>	29
Figura 8 <i>Carta de Colores Pantone.....</i>	30
Figura 9 <i>Bordes de la colonia.....</i>	30
Figura10 <i>Forma de la colonia.....</i>	31
Figura 11 <i>Elevación de la colonia.....</i>	31
Figura 12.....	35
<i>CLAVE TAXONOMICA.....</i>	35
Figura 13.....	36
<i>Fusarium de Carlos Falconi.....</i>	36
Figura 14 <i>Identificación de F. oxysporum.....</i>	36
Figura 15 <i>Penicillium de Carlos Falconi.....</i>	37
Figura 16 <i>Identificación de Penicillium allii.....</i>	37
Figura 17 <i>Sclerotium de Carlos Falconi.....</i>	38
Figura 18 <i>Identificación de Sclerotium cepivorum.....</i>	38
Figura 19 <i>Agresividad de Crecimiento de los HONGOS.....</i>	43

RESUMEN

El ajo (*Allium sativum* L.) es uno de los cultivos de menor superficie de siembra en Ecuador debido a sus problemas fitosanitarios y a la falta de bulbo semilla de calidad. Uno de los factores que afecta la producción de este cultivo es la presencia de enfermedades, entre las más comunes la pudrición del bulbo. Por tal razón se planteó la presente investigación con el objetivo de identificar los agentes causales que se presentan en la pudrición del cultivo de ajo en la parroquia Pilahuín perteneciente a la provincia Tungurahua. A partir de tejido del bulbo infectado se obtuvieron tres aislados los cuales fueron seleccionados para realizar la caracterización cultural y morfológica. Los resultados indicaron que los agentes causales de las pudriciones más comunes fueron *Fusarium oxysporum* f.sp. cepae, *Penicillium allii* y *Sclerotium cepivorum* Berk. Se aguarda que los resultados de estos estudios sirvan de base para el establecimiento de un programa de manejo integrado de enfermedades que lleve al aumento del área de siembra de ajo (*Allium sativum* L.) para poder llegar a un abastecimiento en Ecuador.

Palabras clave: *Allium sativum* L., *Fusarium oxysporum*, *Penicillium allii*, *Sclerotium cepivorum*, caracterización cultural, caracterización morfológica.

ABSTRACT

Garlic (*Allium sativum* L.) is one of the crops with the smallest planting area in Ecuador due to its phytosanitary problems and the lack of quality seed bulbs. One of the factors that affects the production of this crop is the presence of diseases, among the most common is bulb rot. For this reason, the present investigation was proposed with the objective of identifying the causal agents that occur in the rotting of the garlic crop in the Pilahuín parish belonging to the Tungurahua province. Three isolates were obtained from infected bulb tissue, which were selected for cultural and morphological characterization. The results indicated that the causative agents of the most common rots were *Fusarium oxysporum* f.sp. cepae, *Penicillium allii* and *Sclerotium cepivorum* Berk. It is hoped that the results of these studies serve as a basis for the establishment of an integrated disease management program that leads to an increase in the garlic (*Allium sativum* L.) planting area in order to reach a supply in Ecuador.

Key words: *Allium sativum* L., *Fusarium oxysporum*, *Penicillium allii*, *Sclerotium cepivorum*, cultural characterization, morphological characterization.

INTRODUCCIÓN

El ajo (*Allium sativum L.*) procede del nombre científico *Allium Longicuspic* debido a que es una variedad asiática, se le conoce en la actualidad como el ajo común. Es originario del Asia central desde hace varios siglos, en España es considerado como un cultivo más antiguo de manera que se expande por todo el país (**Macías, 2021**).

En Ecuador el ajo (*Allium sativum L.*), en la actualidad se cultivan 849 hectáreas que estas llegan a producir 6000 toneladas anuales, cultivadas principalmente en las comunidades como Pilahuín, Chibuleo, Santa Rosa y Juan Benigno Vela, estas pertenecientes a la Provincia de Tungurahua (**Cobo, 2022**).

El ajo es una planta herbácea, bulbosa que pertenece a la familia Liliaceae además de abarcar 600 especies, es considerado comúnmente en la cocina mediterránea como hortaliza para ello se utiliza el bulbo. Por lo que se define que es rico en sales minerales (hierro, sílice, azufre, yodo, selenio), azufre, enzimas (peroxidasa, lisozima, desoxirribonucleicas, fosfomonoesterasas), vitaminas (A, B1, B2, B6, C, E) y tiene muchas propiedades medicinales (**Pallo, 2014**).

El cultivo de ajo en Ecuador tiene un sin número de problemas en su crecimiento, pero una de las problemáticas más consideradas son las enfermedades causadas por hongos que ocasionan la pudrición esencialmente en el bulbo, los agentes causales de las pudriciones pueden traerse en la semilla o presentarse por la alta humedad en el suelo ya sembrado. Uno de los hongos principales es *Sclerotium cepivorum* Berk ya que se encuentra en el suelo además de ser resistente a varios productos fungicidas químicas para obtener su control (**Veliz, 2021**).

La pudrición blanca o torvo causado por el agente causal *Sclerotium cepivorum* Berk, es uno de los causantes de pérdida económica ya sean parciales o totales en el cultivo de ajo. Debido a esta pérdida ocasionada desde años anteriores se fue perdiendo la producción de este cultivo en Ecuador ya que se tiene entendido que la enfermedad vino en la semilla desde otros países y esta enfermedad si no se trata a tiempo vive en el suelo por 40 años **(Prieto, 2016)**.

La segunda enfermedad es la pudrición basal el agente causal es *Fusarium oxysporum*, esta enfermedad está distribuida a nivel mundial por lo que en Ecuador también se ha convertido en un limitante en las zonas productivas del cultivo de ajo **(Delgado, et al. 2016)**.

Penicillium allii el tercer agente causal de la podredumbre verde del ajo, esta enfermedad se da cuando la semilla del ajo esta almacenada, es decir, en secadores y galpones de empaque, la enfermedad ya mencionada al igual que las demás enfermedades ocasionan pérdidas económicas muy importantes **(Salinas & Cavagnaro, 2020)**.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. JUSTIFICACIÓN

El origen del ajo (*Allium sativum* L.) empieza en siglos atrás en Asia Central, en España se le considera como un cultivo antiguo. El cultivo de ajo está distribuido por la mayoría de las provincias españolas (**Japon, 1984**).

Dentro de la clasificación taxonómica, el ajo pertenece al orden liliflorales de la familia Liliaceae. Son plantas perennes, pero son cultivadas como anuales, tiene bulbos compuestos de dientes que su tamaño es de 3 a 6 cm de diámetro, por lo que cada diente se encuentra tunicado y con una envoltura común de color blanco. Estas se caracterizan por tener las hojas planas y aquilladas de 6 con el ápice agudo de color verde glauco (**Agroes, 2017**).

El aislamiento de patógenos consiste en la obtención de microorganismos puros que se considera necesarios para una investigación como también son imprescindibles para el debido desarrollo de estrategias de prevención y el control de estas enfermedades que ocasionan a los cultivos ya que la planta actúa como un reservorio de microorganismos y una fuente primaria de inóculo, dejando realizar el aislamiento de diversos patógenos que están atacando a ésta (**Muñoz, Cisterna, & France, 2018**).

El ajo (*Allium sativum* L.) es uno de los cultivos más atraídos por patógenos que causan diversas enfermedades que afectan a la planta en diferentes condiciones ya sea en el follaje o en los bulbos, esto afecta en gran cantidad al rendimiento como también a la calidad de la planta. Los agentes que por lo general se identifican en el ajo son los géneros *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Trichoderma* y *Bacillus* (Astorga, Zúñiga, & Rivera, 2013). Los agentes que causales de la pudrición blanca se considera una de las más peligrosas debido a que el cultivo se encuentra en lugares húmedas, es decir se considera al hongo *Sclerotinia sclerotiorum* como el agente causal ya que este hongo causa reducción de rendimiento por muerte en plantas (Milagro, 2005).

La pudrición blanca es una de las enfermedades más peligrosas para el ajo debido a que esta es más agresiva en un suelo frío y ligeramente húmedo, esta enfermedad ataca principalmente a los bulbos, follaje en las plantas adultas y las raíces, por lo que se debe considerar que esta puede afectar al ajo desde el estado de plántula. Este problema es más habitual en el campo está expuesta a diferentes cambios de clima, ya que en el caso de los bulbos pueden ser infectados en las últimas etapas, ésta daría a conocer en el almacenamiento del producto produciendo una pudrición suave (Capuz, 2013).

Con esta investigación se pretende aislar e identificar los agentes causales de las pudriciones en el cultivo de Ajo (*Allium sativum* L.) en la provincia Tungurahua ya que se considera como una enfermedad perjudicial debido a la pérdida de producto para el consumo humano.

1.2. Antecedentes investigativos

Según **Astorga, Zúñiga, & Rivera (2013)** en su estudio titulado “Aislamiento e identificación de patógenos de la estirpe silvestre del (*Allium sativum* L.)”, realizado en Costa Rica dedujeron que en el cultivo de bacterias a partir de los bulbos de ajo que condujeron al aislamiento e identificación de *Pseudomonas* ya que en el medio selectivo YDC fue apto para el cultivo de microorganismo pertenecientes al género, pero en los medios de Agar Eosina, azul de metileno y agar glucosado se identificó colonias que por su forma o cambio de coloración dieron a entender que eran *Pseudomonas*. Además, se identificó hongos, la cepa de *Penicillium* con la clave taxonómica a partir de tinción con azul de lactofenol para la diferenciación de estructuras. Este aislamiento se llevó a cabo por un medio de cultivo pronospórico, el cual garantiza la uniformidad del material genético. Finalmente, en el aislamiento y caracterización de *Sclerotium cepivorum* después de haber encubado por 5 días a una temperatura de 28°C, a partir de los esclerocios se cogieron colonias desarrolladas, se identificaron con abundante micelio blanquecino y la formación de nuevos esclerocios en el borde de la placa. En el microscopio se observó a 400 y 1000 aumento y se identificó la especie *cepivorum* porque tenía estructuras tipo “clamb” también las características de las hifas.

Según **Velásquez, Macias, & Reveles (2017)** en su estudio titulado “Patógenos comunes de semilla de ajo en Aguascalientes y Zacatecas, México realizado en Campo experimental Zacatecas- INIFAP concluyeron que el patógeno con mayor presencia en los bulbos fue el hongo *Ulocladium spp.* y otros hongos como son *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.*, *Curvularia spp.*, *Rhizoctonia.*, *Penicilium spp.*, y *Verticillium spp.* considerados como los más peligrosos para el desarrollo de la planta del ajo. Además, se han encontrado ácaros que pertenecen al género *Rhizoglyphus spp.* afectando en gran parte de los bulbillos de ajo.

En Ecuador no se ha realizado el aislamiento de patógenos asociados a la pudrición blanca en el cultivo de ajo.

1.3. Categorías fundamentales o marco conceptual

1.3.1. Cultivo de Ajo (*Allium sativum* L.)

1.3.1.1. Historia

En la antigüedad, hace 3000 años antes de Cristo los egipcios ya conocían y cultivaban el ajo con el pasar del tiempo bajo el imperio Romano fue pasando a Europa en los siglos XIV y XV y finalmente termino expandiéndose por todo el mundo, así llegó América del sur (Ecuador, Chile, Perú, Venezuela, Argentina, Colombia, etc.) (Morales, 1998). En Ecuador las provincias que están siendo más representativas en el cultivo de ajo son Tungurahua, Chimborazo, Cotopaxi, Loja, Azuay, Cañar, Loja y Carchi, lugares donde el suelo es propicio, el clima y la altitud son adecuados para el cultivo (**Pallo, 2014**).

1.3.1.2. Generalidades

El ajo (*Allium sativum* L.) posee cantidades de micronutrientes como el manganeso, la vitamina C, B6, el selenio y es bajo en calorías, además contiene 1% del aminoácido azufrado aliína, cuando se machaca se convierte en alicina (o disulfuro de dialilo). A lo largo de su historia por su fuerte olor y su sabor se le han atribuido múltiples propiedades medicinales además de ser el anfitrión en la gastronomía (**Callejo, 2021**).

1.3.1.3. Clasificación taxonómica

De acuerdo con **Morales (1998)** el ajo tiene la siguiente clasificación taxonómica:

Tabla 1

Taxonomía del ajo

Taxonomía	
Reino	Vegetal
División	Angiospermas
Clase	Liliopsida
Orden	Asparagales
Familia	Amaryllidaceae
Genero	Allium
Especie	Allium sativum L.

Fuente: (Morales, 1998).

1.3.1.4. Descripción botánica

Sistema radicular

El sistema de raíces del ajo es fibrosa y tierna por lo que estas crecen en la parte inferior de la cabeza del bulbo de ajo. También se considera que el ajo tiene las raíces adventicias, estas están ubicadas en la profundidad del ya que están de 5 a 45 cm, aunque pueden llegar hasta los 70 a 80 cm. (Soto, 2018).

Tallo

El tallo del ajo está representado por una masa aplastada llamada disco, teniendo una medida de 3 cm de diámetro y 5 mm de altura obteniendo una forma homogénea a un plato creciendo de las hojas y las raíces, siendo la base de estas las que forman el tallo falso, es decir, el cuello de la planta (Morales, 1998).

Hojas

Las hojas del ajo son planas de 1 a 3 cm de ancho y la lámina linear es paralilenervia y acanalada, estas hojas son lineales terminadas en punta alterna de 20 a 50 cm, de longitud, en una sucesión apretada aparecen en el corto cuello caular ya que las hojas viejas cubren a las tiernas o más jóvenes. La base de cada hoja rodea todo el tallo y el bulbo, ya que este es formado por el crecimiento de estas bases foliares y por la supresión del alargamiento intermodal (Soto, 2018).

Inflorescencia

El ajo tiene flores que contienen 6 pétalos, 6 estambres y se le considera como inflorescencia umbeliforme, porta también de un estigma. El ajo se define en un apomíctico obligado debido a que se ha reconocido clones fértiles, los menores porcentajes de las plántulas y la germinación de las semillas, esto da a conocer que es posible que este pueda producir embriones sin que haya fecundación (Peña, 1988).

Fruto

El bulbo está formado por dientes de ajo que comúnmente se identifican cada uno de los dientes está conformado por dos hojas de color blanco o rosado y una yema vegetativa, la hoja interna es la parte comestible y la hoja que se encuentra afuera o externa es la que forma una cutícula del diente de ajo (Morales, 1998).

1.3.1.5. Requerimientos edafoclimáticos

La planta de ajo no es muy exigente en clima, sin embargo, se conoce que mientras el ajo este en climas más fríos más consistencia tiene el bulbo, es decir es más picante. A partir de la temperatura 0°C que corresponde al cero vegetativo empieza el crecimiento vegetativo de esta planta, soporta las bajas temperaturas hasta que la planta tenga de 2 a 3 hojas. Para obtener un desarrollo vegetativo exitoso se debe mantener a la planta en temperaturas nocturnas a 16°C. cuando la planta está en su pleno desarrollo debe mantenerse la humedad suficiente en el suelo con esto puede tolerar hasta por encima de 40°C. Los suelos de preferencia para este cultivo so los suelos francos o algo arcillosos, ricos en potasa y con contenidos moderados de cal (Infoagro, 2022).

1.3.1.6. Etapas fenológicas

Según **Franco, Cely, & Santos (2014)** nos da a conocer las etapas fenológicas del cultivo del ajo el cual se determina en tres fases: crecimiento y desarrollo vegetativo, bulbificación y maduración.

Fase I. Crecimiento y Desarrollo Vegetativo: en esta etapa se identifica por la formación de raíces y hojas, pero no existe el desarrollo del bulbo. Esta etapa llega durante los 42 días a partir de la siembra.

Fase II. Bulbificación: es una etapa donde se presentan más cambios en el cultivo desde el día 43 hasta el día 84, donde se identifica la división del bulbo o también se le conoce como la formación de dientes, alcanzando una altura de 60 a 72 cm.

Fase III. Maduración: esta etapa es a partir del día 85 y la duración es de 34 días. Termina el engrosamiento y la formación de los dientes, además la parte foliar del cultivo pierde importancia.

1.3.1.7. Plagas y enfermedades

1.1.1.1.1. PLAGAS

Según **Larraín (2013)** redacta que los ácaros e insectos no son principales problemas fitosanitarios que afectan en si al cultivo de ajo.

Trips (*Thrips tabaci Lindeman*): Trips en el ajo provoca un daño característico haciendo manchas plateadas o estrías en las hojas. Esto es a causa del raspado que realiza el trips para liberar la sabia y ser succionada. El color plateado en el tejido vegetal al oxidarse pasa de amarillo a café. En caso de que el daño sea muy fuerte es posible la deshidratación de las plantas y la deformación de las hojas.

Cuncunilla de la Vid (*Copitarsia decolora*): Esta plaga daña el follaje al momento de alimentarse las larvas con su aparato bucal masticador, estas larvas son grandes y si no se controlan a tiempo se tendrá poblaciones altas causando daños considerables.

Eriófido de los bulbos (*Eriophyes tulipae*): Afectan a los bulbos en los tejidos vegetales siendo esto su alimento. Por lo general ataca a las plantas en el campo que fueron sembrados por semillas de bulbos infestados, presentando en las hojas una textura de cloróticas y enrolladas. Al principio en áreas atacadas presenta un brillo para luego tornarse a un color café por la oxidación de los tejidos dañados.

Ácaros de los Bulbos (*Rhizoglyphus echinopus*): Los ácaros se alimentan de bulbos por lo general de partes donde el daño de otras plagas, enfermedades o daños mecánicos ya están hechos. los bulbos reducen a una masa pulposa establecida rápidamente por colonias.

Polilla de las frutas secas (*Plodia interpunctella* (Hubner)): Es una larva y esta se encarga de penetrar en los bulbos almacenados donde se alimenta de los tejidos de reserva lo que esto afecta y trae la deshidratación a los dientes del ajo. es rápido de identificarse ya que se encuentra una densa tela mezclada con excrementos de la larva que deja afuera de donde ésta, está consumiendo el tejido vegetal.

Mosca de los Bulbos (*Eumerus strigatus* (Fallen)): Con esta plaga las plantas se ablandan o se pueden poner esponjosas y colapsan, seguidamente tiende a podrirse. estas larvas penetran a la planta hace la galería dentro de los bulbos y se convierten el tejido en una masa pulposa.

1.1.1.1.2. ENFERMEDADES

De acuerdo con **Sepúlveda & Bruna (2013)** indican que las enfermedades son causadas por agentes bióticos como son los hongos, bacterias, virus y nematodos, estas pueden llevar a pérdidas importantes en el rendimiento como en el comercio de los bulbos.

Moho Azul: Esta enfermedad es causada por el hongo *Penicillium allii*, es posible que esta enfermedad se presente en cualquier etapa del cultivo o puede ser que ya se ha infectado en el almacenamiento, es decir desde la semilla. Los síntomas que tienen son de deshidratación y manchas de color oscura en los dientes de ajo.

Pudrición basal o fusariosis: Es causada por el hongo *Fusarium oxysporum*, los síntomas que presentan es el amarillamiento y decrecimiento de la planta mientras que las hojas se secan desde el ápice hacia la base. Los ajos infectados tienen el color morado o rojizo en el tallo o los bulbos.

Cabeza negra o Helminthosporiosis: la enfermedad es causada por el hongo *Embellisia allii* tiene la importancia secundaria en Ecuador. Los síntomas foliares se presentan como amarillez gradual en las hojas basales para después terminar secándose. Esta enfermedad se presenta justo en la maduración casi cerca de la cosecha.

Roya o Polvillo: Es causado por los hongos *Puccinia porri* y *Puccinia allii*, los síntomas se presentan de pústulas ovaladas, de color naranja, que corresponden a uredosporas, afectan hojas, florales y tallos. Esta enfermedad aparece en las últimas etapas de la temporada de cultivo.

Pudrición Gris del Cuello o Moho Gris: es causado por el hongo *Botrytis allii Munn* causando la pudrición de los bulbos. Es identificada por el desarrollo de la pudrición seca o se produce el moho gris que corresponde a los conidios y masas de micelio compacto del hongo, estas son los esclerocios ya que por lo general son de color negro. La enfermedad se presenta en las hojas tornándose cloróticas.

Pudrición Blanca: es causada por el hongo *Sclerotium cepivorum Berk* los síntomas que presentan es el amarillamiento que empieza de forma externa desde el apical de las hojas y avanza hasta la base lo que después pasa a color café y las hojas terminan por morir.

Raíz Rosada: es causada por el hongo *Phoma terrestris*, sus daños son causados al sistema radical sin que se afecte directamente el bulbo, aunque contribuye a su reducción en tamaño. Este hongo ataca por lo general ataca a las raíces débiles de plantas maduras, aunque existen varios factores que influyen en el ataque de este (Leiva, Leiva, Acosta, Alvarado, & Cruz, 2006).

1.3.1.8. Variedades

Ajo morado

Se denomina ajo morado porque la cabeza y los dientes está cubierta por una membrana de color morado. Sin embargo, esta variedad es conocida como la más resistente a las humedades invernales en comparación al ajo blanco. Se desarrolla más rápido que el ajo blanco, pero no es bueno para la conservación **(Japon, 1984)**.

Ajo Napuri

El follaje de esta planta es semi abierto de color intenso, su altura es de 40cm, los bulbos son morados, su preferencia climática es templada, en el campo una temperatura aproximada de 12°C a 22°C además es resistente a las heladas, clima seco, procurar no cosechar en época lluviosa **(Pallo, 2014)**

Ajo Canadiense

Se diferencia por tener una envoltura roja, su cabeza es asimétrica, la pigmentación se traslada a los dientes rojos, cortos y gruesos además muy sensible al exceso o deficiencia de fertilizantes, esta variedad necesita de una buena preparación del terreno para así facilitar la siembra, el desarrollo del cultivo y la emergencia **(Pallo, 2014)**.

Ajo Huancayano

Tiene una cubierta blanca, con bulbillos de color blanco-rosado a pardo claro, precoces o semi precoces con una cosecha temprana tiene la mayoría de productividad de bulbos y dientes de mayor tamaño, des uniformes y achatados **(Pallo, 2014)**.

1.3.2. Pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk)

La pudrición blanca es causada por un hongo fitopatógeno llamado *Sclerotium cepivorum* Berk es conocido por ser un hongo imperfecto porque no se conoce su reproducción sexual, es decir sus hifas son estériles tampoco producen conidios de ninguna clase. El hongo produce esclerocios y su germinación se puede dar por un sistema de erupciones o miceliogénica estas pueden o no contener tejido de hospedero ya que son masas compactas de hifas. Generalmente tiene una cubierta oscura y tiene la capacidad de sobrevivir en condiciones desfavorables por al menos 20 años, en su mayoría forman esclerocios de forma esférica uniforme tienen cubierta negra y lisa que obtienen de 2 a 5 células de grosor que rodean una masa compacta y gruesa de micelio refractivo, teniendo un tamaño de 0,3 a 0,6 mm de diámetro (Prieto, 2016).

1.3.2.1. Taxonomía

Según Madariaga, Sepulveda, & Horta (2018) nos indica que la taxonomía del hongo fitopatógeno es la siguiente:

Tabla2

Taxonomía Sclerotium cepivorum

Taxonomía	
Reino	Fungi
Clase	Agonomycetes
Orden	Agonomycetales
Familia	Sclerotiacea
Género	Sclerotium
Especie	<i>Sclerotium cepivorum</i> Berk

Fuente: (Madariaga, Sepulveda, & Horta, 2018).

1.3.2.2. Signos y síntomas

Esta enfermedad puede atacar en cualquier etapa de desarrollo, tomando en cuenta que el síntoma que más se presenta y visualiza es en la bulbificación presentando como un amarillamiento en general de la planta, empezando por la muerte externa de las hojas hacia las hojas internas además disminuyendo el crecimiento de la planta. Todo este deterioro gradual se da por varios días o semanas hasta concluir con un colapso final de las hojas, pudrición basal seca y llegando a una textura acuosa, mostrando en las raíces y hojas un micelio blanco de textura lanosa ya que se puede visualizar a la superficie para después ir formando los esclerocios esféricos y de color negro (Milagro, 2005).

1.3.3. Pudrición Basal (*Fusarium oxysporum*)

La pudrición basal tiene como agente causal al *Fusarium oxysporum* además de estar distribuida por todo el mundo en especial en zonas productivas de ajo (Delgado, y otros, 2016). Este hongo puede sobrevivir por varios años en el suelo, aunque no tenga la presencia de huéspedes intermediarios. Por esta razón es que el cultivo repetitivo de ajo es el causante del aumento de la incidencia por multiplicarse y propagarse rápidamente el patógeno. Además, se dispersa la enfermedad por medio bulbo-semilla que se encuentran infectadas, el agua de riego y las lluvias (Sepúlveda & Bruna, 2013).

Según Gárces, Orozco, Bautista, & Valencia (2001) habla que el hongo se identifica por tener tres clases de esporas:

Microconidias: las esporas por lo general son unicelulares, sin septos, hialinas, elipsoidales a cilíndricas, rectas o curvadas.

Macroconidias: son esporas fusiformes, de paredes delgadas, largas, son curvadas en forma de una hoz.

Clamidosporas: son esporas que se forman a partir de la condensación del contenido de las hifas y de los conidios además son de pared gruesa.

1.3.3.1.Taxonomía

Según **Castaño (2012)** explica sobre la taxonomía del *Fusarium oxysporum* la demostración es la siguiente:

Tabla3

Taxonomía de Fusarium oxysporum

Taxonomía	
Reino	Fungi
División	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Nectriaceae
Genero	Fusarium
Especie	<i>Fusarium oxysporum</i>

Fuente: (Castaño, 2012).

1.3.3.2.Signos y síntomas

Los síntomas que se presentan al principio es el amarillamiento general y la reducción del crecimiento es decir el enanismo, se secan las hojas, desde el ápice hasta la base. Los bulbos y los tallos se muestran de un color rojizo a morado en especial en la temporada temprana, después se presenta el moho blanquecino en la base del bulbo, las raíces se pudren y la planta se da a marchitar. Los ajos almacenados presentan zonas de estrés tomando un color café amarillento en la hoja reversa ubicada bajo la cubierta protectora, sin embargo, el tallo basal tiene un color café en su interior (**Sepúlveda & Bruna, 2013**).

1.3.4. Podredumbre verde (*Penicillium allii*)

Una de las enfermedades fúngicas principales es la podredumbre verde causada por el patógeno *Penicillium allii*, esta enfermedad puede ocasionar gran pérdida económica en todo el país tanto en almacenamiento y en el campo. Las principales condiciones que afectan la incidencia en esta enfermedad están en el genotipo de ajo, en la utilización (o no) de fungicidas en el diente de semilla, las condiciones agroclimáticas, las practicas que se realizan en el cultivo, y el manejo de postcosecha. Por lo común en esta enfermedad se toma medidas preventivas aplicando fungicidas en dientes de semilla previo a la plantación (Salinas & Cavagnaro, 2020)

1.3.4.1. Taxonomía

Según Martínez (2003) indica que la taxonomía del *Penicillium allii* está estructurada de la siguiente manera.

Tabla4

Taxonomía de Penicillium allii

Taxonomía	
Reino	Fungi
División	Ascomycota
Clase	Euromycetes
Orden	Eurotiales
Familia	Trichocomaceae
Genero	Penicillium
Especie	<i>Penicillium allii</i>

Fuente: (Martínez E. , 2003)

1.3.4.2. Signos y síntomas

Los síntomas se presentan en los bulbos con una deshidratación y manchas de color oscuro. En los dientes de ajo tienden a presentar lesiones de color café claro hundidas, estas son visibles solo cuando se descubre la túnica protectora del ajo. Las lesiones que ya mencionamos pueden estar cubiertas por un moho verde azulado; estas se dan por el desarrollo de los conidios reproductivas del hongo. Por otro lado, también el hongo se presenta internamente en el bulbo lo que esto ocasiona que por desconocimiento se puede pasar en la semilla. Después de la plantación esta enfermedad se presenta por medio pudrición, es decir, amarillez general, escaso desarrollo y marchitez. Los síntomas que ya se nombraron están presentes a partir de los 60 días de haber hecho la plantación para finalizar algunas mueren y otras bajan su rendimiento (**Sepúlveda & Bruna, 2013**).

1.3.5. Técnicas de aislamiento

1.3.5.1. Aislamiento directo: Cámara húmeda

La cámara húmeda se realiza para aislar microorganismos de una planta determinada, cuando presentan micelio en las partes vegetales afectadas o cuando no se identifica el crecimiento del patógeno. Se toma una parte del tejido interno, se desinfecta en Hipoclorito de Sodio (NaOCl) por un cierto tiempo, en alcohol y se enjuaga en agua destilada estéril. En una tarrina plástica transparente poner el papel filtro después poner un vidrio fusible de codo a continuación poner la parte infecta de la planta para terminar poner agua destilada sin humedecer demasiado y tapar la tarrina para que esta técnica de resultado. Para después dejar a luz del día por 5 días (**Sarabia & Quintana, 2018**).

1.3.5.2. Micro cultivo

Es utilizado como método de identificación como cuando no permiten una visualización clara de estructuras propias que presentan el hongo ya sea por la preparación en fresco por disección o el montaje en cinta (**Gómez, León, & Rodríguez, 2018**).

1.3.5.3. Medios de cultivo

1.1.1.1.3. PDA (Potato dextrose agar – Agar papa dextrosa)

Es un medio de cultivo microbiológico este se prepara por medio de una fusión de papa y dextrosa. La base del medio es altamente nutritiva se caracteriza por favorecer el crecimiento de levaduras y hongos, tolera la esporulación y la producción de pigmentos en algunos dermatofitos. El agar de papa dextrosa también es suplementado por antibióticos o ácidos para evitar el crecimiento bacteriano. Es muy recomendado para obtener éxito en las siembras de hongos y levaduras (Ñuñoa, 2005).

Tabla 5

Composición PDA

Composición (en gramos por litro)	
Extracto de papa	4 g
Dextrosa	20 g
AGAR	15 g

Fuente: (Ñuñoa, 2005).

1.3.5.4. Claves Taxonómicas

Las claves taxonómicas, tiene un vocablo griego Taxonomía que tiene el significado de ordenación trata sobre la ciencia de la clasificación que se aplica en la biología para la ordenación sistemática y jerarquizada de los grupos de animales y vegetales (Espinoza, y otros, 2016).

1.3.5.5. Estructura de los hongos

La estructura de un hongo esta compuesto de un talo vegetativo llamado micelio, el cual esta estructurado por un conjunto de filamentos tubulares ramificados llamados hifas. Los tabiques transversales pueden estar o no presentes en el micelio, es mas útil para llegar a su identificación; la hifa tiene tabiques o tambien llamados septos y si el micelio no posee septados se le considera como micelio cenocítico (Granados, 2018)

1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.4.1. HIPÓTESIS

H₀: Mediante la caracterización cultural y morfológica, no se podría identificar los agentes causales de la pudrición en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)

H₁: Mediante la caracterización cultural y morfológica, se podría identificar los agentes causales de la pudrición en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)

1.4.2. OBJETIVOS

Objetivo general

- Aislar y caracterizar los agentes causales de la pudrición en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)

Objetivos Específicos

- Aislar microorganismos asociados con la pudrición en bulbos de ajo (*Allium sativum* L.)
- Caracterizar la morfología de los agentes causales de la pudrición en bulbos de ajo (*Allium sativum* L.).

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

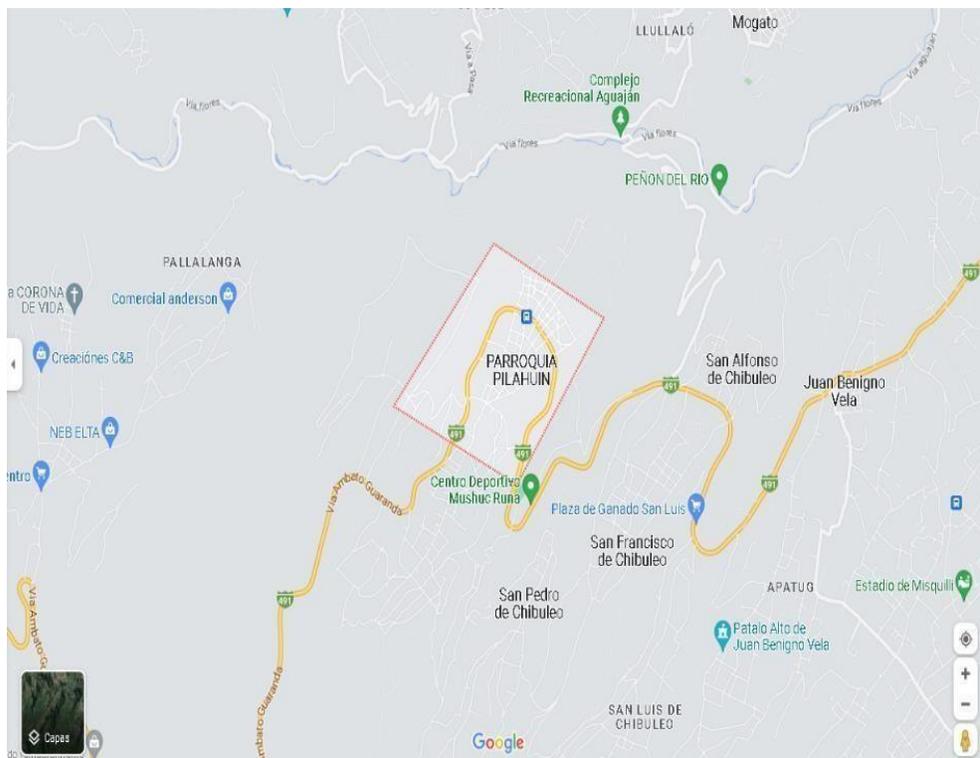
2.1. Ubicación del experimento

En el laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal, ubicado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato se realizó su respectivo aislamiento y caracterización.

2.2. Caracterización del lugar

Figura 1

Localización de la recolección de muestras



Fuente: (Geodatos, 2023).

El laboratorio de Microbiología vegetal y ambiental de la Universidad Técnica de Ambato está ubicado en el cantón Cevallos de la provincia Tungurahua, las coordenadas geográficas son: Latitud $01^{\circ}24'27''$ Sur y Longitud $78^{\circ}35'00''$ al Oeste y tiene una altitud de 2850 m.s.n.m. (Geodatos, 2023).

2.3. Equipos y materiales

2.3.1. Equipos

- Cabina de flujo laminar
- Agitador magnético
- Incubadora
- Autoclave
- Refrigeradora
- Cámara fotográfica

2.3.2. Reactivos

- Medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar)
- Agua destilada
- Alcohol 70%
- NaOH (Hipoclorito de sodio)
- Antibiótico Estreptomicina
- Azul de lactofenol

2.3.3. Materiales

- Etiquetas
- Bolsas de plástico (18 x 24 cm)
- Libreta de campo
- Hielera polietileno
- Vaso de precipitación
- Mechero
- Aza para hongos
- Tijeras
- Pinzas
- Atomizador
- Cajas Petri de 90mm de diámetro
- Papel aluminio
- Papel filtro
- Parafilm
- Fosforo
- Ligas
- Porta objetos y cubreobjetos
- Vidrio fusible de codo
- Tarrinas plásticas transparentes
- Matraz Erlenmeyer

2.4. Manejo del Experimento

2.4.1. Muestreo

En esta actividad se recogió muestras de plantas de forma aleatoria dentro de dos áreas de cultivo de ajo (una en la zona de pajonal y otra en la zona agrícola) en la provincia Tungurahua. Tomando en cuenta las plantas que presentaron los síntomas que caracterizan la pudrición del bulbo, es decir mostraron un amarillamiento general por toda la parte visible de la planta, principalmente por las raíces, bulbos y las hojas inferiores están cubiertas por micelio blanco (Figura 2).

Figura 2

Diagrama de actividades realizadas para la recolección de muestras en el cultivo de Allium sativum

De cada área se tomó tres muestras de bulbos de ajo y se colocó en bolsas plásticas en total de las dos áreas de estudio se tomó seis muestras.



A todas las muestras se eliminó todos los restos vegetales



Cuando el material ya se recolectó en bolsas plásticas respectivamente esterilizadas se llevó al laboratorio de Microbiología vegetal y ambiental.



Se mantuvo las muestras en una hielera de polietileno manteniéndolas en una temperatura de 14°C hasta llegar al lugar donde se realizó el estudio.

2.4.2. Aislamiento e identificación de los microorganismos causantes de la pudrición en el cultivo de ajo

Las muestras de ajo recolectadas en campo fueron puestas en la recepción en el laboratorio de Microbiología agrícola y ambiental de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y se siguió el proceso que se muestra en la figura 3 y 4.

Figura 3

Diagrama de aislamiento directo: Cámara húmeda

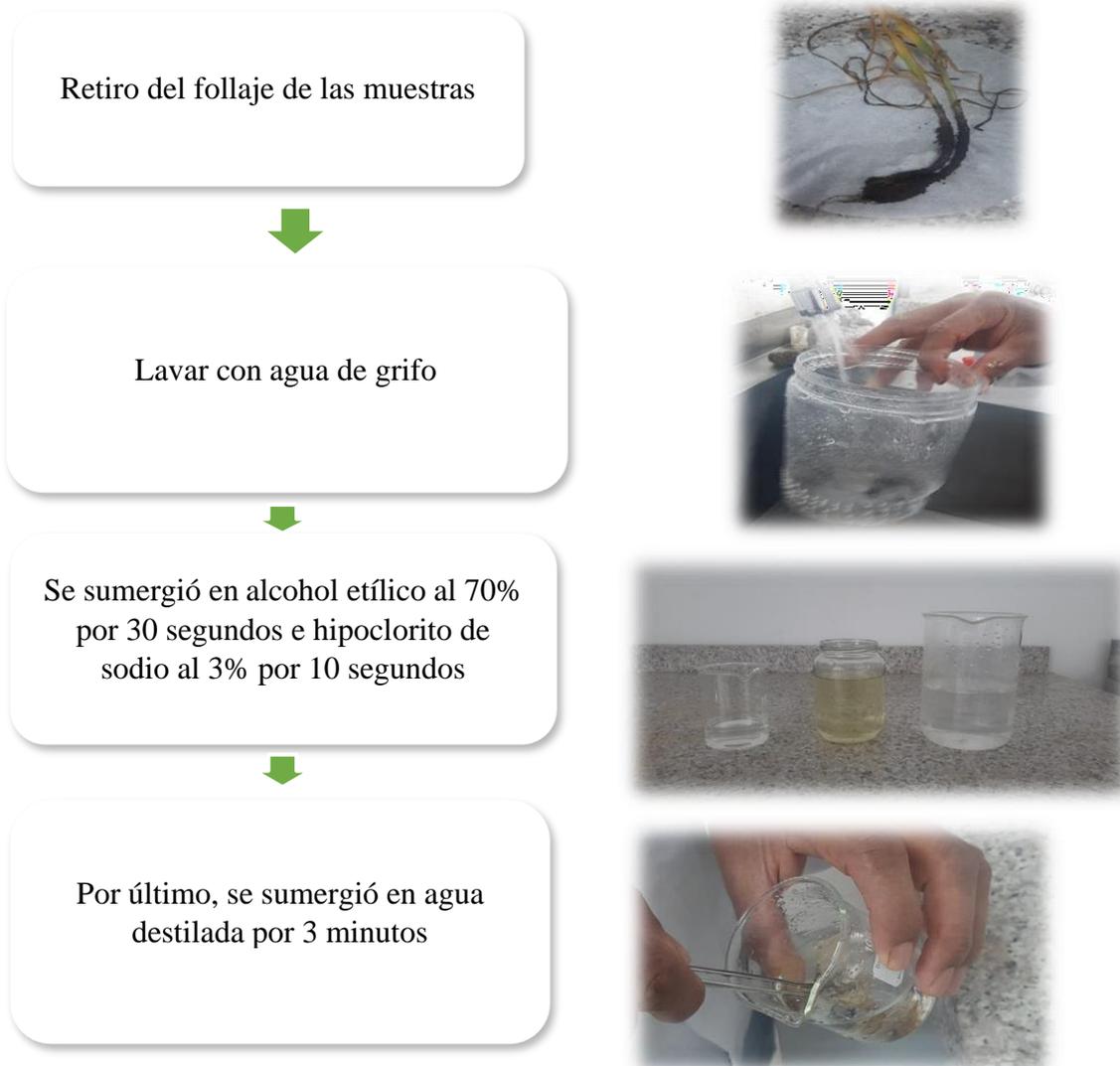


Figura 4

Preparación de las cámaras húmedas.



Después se mantuvo las muestras por 5 días con doce horas de luz y doce horas de oscuridad.

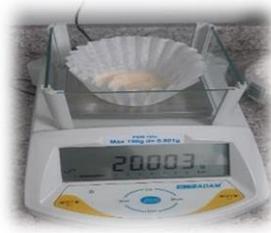


Luego de haber obtenido el crecimiento de los microorganismos en la cámara húmeda se procedió a sembrar en un medio de cultivo de Papa Dextrosa Agar (PDA)

Figura 5

Diagrama de la preparación del PDA

Pesar en la balanza 20 g de Papa Dextrosa Agar



En un vaso de precipitación poner 250 ml de agua destilada



Mezclar los 20 g de PDA en los 250ml de agua destilada y 1 g de antibiótico estreptomicina



Colocar la mezcla en un matraz de 250 ml y taponarlo con papel aluminio y una liga para asegurarla



Procedemos a poner el matraz ya preparado en la autoclave MIDMARK M11 ULTRACLAVE por 20 minutos



Por último, se esperó hasta que el matraz se enfriara para luego dispensar en las cajas Petri ya esterilizadas.



Caracterización Macroscópica

Mediante la observación directa del crecimiento de las colonias aisladas se pudo determinar las características culturales de los aislados (Figura 6).

Figura 6

Diagrama de siembra en PDA



En el PDA preparado se procedió a realizar la siembra con la ayuda de una aza para hongos.



Se cubrió las cajas petri con papel aluminio para luego colocarlas en la incubadora a 26° C durante 10 días



Los aislamientos que se obtuvieron se identificaron cultural y morfológicamente basandose en claves taxonómicas.

Definición Microscópica

Figura 7

Diagrama Tinción de Lactofenol



2.5. Variables respuesta

Caracterización Cultural del hongo

- **Velocidad del crecimiento del hongo:** se tomó la medida de la colonia con la ayuda del pie de rey hasta que la colonia ocupe los 2/3 partes de la placa.

- **Color del hongo:** en esta variable se tomó en cuenta el color que tiene a simple vista la colonia y para esto se utilizó la tabla de Pantone para obtener la identificación correcta (Pantone, 2020).

Figura 8

Carta de Colores Pantone



Nota. Carta de colores Pantone (p.4), por Pantone, file:///C:/Users/monit/Downloads/Pantone.pdf

- **Borde de la colonia:** los bordes de la colonia se visualizaron según la figura 9 que menciona (Diaz, 2018).

Figura 9

Bordes de la colonia



Nota. Morfología de las colonias (p.5), por (Diaz, 2018), <https://labdemicrobiologia.wixsite.com/scientist-site/morfolog-a-de-las-colonias>

- **Textura de la colonia:** en la textura de las colonias se identificó si son granulosa, pulverulenta, vellosa, aterciopelada o algodonosa según (Gonzales, 2017).
- **Forma de la colonia:** se demostró de manera visual la forma de las colonias según la figura 10 (Diaz, 2018).

Figura10

Forma de la colonia

PUNTIFORME 	IRREGULAR 
CIRCULAR 	RIZOIDE 
FILAMENTOSA 	FUSIFORME 

Nota. *Morfología de las colonias* (p.5), por (Diaz, 2018), <https://labdemicrobiologia.wixsite.com/scientist-site/morfolog-a-de-las-colonias>

- **Elevación de la colonia:** visualmente se determinó la elevación según la figura 11 que menciona (Diaz, 2018).

Figura 11

Elevación de la colonia

PLANA 	ACUMINADA 
PLANOCONVEXA 	UMBILICADA 
CONVEXA 	PAPILADA 

Nota. *Morfología de las colonias* (p.5), por (Diaz, 2018), <https://labdemicrobiologia.wixsite.com/scientist-site/morfolog-a-de-las-colonias>

Caracterización morfológica

Utilizando el micrómetro ocular se procedió a medir el diámetro tanto de hifas, conidióforos y conidios de acuerdo con el tipo de hongo. Esta medición se realizó escogiendo 10 estructuras de cada hongo, así sacando un promedio de diámetro.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

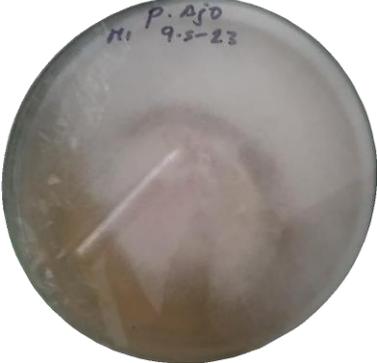
3.1. Aislamiento de microorganismos asociados con la pudrición en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)

Se aislaron tres microorganismos asociados con la pudrición en el cultivo de ajo los cuales corresponden a: *Fusarium oxysporum*, *Penicillium allii* y *Sclerotium cepivorum* Berk (Tabla 6). Según, **Jacome (2016)** demuestra que en los suelos donde ya existió el cultivo de ajo se encontraron cepas patógenas de *Fusarium oxysporum*; *Sclerotium cepivorum* Berk, como también por medio de un análisis microbiológico de semillas donde se identificó el *Penicillium*. Con el análisis mencionado se corrobora que existen estos hongos fitopatógenos en el ajo, demostrando que son los hongos que se identificó en este estudio.

Además, **Ochoa, y otros (2012)** indican que en las clases de fusarium por medio de un planteo morfológico se llegó a la deducción que estuvo presente el *F. oxysporum*. **Salinas & Cavagnaro (2020)** dan a conocer sobre el hongo que se presenta por lo general en el cultivo *A. sativum* es el *Penicillium allii* afectando económicamente en todas las localidades del país. **Ulacio, Jiménez, & Perdomo (2011)** identificaron que el hongo *Sclerotium cepivorum* afecta exclusivamente a las especies de *Allium* con pérdidas hasta el 100% de la cosecha. Con la comparación del estudio de los autores ya mencionados se dedujo a que la investigación realizada es similar a la investigación que se ha realizado en otros países donde se demuestra que la mayoría son las mismas enfermedades que ataca al ajo (*Allium sativum* L.) (Tabla 6).

Tabla 6

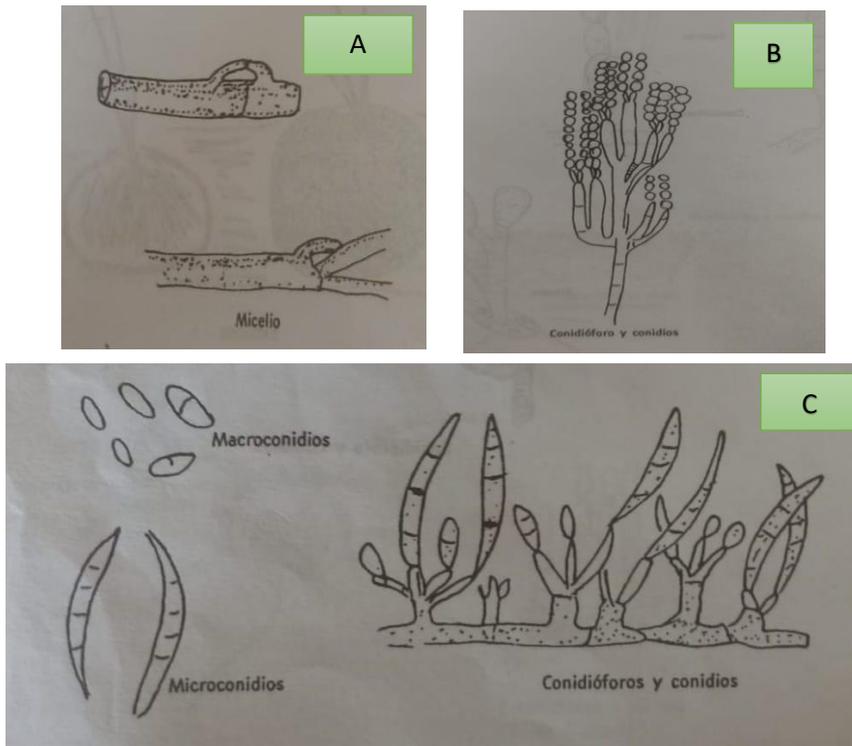
Desarrollo de las colonias de los hongos sembrados en medio de cultivo PDA de las colonias de Sclerotium cepivorum Berk, F. oxysporum y P. allii.

Microorganismo	Fotografía de la colonia
<i>Sclerotium</i>	
<i>Penicillium allii</i>	
<i>Fusarium oxysporum</i>	

La investigación se realizó en base a la clave taxonómica de los hongos investigados por (Finch, 1974) como se puede observar en la Figura 12.

Figura 12

CLAVE TAXONOMICA



Nota. *Sclerotium cepivorum* Berk (A), *Penicillium alli* (B) y *Fusarium oxysporum* (C) (Finch, 1974).

Fusarium Oxysporum

Figura 14

Identificación de F. oxysporum

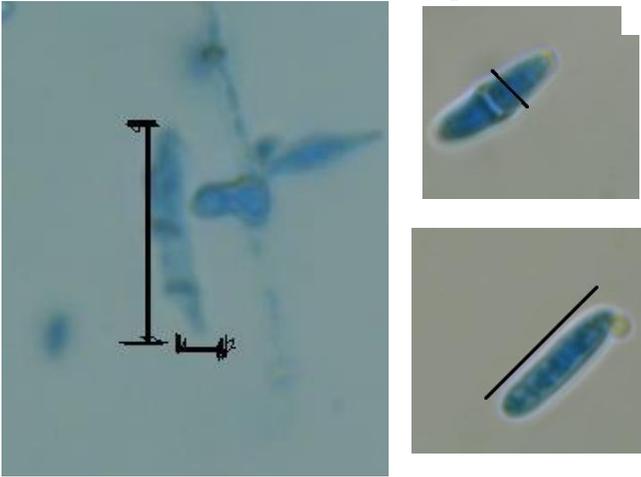
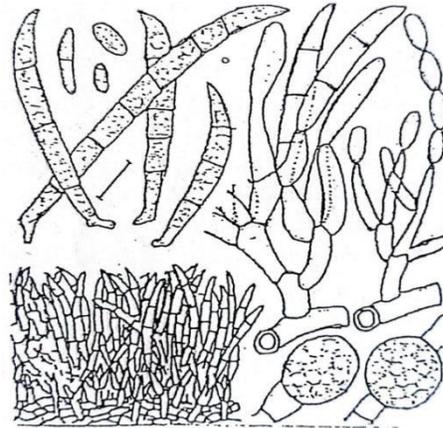


Figura 13

Fusarium de Carlos Falconi



La identificación se llevó a cabo por medio de una clave Taxonómica con el título de Principales géneros de hongos fitopatógenos de (**Falconi, 1997**) donde se fue comparando las partes del hongo aislado con la ayuda de un microscopio donde se encontraron esporodoquios en forma de almohadillas. Los conidióforos septados y ramificados varias veces. Los macroconidios se caracterizaron de forma elongadas fusoides, pluriseptadas terminadas en una punta en las extremidades basales. los microconidios se encontraron de tamaño relativamente pequeño debido a que estas son aisladas, de forma ovoidal, son uni o bicelulares, en algunas presentaciones estaban en forma de cadena. Con esta investigación podemos corroborar que la identificación realizada en este estudio se comprobó que es el agente causal de la pudrición en ajo *Fusarium Oxysporum* como se puede observar en las Figuras 13-14.

Penicillium allii

Figura 16

Identificación de Penicillium allii

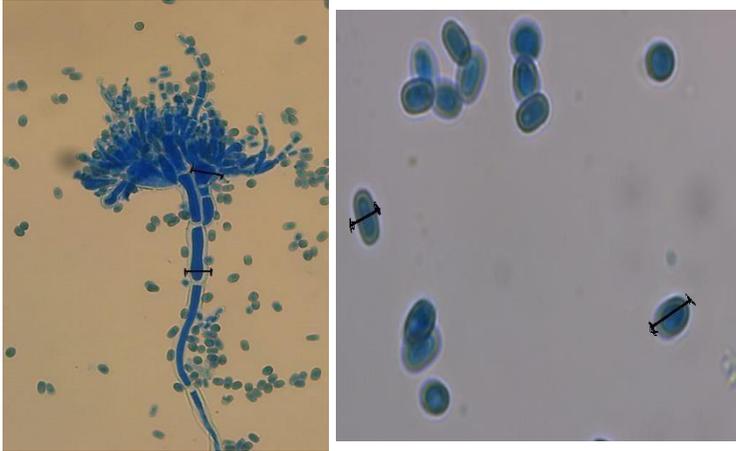
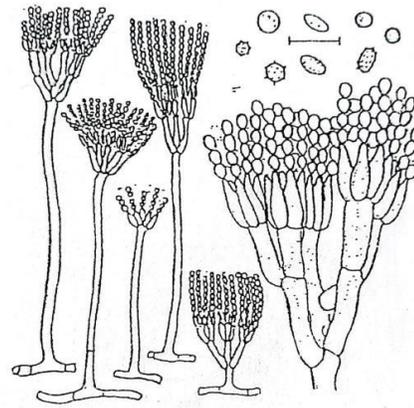


Figura 15

Penicillium de Carlos Falconi



En el Penicillium se identifico conidioforos erectos , septados peresentando un desarrollo en ciertos numeros de ramificaciones dando a conocer por lo general parecido a una escoba. Los fialides presentaron en ramas terminales constituidos por elementos claviformes. Los conidios presentaron una forma ovoide, unicelulares. Con la identificacion se compara con la clave taxonomica de **(Falconi, 1997)** y se concluye que es un Penicillium causante de la pudricion en ajo, en la etapa de almacenamiento.

Sclerotium cepivorum

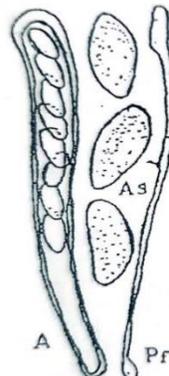
Figura 18

Identificación de Sclerotium cepivorum



Figura 17

Sclerotium de Carlos Falconi



Se identifico Apotecios en forma de taza o plato, las ascas eran bitunicadas, con ascosporas unicelulares, hialinas, elipsoidales con una forma reniforme, cabe recalcar que no se identificaron esclerocios debido a que no se presentaron hospederos para que se germine el esclerocio. Llegamos a la deducción que es *Sclerotium cepivorum* debido a las características mencionadas siempre y cuando comparando con la clave taxonómica de **(Falconi, 1997)**

3.2. Caracterización cultural y morfológica de los agentes causales del cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)

3.2.1. Caracterización Cultural de los aislados identificados

Tabla 7

Crecimiento de las colonias

Crecimiento radial de los hongos aislados (cm)			
Día	<i>Sclerotium cepivorum</i>	<i>Penicillium allii</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
1	1,14	0,94	1,2
2	2,6	1,7	2,6
3	3,3	2,2	4,5
4	4,1	3,7	5,7
5	5,1	4,7	6,9
6	6,4	5,9	
7		6,5	
Promedio	3,8	3,7	4,2

Sclerotium cepivorum Berk se determinó el diámetro de crecimiento de la colonia donde la medida es de 3,8 cm de diámetro cada día hasta llenar 2/3 del área de la caja Petri en el PDA (Tabla7) con una temperatura a 26°C, obteniendo un color blanco Cod. 427 según la carta de colores Pantone, con un borde filamentosos, textura vellosa, de forma irregular además tiene una elevación plana (Tabla 13). **Duarte, Martínez, Café, & Bassay (2020)** identificaron que *S. cepivorum* crece dentro de una temperatura 26°C y su reproducción micelial se expande por el área de la caja Petri por aproximadamente 5 días y a los 7 días se presencié esclerocios alrededor de la caja Petri, en la formación de esclerocios fue cambiando el color de blanco pardo claro terminando en pardo oscuro cuando llegan a la maduración a partir de la aparición dura 2 días para madurar. En la investigación que se realizó no se pudo comprobar la aparición de los esclerocios. Según **Martínez & Ponce, (2001)** habla sobre la germinación

de los esclerocios, dando a conocer que los esclerocios necesitan de exudados como también de un hospedero para poder germinar el esclerocio.

Tabla8

Caracterización cultural del aislado Sclerotium cepivorum Berk

<i>Sclerotium cepivorum Berk</i>	
Colonia	
Color	Blanco Cod. 427
Borde	Filamentoso
Textura	Velloso
Forma	Irregular
Elevación	Plano

P. allii presentó el tamaño de crecimiento de la colonia con un diámetro de 3,7 cm cada día por siete días (Tabla 7) a una temperatura de 26°C ya que en este período termina de crecer completamente el hongo dando a conocer un color verde azulado identificado por la carta de colores Pantone Cod. 5497 obteniendo el borde ondulado, una textura aterciopelada de una forma puntiforme y una elevación planoconvexa. **Molar, y otros (2013)** indican que realizaron una investigación en México donde presentaron las colonias del hongo en un medio de PDA mostraron al principio de color blanco y con el tiempo presenta el color verde azulado y diámetro de crecimiento de 4,0 mm cada día hasta que llegue a los siete días, la teoría afirma sobre el color y el diámetro de crecimiento que presentó la colonia en esta investigación realizada (Tabla 7-11).

Tabla 9*Caracterización cultural del aislado Penicillium allii*

<i>Penicillium allii</i>	
Colonia	
Color	Verde azulado Cod. 5497
Borde	Ondulado
Textura	Aterciopelado
Forma	Puntiforme
Elevación	Planoconvexa

La colonia de *F. oxysporum* fue tomando una medida de diámetro a 4,2 cm por día (Tabla 7). Esta medida se realizó con el pie de rey durante 5 días como se puede apreciar en la tabla 7 manteniendo al hongo a una temperatura de 26° C. Presentando en las colonias un color blanco rosáceo con un borde espiculado, textura algodonosa, forma filamentosa y una elevación convexa (Tabla 9). **Lezcano, Martínez, & Alonso (2012)** nos indica sobre la caracterización cultural del *F. oxysporum* donde se observaron colonias de crecimiento rápido (4,3 cm como promedio al sexto día de incubación), en PDA a 25°C, presentando un micelio abundante y algodonoso de color blanquecino con tonalidad rosáceo, con esta teoría comprobamos que los resultados que se obtuvieron y se describen en la Tabla 7 coinciden en la mayoría de la caracterización menos en la temperatura de la incubación como también en la velocidad de crecimiento del hongo.

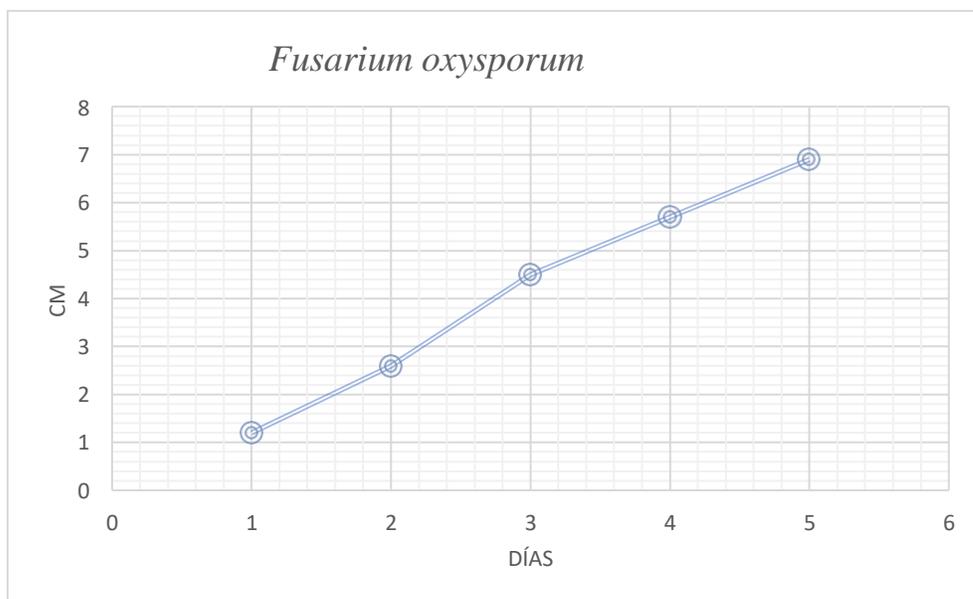
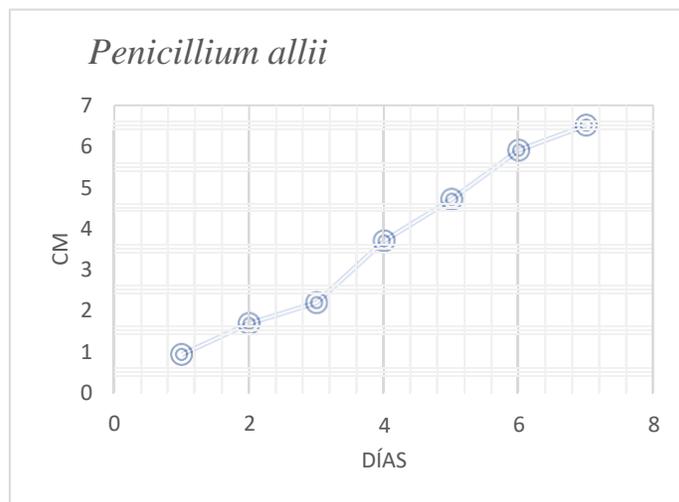
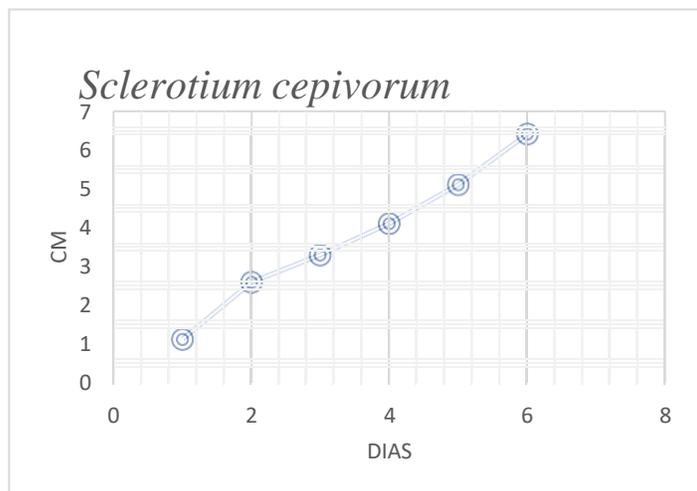
Tabla 10

Caracterización cultural del Aislado Fusarium oxysporum

<i>Fusarium Oxysporum</i>	
Colonia	
Color	Blanco rosáceo Cod. 263
Borde	Espiculada
Textura	Algodonosa
Forma	Filamentosa
Elevación	Convexa

Figura 19

Agresividad de Crecimiento de los HONGOS



La determinación de la agresividad de los hongos se definió por medio un análisis estadístico donde el promedio de cada una de las colonias fue de *Sclerotium cepivorum* con un promedio de 3,8 por día hasta llenar el 2/3 de la caja Petri, su crecimiento radial fue de 6 días aproximadamente. *Penicillium allii* creció con un promedio de 3,7 en 7 días y *Fusarium Oxysporum* lleno el 2/3 de la caja Petri en 5 días con un promedio 4,2 cm por día Tabla 7.

Llegando a una deducción que *F. oxysporum* presento un gran punto de Agresividad y con más rapidez. (Figura 19). Según **Forrero, Ortiz, León, Gómez, & Hoyos (2015)** demuestra que *F. Oxysporum* demostro ser el mas agresivo por el tiempo de crecimiento ya que solo demoro 5 dias en llenar por completo la caja Petri donde se demostro en un laboratorio microbiologico.

3.2.2. Caracterización morfológica de los aislados identificados

Fusarium oxysporum

Las estructuras de cada hongo identificado se midieron con el micrómetro ocular en el microscopio con el lente 100x.

El análisis de la Tabla 11 representa el estudio de los macroconidios obteniendo diversas medidas, es decir, el largo máximo fue de 58,4 μm y largo mínimo era de 51,2 μm llegando a un promedio de 54,3 μm , el ancho máximo de los macroconidios fue de 7,8 μm y ancho mínimo fue de 7,1 μm llegando a un promedio 7,1 μm . También se estudió microconidios obteniendo el largo máximo 20,6 μm y largo mínimo de 19,7 μm llegando a un promedio largo de 20,2 μm , el ancho de los microconidios fue el máximo de 7,3 μm y el mínimo de 6,8 μm llegando a un promedio de 7,09 μm . Además, se identificaron septos con un valor máximo de 5 septos y un valor mínimo de 3 septos llegando a un promedio de 3,6 septos. **Ameyally, Varguez, & Martínez (2021)** indican que en el estudio que realizaron en México se identificó a las pares de *F. oxysporum* que las medidas promedio de los macroconidios fueron el largo 52,9 μm y de ancho era de 7,4 μm . Las medidas promedio de los microconidios fueron el largo 20,4 μm y de ancho era de 7,3 μm . también teniendo como numero de septos más identificados fueron de 3-5 septos, con esta teoría se comprueba que los promedios que se identificaron en este estudio varia solo con decimales.

Tabla 11*Definición paramétrica de Fusarium Oxysporum*

Número	Conidios(μm)				
	Macro			Micro	
	Largo	Ancho	Septos	Largo	Ancho
1	55,3	7,1	3	19,9	6,8
2	53,8	7,3	4	19,8	7,1
3	54,9	7,6	5	20,1	6,9
4	52,9	7,8	3	20,6	7,2
5	56,4	7,4	3	20,5	7,3
6	53,5	7,2	4	19,8	7,1
7	58,4	7,7	3	19,7	6,9
8	54,7	7,5	5	20,4	7,2
9	52,3	7,8	3	20,3	7,1
10	51,2	7,4	3	20,4	7,3
Promedio	54,34	7,5	3,6	20,15	7,09
Máximo	58,4	7,8	5	20,6	7,3
Mínimo	51,2	7,1	3	19,7	6,8

Penicillium allii

En la Tabla 12 se pueden expresar las medidas tomadas del hongo *Penicillium allii* de sus partes los cuales conforman de conidióforos como la medida máxima es 80 μm y el mínimo de 10 μm llegando a un promedio de 47,5 μm . También se identificó las hifas obteniendo de igual manera la máxima medida de 9 μm y mínimo de 5 μm con un promedio de 6,6 μm , los conidios presentaron un promedio de 2,68 μm . **Gómez (1998)** indica que los conidióforos cortos se han identificado de 10-20 μm , las más largas 50-100 μm , las hifas tienen de 5-8 μm y una punta aguda, además los conidios son de 2 a 3,5 μm .

Tabla 12*Definición paramétrica de la morfología de Penicillium allii*

Número	Conidióforos (µm)	Hifas (µm)	Conidios (µm)
1	10	5	2,5
2	15	6	2,3
3	30	8	2
4	50	7	2,5
5	60	6	3
6	70	5	3,2
7	25	6	3,3
8	70	8	2,4
9	80	9	2,1
10	65	6	3,5
Promedio	47,5	6,6	2,68
Máximo	80	9	3,5
Mínimo	10	5	2

Sclerotium cepivorum

Sclerotium cepivorum procedente del cultivo de ajo, presento una cierta varianza en la medición ya presentaban diferencias en su tamaño tomando en cuenta que como 14 µm es la medida máxima del Apotecio y el mínimo es de 9 µm, obteniendo un promedio de 11,70 µm. según **Rivera, Zúniga, & Brenes (2016)** indican que, por lo general la medida de los apotecios de *S. cepivorum* están alrededor de 9 a 14 µm de diámetro como se ilustra en la Tabla 13 **Prieto (2016)**.

Los esclerocios no presentaron ninguna variación de medida ya que en el estudio realizado no se contó con un hospedero para que se obtuviera esclerocios. Según **Rivera, Zúniga, & Brenes (2016)** menciona que en este hongo patógeno no se presencia en la mayoría de los estudios, conidios porque esta forma una estructura resistente llamada esclerocio, además cabe recalcar que es necesario que este hongo necesite de un hospedero para llegar a la germinación de los esclerocios. La medida considera que puede presentarse en la mayoría de los esclerocios es alrededor de 200 μm de diámetro a 500 μm de diámetro **Prieto (2016)**.

Tabla 13

Definición paramétrica de la morfología de Scerotium cepivorum

Número	Apotecios(μm)
1	9
2	13
3	12
4	10
5	13
6	14
7	11
8	12
9	14
10	9
Promedio	11,70
Máximo	14
Mínimo	9

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- 1) Se obtuvieron 6 aislados de hongos asociados a la pudrición en bulbos de ajo, los cuales fueron identificados por medio de la tinción Gram donde se reconocieron *Fusarium oxysporum*, *Penicillium allii* y *Sclerotium cepivorum Berk* procedentes de las muestras de ajo (*Allium sativum* L.) recolectadas en dos localidades (Pajonal-Zona agrícola) de la parroquia Pilahuín en la provincia Tungurahua.
- 2) Se caracterizaron las colonias de *Fusarium oxysporum* presentaron un color blanco rosáceo Cod. 263, de textura algodonosa, elevación convexa, borde espiculada y forma filamentosa. Se caracterizo las colonias de *Penicillium allii* donde presente un color verde azulado Cod. 5497 con una textura aterciopelada, presentando una elevación planoconvexa, borde ondulado y forma puntiforme. Además, se caracterizó a *Sclerotium cepivorum Berk* donde presento de color Blanco Co. 427 con una textura vellosa, presentando una elevación plana, borde filamentoso y forma irregular, ninguna de las colonias ya identificadas presentó un líquido de transpiración.
- 3) Se describieron las características morfológicas seleccionando 10 macroconidios al igual que los microconidios del aislado *Fusarium Oxysporum* donde se obtuvo la medición de macroconidios el promedio del largo 54,3 μm y el promedio de ancho fue de 7,5 μ , los microconidios el promedio largo 20,2 μm y el promedio ancho 7,09 μm , además, se presentaron de 3 a 5 septos. *Penicillium allii* se realizó una elección de 10 hifas, conidióforos y conidios. Obteniendo una medida de promedio 6.6 μm de hifas, la medida de promedio de los conidióforos es de 47,5 μm y la medida promedio de los conidios es de 2,6. *Sclerotium cepivorum Berk* se midió al igual que las demás 10 hifas y 10 esclerocios, en las hifas el tamaño promedio es de 11,7 μm y los esclerocios su tamaño promedio es de 320 μm .

4.2. RECOMENDACIONES

- 1) Utilizar el antibiótico estreptomina cuando se quiera aislar a cualquier hongo para no permitir el desarrollo de bacterias.
- 2) Se recomienda la utilización de medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar) cuando se requiera aislar estos tres microorganismos.
- 3) Utilizar el método de aislamiento directo a partir de la muestra vegetal por medio de una cámara húmeda para así obtener los aislados existentes en el cultivo.
- 4) Se recomienda utilizar la técnica de micro cultivo en la identificación microscópica para la optimización de materiales e insumos.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Agroes. (2017). Ajo, taxonomía, descripciones botánicas, morfológicas y ciclo biológico. *Agro.es*, pág. 5. Recuperado el 04 de 03 de 2023, de <https://www.agroes.es/cultivosagricultura/cultivos-huerta-horticultura/ajo/370-ajo-descripcionmorfologia-y-ciclo>
- Ameyally, T., Varguez, A., & Martínez, Z. (2021). Control biológico de *Fusarium oxysporum*, agente causal de la pudrición del cormo en gladiolo, mediante streptomycetos. *Scielo*, 39. Recuperado el 23 de 07 de 2023, de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092021000300391#:~:text=Fusarium%20oxysporum%20es%20un%20hongo,m%20de%20control%20utilizado%20generalmente.
- Astorga, K., Zúñiga, C., & Rivera, W. (2013). *Aislamiento e identificación de patógenos de la estirpe silvestre del ajo (Allium sativum L.)* (Vol. 27). Costa Rica. Recuperado el 04 de 03 de 2023, de https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/1698/1551
- Callejo, A. (2021). *Propiedades del ajo*. Recuperado el 02 de 07 de 2023, de <https://cuidateplus.marca.com/alimentacion/nutricion/propiedades-ajo-162729.html>
- Capuz, N. (2013). *Control de pudrición blanca (Sclerotium cepivorum) en bulbillos de ajo (Allium sativum) variedad colorado para reproducción de plantas*. Tesis de grado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo. Recuperado el 04 de 03 de 2023, de <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/558/1/T-UTEQ-0102.pdf>
- Castaño, R. (2012). *Caracterización de la población de Fusarium oxysporum f sp. en la Costa Noroeste de Cádiz y control mediante composts supresivos de las marchiteces vasculares*. Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla, Microbiología y Parasitología, Sevilla. Recuperado el 11 de 07 de 2023, de https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/74112/Tesis_Casta%C3%B1o%20Mu%C3%B1oz%20Ra%C3%BAI.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Cobo, E. (2022). Ecuador importa ajo peruano y chino para cubrir la demanda nacional. *El productor*, pág. 25. Recuperado el 04 de 03 de 2023, de <https://elproductor.com/2022/09/ecuador-importa-ajo-peruano-y-chino-para-cubrir-la-demanda-nacional/>
- Delgado, J., Ochoa, Y., Chávez, E., Beach, M., Rodríguez, R., Aguirre, L., & Vázquez, O. (2016). Patogenicidad de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición basal del ajo en el centro norte de México. México. doi: 10.1016/j.ram.2016.04.003
- Díaz, R. (2018). *Morfología de las colonias*. Obtenido de <https://labdemicrobiologia.wixsite.com/scientist-site/morfolog-a-de-las-colonias>

- Duarte, Y., Martínez, B., Café, A., & Bassay, L. (2020). Caracterización fisio-cultural y contibilidad micelial de aislamientos de *Sclerotium* sp. procedentes de siete hospederos. *Scielo*, 35(1). Recuperado el 20 de 07 de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522020000100006
- Espinoza, C., Hernandez, S., Gernandt, D., Arce, O., Rodriguez, R., & González, J. (2016). *Clave de identificación taxonómica con caracteres anatomicos foliares para especies de Pinos L. en Hidalgo*. Universidad autonoma de hidalgo, Area Academica de Ciencias Agricolas, México. Recuperado el 24 de 07 de 2023, de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322018000300028
- Falconi, C. (1997). *Principales generos de hongos fitopatogenos*. Quito, Pichincha, Ecuador. Recuperado el 01 de 09 de 2023
- Finch, H. (1974). *Los hongos comunes que atacan cultivos en America Latina*. Mexico: Editorial Trillas.
- Franco, H., Cely, G., & Santos, Y. (2014). *Determinación de los requerimientos hídricos del ajoy su relación con estados fenológicos*. Investigación, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia. Recuperado el 04 de 07 de 2023, de <file:///C:/Users/monit/Downloads/admin,+Art.+6.pdf>
- Gárces, E., Orozco, M., Bautista, G., & Valencia, H. (2001). *Fusarium oxysporum EL HONGO QUE NOS FALTA CONOCER*. Universidad Nacional de Colombia, Biología, Bogota. Recuperado el 11 de 07 de 2023, de <file:///C:/Users/monit/Downloads/lcaballero,+63462-321772-1-SM.pdf>
- Geodatos. (2023). Coordenadas geográficas de Ambato. pág. 5. Recuperado el 05 de 03 de 2023, de <https://www.geodatos.net/coordenadas/ecuador/ambato>
- Gómez, J. (1998). *Clave determinativa de las especies del género Penicillium*. Universidad de Murcia. Recuperado el 23 de 07 de 2023, de <https://digitum.um.es/digitum/bitstream/10201/6407/1/N%2017%20%20Clave%20determinativa%20de%20las%20especies%20del%20genero%20Penicillium.pdf>
- Gómez, M., León, J., & Rodríguez, C. (2018). *Producción de Láminas de hongos para la enseñanza*. Universidad de Antioquia, Facultad de Medicina, Bogotá. Recuperado el 24 de 07 de 2023, de file:///C:/Users/monit/Downloads/jsuarezhernandez,+332002-Texto+del+articulo-175765-1-10-20190713_compressed.pdf
- Gonzales, E. (2017). *Textura del hongo*. Recuperado el 19 de 07 de 2023, de <http://www.fc.n.unp.edu.ar/sitio/microambiental/wp-content/uploads/2016/08/TP-8-Micolog%C3%ADa.pdf>
- Granados, M. (2018). *Identificación morfológica de hongos fitopatogenos*. Universidad de Costa Rica, Taller basico de Hongos, Costa Rica. Recuperado el 24 de 07 de 2023, de

https://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/79022/Manual_hongos_y_key_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Infoagro. (2022). *El cultivo de Ajo*. Recuperado el 04 de 07 de 2023, de <https://www.infoagro.com/hortalizas/ajo.htm>

Jacome, R. (2016). *Calidad sanitaria del material vegetal utilizado como semilla y su relacion con la productividad del cultivo de ajo (Allium sativum L.)*. Tesis, Universidad Técnica de Ambato, Cevallos. Recuperado el 31 de 08 de 2023, de <file:///C:/Users/monit/Downloads/tesis-059%20Maestr%C3%ADa%20en%20Agroecolog%C3%ADa%20y%20Ambiente%20-%20CD%20458.pdf>

Jácome, R. (s.f.). *Calidad sanitaria*.

Japon, J. (1984). *El cultivo de ajo*. Santiago Estevez, España. Recuperado el 04 de 03 de 2023, de https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1984_01.pdf

Larraín, P. (2013). Plagas en el cultivo de ajos. Recuperado el 04 de 07 de 2023, de <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/7343/NR37209.pdf?sequence=9&isAllowed=y>

Leiva, M., Leiva, R., Acosta, M., Alvarado, Y., & Cruz, M. (2006). *Phoma terrestris, causante de la pudrición rosada en raíces de Allium sativum L. cv "criollo" cultivado en vertisuelos*. Comunicaciones breves, Universidad Central " Marta Abreu" de las Villas, Instituto de Biotecnología de las plantas, Cuba. Recuperado el 29 de 08 de 2023, de http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V33-Numero_4/cag164061521.pdf

Lezcano, J., Martínez, B., & Alonso, O. (2012). *Caracterización cultural y morfologica e identificacion de 10 aislamientos de Fusarium*. Mayabeque, Cuba. Recuperado el 19 de 07 de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942012000200006

Macías, C. (2021). *La historia del ajo, el alimento que condicionó las clases sociales*. Recuperado el 14 de 06 de 2023, de El confidencial: https://www.elconfidencial.com/alma-corazon-vida/2021-11-28/historia-ajo-alimento-condiciono-clases-sociales_3331922/

Madariaga, M., Sepulveda, P., & Horta, M. (2018). Pudrición Blanca. En INIA (Ed.). Santa Rosa. Recuperado el 05 de 07 de 2023, de <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/66935/Ficha%20T%C3%A9cnica%20INIA%20N%C2%B0%20101?sequence=1&isAllowed=y>

Márquez, C. (2022). El glaciar del volcán Carihuirazo será el próximo en desaparecer. *Youtopia*, pág. 5. Recuperado el 24 de 04 de 2023, de <https://youtopiaecuador.com/cuidado-del-ambiente/cambio-climatico-carihuairazo-nevado-glaciare/>

- Martínez, E. (2003). *Estudio de especies micotoxígenas del género Penicillium*. Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Veterinaria, Barcelona. Recuperado el 12 de 07 de 2023, de <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5598/emb1de1.pdf?sequence=1>
- Martínez, F., & Ponce, P. (2001). *Caracterización molecular de aislados de Sclerotium cepivorum mediante análisis del polimorfismo de los fragmentos amplificados al azar*. Universidad de Guanajuato, Acta universitaria, Guanajuato. Recuperado el 20 de 07 de 2023, de <https://www.redalyc.org/pdf/416/41611205.pdf>
- Milagro, M. (2005). *Pudrición blanca de la cebolla: una enfermedad difícil de combatir*. Universidad Técnica de Ambato, San José. Recuperado el 06 de 03 de 2023, de https://www.mag.go.cr/rev_agr/v29n02_143.pdf
- Molar, R., Picos, P., Márquez, I., Carrillo, J., García, R., & León, J. (2013). Identificación morfológica y molecular de *Penicillium* causante de pudrición de tallos y frutos. *SciELO*, pág. 9. Recuperado el 20 de 07 de 2023, de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092013000100002
- Monroy, L., & Lizarazo, L. (2010). Identificación de hongos fitopatógenos asociados al roble (*Quercus humboldtii* bonpl.), en los municipios de encino (Santander), Arcabuco, y tipacoque (Boyacá). pág. 356. Recuperado el 07 de 04 de 2023, de <http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v13n2/v13n2a11.pdf>
- Morales, J. (1998). *El cultivo de ajo (Allium sativum L.), y su importancia en México*. Monografía, Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", México. Recuperado el 02 de 07 de 2023, de <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/714/T10027%20MORALES%20NEGRETE%20JAVIER%20%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Muñoz, V., Cisterna, V., & France, A. (2018). *La importancia de mantener colecciones de microorganismos fitopatógenos*. INIA. Recuperado el 04 de 03 de 2023, de <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/6945/NR42411.pdf?sequence=10&isAllowed=y#:~:text=El%20aislamiento%20y%20la%20preservaci%C3%B3n,sus%20mecanismos%20de%20patogenicidad%2C%20etc.>
- Ñuñoa, S. (2005). *Agar Papa Dextrosa*. Recuperado el 13 de 07 de 2023, de https://www.insumolab.cl/descargas/industria/placas_90mm/ficha_tecnica/02.pdf
- Ochoa, M., Cerna, E., Gallegos, G., Landeros, J., Delgado, J., Hernández, S., . . . Olalde, V. (2012). *Identificación de especies Fusarium en semilla de ajo en Aguascalientes*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Parasitología, Mexico. Recuperado el 19 de 07 de 2023, de <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v36/v36a5.pdf>

- Pallo, J. (2014). *ADAPTACION DE CUATRO VARIEDADES DE AJO (Allium Sativum L.)*. Tesis, Universidad Tecnica de Ambato, Salache. Recuperado el 06 de 2023, de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/3530/1/T-UTC-00807.pdf>
- Pallo, J. (2014). *Adaptación de cuatro variedades de ajo con tres niveles de abono orgánico en el cantón La Maná 2013*. Tesis, Universidad Técnica de Ambato, La Maná. Recuperado el 02 de 07 de 2023, de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/3530/1/T-UTC-00807.pdf>
- Pantone, C. (2020). Obtenido de file:///C:/Users/monit/Downloads/Pantone.pdf
- Peña, A. (1988). *El ajo: virosis, fitopatías y selección clonal y sanitaria*. Protección Vegetal. Recuperado el 02 de 07 de 2023, de https://www.miteco.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_plagas%2FBSV P-14-03-461-483.pdf
- Prieto, L. (2016). *CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR*. Recuperado el 14 de 06 de 2023, de Users: file:///C:/Users/Evelin/Downloads/PrietoNavarreraLyndaPatricia2016.pdf
- Retana, K., Ramírez, J., Castro, O., & Blanco, M. (2017). *Caracterización morfológica y molecular de Fusarium oxisporum*. Universidad de Costa Rica, Centro de Investigaciones Agronómicas, Coata Rica. Recuperado el 20 de 07 de 2023, de <https://www.scielo.sa.cr/pdf/ac/v42n1/0377-9424-ac-42-01-115.pdf>
- Rivera, W., Zúniga, C., & Brenes, J. (2016). Control biológico del hongo Sclerotium cepivorum utilizando asperillum en el cultivo del ajo en Costa Rica. 29. Recuperado el 23 de 07 de 2023, de https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0379-39822016000700041
- Salinas, M., & Cavagnaro, P. (2020). *Fuentes de resistencia a la podredumbre verde (Penicillium allii) en variedades de ajo*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Recuperado el 14 de 06 de 2023, de CONICET: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/174254>
- Sarabia, J., & Quintana, R. (2018). *Preparacion de medios de cultivo y tecnicas de aislamiento de microorganismos*. Instituto Tecnológico de la Zona Maya, Fitopatología, Mexico. Recuperado el 13 de 07 de 2023, de http://www.itzonamaya.edu.mx/web_biblio/archivos/manuales/07_fitopatologia.pdf
- Sepúlveda, P., & Bruna, A. (2013). Enfermedades del cultivo de ajos. Recuperado el 04 de 07 de 2023, de <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/7343/NR37207.pdf?sequence=7&isAllowed=y>
- Soto, L. (2018). *Introducción y evaluación de parametros de rendimiento de 4 variedades del cultivo de ajo en condiciones de la provincia de Acobamba*. Tesis, Universidad

Nacional de Huancavelica, Perú. Recuperado el 02 de 07 de 2023, de <https://apirepositorio.unh.edu.pe/server/api/core/bitstreams/8d0afec1-c2e0-46a8-a908-06f3a473f541/content>

Ulacio, D., Jiménez, M., & Perdomo, W. (2011). *Estrategias de manejo integrado de Sclerotium cepivorum Berk., y la pudrición blanca del ajo en carache*. Universidad Centrooccidental, Posgrado de Fitopatología, Venezuela. Recuperado el 19 de 07 de 2023, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612011000200005

Velásquez, R., Macias, L., & Reveles, M. (2017). *Patogenos comunes de semilla de ajo en Aguascalientes y Zacatecas*. Mexico. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263153822012>

Veliz, A. (2021). *Aislamiento y caracterización de Trichoderma spp.* . Obtenido de repositorio: [edu.ec/bitstream/123456789/33823/1/Tesis-291%20%20Ingeniería%20Agronómica%20-%20Veliz%20Pérez%20%](https://repositorio.unh.edu.ec/bitstream/123456789/33823/1/Tesis-291%20%20Ingeniería%20Agronómica%20-%20Veliz%20Pérez%20%20)

6. ANEXOS

Anexo 1. Recolección de muestras



Anexo 2. Procedimiento del aislamiento



Anexo 3. Identificación de los aislados

Figura 16. Carta de colores PANTONE COATED.

