



Caracterización morfológica y molecular de hongos filamentosos asociados a los suelos del sector de Floricultura de la Hacienda “El Prado” - IASA I, para el establecimiento de una línea base con fines de biorrestauración.

Villacis Méndez, Romina Fernanda

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga

Dr. Rueda Ortiz, Darwin Arturo

01 de marzo de 2024

Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos



Plagiarism and AI Content Detection Report

Trabajo de Integración Curricular_VIL...

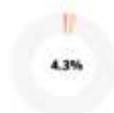
Scan details

Scan time: March 19th, 2024 at 15:42 UTC

Total Pages: 61

Total Words: 15055

Plagiarism Detection



| Types of plagiarism | | Words |
|---------------------|------|-------|
| Identical | 0.9% | 135 |
| Minor Changes | 0.5% | 69 |
| Paraphrased | 2.1% | 310 |
| Omitted Words | 21% | 3164 |

AI Content Detection



| Text coverage | | Words |
|---------------|-------|-------|
| AI text | 1.1% | 164 |
| Human text | 98.9% | 11727 |

[Learn more](#)

Firma:



DARWIN ARTURO RUEDA ORTIZ

Dr. Rueda Ortiz, Darwin Arturo
Director del Proyecto de Integración Curricular



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: "**Caracterización morfológica y molecular de hongos filamentosos asociados a los suelos del sector de Floricultura de la Hacienda "El Prado" - IASA I, para el establecimiento de una línea base con fines de biorrestauración**", fue realizado por la señorita **Villacis Méndez, Romina Fernanda**, el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizada en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 5 de marzo de 2024



Dr. Rueda Ortiz, Darwin Arturo

Director del Proyecto de Integración Curricular

C.C.: 0400688727



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Villacis Méndez, Romina Fernanda**, con cédula de ciudadanía n° 1724268543, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **"Caracterización morfológica y molecular de hongos filamentosos asociados a los suelos del sector de Floricultura de la Hacienda "El Prado" - IASA I, para el establecimiento de una línea base con fines de biorrestauración"** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 5 de marzo de 2024

Villacis Méndez, Romina Fernanda

C.C.: 1724268543



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo, **Villacis Méndez, Romina Fernanda**, con cédula de ciudadanía n° 1724268543, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Título: "Caracterización morfológica y molecular de hongos filamentosos asociados a los suelos del sector de Floricultura de la Hacienda "El Prado" - IASA I, para el establecimiento de una línea base con fines de biorrestauración"** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 5 de marzo de 2024

.....
Villacis Méndez, Romina Fernanda

C.C.: 1724268543

Dedicatoria

Este trabajo lo dedico a mi familia, por su acompañamiento incondicional y a quienes en el camino me brindaron su apoyo para seguir adelante, con el objetivo de ser mejor persona y profesional.

Romina Fernanda Villacis Méndez

Agradecimientos

Quiero agradecer a Dios por la vida, por mantenerme con salud y por darme la fortaleza de haber llegado hasta este punto de mi vida.

Agradezco sinceramente a mis padres, Patricia Méndez y Fernando Villacis, quienes con su paciencia y amor me acompañan en el camino de la vida. A mi papá por enseñarme a nunca rendirme y ser más fuerte en los momentos difíciles, su ejemplo de dedicación me ha enseñado a dar lo mejor de mí, para lograr mis objetivos. También, agradezco a mis hermanas, Antonella y Doménica Villacis que me han enseñado que la vida toma distintos rumbos, pero siempre contamos la una con la otra.

Agradezco también a dos personas que han forjado el camino de mi vida. A mi abuela Rosa Estrella que con amor ha sabido comprenderme en los momentos más difíciles y ha sabido respetar mis decisiones de vida, apoyándome y creyendo en mí. A Juan Mera, quién me ha visto desfallecer en el camino y nunca dudó en ayudarme, para cumplir con este objetivo: graduarme.

Quiero expresar mi agradecimiento al Dr. Darwin Rueda y a la Ing. Ariana Drouet del Laboratorio de Agrobiotecnología, por su invaluable guía, apoyo y confianza, por lo que me siento muy afortunada de haber aprendido durante este proceso. Además, agradezco a mis compañeros de trabajo Laura y José, por hacer un buen equipo de trabajo y apoyarnos siempre.

Además, quiero agradecer a mis amigos Miguel, Mary, Nathy, Nina, Moni, Leo, por compartir las risas, el estrés, los nervios y los ahora los logros, durante este camino de vida universitaria.

Romina Fernanda Villacis Méndez

Índice de contenido

| | |
|---|----|
| Resumen | 14 |
| Abstract..... | 15 |
| Capítulo I: Introducción | 16 |
| Antecedentes | 16 |
| Justificación..... | 17 |
| Objetivos | 18 |
| Objetivo General..... | 18 |
| Objetivos Específicos..... | 18 |
| Hipótesis | 19 |
| Capítulo II: Revisión de literatura | 20 |
| Características generales de los hongos | 20 |
| Características estructurales de los hongos | 21 |
| Hongos del suelo..... | 21 |
| Aislamiento de hongos del suelo..... | 22 |
| Hongos filamentosos | 23 |
| Clasificación de los hongos | 24 |
| Caracterización morfológica | 25 |
| Caracterización molecular | 25 |
| Diversidad biológica | 26 |
| Chao 1 | 27 |
| Abundancia relativa P_i | 28 |
| Índice de diversidad de Shannon (H') | 28 |
| Índice de dominancia de Simpson (D)..... | 28 |

| | |
|---|----|
| Índice de diversidad de Simpson (D')..... | 29 |
| Índice de diversidad específica de Margalef (DMg)..... | 29 |
| Índice de Pielou (J') | 29 |
| Conservación de hongos en un cepario..... | 30 |
| Capítulo III: Metodología | 31 |
| Ubicación del área de investigación | 31 |
| Ubicación política | 31 |
| Ubicación geográfica | 32 |
| Ubicación ecológica..... | 32 |
| Plan de muestreo | 33 |
| Trampas microbianas..... | 33 |
| Colocación y recuperación de trampas en campo..... | 34 |
| Medios de cultivo..... | 34 |
| Semisólido PDA..... | 34 |
| Líquido..... | 35 |
| Aislamiento de hongos filamentosos | 35 |
| Purificación de hongos filamentosos | 36 |
| Caracterización morfológica | 36 |
| Macroscópica y microscópica de los aislamientos | 36 |
| Caracterización molecular | 37 |
| Extracción de ADN..... | 37 |
| Determinación de la cantidad y calidad de ADN..... | 38 |
| Integridad de ADN | 39 |

| | |
|--|----|
| | 10 |
| Amplificación por PCR convencional..... | 40 |
| Electroforesis del producto amplificado..... | 41 |
| Secuenciación..... | 41 |
| Análisis bioinformático | 41 |
| Identificación de hongos filamentosos..... | 43 |
| Análisis de diversidad..... | 43 |
| Análisis filogenético..... | 43 |
| Cepario..... | 44 |
| Capítulo IV: Resultados | 45 |
| Identificación morfológica y molecular de las especies de hongos filamentosos recolectados en los suelos del sector de Floricultura..... | 45 |
| Plan de muestreo..... | 45 |
| Aislamiento de hongos filamentosos | 45 |
| Caracterización morfológica..... | 48 |
| Caracterización molecular..... | 55 |
| Identificación de hongos filamentosos por secuenciación | 62 |
| Análisis de diversidad..... | 64 |
| Análisis filogenético..... | 67 |
| Cepario..... | 68 |
| Capítulo V: Discusión..... | 69 |
| Capítulo VI..... | 76 |
| Conclusiones..... | 76 |
| Recomendaciones..... | 77 |
| Capítulo VII..... | 78 |

| | |
|--------------------|----|
| Bibliografía | 78 |
| Apéndices | 90 |

Índice de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1 <i>Clave de colores para los granos de arroz sembrados</i> | 35 |
| Tabla 2 <i>Primers empleados para amplificar la región ITS</i> | 40 |
| Tabla 3 <i>Master mix de reacción para un volumen de 25 μL</i> | 40 |
| Tabla 4 <i>Condiciones de la PCR</i> | 41 |
| Tabla 5 <i>Descripción de los aislamientos realizados a partir de los cultivos primarios</i> | 46 |
| Tabla 6 <i>Hongos purificados y representativos de los aislamientos</i> | 48 |
| Tabla 7 <i>Resultados de concentración y pureza de ADN</i> | 56 |
| Tabla 8 <i>Hongos identificados molecularmente</i> | 63 |
| Tabla 9 <i>Abundancia relativa de las especies identificadas</i> | 65 |
| Tabla 10 <i>Estimadores de riqueza y abundancia</i> | 66 |

Índice de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1 <i>Esquema de una célula fúngica</i> | 21 |
| Figura 2 <i>Formación de un hongo filamentoso, el micelio y los tipos de hifas</i> | 23 |
| Figura 3 <i>Actividad de acuicultura</i> | 31 |
| Figura 4 <i>Sector de Floricultura de la Hacienda “El Prado”- IASA I</i> | 32 |
| Figura 5 <i>Muestreo del 50% de la parcela</i> | 33 |
| Figura 6 <i>Electroferograma de una secuenciación con ITS4</i> | 42 |
| Figura 7 <i>Limpieza de ruido de la secuencia consenso</i> | 42 |
| Figura 8 <i>Integridad de la extracción de ADN</i> | 57 |
| Figura 9 <i>Integridad de la extracción de ADN</i> | 58 |
| Figura 10 <i>Integridad de la extracción de ADN</i> | 58 |
| Figura 11 <i>Integridad de la extracción de ADN</i> | 59 |
| Figura 12 <i>Productos de la amplificación ITS por PCR</i> | 60 |
| Figura 13 <i>Productos de la amplificación ITS por PCR</i> | 60 |
| Figura 14 <i>Productos de la amplificación ITS por PCR</i> | 61 |
| Figura 15 <i>Productos de la amplificación ITS por PCR</i> | 61 |
| Figura 16 <i>Productos de la amplificación ITS por PCR</i> | 62 |
| Figura 17 <i>Abundancia de acuerdo al género</i> | 65 |
| Figura 18 <i>Árbol filogenético de las especies identificadas molecularmente</i> | 67 |

Resumen

En el sector de Floricultura de la Hacienda “El Prado” - IASA I, se obtuvieron un total de 62 aislamientos de hongos del suelo a partir de trampas microbianas de arroz.

A 36 hongos filamentosos purificados se los caracterizó morfológicamente a nivel macroscópico y microscópico, con el empleo de claves dicotómicas. La caracterización molecular, se llevó a cabo con la extracción de ADN y amplificación de las regiones conservadas ITS con los *primers* ITS1 e ITS4, los productos de PCR convencional fueron enviados para el proceso de secuenciación por el método de Sanger a los Laboratorios de Investigación UDLA.

La identificación molecular, se realizó al comparar las secuencias consenso con la base de datos NCBI-GenBank, específicamente, usando la herramienta bioinformática BLAST. Se identificaron 27 especies en el sector de Floricultura, distribuidas en 14 géneros: *Clonostachys*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Niesslia*, *Irpex*, *Fusarium*, *Minimedusa*, *Clarireedia*, *Flavocillium*, *Xylariales*, *Penicillium*, *Absidia*, *Epicoccum*, *Pseudopithomyces*.

Con las especies morfo-molecularmente identificadas, se elaboró un cepario crioconservando discos de agar colonizados, en una solución de glicerol 10% y peptona 0.1%. Se evidenciaron los procesos mediante la elaboración de fichas técnicas que detallan los resultados.

Finalmente, el estudio estableció una línea base de hongos filamentosos agrupados de acuerdo al rol ecológico que cumplen. En el sector de Floricultura del total de individuos aislados: 46,8% son antagonistas, 35,5% saprófitos y 17,7% fitopatógenos. Esta información es preliminar para estudios complementarios de biorrestauración.

Palabras clave: caracterización morfo-molecular, hongos filamentosos, secuenciación, biodiversidad, crioconservación.

Abstract

In the Floriculture sector of Hacienda "El Prado" - IASA I, a total of 62 soil fungus isolates were obtained from rice microbial traps.

Thirty-six purified filamentous fungi were morphologically characterized at both macroscopic and microscopic levels using dichotomous keys. Molecular characterization was carried out by DNA extraction and amplification of the conserved ITS regions with the *primers* ITS1 and ITS4. The PCR products were then sent for Sanger sequencing at the UDLA Research Laboratories.

Molecular identification was performed by comparing the consensus sequences with the NCBI-GenBank database, specifically using the bioinformatics tool BLAST. Twenty-seven species were identified in the Floriculture sector, distributed in 14 genera: *Clonostachys*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Niesslia*, *Irpex*, *Fusarium*, *Minimedusa*, *Clarireedia*, *Flavocillium*, *Xylariales*, *Penicillium*, *Absidia*, *Epicoccum*, *Pseudopithomyces*.

With the morpho-molecularly identified species, a culture collection was established by cryopreserving colonized agar disks in a 10% glycerol and 0.1% peptone solution. The processes were documented by elaborating technical sheets detailing the results.

Finally, the study established a baseline of filamentous fungi grouped according to their ecological role. In the Floriculture sector, of the total isolated individuals, 46.8% are antagonists, 35.5% are saprophytes, and 17.7% are phytopathogens. This information is preliminary for complementary biorestitution studies.

Keywords: morpho-molecular characterization, filamentous fungi, sequencing, biodiversity, cryopreservation.

Capítulo I: Introducción

Antecedentes

Los hongos filamentosos han despertado un gran interés en el ámbito biotecnológico debido a los beneficios que brindan gracias a sus características morfológicas únicas. Su potencial comercial ha impulsado su producción con el fin de utilizarlos en diversos sectores como el agrícola, farmacéutico, alimenticio e industrial, así como en la generación de biocombustibles. Estos microorganismos son reconocidos por sus propiedades beneficiosas, lo cual motiva a los investigadores a profundizar en el estudio de la micología (Suárez Contreras & Peñaranda Figueredo, 2022).

Ecuador es considerado un país megadiverso debido a su ubicación geográfica privilegiada y a la diversidad de ecosistemas, despertando el interés en investigadores, biólogos y científicos de todo el mundo. Ecuador es un verdadero laboratorio natural para estudiar y aprender de los organismos que la componen, principalmente de esos que no se observan a simple vista, como los hongos filamentosos. Definitivamente Ecuador es un tesoro de la biodiversidad que merece ser conservado y protegido. Es por eso, que investigaciones como la de Ochoa Cabrera (2017) aportan al conocimiento científico, al enfocarse en la identificación de hongos filamentosos presentes en áreas protegidas del país como lo es el Bosque Aguarongo, ubicado en la provincia de Azuay. Su estudio ha permitido la conservación de hongos filamentosos en un cepario perteneciente a la Universidad Politécnica Salesiana (UPS) de la Sede Cuenca, estos microorganismos fueron caracterizados morfológicamente y clasificados en los géneros encontrados, tales como, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Fusarium*, que se caracterizan por ser los más frecuentes.

La investigación de Carreño et al. (2018) también se enfoca en el análisis microbiológico al suelo del bosque protegido de Prosperina ubicado en la ciudad de Guayaquil – Ecuador, con el objetivo de identificar hongos filamentosos. Utilizando técnicas moleculares, identificaron 38

especies de hongos filamentosos del suelo, con mayor frecuencia observaron géneros como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Absidia*, y con menos frecuencia géneros como *Fusarium* y *Cladosporium*, estos resultados confirman la valiosa biodiversidad de microorganismos que habitan en el bosque, y también sugiere analizar la influencia de factores naturales y humanos en la dispersión de microorganismos patógenos. Con el propósito de futuras investigaciones enfocadas en la búsqueda de metabolitos secundarios con potencial biotecnológico, realizaron la crioconservación de hongos filamentosos, que ya hacen parte de la Colección de Cultivos de microorganismos del CIBE (CCM-CIBE).

El sector florícola del Ecuador, es una de las áreas comerciales más importantes para el desarrollo económico, y es por eso que siempre se encuentran en el objetivo de mejorar sus actividades para ser competitivos en el mercado. Las investigaciones en el sector son continuas, justamente para crear nuevas variedades con menos riesgo, para lo cual el estudio de Castillo Guamán (2021) generó su aporte al aislar e identificar molecularmente a los hongos entomopatógenos *Bauveria bassiana* y *Penicillium oxalicum* en la Florícola AlpaRoses S.A., Conocoto – Pichincha., y evaluarlos como controladores biológicos contra la plaga “Trips” (*Frankliniella occidentalis*), que es reconocida por genera pérdidas en la producción, al reducir la calidad de tallos en rosas.

Justificación

El sector florícola del Ecuador conforma el 4,6% del total de las exportaciones no petroleras entre enero y julio de 2023, generando 39.503 empleos directos. Hasta julio de 2023, el Ecuador se ubica entre los mayores exportadores de flores a nivel mundial, ocupando el segundo lugar, gracias al 75% de exportación en rosas (Expoflores, 2023; GDPS, 2023). Este panorama, también influye en la cantidad de agroquímicos utilizados por el sector florícola, para combatir enfermedades y plagas en los cultivos, así es como en el estudio de Flores Perugachi (2012) menciona las razones por la que empresas florícolas usan productos químicos como primera opción, recalcando que la oferta comercial de hongos benéficos es mínima y su costo

es elevado. Además, el estudio Zambrano-Salazar & Quinde-Alvear (2023) recalca que el uso de agroquímicos afecta la salud de los trabajadores que tienen contacto con estos compuestos, por lo que buscar una alternativa accesible, es justa y necesaria.

Por los motivos antes mencionados y con la tendencia hacia actividades sustentables, se busca la creación de productos amigables con el medio ambiente, que promuevan el volumen de producción y calidad, y que mejor que sean a base de microorganismos benéficos. Los mismos que requieren de distintos análisis como técnicas de cultivo, observación microscópica, pruebas moleculares, entre otras, para su identificación y potencial aplicación (Erkmen, 2021). Su uso en la agricultura permite obtener un equilibrio microbiológico en el suelo, a la vez que promueve el comercio y desarrollo económico, al crear productos de control biológico, interesante para diferentes industrias, lo que promueve el estudio propuesto del establecimiento de una línea base de hongos filamentosos para biorrestauración.

Objetivos

Objetivo General

Caracterizar morfológica y molecularmente hongos filamentosos asociados a los suelos del sector de Floricultura de la Hacienda “El Prado” - IASA I, para el establecimiento de una línea base con fines de biorrestauración.

Objetivos Específicos

- Identificar morfológica y molecularmente las especies de hongos filamentosos recolectados en los suelos del sector de Floricultura
- Evaluar la biodiversidad presente en el suelo en base a las especies registradas.
- Establecer un cepario de microorganismos con potencial benéfico.

Hipótesis

H_0 : No existe diferencia significativa entre la riqueza de especies de hongos filamentosos observada y la riqueza esperada según el estimador no paramétrico Chao 1.

H_1 : Existe diferencia significativa entre la riqueza de especies de hongos filamentosos observada y la riqueza esperada según el estimador no paramétrico Chao 1.

Capítulo II: Revisión de literatura

Características generales de los hongos

Los hongos son un grupo abundante de organismos, que se clasificó hace mucho tiempo en el Reino *Plantae*, no obstante, con la evolución de técnicas moleculares y avances científicos, a partir del 2015 se generalizó y rectificó públicamente su pertenecía al Reino *Fungi* (Ruggiero et al., 2015). La cantidad de hongos que existen, siempre ha sido un valor intrigante en ser determinado por especialistas en taxonomía y biodiversidad, sin embargo, no es posible establecer un valor fijo y específico de estos organismos. Para tener una comprensión más sujeta a la realidad en el estudio de (Ritter et al., 2020) observaron que el equivalente a una cucharadita de tierra contenía alrededor de 400 especies de hongos; ahora, de acuerdo a datos generados recientemente a partir de estudios enfocados en la estimación de diversidad fúngica por distintas técnicas, se ha calculado un promedio de 12 (11,7 – 13,2) millones de especies de hongos en la Tierra (Wu et al., 2019), aunque solo aproximadamente 150.000 especies están aceptadas de acuerdo a bases de datos reconocidas para el Reino *Fungi* (Rúa-Giraldo, 2023).

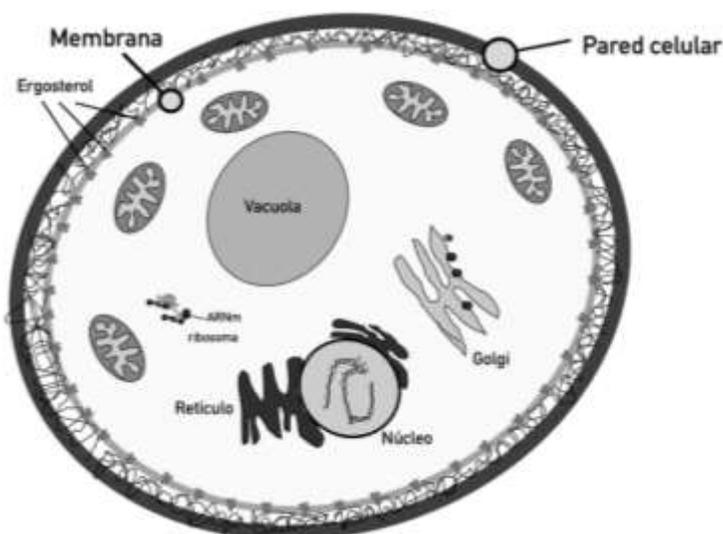
Los hongos son heterótrofos por absorción, es decir, que obtienen los nutrientes necesarios a partir de la materia orgánica ya elaborada que se encuentra en el entorno, para lograrlo segregan enzimas que rompen la materia orgánica en moléculas más pequeñas, así los hongos absorben sus requerimientos nutricionales mediante la pared celular y lo implementan en su metabolismo como fuente de carbono y energía (Arenas, 2014; Gómez, 2017). De acuerdo a su forma de nutrición, los hongos se clasifican en: saprófitos, simbióticos y parásitos. Los hongos saprófitos o saprobios se caracterizan por alimentarse de materia orgánica en descomposición; los simbióticos establecen una relación benéfica con otros seres vivos, como la formación de micorrizas para promover un mutuo desarrollo ecológico; y, los parásitos crean una relación perjudicial para el huésped (Estrada Salazar & Ramírez Galeano, 2019).

Características estructurales de los hongos

Los hongos están formados por células eucariotas (figura 1), es decir, que poseen un núcleo definido, mitocondrias, una membrana plasmática ordenada que, a diferencia de los seres humanos, esta contiene ergosterol, y finalmente tiene una pared celular conformada por polisacáridos como α -glucanos, mananos y quitina, formando una estructura rígida de protección. Los hongos pueden ser organismos unicelulares como las levaduras (blastomicetos), que se han empleado desde tiempos antiguos en la preparación de cerveza y multicelulares que hacen referencia a hongos filamentosos y setas, estos últimos son especies macroscópicas que regularmente se encuentran a simple vista en los bosques (Arenas, 2014).

Figura 1

Esquema de una célula fúngica



Nota. Recuperado de: (Zaragoza, 2018).

Hongos del suelo

Los hongos cumplen varias funciones dentro del suelo, uno de esos es su rol en los ciclos biogeoquímicos, los hongos tienen la capacidad de crear un equilibrio ecosistémico al ejercer la descomposición de la materia orgánica o al establecer relaciones con la rizosfera de las plantas, con la finalidad de transportar, reciclar y aprovechar nutrientes esenciales como el

carbono, nitrógeno, fósforo, entre otros; en el mejor de los casos se alcanza un mayor equilibrio cuando existe una alta interacción biótica, lo que presume la riqueza del suelo (Marín, 2018).

Aislamiento de hongos del suelo

Estos microorganismos al tener una relación estrecha con la naturaleza y vivir bajo distintos aspectos abióticos, el simular su ambiente propicio de crecimiento a niveles *in vitro* se vuelve complejo, de allí que se menciona que los análisis de abundancia relativa de especies cultivables aisladas del suelo, generan resultados no representativos, y promueve a enfatizar en la aserción de que solo el 1% de los microorganismos del suelo son cultivables, teniendo la privación de comprender la inmensa diversidad existente (Pfenning & Magalhães, 2000).

Existen métodos para el aislamiento de los hongos, tales como las diluciones seriadas a partir de muestras de suelos, en estos casos se evita el uso de raíces por la relación micorrícica que influiría en el cultivo, también se manejan los sustratos sólidos u orgánicos, estos se fundamentan en brindarle los nutrientes necesarios al hongo para que crezca, en el estudio Nugra Sánchez (2018) evaluó diferentes sustratos para el hongo *Trichoderma* spp., resultando como mejor trampa microbiológica la que contenía arroz precocido, esto por su alto contenido de almidón y nutrientes, en este tipo de método se procura utilizar arroz de grano entero que no se quiebre fácilmente, ni se apelmace. Con un enfoque más sustentable, haciendo referencia a la economía circular, se busca la optimización de sustratos para la producción de hongos, fundamentado en el uso de subproductos de la industria agrícola como la cascarilla de arroz y maní (Arévalo et al., 2017). La captura de hongos por cualquier método, es funcional para hacer estudios de biodiversidad y riqueza en áreas de interés, las trampas de arroz es una técnica tradicional que aún se utiliza en los laboratorios por ser fácil, económica y principalmente didáctica, porque el arroz una vez que atrapa microorganismos presenta granos de varios colores que en términos ecológicos concluye una riqueza microbiológica del suelo,

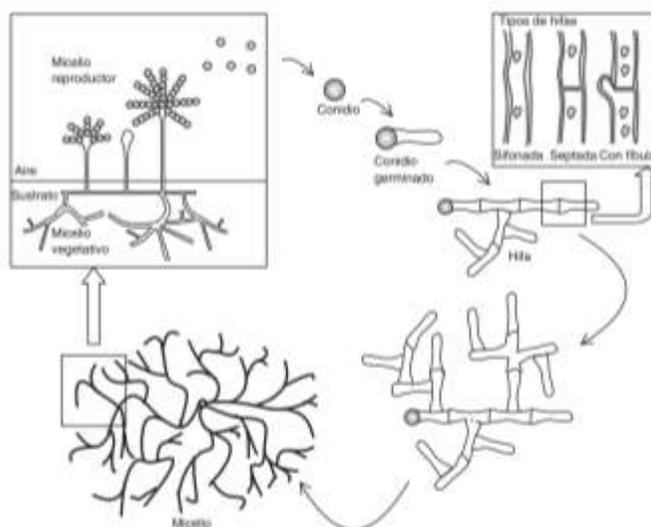
asumiendo un ecosistema en equilibrio que fomenta la producción de los cultivos (Sánchez Riofrio, 2022).

Hongos filamentosos

La unidad estructural de los hongos filamentosos se les denomina hifas, que en conjunto forman el talo o micelio, que constituirá la parte visible del hongo denominado soma, utilizado para caracterizar de forma macroscópica al hongo en crecimiento (Arenas, 2014), describiendo la forma del micelio, tal como algodonosa, vellosa, lanosa o pulverulenta. Las hifas son estructuras tubulares, que pueden o no ser septadas, cada segmento se considera un tabique que demarca una célula (figura 2); los hongos septados pueden llegar a tener un diámetro inferior de 2 a 5 μm , y los no tabicados denominados cenocíticos o sifonados, tiene un diámetro de 10 a 15 μm (Liébana Ureña, 2002). Las hifas pigmentadas se las conoce también como hifas demateáceas generalmente de color negro, y las hifas sin color como hialinas (Gómez, 2017).

Figura 2

Formación de un hongo filamentoso, el micelio y los tipos de hifas



Nota. Recuperado de: (Liébana Ureña, 2002).

El micelio tiene dos funciones específicas para su desarrollo (figura 2), por lo cual se diferencia el micelio vegetativo, aquel que se encuentra cerca al sustrato para absorber nutrientes, fijarse y dar edificación al micelio aéreo, y este último tiene como objetivo extenderse hacia el exterior y formar las estructuras de reproducción, como son las esporas (Arenas, 2014).

Clasificación de los hongos

En el año de 1996, Robert Whittaker hace mención de cinco reinos para agrupar a los seres vivos, conforme a su morfología y fisiología, denominados *Monera*, *Protista*, *Fungae*, *Plantae* y *Animalia*. Específicamente, clasificó a los hongos en el reino *Fungae*, con cuatro familias designadas como *Ascomycota*, *Zygomycota*, *Basidiomycota* y *Deuteromycota* (Gómez, 2017). Con el pasar del tiempo, la clasificación ha ido cambiando de acuerdo al avance de la ciencia, con la llegada de las técnicas de biología molecular y un consenso entre más de 3.000 taxónomos, se permitieron establecer una nueva clasificación que propone dos superreinos (Prokaryota y Eukaryota) y siete reinos: *Archaeobacteria* y *Eubacteria* que pertenecen al reino procariota, y *Protozoa*, *Chomista*, *Fungi*, *Plantae* y *Animalia* que corresponden al reino eucariota (Ruggiero et al., 2015). El sistema de clasificación actualizado y el cual se sigue utilizando comprende que el reino *Fungi* tiene cinco filos: *Chytridiomycota*, *Glomeromycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* y *Basidiomycota*. Los filos se caracterizan por, conservar las esporas móviles (*Chytridiomycota*), formar endomicorrizas con plantas vasculares (*Glomeromycota*), formar esporas de pared gruesa por reproducción sexual y abarcar tanto a saprobios del suelo como a simbioses de artrópodos (*Zygomycota*), incluir a hongos filamentosos y levaduras, mediante reproducción sexuada como asexual (*Ascomycota*), y por contener en su mayoría a los macrohongos perfectos que presentan setas entre esas las venenosas (*Basidiomycota*) (Arenas, 2014; Romero Bautista, 2007).

Caracterización morfológica

La identificación de un hongo empieza con la observación macroscópica, es decir, lo que resalta a simple vista y más profundamente con una observación microscópica. Ambas observaciones, se fundamentan en claves dicotómicas, que son herramientas creadas por expertos en micología, en ellas se encuentran varias características morfológicas de los hongos, que tienen el objetivo de guiar al usuario hacia la determinación del género y especie de un hongo en cultivo (Panica & Condorí, 2013). Para iniciar con la identificación de hongos, se toma un cultivo puro y se observa bien las características, con la finalidad de asignarlo a una de las dos alternativas que presenta la clave, una vez tomada la decisión se continua el camino saltando al siguiente número que aparece a la derecha del dominio analizado, se continua hasta que en el lado derecho aparezca el género o especie al que pertenece el individuo (Vilches et al., 2012).

A nivel macroscópico los caracteres a determinar son el color del anverso y reverso de la colonia, la textura, el aspecto, la altura micelar, la forma de crecimiento, la presencia o ausencia de exudado, el cambio de color por el proceso de esporulación, entre otras. Mientras, que a nivel microscópico, se observa la estructura interna de las hifas, si son septadas, no septadas o pseudohifas, el tipo de espora, si es ascospora, basidiospora o conidia, el color, tipo y forma de conidias y conidióforos, entre otras características que hacen a un hongo único (Arenas, 2014).

Caracterización molecular

La biología molecular es una de las herramientas que abarca varias disciplinas beneficiosas para la vida moderna, y básicamente depende de la esencia de una persona, en este caso de un hongo, que es su ácido desoxirribonucleico (ADN). La obtención de ADN en sus variadas concentraciones, es el principio de los análisis genéticos, solo basta un poco de micelio, para amplificar genes específicos utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y obtener un aumento del número de copias de un gen (Cervantes Gonzales, 2003). Se

simula a la síntesis de ADN que sucede en una célula, con la diferencia de que el proceso está bajo el control del operador, quien establece las condiciones de temperatura y reactivos para llevar cabo el proceso (Tamay de Dios et al., 2013). La práctica de esta técnica permite identificar hongos utilizando marcadores moleculares específicos, así es como para estos microorganismos el método se fundamenta en el análisis de las regiones del ADN ribosómico: 18S, 5.8S y 28S, que se caracterizan por ser genes constitutivos no alterables durante la evolución y que se encuentran en gran proporción en las células eucariotas, lo que facilita su amplificación (Armendáriz Borunda et al., 2013). En alguna región del genoma del hongo, se encuentra el operón ribosomal conformado por los genes antes mencionados y que se encuentran separados por las regiones de los espacios transcritos internos (ITS), que principalmente flanquean al 5.8S y se conocen como ITS1 e ITS2, en conjunto forman la región ITS. Para cada especie de hongo, esta región es particular y permite identificar, diferenciar y relacionar organismos, por lo que se la conceptualiza como un código de barras genético, con un tamaño que puede fluctuar entre 500 a 800 nucleótidos. Se considera mencionar que el ARNr 5S que también forma parte del ribosoma funcional, no conforma parte del operón (Maldonado Bonilla et al., 2023).

Diversidad biológica

La diversidad biológica o biodiversidad como se ha descrito en los últimos tiempos, hace referencia a la variedad de organismos vivos que habitan los diferentes ecosistemas, bajo una constante de equilibrio. Esta diversidad abarca elementos como la composición que se relaciona a la variabilidad de genes, poblaciones y especies, así como también la estructura que involucra el aspecto genético y demográfico, y por último la función de los sistemas biológicos que se relaciona a los procesos ecológicos y evolutivos que engloba a los dos anteriores elementos (Chaves-Mejía, 2023).

Para la estimación del número de especies microbiológicas en una muestra determinada, se utilizan diferentes parámetros que con un valor se evalúa la riqueza y abundancia de un ecosistema, los métodos a emplear son:

Chao 1

El Chao 1 es una herramienta no paramétrica que se utiliza en ecología para estimar la riqueza de especies en una población o comunidad. Se evalúa a partir de la abundancia de especies poco comunes que presentan los resultados de muestreo, además es útil al trabajar con muestras sesgadas, porque puede corregir irregularidades y expresar una estimación más precisa de la diversidad biológica de un ecosistema (Kim et al., 2017).

El índice Chao 1 (S_{Chao1}) para una población pequeña es:

$$S_{Chao1} = S_{obs} + \frac{F^2}{2G} \times \frac{N - 1}{N}$$

Donde:

S_{Chao1} = Número total de especies esperadas

S_{obs} = Número total de especies observadas en la muestra

F = Número de especies que están representadas solamente por un único individuo en esa muestra (número de “singletons”)

G = Número de especies representadas por exactamente dos individuos en la muestra (número de “doubletons”)

N = Número total de individuos de la muestra

Para el valor de doubletons igual a cero, se evalúa con:

$$S_{estimadas} = S_{obs} + \left(\frac{F^2}{2G + 1} \right) - \left(\frac{FG}{2(G + 1)^2} \right)$$

Abundancia relativa (\mathcal{P}_i)

La abundancia relativa es una herramienta para medir la frecuencia o cantidad con la que un individuo aparece en un ecosistema, expresado generalmente como un porcentaje o proporción. Se utiliza para estudios de diversidad y distribución de especies en un determinado entorno (Valdez, 2018).

La abundancia relativa (\mathcal{P}_i) es:

$$(\mathcal{P}_i): \frac{n_i}{\sum_{i=1, \dots, n} n_i} = \frac{n_i}{\mathcal{N}}$$

Donde:

n_i = Número de individuos de una especie

\mathcal{N} = Número total de individuos de la muestra

Índice de diversidad de Shannon (H')

El índice de Shannon, es un valor que indica la diversidad total de especies presentes en un área determinada. Su evaluación se fundamenta en la riqueza de especies y la igualdad de distribución de individuos entre las diferentes especies. En cuanto mayor sea el índice de Shannon, mayor será la diversidad del área analizada (Valdez, 2018).

El índice de diversidad de Shannon (H') es:

$$H' = - \sum \left(\frac{n_i}{\mathcal{N}} \right) \ln \frac{n_i}{\mathcal{N}} = - \sum (\mathcal{P}_i) \ln \mathcal{P}_i$$

Índice de dominancia de Simpson (D)

El índice de Simpson mide cuantitativamente la diversidad de especies en un ecosistema, mientras su índice sea mayor se determinará una alta diversidad de especies.

El índice de Simpson (D) se expresa:

$$D = \sum \left(\frac{n_i}{\mathcal{N}} \right)^2 = \sum (\mathcal{P}_i)^2$$

Índice de diversidad de Simpson (D')

Es un índice que expresa la ausencia o presencia de diversidad en un ecosistema, si el valor se aproxima a 0 no hay diversidad, mientras que si se acerca a 1 hay diversidad de organismos (Valdez, 2018).

$$1 - \sum (P_i)^2$$

Índice de diversidad específica de Margalef (D_{Mg})

Es un índice de diversidad que considera la riqueza de especies como la abundancia relativa de cada una de ellas (Valdez, 2018). Cuando su valor es menor a 2 se considera baja diversidad, mientras que si es mayor a 5, se considera de alta diversidad.

El índice de Margalef (D_{Mg}) es:

$$D_{Mg} = \frac{(S - 1)}{\ln(N)}$$

Donde:

S = Número total de especies presentes

N = Número total de individuos de la muestra

Índice de Pielou (J')

El índice de Pielou es una medida de diversidad tomando en cuenta la equitatividad de la distribución de individuos dentro de una especie. Relaciona el índice de diversidad de Shannon y la diversidad máxima de un área en específico. Su valor varía entre 0 y 1, donde 0 significa una distribución desigual de individuos, mientras que 1 una distribución aceptable considerando que es un ecosistema saludable y equilibrado (Valdez, 2018).

$$J' = \frac{H'}{H'_{max}}$$

Donde: $H'_{max} = \ln(S)$

Conservación de hongos en un cepario

El levantamiento de un cepario se relaciona con la conservación de microorganismos a largo tiempo, su objetivo principal es la de contribuir a la ciencia y al conocimiento sobre la biodiversidad que existe en la Tierra. Almacenados los hongos de interés, se vuelven un recurso genético valioso para futuros estudios en varios campos, como la medicina, la biotecnología, la agropecuaria, entre otros (Acosta Ovallos, 2019).

Los métodos utilizados para la conservación dependerán de la temperatura de almacenamiento, fuese esa ultrabaja (-80°C) para la cual se acude a la liofilización o se usa nitrógeno líquido para una criopreservación (-196 °C), ambas técnicas con un objetivo en común, el de minimizar la pérdida de viabilidad, los cambios genéticos y la pérdida de aislamientos. La crioconservación se fundamenta en el uso de agentes crioprotectores, cuya finalidad es proteger a las células de los cristales de hielo que se forman al mantener las muestras en congelación, las sustancias más utilizadas son el glicerol, el dimetilsulfóxido (DMSO), aminoácidos y algunas sacarosas. Las concentraciones aplicables dependerán de la temperatura a conservar, a mayores grados bajo cero las concentraciones son menores, ese es el caso de la relación entre el glicerol al 10% y la peptona al 0,1%, que ha garantizado la viabilidad de los hongos filamentosos por un largo tiempo a -80°C (Rugeles Barandica et al., 2021).

Capítulo III: Metodología

Ubicación del área de investigación

La presente investigación se realizó en el Instituto Agropecuario Superior Andino (IASA I) perteneciente a la Universidad de las Fuerzas Armadas - “ESPE”, donde se desarrollan actividades relacionadas a la Carrera de Ingeniería Agropecuaria como se muestra en la Figura 3.

Figura 3

Actividad de acuicultura



Nota. Pesca en un sistema productivo de trucha. Recuperado de: (Guambi & Hernandez, 2011).

Ubicación política

La Hacienda “El Prado” - IASA I está ubicada en la provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui, parroquia Sangolquí, barrio San Fernando.

El IASA I cuenta con una infraestructura de laboratorios distribuida en 7 bloques: Bloque 1 dispone de los laboratorios de Química, Bioquímica y Suelos, Bloque 2 los laboratorios de Fisiología Vegetal - Principios activos, Entomología y Control de Calidad, Bloque 3 laboratorios de Fitopatología, Mejoramiento Genético y Sanidad Animal, Bloque 5 laboratorio de Agrobiotecnología y Genética, Bloque 6 Acuicultura y Bloque 7 Fitopatología (Villacís, 2019).

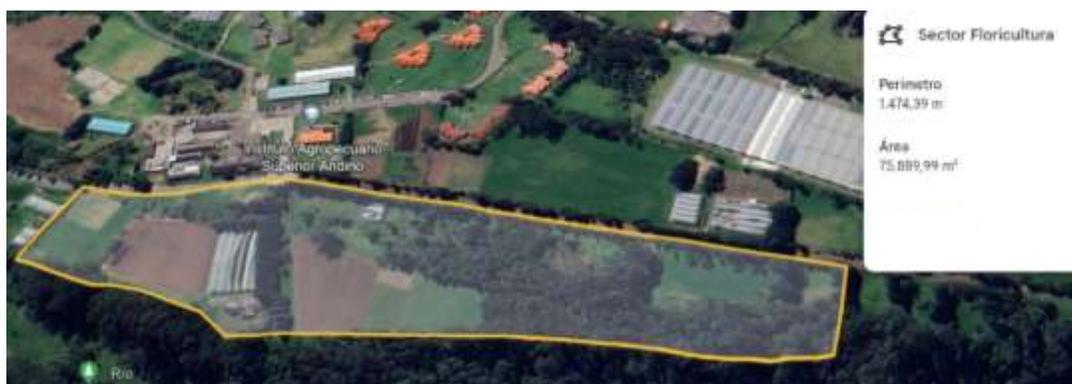
Ubicación geográfica

El ensayo se realizó en el sector de Floricultura de la Hacienda “El Prado” - IASA I, ubicado a una altitud de 2 748 m.s.n.m., sus coordenadas son: 0°23'10" de longitud sur y 78°25'01" de latitud oeste.

Como se muestra en la Figura 4, el área total de muestreo es de 75 565,34 m², su perímetro es de 1 428,73 m, y se midió 672,28 m de largo y 159,34 m de ancho.

Figura 4

Sector de Floricultura de la Hacienda “El Prado”- IASA I



Nota. Tomado de Google Earth

Ubicación ecológica

La Hacienda “El Prado” IASA I es parte de la zona de vida del bosque húmedo, considerado como un piso altitudinal montano bajo y representa una región latitudinal templada (Arce Carriel, 2009). Las lluvias en esta zona inician en el mes de octubre hasta mayo con una precipitación multianual de 1 325 mm, una humedad relativa anual de entre 64,79 y 66%, y con una temperatura media entre 14,19 y 14,45 °C (Arce Carriel & Pozo Rivera, 2015). En el cantón Rumiñahui se observa diferentes relieves de origen volcánico, donde la mayor proporción de suelos se encuentra entre francos (40% arena, 40% limo y 20% arcilla) y francos arenosos. Al ser la Hacienda “El Prado” parte de este cantón, se asume una diversidad de suelos, donde los

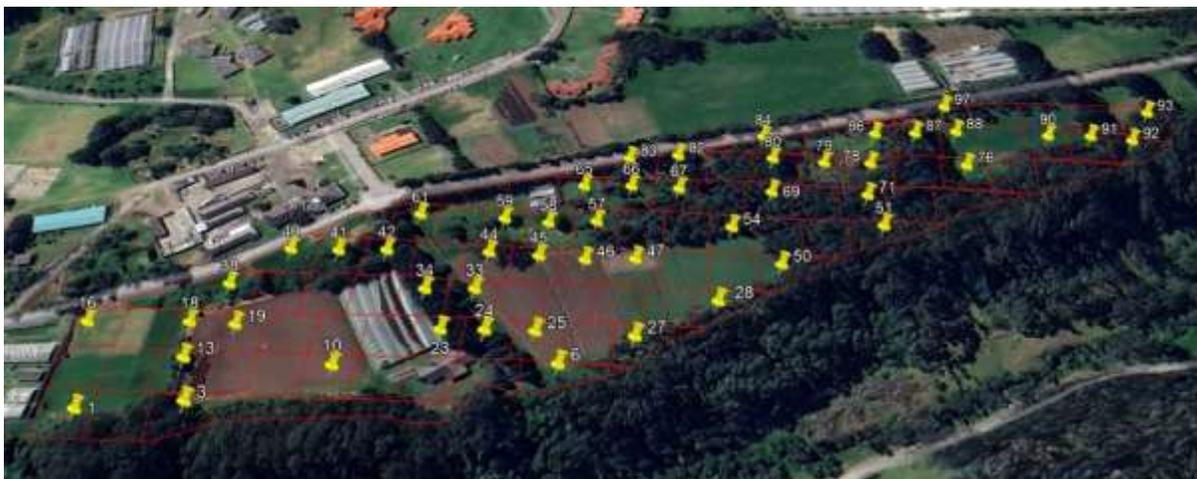
órdenes dominantes son los Molisoles con 45,88% y los Andisoles con 17,88%, el resto corresponde a tierras misceláneas o no caracterizadas y a áreas urbanas (GADMUR, 2019).

Plan de muestreo

Para realizar el muestreo del sector de Floricultura se consideró como una sola parcela a todo el terreno (Figura 4). Esta área se dividió en 100 partes iguales, denominadas subparcelas o unidades experimentales. Con un sistema al azar, se eligieron 50 subparcelas para colocar las trampas microbianas de arroz, en la Figura 5 se muestra la numeración de las subparcelas muestreadas.

Figura 5

Muestreo del 50% de la parcela



Nota. El número que acompaña el pin, representa el número de la subparcela y lugar donde se colocaron las trampas microbianas.

Trampas microbianas

Para la elaboración de las trampas microbianas se utilizó como sustrato el arroz cocinado por 6 minutos, el arroz se colocó en fundas plásticas cerradas con grapas y se esterilizaron en autoclave. Al salir de la autoclave las fundas se sellan con cinta masking y se conservan a 4°C.

En vasos de 7 onzas se colocó 50 gramos del arroz antes preparado, se cubrió con tela nylon y papel aluminio, sujetos con una liga.

Colocación y recuperación de trampas en campo

En cada subparcela seleccionada al azar, se buscó un lugar con vegetación, tierra firme y seca, para la colocación de la trampa de arroz. En el lugar, se realizó un hoyo de 20 cm de profundidad y se colocó la trampa boca abajo, asegurándose un contacto del arroz con la tierra. Se cubrió el hoyo con tierra y hojarasca para proteger de precipitaciones, finalmente se colocó una bandera roja para mejor visibilidad del muestreo.

Después de 15 días, se recuperaron las trampas con las precauciones necesarias para evitar alterar su contenido. Las trampas que presentaron contaminación y alta humedad se descartaron inmediatamente.

Medios de cultivo

Semisólido PDA

Para el medio de cultivo semisólido se pesó 39 g de Agar Papa y Dextrosa (BD Difco™) y se colocó en frasco de vidrio (BOECO) con 1000 mL de agua destilada, se llevó al microondas hasta su ebullición.

Se esterilizó el medio de cultivo a 121°C, 14 PSI por 15 minutos en autoclave, luego se dejó enfriar, hasta que alcance los 50°C y se colocó 10 mL del antibiótico Penicilina-Estreptomicina (10,000 IU Pen/mL, 10,000 µg Strep/mL) (MP Biomedicals).

Dentro de una cámara de flujo laminar (ESCO, SHC-4A2), se dispensó 20 mL del medio de cultivo en cajas Petri estériles, se esperó su solidificación para su posterior almacenamiento a temperatura ambiente.

Las cajas Petri se utilizaron después de dos días, para descartar contaminación del medio PDA.

Líquido

El medio líquido se preparó pesando 5 g de dextrosa, 1.25 g de peptona y 250 mL de agua destilada. Los reactivos se mezclaron en un frasco de vidrio (BOECO), se llevó al microondas hasta su ebullición, se dejó enfriar hasta que alcanzara una temperatura de 50°C y se añadió 2.5 mL del antibiótico tetraciclina 1 mg/mL.

Se dispensó con una jeringuilla estéril, 5 mL del medio en tubos de ensayo tapa rosca, luego se esterilizó a 121°C, 14 PSI durante 15 minutos. Una vez enfriados los tubos se almacenaron a 4°C, para su posterior uso.

Aislamiento de hongos filamentosos

Se esterilizó la cámara de aislamiento y los materiales con alcohol 70%, y luz UV por 15 minutos. Entre dos mecheros se abrió la trampa microbiana y se seleccionaron granos de arroz, cada uno de un color diferente.

Se sembraron los granos de arroz en una caja Petri con medio PDA, para el procedimiento se flameó pinza, bisturí y espátula con alcohol potable. Se flameó el borde de la caja Petri y se selló con Parafilm. La etiqueta consta del número de subparcela muestreada, ejemplo P16 (Subparcela 16).

Se codificó cada grano de arroz sembrado de acuerdo al color, en la Tabla 1 se observa la clave de color que se utilizó, la codificación se colocó en el reverso de la caja Petri.

Los cultivos se incubaron a 28°C en oscuridad por 5 días, para promover el crecimiento del micelio y 2 días en luz para la esporulación.

Tabla 1

Clave de colores para los granos de arroz sembrados

| Número | Color |
|---------------|--------------|
| 1 | Rojo |
| 2 | Morado |

| Número | Color |
|--------|----------|
| 3 | Lila |
| 4 | Gris |
| 5 | Blanco |
| 6 | Verde |
| 7 | Amarillo |
| 8 | Negro |
| 9 | Naranja |

Purificación de hongos filamentosos

Se esterilizó la cámara de aislamiento y los materiales con alcohol 70%, y luz UV por 15 minutos.

Para la purificación de hongos filamentosos se utilizaron dos técnicas: en la primera se esterilizó el asa de platino y se dejó enfriar dentro de la zona aséptica, luego se tomó una pequeña cantidad del micelio y se sembró presionando ligeramente el asa sobre un nuevo medio PDA, y en la segunda se cortó un segmento de 5x5 mm del medio PDA con micelio y se sembró colocando la parte del micelio en contacto con el nuevo medio PDA.

Se flameó la caja Petri, selló con Parafilm, y se incubó a 28°C durante 7 días.

Este procedimiento se repitió varias veces hasta obtener un cultivo puro.

Caracterización morfológica

Macroscópica y microscópica de los aislamientos

La caracterización morfológica de los hongos se realizó de dos maneras. A nivel macroscópico se analizó el color del anverso y reverso de la colonia, la textura, el aspecto, la altura del micelio, el tipo de crecimiento, la presencia o ausencia de exudado y el color de la esporulación. Mientras que, a nivel microscópico, se observa la estructura interna de las hifas,

si son septadas, no septadas o pseudohifas, el tipo de espora, si es ascospora, basidiospora o conidia, el color, tipo y forma de conidias y conidióforos.

Caracterización molecular

Para la identificación molecular se procedió con la extracción y cuantificación de ADN, además de la amplificación de la región ITS por PCR convencional.

Extracción de ADN

Se procedió con el protocolo propuesto por Flores (2021) con modificaciones establecidas por Chiriboga Segovia (2023).

A partir del crecimiento de los hongos en medio PDA, se tomó aproximadamente entre 50-100 mg de micelio y se colocó en un microtubo de 2 mL. Se añadieron tres perlas de vidrio, 500 μ L de buffer de extracción (Tris HCl 100 Mm (Invitrogen), EDTA 20 mM (JT. Baker), CTAB 2,5% w/v, NaCl 1.4 M (EMSURE), pH 8) y 2 μ L de β -mercaptoetanol, posteriormente, se sometió a maceración con un pistilo, hasta lograr la homogenización de la muestra. Se agregó la disrupción mecánica vigorosa usando un vórtex (DLAB) durante 30 segundos para lograr una mejor maceración.

Se incubó en un termo bloque (LABNET) a 60°C por 30 minutos, invirtiendo los tubos generosamente en lapsos de 10 minutos. Se añadió 500 μ L de cloroformo frío y se homogenizó con vórtex, se dejó reposar por 2 minutos y se centrifugó a 14700g por 8 minutos, esto para la separación de fases.

El sobrenadante se transfirió a un nuevo microtubo de 1,5mL y se agregó un volumen igual de etanol absoluto frío, además de 150 μ L de acetato de sodio 3M y 300 μ L de etanol 70%, para lograr la precipitación del ADN. Se dejó reposar durante toda la noche a -20°C.

Al día siguiente, se centrifugó a 14700g por 17 minutos, obteniendo al fondo del tubo el pellet que contiene el ADN. Se descarta el sobrenadante y utilizando una micropipeta de 1000 μ L se realizan dos lavados con etanol 70% y un tercer lavado con etanol al 96%.

Se dejó secar las muestras con el flujo de aire de la cámara por un tiempo de 30 minutos, hasta que ya no se observaran gotas de etanol en el tubo.

Finalmente, se resuspendió el pellet con 100 μL de una solución de agua ultrapura con NaOH 8mM y 1 μL de RNasa. Se llevó a incubación por 30 minutos a 37°C y se almacenaron a -20°C.

Determinación de la cantidad y calidad de ADN

Se cuantificó el ADN fresco, en un equipo de espectrofotometría (THERMO ELECTRON).

En un microtubo de 0.2 mL se preparó una dilución 1:4 de ADN (20 μL de ADN con 60 μL de agua destilada ultrapura (Invitrogen)), se transfirió la dilución en su totalidad a una celda de microvolumen del espectrofotómetro y se midió la absorbancia a longitudes de onda: 260nm (A_{260}), 280 nm (A_{280}) y 230 nm (A_{230}). Con los datos generados, se calculó la concentración de ADN de la muestra (Ecuación 1), considerando que una unidad de $A_{260}=50 \mu\text{g}/\text{mL}$ para ADN de doble cadena, y que el factor de dilución $FD_{ADN} = 4$.

$$[ADN]_{(\mu\text{g}/\text{mL})} = A_{260} \times 50 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times FD_{ADN} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

- $[ADN]_{(\mu\text{g}/\text{mL})}$ = Concentración de la muestra de ADN en $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ o $\frac{\text{ng}}{\mu\text{L}}$
- A_{260} = Valor de absorbancia de la muestra de ADN a 260 nm
- FD_{ADN} = Factor de dilución de la muestra de ADN = 4

- V_{TD} = Volumen total de la dilución
- V_{ADN} = Volumen de la muestra de ADN

$$[ADN]_{(ug/mL)} = A_{260} \times 50 \text{ ug/mL} \times \frac{V_{TD}}{V_{ADN}}$$

Para estimar la pureza del ADN, se calculó las relaciones A_{260}/A_{280} y A_{260}/A_{230} . Cuando la relación de absorbancia A_{260}/A_{280} se encuentra entre 1.8-2.0 se considera un ADN de pureza óptima, cuando $A_{260}/A_{280} > 1.6$ se considera un ADN de pureza aceptable, mientras que si $A_{260}/A_{280} < 1.6$ se entiende como una posible contaminación con proteínas, compuestos aromáticos o fenoles. Además, si la relación $A_{260}/A_{280} > 2.1$ directamente es por la presencia de ARN (ADN, 2020).

Cuando la relación de absorbancia A_{260}/A_{230} se encuentra entre 2.0-2.2 se considera un ADN de pureza óptima, cuando $A_{260}/A_{230} > 1.8$ el ADN se encuentra en una pureza aceptable, mientras que $A_{260}/A_{230} < 1.8$ posiblemente el ADN está contaminado con sales, carbohidratos y fenoles, por último si $A_{260}/A_{230} < 1.5$ es seguro que el ADN está altamente contaminado (Cornejo Romero et al., 2014).

Integridad de ADN

Para determinar la integridad del ADN se utilizó el protocolo estandarizado de (Chiriboga Segovia, 2023). Para un gel de 0,7%, se pesó 0,42 g de agarosa ultrapura (Invitrogen) y se disolvió en 60 mL de TBE 1X (108 g Tris (Invitrogen), 55 g Ácido Bórico (AMP), 40 mL EDTA 0,5 M, pH 8 (JT. Baker)). Se llevó al microondas hasta su ebullición y se dejó enfriar hasta los 50°C, se añadió 4 μ L de colorante de ácidos nucleicos (PROMEGA Diamond™) y se dejó que gelificara el gel. En cada pocillo se depositó 5 μ L de ADN, 2 μ L de Blue Juice 0.03% y 3 μ L de agua destilada ultrapura. La electroforesis se realizó a 90 V por 60

min. Transcurrido el tiempo, se observó el gel de agarosa en el transiluminador (ALPHA INNOTECH) y se registraron los resultados.

Amplificación por PCR convencional

Se realizó la amplificación de la región ITS de 41 muestras de ADN, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se emplearon los *primers* ITS1 e ITS4 (White et al., 1990), que se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2

Primers empleados para amplificar la región ITS

| Primer | Secuencia | Tamaño amplificado (pb) |
|---------------|----------------------|--------------------------------|
| ITS1 | TCCGTAGGTGAACCTGCGG | 600 |
| ITS4 | TCCTCCGCTTATTGATATGC | 600 |

Nota. pb=pares de bases. Recuperado de: (White et al., 1990).

Para cada reacción de PCR se utilizó un volumen final de 25 μL como se detalla en la Tabla 3, utilizando la Taq ADN Polimerasa Platinum™ (Invitrogen).

Tabla 3

Master mix de reacción para un volumen de 25 μL

| Reactivo | Concentración inicial | Concentración final | Volumen por reacción (1X) |
|---|------------------------------|----------------------------|----------------------------------|
| PCR Buffer sin Mg^{2+} | 10X | 1X | 2,5 μL |
| dNTP's mixture | 10mM | 0,2 mM | 0,5 μL |
| MgCl_2 | 50 mM | 1,5 mM | 3 μL |
| Primer forward (ITS1) | 10 μM | 0,2 μM | 0,5 μL |
| Primer reverse (ITS4) | 10 μM | 0,2 μM | 0,5 μL |
| Platinum™ Taq | 5U/ μL | 1U | 0,1 μL |
| Agua ultrapura | - | - | 19,15 μL |
| Template DNA | - | < 250 μg | 1 μL |

Nota. dNTP's= desoxinucleótido trifosfato.

La PCR se realizó en un termociclador (TECHNE-TC-412), las condiciones se establecieron en función de la temperatura óptima de la Taq polimerasa y los *primers*, así como de ajustes a la temperatura para evitar bandas inespecíficas, el programa estandarizado se detalla en la Tabla 4.

Tabla 4*Condiciones de la PCR*

| Etapa | Temperatura | Tiempo | Ciclos |
|---------------------------|--------------------|---------------|---------------|
| Desnaturalización inicial | 95 °C | 3 min | 1 |
| Desnaturalización | 95 °C | 30 s | 34 |
| Hibridación | 55 °C | 30 s | 34 |
| Extensión | 72 °C | 60 s | 34 |
| Extensión final | 72 °C | 3 min | 1 |

Recuperado de: (White et al., 1990).

Electroforesis del producto amplificado

La amplificación de la región ITS se comprobó con una electroforesis horizontal en gel de agarosa al 2 % con TBE 1X y añadiendo 4 µL del tinte de ácidos nucleicos (PROMEGA Diamond™). En cada pocillo se depositó 5 µL del amplicón, 2 µL de Blue Juice y 3 µL de agua ultrapura. Para el marcador se utilizó 2 µL del marcador TrackIt™ 100 bp DNA Ladder (Invitrogen) de 100 pb, buffer de carga TrackIt™ Cyan/Orange Loading Buffer (Invitrogen) y 6 µL de agua ultrapura, para determinar el tamaño de los amplicones. La electroforesis se corrió a 90 V por 1 hora. El gel de agarosa se observó en el transiluminador (ALPHA INNOTECH) y se documentó los resultados.

Secuenciación

Se envió 10 µL del producto de PCR de cada muestra procesada al Laboratorio de Investigación de la Universidad de las Américas (UDLA), ahí realizaron la purificación enzimática y secuenciación por el método Sanger de las dos hebras del fragmento de ADN.

Análisis bioinformático

Una vez recibidos los resultados se realizó su análisis (Figura 6), empleando programas de código abierto, como Pregap4 y Gap4. Para obtener una secuencia de identificación, se

Identificación de hongos filamentosos

Con las secuencias consenso obtenidas del análisis bioinformático, se procedió a la comparación con la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI-GenBank), usando la herramienta bioinformática Targeted Loci Nucleotide BLAST, y asociar e identificar secuencias similares. Para la identificación del hongo filamentosos, se reportó la longitud en pares de bases, el nombre de la especie, el porcentaje de identidad y el número de accesión, para respaldar el análisis.

Análisis de diversidad

Para el presente estudio se realizó un análisis sobre la diversidad del sector de Floricultura, estableciendo parámetros de riqueza y abundancia, para lo cual se determinó el estimador no paramétrico Chao 1 (S_{Chao1}), la abundancia relativa (P_i), el índice de diversidad de Shannon (H') y el de Simpson (D), el índice de dominancia de Simpson (además del índice de Margalef (D_{Mg}) y el índice de Pielou (J').

Para estimar estos parámetros se tomó ciertas consideraciones, la primera es que el valor de una especie en la medida de diversidad, se determina únicamente por su abundancia relativa en el área de interés, la segunda es que todos los individuos son iguales en principio, pero a lo largo de la práctica el estudio tiende a ser selectivo, y tercero se asume que la abundancia presente de las especies en la región, se ha registrado utilizando unidades apropiadas y comparables, como el número de individuos (Magurran, 2004).

Además, se recalca que el concepto de individuo es establecido por el investigador, en este caso se tomó como individuo a cada hongo puro obtenido, al igual que lo contemplan en el estudio de setas (Unterseher et al., 2008).

Análisis filogenético

Para conocer más de los hongos identificados, se construyó un árbol filogenético, utilizando el programa MEGA X, para ello se realizó un alineamiento de las secuencias

consenso. La evolución entre especies se determinó mediante el método de Máxima verosimilitud, con un Bootstrap de 500 iteraciones, para una evaluación de calidad.

Cepario

La identificación de hongos, tiene un valor invaluable para futuros estudios, y con la finalidad de conservarlos a largo plazo, se tomó como guía el protocolo de Rugeles Barandica et al. (2021).

A partir de cada hongo purificado se sacó de 5 a 7 discos de agar, con la ayuda de un sacabocados estéril y se guardaron en un vial criogénico de 2 mL. En cada vial, se adicionó la solución de trabajo compuesta por glicerol 10% y peptona 0,1%, hasta cubrir los discos en su totalidad, luego se llevó a refrigeración durante 20 minutos y se almacenaron en criocajas a -80°C en un ultracongelador (SANYO).

Capítulo IV: Resultados

Identificación morfológica y molecular de las especies de hongos filamentosos recolectados en los suelos del sector de Floricultura

Plan de muestreo

De las 50 trampas microbianas que se colocaron en campo, se recuperó 47. Las 3 no recuperadas corresponden a las subparcelas 44, 46 y 97, cuya información se perdió por actividades agrícolas como arado y pastoreo, que habían realizado en el sector.

De las 47 trampas recuperadas, 2 fueron desechadas debido a la presencia de moscas y gusanos en su interior, pertenecientes a las subparcelas 88 y 45, respectivamente.

Además, durante la siembra de cultivos primarios, se eliminaron 2 placas de medio PDA que presentaron crecimiento bacteriano, debido a una alta humedad que habían presentado las trampas microbianas de las subparcelas 18 y 76.

Finalmente, al analizar las 43 trampas microbianas validas, se determinó una efectividad del 86% de subparcelas muestreadas.

Aislamiento de hongos filamentosos

De cada trampa microbiana válida se obtuvo un cultivo primario, con lo cual se obtuvo un total de 62 hongos filamentosos aislados. En la Tabla 5 se detallan el ID de subparcela muestreada, la ubicación de las trampas microbianas colocadas en campo con sus coordenadas geográficas, el número de hongos aislados y el código asignado a cada aislamiento.

Tabla 5

Descripción de los aislamientos realizados a partir de los cultivos primarios

| ID Subparcela | Coordenadas geográficas | Nº de hongos aislados | Código asignado |
|----------------------|--------------------------------|------------------------------|--|
| P01 | 0°23'05"S 78°25'04"W | 2 | P01-H1-C3 P01-H2-C4 |
| P03 | 0°23'07"S 78°25'03"W | 2 | P03-H1-C7 P03-H2-C6 |
| P06 | 0°23'13"S 78°25'02"W | 4 | P06-H1-C5 P06-H2-C6 P06-H3-C8 P06-H4-C2 |
| P10 | 0°23'09"S 78°25'03"W | 4 | P10-H1-C7 P10-H2-C6 P10-H3-C8 P10-H4-C1 |
| P13 | 0°23'06"S 78°25'03"W | 4 | P13-H1-C7 P13-H2-C7 P13-H3-C8 P13-H4-C1 |
| P16 | 0°23'05"S 78°25'02"W | 2 | P16-H2-C1 P16-H3-C1 |
| P18 | 0°23'07"S 78°25'02"W | - | Contaminación por bacterias |
| P19 | 0°23'07"S 78°25'02"W | 2 | P19-H1-C1 P19-H2-C7 |
| P23 | 0°23'11"S 78°25'02"W | 2 | P23-H1-C7 P23-H2-C8 |
| P24 | 0°23'12"S 78°25'02"W | 1 | P24-H1-C6 |
| P25 | 0°23'13"S 78°25'02"W | 2 | P25-H1-C9 P25-H2-C6 |
| P27 | 0°23'15"S 78°25'02"W | 1 | P27-H1-C8 |
| P28 | 0°23'16"S 78°25'01"W | 2 | P28-H1-C5 P28-H2-C8 |
| P33 | 0°23'12"S 78°25'01"W | 0 | - |
| P34 | 0°23'11"S 78°25'00"W | 2 | P34-H1-C8 P34-H2-C7 |
| P38 | 0°23'07"S 78°25'01"W | 1 | P38-H1-C8 |
| P40 | 0°23'08"S 78°25'00"W | 0 | - |
| P41 | 0°23'09"S 78°25'00"W | 2 | P41-H1-C4 P41-H2-C5 |
| P42 | 0°23'09"S 78°25'00"W | 0 | - |
| P44 | 0°23'11"S 78°25'00"W | - | Perdida en campo |
| P45 | 0°23'13"S 78°25'00"W | - | Contaminación con gusanos |
| P46 | 0°23'14"S 78°25'00"W | - | Perdida en campo |

| ID Subparcela | Coordenadas geográficas | Nº de hongos aislados | Código asignado |
|---------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------------------|
| P47 | 0°23'14"S 78°24'59"W | 0 | - |
| P50 | 0°23'17"S 78°25'00"W | 1 | P50-H1-C1 |
| P51 | 0°23'19"S 78°24'59"W | 0 | - |
| P54 | 0°23'16"S 78°24'59"W | 1 | P54-H1-C7 |
| P57 | 0°23'13"S 78°24'59"W | 1 | P57-H1-C4 |
| P58 | 0°23'13"S 78°24'59"W | 2 | P58-H1-C7 P58-H2-C9 |
| P59 | 0°23'12"S 78°24'59"W | 1 | P59-H1-C6 |
| P61 | 0°23'10"S 78°24'59"W | 1 | P61-H1-C3 |
| P65 | 0°23'13"S 78°24'58"W | 1 | P65-H1-C1 |
| P66 | 0°23'14"S 78°24'58"W | 1 | P66-H1-C9 |
| P67 | 0°23'15"S 78°24'58"W | 1 | P67-H1-C8 |
| P69 | 0°23'17"S 78°24'58"W | 3 | P69-H1-C1 P69-H2-C8 P69-H3-C8 |
| P71 | 0°23'19"S 78°24'58"W | 1 | P71-H1-C2 |
| P76 | 0°23'21"S 78°24'57"W | - | Contaminación con bacterias |
| P78 | 0°23'19"S 78°24'57"W | 3 | P78-H1-C8 P78-H2-C7 P78-H3-C1 |
| P79 | 0°23'18"S 78°24'57"W | 0 | - |
| P80 | 0°23'17"S 78°24'57"W | 1 | P80-H1-C9 |
| P82 | 0°23'15"S 78°24'57"W | 2 | P82-H1-C8 P82-H2-C6 |
| P83 | 0°23'14"S 78°24'57"W | 1 | P83-H1-C6 |
| P84 | 0°23'17"S 78°24'56"W | 3 | P84-H1-C4 P84-H2-C3 P84-H3-C3 |
| P86 | 0°23'19"S 78°24'56"W | 1 | P86-H1-C6 |
| P87 | 0°23'20"S 78°24'56"W | 0 | - |
| P88 | 0°23'21"S 78°24'56"W | - | Contaminación con moscas |
| P90 | 0°23'23"S 78°24'56"W | 0 | - |
| P91 | 0°23'24"S 78°24'56"W | 1 | P91-H1-C8 |
| P92 | 0°23'24"S 78°24'56"W | 1 | P92-H1-C4 |
| P93 | 0°23'25"S 78°24'55"W | 2 | P93-H1-C5 P93-H2-C9 |
| P97 | 0°23'21"S 78°24'56"W | - | Perdida en campo |

* El código asignado consiste de P: ID subparcela, H: hongo aislado, C: código de color asignado a cada grano de arroz (Ver Tabla 1).

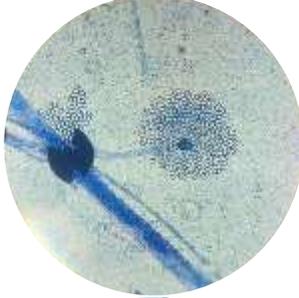
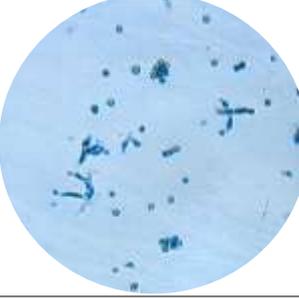
** Fotografías de los cultivos primarios (Ver Anexo A).

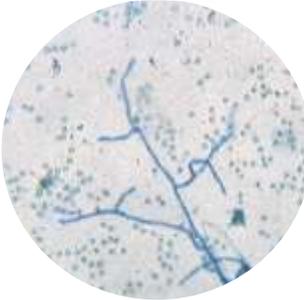
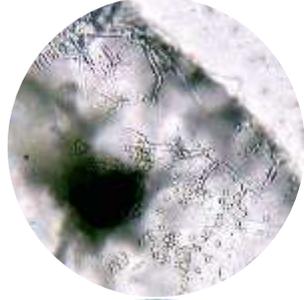
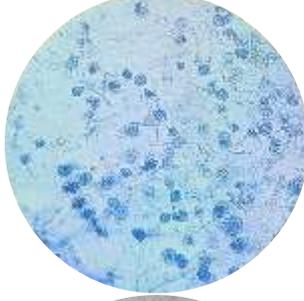
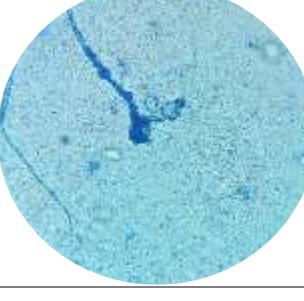
Caracterización morfológica

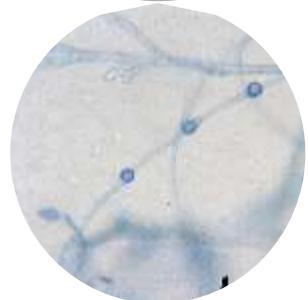
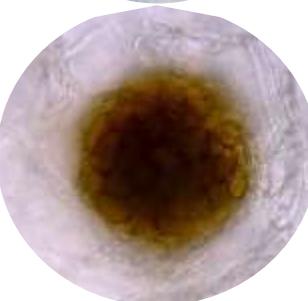
Los aislamientos se clasificaron en función de la morfología similar presente en el anverso y reverso de la colonia, y de las características microscópicas, determinando así un ejemplar purificado y representativo. En la Tabla 6, se presentan 36 hongos puros cultivados en medio PDA, resaltando sus características morfológicas, y en la columna de cepas de hongos se describe la agrupación de los 62 hongos aislados.

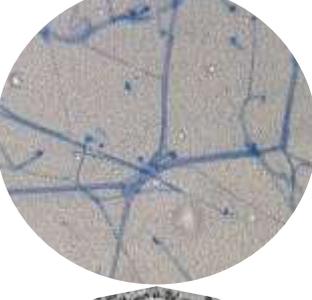
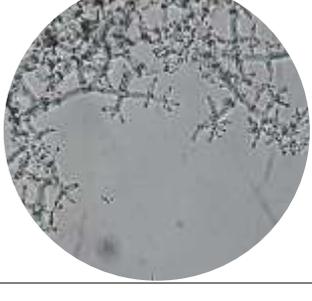
Tabla 6

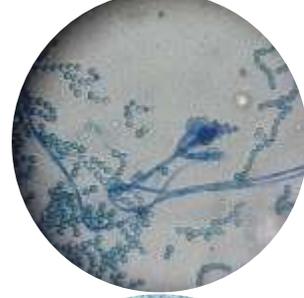
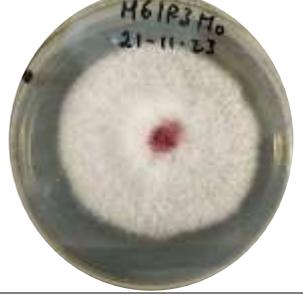
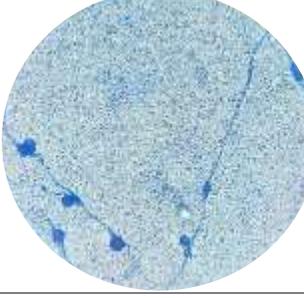
Hongos purificados y representativos de los aislamientos

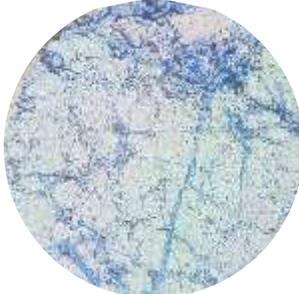
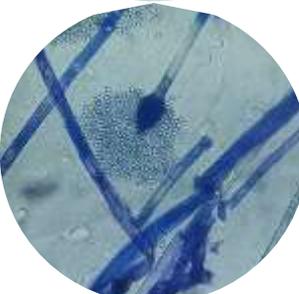
| Orden | Crecimiento en PDA | | Caracterización microscópica | Cepas de hongos |
|-------|---|---|--|--------------------------------------|
| | Anverso | Reverso | | |
| 1 |  |  |  | P06-H1-C5* P01-H2-C4 |
| 2 |  |  |  | P06-H3-C8* P91-H1-C8 P06-H4-C2 |
| 3 |  |  |  | P10-H1-C7* P10-H2-C6 |

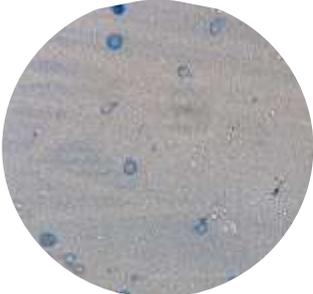
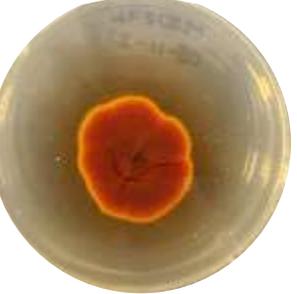
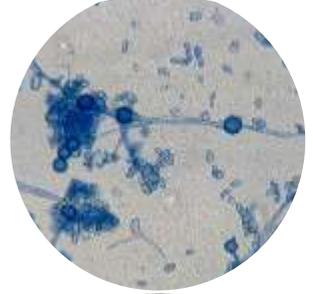
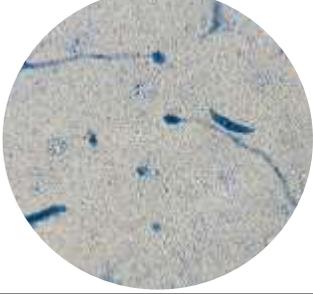
| Orden | Crecimiento en PDA | | Caracterización microscópica | Cepas de hongos |
|-------|---|---|--|-------------------------|
| | Anverso | Reverso | | |
| 4 |  |  |  | P10-H3-C8* |
| 5 |  |  |  | P10-H4-C1* P57-H1-C4 |
| 6 |  |  |  | P13-H1-C7* |
| 7 |  |  |  | P13-H2-C7* |
| 8 |  |  |  | P13-H3-C8* |

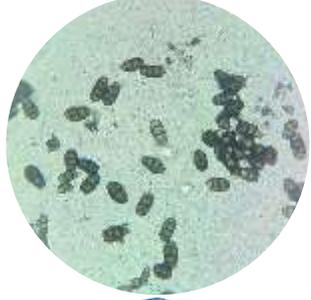
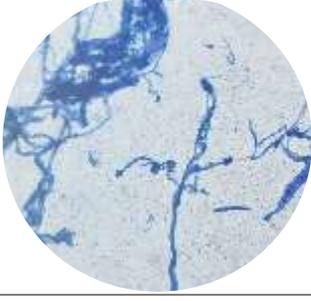
| Orden | Crecimiento en PDA | | Caracterización microscópica | Cepas de hongos |
|-------|---|---|--|---|
| | Anverso | Reverso | | |
| 9 |  |  |  | P16-H2-C1* |
| 10 |  |  |  | P16-H3-C1* |
| 11 |  |  |  | P19-H1-C1* P01-H1-C3 P13-H4-C1 P25-H1-C9 |
| 12 |  |  |  | P19-H2-C7* |
| 13 |  |  |  | P23-H1-C7* |

| Orden | Crecimiento en PDA | | Caracterización microscópica | Cepas de hongos |
|-------|---|---|--|---|
| | Anverso | Reverso | | |
| 14 |  |  |  | P23-H2-C8* |
| 15 |  |  |  | P27-H1-C8* |
| 16 |  |  |  | P28-H1-C5* |
| 17 |  |  |  | P28-H2-C8* P03-H2-C6 P03-H1-C7 P78-H2-C7 |
| 18 |  |  |  | P34-H1-C8* |

| Orden | Crecimiento en PDA | | Caracterización microscópica | Cepas de hongos |
|-------|---|---|--|--------------------------------------|
| | Anverso | Reverso | | |
| 19 |  |  |  | P34-H2-C7* |
| 20 |  |  |  | P38-H1-C8* P93-H1-C5 |
| 21 |  |  |  | P58-H1-C7* P58-H2-C9 P54-H1-C7 |
| 22 |  |  |  | P59-H1-C6* P25-H2-C6 P06-H2-C6 |
| 23 |  |  |  | P61-H1-C3* P71-H1-C2 |

| Orden | Crecimiento en PDA | | Caracterización microscópica | Cepas de hongos |
|-------|---|---|--|---|
| | Anverso | Reverso | | |
| 24 |  |  |  | P66-H1-C9* P24-H1-C6 P41-H1-C4 P41-H2-C5 |
| 25 |  |  |  | P67-H1-C8* P65-H1-C1 |
| 26 |  |  |  | P69-H1-C1* |
| 27 |  |  |  | P69-H2-C8* P50-H1-C1 P82-H1-C8 |
| 28 |  |  |  | P69-H3-C8* P86-H1-C6 P84-H3-C3 |

| Orden | Crecimiento en PDA | | Caracterización microscópica | Cepas de hongos |
|-------|---|---|--|-------------------------|
| | Anverso | Reverso | | |
| 29 |  |  |  | P78-H1-C8* |
| 30 |  |  |  | P78-H3-C1* |
| 31 |  |  |  | P80-H1-C9* |
| 32 |  |  |  | P83-H1-C6* |
| 33 |  |  |  | P84-H1-C4* P82-H2-C6 |

| Orden | Crecimiento en PDA | | Caracterización microscópica | Cepas de hongos |
|-------|--|--|---|--------------------|
| | Anverso | Reverso | | |
| 34 |  |  |  | P84-H2-C3* |
| 35 |  |  |  | P92-H1-C4* |
| 36 |  |  |  | P93-H2-C9* |

Nota. Los códigos que contienen un asterisco (*) son las cepas puras de los hongos representativos.

** Fotografías de los hongos identificados y su caracterización (Ver Anexo A).

Caracterización molecular

Los 36 hongos puros representativos se eligieron para identificación molecular, mostrando así en la Tabla 7, las concentraciones de ADN y relaciones de pureza (A260/280; A260/230) obtenidos en la extracción de ADN.

Tabla 7*Resultados de concentración y pureza de ADN*

| Muestra | Concentración µg/ mL | Pureza (A260/A280) | | Pureza (A260/A230) |
|----------------|---------------------------------|-------------------------------|----|-------------------------------|
| P06-H1-C5 | 70.4 | 1.98 | ++ | 0.89 |
| P06-H3-C8 | 83.4 | 1.63 | + | 0.86 |
| P10-H1-C7 | 208.8 | 1.66 | + | 0.93 |
| P10-H3-C8 | 182.6 | 1.58 | | 0.88 |
| P10-H4-C1 | 193.2 | 1.96 | ++ | 1.04 |
| P13-H1-C7 | 128.4 | 1.85 | ++ | 1 |
| P13-H2-C7 | 226.6 | 2.10 | ++ | 1.21 |
| P13-H3-C8 | 261.2 | 1.96 | ++ | 0.95 |
| P16-H2-C1 | 81 | 1.97 | ++ | 0.87 |
| P16-H3-C1 | 173.8 | 1.70 | + | 0.83 |
| P19-H1-C1 | 260 | 2.03 | ++ | 1.05 |
| P19-H2-C7 | 85 | 1.57 | | 0.77 |
| P23-H1-C7 | 370.6 | 1.74 | + | 1.10 |
| P23-H2-C8 | 78.4 | 1.82 | ++ | 0.84 |
| P27-H1-C8 | 336.0 | 1.4 | | 0.90 |
| P28-H1-C5 | 201.2 | 2.05 | ++ | 1.24 |
| P28-H2-C8 | 87.2 | 1.68 | + | 0.75 |
| P34-H1-C8 | 130.4 | 1.80 | ++ | 0.89 |
| P34-H2-C7 | 147.6 | 2.04 | ++ | 0.84 |
| P38-H1-C8 | 209.2 | 1.87 | ++ | 0.95 |
| P58-H1-C7 | 79.2 | 1.86 | ++ | 0.64 |
| P59-H1-C6 | 156.8 | 1.85 | ++ | 0.90 |
| P61-H1-C3 | 89.6 | 2.01 | ++ | 0.78 |
| P66-H1-C9 | 334.6 | 1.44 | | 1.06 |
| P67-H1-C8 | 321.6 | 2.00 | ++ | 1.21 |
| P69-H1-C1 | 206.4 | 1.82 | ++ | 0.88 |
| P69-H2-C8 | 234.2 | 1.98 | ++ | 0.91 |
| P69-H3-C8 | 133.6 | 1.85 | ++ | 0.98 |
| P78-H1-C8 | 102.2 | 1.77 | + | 0.74 |
| P78-H3-C1 | 236.8 | 2.17 | | 1.26 |
| P80-H1-C9 | 234.8 | 2.05 | ++ | 1.20 |
| P83-H1-C6 | 95.6 | 1.72 | + | 0.94 |
| P84-H1-C4 | 203.4 | 1.95 | ++ | 0.89 |
| P84-H2-C3 | 177.2 | 1.92 | ++ | 0.59 |
| P92-H1-C4 | 260.2 | 2.03 | ++ | 1.21 |
| P93-H2-C9 | 223.2 | 1.84 | ++ | 0.85 |

Nota. µg/mL: microgramo/mililitro.

* Los símbolos ++ representa ADN de pureza óptima y + ADN de pureza aceptable.

** Fichas técnicas de los hongos identificados morfológica y molecular (Ver Anexo B).

El protocolo utilizado permitió obtener ADN genómico con una concentración promedio de $183.5 \pm 82.8 \mu\text{g/ mL}$.

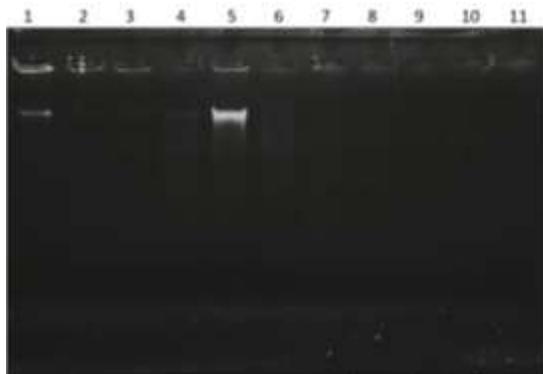
De acuerdo con la evaluación de pureza A260/A280 para las muestras de ADN, el 66.7% presentó pureza óptima, 19.4% pureza aceptable, 11.1% ADN contaminado con compuestos aromáticos (principalmente proteínas) y 2.8% contaminado con ARN.

De acuerdo con la evaluación de pureza A260/A230, el 100% de las muestras presentan una alta contaminación con compuestos orgánicos como sales caotrópicas, fenoles o carbohidratos.

La integridad de las 36 muestras de ADN se evidenció, en gel de agarosa 0,7%. Como se puede observar en la Figura 8, 9, 10 y 11, respectivamente.

Figura 8

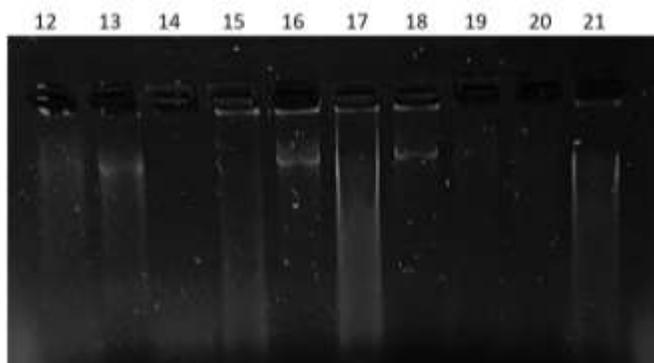
Integridad de la extracción de ADN



Nota. Electroforesis de la integridad de ADN en gel de agarosa 0,7%. De izquierda a derecha: (1) *Irpex laceratus*, (2) *Pseudopithomyces palmicola*, (3) *Trichoderma spirale*, (4) *Flavocillium bifurcatum*, (5) *Clonostachys solani*, (6) *Fusarium asiaticum*, (7) *Absidia glauca*, (8) *Fusarium culmorum*, (9) *Fusarium solani*, (10) *Clarireedia bennettii*, (11) *Trichoderma atroviride*.

Figura 9

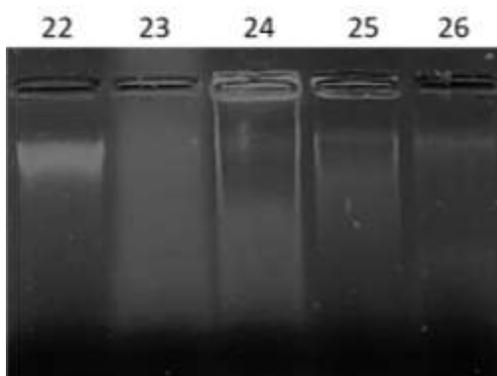
Integridad de la extracción de ADN



Nota. Electroforesis de la integridad de ADN en gel de agarosa 0,7%. De izquierda a derecha: (12) *Mucor moelleri*, (13) *Clonostachys solani*, (14) *Niesslia mucida*, (15) *Absidia glauca*, (16) *Trichoderma atroviride*, (17) *Trichoderma gamsii*, (18) *Trichoderma atroviride*, (19) *Fusarium graminearum*, (20) *Trichoderma hamatum*, (21) *Trichoderma gamsii*.

Figura 10

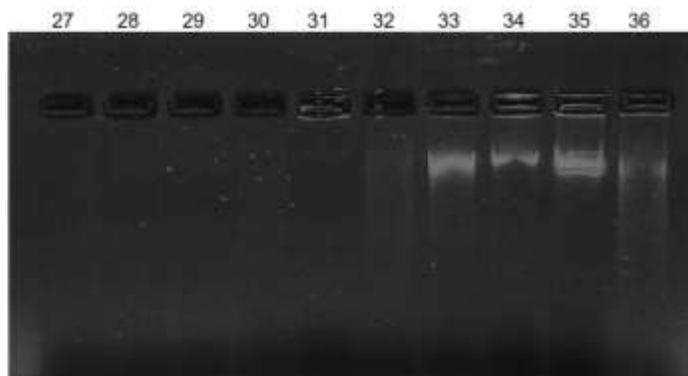
Integridad de la extracción de ADN



Nota. Electroforesis de la integridad de ADN en gel de agarosa 0,7%. De izquierda a derecha: (22) *Minimedusa polyspora*, (23) *Fusarium equiseti*, (24) *Mucor hiemalis*, (25) *Mucor hiemalis*, (26) *Mucor irregularis*.

Figura 11

Integridad de la extracción de ADN



Nota. Electroforesis de la integridad de ADN en gel de agarosa 0,7%. De izquierda a derecha: (27) *Fusarium oxysporum*, (28) *Fusarium graminearum*, (29) *Xylariales* sp., (30) *Mucor griseocyanus*, (31) *Fusarium oxysporum*, (32) *Epicoccum nigrum*, (33) *Penicillium camemberti*, (34) *Trichoderma harzianum*, (35) *Trichoderma atroviride*, (36) *Clonostachys rosea* f. *catenulata*.

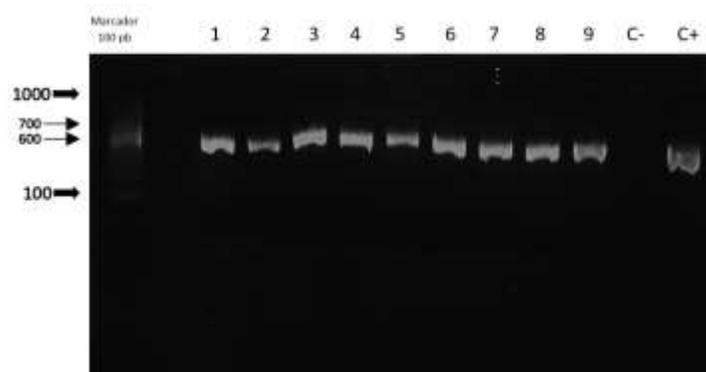
Se observó que el 22.3% de las muestras tienen una integridad alta, el 19.4% una integridad adecuada, el 19.4% un ADN parcialmente degradado y un 38.9% una ADN totalmente degradado.

La amplificación de la región conservada ITS de los 36 aislados puros del sector de Floricultura, se lograron con éxito utilizando los *primers* ITS1 e ITS4, para la reacción en cadena de la polimerasa convencional.

Se obtuvieron amplicones de entre 500 a 650 pares de bases, como se puede observar en la Figura 12, 13, 14, 15 y 16 respectivamente.

Figura 12

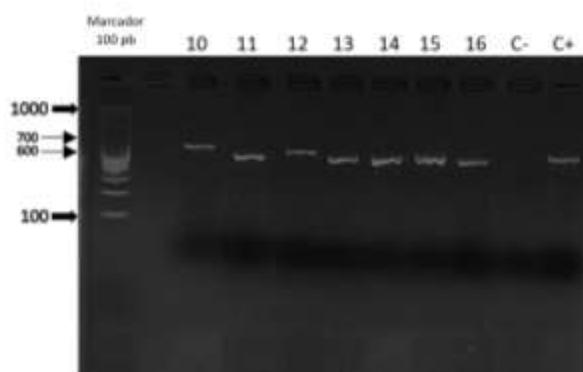
Productos de la amplificación ITS por PCR



Nota. Electroforesis de la amplificación por PCR de hongos filamentosos en gel de agarosa 2% utilizando *primers* (ITS1/ITS4). De izquierda a derecha: Marcador molecular, (1) *Epicoccum nigrum*, (2) *Fusarium oxysporum*, (3) *Irpex laceratus*, (4) *Pseudopithomyces palmicola*, (5) *Trichoderma spirale*, (6) *Flavocillium bifurcatum*, (7) *Clonostachys solani*, (8) *Fusarium asiaticum*, (9) *Absidia glauca*, C-) control negativo, (C+) control positivo.

Figura 13

Productos de la amplificación ITS por PCR

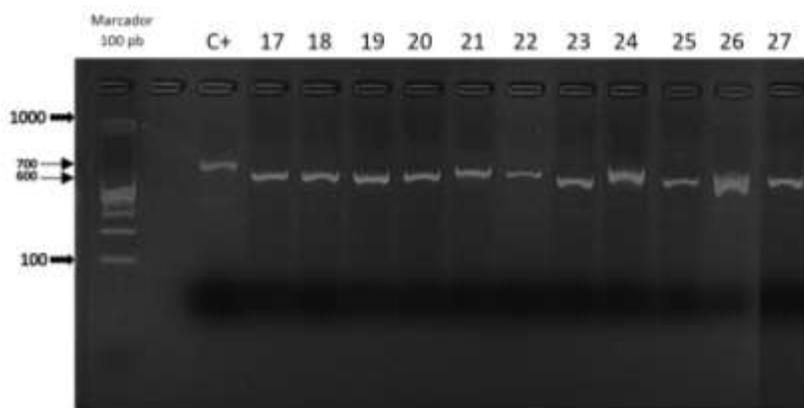


Nota. Electroforesis de la amplificación por PCR de hongos filamentosos en gel de agarosa 2% utilizando *primers* (ITS1/ITS4). De izquierda a derecha: Marcador molecular, (10) *Trichoderma harzianum*, (11) *Fusarium solani*, (12) *Mucor griseocyanus*, (13) *Clonostachys rosea f. catenulata*,

(14) *Claviceps bennettii*, (15) *Trichoderma atroviride*, (16) *Fusarium oxysporum*, (C-) control negativo, (C+) control positivo.

Figura 14

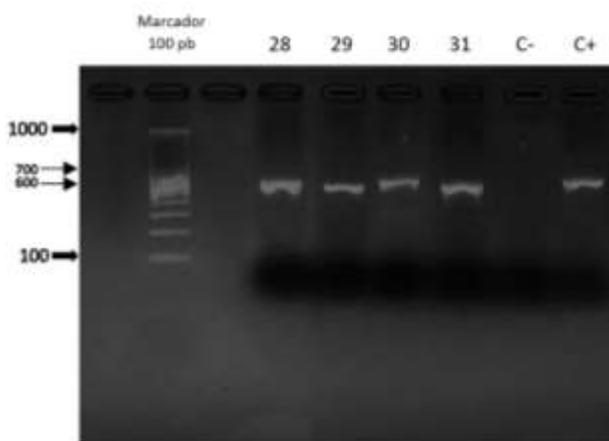
Productos de la amplificación ITS por PCR



Nota. Electroforesis de la amplificación por PCR de hongos filamentosos en gel de agarosa 2% utilizando *primers* (ITS1/ITS4). De izquierda a derecha: Marcador molecular, (C+) control positivo, (17) *Trichoderma gamsii*, (18) *Trichoderma atroviride*, (19) *Trichoderma gamsii*, (20) *Trichoderma atroviride*, (21) *Absidia glauca*, (22) *Niesslia mucida*, (23) *Fusarium graminearum*, (24) *Minimedusa polyspora*, (25) *Fusarium culmorum*, (26) *Mucor hiemalis*, (27) *Fusarium graminearum*.

Figura 15

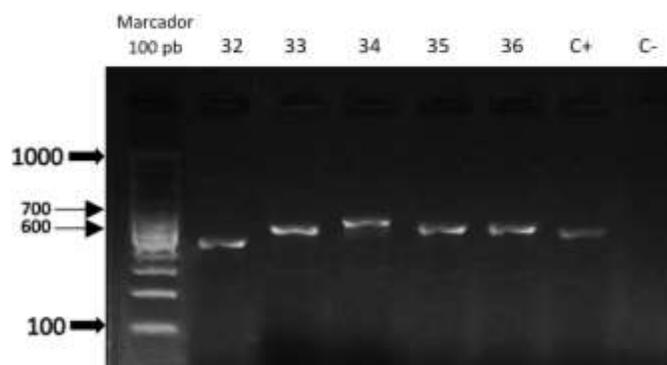
Productos de la amplificación ITS por PCR



Nota. Electroforesis de la amplificación por PCR de hongos filamentosos en gel de agarosa 2% utilizando *primers* (ITS1/ITS4). De izquierda a derecha: Marcador molecular, (28) *Trichoderma atroviride*, (29) *Fusarium equiseti*, (30) *Mucor moelleri*, (31) *Penicillium camemberti*, (C-) control negativo, (C+) control positivo.

Figura 16

Productos de la amplificación ITS por PCR



Nota. Electroforesis de la amplificación por PCR de hongos filamentosos en gel de agarosa 2% utilizando *primers* (ITS1/ITS4). De izquierda a derecha: Marcador molecular, (32) *Xylariales sp.*, (33) *Clonostachys solani*, (34) *Mucor hiemalis*, (35) *Trichoderma hamatum*, (36) *Mucor irregularis*, (C+) control positivo, (C-) control negativo.

Se observó que el 25% de las muestras tienen una sola banda de producto de la PCR, mientras que el 75% presenta una banda del producto de PCR y una banda inespecífica.

Identificación de hongos filamentosos por secuenciación

Se recibieron 72 secuencias, es decir, 36 secuencias del *primer* ITS1 y 36 secuencias del *primer* ITS4, con las cuales se logró generar secuencias consenso de alta calidad que permitieron la identificación de género y especie para el 97.3% de las muestras enviadas.

En la Tabla 8 se evidencia una la diversidad de especies presentes en el sector de Floricultura, donde predomina el género *Trichoderma*, un hongo benéfico en el área agrícola.

Tabla 8

Hongos identificados molecularmente

| Muestra | Longitud | Organismo | % Identidad | Nº Accesoión |
|-----------|----------|---|-------------|-----------------------------|
| P06-H1-C5 | 568 | <i>Clonostachys rosea f. catenulata</i> | 99.07% | NR_165993.1 |
| P06-H3-C8 | 637 | <i>Mucor griseocyanus</i> | 99.50% | MH857592.1 |
| P10-H1-C7 | 611 | <i>Trichoderma atroviride</i> | 100.00% | AF456917.1 |
| P10-H3-C8 | 608 | <i>Trichoderma atroviride</i> | 100.00% | MH153612.1 |
| P10-H4-C1 | 611 | <i>Trichoderma atroviride</i> | 100.00% | AF456917.1 |
| P13-H1-C7 | 592 | <i>Niesslia mucida</i> | 100.00% | MG826939.1 |
| P13-H2-C7 | 627 | <i>Irpex laceratus</i> | 98.48% | KU535645.1 |
| P13-H3-C8 | 548 | <i>Fusarium equiseti</i> | 100.00% | MK780235.1 |
| P16-H2-C1 | 523 | <i>Fusarium graminearum</i> | 100.00% | MF497389.2 |
| P16-H3-C1 | 523 | <i>Fusarium graminearum</i> | 100.00% | MF497389.1 |
| P19-H1-C1 | 608 | <i>Mucor hiemalis</i> | 99.35% | LC413619.1 |
| P19-H2-C7 | 538 | <i>Fusarium solani</i> | 100.00% | MK483219.1 |
| P23-H1-C7 | 719 | <i>Minimedusa polyspora</i> | 98.31% | NR_145335.1 |
| P23-H2-C8 | 573 | <i>Clariireedia bennettii</i> | 97.07% | NR_157488.1 |
| P27-H1-C8 | 601 | <i>Mucor irregularis</i> | 96.38% | ON209714.1 |
| P28-H1-C5 | 587 | <i>Flavocillium bifurcatum</i> | 98.92% | OK090968.1 |
| P28-H2-C8 | 528 | <i>Xylariales sp.</i> | 98.11% | OP443871.1 |
| P34-H1-C8 | 595 | <i>Trichoderma harzianum</i> | 99.83% | MT584872.1 |
| P34-H2-C7 | 613 | <i>Trichoderma spirale</i> | 98.62% | KP009301.1 |
| P38-H1-C8 | 583 | <i>Clonostachys solani</i> | 100.00% | MW199072.1 |
| P58-H1-C7 | 608 | <i>Trichoderma atroviride</i> | 99.65% | MH153612.1 |
| P59-H1-C6 | 591 | <i>Penicillium camemberti</i> | 99.82% | MT530220.1 |
| P61-H1-C3 | 547 | <i>Fusarium oxysporum</i> | 100.00% | MN856310.1 |

| Muestra | Longitud | Organismo | % Identidad | Nº Accesoión |
|-----------|----------|-----------------------------------|-------------|----------------------------|
| P66-H1-C9 | 601 | <i>Trichoderma gamsii</i> | 99.82% | MK361138.1 |
| P67-H1-C8 | 619 | <i>Trichoderma gamsii</i> | 99.82% | KX343117.1 |
| P69-H1-C1 | 563 | <i>Absidia glauca</i> | 100.00% | MG813192.1 |
| P69-H2-C8 | 590 | <i>Absidia glauca</i> | 98.81% | KU923829.1 |
| P69-H3-C8 | 644 | <i>Mucor hiemalis</i> | 99.51% | LC413619.1 |
| P78-H1-C8 | 572 | <i>Trichoderma hamatum</i> | 99.83% | MT348552.1 |
| P78-H3-C1 | 542 | <i>Clonostachys solani</i> | 100.00% | OM967396.1 |
| P80-H1-C9 | 516 | <i>Epicoccum nigrum</i> | 100.00% | KU574691.1 |
| P83-H1-C6 | 600 | <i>Mucor moelleri</i> | 98.34% | MK390491.1 |
| P84-H1-C4 | 539 | <i>Fusarium culmorum</i> | 100.00% | MH681154.1 |
| P84-H2-C3 | 545 | <i>Fusarium oxysporum</i> | 100.00% | MN535091.1 |
| P92-H1-C4 | 603 | <i>Pseudopithomyces palmicola</i> | 98.44% | MT214353.1 |
| P93-H2-C9 | 527 | <i>Fusarium asiaticum</i> | 100.00% | LC543655.1 |

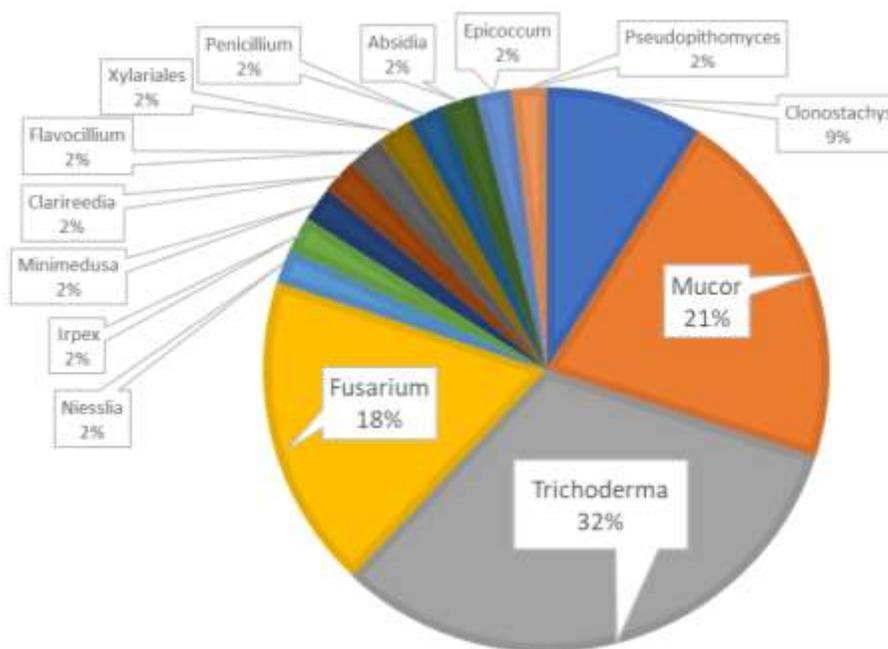
Dentro de los 36 hongos identificados molecularmente, se presentaron las especies *Niesslia mucida*, *Irpex laceratus*, *Minimedusa polyspora*, *Clarireedia bennettii*, *Flavocillium bifurcatum*, *Xylariales* sp., *Penicillium camemberti*, *Epicoccum nigrum*, *Pseudopithomyces palmicola*, una sólo vez, mientras que se observó la presencia de más de una especie de los géneros *Clonostachys*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Fusarium*, y *Absidia*.

Análisis de diversidad

En la Figura 17 se muestra la abundancia del género *Trichoderma* 32%, seguida de *Mucor* 21% con respecto al total, considerados antagonistas y saprófitos, respectivamente.

Figura 17

Abundancia de acuerdo al género



Nota. El género de *Trichoderma* presentó mayor número de individuos, mientras que los géneros *Niesslia*, *Irpex*, *Minimedusa*, *Clariireedia*, *Flavocillium*, *Xylariales*, *Penicillium*, *Absidia*, *Epicocum* y *Pseudopithomyces*, presentaron un solo individuo (2%)

En la Tabla 9 se muestran los individuos de cada especie identificada molecularmente, con su respectiva abundancia relativa y clasificados según el rol ecológico que tienen en el ecosistema

Tabla 9

Abundancia relativa de las especies identificadas

| Especie | # individuos | Abundancia relativa (P_i) | Categoría |
|---|--------------|-------------------------------|-------------|
| <i>Clonostachys rosea f. catenulata</i> | 2 | 0,032 | Antagonista |
| <i>Mucor griseocyanus</i> | 3 | 0,048 | Saprófito |
| <i>Trichoderma atroviride</i> | 8 | 0,129 | Antagonista |
| <i>Niesslia mucida</i> | 1 | 0,016 | Saprófito |
| <i>Irpex laceratus</i> | 1 | 0,016 | Saprófito |

| Especie | # individuos | Abundancia relativa (P_i) | Categoría |
|-----------------------------------|---------------------|---|----------------------------|
| <i>Fusarium equiseti</i> | 1 | 0,016 | Fitopatógeno |
| <i>Fusarium graminearum</i> | 2 | 0,032 | Fitopatógeno |
| <i>Fusarium solani</i> | 1 | 0,016 | Fitopatógeno |
| <i>Minimedusa polyspora</i> | 1 | 0,016 | Antagonista |
| <i>Clarireedia bennettii</i> | 1 | 0,016 | Fitopatógeno |
| <i>Mucor irregularis</i> | 1 | 0,016 | Saprófito |
| <i>Flavocillium bifurcatum</i> | 1 | 0,016 | Saprófito |
| <i>Xylariales sp.</i> | 4 | 0,065 | Saprófito |
| <i>Trichoderma harzianum</i> | 2 | 0,032 | Antagonista |
| <i>Trichoderma spirale</i> | 1 | 0,016 | Antagonista |
| <i>Clonostachys solani</i> | 3 | 0,048 | Antagonista |
| <i>Penicillium camemberti</i> | 3 | 0,048 | Antagonista y saprófito |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | 3 | 0,048 | Fitopatógeno |
| <i>Trichoderma gamsii</i> | 6 | 0,097 | Antagonista |
| <i>Absidia glauca</i> | 3 | 0,048 | Saprófito |
| <i>Mucor hiemalis</i> | 7 | 0,113 | Saprófito |
| <i>Trichoderma hamatum</i> | 1 | 0,016 | Antagonista y saprófito |
| <i>Epicoccum nigrum</i> | 1 | 0,016 | Antagonista y saprófito |
| <i>Mucor moelleri</i> | 1 | 0,016 | Saprófito |
| <i>Fusarium culmorum</i> | 2 | 0,032 | Fitopatógeno |
| <i>Pseudopithomyces palmicola</i> | 1 | 0,016 | Antagonista |
| <i>Fusarium asiaticum</i> | 1 | 0,016 | Fitopatógeno |

Además, de la abundancia obtenida, se presentan en la Tabla 10, diferentes parámetros con los que se evaluó la riqueza y diversidad del sector de Floricultura.

Tabla 10

Estimadores de riqueza y abundancia

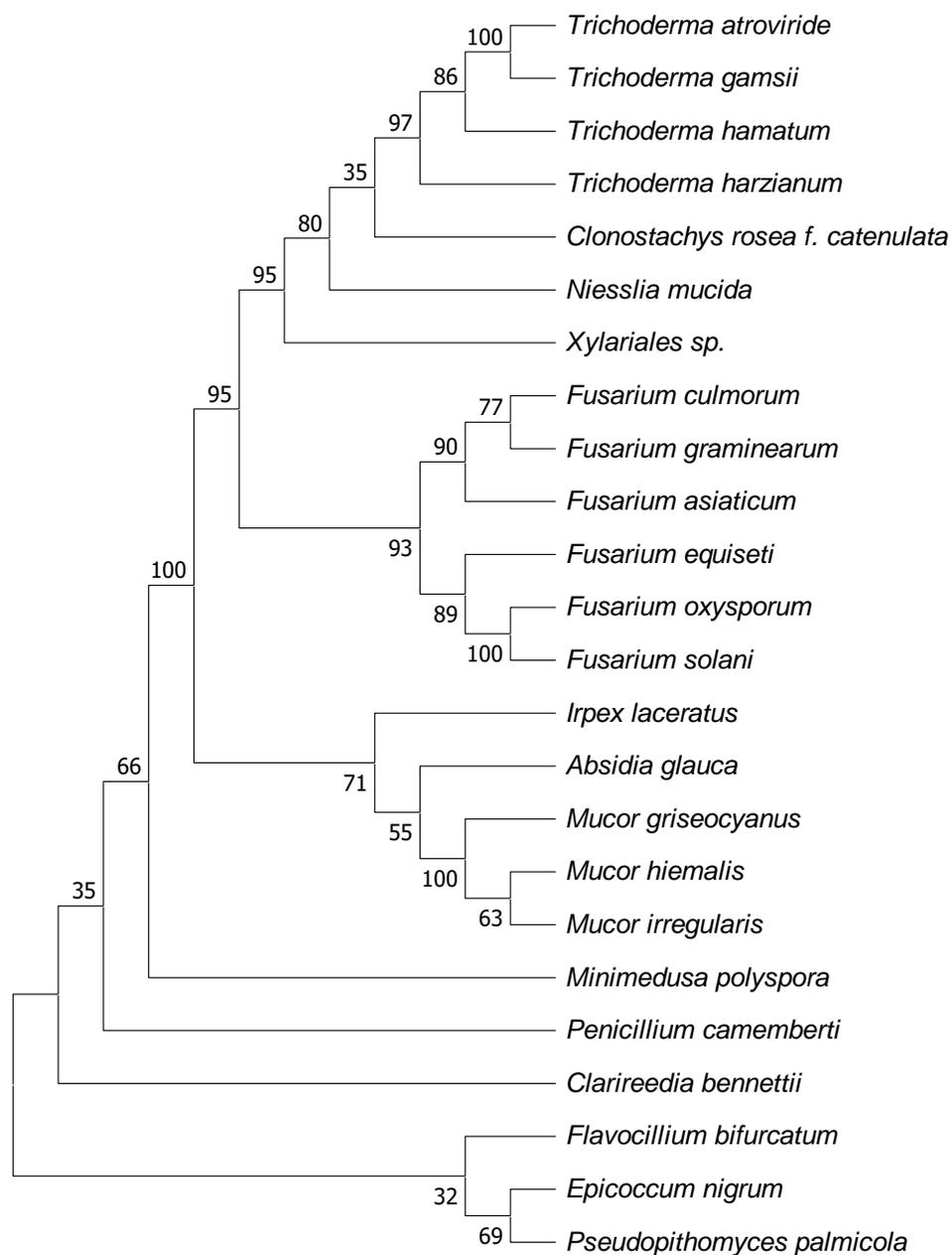
| Estimadores de diversidad | Resultado |
|--|------------------|
| Estimador no paramétrico Chao 1 | 52 |
| Índice de diversidad Shannon (H') | 3.021 |
| Índice de Margalef (D_{Mg}) | 6.399 |
| Índice de diversidad de Simpson (D') | 0.938 |
| Índice de dominancia de Simpson (D) | 0.062 |
| Índice de equidad de Pielou (J') | 0.916 |

Análisis filogenético

Los resultados obtenidos de secuenciación permitieron la construcción de un cladograma (Figura 18), para emparentar las especies encontradas en el sector de Floricultura.

Figura 18

Árbol filogenético de las especies identificadas molecularmente



Se observó una buena clasificación de las especies *Trichoderma*, *Fusarium* y *Mucor*, bajo las condiciones de análisis, porque se evidencia el agrupamiento de cada especie en su correspondiente género y orden. Mientras, que las especies que se presentaron una vez, se muestran en una rama individual.

Cepario

El cepario se estableció a partir de los hongos identificados molecularmente, sus características morfológicas se detallan en fichas técnicas (Anexo B) y su registro (Anexo C) como información complementaria.

Capítulo V: Discusión

En microbiología existen varios métodos para el aislamiento de hongos del suelo, dentro de los que se mencionan la dilución en placa, lavado de suelo, siembra directa del suelo, cultivo líquido y trampas microbianas con sustratos. Según los estudios de Ghosh et al. (2017) Ortiz Paucay (2016) Arias (2008) y , la técnica de dilución en placa permite obtener un mayor número de aislamientos, identificados como los hongos más comunes presentes en el suelo, esto estadísticamente permite obtener un estimativo de la población viable y cultivable. Mientras que el estudio de Medina-Saavedra et al. (2016) resalta la necesidad de comprender las circunstancias en la que los microorganismos prosperan, para permitirse realizar su aislamiento del suelo, con una alta eficiencia. La principal técnica utilizada bajo estos términos son las trampas microbianas a base de sustratos, tales como el arroz, fibras de coco y melazas. Se fundamenta en que el hongo puede utilizar como fuente de carbono la glucosa y compuestos de carbono orgánico complejos como el almidón y la celulosa.

La trampa de arroz y la dilución en placa, son las técnicas que presentan mejores resultados, sin embargo, el objetivo del estudio determina el método de aislamiento. Es así como la trampa de arroz se usa más para estudios de diversidad, porque permite aislar una mayor variedad de hongos basándose en sus características morfológicas y poder obtener organismos que rara vez aparecen, mientras que la dilución en placa permite estimar la población viable y cultivable, logrando la obtención de un cultivo 100% puro, de manera más rápida y sencilla, algo que con las trampas microbianas es difícil de lograr en corto tiempo. Por ese motivo, para este estudio se utilizaron trampas microbianas de arroz, además porque es una técnica fácil de usar, preparar y accesible para estudios de campo.

El suelo está compuesto por un equilibrio adecuado entre nutrientes, minerales, materia orgánica, agua, aire y luz, que permiten el crecimiento de varios organismos vivos como lombrices, insectos y microorganismos, estos últimos están sujetos a cambios de acuerdo a

factores bióticos y abióticos (Ghosh et al., 2017). Los hongos filamentosos crecen en un rango de temperatura óptima entre los 20 y 30°C, en condiciones de alta humedad para ciertas especies, buena aireación y luz solar, todo propicio para la formación del micelio y sus esporas (Tang et al., 2015), mientras que las bacterias crecen en ambientes de alta humedad pero baja ventilación como lo menciona (Qiu et al., 2022). Algunas trampas microbianas de arroz presentaron baja presencia de hongos y una alta humedad, aunque se realizó la siembra de los granos de arroz se observó el crecimiento de bacterias, y esto es porque las bacterias al ser organismos unicelulares tienen la capacidad de reproducirse más rápido en estas circunstancias, reflejando una ventaja competitiva sobre los hongos (Betancor et al., 2008).

La morfología de los hongos está influenciada principalmente por el ambiente en el que crecen, la edad de la colonia y la técnica de cultivo, factores que no permiten discernir entre dos aislamientos morfológicamente similares, siendo realmente especies distintas. Sin embargo, es necesaria una clasificación morfológica dependiendo del nivel del estudio y sus motivaciones. Alshaili & Bani-Hasan (2018) recalcan que una identificación morfológica siempre consta de las características macroscópicas como microscópicas, y que con la experiencia necesaria se lograría una clasificación a nivel de familia o hasta género, pero no hasta especie, la cual requiere de un análisis molecular. En este contexto, para el estudio se realizó la clasificación de los 62 aislamientos, en 36 hongos puros representativos, tomando como referencia la similitud macro y microscópica.

El factor determinante para el interés de identificar el hongo molecularmente, es la aplicación que se le puede dar en función a las propiedades que posee, tales como la obtención de enzimas y metabolitos secundarios a partir del exudado, producción masiva de bioproductos como controladores de fitopatógenos, así como obtención de descomponedores de residuos industriales, fermentadores de alimentos, y hasta su uso como biofábricas para la síntesis de productos químicos. Estos motivos han promovido el estudio de hongos filamentosos desde hace mucho tiempo, así lo describe el estudio de Raja et al. (2017), donde

menciona que durante los años 2000 y 2015, la *Journal of Natural Products* publicó 37 artículos sobre los productos naturales obtenidos a partir de hongos, revelando que 31% de esos estudios reportaron una identificación basada sólo en la morfología, 28% no identificaron el hongo, el 27% identificaron sólo molecularmente y el 14% reportó los aspectos morfológicos y moleculares de los hongos a los que se extrajo metabolitos secundarios. Se comprende que un mayor reporte de la identificación sólo se hizo morfológica, y en menor proporción morfológica y molecularmente, sin embargo, actualmente los porcentajes han cambiado porque el análisis molecular se convirtió en una herramienta común en la investigación de hongos, debido a su precisión y rapidez en la identificación de especies, es por este motivo que el estudio presenta tanto resultados morfológicos como moleculares para una mayor exactitud en la identificación de hongos filamentosos.

La identificación molecular inicia con el protocolo de extracción de ADN, en el estudio realizado se analizó la calidad del ADN con dos parámetros de pureza, el uno identificado como rango A260/280 del cual se obtuvieron resultados aceptables de pureza; mientras que en el otro rango A260/A230 no se obtuvieron resultados aceptables. Cornejo Romero et al. (2014) menciona que existen varios factores por los que los parámetros de pureza no son aceptables en extracciones convencionales, entre ellos está la cantidad de muestra que se emplea y los reactivos utilizados para el rompimiento de células, tales como fenol, cloroformo o alcohol isoamílico, estos componentes influyen en la obtención de ADN debido a que se puede lograr una mayor concentración de ADN extraído, con la misma cantidad de impurezas en la muestra. Estas impurezas no permiten la amplificación de regiones de interés del ADN, así lo confirma Ríos-Sánchez et al. (2016), donde compara diferentes métodos de extracción entre ellos la utilización de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico, no permitió análisis moleculares, pero fue uno de los métodos que presentó mejor concentración de ADN extraído. Un punto clave para la amplificación de ADN fue obtener mayor concentración, para realizar diluciones del ADN y así no inhibir la PCR, una técnica que igual lo aplican Herrera Sandoval & Lopera Mesa (2020). Por

otro lado, se refleja una mayor proporción de ADN degradado, esto evidenciado en el análisis de integridad, principalmente por la baja calidad presentada por el factor de pureza A260/A230, sin embargo, se pudo obtener la amplificación de las muestras de ADN, por la eficiencia y sensibilidad de la técnica de PCR, debido a que en teoría y ahora prácticamente se evidenció que es suficiente una sola copia intacta de ADN para la PCR (Cornejo Romero et al., 2014).

Los productos de PCR presentaron bandas entre los 500 a 650 pb aproximadamente, similares tamaños presenta el estudio de Garzón Grajales (2013) con la misma región de ITS analizada, donde resalta que las especies del género *Mucor* presentan un tamaño de entre 599 a 630 pb. Además, el estudio de Hernández et al. (2013) obtuvo fragmentos de aproximadamente 500 pb para diferentes especies de *Trichoderma*, mientras que Espinoza-Ahumada et al. (2019) tuvo el mismo tamaño para fragmentos de *Fusarium*, similares a los que se observaron en el gel de electroforesis.

Con la secuenciación se identificaron 27 especies de hongos filamentosos, dentro de los que se destacan los géneros de *Trichoderma*, *Mucor*, *Fusarium* y *Clonostachys*. La identificación tomó como referencia los resultados de secuenciación, además de la morfología macroscópica y microscópica, y así relacionar los hongos aislados con una especie. Sin embargo, los resultados de secuenciación relacionaban varias especies debido a su íntima relación, por ejemplo, la identificación de *Penicillium camemberti* estaba sujeta a ser también identificada como *Penicillium* sp., por lo que se recurrió a bibliografía para su identificación, en este caso a base de microscopía. Bockelmann (1996) hace una diferencia entre el tamaño de conidiósporas que crecen en un medio semisólido y un medio líquido, evidenciando esporas de mayor tamaño de entre 12-14 μm , rango en el que se obtuvo la medida de la conidióspora de *P. camemberti* al obtener la muestra a partir del medio líquido en el que crecía. Otro caso es la especie *Mucor griseocyanus* que emparentaba más cercanamente con *Mucor circinelloides*, sin embargo, con el estudio de Wagner (2020), se pudo identificarlo al comparar medidas de esporangios, columelas y esporangiosporas con los observados en microscopía. Además, el

género *Trichoderma* tiene sus especies muy emparentadas, que no se pueden diferenciar fácilmente por métodos morfológicos, por lo que se hacen análisis moleculares, sin embargo, a pesar de eso la región comúnmente utilizada ITS presenta limitaciones y no permite discernir con rapidez y precisión las especies de este género, por lo que se busca utilizar otras regiones para identificación, como el gen del factor de elongación de la traducción (TEF1- α) que emplea el estudio de Umaña-Castro et al. (2019), porque menciona que las especies de *Trichoderma* forma complejos entre ellas, por lo que aumenta la importancia de ser correctamente identificados. Otro marcador que se puede utilizar es la TUB (β -tubulina), así lo demuestra Wang et al. (2023) donde tomaron varias especies identificadas como *Clonostachys* spp. y con ese marcador lograron describir y diferenciar a dos especies. Además, Kapeua-Ndacnou et al. (2023) también identifican especies del género *Clonostachys* con ese marcador, y eso les permitió asignar su potencial aplicación, por ejemplo para el control de la roya del café.

Mediante la secuenciación se identificó una mayor prevalencia de individuos pertenecientes al género *Trichoderma* y a la vez que se identificó la presencia de más especies de *Fusarium*, así lo demuestra el estudio de Díaz Alulema (2016), donde analiza suelos con presencia de éste patógeno en los cultivos de flores y utiliza eficazmente *Trichoderma* para reducir su incidencia, en este contexto se puede determinar que aunque estén presentes ambos géneros, siempre habrá una mayor presencia de *Trichoderma* por ser un hongo beneficiosos que es capaz de competir con patógenos como *Fusarium*, así lo confirma el estudio de Ochoa Cabrera (2017).

Los índices de diversidad generan información sobre la estructura de un ecosistema, es así como el estimador no paramétrico Chao 1 reporta 52 especies esperadas observar en el sector, lo que refleja una relativa riqueza total del sector, sin embargo, en este estudio se reportaron 27 especies identificadas morfológica como molecularmente. Este parámetro lleva a determinar que se puede considerar otros métodos de muestreo para análisis de especies con menor prevalencia en el suelo. Por otro lado, los índices como el valor de 3.021 del índice de

Shannon es relativamente alto y sugiere que el sector de Floricultura, tiene una gran cantidad de especies diferentes, a la vez de que la distribución de individuos entre esas especies es uniforme, lo que se confirmó con el cálculo de Pielou 0.916. El estudio de Luna-Guevara (2012) comparte estos parámetros y sugiere, que valores altos de H' y Chao1 están correlacionados positivamente con la cantidad de materia orgánica en el suelo y por ende a la riqueza de microorganismos, porque el suelo tiene las condiciones adecuadas para mantenerse fértil y productivo. Además, se puede relacionar el uso de índices de diversidad y equidad, con el estudio de Samaniego-Gaxiola & Chew-Madinaveitia (2007), que de acuerdo a sus resultados presentaron una diversidad moderada ($H'=1,89$; $D'=0,22$), porque de acuerdo al índice de Pielou ($J'=0,62$) existen especies con abundancia dominante, como el género *Fusarium*, y su presencia se determinó por actividades agrícolas que se llevaron a cabo en los últimos 50 años, en esa área.

El análisis filogenético resultó en la agrupación de especies de acuerdo a su orden, destacando que los géneros *Trichoderma* y *Fusarium* se presentan cercanos al pertenecer al orden Hypocreales, también se destaca las especies del género *Mucor* que se emparentan con el género *Absidia*, porque los dos pertenecen al orden de Mucorales. Así lo confirma el estudio de Pernía et al. (2012) donde se recalca la incidencia de estos géneros por ser mayormente reportados, y esquematiza los hongos con sus ordenes. A diferencia de esos hongos que rara vez aparecen en los estudios, por una nueva clasificación o por el reciente descubrimiento de especies, ese es el caso de *Flavocillium bifurcatum* que se presenta en menor proporción en el análisis filogenético, así lo demuestra Wang (2020), donde al reconstruir un nuevo marco filogenético en este caso de la familia Cordycipitaceae, junto con los métodos empleados se introdujeron dos nuevos géneros y a la vez se identificó nuevas especies, entre ellas *F. bifurcatum*.

Por último, la importancia de conservar las especies de hongos filamentosos se basa en la potencial aplicación de los hongos como fuente de biorrestauración, así se realizan estudios

como el de Díaz Alulema (2016), quién evalúa como los agroquímicos afectan a los hongos *Trichoderma* y *Fusarium*, y hace recomendaciones para poder controlar los efectos negativos que producen *Fusarium*, sin inhibir el crecimiento de *Trichoderma* con el empleo de agroquímicos amigables con el hongo benéfico y evitar usar agroquímicos que degradan cada vez más el suelo.

El rol ecológico que tienen algunas especies de hongos, varía en dependencia de su mecanismo de defensa, así se puede contemplar que las especies del género *Clonostachys*, son hongos antagonistas de *Fusarium oxysporum* y *Botrytis cinerea*, por lo que es ampliamente usado como controlador biológico para en el tratamiento de plantas (Flores et al., 2015), principalmente para evitar la pudrición de raíces y tallos, que suelen presentar los cultivos hidropónicos (Chatterton et al., 2008). A la vez la especie *Clonostachys rosea* es un excelente micoparásito de nemátodos e insectos, por su capacidad de producir enzimas degradadoras de la pared celular, en aspectos más industriales es un interesante componente en la biodegradación de residuos plásticos (Sun et al., 2020).

Además, de que aquellos hongos cosmopolitas como *Trichoderma* que generalmente son antagonistas de varios patógenos como *Fusarium*, *Phytophthora* y *Rhizoctonia*, así lo demuestra el estudio (Andrade-Hoyos et al., 2019), donde se evidenció la inhibición del crecimiento de patógenos por *Trichoderma*. También, se encontraron varios hongos que en el suelo son saprófitos, es decir, tiene la función de degradar la materia orgánica, la madera y mantener un equilibrio de nutrientes en el suelo, este es el caso de *Irpex laceratus* (Tian et al., 2024), *Xylariales* sp. (Jiménez, 2017), *Clarireedia bennettii*, *Favlocillium bifurcatum*, *Epicoccum nigrum*, *Pseudopithomyces palmicola*, *Minimedusa polyspora* (Pinzari et al., 2014), y las especies identificadas del género *Mucor*.

Capítulo VI

Conclusiones

Del trabajo realizado en el ámbito de la caracterización, motivo del tema planteado en la presente tesis, se concluye que el objetivo trasado se ha cumplido con los siguientes resultados.

En el sector de Floricultura de la Hacienda “El Prado” – IASA I, se realizó un total de 62 aislamientos de hongos, a partir de los cuales se identificaron morfológica y molecularmente a 27 especies, distribuidas en 14 géneros (*Clonostachys*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Niesslia*, *Irpex*, *Fusarium*, *Minimedusa*, *Clarireedia*, *Flavocillium*, *Xylariales*, *Penicillium*, *Absidia*, *Epicoccum*, *Pseudopithomyces*).

A partir de los parámetros utilizados para medir riqueza y abundancia, se determinó que el sector de Floricultura presenta una alta biodiversidad ($D_{Mg}= 6.399$; $D'=0.938$) y uniformidad en la abundancia de las especies ($H'= 3.021$; $J'= 0.916$; $D= 0.062$). Sin embargo, la evaluación de riqueza con el estimador no paramétrico Chao 1 (52 especies) y la proporción de singletons y doubletons (66.7%), demuestra que la técnica presenta limitaciones para capturar microorganismos que se encuentran en menor prevalencia en el suelo.

Con las especies identificadas morfo-molecularmente, se estableció un cepario a largo a plazo, usando crioviales que contienen discos de agar colonizados y una solución protectante (glicerol 10% y peptona 0,1%), adicionalmente se registraron las características morfológicas detalladas en fichas técnicas, que son complemento al cepario.

Con el presente estudio se estableció una línea base de hongos filamentosos agrupados de acuerdo al rol ecológico que cumplen; en el sector de Floricultura del total de individuos aislados: 46.8% son antagonistas, 35.5% saprófitos y 17,7% fitopatógenos, información preliminar con la que se puede continuar con los procesos y estudios complementarios para la biorrestauración.

Recomendaciones

En relación a los resultados de identificación molecular obtenidos, se recomienda la utilización de marcadores moleculares adicionales como la TUB (β -tubulina) y Tef1 (factor de alargamiento de la traducción 1 alfa) para una mejor discrepancia entre especies muy emparentadas, especies híbridas y otras que han evolucionado rápidamente.

Debido a la presencia de hongos no cultivables o de menor prevalencia en el suelo, que no son capturados por técnicas convencionales de aislamiento, es recomendable la utilización de la secuenciación masiva, como la secuenciación de nueva generación (NGS), que se utiliza para estudios más complejos de diversidad.

Emplear como guía base el cepario y la información obtenidos para realizar estudios complementarios, como la competencia interespecífica entre hongos y otras actividades que permitan la aplicación en campo

Capítulo VII

Bibliografía

Acosta Ovallos, A. K. (2019). *Evaluación de técnicas de conservación para microorganismos de importancia en microbiología industrial en el Cepario de la Universidad de Santander* [Tesis de grado, Universidad de Santander UDES].

<https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/80707b74-8a23-4be7-8135-23719b132c47/content>

ADN, B. N. d. (2020). *Programa de control de calidad de ácidos nucleicos*.

<https://www.bancoadn.org/docs/formulario-control-calidad-muestras.pdf>

Alsohaili, S. A., & Bani-Hasan, B. M. (2018). Morphological and molecular identification of fungi isolated from different environmental sources in the Northern Eastern desert of Jordan. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 11(3), 329 - 337.

<https://www.researchgate.net/profile/Sohail->

[Alsohaili/publication/323377785_Morphological_and_Molecular_Identification_of_Fungi_Isolated_from_Different_Environmental_Sources_in_Northern_Eastern_Jordan_Deseret/links/5ca05f8445851506d7362784/Morphological-and-Molecular-Identification-of-Fungi-Isolated-from-Different-Environmental-Sources-in-Northern-Eastern-Jordan-Deseret.pdf](https://www.researchgate.net/publication/323377785_Morphological_and_Molecular_Identification_of_Fungi_Isolated_from_Different_Environmental_Sources_in_Northern_Eastern_Jordan_Deseret/links/5ca05f8445851506d7362784/Morphological-and-Molecular-Identification-of-Fungi-Isolated-from-Different-Environmental-Sources-in-Northern-Eastern-Jordan-Deseret.pdf)

Andrade-Hoyos, P., Luna-Cruz, A., Osorio-Hernández, E., Molina-Gayosso, E., Landero-Valenzuela, N., & Barrales-Cureño, H. J. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de Chile. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(6), 1259-1272. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342019000601259

Arce Carriel, M. (2009). Normal climática y distribución de la precipitación de la hacienda El Prado-IASA. *Boletín Técnico, Serie Zoológica*, 8(4-5).

<https://journal.espe.edu.ec/ojs/index.php/revista-serie-zoologica/article/view/1422/1012>

- Arce Carriel, M. R., & Pozo Rivera, W. E. (2015). Variabilidad en la producción lechera del agrosistema IASA, según las categorías de intensidad de lluvias de Trojer. *Boletín Técnico, Serie Zoológica*, 12(10-11). <https://journal.espe.edu.ec/ojs/index.php/revista-serie-zoologica/article/view/1462/1047>
- Arenas, R. (2014). *Micología Médica Ilustrada* (5 ed.). McGraw-Hill Interamericana. https://www.academia.edu/43545933/Micologia_Medica_Ilustrada_ARENAS_5e
- Arévalo, E., Cayotopa, J., Olivera, D., Gárate, M., Trigos, E., Costa, d. B., & Leon, B. (2017). Optimización de sustratos para la producción de conidias de *Trichoderma harzianum*. Por fermentación sólida en la región de San Martín. Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 19(2), 135-144. <https://doi.org/https://doi.org/10.18271/ria.2017.272>
- Armendáriz Borunda, J. S., Salazar Montes, A. M., & Sandoval Rodríguez, A. S. (2013). *Biología molecular: fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud*. McGraw-Hill Interamericana Editores, SA de CVs. <https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookID=1803#124154582>
- Betancor, L., Gadea, M., & Flores, K. (2008). Genética bacteriana. *Instituto de Higiene, Facultad de Medicina (UDELAR). Temas de Bacteriología y Virología Médica. 3ra Ed. Montevideo: Oficina del Libro FEFMUR*, 65-90. <http://130.206.160.21/rid=1NQMWD86S-1N93KN5-R6/GeneticaBacteriana.pdf>
- Carreño, G., Quijije, G., Diaz, B., Maridueña, M., & Cevallos, J. (2018, 2023.08.01). Identificación de hongos filamentosos asociados al suelo del bosque protegido de Prosperina. *Bionatura*, 8(1), 1-10. <https://www.revistabionatura.com/files/2023.08.01.22.pdf>
- Castillo Guamán, J. A. (2021). *Aislamiento e identificación de dos hongos entomopatógenos y evaluación de su antagonismo en la plaga *Frankliniella occidentalis* en cultivos de Rosa*

- spp. de una florícola, Ecuador* [Tesis de grado, Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE]. <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/25683/1/T-ESPE-044709.pdf>
- Cervantes Gonzales, J. L. (2003). Obtención de ácido desoxirribonucleico (ADN) útil para análisis genético, a partir de uñas recortadas. *Revista Medica Herediana*, 14(4), 229-232. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v14n4/v14n4cc03.pdf>
- Chatterton, S., Jayaraman, J., & Punja, Z. K. (2008). Colonization of cucumber plants by the biocontrol fungus *Clonostachys rosea* f. *catenulata*. *Biological Control*, 46(2), 267-278. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S104996440800042X>
- Chaves-Mejía, G. A. (2023). Biodiversidad como un concepto estructurante urgente en la educación. *Bio-grafía*, 16(30), 157-166. <https://revistas.pedagogica.edu.co/index.php/bio-grafia/article/view/18812>
- Chiriboga Segovia, B. A. (2023). *Caracterización molecular y proteómica de hongos rizosféricos en tres especies arbóreas plantadas en zona contaminada (Shusufindi EST_40) y no contaminada (Ribereños) por actividades inherentes a la extracción de Petróleo en la Amazonía ecuatoriana* [Tesis de grado, Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE]. <https://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/37483/IASA-TIC-0045.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cornejo Romero, A., Serrato Díaz, A., Rendón Aguilar, B., & Rocha Munive, M. G. (2014). *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos*. SEMARNAT, INECC, UAM-I. [https://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/770DBBBD5ADF759505257D4900580FE6/\\$FILE/HerramientasMolecularesAplicadasEcolog%C3%ADa.pdf](https://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/770DBBBD5ADF759505257D4900580FE6/$FILE/HerramientasMolecularesAplicadasEcolog%C3%ADa.pdf)
- Díaz Alulema, E. V. (2016). *Evaluación in vitro de la actividad de Trichoderma spp. sobre Fusarium spp. como alternativa al uso de fungicidas químicos que producen contaminación ambiental en la florícola Happiness Flowers* [Tesis de grado, Escuela

Superior Politécnica de Chimborazo].

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6193/1/236T0225.pdf>

Erkmen, O. (2021). *Microbiological analysis of foods and food processing environments*.

Academic Press.

<https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=6kU6EAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Microbiological+Analysis+of+Foods+and+Food+Processing+Environments&ots=Slz5OqarLB&sig=Gy2mAUSzfYtvhOOxYZnN17mbxSk#v=onepage&q=Microbiological%20Analysis%20of%20Foods%20and%20Food%20Processing%20Environments&f=false>

Espinoza-Ahumada, C. A., Gallegos-Morales, G., Hernández-Castillo, F. D., Ochoa-Fuentes, Y. M., Cepeda-Siller, M., & Castillo-Reyes, F. (2019). Antagonistas microbianos a *Fusarium* spp., como agente causal de pudrición de raíces y tallo en melón. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 6(16), 45-55.

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282019000100045

Estrada Salazar, G. I., & Ramírez Galeano, M. C. (2019). *Micología general*.

<https://repositorio.ucm.edu.co/handle/10839/2654>

Expoflores. (2023). *Reporte Estadístico Mensual* [Reporte]. <https://expoflores.com/wp-content/uploads/2023/09/Expoflores-septiembre-2023.pdf>

Flores Perugachi, E. R. (2012). *Estudio de factibilidad para la implementación de una planta productora y comercializadora de hongos benéficos de uso florícola, en la Parroquia Eugenio Espejo: Ecuador 2011* [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana].

<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/3829/6/UPS-YT00122.pdf>

Flores, W., Chico, J., & Cerna, L. (2015). Actividad antagónica in vitro de *Clonostachys rosea* sobre *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* y *Botrytis cinérea*. *REBIOL*, 35(1), 34-42.

<https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/facccbiol/article/view/873>

- GADMUR. (2019). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento territorial Cantón Rumiñahui 2012 – 2025*. <https://rpmr.gob.ec/wp-content/uploads/2021/06/PDYOT-2014-2019.pdf>
- Garzón Grajales, N. (2013). *Caracterización e identificación molecular de hongos de suelo aislados de los páramos de Guasca y Cruz Verde, Cundinamarca-Colombia* [Tesis de grado, Pontificia Universidad Javeriana].
<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/14584/GarzonGrajalesNatalia2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- GDPS. (2023). *Ficha Sectorial - Flores*. C. F. N. B.P. <https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/downloads/biblioteca/2023/fichas-sectoriales-3-trimestre/Ficha-Sectorial-Flores.pdf>
- Ghosh, P., Priya, K. S. M., Unissa, M. T., Vaishali, K., & Begum, S. (2017). Isolation of Different Types of Fungi from Diverse Soils. *International Journal of Scientific Research in Science and Technology*, 3(7), 862-867.
https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/57042846/1601-libre.pdf?1532167739=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DIsolation_of_Different_Types_of_Fungi_fr.pdf&Expires=1709273673&Signature=fZI4q0q4Y~gEjWsXk14XEc8oZMmOHet3jKblyH0SULEDebdaQV~W3t1oZGS6mC1MIkwq5HVcgb1R43laUCmmMI7sEYT3o4FbuCxmkuFBArfh-qB23NyMb56fmYAwQDQBZ5Gd7WUXtBbthuNOQPIPNowYTqR4eDCftHmax1rerg~InleBXTRDyE015U17CDPBeshjggiBvMxDzY5-iVKPV3SvMoHk2L2kl7Q1QTtK3i5TYkt8EifnsZ0MCSOuxVbrfrVoUSXfGVOS3rtiMj7gbzYrBr4~rg8Ekq~gCA8d7s-UC21QCFN~KKmXlqHFstuzJiSTsUiQ2c1M0kiMFhw__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA
- Gómez, F. (2017). Características generales de los hongos e infecciones sistémicas y oportunistas de las micosis tropicales. *Revista Médica Panamericana*.

https://aula.campuspanamericana.com/_Cursos/Curso01417/Temario/Experto_Med_Tropical/M5T1-Texto.pdf

Hernández, A., Jiménez, M., Arcia, A., Ulacio, D., & Méndez, N. (2013). Caracterización molecular de doce aislamientos de *Trichoderma* spp. mediante RAPD y rADN-ITS. *Bioagro*, 25(3), 167-174. https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1316-33612013000300003&script=sci_arttext

Jiménez, T. (2017). *Área biológica y biomédica* [Tesis de grado, Universidad Técnica Particular de Loja]. https://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/17081/1/Chamba_Quezada_Crystopher_Andres_Tesis.pdf

Kapeua-Ndacnou, M., de Abreu, L. M., de Macedo, D. M., da Nóbrega, T. F., Pereira, C. M., Evans, H. C., & Barreto, R. W. (2023). Assessing the biocontrol potential of clonostachys species isolated as endophytes from coffee species and as mycoparasites of hemileia rusts of coffee in africa. *Journal of Fungi*, 9(2), 248. doi.org/10.3390/jof9020248

Kim, B.-R., Shin, J., Guevarra, R. B., Lee, J. H., Kim, D. W., Seol, K.-H., Lee, J.-H., Kim, H. B., & Isaacson, R. E. (2017). Deciphering diversity indices for a better understanding of microbial communities. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(12), 2089-2093. https://www.jmb.or.kr/submission/Journal/027/JMB027-12-02_FDOC_2.pdf

Liébana Ureña, J. (2002). *Microbiología Oral* (2 ed.). McGraw-Hill Interamericana. https://www.academia.edu/40281608/MICROBIOLOG%C3%8DA_ORAL

Magurran, A. E. (2004). *Measuring Biological Diversity*.

Maldonado Bonilla, L. D., Sánchez Espinosa, A. C., & Villarruel Ordaz, J. L. (2023). Identificación de hongos mediante códigos de barras de ADN. *CIENCIA ergo-sum*, 31(1), 1-11. <https://cienciaergosum.uaemex.mx/article/view/17956/15451>

- Marín, C. (2018). Conceptos fundamentales en ecología de hongos del suelo: una propuesta pedagógica y de divulgación. *Boletín Micológico*, 33(1), 32-56.
<https://doi.org/10.22370/bolmicol.2018.33.1.1168>
- Medina-Saavedra, T. A.-F., G., Rodríguez-Núñez, J., & Garcia-Flores, M. (2016). Microorganismos eficientes (*Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp.) y su correlación en ambientes de montaña del cerro de Tetillas. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, 2(3), 51-58.
https://www.ecorfan.org/spain/researchjournals/Ciencias_Ambientales_y_Recursos_Naturales/vol2num3/Revista_de_Ciencias_Ambientales_y_Recursos_Naturales_V2_N3_6.pdf
- Nugra Sánchez, A. N. (2018). *Evaluación de sustratos orgánicos para la propagación del Trichoderma spp.* [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana].
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15121/1/UPS-CT007457.pdf>
- Ochoa Cabrera, B. A. (2017). *Sistematización del cepario de hongos filamentosos de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca* [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14431/1/UPS-CT007094.pdf>
- Ortiz Paucay, L. P. (2016). *Biodiversidad fúngica en el suelo del bosque protector Aguarongo, provincia del Azuay-Ecuador* [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana].
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/12814/1/UPS-CT006692.pdf>
- Panica, C. A., & Condorí, D. A. (2013). Sistema inteligente para la identificación de hongos más comunes en alimentos. XVI Concurso de Trabajos Estudiantiles (EST)-JAIIO 42 (2013),
- Pernía, B., Demey, J. R., Inojosa, Y., & Naranjo, L. (2012). Biodiversidad y potencial hidrocarbonoclástico de hongos aislados de crudo y sus derivados: Un meta-análisis. *Rev. Latinoam. Biotecnol. Amb. Algal*, 3(1), 1-40.
<https://www.researchgate.net/profile/Leopoldo->

Naranjo/publication/260137177_Biodiversidad_y_potencial_hidrocarbonoclastico_de_hongos aislados de crudo y sus derivados_Un meta-analisis_Biodiversity_and_hydrocarbonoclastic_potencial_of_fungi_isolated_from_crude_and_petroleum_de/links/54aac02f0cf2ce2df668b575/Biodiversidad-y-potencial-hidrocarbonoclastico-de-hongos-aislados-de-crudo-y-sus-derivados-Un-meta-analisis-Biodiversity-and-hydrocarbonoclastic-potencial-of-fungi-isolated-from-crude-and-petroleum-d.pdf#page=6

Pfenning, L. H., & Magalhães, L. (2000). Hongos del suelo saprófitos y patógenos de plantas. *Manual de Biología de Suelos Tropicales; Instituto Nacional de Ecología: México city, Mexico*, 243-280. https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/39623960/cap8-libre.pdf?1446513798=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DHongos.pdf&Expires=1704988637&Signature=NdkALyiT~lUnnFzKzal878poYvC2sdwbV2vmM4AYggLMf72EODgd9LcGehTVDXQdigKA4Wy~gBwwlv-nKRiMZErbWwbioRFHendK8X1hdC5aQtBOwp4NAbBL5L-lZaH0uh7UmuwW7Ld4QwKK-sfUJhoKLYvmCplbTBTrPTKLGjHY61fclyMhByzDytd~J71ExhkU9pQ4JqhNaMD~iF-Orx7qox31kgSwuF874J2g~hm5NAQqAnnh8SGXheZ-EFY2XLHOra2g6MOJ2d~sioQWpb72BQvss5NMygD3s5eIJBkWYOv0805ZNpzambBURK0tBO52Ny1WPOJ8-WK9IDp0Ug__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA

Pinzari, F., Reverberi, M., Piñar, G., Maggi, O., & Persiani, A. M. (2014). Metabolic profiling of *Minimedusa polyspora* (Hotson) Weresub & PM LeClair, a cellulolytic fungus isolated from Mediterranean maquis, in southern Italy. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 148(2), 333-341. <https://doi.org/10.1080/11263504.2013.877536>

- Qiu, Y., Zhou, Y., Chang, Y., Liang, X., Zhang, H., Lin, X., Qing, K., Zhou, X., & Luo, Z. (2022). The effects of ventilation, humidity, and temperature on bacterial growth and bacterial genera distribution. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(22), 15345. <https://doi.org/10.3390/ijerph192215345>
- Raja, H. A., Miller, A. N., Pearce, C. J., & Oberlies, N. H. (2017). Fungal identification using molecular tools: a primer for the natural products research community. *Journal of natural products*, *80*(3), 756-770. <https://doi.org/doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01085>
- Ríos-Sánchez, E., Calleros, E., González-Zamora, A., Rubio, J., Martínez, O. C., Martínez, A., Hernández, S., & Pérez-Morales, R. (2016). Comparative analysis of different DNA extraction methods and their genotyping efficiency in Mexican population. *Acta universitaria*, *26*(4), 56-65. <https://doi.org/doi:10.15174/au.2016.1078>
- Ritter, C. D., Dunthorn, M., Anslan, S., de Lima, V. X., Tedersoo, L., Nilsson, R. H., & Antonelli, A. (2020). Advancing biodiversity assessments with environmental DNA: Long-read technologies help reveal the drivers of Amazonian fungal diversity. *Ecology and evolution*, *10*(14), 7509-7524. <https://doi.org/10.1002/ece3.6477>
- Romero Bautista, L. (2007). *La sistemática, base del conocimiento de la biodiversidad* (1 ed.). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. https://www.academia.edu/16379787/La_sistem%C3%A1tica_base_del_conocimiento_de_la_UNIVERSIDAD_AUT%C3%93NOMA_DEL_ESTADO_DE_HIDALGO_Editores_Atilano_Contreras_Ramos
- Rúa-Giraldo, Á. L. (2023). Taxonomía de los hongos: un rompecabezas al que le faltan muchas piezas. *Biomédica*, *43*(Suppl 1), 288. <https://doi.org/10.7705/biomedica.7052>
- Rugeles Barandica, L. A., Cañar Serna, D. Y., Tibaduiza Castañeda, L. P., Jiménez Sabogal, H. R., González Almario, C., Estrada Bonilla, G. A., Bonilla Buitrago, R. R., Criollo Campos, P. J., Pérez Moncada, U. A., & Uribe Gutiérrez, L. A. (2021). Conservación y manejo de la diversidad microbiana en los bancos de germoplasma para la alimentación y la

agricultura en Colombia.

<https://editorial.agrosavia.co/index.php/publicaciones/catalog/view/247/229/1534-1>

Ruggiero, M. A., Gordon, D. P., Orrell, T. M., Bailly, N., Bourgoin, T., Brusca, R. C., Cavalier-Smith, T., Guiry, M. D., & Kirk, P. M. (2015). A higher level classification of all living organisms. *PloS one*, *10*(4), e0119248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130114>

Samaniego-Gaxiola, J. A., & Chew-Madinaveitia, Y. (2007). Diversidad de géneros de hongos del suelo en tres campos con diferente condición agrícola en La Laguna, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, *78*(2), 383-390.

<https://www.redalyc.org/pdf/425/42578215.pdf>

Sánchez Riofrio, C. D. (2022). *Identificación de microorganismos mediante la captura en dos terrazas agrícolas en el Campus Salache, Latacunga, Cotopaxi* [Tesis de grado, Universidad Técnica de Cotopaxi].

<https://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/9604/1/PC-002432.pdf>

Sun, Z.-B., Li, S.-D., Ren, Q., Xu, J.-L., Lu, X., & Sun, M.-H. (2020). Biology and applications of *Clonostachys rosea*. *Journal of applied microbiology*, *129*(3), 486-495.

<https://doi.org/10.1111/jam.14625>

Tamay de Dios, L., Ibarra, C., & Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación en discapacidad*, *2*(2), 70-78. [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/52083062/pcr_medico_graphic-libre.pdf?1489037008=&response-content-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/52083062/pcr_medico_graphic-libre.pdf?1489037008=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPcr_medico_graphic.pdf&Expires=1704988426&Signature=Z0JTRfkMGFi4ybmxC~xCN6I09ZCAH17LDyaODawA9TMNqiTTw4YTFEA1KMgpVI1GOPQG08YThcgF~6KAZdv9rHsVFHFk3RwZTJNEDEs~fYKJgweZOt12GZtKLaRzJ60fOEKqonnxvkDn5H-l4q2LswPieJ0e6Wk5e1c1jz4BUImhj2TRcbnXZ1WzknUvAtDKXugXt3ATeXuY5zf3zQsearWFMc750oIFpnzLI4wiaMhq9IKxcMGXUvPsSRnxiZLbqE4R0EAtdXa~BfR8cQbISDE5E)

[disposition=inline%3B+filename%3DPcr_medico_graphic.pdf&Expires=1704988426&Signature=Z0JTRfkMGFi4ybmxC~xCN6I09ZCAH17LDyaODawA9TMNqiTTw4YTFEA1KMgpVI1GOPQG08YThcgF~6KAZdv9rHsVFHFk3RwZTJNEDEs~fYKJgweZOt12GZtKLaRzJ60fOEKqonnxvkDn5H-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/52083062/pcr_medico_graphic-libre.pdf?1489037008=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPcr_medico_graphic.pdf&Expires=1704988426&Signature=Z0JTRfkMGFi4ybmxC~xCN6I09ZCAH17LDyaODawA9TMNqiTTw4YTFEA1KMgpVI1GOPQG08YThcgF~6KAZdv9rHsVFHFk3RwZTJNEDEs~fYKJgweZOt12GZtKLaRzJ60fOEKqonnxvkDn5H-l4q2LswPieJ0e6Wk5e1c1jz4BUImhj2TRcbnXZ1WzknUvAtDKXugXt3ATeXuY5zf3zQsearWFMc750oIFpnzLI4wiaMhq9IKxcMGXUvPsSRnxiZLbqE4R0EAtdXa~BfR8cQbISDE5E)

[l4q2LswPieJ0e6Wk5e1c1jz4BUImhj2TRcbnXZ1WzknUvAtDKXugXt3ATeXuY5zf3zQsearWFMc750oIFpnzLI4wiaMhq9IKxcMGXUvPsSRnxiZLbqE4R0EAtdXa~BfR8cQbISDE5E](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/52083062/pcr_medico_graphic-libre.pdf?1489037008=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPcr_medico_graphic.pdf&Expires=1704988426&Signature=Z0JTRfkMGFi4ybmxC~xCN6I09ZCAH17LDyaODawA9TMNqiTTw4YTFEA1KMgpVI1GOPQG08YThcgF~6KAZdv9rHsVFHFk3RwZTJNEDEs~fYKJgweZOt12GZtKLaRzJ60fOEKqonnxvkDn5H-l4q2LswPieJ0e6Wk5e1c1jz4BUImhj2TRcbnXZ1WzknUvAtDKXugXt3ATeXuY5zf3zQsearWFMc750oIFpnzLI4wiaMhq9IKxcMGXUvPsSRnxiZLbqE4R0EAtdXa~BfR8cQbISDE5E)

34rkfifDulqKdH7B2DyfP0wZcPr5OzT~NgK8a3eU~~Ck3rhjFYYyPVXa97Aiw__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA

- Tang, W., Kuehn, T., & Simcik, M. F. (2015). Effects of temperature, humidity and air flow on fungal growth rate on loaded ventilation filters. *Journal of occupational and environmental hygiene*, 12(8), 525-537. <https://doi.org/10.1080/15459624.2015.1019076>
- Tian, Z., Wang, X., Li, Y., Xi, Y., He, M., & Guo, Y. (2024). Co-inoculation of Soybean Seedling with *Trichoderma asperellum* and *Irpex laceratus* Promotes the Absorption of Nitrogen and Phosphorus. *Current Microbiology*, 81(3), 87. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00284-023-03571-y>
- Umaña-Castro, J., Orozco-Cayasso, S., Umaña-Castro, R., & Molina-Bravo, R. (2019). Identificación molecular y características fisiológicas de aislamientos de *Trichoderma* para el biocontrol de dos patógenos en la piña. *Revista de Ciencias Ambientales*, 53(1), 125-142. <http://dx.doi.org/10.15359/rca.53-1.7>
- Unterseher, M., Schnittler, M., Dormann, C., & Sickert, A. (2008). Application of species richness estimators for the assessment of fungal diversity. *FEMS Microbiology Letters*, 282(2), 205-213. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01128.x>
- Vilches, A. M., Legarralde, T. I., & Berasain, G. (2012). Elaboración y uso de claves dicotómicas en las clases de biología. III Jornadas de Enseñanza e Investigación Educativa en el campo de las Ciencias Exactas y Naturales 26, 27 y 28 de septiembre de 2012 La Plata, Argentina,
- Villacís, J. G. (2019). *Normativo interno de uso y bioseguridad en los laboratorios de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I*. <https://decv.espe.edu.ec/wp-content/uploads/2020/03/NORMATIVO-INTERNO-DE-USO-Y-BIOSEGURIDAD-EN-LABORATORIO-REV00.pdf>

- Wang, Y., Tang, D.-X., & Yu, H. (2023). Phylogeny and systematics of the genus *Clonostachys*. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1117753.
<https://doi.org/doi.org/10.3389/fmicb.2023.1117753>
- Wu, B., Hussain, M., Zhang, W., Stadler, M., Liu, X., & Xiang, M. (2019). Current insights into fungal species diversity and perspective on naming the environmental DNA sequences of fungi. *Mycology*, 10(3), 127-140.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1080/21501203.2019.1614106>
- Zambrano-Salazar, P. G., & Quinde-Alvear, A. G. (2023). Enfermedades por exposición a plaguicidas agrícolas en la empresa florícola “Fresh Market of Ecuador”. *MQRInvestigar*, 7(3), 2229-2258. doi.org/10.56048/MQR20225.7.3.2023.2229-2258
- Zaragoza, Ó. (2018). *Los hongos microscópicos¿ Amigos o enemigos?* (1 ed.). Catarata.
<https://repisalud.isciii.es/bitstream/handle/20.500.12105/11824/HongosMicroscopicos.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

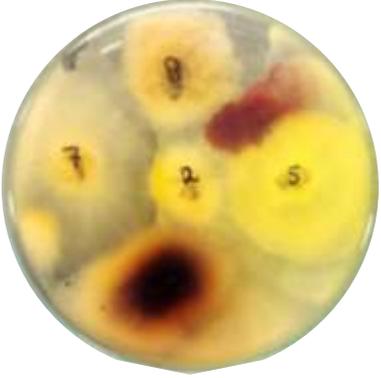
Apéndices

Apéndice A

Tabla K

Fotografías de los cultivos primarios obtenidos a partir de las trampas microbianas

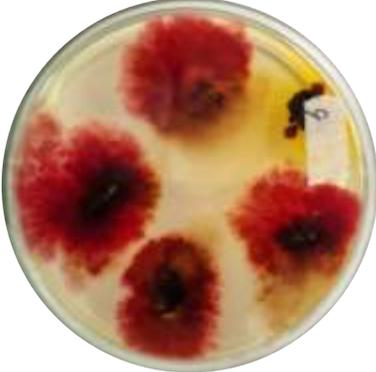
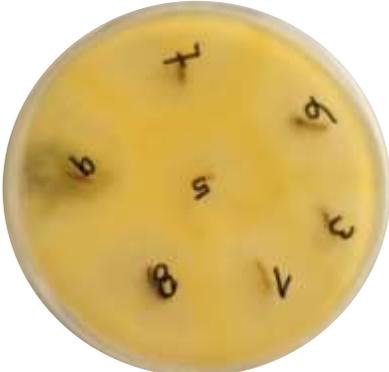
| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|---|--|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 1 |  |  | P1 |
| 2 |  |  | P3 |
| 3 |  |  | P6 |

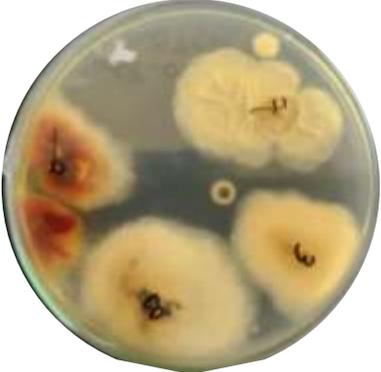
| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|---|--|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 4 |  |  | P10 |
| |  |  | |
| 5 |  |  | P13 |
| 6 |  |  | P16 |

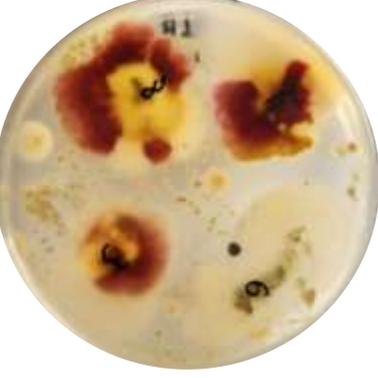
| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|---|--|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 7 |  |  | P18 |
| 8 |  |  | P19 |
| 9 |  |  | P23 |
| 10 |  |  | P24 |

| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|---|--|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 11 |  |  | P25 |
| 12 |  |  | P27 |
| 13 |  |  | P28 |

| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|---|---|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 14 |  Petri dish M33R, 25-10-23, Anverso. Shows a white, fuzzy mold growth on a light-colored agar surface. |  Petri dish M33R, 25-10-23, Reverso. Shows a yellowish agar surface with several dark brown spots and handwritten numbers 9, 8, 1, and 5. | P33 |
| 15 |  Petri dish M34R, 23-10-23, Anverso. Shows a greenish mold growth on a light-colored agar surface. |  Petri dish M34R, 23-10-23, Reverso. Shows a yellowish agar surface with several dark brown spots and handwritten numbers 4, 6, 7, 8, and 9. | P34 |
| 16 |  Petri dish M38R, 25-10-23, Anverso. Shows a white, fuzzy mold growth on a light-colored agar surface. |  Petri dish M38R, 25-10-23, Reverso. Shows a yellowish agar surface with several dark brown spots and handwritten numbers 7, 7, 9, 1, and 10. | P38 |
| 17 |  Petri dish M40R, 26-10-23, Anverso. Shows a white, fuzzy mold growth on a light-colored agar surface. |  Petri dish M40R, 26-10-23, Reverso. Shows a yellowish agar surface with several dark brown spots and handwritten numbers 2, 5, and 6. | P40 |

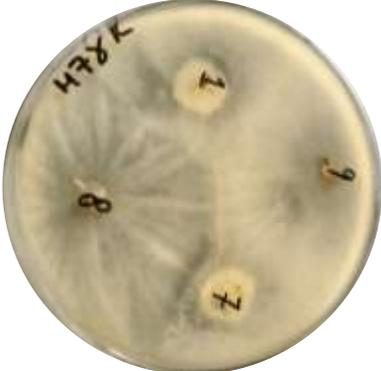
| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|--|---|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 18 |  <p>M41R 26-10-23</p> |  <p>4 9 5</p> | P41 |
| 19 |  <p>M42R 24-10-23</p> |  <p>9</p> | P42 |
| 20 |  <p>M47R 25-10-23</p> |  <p>4 6 9 5 3 8 V</p> | P47 |

| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|---|--|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 21 |  |  | P50 |
| 22 |  |  | P51 |
| 23 |  |  | P54 |
| 24 |  |  | P57 |

| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|--|---|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 25 |  Petri dish M58R, 25-10-23, Anverso. Shows a light-colored agar surface with several dark, irregular spots and patches of growth. |  Petri dish M58R, 25-10-23, Reverso. Shows a light-colored agar surface with several dark, irregular spots and patches of growth, some with handwritten numbers 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8. | P58 |
| 26 |  Petri dish M59R, 25-10-23, Anverso. Shows a light-colored agar surface with several white, irregular spots and patches of growth. |  Petri dish M59R, 25-10-23, Reverso. Shows a light-colored agar surface with several white, irregular spots and patches of growth, some with handwritten numbers 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8. | P59 |
| 27 |  Petri dish M61R, 25-10-23, Anverso. Shows a light-colored agar surface with several red, irregular spots and patches of growth. |  Petri dish M61R, 25-10-23, Reverso. Shows a light-colored agar surface with several red, irregular spots and patches of growth, some with handwritten numbers 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8. | P61 |

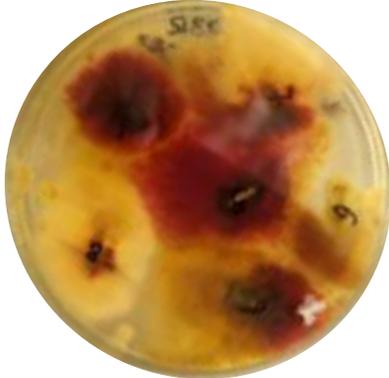
| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|---|---|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 28 |  Petri dish M65R, 23-10-23, Anverso. Shows a light-colored agar surface with several dark, irregular spots and a central white streak. |  Petri dish M65R, 23-10-23, Reverso. Shows a light-colored agar surface with several dark spots and a central white streak. Handwritten numbers 5, 6, 7, 8, 9, and X are visible on the surface. | P65 |
| 29 |  Petri dish M66R, 24-10-23, Anverso. Shows a light-colored agar surface with several dark spots and a central white streak. |  Petri dish M66R, 24-10-23, Reverso. Shows a light-colored agar surface with several dark spots and a central white streak. Handwritten numbers 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, and 9 are visible on the surface. | P66 |
| 30 |  Petri dish M67R, 24-10-23, Anverso. Shows a light-colored agar surface with several dark spots and a central white streak. |  Petri dish M67R, 24-10-23, Reverso. Shows a light-colored agar surface with several dark spots and a central white streak. Handwritten numbers 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, and 9 are visible on the surface. | P67 |

| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|---|--|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 31 |  |  | P69 |
| 32 |  |  | P71 |
| 33 |  |  | P76 |

| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|---|--|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 34 |  |  | P78 |
| 35 |  |  | P79 |
| 36 |  |  | P80 |

| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|--|---|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 37 |  Petri dish showing the front view of a primary culture. The agar surface is covered with a dense, greyish-brown mold. Handwritten text at the top reads "M82R" and "24-10-23". |  Petri dish showing the back view of a primary culture. The agar surface is yellowish with several dark, circular spots. Handwritten text at the top reads "M82R" and "24-10-23". | P82 |
| 38 |  Petri dish showing the front view of a primary culture. The agar surface is covered with a dense, greyish-brown mold. Handwritten text at the top reads "M83R" and "24-10-23". |  Petri dish showing the back view of a primary culture. The agar surface is yellowish with several dark, circular spots. Handwritten text at the top reads "M83R" and "24-10-23". | P83 |
| 39 |  Petri dish showing the front view of a primary culture. The agar surface is covered with a dense, greyish-brown mold. Handwritten text at the top reads "M84R" and "24-10-23". |  Petri dish showing the back view of a primary culture. The agar surface is yellowish with several dark, circular spots. Handwritten text at the top reads "M84R" and "24-10-23". | P84 |

| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|--|---|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 40 |  Petri dish M86R, 24-10-23, Anverso. Shows a complex, multi-colored microbial growth with white, pink, and yellowish patches. |  Petri dish M86R, 24-10-23, Reverso. Shows a yellowish background with several dark, irregular spots and patches. | P86 |
| 41 |  Petri dish M87R, 24-10-23, Anverso. Shows a uniform, light brownish-grey microbial growth covering the entire surface. |  Petri dish M87R, 24-10-23, Reverso. Shows a yellowish background with several dark, irregular spots and patches. | P87 |
| 42 |  Petri dish M90R, 26-10-23, Anverso. Shows a yellowish background with several dark, irregular spots and patches. |  Petri dish M90R, 26-10-23, Reverso. Shows a yellowish background with several dark, irregular spots and patches, some labeled with letters B, S, X, and N. | P90 |

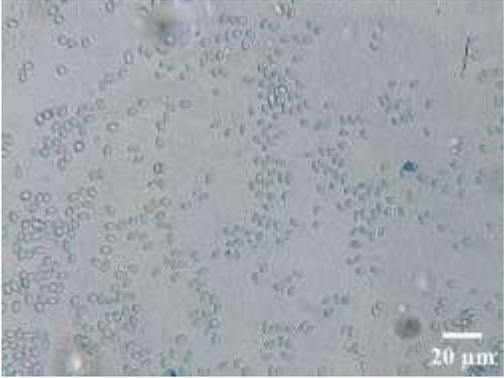
| N.º | Cultivos primarios | | ID Subparcela |
|-----|--|---|---------------|
| | Anverso | Reverso | |
| 43 |  Petri dish M91R, 26-10-23. The agar surface is covered with a dense, fuzzy, light-colored mold growth. |  Petri dish M91R, 26-10-23, reverse view. Shows several banana slices with dark, necrotic spots and some yellowish discoloration. | P91 |
| 44 |  Petri dish M92R, 25-10-23. Shows a mix of white and grey mold growth on the agar. |  Petri dish M92R, 25-10-23, reverse view. Shows banana slices with dark spots and some reddish discoloration. | P92 |
| 45 |  Petri dish M93R, 25-10-23. Shows a mix of white and grey mold growth on the agar. |  Petri dish M93R, 25-10-23, reverse view. Shows banana slices with dark spots and a prominent reddish discoloration. | P93 |

Apéndice B

Tabla L

Fichas técnicas de los hongos identificados morfológica y molecular

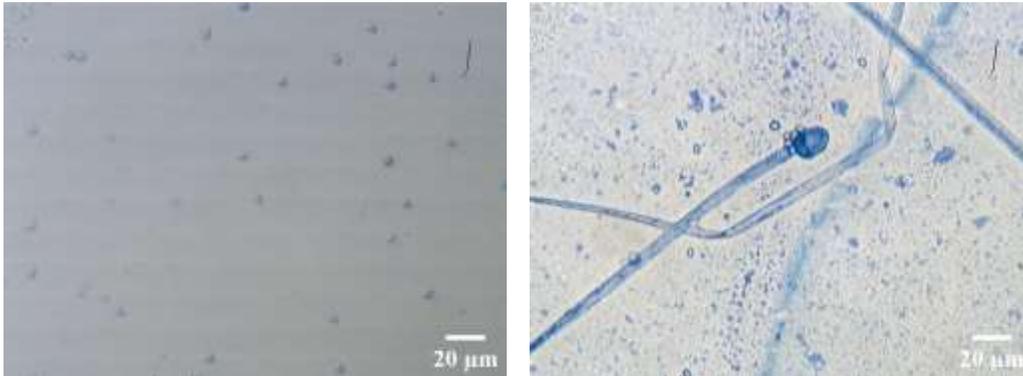
|  | | | | | |
|--|---|---|------------------|------------|---|
| COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA | | | | | |
| Ficha # 1 | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Clonostachys rosea</i> f. <i>catenulata</i> | | | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | | |
| Código del cepario: R1 | | Color anverso | Centro: Amarillo | | |
| Anverso |  | | Medio: — | | |
| | | | Anillo: — | | |
| | | | Borde: Blanco | | |
| | | Textura | | Algodonosa | X |
| Reverso |  | Aspecto | | Irregular | X |
| | | Altura del micelio | Alto | | |
| | | | Medio | X | |
| | | | Bajo | | |
| Tipo de crecimiento | Irregular | | | | |
| | Denso | | | | |
| | Regular | X | | | |
| | | Tenue | | | |

| | | | |
|--|--|---|------------------------|
|  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | |
| | Color reverso | <i>Centro: Naranja</i> | |
| | | <i>Medio: —</i> | |
| | | <i>Borde: Blanco</i> | |
| | Exudado | SI | Color: amarillo |
| Esporulación | NO | Color: — | |
| Tiempo de esporulación (días): — | | | |
| MICROSCOPIA | | | |
|  | |  | |
| Tamaño promedio de espora: 4.8 μm ± 0.2 | | | |
| <p>Las características microscópicas de <i>Clonostachys</i> incluyen un micelio septado, conidios en forma de clavija, conidióforos ramificados, coloración variable y la presencia de alfasclerocios en algunas especies.</p> | | | |



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | | | |
|------------------------------------|---|---------------------------|---|----------------------------|-----------------|---|
| Ficha # 2 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Mucor griseocyanus</i> | | | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | | | |
| Código del cepario: R2 | | Color anverso | <i>Centro:</i> blanco | | | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> gris | | | |
| | | | <i>Anillo:</i> — | | | |
| | | | <i>Borde:</i> marrón | | | |
| | | Textura | | <i>Algodonosa</i> | X | |
| | | | <i>Polvosa</i> | | | |
| | | Aspecto | <i>Irregular</i> | | | |
| | | | <i>Radiado</i> | X | | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | | | |
| | | | <i>Medio</i> | X | | |
| | | | <i>Bajo</i> | | | |
| | | | <i>Irregular</i> | | | |
| | | | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | |
| | | | | | <i>Regular</i> | X |
| | | <i>Tenue</i> | | | | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> blanco | | Esporulación | NO | Color: — | |
| | <i>Medio:</i> gris | | Exudado | NO | | |
| | <i>Borde:</i> — | | Color del exudado: — | | | |

MICROSCOPIA

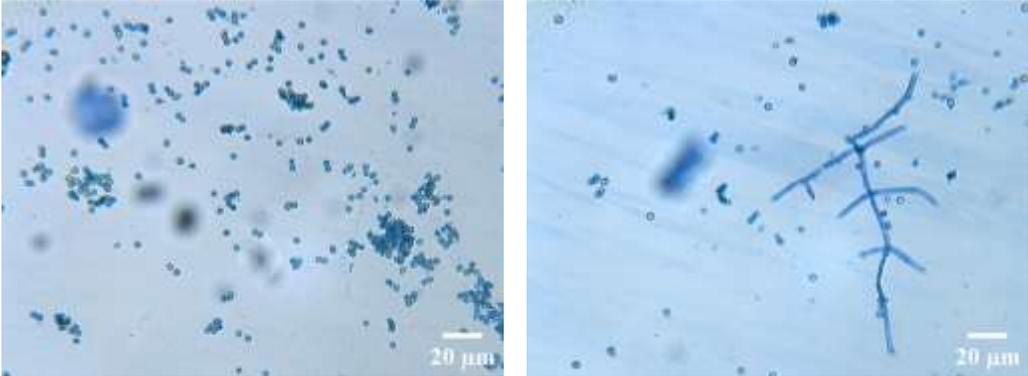
Tamaño promedio de espora: $4.7 \mu\text{m} \pm 0.3$

Mucor griseocyanus presenta: Hifas septadas y ramificadas, largas y delgadas divididas por tabiques transversales; los esporangios son estructuras globosas que contienen esporas. Están soportados por esporangióforos, estructuras alargadas que se elevan sobre el micelio; Las esporas son de forma ovalada y suelen ser de color oscuro. Se producen en grandes cantidades. En algunas especies se pueden formar zigosporas redondeadas y gruesas en determinadas condiciones y pueden tener una apariencia distintiva en el microscopio.

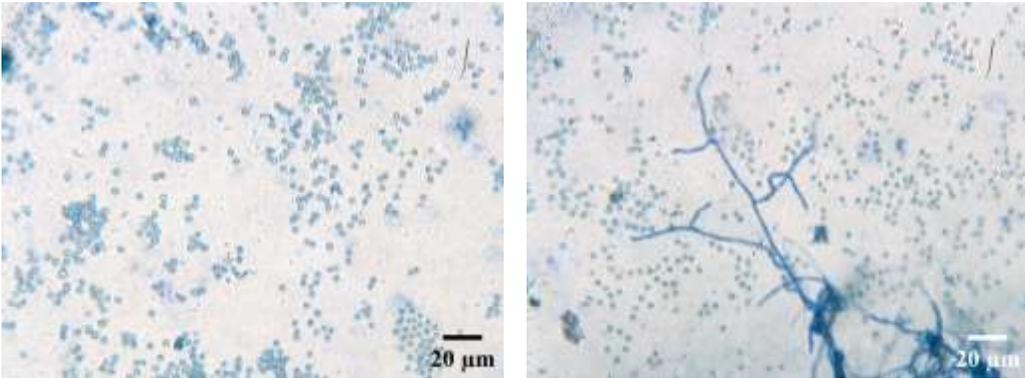


**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|-------------------------------------|---|---------------------------|---|----------------------------|
| Ficha # 3 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Trichoderma atroviride</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Código del cepario: R3 | | Color anverso | <i>Centro:</i> Verde oscuro | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> Verde claro | |
| | | | <i>Anillo:</i> Verde oscuro | |
| | | | <i>Borde:</i> Blanco | |
| | | Textura | | <i>Algodonosa</i> |
| | | | <i>Polvosa</i> | |
| | | Aspecto | <i>Irregular</i> | |
| | | | <i>Radiado</i> | X |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | X |
| | | | <i>Bajo</i> | |
| | | | <i>Irregular</i> | |
| | | | | Tipo de crecimiento |
| | | <i>Regular</i> | | |
| | | <i>Tenue</i> | | |

| | | | | |
|--|---|--|----------------------|-----------------|
| Esporulación |  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | |
| | | Color reverso | <i>Centro:</i> — | |
| | | | <i>Medio:</i> Blanco | |
| | | | <i>Borde:</i> — | |
| | | Exudado | NO | Color: — |
| Esporulación | SI | Color: verde polvoso | | |
| Tiempo de esporulación (días): 2 | | | | |
| MICROSCOPIA | | | | |
|  | | | | |
| Tamaño promedio de espora: 2.9 µm ± 0.3 | | | | |
| <p>El <i>Trichoderma atroviride</i> es un hongo filamentoso que forma micelio ramificado y septado; tiene conidios alargados y fusiformes, dispuestos en cadenas, su coloración varía de verde oscuro a negro. El micelio puede ser observado formando una red ramificada. Las hifas presentan una pared celular delgada y septos. Las ascosporas tienen forma de estructuras redondeadas y con paredes gruesas.</p> | | | | |

|  | | | | |
|---|---|---------------------|--|---|
| COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA | | | | |
| Ficha # 4 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Trichoderma atroviride</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Código del cepario: R3 | | Color anverso | Centro: Verde oscuro | |
| Anverso |  | | Medio: Amarillo | |
| | | | Anillo: — | |
| | | | Borde: Blanco | |
| | | Textura | Algodonosa | X |
| | Polvosa | | | |
| | Aspecto | Irregular | | |
| | | Radiado | X | |
| Reverso |  | Altura del micelio | Alto | |
| | | | Medio | X |
| | | | Bajo | |
| | | | Irregular | |
| | | Tipo de crecimiento | Denso | X |
| | | | Regular | |
| | Tenue | | | |

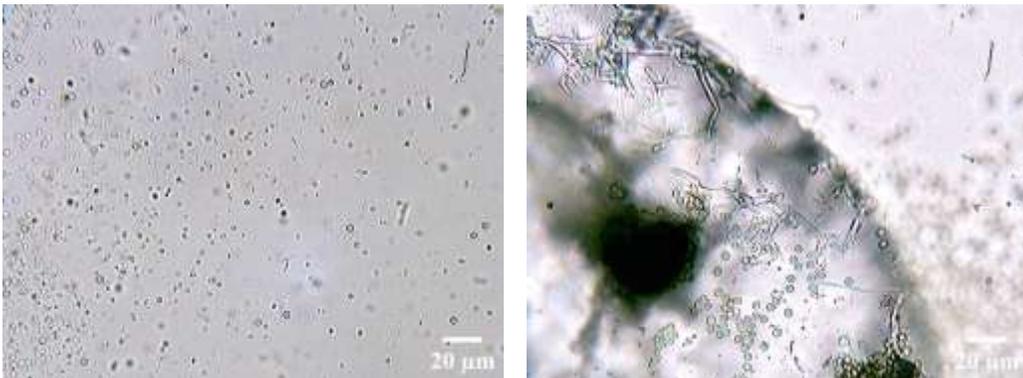
| | | | | |
|---|---|--|----------------------|-----------------|
| Esporulación |  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | |
| | | Color reverso | <i>Centro:</i> — | |
| | | | <i>Medio:</i> Blanco | |
| | | | <i>Borde:</i> — | |
| | | Exudado | NO | Color: — |
| Esporulación | SI | Color: verde polvoso | | |
| Tiempo de esporulación (días): 2 | | | | |
| MICROSCOPIA | | | | |
|  | | | | |
| Tamaño promedio de espora: 2.8 µm ± 0.2 | | | | |
| <p>La características microscópicas del <i>Trichoderma atroviride</i> son: hongo filamentoso con micelio ramificado y septado: conidios alargados y fusiformes de coloración de verde oscura a negra, dispuestos en cadenas y forma de red ramificada; las hifas presentan una pared celular delgada y septos; también se pueden observar las ascosporas en el micelio en forma de estructuras redondeadas y con paredes gruesas.</p> | | | | |

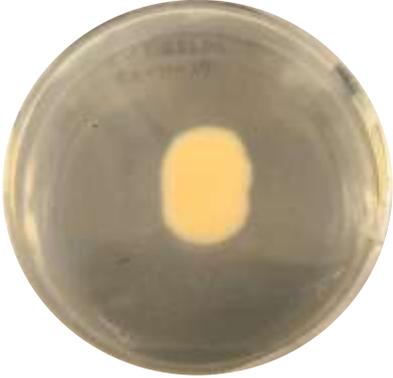


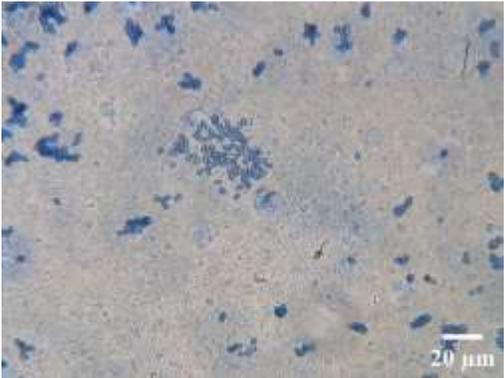
ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

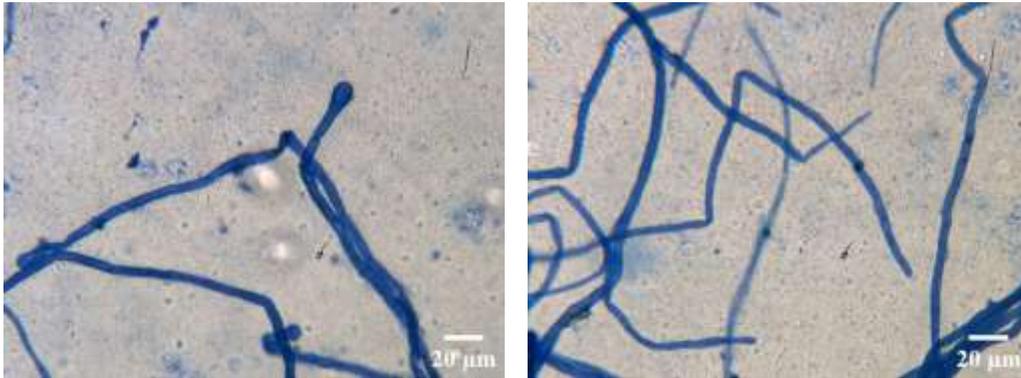
| | | | | |
|-------------------------------------|---|---------------------------|---|---|
| Ficha # 5 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Trichoderma atroviride</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Código del cepario: R5 | | Color anverso | Centro: Blanco | |
| Anverso |  | | Medio: — | |
| | | | Anillo: — | |
| | | | Borde: Verde | |
| | | Textura | Algodonosa | X |
| | | Polvosa | | |
| Aspecto | | Irregular | | |
| | | Radiado | X | |
| Reverso |  | Altura del micelio | Alto | |
| | | | Medio | X |
| | | | Bajo | |
| | | | Irregular | |
| Tipo de crecimiento | | Denso | X | |
| | | Regular | | |
| | | Tenue | | |

| | | | | | |
|---|---|--|----------------------|-------------------------|--|
| Esporulación |  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | | |
| | | Color reverso | <i>Centro:</i> — | | |
| | | | <i>Medio:</i> Blanco | | |
| | | | <i>Borde:</i> — | | |
| | | Exudado | NO | Color: — | |
| | | Esporulación | SI | Color: verde pol | |
| Tiempo de esporulación (días): 2 | | | | | |
| MICROSCOPIA | | | | | |
|  | | | | | |
| Tamaño promedio de espora: 3.7 µm ± 0.1 | | | | | |
| <p>La características microscópicas del <i>Trichoderma atroviride</i> son: hongo filamentoso con micelio ramificado y septado: conidios alargados y fusiformes de coloración de verde oscura a negra, dispuestos en cadenas y forma de red ramificada; las hifas presentan una pared celular delgada y septos; también se pueden observar las ascosporas en el micelio en forma de estructuras redondeadas y con paredes gruesas.</p> | | | | | |

|  | | | | |
|---|---|---------------------------------|---------------|---|
| COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA | | | | |
| Ficha # 6 | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Niesslia mucida</i> | | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Código del cepario: R6 | | Color anverso | Centro: — | |
| Anverso |  | | Medio: Blanco | |
| | | | Anillo: — | |
| | | | Borde: — | |
| | | Textura | Algodonosa | |
| | | Liso | X | |
| | | Aspecto | Irregular | |
| | | | Radiado | X |
| Reverso |  | Altura del micelio | Alto | |
| | | | Medio | |
| | | | Bajo | X |
| | | | Irregular | |
| | | Tipo de crecimiento | Denso | |
| | | | Regular | X |
| Tenue | | | | |

| | | | |
|--|--|-----------------------|-----------------|
|  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | |
| | Color reverso | <i>Centro: —</i> | |
| | | <i>Medio: Durazno</i> | |
| | | <i>Borde: —</i> | |
| | Exudado | NO | Color: — |
| Esporulación | NO | Color: — | |
| Tiempo de esporulación (días): — | | | |
| MICROSCOPIA | | | |
| <div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> | | | |
| Tamaño promedio de espora: 3.4 μm ± 0.4 | | | |
| <p>Algunas características microscópicas del <i>Niesslia mucida</i> son: hongo con esporas hialinas y lisas, ascos pequeños de aproximadamente 3-5 μm de diámetro que contienen 8 esporas cada uno; ascosporas verrugosas y hifas delgadas y septadas.</p> | | | |

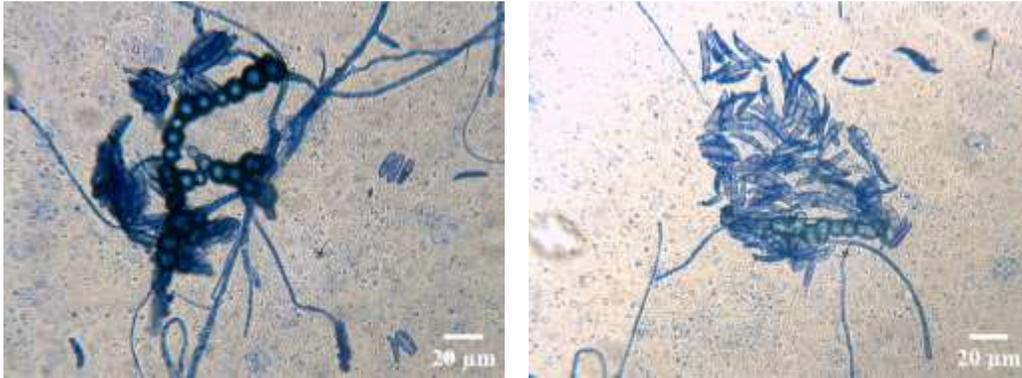
|  | | | | | |
|---|---|----------------------|--|---------|------------|
| COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA | | | | | |
| Ficha # 7 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Irpex laceratus</i> | | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | | |
| Código del cepario: R7 | | Color anverso | Centro: blanco | | |
| Anverso |  | | Medio: — | | |
| | | | Anillo: — | | |
| | | | Borde: — | | |
| | | | <table border="1"> <tr> <td rowspan="2">Textura</td> <td>Algodonosa</td> <td>X</td> </tr> <tr> <td>Polvosa</td> <td></td> </tr> </table> | Textura | Algodonosa |
| Textura | Algodonosa | X | | | |
| | Polvosa | | | | |
| <table border="1"> <tr> <td rowspan="2">Aspecto</td> <td>Irregular</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Radiado</td> <td>X</td> </tr> </table> | Aspecto | Irregular | | Radiado | X |
| Aspecto | | Irregular | | | |
| | Radiado | X | | | |
| Reverso |  | Altura del micelio | Alto | | |
| | | | Medio | | |
| | | | Bajo | X | |
| | | | Irregular | | |
| | | Tipo de crecimiento | Denso | | |
| | | | Regular | | |
| Tenue | X | | | | |
| Color reverso | Centro: blanco | Esporulación | NO | | |
| | Medio: — | Exudado | NO | | |
| | Borde: — | Color del exudado: — | | | |

MICROSCOPIA

Tamaño promedio de espóra: $2.4 \mu\text{m} \pm 0.4$

El hongo *Irpex laceratus* tiene: hifas hialinas septadas con fíbulas; esporas esféricas, subglobosas, lisas y gutuladas. Presenta conidióforos laterales que emergen de las hifas y sostienen las esporas. Las hifas son ramificadas, con paredes delgadas y de coloración blanca. Forma una capa gelatinosa en la superficie del sustrato donde crece.

|  | | | | |
|---|---|----------------------|-----------------------------------|---|
| COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA | | | | |
| Ficha # 8 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Fusarium equiseti</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R8 | | Color anverso | Centro: naranja | |
| Anverso |  | Medio: — | Medio: — | |
| | | Anillo: — | Anillo: — | |
| | | | Borde: blanco | |
| | | Textura | Algodonosa | X |
| | | | Polvosa | |
| Aspecto | | Irregular | X | |
| | | Radiado | | |
| Reverso |  | Altura del micelio | Alto | |
| | | | Medio | |
| | | | Bajo | X |
| | | | Irregular | |
| | | Tipo de crecimiento | Denso | |
| | Regular | X | | |
| | Tenue | | | |
| Color reverso | Centro: rojo | Esporulación | NO | |
| | Medio: naranja | Exudado | NO | |
| | Borde: blanco | Color del exudado: — | | |

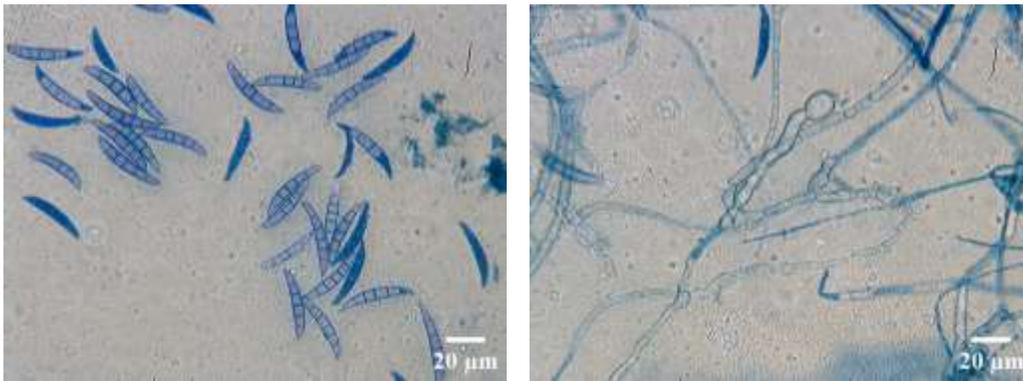
MICROSCOPIA

Tamaño promedio de espora: $19.8 \mu\text{m} \pm 1.4$

Las características del hongo *Fusarium equiseti* son: Micelio hialino y septado. Conidios en forma de banana, a veces curvados, de color amarillo a marrón; conidios unicelulares y raramente multicelulares formados por verrugas o espinas; tiene fialides que producen conidios en forma de cadena. Formación de macroconidios en cabeza terminal con forma de clava. Fragmentación de macroconidios en forma de arnés. Presencia de clamidosporas en cultivos viejos. Pared celular delgada y lisa.

**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | | |
|-------------------------------------|---|----------------------------|---|------------|----|
| Ficha # 9 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Fusarium graminearum</i> | | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | | |
| Código del cepario: R10 | | Color anverso | Centro: Rojo | | |
| Anverso |  | | Medio: Rosado | | |
| | | | Anillo: — | | |
| | | | Borde: Blanco | | |
| | | Textura | | Algodonosa | X |
| | | | Polvosa | | |
| | | Aspecto | | Irregular | X |
| | | | | Radiado | |
| Reverso |  | Altura del micelio | | Alto | |
| | | | | Medio | |
| | | | | Bajo | |
| | | | | Irregular | X |
| | | Tipo de crecimiento | | Denso | |
| | | | | Regular | X |
| | | Tenue | | | |
| Color reverso | | Centro: Rojo | Esporulación | | — |
| | | Medio: Rosado | Exudado | | SI |
| | | Borde: Blanco | Color del exudado: Rojo | | |

MICROSCOPIA

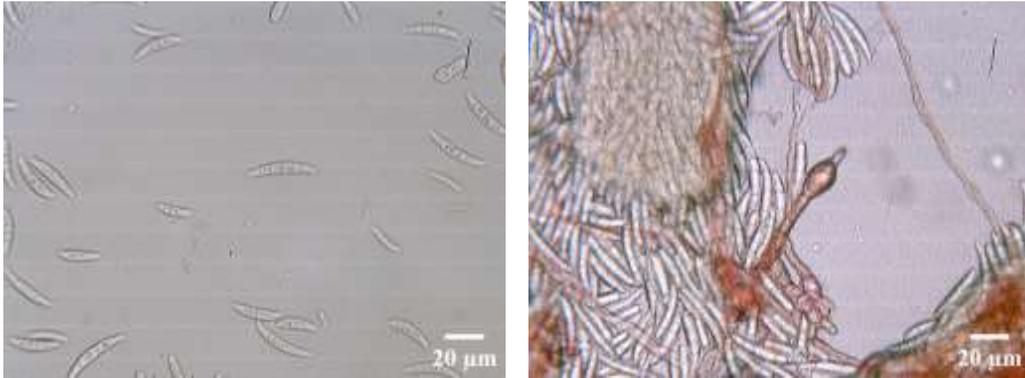
Tamaño promedio de conidióforo: $34.9 \mu\text{m} \pm 1$

El hongo *Fusarium graminearum* presenta conidios con forma ligeramente curvada, miden aproximadamente 10-25 μm de longitud; los conidióforos son simples de aproximadamente 10 a 100 μm ; sus colores pueden variar desde blanco a rosa y rojo, dependiendo de las condiciones de crecimiento y la maduración de las esporas.



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | | |
|------------------------------------|---|----------------------------|---|-------------------|---|
| Ficha # 10 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Fusarium graminearum</i> | | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | | |
| Código del cepario: R10 | | Color anverso | <i>Centro:</i> Rojo | | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> Rojo | | |
| | | | <i>Anillo:</i> — | | |
| | | | <i>Borde:</i> Blanco | | |
| | | Textura | | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | <i>Polvosa</i> | | | |
| Aspecto | | <i>Irregular</i> | | X | |
| | | <i>Radiado</i> | | | |
| Reverso |  | Altura del micelio | | <i>Alto</i> | |
| | | | | <i>Medio</i> | |
| | | | | <i>Bajo</i> | |
| | | | | <i>Irregular</i> | X |
| | | Tipo de crecimiento | | <i>Denso</i> | |
| | | | | <i>Regular</i> | |
| | | <i>Tenue</i> | | | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> Rojo | | Esporulación | — | |
| | <i>Medio:</i> Rosado | | Exudado | SI | |
| | <i>Borde:</i> Blanco | | Color del exudado: Fucsia anillos | | |

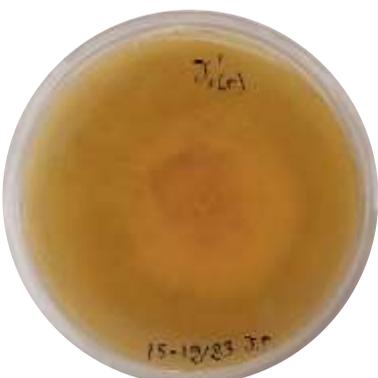
MICROSCOPIA

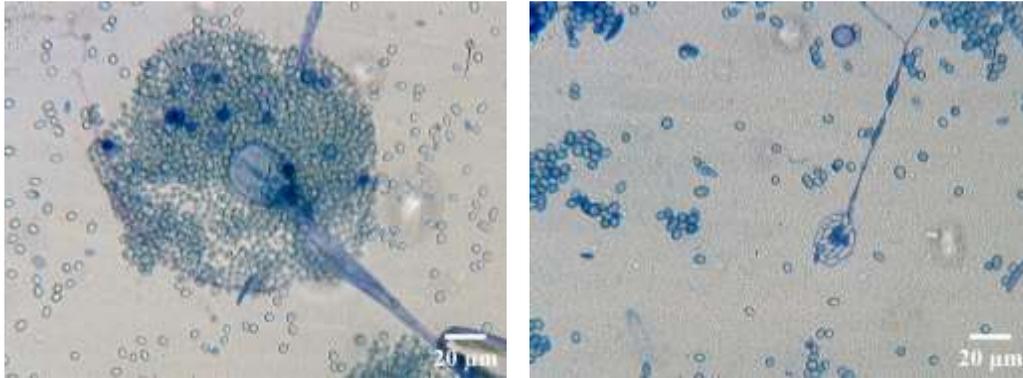
Tamaño promedio de espora: $25.1 \mu\text{m} \pm 6.1$

El *Fusarium graminearum* presenta conidios que tienen forma ligeramente curvada y miden aproximadamente 10-25 μm de longitud. Los conidióforos son simples de aproximadamente 10 a 100 μm . Sus estructuras pueden variar en color, desde blanco a rosa y rojo, dependiendo de las condiciones de crecimiento y la maduración de las esporas.



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|------------------------------------|---|----------------------------|---------------------------------------|-------------------|
| Ficha # 11 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Mucor hiemalis</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R28 | | Color anverso | <i>Centro:</i> amarillo pálido | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> gris | |
| | | | <i>Anillo:</i> - | |
| | | | <i>Borde:</i> gris oscuro | |
| | | | Textura | <i>Algodonosa</i> |
| | | | <i>Polvosa</i> | |
| Aspecto | | <i>Irregular</i> | | |
| | | <i>Radiado</i> | X | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | |
| | | | <i>Bajo</i> | |
| | | | <i>Irregular</i> | |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | |
| <i>Regular</i> | X | | | |
| <i>Tenue</i> | | | | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> amarillo | | Esporulación | - |
| | <i>Medio:</i> | | Exudado | SI |
| | <i>Borde:</i> | | Color del exudado: amarillo | |

MICROSCOPIA

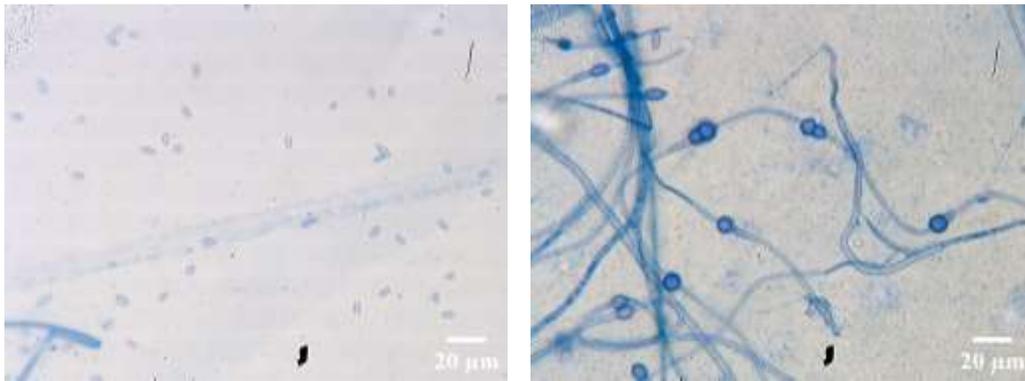
Tamaño promedio de espora: $5.5 \mu\text{m} \pm 0.6$

Algunas características microscópicas del *Mucor hiemalis* son: esporangios grandes y globosos, de color oscuro, que contienen esporas esféricas; hifas cenocíticas y rizoides; también se observan zigosporas, que se forman a partir de la fusión de gametangios de diferentes micelios.



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|------------------------------------|---|-----------------------------|--|----|
| Ficha # 12 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Fusarium solani</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R12 | | Color anverso | <i>Centro:</i> Blanco | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> Lila | |
| | | | <i>Anillo:</i> — | |
| | | | <i>Borde:</i> Blanco | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | <i>Polvosa</i> | | |
| Aspecto | | <i>Irregular</i> | X | |
| | | <i>Radiado</i> | | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | X |
| | | | <i>Bajo</i> | |
| | | | <i>Irregular</i> | |
| Tipo de crecimiento | | <i>Denso</i> | | |
| | | <i>Regular</i> | X | |
| | | <i>Tenue</i> | | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> — | Esporulación | — | |
| | <i>Medio:</i> Crema | | Exudado | NO |
| | <i>Borde:</i> — | Color del exudado: — | | |

MICROSCOPIA

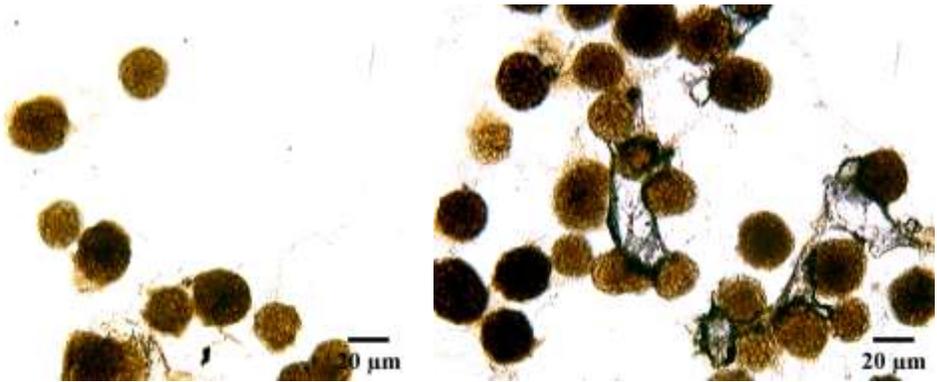
Tamaño promedio de espora: $6.1 \mu\text{m} \pm 0.7$

El *Fusarium solani* presenta: hifas septadas, conidios solitarios en fialides o en cadenas en las extremidades de picnidas; los conidios son hialinos, fusiformes o elipsoides, con una o dos células septadas; las picnidas son pequeñas y negras; los conidióforos son generalmente estructuras simples, lisos y septados, pueden ser rectos o ligeramente curvados; las clamidosporas son esféricas y multiseptadas; macroconidias hialinas, en forma de hoz, rectas o ligeramente curvadas, a menudo tienen una célula basal más amplia y un pico agudo en la punta.



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

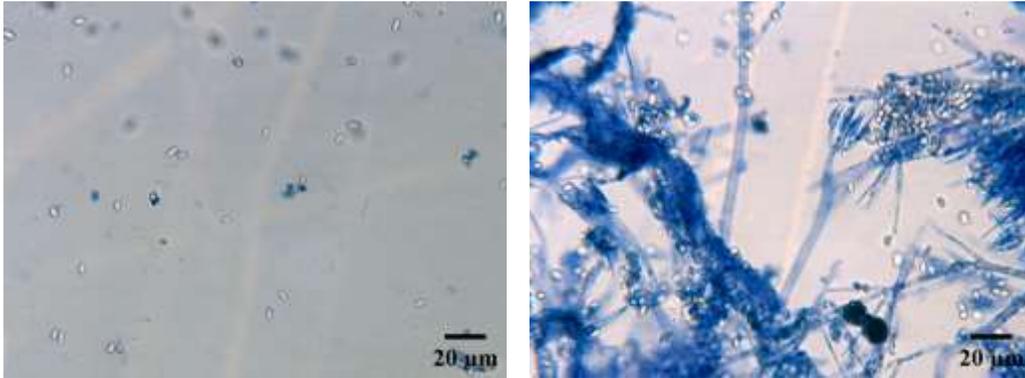
| | | | | |
|-------------------------------------|---|----------------------------|---|---|
| Ficha # 13 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Minimedusa polyspora</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Código del cepario: R13 | | Color anverso | <i>Centro:</i> Blanco | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> Rojo | |
| | | | <i>Anillo:</i> Blanco | |
| | | | <i>Borde:</i> Blanco | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | |
| <i>Polvosa</i> | X | | | |
| Aspecto | <i>Irregular</i> | | | |
| | <i>Radiado</i> | X | | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | |
| | | | <i>Bajo</i> | X |
| | | | <i>Irregular</i> | |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | |
| <i>Regular</i> | X | | | |
| <i>Tenue</i> | | | | |

| | | | |
|--|---|---------------------------------|---------------|
| Esporulación |  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | |
| | | Color reverso | Centro: Rojo |
| | | | Medio: — |
| | | | Borde: Blanco |
| | | Exudado: — | NO |
| Color de esporulación: Rojo | | | |
| Tiempo de esporulación (días): 2 | | | |
| MICROSCOPIA | | | |
|  | | | |
| Tamaño promedio de espora: 28.1 µm ± 2.6 | | | |
| <p>Las características descritas para <i>M. polyspora</i>: los bulbillos se producen individualmente o en grupos pequeños, compuestos por 2 o 3 cuerpos cercanos. El micelio se encuentra en el fondo del crecimiento, y los bulbillos en la parte superior.</p> | | | |



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|------------------------------------|---|----------------------------|--|----|
| Ficha # 14 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Clarireedia bennettii</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R14 | | Color anverso | <i>Centro:</i> — | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> Blanco | |
| | | | <i>Anillo:</i> — | |
| | | | <i>Borde:</i> — | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | <i>Polvosa</i> | | |
| Aspecto | | <i>Irregular</i> | | |
| | | <i>Radiado</i> | X | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | X |
| | | | <i>Medio</i> | |
| | | | <i>Bajo</i> | |
| | | | <i>Irregular</i> | |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | X |
| | | | <i>Regular</i> | |
| | <i>Tenue</i> | | | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> Gris | | Esporulación | — |
| | <i>Medio:</i> — | | Exudado | SI |
| | <i>Borde:</i> Blanco | | Color del exudado: Negro | |

MICROSCOPIA

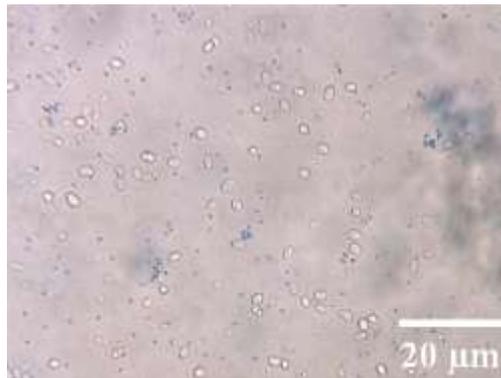
Tamaño promedio de espora: $5.6 \mu\text{m} \pm 0.4$

Clariireedia bennettii es un hongo filamentososo que pertenece al grupo de los hongos mucorales. Algunas características microscópicas son: Hifas no septadas; esporangios en forma de globo con esporangiosporas en su interior. Este género de hongo es relativamente nuevo, por lo tanto sus características microscópicas y su biología aún no son completas.



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|------------------------------------|---|----------------------------|--|------------------|
| Ficha # 15 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Mucor irregularis</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R15 | | Color anverso | <i>Centro: blanco</i> | |
| Anverso |  | | <i>Medio: blanco</i> | |
| | | | <i>Anillo: -</i> | |
| | | | <i>Borde: blanco</i> | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | <i>Polvosa</i> | | |
| | | Aspecto | <i>Irregular</i> | |
| | | | <i>Radiado</i> | X |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | X |
| | | | <i>Medio</i> | |
| | | | <i>Bajo</i> | |
| | | | | <i>Irregular</i> |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | X |
| | | | <i>Regular</i> | |
| | | | <i>Tenue</i> | |
| Color reverso | <i>Centro: amarillo tenue</i> | | Esporulación | Color: |
| | <i>Medio: amarillo tenue</i> | | Exudado | |
| | <i>Borde: amarillo tenue</i> | | Color del exudado: | |

MICROSCOPIA

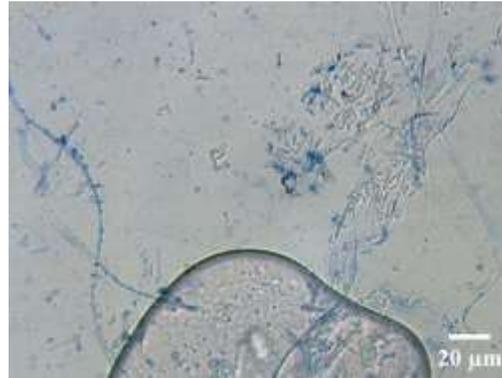
Tamaño promedio de espora: $2.6 \mu\text{m} \pm 0.3$

Mucor irregularis, sus características microscópicas entre otras son: Hifas no septadas; esporangios en forma de globo que contienen esporangiosporas en su interior, estos esporangios son más grandes que los de otros hongos mucorales y pueden contener un gran número de esporas con una columela sólida bien desarrollada en el centro del esporangio. El Mucor es bastante diverso y las características microscópicas pueden variar entre las diferentes especies. Por lo tanto, algunas de estas características no constan en todas las especies de Mucor, incluido en mismo Mucor irregularis.



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|------------------------------------|---|----------------------------|--|----|
| Ficha # 16 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Flavocillium bifurcatum</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R16 | | Color anverso | <i>Centro:</i> — | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> blanco | |
| | | <i>Anillo:</i> — | | |
| | | <i>Borde:</i> — | | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | | <i>Polvosa</i> | |
| | | Aspecto | <i>Irregular</i> | X |
| | | | <i>Radiado</i> | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | |
| <i>Bajo</i> | X | | | |
| <i>Irregular</i> | | | | |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | |
| | | | <i>Regular</i> | X |
| | | | <i>Tenue</i> | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> naranja | | Esporulación | NO |
| | <i>Medio:</i> — | | Exudado | NO |
| | <i>Borde:</i> blanco | | Color del exudado: — | |

MICROSCOPIA

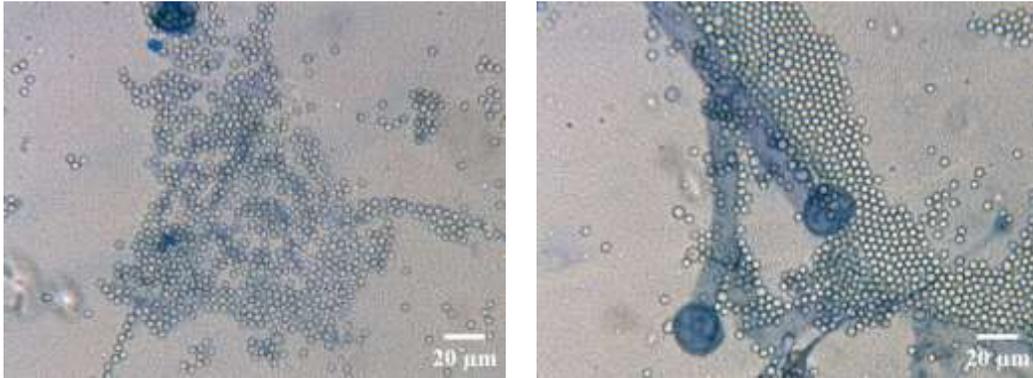
Tamaño promedio de espora: $5.3 \mu\text{m} \pm 1$

El Hongo *Flavocillium bifurcatum* muestra: estroma carnoso con una rama terminal bifurcada, partes fértiles solitarias, amarillentas y retorcidas; conidióforos largos; fiálidas lanceoladas; dos tipos de macroconidias cimbiformes y microconidias de elipsoidales a reniformes.



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|------------------------------------|---|-----------------------------|---------------------------------------|-----------------|
| Ficha # 17 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Xylariales sp.</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: J42 | | Color anverso | <i>Centro:</i> blanco | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> gris pálido | |
| | | | <i>Anillo:</i> — | |
| | | | <i>Borde:</i> — | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | <i>Polvosa</i> | | |
| | | Aspecto | <i>Irregular</i> | |
| | | | <i>Radiado</i> | X |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | |
| | | | <i>Bajo</i> | X |
| | | | <i>Irregular</i> | |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | |
| | <i>Regular</i> | | | |
| | <i>Tenue</i> | X | | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> crema | Esporulación | NO | Color: — |
| | <i>Medio:</i> — | | Exudado | NO |
| | <i>Borde:</i> — | Color del exudado: — | | |

MICROSCOPIA

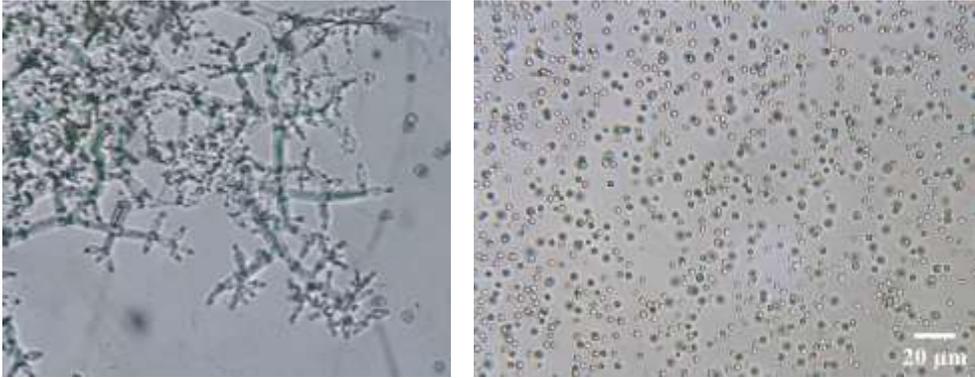
Tamaño promedio de espora: $3.7 \mu\text{m} \pm 0.2$

Algunas características de los hongos Xylariales son: hifas estériles; conidios cuyo tamaño puede variar desde unos pocos micrómetros a 20-30 μm ; también puede formar cuerpos fructíferos.



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

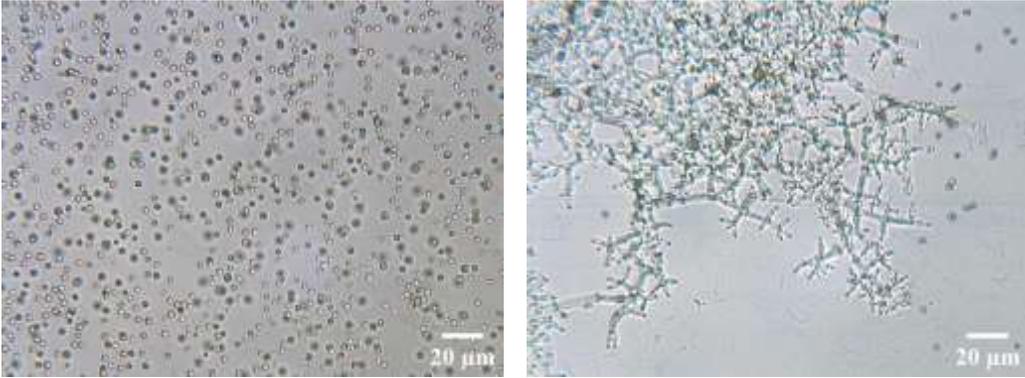
| | | | | |
|-------------------------------------|---|----------------------------|--|---|
| Ficha # 18 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Trichoderma harzianum</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Código del cepario: R18 | | Color anverso | <i>Centro:</i> amarillo | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> blanco | |
| | | | <i>Anillo:</i> verde | |
| | | | <i>Borde:</i> verde | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| <i>Polvosa</i> | | | | |
| Aspecto | <i>Irregular</i> | | | |
| | <i>Radiado</i> | X | | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | |
| | | | <i>Bajo</i> | X |
| | | | <i>Irregular</i> | |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | X |
| | | | <i>Regular</i> | |
| <i>Tenue</i> | | | | |

| | | | | | |
|--|---|--|----------------------------|---------------------|--|
| Esporulación |  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | | |
| | | Color reverso | <i>Centro: translúcido</i> | | |
| | | | <i>Medio: verde</i> | | |
| | | | <i>Borde: verde</i> | | |
| | | Exudado | NO | Color: — | |
| | | Esporulación | SI | Color: verde | |
| Tiempo de esporulación (días): 2 | | | | | |
| MICROSCOPIA | | | | | |
|  | | | | | |
| Tamaño promedio de espora: 3.0 μm ± 0.4 | | | | | |
| <p>Trichoderma harzianum es un hongo filamentoso cuyas características microscópicas incluyen: Hifas septadas, abundantes conidios pequeños de forma cilíndrica o fusiforme en cadenas ramificadas y de aspecto hialino.</p> | | | | | |

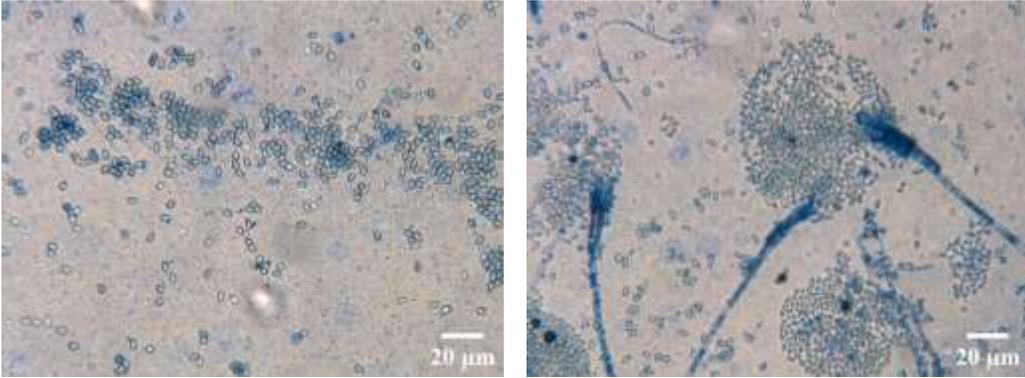


**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

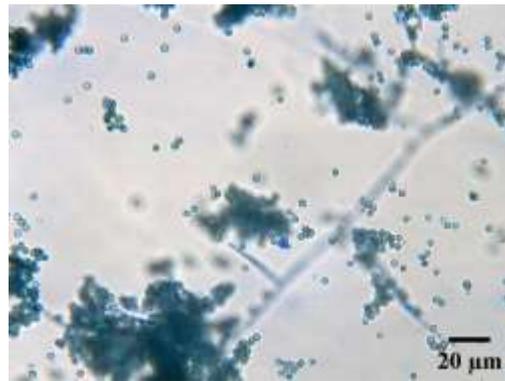
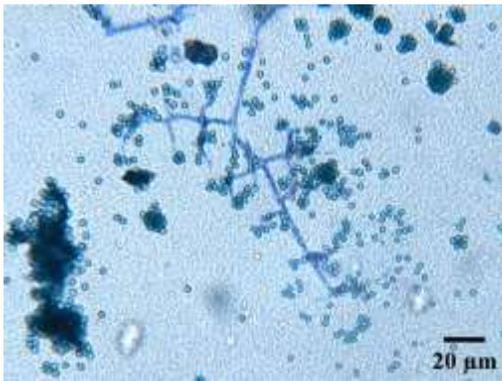
| | | | | |
|-------------------------------------|---|----------------------------|--|---|
| Ficha # 19 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Trichoderma spirale</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Código del cepario: R19 | | Color anverso | <i>Centro:</i> crema | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> blanco | |
| | | | <i>Anillo:</i> — | |
| | | | <i>Borde:</i> — | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| <i>Polvosa</i> | | | | |
| Aspecto | <i>Irregular</i> | | | |
| | <i>Radiado</i> | X | | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | X |
| | | | <i>Bajo</i> | |
| | | | <i>Irregular</i> | |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | X |
| | | | <i>Regular</i> | |
| <i>Tenue</i> | | | | |

| | | | | | |
|--|---|--|------------------------|------------------------|--|
| Esporulación |  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | | |
| | | Color reverso | <i>Centro: naranja</i> | | |
| | | | <i>Medio: crema</i> | | |
| | | | <i>Borde: —</i> | | |
| | | Exudado | SI | Color: amarillo | |
| | | Esporulación | SI | Color: verde | |
| Tiempo de esporulación (días): 2 | | | | | |
| MICROSCOPIA | | | | | |
|  | | | | | |
| Tamaño promedio de espora: $3.3 \mu\text{m} \pm 0.2$ | | | | | |
| <p>Trichoderma spirale presenta: hifas septadas, conidios pequeños de forma cilíndrica o fusiforme, y suelen ser hialinos. El micelio puede mostrar una apariencia ramificada en patrones específicos.</p> | | | | | |

|  | | | | |
|--|---|----------------------------|--|---|
| COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA | | | | |
| Ficha # 20 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Clonostachys solani</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Código del cepario: R20 | | Color anverso | <i>Centro:</i> — | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> blanco | |
| | | | <i>Anillo:</i> — | |
| | | | <i>Borde:</i> — | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | <i>Polvosa</i> | | | |
| | Aspecto | <i>Irregular</i> | | |
| | | <i>Radiado</i> | X | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | |
| | | | <i>Bajo</i> | X |
| | | | <i>Irregular</i> | |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | |
| | | | <i>Regular</i> | X |
| | <i>Tenue</i> | | | |

| | | | |
|--|--|------------------------|-----------------|
|  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | |
| | Color reverso | <i>Centro: naranja</i> | |
| | | <i>Medio: amarillo</i> | |
| | | <i>Borde: crema</i> | |
| | Exudado | NO | Color: — |
| Esporulación | SI | Color: marrón | |
| Tiempo de esporulación (días): 3 | | | |
| MICROSCOPIA | | | |
|  | | | |
| Tamaño promedio de espora: 4.3 µm ± 0.3 | | | |
| <p>Algunas características microscópicas del hongo <i>Clonostachys solani</i> son: hifas septadas; conidios hialinos de forma cilíndrica o fusiforme en gran cantidad; conidióforos ramificados.</p> | | | |

|  | | | | | |
|--|---|--------------------------|---|----|--------------|
| COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA | | | | | |
| Ficha # 21 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Trichoderma atroviride</i> | | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | | |
| Código del cepario: R21 | | Color anverso | Centro: verde | | |
| Anverso |  | | Medio: blanco | | |
| | | Anillo: — | | | |
| | | Borde: verde | | | |
| | | Textura | Algodonosa | X | |
| | | | Polvosa | | |
| | | Aspecto | Irregular | | |
| | | | Radiado | | |
| | | | | X | |
| Reverso |  | Altura del micelio | Alto | | |
| | | | Medio | | |
| | | Bajo | | X | |
| | | Irregular | | | |
| | | Tipo de crecimiento | Denso | X | |
| | | | Regular | | |
| | | | Tenue | | |
| Color reverso | Centro: translúcido | | Esporulación | SI | Color: verde |
| | Medio: — | | Exudado | NO | |
| | Borde: blanco | | Color del exudado: | — | |

MICROSCOPIA

Tamaño promedio de espora: $3.7 \mu\text{m} \pm 0.3$

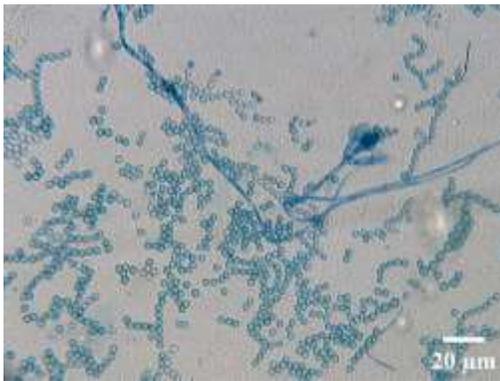
El hongo *Trichoderma atroviride* presenta características microscópicas como: hifas septadas; conidios de forma cilíndrica o fusiforme de aspecto hialino en gran cantidad en cadenas; conidióforos en forma ramificada, su tamaño puede ser variado, generalmente en el rango de 3-5 μm de longitud.



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | | |
|------------------------------------|---|----------------------------|---|----------------|---------------------------|
| Ficha # 22 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Penicillium camemberti</i> | | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | | |
| Código del cepario: R22 | | Color anverso | <i>Centro:</i> — | | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> verde | | |
| | | <i>Anillo:</i> — | | | |
| | | <i>Borde:</i> blanco | | | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | | |
| | | | <i>Polvosa</i> | X | |
| | | Aspecto | <i>Irregular</i> | | |
| | | | <i>Radiado</i> | X | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | | |
| | | | <i>Medio</i> | | |
| | | <i>Bajo</i> | X | | |
| | | <i>Irregular</i> | | | |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | | |
| | | | <i>Regular</i> | X | |
| | | | <i>Tenue</i> | | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> blanco | | Esporulación | SI | Color: verde polvo |
| | <i>Medio:</i> — | | | Exudado | |
| | <i>Borde:</i> crema | | Color del exudado: — | | |

MICROSCOPIA

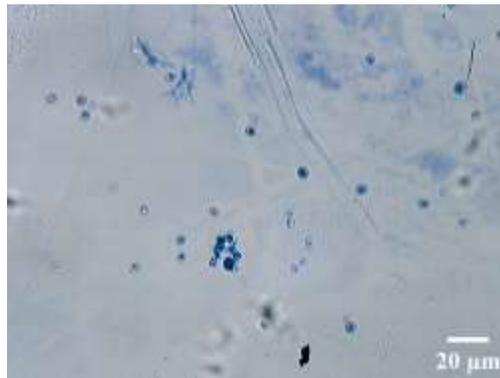
Tamaño promedio de espora: $3.1 \mu\text{m} \pm 0.2$

El *Penicillium camemberti* presenta características microscópicas como: hifas septadas que se extienden en diferentes direcciones; conidias en gran cantidad; esporas ovales o elipsoides que miden aproximadamente 3-5 μm de longitud. Los conidióforos se ramifican en forma de cepillo, son relativamente largos y delgados, pueden tener un color claro a grisáceo, dependiendo de las condiciones de crecimiento y la edad de la colonia, y su superficie puede ser lisa o ligeramente rugosa.



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|-------------------------------------|---|----------------------------|---|----------------|
| Ficha # 23 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Fusarium oxysporum</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R34 | | Color anverso | <i>Centro:</i> lila | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> — | |
| | | <i>Anillo:</i> — | | |
| | | <i>Borde:</i> blanco | | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | | <i>Polvosa</i> | |
| | | Aspecto | <i>Irregular</i> | |
| | | | <i>Radiado</i> | X |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | X |
| <i>Bajo</i> | | | | |
| <i>Irregular</i> | | | | |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | |
| | | | <i>Regular</i> | X |
| | | | <i>Tenue</i> | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> rojo | | Esporulación | NO |
| | <i>Medio:</i> naranja | | | Exudado |
| | <i>Borde:</i> crema | | Color del exudado: marrón | |

MICROSCOPIA

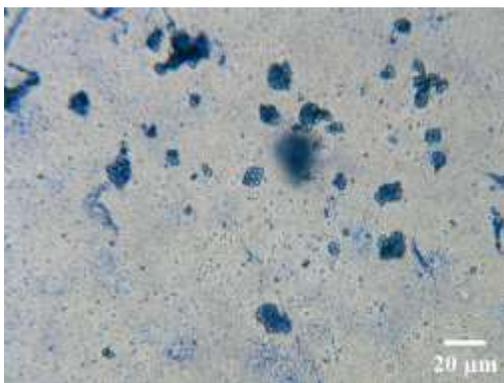
Tamaño promedio de espora: $5.4 \mu\text{m} \pm 0.4$

Algunas características microscópicas de *Fusarium oxysporum* son: hifas septadas; conidios en cadenas que pueden ser simples o ramificados, generalmente rectos o ligeramente curvados en forma de banana o en forma de huevo, suelen tener de 2 a 5 células y el tamaño puede variar, pero generalmente oscilan en el rango de 5 a 25 μm de longitud.

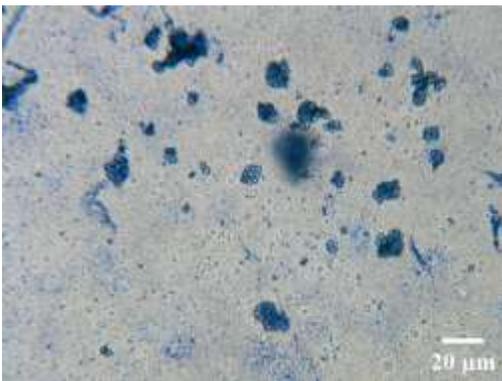


**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | | | |
|-------------------------------------|---|---------------------------|---|----------------------------|----------------|---|
| Ficha # 24 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Trichoderma gamsii</i> | | | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | | | |
| Código del cepario: R25 | | Color anverso | <i>Centro:</i> translúcido | | | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> puntos blancos | | | |
| | | | <i>Anillo:</i> — | | | |
| | | | <i>Borde:</i> blanco | | | |
| | | Textura | | <i>Algodonosa</i> | X | |
| | | | <i>Polvosa</i> | | | |
| | | Aspecto | <i>Irregular</i> | | | |
| | | | <i>Radiado</i> | X | | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | | | |
| | | | <i>Medio</i> | | | |
| | | | <i>Bajo</i> | X | | |
| | | | <i>Irregular</i> | | | |
| | | | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | X |
| | | | | | <i>Regular</i> | |
| | | <i>Tenue</i> | | | | |

| | | | | | |
|--|---|--|----------------------|---------------------|--|
| Esporulación |  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | | |
| | | Color reverso | <i>Centro: —</i> | | |
| | | | <i>Medio: blanco</i> | | |
| | | | <i>Borde: —</i> | | |
| | | Exudado | NO | Color: — | |
| | | Esporulación | SI | Color: verde | |
| Tiempo de esporulación (días): 2 | | | | | |
| MICROSCOPIA | | | | | |
|  | | | | | |
| Tamaño promedio de espora: 3.5 μm ± 0.3 | | | | | |
| <p>Algunas características microscópicas del <i>Trichoderma gamsii</i> son: hifas delgadas y ramificadas, con septos, suelen tener un diámetro de alrededor de 2-4 μm, los conidios tienen forma ovalada a cilíndrica y miden aproximadamente 2-4 μm de longitud; los conidióforos son ramificados y tienen una longitud variable, generalmente entre 10 y 50 μm, y son más gruesos que las hifas.</p> | | | | | |

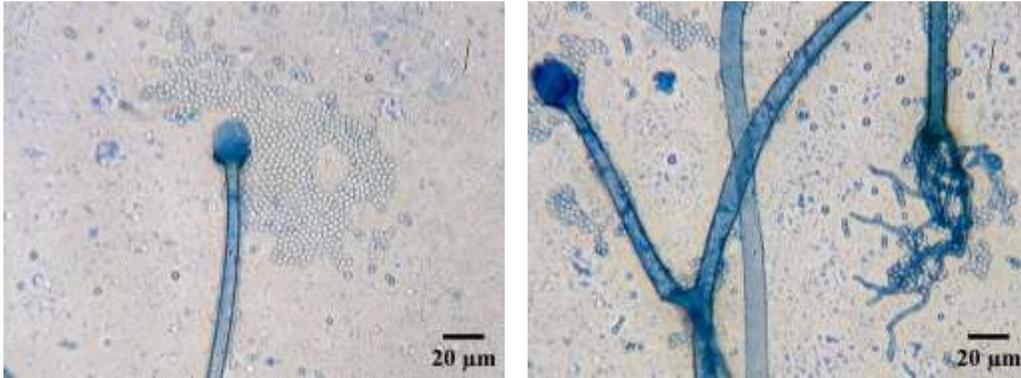
|  | | | | |
|---|---|---------------------|------------------------------------|------|
| COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA | | | | |
| Ficha # 25 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Trichoderma gamsii</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Código del cepario: R25 | | Color anverso | Centro: translúcido | |
| Anverso |  | | Medio: — | |
| | | | Anillo: — | |
| | | | Borde: blanco | |
| | | Textura | Algodonosa | X |
| Reverso |  | Aspecto | Polvosa | |
| | | | Irregular | |
| | | | Radiado | X |
| | | | Altura del micelio | Alto |
| |  | Tipo de crecimiento | Medio | |
| | | | Bajo | X |
| | | | Irregular | |
| | | | Denso | X |
| | | | Regular | |
| | | | Tenue | |

| | | | | | |
|--|---|--|----------------------------|---------------------|--|
| Esporulación |  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | | |
| | | Color reverso | <i>Centro: translúcido</i> | | |
| | | | <i>Medio: —</i> | | |
| | | | <i>Borde: blanco</i> | | |
| | | Exudado | NO | Color: — | |
| | | Esporulación | SI | Color: verde | |
| Tiempo de esporulación (días): 2 | | | | | |
| MICROSCOPIA | | | | | |
|  | | | | | |
| Tamaño promedio de espora: 3.5 μm ± 0.3 | | | | | |
| <p>Algunas características microscópicas del <i>Trichoderma gamsii</i> son: hifas delgadas y ramificadas, con septos, suelen tener un diámetro de alrededor de 2-4 μm. Los conidios tienen forma ovalada a cilíndrica y miden aproximadamente 2-4 μm de longitud; los conidióforos son ramificados y tienen una longitud variable, generalmente entre 10 y 50 μm, y son más gruesos que las hifas.</p> | | | | | |



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|------------------------------------|---|----------------------------|---------------------------------------|----|
| Ficha # 26 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Absidia glauca</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R26 | | Color anverso | <i>Centro:</i> — | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> blanco | |
| | | <i>Anillo:</i> — | | |
| | | <i>Borde:</i> — | | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | | <i>Polvosa</i> | |
| | | Aspecto | <i>Irregular</i> | X |
| | | | <i>Radiado</i> | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | |
| <i>Bajo</i> | X | | | |
| <i>Irregular</i> | | | | |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | |
| | | | <i>Regular</i> | X |
| | | | <i>Tenue</i> | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> — | | Esporulación | NO |
| | <i>Medio:</i> blanco | | Exudado | NO |
| | <i>Borde:</i> — | | Color del exudado: — | |

MICROSCOPIA

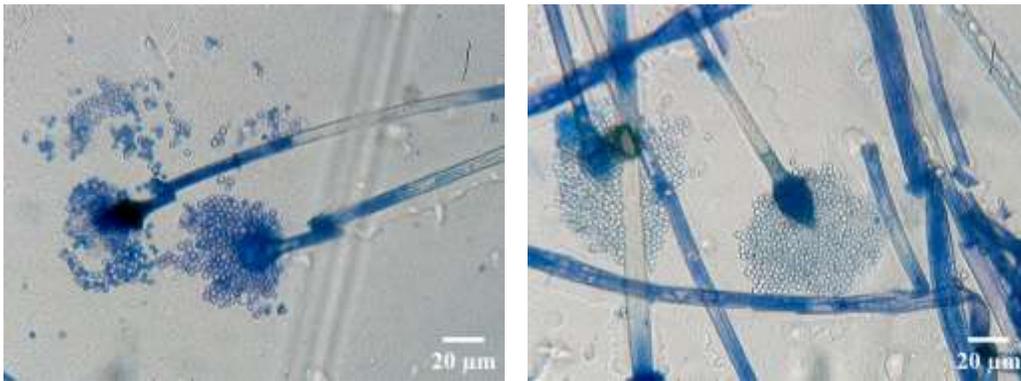
Tamaño promedio de espora: $2.9 \mu\text{m} \pm 0.1$

Características microscópicas del *Absidia glauca*: hifas largas, anchas y no septadas, tienen un diámetro de aproximadamente 5-15 μm ; los esporangios son simples, cortos y delgados en forma de globo que contienen esporangiosporas en su interior, tienen una longitud de aproximadamente 10-50 μm ; tiene esporangiosporas en gran cantidad, de forma ovalada a esférica y un tamaño de alrededor de 5-10 μm .



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

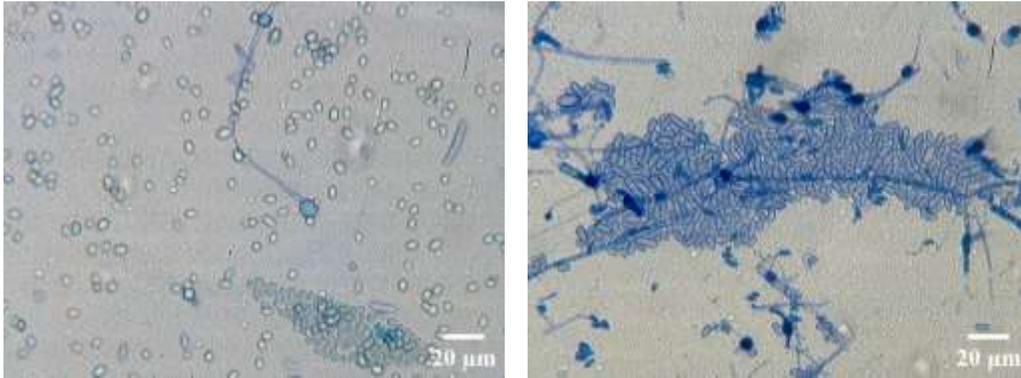
| | | | | | |
|------------------------------------|---|---------------------------|---------------------------------------|----------------------------|-----------------|
| Ficha # 27 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Absidia glauca</i> | | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | | |
| Código del cepario: R26 | | Color anverso | <i>Centro:</i> verde oscuro | | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> verde | | |
| | | | <i>Anillo:</i> — | | |
| | | | <i>Borde:</i> gris | | |
| | | Textura | | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | | <i>Polvosa</i> | | |
| | | Aspecto | <i>Irregular</i> | X | |
| | | | <i>Radiado</i> | | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | X | |
| | | | <i>Medio</i> | | |
| | | | <i>Bajo</i> | | |
| | | | <i>Irregular</i> | | |
| | | | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> |
| | | <i>Regular</i> | | | |
| | | <i>Tenue</i> | | | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> morado | | Esporulación | NO | Color: — |
| | <i>Medio:</i> crema | | Exudado | SI | |
| | <i>Borde:</i> blanco | | Color del exudado: morado | | |

MICROSCOPIA

Tamaño promedio de espora: $2.9 \mu\text{m} \pm 0.1$

Características microscópicas del *Absidia glauca*: hifas largas, anchas y no septadas, tienen un diámetro de aproximadamente 5-15 μm ; los esporangios son simples cortos y delgados en forma de globo que contienen esporangiosporas en su interior, tienen una longitud de aproximadamente 10-50 μm ; tiene esporangiosporas en gran cantidad de forma ovalada a esférica y un tamaño de alrededor de 5-10 μm .

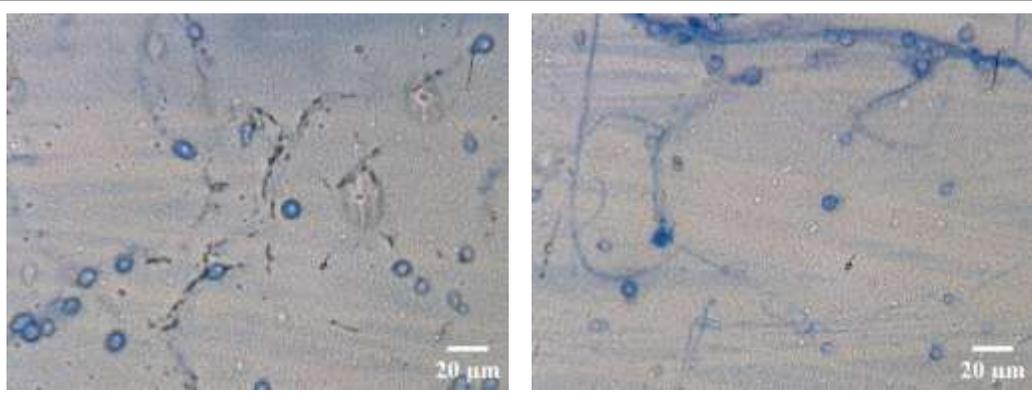
|  | | | | |
|---|---|----------------------|--------------------------------|----------|
| COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA | | | | |
| Ficha # 28 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Mucor hiemalis</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R28 | | Color anverso | Centro: lila | |
| Anverso |  | | Medio: gris | |
| | | | Anillo: — | |
| | | | Borde: blanco | |
| | | Textura | Algodonosa | X |
| | | Polvosa | | |
| | | Aspecto | Irregular | X |
| | | | Radiado | |
| Reverso |  | Altura del micelio | Alto | X |
| | | | Medio | |
| | | | Bajo | |
| | | | Irregular | |
| | | Tipo de crecimiento | Denso | X |
| | | | Regular | |
| | | Tenue | | |
| Color reverso | Centro: Lila | Esporulación | NO | Color: — |
| | Medio: Crema | Exudado | NO | |
| | Borde: Blanco | Color del exudado: — | | |

MICROSCOPIA

Tamaño promedio de espora: $5.5 \mu\text{m} \pm 06$

Algunas características microscópicas del *Mucor hiemalis* son: hifas largas, anchas y no septadas, con un diámetro de aproximadamente 6-15 μm ; los esporangióforos son largos y erectos, con ramificaciones superiores que sostienen los esporangios; los esporangios son estructuras grandes, redondeadas y de color claro, con un diámetro de alrededor de 30-50 μm ; las esporangiosporas son hialinas y multinucleadas, con un tamaño de aproximadamente 5-10 μm .

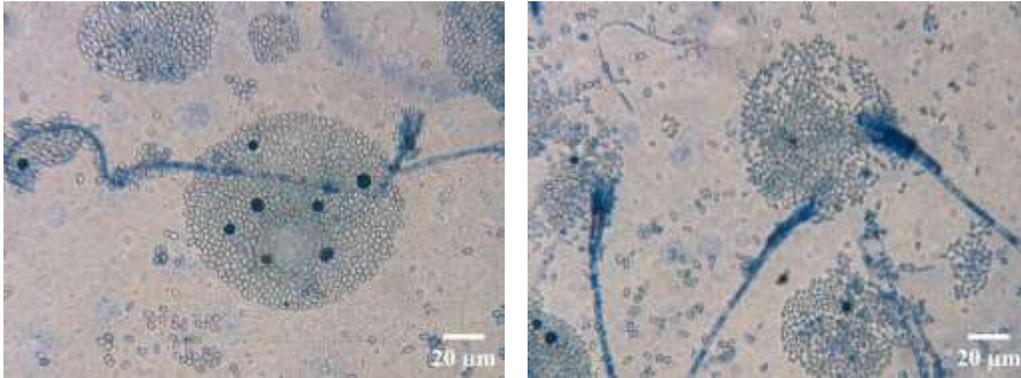
|  | | | | |
|---|---|---------------------|-------------------------------------|---|
| COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA | | | | |
| Ficha # 29 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Trichoderma hamatum</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Código del cepario: J35 | | Color anverso | Centro: blanco | |
| Anverso |  | | Medio: blanco | |
| | | | Anillo: — | |
| | | | Borde: — | |
| | | Textura | Algodonosa | X |
| | | | Polvosa | |
| | | Aspecto | Irregular | |
| | | | Radiado | X |
| Reverso |  | Altura del micelio | Alto | |
| | | | Medio | |
| | | | Bajo | X |
| | | | Irregular | |
| | | Tipo de crecimiento | Denso | |
| | | | Regular | X |
| Tenue | | | | |

| | | | | | |
|--|---|--|--------------------------|---------------------|--|
| Esporulación |  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | | |
| | | Color reverso | <i>Centro: crema</i> | | |
| | | | <i>Medio: estrellado</i> | | |
| | | | <i>Borde: —</i> | | |
| | | Exudado | NO | Color: — | |
| | | Esporulación | SI | Color: verde | |
| Tiempo de esporulación (días): 10 | | | | | |
| MICROSCOPIA | | | | | |
|  | | | | | |
| Tamaño promedio de espora: 7.3 µm ± 0.8 | | | | | |
| <p>Algunas características microscópicas del <i>Trichoderma hamatum</i> son: hifas delgadas y ramificadas, con septo, suelen tener un diámetro de alrededor de 2-4 µm; conidios de forma ovalada a cilíndrica, producidos en cadenas en las puntas de los conidióforos que miden aproximadamente 3-5 µm; los conidióforos son ramificados y tienen una longitud variable, generalmente entre 10 y 50 µm.</p> | | | | | |



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I – LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|------------------------------------|---|-----------------------------|--|-----------------|
| Ficha # 30 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Clonostachys solani</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R20 | | Color anverso | <i>Centro:</i> crema | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> blanco | |
| | | | <i>Anillo:</i> marrón claro | |
| | | | <i>Borde:</i> crema | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | <i>Polvosa</i> | | |
| | | Aspecto | <i>Irregular</i> | X |
| | | | <i>Radiado</i> | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | |
| | | | <i>Bajo</i> | X |
| | | | <i>Irregular</i> | |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | |
| | | | <i>Regular</i> | X |
| <i>Tenue</i> | | | | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> naranja | Esporulación | NO | Color: — |
| | <i>Medio:</i> amarillo | | Exudado | NO |
| | <i>Borde:</i> crema | Color del exudado: — | | |

MICROSCOPIA

Tamaño promedio de espora: $4.3 \mu\text{m} \pm 0.3$

Algunas características microscópicas del hongo *Clonostachys solani* son: Hifas septadas; conidios hialinos de forma cilíndrica o fusiforme en gran cantidad; conidióforos ramificados.

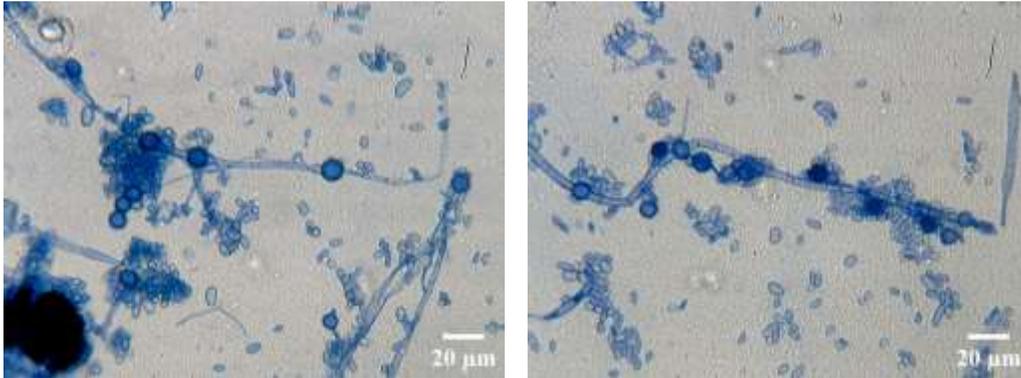


**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|-------------------------------------|---|---------------------------|---|---|
| Ficha # 31 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Epicoccum nigrum</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Código del cepario: R31 | | Color anverso | <i>Centro:</i> naranja | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> amarillo | |
| | | | <i>Anillo:</i> — | |
| | | | <i>Borde:</i> blanco | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | <i>Polvosa</i> | | | |
| Aspecto |  | <i>Irregular</i> | X | |
| | | <i>Radiado</i> | | |
| Reverso | | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | |
| | | | <i>Bajo</i> | X |
| | | | <i>Irregular</i> | |
| Tipo de crecimiento | | | <i>Denso</i> | |
| | | | <i>Regular</i> | X |
| | | | <i>Tenue</i> | |

| | | | |
|--|--|------------------------|-----------------------|
|  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | |
| | Color reverso | <i>Centro: rojo</i> | |
| | | <i>Medio: naranja</i> | |
| | | <i>Borde: amarillo</i> | |
| | Exudado | SI | Color: naranja |
| Esporulación | NO | Color: — | |
| Tiempo de esporulación (días): — | | | |
| MICROSCOPIA | | | |
|  | | | |
| Tamaño promedio de espora: 18.3 µm ± 1.1 | | | |
| <p>Algunas características microscópicas del <i>Epicoccum nigrum</i> son: hifas delgadas, septadas y ramificadas, tienen un diámetro de alrededor de 2-4 µm; conidios de forma ovalada a cilíndrica que miden aproximadamente 10-20 µm de longitud; conidióforos simples o ramificados con una longitud variable, generalmente entre 10 y 50 µm.</p> | | | |

|  | | | | |
|---|---|----------------------|--------------------------------|----------|
| COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS IASA I – LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA | | | | |
| Ficha # 32 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Mucor moelleri</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R32 | | Color anverso | Centro: — | |
| Anverso |  | | Medio: blanco | |
| | | Anillo: — | | |
| | | Borde: — | | |
| | | Textura | Algodonosa | X |
| | | | Polvosa | |
| | | Aspecto | Irregular | X |
| | | | Radiado | |
| Reverso |  | Altura del micelio | Alto | X |
| | | | Medio | |
| Bajo | | | | |
| Irregular | | | | |
| | | Tipo de crecimiento | Denso | X |
| | | | Regular | |
| | | | Tenue | |
| Color reverso | Centro: — | Esporulación | NO | Color: — |
| | Medio: blanco | | Exudado | NO |
| | Borde: — | Color del exudado: — | | |

MICROSCOPIA

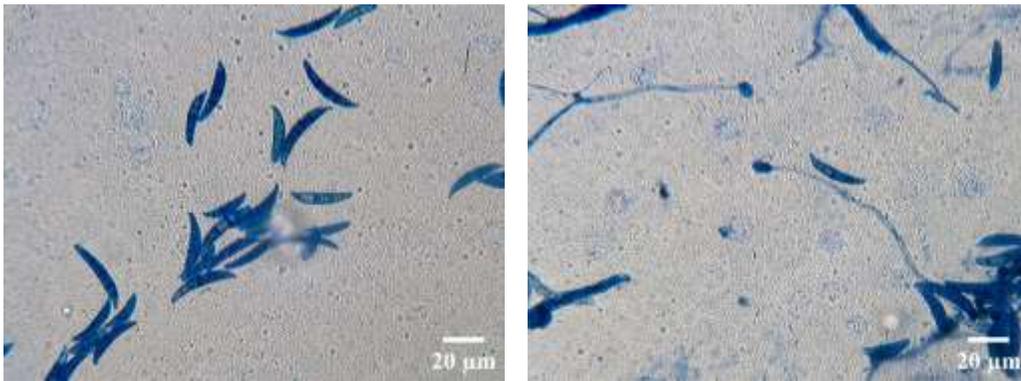
Tamaño promedio de espora: $7.0 \mu\text{m} \pm 0.8$

Algunas características microscópicas del *Mucor moelleri* **son**: hifas no septadas largas, anchas y ramificadas, con un diámetro de alrededor de 6-20 μm ; los esporangios contienen esporangiosporas esféricas u ovaladas que miden aproximadamente 5-10 μm de diámetro; tiene conidióforos simples, rectos o ligeramente curvados que se originan de las hifas principales y tienen una longitud de aproximadamente 50-200 μm .



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I – LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|------------------------------------|---|--------------------------------|--|-----------------|
| Ficha # 33 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Fusarium culmorum</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R33 | | Color anverso | <i>Centro:</i> rojo | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> naranja | |
| | | | <i>Anillo:</i> – | |
| | | | <i>Borde:</i> rosado | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | <i>Polvosa</i> | | |
| Aspecto | | <i>Irregular</i> | | |
| | | <i>Radiado</i> | X | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | |
| | | | <i>Bajo</i> | |
| | | | <i>Irregular</i> | X |
| Tipo de crecimiento | | <i>Denso</i> | | |
| | | <i>Regular</i> | X | |
| | | <i>Tenue</i> | | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> rojo oscuro | Esporulación | NO | Color: – |
| | <i>Medio:</i> – | | Exudado | |
| | <i>Borde:</i> rojo | Color del exudado: rojo | | |

MICROSCOPIA

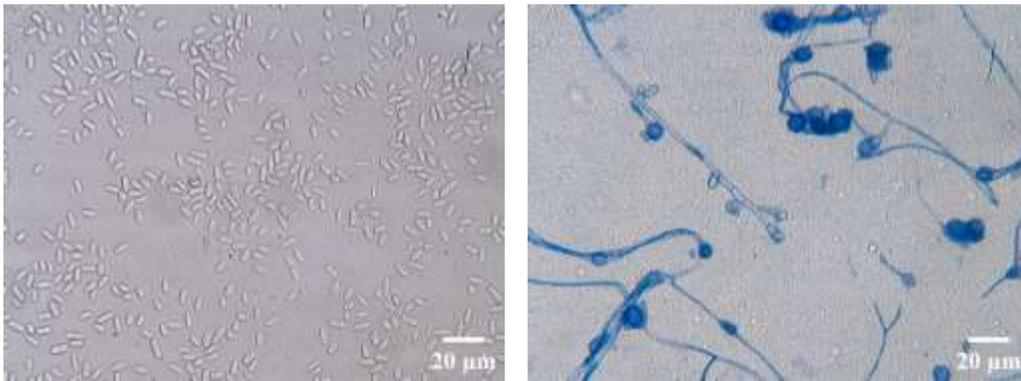
Tamaño promedio de conidióforos: $32.6 \mu\text{m} \pm 3.5$

Algunas características microscópicas del *Fusarium culmorum* son: hifas delgadas, septadas y ramificadas con un diámetro de alrededor de 2-6 µm; tiene cadenas de conidios de forma cilíndrica a fusiforme que miden aproximadamente 5-25 µm de longitud, producidos abundantemente en las puntas de los conidióforos; los conidióforos son simples o ramificados y tienen una longitud variable, generalmente entre 10 y 100 µm.



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I – LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

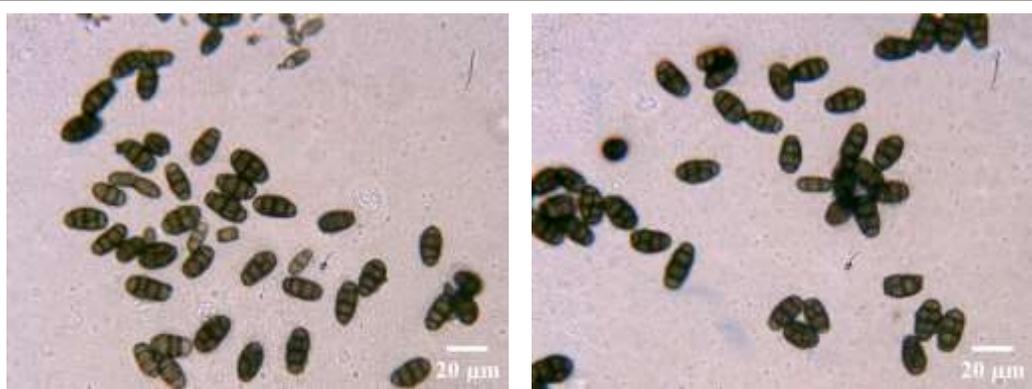
| | | | | |
|------------------------------------|---|----------------------------------|---|-----------------|
| Ficha # 34 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Fusarium oxysporum</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R34 | | Color anverso | <i>Centro:</i> morado | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> — | |
| | | | <i>Anillo:</i> — | |
| | | | <i>Borde:</i> blanco | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | <i>Polvosa</i> | | |
| Aspecto | | <i>Irregular</i> | | |
| | | <i>Radiado</i> | X | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | |
| | | | <i>Bajo</i> | X |
| | | | <i>Irregular</i> | |
| Tipo de crecimiento | | <i>Denso</i> | | |
| | | <i>Regular</i> | X | |
| | | <i>Tenue</i> | | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> morado | Esporulación | NO | Color: — |
| | <i>Medio:</i> — | | Exudado | SI |
| | <i>Borde:</i> blanco | Color del exudado: morado | | |

MICROSCOPIA

Tamaño promedio de espora: $7.3 \mu\text{m} \pm 0.5$

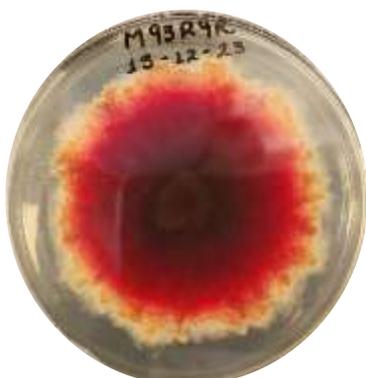
El *Fusarium oxysporum* muestra: hifas septadas; conidios en cadenas; los conidióforos pueden ser simples o ramificados, generalmente rectos o ligeramente curvados, pero más largos que los conidios; los conidios tienen forma de banana o de huevo, suelen tener de 2 a 5 células y el tamaño oscilan en el rango de 5 a 25 μm de longitud.

|  | | | | |
|---|---|---------------------|--|---|
| COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS IASA I – LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA | | | | |
| Ficha # 35 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Pseudopithomyces palmicola</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Código del cepario: R35 | | Color anverso | Centro: verde | |
| Anverso |  | | Medio: blanco | |
| | | | Anillo: – | |
| | | | Borde: gris | |
| | | Textura | Algodonosa | X |
| | | | Polvosa | |
| | | Aspecto | Irregular | |
| | | | Radiado | X |
| Reverso |  | Altura del micelio | Alto | |
| | | | Medio | |
| | | | Bajo | X |
| | | | Irregular | |
| | | Tipo de crecimiento | Denso | |
| | | | Regular | X |
| Tenue | | | | |

| | | | | | |
|--|---|--|-----------------------------|---------------------|--|
| Esporulación |  | Tiempo de crecimiento (días): 7 | | | |
| | | Color reverso | <i>Centro:</i> verde oscuro | | |
| | | | <i>Medio:</i> verde claro | | |
| | | | <i>Borde:</i> blanco | | |
| | | Exudado | SI | Color: verde | |
| | | Esporulación | SI | Color: verde | |
| Tiempo de esporulación (días): 2 | | | | | |
| MICROSCOPIA | | | | | |
|  | | | | | |
| Tamaño promedio de espora: 20.4 µm ± 1 | | | | | |
| <p>Algunas características microscópicas del <i>Pseudopithomyces palmicola</i> son: hifas delgadas, septadas y ramificadas con un diámetro de 2-4 µm aproximadamente; conidios en cadenas en las puntas de los conidióforos, tienen formas alargadas o de huevo, y miden aproximadamente 10-20 µm de longitud; los conidióforos son simples o ramificados y se originan de las hifas principales, tienen una longitud variable, generalmente entre 10 y 50 µm.</p> | | | | | |



**COLECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS
IASA I - LABORATORIO AGROBIOTECNOLOGÍA**

| | | | | |
|------------------------------------|---|--------------------------------|---|-----------------|
| Ficha # 36 | | Fecha: marzo 2024 | Especie: <i>Fusarium asiaticum</i> | |
| CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | |
| Cultivo a los 7 días de incubación | | | | |
| Código del cepario: R36 | | Color anverso | <i>Centro:</i> amarillo | |
| Anverso |  | | <i>Medio:</i> rojo | |
| | | | <i>Anillo:</i> — | |
| | | | <i>Borde:</i> blanco | |
| | | Textura | <i>Algodonosa</i> | X |
| | | <i>Polvosa</i> | | |
| Aspecto | | <i>Irregular</i> | | |
| | | <i>Radiado</i> | X | |
| Reverso |  | Altura del micelio | <i>Alto</i> | |
| | | | <i>Medio</i> | |
| | | | <i>Bajo</i> | |
| | | | <i>Irregular</i> | X |
| | | Tipo de crecimiento | <i>Denso</i> | |
| | | | <i>Regular</i> | X |
| <i>Tenue</i> | | | | |
| Color reverso | <i>Centro:</i> rojo | Esporulación | NO | Color: — |
| | <i>Medio:</i> naranja | | Exudado | |
| | <i>Borde:</i> blanco | Color del exudado: rojo | | |

MICROSCOPIA

Tamaño promedio de conidióforos: $41.5 \mu\text{m} \pm 3.1$

Algunas características microscópicas del *Fusarium asiaticum* son: hifas delgadas, septadas y ramificadas, con un diámetro de 2-6 μm aproximadamente; conidios en abundancia, producidas en cadenas en las puntas de los conidióforos con forma de fusiforme a ligeramente curvada que miden aproximadamente 10-25 μm de longitud; los conidióforos son simples o ramificados y se originan de las hifas principales, tienen una longitud variable, generalmente entre 10 y 100 μm .

Apéndice C

Tabla M

Codificación del cepario

| Código del cepario | Especie identificada |
|--------------------|--|
| R1 | <i>Clonostachys rosea</i> f. <i>catenulata</i> |
| R2 | <i>Mucor griseocyanus</i> |
| R3 | <i>Trichoderma atroviride</i> |
| R5 | <i>Trichoderma atroviride</i> |
| R6 | <i>Niesslia mucida</i> |
| R7 | <i>Irpex laceratus</i> |
| R8 | <i>Fusarium equiseti</i> |
| R10 | <i>Fusarium graminearum</i> |
| R12 | <i>Fusarium solani</i> |
| R13 | <i>Minimedusa polyspora</i> |
| R14 | <i>Clarireedia bennettii</i> |
| R15 | <i>Mucor irregularis</i> |
| R16 | <i>Flavocillium bifurcatum</i> |
| J42 | <i>Xylariales</i> sp. |
| R18 | <i>Trichoderma harzianum</i> |
| R19 | <i>Trichoderma spirale</i> |
| R20 | <i>Clonostachys solani</i> |
| R21 | <i>Trichoderma atroviride</i> |
| R22 | <i>Penicillium camemberti</i> |
| R25 | <i>Trichoderma gamsii</i> |
| R26 | <i>Absidia glauca</i> |
| R28 | <i>Mucor hiemalis</i> |
| J35 | <i>Trichoderma hamatum</i> |
| R31 | <i>Epicoccum nigrum</i> |
| R32 | <i>Mucor moelleri</i> |
| R33 | <i>Fusarium culmorum</i> |
| R34 | <i>Fusarium oxysporum</i> |
| R35 | <i>Pseudopithomyces palmicola</i> |
| R36 | <i>Fusarium asiaticum</i> |