



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA EN MEDIO AMBIENTE

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE
RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN FRUTOS DEL
COMPONENTE FLORÍSTICO EN EL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE
MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN
EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN
EL PERÍODO 2019 - 2020”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniera en Medio Ambiente.

Autora:

Guevara Castillo Katherine Adriana

Tutor:

Lic. Mg. Lema Pillalaza Jaime René

Latacunga – Ecuador

Septiembre 2020

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, **GUEVARA CASTILLO KATHERINE ADRIANA** declaro ser autor del presente proyecto de investigación: **“ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN FRUTOS DEL COMPONENTE FLORÍSTICO EN EL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 – 2020**

”Siendo el Lic. Mg. Lema Pillalaza Jaime René tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

.....
Guevara Castillo Katherine Adriana.

CC:1752916633

.....
Lic. Mg. Lema Pillalaza Jaime René.

CC: 1713759932

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **GUEVARA CASTILLO KATHERINE ADRIANA**, identificada/o con C.C. N° **1752916633** de estado civil soltera y con domicilio en la ciudad de Quito, Provincia de Pichincha, a quien en lo sucesivo se denominará **LA/EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.- LA/EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería en Medio Ambiente, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado de **“ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN FRUTOS DEL COMPONENTE FLORÍSTICO EN EL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 - 2020”** la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial académico:

Fecha de inicio de la carrera: Septiembre 2015- Febrero 2016

Fecha de finalización: Mayo 2020- Septiembre 2020

Aprobación Consejo Directivo: 7 de julio del 2020

Tutor: Lic. Mg. Lema Pillalaza Jaime René.

TEMA: “ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN FRUTOS DEL COMPONENTE FLORÍSTICO EN EL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BSPN01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 - 2020”

CLÁUSULA SEGUNDA. - LA CESIONARIA es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA/EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LA/EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA/EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA/EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA/EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 17 días del mes de septiembre del 2020.

.....

Guevara Castillo Katherine Adriana

EL CEDENTE

.....

Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

EL CESIONARIO

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el título: **“ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN FRUTOS DEL COMPONENTE FLORÍSTICO EN EL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 - 2020”** de **GUEVARA CASTILLO KATHERINE ADRIANA**, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Proyecto que el Honorable Consejo Académico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Latacunga, 17 de septiembre del 2020

.....
Lic. Mg. Lema Pillalaza Jaime René.

CC: 171375993-2

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el o los postulantes: **GUEVARA CASTILLO KATHERINE ADRIANA**, identificado con **C.C N° 175291663-3** con el Proyecto de Investigación, cuyo título es: **“ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN FRUTOS DEL COMPONENTE FLORÍSTICO EN EL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 - 2020”** han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al **Acto de Sustentación** en la fecha y hora señalada.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 17 septiembre 2020

Para constancia firman:

Ing. José Luis Agreda Oña. Mg
LECTOR 1 (PRESIDENTE)
CC: 0401332101

Ing. José Andrade Valencia Mg.
LECTOR 2
CC: 0502524481

Ing. Vladimir Bustamante Ortiz MSc.
LECTOR 3
CC:0502188451

AGRADECIMIENTO

Expreso mi más sincero agradecimiento primero a Dios y a todos quienes me incentivaron para el cumplimiento de esta tarea, en especial a mi padre, mi madre, mi hermano y mis abuelitos quienes me inculcaron desde un principio valores y deseos de superación.

Agradecer a mis amigas Karolina, Yajaira, Jessica y a una persona especial que me ayudo a llegar hasta aquí Jesse, que en todo momento estuvieron conmigo y me brindaron su amistad y su apoyo incondicional.

También quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Universidad Técnica de Cotopaxi, a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, a la carrera de Ingeniería en Medio Ambiente y a sus docentes especialmente a mi tutor y mis lectores por impartir sus conocimientos y experiencias laborales e inculcar valores, sabiduría para mi formación como profesional.

Katherine Adriana Guevara Castillo.

DEDICATORIA

Este triunfo y logro lo dedico de todo corazón primero a Dios a mis padres, mi hermano y mis abuelitos y a mi familia entera por haber sido un gran apoyo en toda mi carrera universitaria y a lo largo de mi vida, por su confianza, ayuda y motivación en cada paso que doy.

A mis amigas Karolina, Yajaira, Jessica por su amistad verdadera que me demostraron en los momentos buenos y malos que en la vida he enfrentado, y a una persona especial que ha regresado a mi vida (R).

Katherine Adriana Guevara Castillo.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TITULO: ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN FRUTOS DEL COMPONENTE FLORÍSTICO EN EL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 – 2020.

Autora: *Guevara Castillo Katherine Adriana*

RESUMEN

En la presente investigación se realizó el análisis de la información bibliográfica de artículos realizados en diferentes sectores que contienen las características similares al área de estudio. El objetivo de la investigación fue elaborar un protocolo y metodología para la recolección de especies de hongos en los frutos en componentes florísticos, el estudio se desarrolló en la Cordillera Occidental de los Andes en el bosque Siempre Verde Pie Montano que se encuentra ubicado en el recinto Los Laureles entre el cantón Pangua y la Maná. Mediante metodología bibliográfica se establecieron mecanismos que parten desde el área en estudio con el fin de aislar y cultivar los hongos invasores que Estrada y Ramírez en la publicación de Micología General establecen que pueden ser (*Botrytis cinérea*, *Rhizopus* y *Mucor*, *Alternaria citri*, *Penicillium* y *Fusarium*, *Phytophthora infestans* Oomycete), que según las condiciones ambientales pueden contaminar a las plantas produciendo enfermedades en los frutos en especies silvestres. Se utilizó una metodología inductivo y deductivo que va de lo particular a lo general de tipo descriptivo. Se delimitó el área de estudio utilizando el software SIG. Información relevante que permitió estructurar un protocolo con metodologías y técnicas para la recolección de hongo en campo y laboratorio, que beneficiará a investigadores sobre trabajos prácticos de estas características. En conclusión, la ausencia de datos sobre el objeto de estudio dentro del país es una limitación significativa, es conveniente apoyar la investigación sobre los recursos naturales y evitar la pérdida forestal, genéticos que podrían derivar en grandes descubrimientos científicos.

Palabras clave: protocolo, metodología, recolección, especies de hongos, los frutos, componentes florísticos.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

TITLE: PREPARATION OF A PROTOCOL AND METHODOLOGY FOR COLLECTING FUNGI SPECIES IN FRUITS OF THE FLORISTIC COMPONENT IN THE ALWAYS GREEN FOREST PIE MONTANO (BsPn01) FROM THE ANDES RANGE IN THE LAURELES ENVIRONMENT BETWEEN THE PANGUA AND LA MANANTO PANGUA AND PANGUA CANTON 2019 - 2020.

Author: *Guevara Castillo Katherine Adriana*

ABSTRACT

In this research, the analysis of the bibliographic information of articles made in different sectors that contain similar characteristics to the study area was carried out. The objective of the research was to develop a protocol and methodology for the collection of fungal species in the fruits in floristic components, the study was developed in the Western Cordillera of the Andes in the Evergreen Pie Montano forest that is located in the Los Laurels between the canton Pangua and La Maná. Through bibliographic methodology, mechanisms were established that start from the area under study in order to isolate and cultivate the invasive fungi that Estrada and Ramírez in the General Mycology publication establish that they can be (*Botrytis cinérea*, *Rhizopus* and *Mucor*, *Alternaria citri*, *Penicillium* and *Fusarium*, *Phytophthora infestans* Oomycete), which depending on the environmental conditions can contaminate plants, producing diseases in the fruits in wild species. An inductive and deductive methodology was used that goes from the particular to the general descriptive. The study area was delimited using the GIS software. Relevant information that allowed structuring a protocol with methodologies and techniques for collecting fungus in the field and laboratory, which will benefit researchers on practical work of these characteristics. In conclusion, the absence of data on the object of study within the country is a significant limitation, it is convenient to support research on natural resources and avoid forest loss, genetic that could lead to great scientific discoveries.

Keywords: protocol, methodology, collection, fungal species, fruits, floristic components.

ÍNDICE GENERAL

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vii
AGRADECIMIENTO.....	viii
DEDICATORIA	ix
RESUMEN.....	x
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	4
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	5
3.1. Beneficiarios Directos	5
3.2. Beneficiarios Indirectos	6
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	6
5. OBJETIVOS	8
5.1. General	8
5.2. Específicos.....	8
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	8
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	9
7.1. Bosque siempre verde pie Montano de la Cordillera de los Andes	12
7.2. Fenología	12
7.3. Composición Florística	13
7.4. Sanidad forestal.....	13
7.5. Los hongos que atacan a las plantas	14
7.6. Los hongos fitopatógenos	15
7.7. Especies de hongos fitopatógenos	18
7.7.1. Colletrotrichum gloeosporioides.....	18
7.7.2. Botrytis cinerea	20
7.7.3. Penicillium	20
7.8. Semillas	22
8. HIPÓTESIS.....	22
9. METODOLOGÍAS	22
9.1. Investigación bibliográfica.....	23

9.2.	Tipo de investigación descriptiva	23
9.3.	Método inductivo deductivo	23
9.4.	Técnica e instrumentos de investigación.....	23
9.5.	Metodología para el levantamiento de información de hongos.....	24
9.5.1.	Método cartográfico	24
9.5.2.	Aplicación de la metodología a través de la Tecnología SIG	24
9.5.2.1.	Georreferenciación del lugar.....	25
9.5.2.2.	Delimitación del área de Estudio	25
9.5.2.3.	Georreferencia de la parcela	26
9.5.2.4.	Coordenadas del área de estudio	26
9.5.3.	Clima de la zona	26
9.6.	Metodología para determinar un protocolo de muestreo para la recolección de hongos presentes en los frutos de especies silvestres.	27
9.6.1.	1 Metodología de colecta.....	27
9.6.1.2	Diseño de muestreo.....	28
9.6.1.3	Envasado e Identificación de la muestra.....	29
9.6.1.4	Registro de las muestras	29
9.6.1.5	Transporte.....	29
9.6.2.	1. Metodología para la preparación de medios de cultivo	29
9.6.2.2	Técnicas de aislamiento de microorganismos	30
9.6.2.3	Preparación de medios de cultivo.....	30
9.6.2.4	Metodología para la identificación de las bacterias fitopatógenas.....	32
10.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	41
10.1.	Protocolo a través de metodologías y técnicas para la recolección y cultivo de hongos de frutos de especies silvestres.	33
11.	IMPACTOS.....	51
12.	PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO.....	52
13.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	53
13.1	Conclusiones	53
13.2	Recomendaciones	55
14.	BIBLIOGRAFÍA.....	55
15.	ANEXOS	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Beneficiarios Indirectos.....	6
Tabla 2. Actividades en relación con los objetivos planteados.....	8
Tabla 3. Microorganismos antagonistas en el control de hongos postcosecha <i>in vitro e in situ</i>	16
Tabla 4. Ubicación del ensayo	25
Tabla 5. Clima de las zonas altitudinales	27
Tabla 6. Datos para anotar en campo.....	36
Tabla 7. hongos causantes de pudriciones en Postcosecha	39
Tabla 8. Enfermedades de poscosechas más importantes para frutos silvestres	49
Tabla 9. Escala diagramática cuantitativa basada en la sintomatología de <i>Botrytis cinérea</i> observada en frutos de <i>Mandarinas</i>	50
Tabla 10. Claves de identificación	50
Tabla 11. Presupuesto de lo que se va a utilizar en el proyecto.....	52
Tabla 12. Presupuesto para elaborar el protocolo	52

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Incremento de <i>Colletrotrichum gloeosporioides</i> en agar papa dextrosa	18
<i>Figura 2.</i> Crecimiento de <i>Botrytis cinerea</i> en agar papa dextrosa	20
<i>Figura 3.</i> Fresa contaminada con <i>Botrytis cinerea</i> en dos diferentes etapas de la enfermedad:(a) temprana y (b) avanzada (UC 0-dvis, 2005)	20
<i>Figura 4.</i> Desarrollo del <i>Penicillium</i> spp, en agar papa dextrosa.	21

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Currículo Vitae del Tutor	63
Anexo 2. Currículo Vitae del Estudiante	65
Anexo 3. Aval de Traducción.....	112
Anexo 4. Preguntas para una colecta eficiente	113
Anexo 5. Datos generales para la libreta de campo	114
Anexo 6. Tipo de semillas	69
Anexo 7. Abundancia Absoluta de las especies arbóreas según su clasificación.....	70
Anexo 8. Manejo de los residuos biológicos peligrosos	70
Anexo 9. Camaras humedas con muestras vegetales	71
Anexo 10. Aislamiento de hongos de síntomas de muestras de tejido vegetal	72
Anexo 11. Aislamiento de hongos de signos de muestras de tejido vegetal	73

INFORMACIÓN GENERAL

Título del proyecto: “Elaboración de un protocolo y metodología de recolección de especies de hongos en los frutos en componentes florísticos en el bosque siempre verde pie montano (BsPn01) de la Cordillera Occidental de los Andes en el recinto Los Laureles entre el cantón Pangua y la Maná en el período 2019 - 2020”

Fecha de inicio:

Octubre 2019

Fecha de finalización:

Agosto 2020

Lugar de ejecución:

Recinto Los Laureles – Cantón La Maná – Pangua – Provincia Cotopaxi

Facultad que auspicia

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

Carrera que auspicia:

Ingeniería en Medio Ambiente

Proyecto de investigación vinculado:

Equipo de Trabajo:

Responsable del Proyecto: Ing. Jaime Lema Mg.

Tutor: Ing. Jaime Lema.

Lector 1: Ing. José Luis Agreda

Lector 2: Ing. José Andrade Mg.

Lector 3: Ing. Vladimir Ortiz

Nombre del Investigador: Guevara Castillo Katherine Adriana

Teléfonos: 0983458704

Correo electrónico: katherine.guevara6633@utc.edu.ec

Área de Conocimiento:

Ambiente

Línea de investigación:

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local

Sub líneas de investigación de la Carrera:

Manejo y conservación de la biodiversidad

Línea de vinculación

Gestión de recursos naturales, biodiversidad, biotecnología y genética para el desarrollo humano y social

1. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo investigativo tiene como tema elaboración de un protocolo y metodología de recolección de especies de hongos en frutos en componentes florísticos en el bosque siempre verde pie montano (BsPn01) de la Cordillera de Los Andes en el recinto Los Laureles entre el cantón Pangua y La Maná en el período 2019 – 2020.

A lo largo de la historia, los bosques han constituido un elemento prioritario como medio de subsistencia humana debido a sus aportes a la diversidad biológica que origina una importante variedad de especies en flora y ecosistemas, el aprovisionamiento de bienes y la prestación de diversos servicios ambientales. Además, están íntimamente ligados a los suelos y las aguas, los bosques, especialmente los nativos, constituyen recursos naturales de gran importancia, controlan la erosión y proporcionan madera, semillas y otros productos para diferentes usos.

Solamente la función del bosque como productor de madera es tomada en cuenta, por lo cual se deforestan los bosques hasta agotar el recurso, ocasionando problemas de erosión, disminuyendo la fertilidad del suelo y limitando la posibilidad de recolección de frutos y semillas con fines de propagación de las especies.

La gran cantidad de tipos de animales, plantas, parásitos, hongos microorganismos y diferentes tipos de vida que ocupan nuestro planeta están conectados entre sí a través de numerosas interacciones ecológicas, las cuales realizan numerosos procedimientos naturales. Esta increíble biodiversidad se identifica su relación entre si desde hace muchos años, lo que ha permitido su transformación y convivencia. Además, las interacciones ecológicas son básicas para mantener la biodiversidad en los ecosistemas actuales.

Para comprender esto, se puede percibir cómo se mantiene vivo un bosque, no era posible sin considerar las interacciones que ocurren entre las plantas, criaturas y diferentes seres vivos que lo residen. Por ejemplo, cuando un árbol florece, las abejas melíferas y diferentes criaturas se quedan con sus flores, posteriormente, algunas son polinizadas, resultando ser productos orgánicos rebosantes de semillas. Después, los productos orgánicos envejecen, muchos son

devorados por las aves, otros caen al suelo donde son sobrevivientes de bichos, hongos y microbios.

Las aves que comieron algún producto natural, cuando vuelan comenzando con un lugar y luego en el siguiente, pueden esparcir las semillas que comieron. Una porción de estas semillas florecerá a otra planta, la planta se desarrollará y tendremos otro árbol, por lo que el bosque seguirá desarrollándose y funcionando. Numerosas plantas esperan que las animales se multipliquen y se dispersen, las criaturas y las plantas se cuiden a sí mismas, de esta manera entre todas las especies las interacciones ecológicas son la razón por la que ocurren los ecosistemas en los ambientes.

Pero también se ven amenazados estos ecosistemas por la presencia del hombre, de desastres naturales, que si desaparecen estas semillas no tendríamos un material vegetal para poder reproducir estas especies en estos lugares. El presente documento constituye una importante contribución en materia forestal y se espera que se convierta en un insumo clave para las personas involucradas con la gestión de los bosques montanos en La Mana, lo que a su vez les permita tomar decisiones que contribuyan al manejo sostenible de los recursos naturales y al mantenimiento de los servicios eco sistémicos que los bosques montanos proporcionan.

Esta investigación se trabajará en tres etapas:

En primer lugar, la presentación se compondrá redactando sobre los aspectos que componen el trabajo, incluida la importancia de sus sugerencias, así como la forma en que se ha considerado útil para avanzar hacia la investigación de sus diversos componentes. En ese punto, se detalla el soporte de la tarea, explicando los propósitos detrás de la exploración y sus compromisos potenciales desde la perspectiva hipotética y / o realista que se aclaran en una estructura resumida.

A raíz del presente estudio, fundamentación científica se construirá, se elaborará metodologías y parámetros para poder coleccionar especímenes en buen estado en ciertas épocas del año que la investigación lo va a determinar. El análisis y la conversión de los resultados con los factores y su operacionalización y verificación también se representan, al igual que la representación de los resultados adquiridos.

También las conclusiones donde se tiene en cuenta el camino por el que se ha considerado útil para avanzar hacia la investigación de sus diversos componentes. Además, la bibliografía con

referencia que depende de las consultas de la base de datos, de libros, repositorios universitarios con fechas actualizadas. Para completar, se unirán los datos que se consideran importantes que deben estar conectados al proyecto.

Una vez identificados los hongos que degradan los frutos de especies arbóreas se procederá a la descripción de cada una utilizando apoyo bibliográfico de claves dicotómicas para detallar las características morfológicas y proceder a su identificación.

Como limitaciones se puede indicar que no se han encontrado estudios o secuencias fenológica de las especies silvestres de esta área ni investigaciones específicas sobre la biodegradación de los frutos ocasionados por bacterias, insectos, climas entre otros. Este es uno de los temas menos descritos e investigados a nivel nacional a pesar de la alta diversidad específica en el bosque siempreverde Pie montano de cordillera occidental de los Andes.

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El propósito de la investigación es frente a la indiscutible necesidad de preservar y manejar adecuadamente la recolección de especies de hongos en frutos del componente florístico. Debido a que la interacción ecológica que se da entre los animales, especies de hongos y plantas es la razón por la que ocurren las formas en los ecosistemas. Sea como fuere, los hongos se alimentan de los frutos y semillas en el suelo, prescindiendo de futuras plantas, produciendo una ventaja para el hongo, pero no para las plantas. Además, las interacciones ecológicas no se limitan a las interacciones entre conjuntos de especies, en general, hay una enorme cantidad de categorías de animales involucradas con cada tipo de interacción que ocurre.

Con este estudio se logrará el levantamiento de información, de hongos en frutos de especies silvestres e identificación de la metodología de la recolecta de microorganismos mediante fases (campo, laboratorio, gabinete). A su vez se podrá determinar protocolo de muestreo para la recolección de hongos presentes en los frutos y si es prudente ir en las épocas del año dos o tres veces, conocer la frecuencia fonológica de las especies. Además, de estructurar protocolo a través de metodologías y técnicas para la recolección y cultivo de hongos de frutos de especies silvestres.

Con la presente investigación se beneficiará a estudiantes de la carrera de ingeniería en medio ambiente. Porque permite conocer con profundidad sobre la recolección de especies de hongos en los frutos en componentes florísticos. A través de la investigación se tendrá evidencia científica de cómo realizar el trabajo de levantamiento de esta información. Además, permitió dar a conocer a futuros científicos la época en que se puede acudir a realizar trabajo de laboratorio, de campo o de gabinete.

Mediante la identificación pertinente de las especies de hongos en componentes florísticos, se determinará el impacto que cada una de las mismas produce en el campo social y ambiental del bosque siempreverde Pie montano de cordillera occidental de los Andes, información con la que se puede generar un mejor manejo y uso de las mismas en épocas de recolección de frutos como fuente de alimento, así como el aprovechamiento de diversos factores y componentes del ecosistema generando un bien económico-social y ambiental.

En cuanto la utilidad, desde una perspectiva realista, los resultados concluyentes obtenidos con esta investigación se elevarán las soluciones más conocidas y evidentes, ya que el objetivo de la investigación es elaborar un protocolo y metodología para coleccionar especies de hongos en los frutos en componentes florísticos, cuestión que, hasta la fecha, se ha planteado sólo desde un punto de vista conceptual. Pero no se tiene evidencia científica de estudios fenológicos de las especies silvestres que se encuentran en el bosque siempre verde Pie Montano de la Cordillera Occidental de los Andes. Trabajo que será lo suficientemente novedoso e innovador como para provocar el interés no sólo de los estudiantes de la carrera de ingeniería en medio ambiente, sino también de otros investigadores interesados en la diversidad de flora silvestre del área en estudio.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1. Beneficiarios Directos

Con el presente estudio serán beneficiados directamente la Universidad Técnica de Cotopaxi, sus estudiantes y docentes de la Carrera de Medio Ambiente.

3.2. Beneficiarios Indirectos

Los beneficiarios indirectos que serán favorecidos con el presente proyecto serán los habitantes del Recinto Los Laureles.

Tabla 1. Beneficiarios Indirectos

BENEFICIARIOS INDIRECTOS	
CANTÓN LA MANÁ	
Hombres	21420
Mujeres	20796
TOTAL: 42216	

Elaborado por: Guevara, K. (2020)

Fuente: <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/wp-content/descargas/Manu-lateral/Resultados-provinciales/cotopaxi.pdf>

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

En la Provincia de Cotopaxi, el bosque Siempre Verde Pie Montano (BsPn01) de la Cordillera Occidental de los Andes, da origen a diversos pisos altitudinales, donde existen diferentes microclimas, además de un alto número de especies de plantas y animales con adaptaciones específicas. Los bosques de esta zona proveen bienes a través de productos no maderables, entre las que se encuentran las semillas, cuya germinación es la etapa más crucial y vulnerable de la historia de vida de una planta. Este bosque nativo se constituye en fuentes semilleras que deben ser considerados en los programas de reforestación y restauración ecológica.

La incursión de especies desconocidas, por ejemplo, los hongos en un territorio específico, puede provocar la disminución o desaparición de plantas locales que no pueden lidiar con las variaciones de estas irrupciones (Narváez, 2015).

La renovación regular de plantas es de suma importancia para un ecosistema ya que, si los elementos internos están funcionando con precisión, existe un equilibrio que asegura las condiciones para que tanto plantas y animales puedan crecer normalmente sin la mediación del hombre (Zamora, García y Gómez, 20014).

Los microorganismos (hongos) son uno de los principales factores que influyen en la recuperación de las plantas, ya que es un proceso natural donde las semillas deben experimentar un impulso satisfactorio, o presentarse en perfectas condiciones para comenzar su germinación.

Existe un porcentaje de biodegradación de frutos, posiblemente sea por el clima, o por los hongos.

Lamentablemente, no se encuentran estudios fenológicos de especies silvestres del bosque Siempre Verde Pie Montano que permita conocer las fases y el desarrollo de los mismos y establecer los momentos de recolección de semillas para comprender los procesos de regeneración natural en los bosques. Por otra parte, todas las plantas son atacadas por algún tipo de hongo, y cada uno de los hongos parásitos ataca a uno o más tipos de plantas. Existe un porcentaje de biodegradación de frutos en componentes florísticos, posiblemente sea por el clima, o por los hongos.

Además, esta alta diversidad florística existente se ve amenazada por un problema evidente que es la deforestación, la que está siendo destruida aceleradamente en los últimos años, por diversas razones, siendo la expansión agrícola y agropecuaria, quema de monte, las principales causas para la pérdida florestal, pues se ha expandido a los detrimentos de ecosistemas frágiles, reduciendo la capacidad del bosque para sustentar las funciones tanto a nivel ecológico y ambiental, sometiendo a la composición florística (arbórea) de la zona a su disminución. (Lagla, 2017)

A nivel mundial los hongos fitopatógenos constituyen el grupo más importante desde el punto de vista económico derivado de su frecuencia de aparición y daño potencial (Agrios, Plant Pathology. 5a. ed. , 2005). Estos hongos fitopatógenos además de ocasionar grandes pérdidas económicas y aumentar los costos de producción por la implementación de medidas de control, provocan pérdidas de la producción biológica, es decir, las plantas albergan el patógeno a través de la semilla y surgen durante su desarrollo (García, 2004; Agrios, 2005; Calidad Fertilab, 2019).

En el país el Estado ha establecido el “Sistema Nacional de Clasificación de Ecosistemas del Ecuador”, con el afán de proveer información oficial para el uso de actores internos y externos que trabajan en el sector ambiental de la nación. Para el año 2010, la información de flora se encontraba desactualizada, y no se disponía de metodologías y protocolos estandarizados para el mapeo de la vegetación y ecosistemas del país; lo cual generaba incertidumbre al emplear la información disponible para el desarrollo de proyectos y elaboración de reportes en el MAE y

otras instituciones que trabajan con temas relacionados con el ambiente y los recursos naturales (Ministerio del Ambiente, 2013).

En la actualidad los impactos económicos negativos, producidos por el modelo económico neoliberal, han orillado a los territorios rurales a adoptar nuevas funciones como la conservación de la naturaleza, la producción local de calidad, las energías renovables y funciones culturales como el turismo (Jiménez, Thomé, Espinoza, & Vizcarra, 2017)

La relevancia de la investigación es porque a pesar de la alta diversidad específica en el país, la recolección de especies de hongos en los frutos en componentes florísticos y las secuencias fenológicas de especies silvestres es uno de los contenidos menos descrito e investigado a nivel nacional. Los estudios al respecto se han centrado básicamente en las variedades de plantas cultivadas con el fin de mejorar las características de producción; pero muy poco se ha logrado en diversidad de flora silvestre proveniente de los bosques dado la insuficiente información cuantitativa y cualitativa sobre la existencia de especies y el funcionamiento de los ecosistemas.

5. OBJETIVOS

5.1.General

Elaborar un protocolo y metodología mediante una investigación bibliográfica para la recolección de especies de hongos en los frutos en componentes florísticos del bosque Siempre Verde Pie Montano (bspn01) de la Cordillera Occidental de los Andes en el recinto Los Laureles entre el cantón Pangua y la Maná.

5.2.Específicos

- Recopilar información científica relevante sobre hongos en especies silvestres.
- Seleccionar una metodología adecuada para la recolección de hongos en campo e identificación en laboratorio.
- Estructurar un protocolo de muestreo para la recolección de hongos presentes en los frutos de especies silvestres.

6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

Tabla 2. Actividades en relación con los objetivos planteados

Objetivo	Actividad	Resultado de la actividad	Descripción de la actividad
Recopilar información científica relevante sobre hongos en especies silvestres.	<p>Delimitar el área de estudio</p> <p>Realizar un mapa para identificar las zonas de muestreo utilizando SIG</p> <p>Trabajo de campo levantamiento de información, de hongos en frutos de especies silvestres</p>	<p>Mapa de la zona donde se obtendrán las muestras para realizar la investigación</p> <p>Especies de hongos en frutos de especies silvestres identificados (fase de laboratorio).</p>	<p>El área de estudio se georreferenciará en el software SIG.</p> <p>Con los materiales y herramientas se levantará la información y se procederá a identificar las muestras en libros, catálogos y herbarios institucionales tanto pública o privada.</p>
Seleccionar una metodología adecuada para la recolección de hongos en campo e identificación en laboratorio.	Investigación y compilación de información de metodología para recolección de hongos en campo e identificación en laboratorio	Metodología adecuada para la recolección de hongos en campo e identificación en laboratorio	Metodología con la que se procederá a construir el protocolo de recolección de hongos en campo e identificación en laboratorio
Estructurar un protocolo de muestreo para la recolección de hongos presentes en los frutos de especies silvestres.	Investigación y compilación de información (fase gabinete)	<p>Resultado de la diversidad y el valor de importancia ecológica relativa de cada especie de hongos.</p> <p>Cultivo de microorganismos en medios de cultivo específico para su posterior caracterización.</p>	Las muestras de hongos obtenidas se las esterilizará, aislará, se sembrará lo microorganismos en cajas de Petri y se incubarán en una autoclave.

Elaborado: Guevara, K. (2020)

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

La distribución que se explica en este trabajo depende de los datos actuales de especímenes de la colección del bosque siempreverde Pie montano de cordillera occidental de los Andes, información adquirida de las publicaciones importantes aplicables para las especies ecuatorianas, así como de los extraídos de bases de datos publicados por diferentes autores a nivel nacional y local. Se dará un trabajo hipotético que llenará de razón para determinar,

cultivar, aislar y caracterizar a los hongos que pertenezcan a un grupo de microorganismos responsables de la degradación de frutos en componentes florísticos.

La región amazónica con aproximadamente 82 120 km², representa cerca del 30 % del territorio nacional y en el contexto regional el 2 % de la Cuenca Amazónica. Incluye tanto las planicies de inundación de los ríos de origen andino y amazónico, sus interfluvios, así como las cordilleras amazónicas que se levantan hacia el sur (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2013)

Esta región alberga sitios que contienen recursos florísticos sobresalientes, la distribución de las especies es heterogénea, desarrollándose en sitios específicos respecto a características edáficas y ambientales. Estos factores determinan que las formaciones vegetales presenten diferencias marcadas en cuanto a su composición florística, diversidad y estructura (Fuentes & Ronquillo, 2000).

Los bosques montanos encierran una excelente diversidad biológica especialmente florística (Kvist, Aguirre, & Sánchez, 2006). Estos bosques tienen una importancia global por ser reservorios de biodiversidad y por sus excepcionales funciones de regulación hídrica y mantenimiento de la calidad del agua (Bubb, May, Miles, & Sayer, 2004).

El Bosques siempre verde piemontano del sector del recinto los Laureles entre el cantón Pangua y La Maná es muy importante porque alberga una gran diversidad genética de plantas de uso forestal, ornamental, medicinal y comestible, además por los recursos hídricos y la protección de cuencas que el bosque provee. También se encuentran especies endémicas de flora y fauna. En estos bosques se han identificado diversas especies de hongos en las diferentes etapas del procesamiento de la fruta.

Tanto en las prácticas de manejo del cultivo como en las épocas del año han mostrado tener un efecto significativo sobre los principales microorganismos que causan pérdidas poscosecha, causantes de pudriciones de frutos, en función del manejo agronómico del cultivo y de la época del año. Además, se han encontrado diferencias importantes en la carga microbiológica presentes sobre la superficie los frutos, las cuales dependen de las condiciones climáticas, el estado de desarrollo del fruto y la variedad utilizada (Jha, y otros, 2010).

En la tesis de Garzón (2015) con el tema “Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), sector Patana – Cotopaxi. 2014” entre sus

objetivos estaba decidir el hongo fitopatógeno con el mayor choque en la fabricación, distinguir los signos y síntomas del hongo, retratar a escala completa y microestructuras del patógeno, representar el patrón de existencia del patógeno en las condiciones del centro de investigación y establecer una guía didáctica para la representación morfológica del hongo bajo investigación. La metodología se realizó utilizando estrategias de aislamiento en laboratorio y la observación resultante del hongo en el Microscopio Trinocular CX31, para tener la opción de observar sus partes y luego confirmarlo con el índice de referencia actual (Garzón, 2015)

Entre los aspectos fundamentales que estuvieron en la investigación fueron; El aseguramiento del crecimiento del hongo fitopatógeno con mayor impacto en la producción del tomate de árbol que terminó siendo *Colletotrichum gloeosporioides*, que se resolvió en agradecimiento al relevamiento bibliográfico y al intercambio de diferentes puntos de vista, de esta manera averiguando cómo distinguir los signos y efectos secundarios del hongo en campo, el método utilizado fue la percepción directa contrastando y el referido a la fuente, permitiéndonos hacer el retrato de estructuras a macro y micro, por ejemplo, talo, micelio, conidiógeno y acervulosporas, obteniendo fotos digitales, las mismas que con la ayuda de claves taxonómicas existente era concebible detectar la presencia del agente causal que es *Colletotrichum gloeosporioides*, su ciclo de vida podría ser representado en condiciones controladas mediante la siembra y confinamiento del patógeno en cajas de Petri en un cultivo de papa-dextrosa-agar, con un lapso de cinco días a una temperatura de 22°C. en una cámara de incubación (Garzón, 2015).

En el trabajo de Urgiles, y otros (2019) con el tema “Aislamiento y caracterización morfológica de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) de zonas riparias del Sur del Ecuador: un enfoque a la producción de biofertilizantes” de la Universidad Nacional de Loja. El objetivo de la investigación se enfoca en la separación y descripción morfológica de los morfotipos de las esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Con la estrategia utilizada se pudieron distinguir los géneros *Glomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora*. Las esporas descubiertas se utilizaron como bioinoculantes en plántulas de tomate de mesa (*Solanum lycopersicum* Mill). Entre los resultados más importantes, se encontró que la inoculación de las plantas afectó significativamente el desarrollo, biomasa y peso de los frutos naturales al respecto que para las plantas no inoculadas (tratamiento control). Se descubrió que los HMA presentes en el bioinóculo o inoculantes microbianos presentan potencial en el crecimiento de bioinoculantes

para aplicación agraria. Empezar que permitió adquirir datos pertinentes sobre una acción simbiótica entre el hongo y la planta en la investigación presente (Urgiles, y otros, 2019).

7.1. Bosque siempre verde pie Montano de la Cordillera de los Andes

La vegetación local de la región de investigación es un bosque siempreverde montano que tiene un aspecto húmedo. Los árboles son enormes y rectos que llegan a los 25 m de estatura, las epífitas son extravagantes y en el sotobosque hay numerosas hierbas, a pesar de que hay un período seco de un par de meses con aguacero casi nulo, sin embargo, es a menudo una gran humedad ambiental. Constantemente, incluidos los meses secos, la niebla cubre esta región durante la noche y alrededor de la tarde. Debido a las condiciones de nivel de precipitación, la vegetación mantiene el follaje, aunque algunos árboles pueden perder sus hojas hacia el final de la estación seca (Kvist, Aguirre, & Sánchez, 2006).

Baquero y otros (2004), demuestra en su libro que este bosque se describe por tener árboles cuyas copas llegan a los 30 m de estatura, abundante presencia de epífitas en la capa inferior del bosque, arbustos y herbáceas de las familias *Orchidaceae*, *Araceae*, *Cyclanthaceae*, *Piperaceae* y *Gesneriaceae*. Uno de los tipos corrientes de estos lares es *Iriartea dehoidea*, que se utilizó para determinar y / o modelar este tipo de formación de plantas. *Iriartea deltoidea* es un tipo local de la Costa, Andes y Amazonia que se encuentra en las áreas de Cotopaxi, El Oro, Esmeraldas, Los Ríos, Morona Santiago, Napo, Pastaza, Pichincha y Sucumbíos, en un territorio de altura que cambia en algún lugar del rango de 0 y 1500 m.

Este tipo de bosque se encuentra en el occidente de las zonas de Pichincha, Cotopaxi, Los Ríos, Bolívar, Azuay y oriente del territorio de Esmeraldas. Se encuentra entre en las siguientes variables biofísicas: escasez de agua de 0 a 5 mm, altura promedio 1099 m, pendiente de 11 °, meses secos 4. temperatura mínima anual 15 ° C, temperatura máxima anual 24 ° C, precipitación anual 1786 mm, Potencial de Evapotranspiración 958 mm.

7.2. Fenología

La fenología se compara con muchos procesos ecosistémicos en su conjunto relacionadas con la productividad que se amoldan a ciertos ritmos de regularidad, por ejemplo, floración, envejecimiento o maduración de productos orgánicos, pérdida foliar, entre otros. Para el marco de agrupamiento actual, se caracterizaron cuatro tipos fenológicos dependientes de Di Gregorio y Jansen (2000): Deciduo, aludiendo a regiones donde los períodos secos duran entre seis y

ocho meses y el 75% de los individuos de las especies arbóreas o arbustivas pierden sus hojas. (Prentice 1990). Semidecíduo, en los trópicos estas formaciones están situados en zonas donde los períodos secos duran en 6 meses y un año (Prentice 1990); en su mayor parte entre el 75 y el 25% de los individuos de las especies arbóreas o arbustivas pierden sus hojas.

El término siempreverde pie montano, son tipos de vegetación que, a pesar de que mantienen las hojas verdes durante todo el año, algunas de ellas caen en su mayor parte en la estación seca, sin embargo, son suplantadas por otras nuevas en un breve período de tiempo. o muy rápidamente, sin influir considerablemente en la apariencia siempreverde de los bosques (Josse et al. 2003); en estas zonas predomina la vegetación siempreverde y menos del 25% es de hoja caduca.

Siempreverde, alude a los tipos de vegetación en los distritos del trópico con estaciones secas (épocas de poca o nula precipitación) que duran menos de un mes al año, que mantienen el follaje de manera constante. Vale la pena mencionar que el factor analítico Fenología alude básicamente a ecosistemas con componentes predominantemente arbóreos o arbustivos, ya que los campos a nivel climático o en las cercanías de cursos de agua son constantemente siempreverdes en cualquier evento o periodos anuales, bianuales o perdurables. (Servicio de Medio Ambiente, 2013, p.20)

7.3. Composición Florística

Es la cantidad de árboles que existen por especie en un área determinada, se debe además conocer de qué familia proceden y cuantos individuos hay por cada especie (González & Narváez, 2005).

La composición florística de un bosque se enfoca como la diversidad de especies en un ecosistema la cual se mide por su riqueza y representatividad. La composición florística está representada en un bosque como todas las especies arbóreas que están integrando un ecosistema forestal. Cuando hacemos un análisis de composición florística lo que hacemos es evaluar un listado de nombres comunes, científicos y familias botánicas (González & Narváez, 2005).

7.4. Sanidad forestal

Involucra la determinación de los principales factores de daño biótico que están afectando a la arboleda. En las recomendaciones de manejo forestal se da particular atención a este aspecto, mediante el registro y estudio de cualquier tipo de enfermedad y plaga visible en el árbol (FAO, 2008).

La importancia de las plagas y de su repercusión negativa en los bosques a menudo es subestimada. Los brotes de plagas pueden contribuir directa o indirectamente a pérdidas económicas y medioambientales. Los insectos y las enfermedades pueden tener efectos negativos sobre el crecimiento y la supervivencia de los árboles, el rendimiento y la calidad de la madera y de los productos no madereros, el hábitat de la fauna silvestre y los valores recreativos, estéticos y culturales. Por tanto, son parte integrante de los bosques. Las especies de plantas invasivas también pueden causar daños en la competencia con las especies arbóreas nativas o en la prevención de su regeneración, planteando nuevos desafíos especialmente para la conservación in situ de la diversidad biológica forestal. La contaminación constituye también una amenaza para la salud y la vitalidad de los bosques (FAO, 2008).

7.5. Los hongos que atacan a las plantas

En la agricultura mundial, los hongos fitopatógenos son la causa de las enfermedades pre y post cosecha en cultivos de hortalizas, avena y frutas, siendo estos responsables de enormes desgracias económicas; el daño que causan no solo alude a las desgracias monetaria, sino que se suma a las desgracias de la producción biológica, es decir, a la transformación que existe en el desarrollo y mejoramiento de las plantas hospedadoras agredidas por estos microorganismos (Agrios, 2005).

Los patógenos más importantes que causan grandes pérdidas de frutos y hortalizas son normalmente las bacterias y los hongos, sin embargo, las especies de hongos son los más habitualmente responsables de la desintegración obsesiva de frutas, hojas, tallos y elementos subterráneos (raíces, tubérculos, bulbos). etc.). Algunas fuentes estiman que estas pérdidas son en un estimado del 5 al 25% en las naciones desarrolladas y del 20 al 50% en las naciones en vías de desarrollo (FHIA, 2007).

Se ha descrito una amplia gama de hongos que causan el deterioro patológico en una variedad de productos, los más conocidos especies de *Altemaria*, *Botrytis*, *Diplodia*, *Monilinia*, *Penicillium*, *Colletotrichum*, *Phomopsis*, *Fusarium*, *Rhizopus* y *Mucor* (FHIA, 2007).

Las enfermedades de las plantas suelen ser un componente limitante en la producción de cualquier cultivo, por lo que un factor importante a considerar es su control (Investigación y Desarrollo, 2010). Hay varias estrategias que se pueden utilizar para controlar los fitopatógenos.

en cuyo interior se puede hacer referencia a la utilización de fungicidas químicos. procedimientos térmicos uso de aceites esenciales entre otros.

Es por ello que la trascendencia de este trabajo, y radica en brindar datos aplicables sobre algunos hongos fitopatógenos que causan dolencias en cosechas de alta trascendencia monetaria y en dar a conocer las diversas técnicas de control que existen para des arraigarlos.

7.6. Los hongos fitopatógenos

Las frutas son productos perecederos, susceptibles al ataque de microorganismos causando enfermedades: antes o después de la cosecha y durante el almacenamiento; los hongos que causan estas infecciones se denominan fitopatógenos (phyton: "planta"; pathos: "enfermedad, dolencia") (Trigos, Ramírez, & Salinas, 2008).

Estos microorganismos constituyen una concentración importante en la agricultura debido a su gran número y su límite gigantesco en cuanto a la proliferación, que regularmente dificulta su control. Estos hongos causan pérdidas e incrementos monetarios extraordinarios. además. eleva los costos de producción estableciendo medidas para intentar controlarlos (García, 2004). Los hongos fitopatógenos son el grupo más importante desde una perspectiva monetaria en cuanto a su reaparición y el daño que pueden causar. El daño que causan alude a pérdidas en la producción monetaria, pero además de pérdidas en la producción biológica (FAO, Manjo integrado de enfermedades en cultivos hidropónicos., 2004); (Agrios, 2005).

Según las observaciones existen más de 8.000 tipos de hongos que causan enfermedades en las plantas. La mayoría de las plantas pueden ser atacadas por algún tipo de hongo (al menos uno o varios a la vez) y también se sabe que el hongo fitopatógeno puede contaminar al menos uno o varios tipos de plantas, independientemente de que sean de varias familias. Una gran parte de los hongos fitopatógenos pasan por la gran mayoría de su ciclo de tiempo se quedan en la planta que se sirve como su huésped (por ejemplo, parásitos) y otra parte en la tierra, en los residuos de plantas allí descubiertos (como saprófitos), aunque algunos simplemente se desarrollan como parásitos. En general, los cuerpos reproductores de la estructura del hongo se encuentran en el exterior de los tejidos de la planta huésped (o cerca de ella), lo que hace que las esporas se dispersen rápida y eficazmente (García, 2004).

Los impactos que producen los hongos en las plantas pueden ser solo local, cuando influyen en

una pequeña parte del tejido, o en general, en el caso de que provoquen un daño total a toda la planta, que depende del tipo de planta que parasitan. Sea como fuere, en una planta podrían generar un impacto local y luego uno generalizado. El daño causado por los hongos es esencialmente una muerte del tejido o (corrupción) que infectan. Asimismo, pueden provocar la descomposición de toda la planta o de una parte de ella y, en diferentes casos, pueden provocar un desarrollo mayor de lo normal (hipertrofia). Asimismo, los hongos que influyen en la raíz o en el sistema vascular de la planta producirán en general un matiz amarillo en la planta y se marchitarán (García, 2004).

Las manchas de las hojas, el tizón, la pudrición de las raíces son algunos casos de signos necróticos, mientras que los signos relacionados con la hipertrofia de las partes de la planta pueden ser agallas de la raíz, lunares o tumores. Todos los impactos antes mencionados pueden ocasionar la otrofia, descomposición o disminución de la imperatividad de las plantas (u órganos contaminados), lo que puede provocar la muerte de la planta o su ineficacia productiva (García, 2004).

En la tabla 3 se resumen algunos estudios realizados utilizando microorganismos antagonistas para el control de las enfermedades postcosecha.

Tabla 3. Microorganismos antagnistas en el control de hongos postcosecha *in vitro* e *in situ*

Microorganismo antagonista	Hongo fitopatógeno	Enfermedad	Efectos obtenidos	Referencia
Bacillus licheniformis	Colletotrichum gloeosporioides	Antracnosis en mango	Control de la antracnosis y de las pudriciones pediculares en mango (in situ)	Govender et al.,2005
Pseudomonas cepacia	Penicillium expansum y Penicillium digitatum	Pudriciones en naranjas	Resultados variables de pendiendo del tiempo de almacenamiento (in situ)	Huang et al.,1993
Pseudomonas cepacia	Penicillium digitatum	Moho verde en limón	Inhibición del crecimiento del patógeno y control de la enfermedad en un 80% (in vitro e in situ)	Smilanick y Denis Arme, 1992
Pseudomonas cepacia, Pseudomonas syringae, Debaromyces hansenii Aureobasidium, pullulans	Penicillium digitatum y Penicillium italicum	Pudrición de los cítricos	P. cepacia mostró mejor efecto de biocontrol evidenciándose mediante la producción de antibióticos (in vitro)	Wilson y Chalutz, 1989
Aureobasidium pullulans	Botrytis cinérea, Penicillium expansum,	Pudriciones y mohos en uvas y manzanas	Actividad extracelular de exoquitinasa y β -1,3-glucanasa (in vitro e in situ)	Castoria et al.,2001

	Rhizopus stolonifer y Aspergillus niger			
Rhodoturla glutinis y Cryptococcus laurentii	Penicillium expansum y Botrytis cinerea	Mohos azul y gris de diferentes frutos	Altos niveles de β -1,3-glucanasa (in vitro e in situ)	Castoria et al., 1997
Cryptococcus laurentii	Botrytis cinerea	Moho gris en pera	Efecto variable, en función del momento de aplicación del inóculo (in situ)	Zhang et al., 2005
Cryptococcus albidus y Pichia membranefaciens	Monilia fructicola, Penicillium expansum y Rhizopus stolonifer	Pudriciones en manzanas	Altos niveles de β -1,3-glucanasa (in vitro e in situ)	Zhulong y Tian, 2005
Cryptococcus laurentii y Gandida ciferri	Penicillium expansum	Moho azul en manzanas	Reducción de la incidencia de la enfermedad (80%) (in situ)	Vero et al., 2002
Cryptococcus laurentii y Cryptococcus infimo-miniatus	Penicillium expansum	Moho azul En manzanas	Reducción significativa de la incidencia y severidad del moho cuando se aplicó simultáneamente el antagonista y el patógeno (in situ)	Chand-Goyal y Spotts, 1996
Gandida saitoana	Botrytis cinerea Penicillium expansum Penicillium digitatum	Pudriciones de manzanas, naranja y limones	aplicación del antagonista con 0.2% de 2-deoxy-D-glucosa fue efectiva. en controlar las pudriciones (in vitro e in situ)	El Ghaouth et al., 2000
Gandida saitoana	Bonytis cinerea	Moho gris en manzanas	Los sitios del hospedero colonizados por el antagonista no presentaron degradación en la pared celular (in situ)	El Ghaouth et al., 1998
Candida oleophila	Bonytis cinerea y Penicillium expansum	Pudriciones en duraznos	El antagonista tuvo efecto sólo al combinarse con atmósfera modificada (in situ)	Karabulut y Baykal, 2004
Candida famata	Penicillium digitatum	Pudriciones en naranja	Producción de fitoalexinas y control de la pudrición en un 90% (in situ)	Arras, 1996
Metschnikowia pulcherrima	Bonytis cinerea Penicillium expansum, Alternaria spp. y Monilinia spp.	Pudriciones en manzanas	Efecto de acuerdo al patógeno estudiado (in vitro e in situ)	Spadaro et al., 2002
Pantoea agglomerans	Bonytis cinerea Penicillium expansum y Rhizopus stolonifer	Pudriciones en peras	Reducción de la enfermedad causada por B. cinerea (80%) (in situ)	Nunes et al., 2001
Rhodotorula minuta (Saito) Harrison	Golletotrichum gloeosporioides	Antracnosis en mango	Reducción considerable de la severidad de la antracnosis (in vitro e in situ)	Patiño-Vera et al., 2005
Rhodotorula minuta y Bacillus subtilis (Ehrenberg) Cohn	Colletotrichum gloeosporioides	Antracnosis en mango	Aplicaciones precosecha de los antagonistas reducen la severidad en postcosecha (in situ)	Canillo-Fasio et al., 2005
Verlicillium lecanii	Penicillium digitatum	Moho verde de los cítricos	Inducción de reacciones de defensa en el patógeno y antibiosis (in vitro)	Benhamou y Brodeur, 2000

Trtchoderma harzianum	Botrytis cinerea	Pudrición en uvas	Control parcial de la enfermedad (in situ)	Latorre et al, 1997
Trichoderma harzianum	Botrytis cinerea	Moho gris en manzanas	Protección durante más de dos meses de la enfermedad (in situ)	Batta, 20004a
Trichodenna harzianum	Penicillium expansum	Moho azul en manzanas	Protección durante más de dos meses de la enfermedad (in situ)	Batta,20004b

Fuente: (Hernández, Bautista, Velázquez, & Hernández, 2007)

7.7. Especies de hongos fitopatógenos

7.7.1. Colletrotrichum gloeosporioides.

C. gloeosporioides es un moho que forma estructura sencilla de conidios, pero prolongada y conidios hialinos, que son S-OO unicelulares, céreos y, en general, opacos en sombreado (Fig. 1) (Jay, 1994).

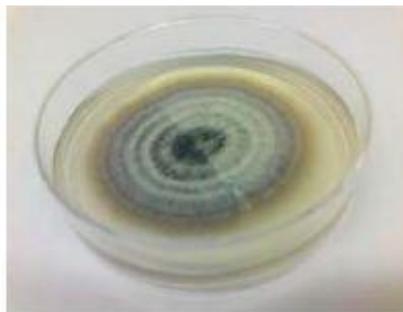


Figura 1. Incremento de *Colletrotrichum gloeosporioides* en agar para dextrosa

Desarrollos húmedos y extremadamente húmedos, la frecuencia de esta enfermedad puede alcanzar prácticamente el 100% de los productos orgánicos en estas condiciones (Arauz, 2000) La antracnosis de hongo es una de las enfermedades más serias de este cultivo. Pueden producirse daños en las hojas, los tallos y las panículas de florales, siendo la mayoría de los daños a los productos orgánicos (Holliday, 1995); Ploe12, 1999). Su impacto es coartante en la producción, ya que provocan pérdidas extraordinarias de frutos en el campo; durante la cosecha y pos cosecha en ciertos años ha influido hasta en la mitad de la producción (Mendoza y Moreno, 2006).

Aparecen pequeñas manchas de color terroso en las hojas, redondeadas o con un ajuste impredecible como un violín, generalmente rodeadas por una zona más pálida que el tejido sólido. Las manchas se sitúan en los bordes o en la cima y de vez en cuando en la pieza central

del limbo de la hoja. Las llagas se extienden y se unen entre sí, dando forma de áreas enormes, secos y oscuros, que en ese punto se desprenden y caen. El daño a las inflorescencias se manifiesta por pequeñas manchas opacas que al principio aparecen en las flores. La invasión puede producirse en ejes provocando la caída de flores y frutos o la muerte a de forma parcial de la inflorescencia.

En el momento en que simplemente se les da forma, los productos naturales adquieren un tono opaco, en ese momento se momifican y caen. En los productos orgánicos juveniles, la enfermedad se muestra con manchas color pardo claro y apariencia resbaladiza, ubicadas en la zona que envuelve el pedúnculo (Mendoza & Moreno, 2006).

A pesar de que la enfermedad ocurre de etapa temprana en el desarrollo de productos orgánicos, las llagas comunes de antracnosis se vuelven notorias con la maduración. En esta etapa se observan manchas rotondas, sangrías y manchas oscuras, con una superficie frágil. En el momento en que se desarrollan las llagas, terminan uniéndose, enmarcando una putrefacción total del fruto (Mendoza y Moreno, 2006).

La tasa de antracnosis aumenta debido a prácticas incorrectas, por ejemplo, el no retiro de frutos infectados y por la utilización de fungicidas no adecuados en el suelo. Para controlar la infección, es importante conocer y comprender las sintomatologías y las cualidades del agente causante (Sosa, 2009).

Es un moho que produce conidióforos largos, endebles y frecuentemente pigmentados. El micelio está septado; los conidios se conciben en células apicales y tienen un sombreado oscuro, a pesar de que pueden ser oscuros; de vez en cuando producen esclerocios impredecibles (Fig.2) (Jay, 1994).



Figura 2. Crecimiento de *Botrytis cinerea* en agar papa dextrosa

7.7.2. *Botrytis cinerea*

es una especie importante en los productos orgánicos, se desarrolla mejor en climas fríos y húmedos, y puede ser devastadora si el clima lluvioso coincide con la recolección cuando el producto orgánico está listo y excepcionalmente susceptible. Este microorganismo es el operador causal de la pudrición oscura en manzanas, peras, frambuesas, fresas, uvas y limones (Ilay, 1994), al igual que la toronja y productos orgánicos con hueso (Zhang, D., A., & Gullino, 2010); Guerra y Bom, 2007). En la figura 3 se puede ver la propagación de *Botrytis cinerea* en fresas en dos fases únicas de la enfermedad (Juárez, Sosa, & López, 2010).

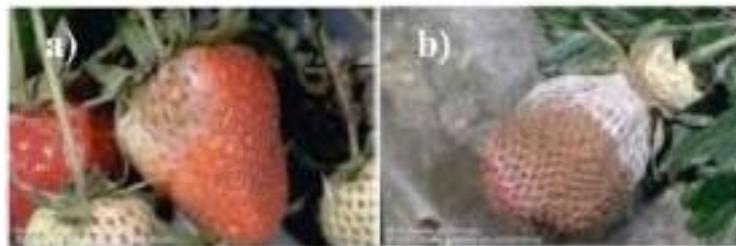


Figura 3. Fresa contaminada con *Botrytis cinerea* en dos diferentes etapas de la enfermedad: (a) temprana y (b) avanzada (UC 0-dvis, 2005)

B. cinerea se considera una de las causas de las enfermedades más notables de las uvas de mesa (He, Liu, Musthapa, & Lin, 2010). Produce llagas de color terroso y la se presenta moho oscuro aparece en las hojas, capullos y flores.

Asimismo, puede hacer que las plantas jóvenes y delicadas se mueran por descomposición acuosa en la base de los tallos y manchadas por infecciones y heridas. Puede corromper la epidermis y entrar en un fruto vecino de un fruto en mal estado, creando nueva podredumbre. Este es el medio por el cual se crean los "nidos", donde se encuentran varios frutos cerca con la misma infección de hongo. En cualquier caso, la afección comienza a partir de una primera fruta en la que la espóra ingresa por una lesión (Di Masi y Colodner, 2011). La enfermedad provocada por el moho oscuro *Botrytis cinerea* es una de las más graves de una amplia gama de cultivos de importancia en todo el mundo (Deferera, Ziogas, & Polissiou, 2003).

7.7.3. *Penicillium*

Esta variedad se caracteriza dando forma a los conidios en una estructura ramificadas que tienen un parecido a un pincel que se cierra en células conidiogénicas llamadas fialides; sus tonalidades comunes difieren del azul al azul verdoso (Fig. 4) (Jay, 1994).

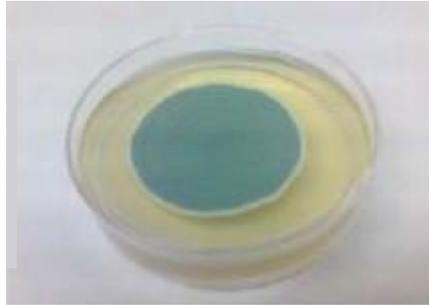


Figura 4. Desarrollo del *Penicillium* spp, en agar papa dextrosa.

Algunas categorías de especias producen la descomposición de la forma azul y verde de los frutos cítricos, la descomposición azul por moho de las manzanas, uvas, peras y frutos de hueso. *Penicillium* es una variedad enorme que se encuentra por todas partes, siendo generalmente la familia de hongos más abundante en los suelos. Lo sencillo de su multiplicación de *Penicillium* en los alimentos es un problema. Algunos grupos de especies producen toxinas y pueden hacer que la comida sea poco apetitosa o incluso peligrosa. A escala mundial, *Penicillium* es una de las causas más importantes de descomposición en los cítricos (Jay, 1994).; Smith et al., 1998).

Penicillium digitatum causa la enfermedad conocida como moho verde de los cítricos, causa descomposición suave. El efecto principal es una mancha redonda en el exterior del fruto; si la temperatura es ideal, la llaga se desarrolla rápidamente y se cubre con un moho blanco que está avanzada y se hace verde oliva mientras crea esporas. Las esporas de *Penicillium* pueden sobrevivir en el suelo y en las gavetas de prensado o almacenes durante largos períodos; los flujos de aire los transportan a los nuevos frutos. Las esporas no germinan en el exterior del fruto hasta que se daña la piel. El elevado sereno favorece el desarrollo de este microorganismo en los frutos (Smith et al., 1998).

Penicillium italicum es un patógeno que se muestra en cítricos; Causa la enfermedad del moho azul y crea una delicada descomposición como el moho verde. La zona de creación de esporas en el exterior del fruto en descomposición es de un azul brillante y está rodeada de micelio

blanco. El hongo ingresa al fruto a través de lesiones, sin embargo, también puede extenderse de un producto orgánico contaminado a sólido por contacto (Smith et al., 1998).

7.8. Semillas

Según la FAO, la unidad reproductora creada a partir de un óvulo, que en su mayor parte ha sido tratado y desarrollado se conoce como semilla, que puede contener un embrión y tejido nutritivo, que se encuentra dentro de los tejidos protectores que también se denomina cubierta seminal (FAO, Manjo integrado de enfermedades en cultivos hidropónicos., 2004).

Las semillas tienen una importancia extrema en el avance de un ecosistema, ya que son una parte de la multiplicación de plantas que son la base del modo de la cadena alimenticia. Así como el responsable del control de los espacios de la especie para la accesibilidad de los alimentos (Escribano, Couso, Alcántara, & Cantalapiedra, 2015).

La semilla asume un trabajo importante en el proceso de regeneración de las plantas ya que está firmemente asociada a diferentes procedimientos, por ejemplo, fertilización, dispersión, dormancia y desarrollo. Procedimientos que funcionan específicamente para elegir a los individuos más adecuadas para el desarrollo de otra planta, ya que la mayoría de semillas no llegan a la etapa de dispersión (Fenner, 2012).

El desarrollo de las plantas puede ocurrir de forma sexual a través de la presencia de nuevas semillas o de forma asexual a través de diferentes tipos de propagación, por lo que la semilla es importante para el intercambio genético de las plantas, con un objetivo específico en mente "mejorarlas" comenzando con una generación y luego a la siguiente (Fenner, 2012).

8. HIPÓTESIS

Con la elaboración de un protocolo y metodología de recolección de especies de hongos se permitirá cosechar los frutos en componentes florísticos del bosque siempre verde Pie Montano (BsPn01) de la Cordillera Occidental de Los Andes.

9. METODOLOGÍAS

La presente investigación está basada en un estudio bibliográfico que busca recopilar información científica relevante sobre hongos en especies silvestres, teniendo en cuenta la metodología adecuada para la recolección del fruto. Se utilizó la investigación descriptiva para

georreferenciar del lugar seleccionado, para describir el comportamiento de los hongos de los componentes florísticos en el fruto afectado, como instrumento se utilizó la libreta de campo para anotar el proceso de recolección en campo y la identificación del hongo en laboratorio.

9.1. Investigación bibliográfica

La presente investigación es de carácter bibliográfica, mediante este método se recopiló información científica relevantes publicadas en fuentes confiables como repositorios de universidades, donde se encontraron tesis que en primera instancia dieron a conocer sus estudios antes elaborados y relacionados con el actual estudio. Además, de coger como referencia artículos científicos como Scielo, Agrocalidad, libros e informes para tomar datos sobre la importancia, características y fenología que estudia la productividad en cuanto a floración, envejecimiento o maduración en frutos de las especies arbóreas o arbustivas dependiendo del clima de la región. La composición florística enfocada en la diversidad de especies que se producen en el recinto los Laureles entre el cantón Pangua y la Maná. La sanidad forestal, los hongos que atacan a las plantas, los hongos fitopatógenos y se referenció algunas especies de hongos fitopatógenos.

9.2. Tipo de investigación descriptiva

Esta investigación se realizó dentro del tipo descriptivo, Porque para su desarrollo y avance de la investigación necesita ser descrito sigilosamente, la misma que me permitió recopilar información de la flora, frutos y la recolección de los hongos presentes en los frutos silvestres. Además de ser descriptiva por el desarrollo de un protocolo con metodología y técnicas de los procesos a llevar para la recolección de los hongos en frutos de los componentes florísticos.

9.3. Método inductivo deductivo

Para la presente investigación se considera una metodología inductivo y deductivo porque va de lo general a lo particular, lo que permitió hacer el estudio desde la recolección del fruto hasta el aislamiento y obtención de microorganismos, es decir a partir de material frutal infectado. La técnica inductiva puede distinguirse cuatro pasos esenciales: la observación de los hechos para su registro; la clasificación y el estudio de estos hechos; la derivación inductiva que parte de los hechos y permite llegar a una generalización; y la contrastación.

9.4. Técnica e instrumentos de investigación

Como técnica se usó la observación, que consiste en observar desde el lugar de los hechos, todos los sucesos de manera directa y abierta con el propósito de obtener información de primera mano del fenómeno que se investiga.

La observación permitió identificar los arboles con frutos para luego realizar el proceso de monitoreo para el establecimiento de las parcelas, en donde para la recolecta se seleccionó un fruto en estado de biodegradación con la finalidad de conocer la realidad de la recolección de especies de hongos fitopatógeno en campo e identificación del mismo en laboratorio. Además, permitió observar macro y micro estructuras del patógeno. Lo cual se utilizó una guía de observación en donde se registró los datos, los cuales se podía determinar en el cultivo también se utilizó el microscopio como instrumento.

9.5. Metodología para el levantamiento de información de hongos.

9.5.1. Método cartográfico

La proyección cartográfica es una correspondencia biunívoca entre los puntos de la superficie terrestre y sus transformados en el plano llamado plano de proyección.

En función de las cualidades métricas, una proyección cartográfica es equivalente cuando en el mapa se conservan las superficies del terreno, aunque las figuras dejen de ser semejantes. Se utilizan generalmente en mapas temáticos o parcelarios. (Instituto Geográfico Nacional, 2010, p. 5)

9.5.2. Aplicación de la metodología a través de la Tecnología SIG

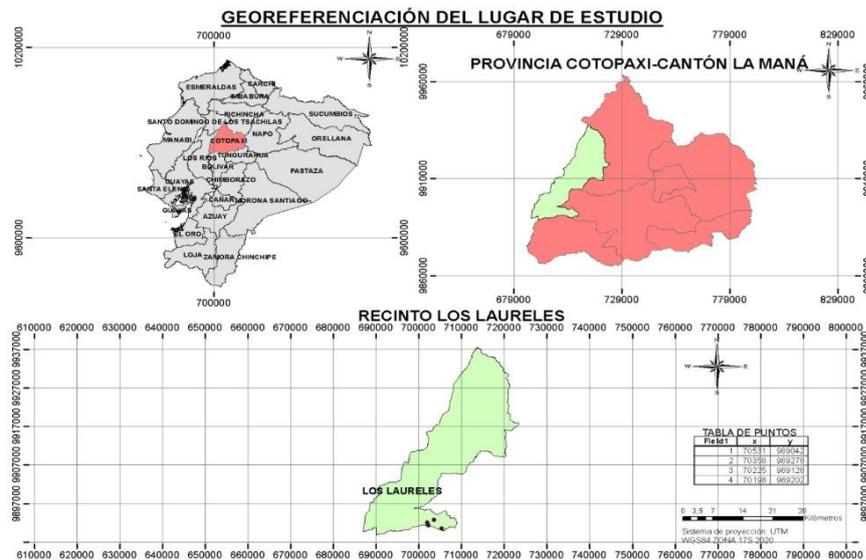
Para indicar las cualidades biofísicas de la zona delimitada se realizará un mapa a través de un Sistema de Información Geográfica (SIG) que permitirá:

- Tener en cuenta las condiciones climáticas, geográficas y del tipo de suelo, considerando las coordenadas UTM del sector en estudio.
- Porcentajes de cultivos existentes en la región de investigación.
- Delimitar los puntos de muestreo a ser investigado con sus respectivas coordenadas.

Como regla general, la utilización de SIG se propone igual que un aparato de administración y elección, cuyo aporte a la investigación del problema en el bosque será en la determinación de sus atributos biofísicos. Las instrucciones (UTM-WGS84) determinan los enfoques que conforman la región de investigación. (Sarabia, 2019)

9.5.2.1. Georreferenciación del lugar

Se recomienda la utilización del Sistema de posicionamiento global (GPS) Navigator – mapa, aplicación que facilita Google Play desde el (2018) en forma gratuita y es confiable. Herramienta útil para delimitar el o los transectos seleccionados en el bosque siempre verde pie montano del Recinto Los Laureles.



Elaborado por: Guevara, K. (2020)

Tabla 4. Ubicación del ensayo

Provincia	Cotopaxi
Cantón	La Maná.
Localidad	Recinto Los Laureles
Latitud	S0° 56' 27
Longitud	W 79° 13' 25
Altitud	220 msnm

Elaborado: Guevara, K. (2020)

9.5.2.2. Delimitación del área de Estudio

El área en estudio se ubica en las estribaciones de la Cordillera Occidental de los Andes.

El bosque donde se realizó el proyecto se encuentra localizado con una zona montañosa (bosques altos). Este sistema biológico involucra arboleda siempreverdes multiestratificados, con un dosel entre 25 a 30 m, imparte numerosas especies a bosques de pantanos y algunas variedades de animales en selva montano. Sucede en inclinaciones pronunciadas (Ministerio del Ambiente, 2013).

9.5.2.3. Georreferencia de la parcela



Elaborado por: Guevara, K. (2020)

Las coordenadas (UTM-WGS84) en la siguiente tabla se especifica los puntos que conforman el área de estudio.

9.5.2.4. Coordenadas del área de estudio

COORDENADAS.

COORDENADAS UTM SECTOR EL RECINTO LOS LAURELES (ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ)		
PUNTOS	LONGITUD (X)	LATITUD (Y)
1	70531	989042
2	70358	989278
3	70225	989128
4	70198	989202

Elaborado por: Guevara, K. (2020)

9.5.3. Clima de la zona

Según el Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (2017) Para este tipo de estudio es importante considerar el cambio climático, debido a que las interacciones entre microorganismos son constantes a través de los ciclos fenológicos de las plantas y sus variaciones son influenciadas por las condiciones del clima, hospederos susceptibles, fitopatógenos y la intervención del hombre (p. 1).

Tabla 5. Clima de las zonas altitudinales

ZONAS	ALTITUD	TEMPERATURA	TIPO DE CLIMA
	<i>(m.s.n.m)</i>	<i>(°C)</i>	
<i>Baja</i>	300-1400	20-26	Tropical Megatermico Húmedo

Fuente: De la Torre, Navarrete, Muriel, Macía y Balslev (2008).

Elaborado por:

Es conveniente considerar que en los bosques siempreverde Pie montano de cordillera occidental de los Andes se observan varios estratos y una estructura compleja con muchas especies que provienen de las tierras bajas. Crece en las vertientes más húmedas, actualmente sobre laderas muy pronunciadas. Los factores que determinan la humedad en esta zona están relacionados con la exposición y no con la altitud. Las partes más cercanas a la costa tienen bosques más húmedos, mientras que las zonas más alejadas son más estacionales. Entre las familias dominantes están las palmas, las lauráceas y las rubiáceas.

9.6. Metodología para determinar un protocolo de muestreo para la recolección de hongos presentes en los frutos de especies silvestres.

Para el protocolo de muestreo en recolección de especies de hongos en frutos del componente florístico se adopta la metodología presentada por los autores Cuervo, Espadas, y Zita (2015) publicada por la Universidad Nacional Autónoma de México. En el que se describe a la fitología como la ciencia que estudia las enfermedades de las plantas sus agentes causales, su interacción con los hospederos, así como su sintomatología y medios de control, es notorio el papel que desempeña dentro de esta ciencia el trabajo de gabinete; es decir, el análisis de laboratorio, debido a que es en este lugar donde se establece el conocimiento de cada uno de los enunciados anteriores.

9.6.1 Fase de Campo

9.6.1.1 Metodología de colecta

Para Cuervo et al (2015) la colecta inicia con una observación de alteraciones del cultivo, y será más precisa si el que la realiza ha examinado de manera personal la enfermedad en el campo. Un observador cuidadoso puede obtener datos valiosos que faciliten todo el proceso. Por ejemplo, la distribución local de una enfermedad varía de acuerdo con las circunstancias; es decir, pueden estar atacadas todas las plantas por igual, algunas más que otras, plantas sanas

alternadas con plantas enfermas, áreas bien definidas de plantas enfermas, en hileras en los bordes de la plantación, en las partes más bajas o distribuidas al azar.

Es importante notar la presencia de focos de infección inicial, a partir de los cuales se extiende la enfermedad, debido a que esa información da idea del patrón de diseminación y de la fuente de inóculo primario. En el desarrollo de la Fitopatología práctica es de suma importancia la colecta del material enfermo, puesto que de esto dependerá el que se puedan realizar las técnicas conducentes a una identificación acertada del patógeno en cuestión.

Para el correcto desarrollo metodológico de los procesos de recolección se brinda al investigador en el anexo 1 un cuestionario con interrogantes que al contestarlo permitirá manejar las técnicas más comunes de colecta y preservación de material de estudio fitopatológico. Además, es indispensable que todos los ejemplares que se colecten, se acompañen de la mayor cantidad de datos posibles, que se anotarán en la libreta de campo que se puede observar en el (anexo 2) (Cuervo, Espadas, & Zita, 2015).

9.6.1.2 Diseño de muestreo

En los estudios ecológicos, el diseño de muestreo es la parte que requiere mayor cuidado ya que éste determina el éxito potencial de un experimento, y de éste depende el tipo de análisis e interpretación a realizarse. Los diseños de muestreo deben ser anteriores y no posteriores. Sin embargo, antes de pensar en el diseño y forma de muestreo, es importante hacer una diferenciación entre muestras y poblaciones.

Tabla 5 Diferencias entre población y muestra.

Población Estadística (conjunto de individuos)	Muestra (un determinado porcentaje de la población)
Los 100 árboles de una especie elegida en un bosque de una hectárea	Unos 15 árboles de la especie elegida al azar para su medición, de los 100 árboles
Toda la región de la Amazonía	Unas 100 parcelas de 0.1 hectáreas medidas aleatoriamente en toda la región amazónica.

La cantidad de luz que llega al suelo del Cerrado	Unas 100 mediciones de luz con un fotómetro medidas en el Cerrado
---	---

Fuente: (Mostacedo, 2000, p. 4)

9.6.1.3 Envasado e Identificación de la muestra

Fundas ziploc o el contenedor elegido deben ser cómodos para moverse en el campo, no debe ser excesivamente enorme. Bajo ningún punto de vista se debería sobrecargarlo, ya que provocaría la devastación y descomposición de los hongos colectados.

A continuación, las muestras deben guardarse en la oscuridad a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ con entrada al aire libre (Burlage, Atlas, Stahl, Geesey, & Saylor, 1998). Para ello, es conveniente utilizar fundas de plásticas atadas libremente, manteniéndose alejados de las condiciones anaeróbicas en la base de estos. Además, es fundamental no dejar que el material se seque o se sumerja en agua durante su capacidad y no se acumule uno sobre otro.

9.6.1.4 Registro de las muestras

Es necesario identificar cada muestra por medio de un registro, así en el caso de que exista una enorme cantidad de hongos para recolectar, tipo de análisis de suelo solicitado, nombre del propietario, nombre del predio, ubicación geográfica, número de submuestras,

9.6.1.5 Transporte

Se debe elegir un contenedor auxiliar, por ejemplo, canastas de plástico donde una vez llenos se pueda mover el material recolectado. Las canastas deben contener aberturas para mantener a los parásitos en circulación de aire.

9.6.2. Fase de Laboratorio

9.6.2.1. Metodología para la preparación de medios de cultivo

En el diagnóstico de las enfermedades vegetales, el trabajo de laboratorio es de suma importancia debido a que ahí se efectúa la identificación del agente causal, lo que posibilita la aplicación de los métodos de control más adecuados.

El proceso de identificación de un patógeno requiere el aislamiento del mismo, para lo que es necesaria la elaboración de medios de cultivo que permitan el desarrollo de dicho patógeno. Una identificación científica debe realizarse según los Postulados de Koch, que revisten una importancia dentro de la Fitopatología, y deben seguirse siempre que se está frente a una enfermedad de la que se desconozca o se dude del agente causal.

Montagud (2018) los Postulados de Koch son los siguientes:

1. El organismo o agente causal debe estar constantemente asociados con la enfermedad.
2. El organismo debe ser aislado y cultivado en cultivo puro (identificación).
3. Al inocular una planta susceptible sana, debe desarrollarse la enfermedad original.
4. El organismo patógeno debe ser aislado de la planta infectada bajo condiciones experimentales (reidentificación) (Montagud, 2018).

9.6.2.2 Técnicas de aislamiento de microorganismos

En la naturaleza abundan los microorganismos que se desarrollan estrechamente relacionados entre sí, de manera que encontramos bacterias, hongos y otros organismos de muy diversos tipos, tanto de vida libre como parásitos. Para poder estudiarlos y conocerlos se deben cultivar en medios adecuados aislándolos del suelo o de partes vegetales enfermas.

A partir de la primera muestra que se coloca en un medio de cultivo, se obtiene un cultivo mixto del que se deben tomar nuevas muestras para realizar otros cultivos, seleccionando las diferentes colonias hasta lograr que en el medio se desarrolle un solo tipo de organismo, consiguiendo de esta forma un cultivo puro.

Para realizar aislamientos a partir del suelo, existen diversas técnicas como la de placa directa y la de dilución en serie. En el caso de que el patógeno se encuentre en las partes vegetales, se puede proceder a realizar aislamientos directos, utilizar cámaras húmedas, colocar partes vegetales en el medio de cultivo a través de trampas, etc.

9.6.2.3 Preparación de medios de cultivo

Para lograr el desarrollo y reproducción de las diferentes especies fitopatógenas, los medios de cultivo deben reunir características especiales, tomando en cuenta factores como se mencionan a continuación:

Nutrientes. En el medio de cultivo deberán estar presentes elementos nutricionales

tales como fuentes de carbono, nitrógeno, macroelementos (P, K, Mg, Ca), microelementos (Fe, Zn, Mn, Cu, Mo), vitaminas, etc.

Humedad. Deberá proporcionarse una humedad relativa favorable a los fitopatógenos que se desee cultivar. Por lo general requieren del 50 % o más.

Temperatura. Los valores óptimos de ésta son muy variables para cada especie, pero la mayoría de ellas pueden crecer en un rango de 20 a 25 °C. Este es un factor determinante para el desarrollo y la reproducción.

pH. También en este caso los valores óptimos son muy variables, pero en general los hongos fitopatógenos se desarrollan y reproducen mejor en pH ligeramente ácidos, mientras que las bacterias prefieren los ligeramente alcalinos.

Luz. Este factor en algunos casos afecta la reproducción de los hongos fitopatógenos, pero en general no influye.

Asepsia. Los medios de cultivo deben esterilizarse y mantenerse a salvo de cualquier contaminación por otros microorganismos.

Los medios de cultivo pueden ordenarse de acuerdo con su composición o a su consistencia, quedando de la siguiente manera:

Composición

Medios de cultivo sintéticos. Son aquellos medios de cultivo en los que se conoce con exactitud la composición de cada uno de sus componentes, por ejemplo, agar y Czapek.

Medios de cultivo complejos o semisintéticos. En estos la composición de uno de sus elementos no se conoce de manera exacta, o bien, se integran de sustancias naturales y sustancias sintéticas, por ejemplo, PDA (papa-dextrosa-agar).

Medios de cultivo naturales. Se forman a partir de material vegetal natural, por ejemplo: hojas, tallos, vainas, tubérculos, raíces, etc.

Consistencia

Medios sólidos. Contienen esencialmente agar, gelatina, albúmina, etc., materiales que al enfriarse quedan sólidos por completo. Son muy empleados para el aislamiento y la reproducción de hongos y bacterias.

Medios semisólidos. Contienen bajas proporciones de agar y gelatina mezclados o separados; al enfriarse permanecen en estado coloidal. Se emplean para mantener cultivos por largo tiempo.

Medios líquidos. Son preparados sin agar, gelatina u otras sustancias solidificantes, por lo que permanecen líquidos aun al enfriarse. Se emplean cuando se necesita incrementar el inóculo de hongos o bacterias.

Entre los medios de cultivo de uso frecuente en Fitopatología están los siguientes:

PDA (papa-dextrosa-agar)	AA (agua-agar)
AN (agar nutritivo)	HMA (harina de maíz-agar)
HFA (harina de frijol-agar)	JFA (jugo de frijol-agar)
VM (Ougo Va agar)	12. JTA jugo de tomate-agar)
AVA (avena-agar)	MSA (malta-sal-agar)
TSA (jugo de tomate-sal-agar)	BA (Bonner Addoat)
MM (medio de Martin)	BK (medio B de King)
VFA (vainas de frijol-agar)	

9.6.2.4 Metodología para la identificación de las bacterias fitopatógenas

En el proceso de diagnóstico de las enfermedades de las plantas, la identificación del agente causal ocupa un lugar preponderante. Las técnicas de identificación articularizan en los agentes bióticos que causan enfermedades, en decir, en los microorganismos fitopatógenos, entre los que encontraremos virus, fitoplasmas, espiroplasmas, bacterias, hongos y nemátodos.

Los virus son tan pequeños y requieren de técnicas tan elaboradas para su observación que es imposible llevarla a cabo en un laboratorio como éste. En cambio, es completamente factible observar a las bacterias (y organismos semejantes a ellas), a los hongos y a los nemátodos.

La pared celular determina la forma de las bacterias y es selectiva, pudiendo contener aminoácidos aromáticos, proteínas, ácidos teitoicos y diferentes azúcares. Dependiendo de la cantidad de éstos, las bacterias pueden teñirse de rojo o de violeta al seguir la técnica de tinción de Gram. Se conocen aproximadamente mil 600 especies de bacterias. La mayoría son

saprófitas obligadas y como tales benefician al hombre porque ayudan descomponiendo grandes cantidades de materia orgánica y desechos animales y vegetales

El hábitat de los hongos es muy amplio, puesto que se encuentran en el suelo, en el agua y en las plantas y animales. Pueden desarrollarse en condiciones climáticas muy variadas, en todo tipo de ecosistemas.

Los organismos semejantes a los hongos pertenecen a los reinos Protozoa y Chromista, y los hongos al reino Fungi. Son microscópicos y macroscópicos, uni y pluricelulares. Presentan pared celular y carecen de clorofila.

Están constituidos por células redondas u ovales solitarias o en plasmodios, o más frecuentemente por estructuras alargadas y ramificadas llamadas hifas, cuyo conjunto se denomina micelio. Cada hifa está conformada por una pared celular que protege a la membrana celular y al contenido protoplasmático, en donde se encuentran dispersos sus núcleos verdaderos, así como las mitocondrias, ribosomas, retículo endoplásmico y gránulos de sustancias de reserva. Si las hifas están separadas en celdas, se dice que el micelio es septado, y si el protoplasma es continuo en las hifas el micelio es cenocítico. En algunos hongos el micelio llega a formar pseudotejidos. Prosénquima y pseudoparénquima.

Entre las estructuras de reproducción asexual están los oídos, clamidosporas, esporangios y conidios, estos últimos solitarios o agrupados en sinemas, esporodoquios, acérvulos o picnidios.

Las esporas sexuales son las siguientes: cigosporas, oosporas, ascas-libres o en apotecios, peritecios y cleistotecios- y basidios, que nacen de forma directa de una espora de resistencia o en basidiocarpo, o dentro de basidiocarpos.

11. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

11.1. Protocolo a través de metodologías y técnicas para la recolección y cultivo de hongos de frutos de especies silvestres.

Introducción

El presente protocolo tiene la intención de brindar a los estudiantes de la carrera de Ingeniería en Medio Ambiente de la Universidad Técnica de Cotopaxi información necesaria en el trabajo práctico de la Fitopatología, tratando siempre de establecer la relación hospedero-patógeno, al aportarles el conocimiento básico para que en un futuro puedan diagnosticar cuando un cultivo está enfermo o dañado, y tengan noción de los métodos y técnicas de control que podrían emplear para lograr una mejor producción.

Medio de colecta en especies silvestres

Reconocimiento del lugar y determinación de los puntos de colecta

Para la toma de muestreos, se hará un recorrido a pie y se georeferenciará los puntos en el Recinto Los Laureles donde se delimitarán los transectos donde se tomarán las muestras.

Establecimiento de área de incidencia en el campo

Georeferenciación del lugar

Mediante la utilización de un GPS se procederá a delimitar el o los transectos seleccionados en el bosque siempre verde pie montano del Recinto Los Laureles, para elaborar un mapa del sector y ubicar los puntos donde se recolectarán las muestras.

Recorridos libres por el área de estudio

Para la toma de muestreos, se hará un recorrido a pie reconociendo el lugar y determinando los puntos de colecta, para lo cual se georeferenciará los puntos en el Recinto Los Laureles delimitándose los transectos donde se tomarán las muestras.

Materiales a utilizar

- Para la elaboración de transectos o parcelas: cuerda, decámetro, metro.
- Para la colección de muestras botánicas y de tejidos: barreno o pala, recipiente o bandeja de plástico para mezcla de sub-muestras, fundas plásticas, etiquetas, orden de trabajo vigente, marcador indeleble, cajas de cartón, GPS, caja térmica, gel o hielo.

Elaboración del transecto 1000 m²

Tipo de muestreo cuadrante

Establecemos la metodología de muestreo

Se aplicará como método el montaje de transecto o parcelas ideal para bosques

Aplicación de la técnica del metro cuadrado

Los arboles seleccionados para las muestras tienen que ser fructíferos en las mismas fechas, debido a que pueden presentar inconvenientes como escasos frutos o influencia del clima que imposibiliten su extracción. (Sánchez, 2017)

Altura (m): con un flexómetro se toma la estatura de cada individuo, desde la base hasta el final de la rama más apical, se evalúa a los que tienen una altura superior a 3 m con la ayuda de una vara graduada a 1.5 m (Figura 5), o utilizando un Hipsómetro (RIMAC, 2017).

Identificación taxonómica y origen de las especies: los arboles inventariados en el campo se deben registrar con el nombre normal, dado por los habitantes del sector, así como los nombres científicos reconocidos por el grupo especializado y los colaboradores de campo. Las especies que no se pueden identificar con nombres científicos deben recopilarse para su posterior identificación con la ayuda de colecciones físicas o en línea de herbarios virtuales (RIMAC, 2017).

Fenología: se incluye en la base de datos información sobre la presencia de estructuras reproductivas (e.i. flores, frutos, brácteas) de los individuos registrados en campo, para cada monitoreo, al igual que la fecha de ocurrencia (RIMAC, 2017).

Origen: por último, con la ayuda de literatura especializada se debe incorporar los datos relacionados con el lugar de origen de las especies en dos categorías: nativa e introducida (RIMAC, 2017).

Espacialización de los individuos: teniendo en cuenta que el error de georeferenciación del GPS es de ± 3 m en relación al punto capturado, el georeferenciar cada individuo vegetal inventariado incurriría en la propagación de este error, una vez por cada individuo. Por lo tanto, con el fin de mantener constante esta variación, cada individuo se debe espacializar con coordenadas x, y en un plot (Figura 30) coordinado desde el punto de referencia central (ensayos circulares), vértices (ensayos regulares) o puntos de amarre (transectos). Posteriormente, estas coordenadas (x, y) se transformaron a las coordenadas reales con base en los puntos geo-referenciados en campo.

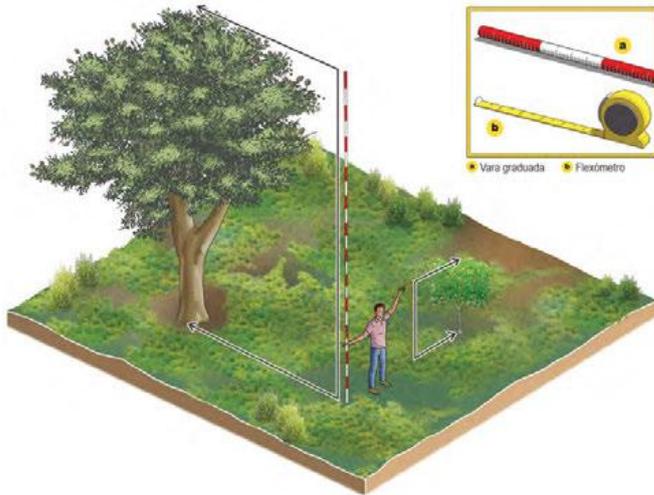


Figura 5 Medición de la altura. Tomada de (RIMAC, 2017).

Identificamos número de árboles (10 muestra)

Se identificarán 10 árboles, que se encuentre en estado reproductivo (flor y/o fruto), se tomarán muestras de tejido y se hará una descripción preliminar del estado de las poblaciones de algunas especies (especies de hongos). En campo se deben anotar los siguientes datos:

Tabla 6. Datos para anotar en campo

Código del área de estudio	Área de muestreo (humedal)	Especie	Familia	Hábito	Altura (m)	Longitud (0° 0'00'')	Latitud (0°0'00'')	Espécimen de referencia

Fuente: (Humboldt, 2015)

Consideraciones postcosecha

Personal manipulador de los frutos

Las personas que manipulen los alimentos en las labores de poscosecha deben tener en cuenta las siguientes normas higiénico–sanitarias, para evitar la contaminación del producto y garantizar la salud de los operarios:

Estado de salud

Si padece alguna enfermedad como: faringitis, amigdalitis, laringitis, otitis, conjuntivitis, diarrea o lesiones infectadas, informar al supervisor o a su jefe inmediato para que tome las medidas pertinentes.

Educación y capacitación

Es necesario que el personal que tenga que realizar el trabajo de recolección tanto del fruto postcosecha, como de los hongos tenga presente contestar las interrogantes que se plantean en el cuestionario (Anexo 3)

Prácticas higiénicas

- Deben bañarse todos los días, mantener los dientes limpios, y uñas cortas, limpias y sin esmaltes.
- Taparse la boca al estornudar o toser, y luego lavarse las manos.
- Mantener el cabello limpio y corto o bien recogido.
- Lavarse las manos antes y después de manipular los frutos, antes o después de comer o de rascarse cualquier parte del cuerpo, al estornudar o toser, al manipular recipientes de basura, aspersores de fumigación, escobas u otros utensilios sucios, al hacer uso del sanitario, antes de ingresar a la sala poscosecha.
- Llevar el uniforme completo, limpio y ordenado
- No utilizar relojes, anillos, aretes ni collares cuando se encuentren manipulando las hortalizas
- No consumir alimentos y bebidas en la poscosecha.
- No fumar en las labores de cosecha y poscosecha.
- No manipular dinero (billetes, monedas) mientras esté en contacto con los alimentos.

Para la recolección de los frutos

En el momento de la recolección, verifique el rendimiento del cultivo para determinar la madurez del fruto, una vez que el productor se dé cuenta de que la cosecha está preparado hacia la recopilación, puede comenzar a recolectar los frutos de forma manual. Dado que, los frutos silvestres maduran en varias ocasiones, el producto orgánico se aísla del árbol en la recolección.

En donde se efectúa un proceso de manipulación, considerando que para lograr una mejor calidad de los frutos silvestres se deberían seguir los consejos adjuntos:

Es relevante que la recolección no comience hasta que la fruta esté totalmente seca y no haya indicios de humedad en la piel de la fruta. En el momento en que la piel está mojada es más fácil marcar los dedos en el instante de la recolección, ya que la humedad reblandece la piel.

Por el tipo de clima Tropical Megatermico Húmedo que se da en el bosque siempre verde Pie Montano de la cordillera occidental de los andes, cuando ha habido un tiempo de lluvia prolongado, si es posible, debe esperar un tiempo antes de cosechar nuevamente para tener la opción de poder detectar frutos afectados por el hongo. Que pueden afectar su sistema radical o zona cortical del cuello del fruto y se desarrolla entre 15° C y 25° C, y una humedad relativa elevada, sirviendo el agua libre como vehículo de esparcimiento.

Adicionalmente en el producto orgánico húmedo al recolectarlo, hay que tener presente que cuando está en estas condiciones las glándulas oleíferas están un tanto más llenas, por lo que cualquier golpe provoca la rotura de estas glándulas y la salida del aceite esencial, ampliando de esta manera la probabilidad de entrada de patógenos.

Es recomendable que esta acción se realice con la utilización de unos alicates específicos para no dañar el producto orgánico, ya que se ha comprobado las pérdidas de las frutas como resultado de la recolección a tirón.

Los atributos del alicate son importantes, ya que la utilización de una herramienta inadmisibles puede causar un número considerable de heridas en la piel de la fruta que pueden pudrirse en algún momento.



Alicates para la recolección de los frutos.
Tomado de (Manzana-nules, 2016)

Por lo tanto, el alicate tiene que tener una forma en curvas sus puntas para la probabilidad de doblarse y ajustarse a las puntas y evitar pinchazos, y un realce en la contra-hoja con el objetivo de que no rayen la piel de la fruta.

Asimismo, es fundamental cortar el pedúnculo lo más corto posible, para evitar que estos puedan pinchar a diferentes frutas durante su manipulación y transporte.

Selección del fruto afectado

Los frutos considerados para la identificación y luego recolección de los hongos deben estar en estado de madurez con coloración cambiante diferente al normal de su madurez. Es decir, se toman en cuenta los frutos de color amarillo y café, que estén aun en la planta o que tengan anomalías como líneas o grietas por la mordida de los animales y si presentan una consistencia blanda debido a que puede dañar el resto del lote (Sánchez, 2017)

Procedimiento a seguir para la colecta del hongo

Se seleccionan los frutos de la variedad de plantas, una parte para ser inoculados y otra parte para dejarlos como testigo (Tabla 5), todos ellos se desinfectan.

- Revisar el aspecto fitopatológico de las plantas de la parcela seleccionada para efectuar la cosecha.
- Considerar en las plantas un declive en la colecta, modificaciones en el desarrollo, decoloraciones, sobrepigmentación, manchas, rayones, pudrición, marchitamiento, entre diferentes otros aspectos.
- Para recolectar el vegetal es conveniente identificar muy bien el tipo de cultivo que puede ser; rendimiento anual o duradero.

Tabla 7. hongos causantes de pudriciones en Postcosecha

Hongos	Porcentaje de frutos podridos (%)	
	Sin herida	Con herida
Botrytis cinérea		
Rhizopus		
Mucor		

<i>Alternaria citri</i>		
Penicillium		
<i>Fusarium</i>		
<i>Phytophthora infestans</i> (Oomycete)		
<i>Verticillium</i>		
Testigo		

Transporte de las muestras

Los frutos deben ser enviados frescos y acondicionados en fundas de papel con perforaciones permitido el movimiento del aire.

Utilizará Fundas plásticas o fundas de papel

Guardar los frutos en una funda de plástico, bien cerrada y con perforaciones permitido el movimiento del aire.

Etiquetado de cada muestra

Colocar una etiqueta de identificación por fuera de la funda y llenar todos los campos con marcador indeleble. Estos datos también deben registrarse en la Orden de Trabajo.

Mantener las muestras en un lugar fresco o bajo la sombra. Si se van a conservar las muestras mantenerlas a una temperatura entre los 4 y 12°C (refrigeración), esto evitará la muerte de los nematodos. Los frutos carnosos maduros son fácilmente destruidos en el transporte y normalmente necesitan refrigeración. Enviar la muestra al Laboratorio lo más pronto posible. (Agrocalidad, 2018)

Propagación desarrollo del hongo en fase de laboratorio

Materiales de laboratorio

Charolas	Agar agua
Alcohol	Estereoscopio
Bolsas herméticas (ziploc multi-pack)	Aguja
Papa-dextrosa-agar (pda).	Lactofenol
Hipoclorito de sodio	Colorante azul
Agua destilada estéril.	Algodón
Placas petri	Papel absorbente
Tubo de ensayo	

Frutos sanos. De cada muestra, se seleccionarán unos cuantos frutos aparentemente sanos y se colocaron en unas charolas desinfectadas con alcohol al 70%, evitando el contacto entre ellos. Cada una de las charolas se deben colocar en bolsas de plástico, y se sellaran con el fin de crear una cámara húmeda que se mantenga en el laboratorio en condiciones naturales de luz/oscuridad y temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) durante cuatro días.

Cada 24 h se debe evaluar la presencia de hongos y formación de síntomas en cada fruto; los hongos se aislarán en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA). Posteriormente, se purifica el aislamiento por cultivo monospórico y se realiza los postulados de Koch

Frutos sintomáticos. De cada una de las diez muestras se seleccionarán 20 frutos sintomáticos, y de cada fruto se tomarán cinco cortes pequeños del margen del tejido sintomático; se desinfectarán con hipoclorito de sodio al 1.5% por 2 min y se lavarán tres veces consecutivas con agua destilada estéril.

Elaboración del medio de cultivo

- Se toma una pequeña porción de micelio con esporas de las placas Petri (90 mm Ø), que deben contener 20 ml del medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA).
- La porción de micelio tomada, mediante un horador, tiene que ser de 10 mm de diámetro, a partir de cultivos de siete días de crecidos a 20°C .
- El micelio de cada aislado se tiene que suspender en un tubo de ensayo estéril que contenga 10 ml de agua destilada estéril.
- Después de la agitación mediante *vortex* durante un minuto, parte de la suspensión conidial (1 ml) se debe verter en placas Petri (90 mm Ø) que contenga 20 ml de Agar Agua al 2 % y se disemina mediante una espátula de Drigalski.
- Posteriormente, las placas se colocan en posición vertical y se incuban a 20°C , en oscuridad durante 24 h.
- Los conidios germinados se visualizan con un estereoscopio con un aumento de 40X
- Se toman conidios individuales germinados con una aguja y se transfirieren a placas Petri (90 mm Ø) que contengan 20 ml del medio de cultivo PDA, las cuales se incuban a 20°C durante siete días.
- Para la identificación de la especie *B. cinerea* se siguen los criterios sugeridos por Elad *et al.* Para la observación de los aislados se preparan láminas de portaobjetos de micelio

con estructuras reproductivas y se les añade una gota de lactofenol con un colorante algodón azul.

- Se examina las estructuras reproductivas de los diferentes aislados en un microscopio binocular con aumento de 200 X, para confirmar los criterios morfológicos informados para dicha especie.
- Para estos ensayos se utilizan 10 frutos de *Fragaria vesca* cv. Albion por cada aislado y otros 10 se usan como control de inoculación y se inoculan con agua estéril.

Inoculación del hongo

- La inoculación se realiza por inmersión de los frutos en una suspensión de conidios de aproximadamente 1.2×10^5 conidios. ml⁻¹ para cada aislado.
- Posteriormente, los frutos se dejan secar sobre papel absorbente durante una hora en una cabina de flujo laminar vertical.

Almacenamiento

- Una vez secos los frutos, se colocan individualmente en bolsas herméticas con cierre dentado y se incuban a 20°C y oscuridad durante 10 días.
- Sobre la base de la sintomatología observada, se confecciona una escala de evaluación basada en el porcentaje de frutos con síntomas con la cual se realizaron evaluaciones diarias.

Seguimiento del desarrollo de los micelios del hongo

Este ensayo se repite dos veces bajo las mismas condiciones

Identificación del hongo

Tabla 8. Enfermedades de poscosechas más importantes para frutos silvestres

Nombre de la enfermedad	Agente causal
--------------------------------	----------------------

Moho verde	Penicillium digitatum Sacc.
Moho azul	Penicillium italicum Wehmer
Podredumbre gris	Botrytis cinérea
Podredumbre amarga	Geotrichum candidum Link
Podredumbre negra	Alternaria spp.
Podredumbre peduncular	Phomopsis citri Fawcett
Podredumbre marrón	Phytophthora citrophthora (Smith et Smith) Leonian, P. parasítica Dastur
Antracnosis	Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Sacc.
Podredumbre por <i>Fusarium</i>	Fusarium proliferatum (Mat.) Nir., F. oxysporum Schlecht.

Fuente: (Murray, Candan, & Vázquez, 2019)

Tabla 9. Escala diagramática cuantitativa basada en la sintomatología de Botrytis cinérea observada en frutos de *Mandarinas*

Grado	Descripción	Correspondencia visual
0	Fruto sin síntomas	
1	Menor de ¼ del fruto con síntomas	
2	De ¼ a ½ del fruto con síntomas	
3	De ½ a – del fruto con síntomas	
4	Más de – del fruto con síntomas	

Fuente: (Leiva, Panimboza, Rivas, Rivera, & Carpio, 2019, p. 5)

Claves de identificación

Son numerosos los agentes causales de enfermedades postcosecha de frutos silvestres en el país.

Las principales enfermedades que afectan a este grupo de frutas son:

Tabla 10. Claves de identificación

Identificación	Agente causal
Moho verde y Moho azul son patógenos de heridas y causan una podredumbre blanda y húmeda que deteriora rápidamente la forma del fruto.	Penicillium digitatum Sacc.
	Penicillium italicum Wehmer
Podredumbre amarga	Geotrichum candidum Link
Podredumbre negra	Alternaria spp.
	Alternaria citri
Podredumbre peduncular	Phomopsis citri Fawcett
Podredumbre marrón	Phytophthora citrophthora (Smith et Smith) Leonian, P. parasítica Dastur
Antracnosis o podredumbre	Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Sacc.
<p>Podredumbre por <i>Fusarium</i> Esta afección puede observarse desde los 10 días posteriores al desverdizado, en etapa de almacenamiento y/o transporte.</p> <p>El primer síntoma de podredumbre peduncular es un oscurecimiento de la cáscara alrededor del pedúnculo hasta alcanzar color marrón oscuro y de aspecto seco al inicio, aunque según las condiciones de almacenamiento puede tornarse húmeda, y desarrollar un micelio blanco sobre la mancha, como así también una invasión secundaria de <i>Penicilium</i> spp. Algunos frutos muestran una pudrición de color castaño claro alrededor del pedúnculo.</p>	<p><i>Fusarium proliferatum</i> (Mat.) Nir., <i>F. oxysporum</i> Schlecht.</p>
<p>se manifiesta inicialmente como una mancha marrón clara o amarillenta hacia el final del cáliz y en pocos días cubre el fruto con un moho gris</p>	<p><i>Botrytis cinerea</i></p>

Fuente: (Murray, Candan, & Vázquez, 2019)

12. IMPACTOS

- **AMBIENTAL:** El proyecto aporta a la preservación de especies nativas en la zona de estudio

- **TECNICO:** Al llevar a cabo la identificación de las especies de hongos en el lugar se obtendrá información sobre la composición Microbiana en el recinto los Laureles, para tomar acciones futuras generando un mejoramiento ecológico
- **SOCIAL:** Establecer la metodología adecuada para así lograr obtener los resultados adecuados para la investigación.

13. PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO

Tabla 11. Presupuesto de lo que se va a utilizar en el proyecto

RECURSOS	DESCRIPCIÓN	UNIDADES	V. UNITARIO	V. TOTAL
Humanos.	Investigador	0	\$ -	\$ -
	Tutor	0	\$ -	\$ -
Tecnológicos.	Computadora.	330 h.	\$ 0,75	\$ 247,50
	Flash.	1	\$ 10,00	\$ 10,00
Oficina.	Resma de papel.	2	\$ 3,50	\$ 7,00
	Tinta de impresión	4	\$ 6,00	\$ 24,00
	Carpeta.	5	\$ 0,40	\$ 2,00
	Perforadora.	1	\$ 2,50	\$ 2,50
	Anillados.	2	\$ 5,00	\$ 10,00
	Grapadora.	1	\$ 1,50	\$ 1,50
	Cuaderno.	1	\$ 1,20	\$ 1,20
	Esfero.	3	\$ 0,45	\$ 1,35
	CD	3	\$ 0,50	\$ 1,50
	Copias.	300	\$ 0,05	\$ 15,00
			Subtotal.	\$ 323,55
			Imprevisto 10%	\$ 32,36
			Total.	\$ 355,91

Elaborado: Guevara, K. (2020)

Tabla 12. Presupuesto para elaborar el protocolo

Recursos	Cantidad	Unidad	V. Unitario	Valor Total
Materiales de campo				
Transporte	Días	12	\$ 3,00	\$ 36,00
Alimentación	Días	12	\$ 5,00	\$ 60,00

Guía	Días	12	\$ 30,00	\$ 360,00
Internet	Plan	1	\$ 20,00	\$ 20,00
Pala recta		1	\$ 25,00	\$ 25,00
Tijeras de podas		1	\$ 12,00	\$ 12,00
Serrucho		1	\$ 15,00	\$ 15,00
Cámara fotográfica		1	\$ 60,00	\$ 60,00
Etiquetas	Docena	12	\$ 0,10	\$ 1,20
Papel secante		1	\$ 3,00	\$ 3,00
Navaja de campo		1	\$ 5,00	\$ 5,00
Lupa de campo		1	\$ 3,00	\$ 3,00
Bolsas de papel secante	Docena	12	\$ 1,00	\$ 12,00
Prensa botánica		1	\$ 20,00	\$ 20,00
Periódico y cartón corrugado		5	\$ 1,00	\$ 5,00
Libreta de campo		1	\$ 3,00	\$ 3,00
Hielera portátil		1	\$ 13,00	\$ 13,00
Ligas	1/2 Docena	6	\$ 0,10	\$ 0,60
Engrapadora		1	\$ 5,00	\$ 5,00
Total				\$ 542,80
Materiales de laboratorio				
Frascos	1/2 Docena	6	\$ 0,30	\$ 1,80
Soluciones fijadoras		1	\$ 3,60	\$ 3,60
Asa microbiológica		1	\$ 60,00	\$ 60,00
Pinzas de disección	Docena	12	\$ 1,00	\$ 12,00
Agujas de disección	Docena	12	\$ 0,05	\$ 0,60
Cajas de PETRI	cajas	10	\$ 0,60	\$ 6,00
Mechero		10	\$ 1,00	\$ 10,00
Soporte con anillo		10	\$ 1,00	\$ 10,00
Tela de asbesto	Par	1	\$ 10,00	\$ 10,00
Balanza granataria		1	\$ 30,00	\$ 30,00
Papa	Libra	3	\$ 0,50	\$ 1,50
Tomates	Libra	5	\$ 0,50	\$ 2,50
Portaobjetos		2	\$ 1,00	\$ 2,00
Cubreobjetos		2	\$ 1,00	\$ 2,00
Cristal violeta		1	\$ 5,00	\$ 5,00
Safranina		1	\$ 3,00	\$ 3,00
Agua destilada		1	\$ 2,50	\$ 2,50
Sulfato de cobre		1	\$ 6,00	\$ 6,00
Alcohol etílico		1	\$ 12,00	\$ 12,00
Lugol		1	\$ 5,00	\$ 5,00
Azul de metileno		1	\$ 3,00	\$ 3,00
Rojo congo		1	\$ 7,00	\$ 7,00
TOTAL				\$ 195,50
TOTAL A PAGAR				\$ 738,30

Elaborado: Guevara, K. (2020)

14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

13.1 Conclusiones

De acuerdo a los resultados y a los objetivos propuestos se han llegado a las siguientes conclusiones:

- En el proceso investigativo de fuentes bibliográficas no se encontró en el país trabajos científicos de técnicas y metodologías completos para la recolección de hongos en frutos de especies silvestres, por esta razón se adaptó el protocolo de muestreo y el protocolo de técnicas para la recolección a la metodología presentada por los autores Cuervo, Espadas, y Zita (2015) publicada por la Universidad Nacional Autónoma de México.
- La ausencia de datos sobre las plantaciones de especies silvestres que se encuentran dentro del país es una limitación significativa para la mejora de muchos métodos de investigaciones que se quieren desarrollar, es conveniente apoyar la investigación sobre los recursos naturales y evitar la pérdida de recursos forestales genéticos que podrían derivar en grandes descubrimientos científicos.
- Los organismos fitopatógenos siguen siendo motivo de auténticas epidemias, pérdida total de rendimiento de la cosecha y elevados perjuicios monetarias, que cada día influyen en los cultivos y, anualmente llevan al uso de grandes cantidades de agroquímicos en general, dada la necesidad de establecer un marco de control.
- El control de organismos fitopatógenos tiene una importancia financiera increíble, ya que el desarrollo de parásitos en las plantas disminuye la cantidad y la calidad general durante y después de la cosecha. Los incesantes impactos monetarios provocados por los crecimientos fitopatógenos establecen una incesante necesidad de cultivar nuevos fungicidas más exitosos y agradables a la naturaleza, (por ejemplo, los basados en aceites esenciales), de esta manera la búsqueda y mejora de nuevas técnicas de control para los organismos fitopatógenos sigue siendo un tema actual y necesario.
- Para el protocolo de muestreo se de recolección de hongos presentes en frutos de especies silvestres se presenta la metodología de recolecta, metodología para la preparación de medios de cultivo, técnicas de aislamiento de microorganismos, preparación de medios de cultivos, metodología para la identificación de las bacterias fitopatógenas y la metodología para la identificación de hongos fitopatógenos, información que permitirá guiar en la forma en se debe realizar esta actividad

- Hay que tener presente el hongo *Botrytis cinérea*, ya que al principio es difícil detectarlo y el peligro que tiene este hongo es que puede transmitirse a otros frutos sanos por contacto sin que haya ninguna herida.

13.2 Recomendaciones

- Se recomienda priorizar los estudios y actividades de cultivo, recolección, siembra de especies de hongos presentes en los frutos de especies silvestres, que permitirán aportar información en este aspecto.
- Se sugiere a los estudiantes de la Universidad Técnica de Cotopaxi a la carrera de Ingeniería Ambiental poner en práctica las actividades plasmadas en el protocolo que se presenta en el actual proyecto.

15. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, C. (s. f.). <https://www.ucm.es>. Obtenido de <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-79266/El%20suelo%20vivo.pdf>
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology*. 5a. ed. . Gainesville, USA. 819 p.: Limusa editores.

- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology. Quinta edición*. Nueva York 803 p.: Academic Press.
- Agrocalidad. (2018). *Instructivo de muestreo para análisis nematológico*. Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario. Obtenido de <http://web.agrocalidad.gob.ec/documentos/lab/03-INT-N-07-Rev.-5-Muestreo-para-an-lisis-nematologico-Vigente.pdf>
- Agronoma. (22 de Noviembre de 2019). *¿Qué enfermedades pueden aparecer en los cultivos tras las lluvias?* Obtenido de <https://sevilla.abc.es/agronoma/noticias/agricultura/enfermedades-cultivos-lluvias/?ref=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F>
- Arauz, L. F. (2000). Mango anthracnose: Economic impact and current options for integrated management. *Plant Disease.* , 84(6):600-612.
- Báez, S., Salgado, S., Santiana, J., Cuesta, F., Peralvo, M., Galeas, R., . . . Stahl, B. (p. 101 de 2012). *Propuesta Metodológica para la Representación Cartográfica de los Ecosistemas del Ecuador Continental*. Obtenido de https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/07/Proyecto-Mapa-de-Vegetacio%28%81n-del-Ecuador_Propuesta-Metodologica.pdf
- Berríos, C., & Gutiérrez, R. (2018). *Manual de Microbiología*. Santiago de Chile: Ediciones UC.
- Bubb, P., May, I., Miles, L., & Sayer, J. (2004). *Cloud forest Agenda.* . Cambridge, UK.: UNEP-WCMC. .
- Calidad Fertilab. (2019). *Toma de muestras para análisis*. México: Fertilab.
- Carrillo, L. (2013). *Manual de Microbiología Agrícola*. San Salvador de Jujuy: Editorial Universitaria de Jujuy.
- Chediack, S. E. (2009). *Monitoreo de biodiversidad y recursos naturales: ¿para qué?* Obtenido de https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Transecto-de-muestreo-tipo-Gentry-utilizado-para-estimar-la-abundancia-y_fig1_268981531
- Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía. (1999). <https://www.juntadeandalucia.es>. Obtenido de https://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/web/Bloques_Tematicos/Estado_Y_Calidad_De_Los_Recursos_Naturales/Suelo/Criterios_pdf/Muestreo.pdf
- Cuervo, U. Y., Espadas, R. M., & Zita, P. G. (2015). *Fitopatología (Manual de Prácticas de Ingeniería Agrícola)*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

- Cuesta, F., Sevink, J., Llambí, L. D., De Bièvre, B., & Posner, J. (2014). *Avances en investigación para la conservación de los páramos andinos*. . Recuperado el 30 de Septiembre de 2016 de: <ftp://puceftp.puce.edu.ec/Facultades/CienciasExactas/EscuelaCienciasBiolo>.
- De la Torre, L., Navarrete, H., Muriel, M. P., Macía, M. J., & Balslev, H. (2008). *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*. Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Deferera, D. J., Ziogas, B. N., & Polissiou, M. G. (2003). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis*. . *Crop Protection*. , 22:39-44.
- Delgado, M. (2019). <https://www.oriusbiotech.com>. Obtenido de https://www.oriusbiotech.com/escrito?nom=Los_microorganismos_del_suelo_en_la_nutrici%C3%B3n_vegetal.
- Escribano, Á. G., Couso, B. P., Alcántara, A. E., & Cantalapiedra, E. V. (2015). Importancia ecológica de los mamíferos frugívoros en la dinámica de regeneración de tierras abandonadas en ambientes mediterráneos. *Revista Ecosistemas*, 24(3).
- Estrada, S. G., & Ramírez, G. M. (2019). *Micología general*. Manizales-Colombia: Centro Editorial Universidad Católica de Manizales.
- FAO. (Accesada 02/11/10. de 2004). *Manejo integrado de enfermedades en cultivos hidropónicos*. Obtenido de <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/aup/pdf/integral.pdf>
- FAO. (2008). *Inventarios forestales*. Consultado 15 noviembre 2007. Recuperado en <http://www.fao.org>.
- Fenner, M. (2012). *Seed ecology*. Springer Science & Business Media.
- Fernández, A., García, C., Sáez, J., & Valdezate, S. (2010). <https://www.seimc.org/>. Obtenido de <https://www.seimc.org/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>
- FHIA. (Recuperada en 02/11/10 de 2007). *Deterioro poscosecha de las frutas y hortalizas frescas por hongos y bacterias 4:2-5*. Obtenido de <http://fhia.org.hn/downloads/fhiainfdic2007.pdf>
- Fuentes, P., & Ronquillo, J. (2000). *Informe del Componente de Ecología Vegetal*. Quito. : En Fundación Natura et. al. Parque el Cóndor Estudios y Propuesta.
- García, C. V. (2004). *Introducción a la Microbiología*. 2a. ed. . Costa Rica. pp: 103-107.: Editorial EUNED. .

- García, C. V. (2004). *Introducción a la Microbiología. Segunda Edición*. Costa Rica. pp 103-107.: Editorial EUNED. .
- Garzón, C. R. (2015). *Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de tomate de árbol (Solanum betaceum), sector Patain – Cotopaxi. 2014*. Latacunga – Cotopaxi: Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Gomes, N., Fagbola, O., Costa, R., Gouvea, N., Buchner, A., Mendona, L., & Smalla, K. (2003). Dynamics of Fungal Communities in Bulk and Maize Rhizosphere Soil in the Tropics. *Applied and Environmental Microbiology*, 3758 - 3766.
- González, H., & Narváez, S. (2005). *Diagnostico del Bosque de Galería de Hacienda las Mercedes, Managua*. . Managua, Nicaragua: Tesis Pág. 43.
- González, O. L., Ferro, D. J., Rodríguez, C. D., & Berazaín, R. (2017). *Capítulo 5. Métodos de Inventario de Plantas*. Cuba: Instituto de Ecología y Sistemática. Centro de Investigaciones y Servicios Ambientales. Jardín Botánico Nacional. Obtenido de http://repositorio.geotech.cu/jspui/bitstream/1234/1454/6/060-085_Libro_Biodiversidad_Cuba_Cap%C3%ADtulo%205.pdf
- He, L., Liu, Y., Musthapa, A., & Lin, M. (2010). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Science Direct.*, 03 (003): 1-9.
- Hernández, L. A., Bautista, B. S., Velázquez, d. V., & Hernández, R. A. (2007). *Uso de Microorganismos Antagonistas en el Control de Enfermedades Postcosecha en Frutos*. Obtenido de versión On-line ISSN 2007-8080 versión impresa ISSN 0185-3309: <http://www.scielo.org.mx/img/revistas/rmfi/v25n1/a9c1.jpg>
- Holliday, P. (1995). *Fungus diseases of tropical crops: Glomerella cingulata*. . Nueva York, US, : Dover Publications. 607pp.
- Humboldt. (2015). *Descripción metodológica para la evaluación biológica en los complejos de humedales*. Bogotá, D.C.: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Subdirección de Servicios Científicos y Proyectos Especiales.
- Inta. (2017). *Guía para la toma de muestras vegetales en el diagnóstico de enfermedades fungo-bacterianas*. San José - Costa Rica: Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria .
- Jay, J. (1994). *Micróbología Moderna de los Alimentos*. . Zaragoza, España.: Acribia. .
- Jha, S., Jaiswal, P., Narsaiah, K., Bhardwaj, R., Sharma, R., Kumar, R., & Basediya, A. (2010). Post-harvest microflora on major cultivars of Indian mangoes. *Scientia. Horticulturae* , 125:617-621.

- Jiménez, R. A., Thomé, O. H., Espinoza, O. A., & Vizcarra, B. I. (2017). Aprovechamiento recreativo de los hongos comestibles silvestres: casos de micoturismo en el mundo con énfasis en México. *BOSQUE* 38(3): 447-456, p. 448.
- Juárez, B. G., Sosa, M. M., & López, M. A. (2010). *Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control*. Sta. Catarina Martir, Cholula, Puebla C.P. México: Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Fundación Universidad de las Américas Puebla .
- Kolanowska, M., & Szlachetko, D. (2016). *Problems with generic delimitation in the Odontoglossum complex (Orchidaceae, Oncidiinae) and an attempt for a solution. Plant Systematics and Evolution*, 302(2), 203-217. Recuperado el 22 de Noviembre de 2016 de: 10.1007/s00606-015-1254-6.
- Kvist, L., Aguirre, Z., & Sánchez, O. (2006). Bosques montanos bajos occidentales en Ecuador y sus planta útiles. *Botánica Económica de los Andes Centrales* , 205 - 223.
- Lagla, T. R. (p.36 de 2017). *Inventario florístico (arbóreo) en el bosque Siempreverde Montano bajo de La Cordillera Occidental de Los Andes, sector la Esperanza, cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi*. Obtenido de Universidad Técnica de Cotopaxi: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/4280>
- Leiva, M. M., Panimboza, Y. J., Rivas, F. F., Rivera, C. A., & Carpio, C. (2019). Agresividad diferencial entre aislados de Botrytis cinerea Pers. en Fragaria vesca L. cv. Albion. *Revista de Protección Vegetal*, Vol. 34, No. 1, enero-abril 2019, E-ISSN: 2224-4697, 1-7.
- León, I. G. (2017). *Ensayos de germinación de semillas de especies arbustivas nativas de la reserva geobotànica Pululahua*. Universidad de las Américas. UDLA. Investigación y Desarrollo. (Accesada 07/09/10 de 2010). *Hongos entomopatógenos y su uso como plagicidas*. Obtenido de <http://www.invdes.com.mx/index.php?option=comcontent&view=article&id=914:hongos-entomopatógenos-y-su-uso-como-plaguicidas&catid=52:noticias&Itemid=272>.
- Manzana-nules. (2016). *Buenas prácticas en la recolección de cítricos*. Obtenido de <https://www.manzana-nules.com/2016/12/22/buenas-practicas-para-recoleccion-citricos/>
- Mendoza, C. C., & Moreno, V. M. (2006). *Evaluación del efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de Phytophthora palmivora y Colletotrichum gloeosporioides*. . Costa Rica.: Tesis de Licenciatura. Universidad Earth.

- Mendoza, R., & Espinoza, A. (2017). <http://repositorio.una.edu.ni>. Obtenido de <http://repositorio.una.edu.ni/3613/1/P33M539.pdf>
- Ministerio del Ambiente. (2013). *Sistema de Clasificación de los ecosistemas del Ecuador continental*. Quito: Subsecretaría de Patrimonio Natural. Proyecto Mapa de Vegetación. Obtenido en: <http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PDOT/NIVEL%20NACIONAL/MAE/ECOSISTEMAS/DOCUMENTOS/Sistema.pdf>.
- Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2013). *Sistema de Clasificación de los Ecosistemas del Ecuador Continental. Subsecretaría de Patrimonio Natural. Quito Honorable Consejo Provincial de ZCH. (2005- 2009)*. Plan de Desarrollo Provincial de Zamora Chinchipe.
- Montagud, R. N. (2018). *Los 4 postulados de Koch: qué son y qué explican*. Obtenido de <https://psicologiamente.com/salud/postulados-de-koch>
- Montaño, N. S., Camargo, S., & Sánchez, J. (2010). Los microorganismos: pequeños gigantes. *Elementos: Ciencia y cultura*, 15 - 23.
- Mostacedo, B., & Fredericksen, T. (2000). <http://www.bio-nica.info>. Obtenido de <http://www.bio-nica.info/biblioteca/mostacedo2000ecologiavegetal.pdf>
- Murray, R., Candan, A. P., & Vázquez, D. (2019). *Manual de poscosecha de frutas*. Buenos Aires: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA.
- Ochoa, J. L., Hernández, M. L., Latisnere, B. H., León, d. L., & Larralde, C. C. (2010). *Aislamiento e identificación de hongos patógenos de naranja Citrus sinensis L. Osbeck cultivada en baja California sur, México*. México: Somenta. Taylor and Francis Group, LLC .
- Oleas, N., & Pitman, N. (2003). *Phaedranassa viridiflora*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2003: e. T42814A10755126*. . Recuperado el 8 de Octubre de 2016 de: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2003.RLTS.T42814A10755126.en>.
- Ordoñez, S. (2017). <http://dspace.ucuenca.edu.ec>. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/27208/1/Tesis%20Liliana%20Ordo%C3%B1ez.pdf>
- Palacios, W. A. (2015). *Picrasma ongistaminea, una nueva especie de Simaroubaceae de los Andes del Ecuador*. *Neotropical Biodiversity*, 1(1), 60-3. . Recuperado el 25 de Octubre de 2016 de: <http://dx.doi.org/10.1080/123766808.2015.1106175> =.
- Paniagua, Z. N., Cámara, L. R., & Macías, M. J. (2015). *Patterns of medicinal use of palms across northwestern South America*. *The Botanical Review*, 81(4), :317-415. Recuperado el 29 de Septiembre de 2016 de: [10.1007/s12229-015-9155-5](https://doi.org/10.1007/s12229-015-9155-5).

- Perfect Daily Grind. (2018). *Explicación Paso a Paso: La Cosecha y El Procesamiento del Cacao*. Obtenido de <https://perfectdailygrind.com/es/2018/03/06/explicacion-paso-paso-la-cosecha-y-el-procesamiento-del-cacao/>
- Pilatasig, S. M. (2017). *Inventario florístico (arbóreo) en el piso altitudinal de 300 a 1400 MSNM en el bosque siempre verde Piemontano de la Cordillera Occidental de Los Andes*. Latacunga – Ecuador: Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Pucci, G. (2017). <http://www.fcn.unp.edu.ar/>. Obtenido de <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/microgeneral/wp-content/uploads/2017/02/04-CULTIVO-DE-BACTERIAS.pdf>
- PUCE. (2019). <https://bioweb.bio/>. Obtenido de <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb/RegionesNaturales>
- Ramirez, M. (2019). NTF - 19-014 Biocontrol de botritis en fresa. *Fertilab*.
- RIMAC. (2017). *Monitoreo procesos restauración ecológica capítulo 2. Plataformas de monitoreo: paisaje, grupos sociales, suelo, vegetación y fauna*. Cuba: Repositorio de Información de Medio Ambiente de Cuba RIMAC. p. 97. Obtenido de http://repositorio.geotech.cu/jspui/bitstream/1234/1112/7/03%20Monitoreo%20procesos%20restauraci%C3%B3n%20ecol%C3%B3gica%20capitulo%202_097-133.pdf
- Román, V. C., Ruiz, R. I., Taphom, D. C., Jiménez, P. P., & García, A. (2015). *A new species of Bryconamericus (Characiformes, Stevardiinae, Characidae) from the Pacific coast of northwestern Ecuador, South America*. *Animal Biodiversity and Conservation*, 38(2), 241-252. Recuperado el 15 de Noviembre de 2016 de: https://www.researchgate.net/publication/283121601_A_new_species_of_Bryconamericus_Characiformes_Steuardiinae_Characidae_from_the_Pacific_coast_of_northwestern_Ecuador_South_America.
- Sánchez, A. D. (2017). *Ensayos de germinación de semillas de especies arbóreas nativas del refugio de vida silvestre Pasochoa*. pp. 30,31: Universidad de las Américas.
- Silva, K. S., Rebouças, T. N., L., L. O., Bomfím, M. P., Bomfim, A. A., Esquivel, G. L., . . . Tavares, G. M. (2006). Patogenicidad causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) em diferentes espécies frutíferas. *Revista Brasileira de Fruticultura*. Recuperada de: <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v28n1/29710.pdf>, Accesada 19/05/ 10., 28(1):131-133. .
- Soil, C. f. (2018). *Asociacion Vida Sana* . Obtenido de Asociacion Vida Sana : file:///C:/Users/DAYANA_PC/Desktop/BIOGEOQUIMICA/dossier-5_microorganismos-del-suelo-y-biofertilizacion-2.pdf

- Sosa, M. M. (2009). *Aplicación de radio frecuencia y microondas sobre Colletotrichum gloeosporioides, sobre huevos y larvas de Anastrepha obliqua, y sobre las propiedades físicas de mango (Mangifera indica L.)*. Veracruz, México.: Tesis de Doctorado. Instituto Tecnológico de Veracruz.
- Tapia, A. M., Homeier, J., Espinosa, C. I., Leuschner, C., & de la Cruz, M. (2015). *Deforestation and forest fragmentation in South Ecuador since the 1970s-losing a hotspot of biodiversity*. *PLoS one*, *10(9)*, e0133701. Recuperado el 5 de Diciembre de 2016 de: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0133701>.
- Trigos, A., Ramírez, K., & Salinas, A. (2008). Presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria. *Revista Mexicana de Micología*, *28*:125- 129.
- Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. (2016).
- Universidad Nacional de Córdoba. (2015). <http://agro.unc.edu.ar>. Obtenido de <http://agro.unc.edu.ar/~microbiologia/wp-content/uploads/2014/04/Guia-de-Trabajos-Practicos.pdf>
- Urgiles, G. N., Lalangui, Z. C., Chamba, Q. E., Loján, A. P., Poma, L. L., Encalada, C. M., & Aguirre, M. N. (2019). Aislamiento y caracterización morfológica de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) de zonas riparias del Sur del Ecuador: un enfoque a la producción de biofertilizantes. *CEDAMAZ Revista del Centro de Estudio y Desarrollo de la Amazonia*, *Vol. 09, No. 01*, pp. 1–7.
- Villarroel, R. (s.f.). <http://biblioteca.inia.cl>. Obtenido de <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/serieactas/NR25010.pdf>
- Zhang, D., D., S., A., G., & Gullino, M. L. (2010). Efficacy of the antagonist *Aureobasidium pullulans* PL5 against postharvest pathogens of peach, apple and plum and its modes of action. *Biological Control*, *103*:279-285.

16. ANEXOS

Anexo 1. Currículum Vitae del Tutor



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

Unidad de Administración de Talento Humano



SIITH
Sistema Informático
Integrado de Talento
Humano

FICHA SIITH

Favor ingresar todos los datos solicitados, con absoluta veracidad, esta información es indispensable para el ingreso de los servidores públicos al Sistema Informático Integrado de Talento Humano (SIITH)



DATOS PERSONALES								
NACIONALIDAD	CÉDULA	PASAPORTE	AÑOS DE RESIDENCIA	NOMBRES	APELLIDOS	FECHA DE NACIMIENTO	LIBRETA MILITAR	ESTADO CIVIL
			llene si extranjero					SOLTERA/O
DISCAPACIDAD	N° CARNE CONADIS	TIPO DE DISCAPACIDAD	MODALIDAD DE INGRESO	FECHA DEL PRIMER INGRESO AL SECTOR PÚBLICO	FECHA DE INGRESO A LA INSTITUCIÓN	FECHA DE INGRESO AL PUESTO	GENERO	TIPO DE SANGRE
MODALIDAD DE INGRESO LA INSTITUCIÓN			FECHA INICIO	FECHA FIN	N° CONTRATO	CARGO	UNIDAD ADMINISTRATIVA	
ejemplo:	NOMBRAMIENTO		13/01/2017				FACULTAD - CAREN	
TELÉFONOS		DIRECCIÓN DOMICILIARIA PERMANETE						
TELÉFONO DOMICILIO	TELÉFONO CELULAR	CALLE PRINCIPAL	CALLE SECUNDARIA	N°	REFERENCIA	PROVINCIA	CANTÓN	PARROQUIA
02- 2 886135	09 99837914	QUITO	SUCRE	S1 - 119	CERCA - COLEGIO FERNANDO ORTIZ CRESPO	PICHINCHA	QUITO	ZAMBIZA
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL				AUTOIDENTIFICACIÓN ÉTNICA				
TELÉFONO DEL TRABAJO	EXTENCIÓN	CORREO ELECTRÓNICO INSTITUCIONAL	CORREO ELECTRÓNICO PERSONAL	AUTOIDENTIFICACIÓN ÉTNICA	ESPECIFIQUE NACIONALIDAD INDÍGENA	ESPECIFIQUE SI SELECCIONÓ OTRA		
(03) 2252346	300	jaime.lesa@utc.edu.ec	jaimelma@yahoo.es	MESTIZO		No		
CONTACTO DE EMERGENCIA				DECLARACIÓN JURAMENTADA DE BIENES				
TELÉFONO DOMICILIO	TELÉFONO CELULAR	NOMBRES	APELLIDOS	No. DE NOTARIA	LUGAR DE NOTARIA	FECHA		
02 - 2886 135	0 979355978	MÓNICA PATRICIA	TUPIZA COBACANGO					
INFORMACIÓN BANCARIA				DATOS DEL CÓNYUGE O CONVIVIENTE				
NÚMERO DE CUENTA	TIPO DE CUENTA	INSTITUCIÓN FINANCIERA	APELLIDOS	NOMBRES	No. DE CÉDULA	TIPO DE RELACIÓN	TRABAJO	
3016223100	AHORRO	BANCO DEL PICHINCHA	TUPIZA COBACANGO	MÓNICA PATRICIA	1717708877	CONYUGE	ESTUDIANTE	
INFORMACIÓN DE HIJOS				FAMILIARES CON DISCAPACIDAD				
No. DE CÉDULA	FECHA DE NACIMIENTO	NOMBRES	APELLIDOS	NIVEL DE INSTRUCCIÓN	PARENTESCO	N° CARNE CONADIS	TIPO DE DISCAPACIDAD	
175279636-5	18/01/2007	TAMIA ESMERALDA	LEMA TUPIZA	EDUCACIÓN BÁSICA (3ER CURSO)				
175789733-3	25/01/2017	SOL MONSERRAT	LEMA TUPIZA	SIN INSTRUCCIÓN				
FORMACIÓN ACADÉMICA								
NIVEL DE INSTRUCCIÓN	No. DE REGISTRO (SENESCYT)	INSTITUCIÓN EDUCATIVA	TÍTULO OBTENIDO	EGRESADO	AREA DE CONOCIMIENTO	PERIODOS APROBADOS	TIPO DE PERIODO	PAIS
4TO NIVEL - MAERSTRÍA	1005-14-86049692	UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR	MAGISTER EN EDUCACIÓN AMBIENTAL		SERVICIO			ECUADOR
TERCER NIVEL	1005-06-677229	UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR	LICENCIADO EN TURISMO ECOLÓGICO		SERVICIO			ECUADOR

ESPACIO EN BLANCO PA

PARA PERFORAR

EVENTOS DE CAPACITACIÓN							
TIPO	NOMBRE DEL EVENTO (TEMA)	EMPRESA / INSTITUCIÓN QUE ORGANIZA EL EVENTO	DURACIÓN HORAS	TIPO DE CERTIFICADO	FECHA DE INICIO	FECHA DE FIN	PAÍS
CONGRESO	IV CONGRESO INTERNACIONAL DE CIENCIA TECNOLOGÍA INNOVACIÓN Y EMPRENDIMIENTO	UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR	40	APROBACIÓN	05-jul-17	07-jul-17	ECUADOR
TALLER	TALLER DE BANCOS DE GERMOPLASMA VEGETAL	MINISTERIO DEL AMBIENTE	16	APROBACIÓN	28/09/2016	29/09/2017	ECUADOR
SEMINARIO	SEMINARIO DE CAPACITACIÓN EN CALIDAD AMBIENTAL	CONGOPE	8	APROBACIÓN	15/09/2016	15/09/2016	ECUADOR
SEMINARIO	SEMINARIO DE AGROFORESTERÍA	UTC - EXTENSIÓN DE LA MANA	40	APROBACIÓN	18/06/2015	26/06/2015	ECUADOR
CONFERENCIA	CONFERENCIA DE MEDICINA TRADICIONAL	GAD MUNICIPAL LA MANÁ	8	APROBACIÓN	01/05/2015	02/05/2015	ECUADOR
SEMINARIO	SEMINARIO DE AGROBIOTECNOLOGÍA EMPLEO DE ROZ	UTC - EXTENSIÓN DE LA MANÁ	40	APROBACIÓN	10/12/2014	120/12/2014	ECUADOR
ENCUENTRO	MOODLE DAY	ESCUELA POLITÉCNICA NACIO	8	APROBACIÓN	27/06/2014	28/06/2014	ECUADOR
SEMINARIO	SEMINARIO DE CONSERVACIÓN DE SUELOS	UNIVERSIDAD TÉCNICA DE CO	40	APROBACIÓN	03/12/2014	07/12/2014	ECUADOR
DISERTACIÓN	CHARLAS ESPECIALIZADAS SOBRE EL AMBIENTE	FUNDACIÓN HERPETOLÓGICA	8	APROBACIÓN	13/06/2013	13/06/2013	ECUADOR
TRAYECTORIA LABORAL RELACIONADA AL PUESTO							
NOMBRE DE LA INSTITUCIÓN / ORGANIZACIÓN	UNIDAD ADMINISTRATIVA (DEPARTAMENTO / ÁREA / DIRECCIÓN)	DENOMINACIÓN DEL PUESTO	TIPO DE INSTITUCIÓN	FECHA DE INGRESO	FECHA DE SALIDA		MOTIVO DE SALIDA
UNIVERSIDA TÉCNICA DE COTOPAXI	FACULTAD DE CAREN - IMAN	DOCENTE	PÚBLICA OTRA	13/01/2017			NOMBRAMIENTO PERMANENTE
UNIVERSIDA TÉCNICA DE COTOPAXI	FACULTAD DE CAREN - IMAN	DOCENTE	PÚBLICA OTRA	01/01/2016	30/09/2016		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
UNIVERSIDA TÉCNICA DE COTOPAXI	FACULTAD DE CAREN - LA MANA	COORDINADOR CARRERA ECO	PÚBLICA OTRA	01/10/2015	30/12/2016		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA	NIVELACIÓN	DOCENTE	PÚBLICA OTRA	25/06/2014	09/09/2014		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
ENERGY & ENVIRONMENTAL CÍA. LTDA.	CONSULTORIA AMBIENTAL Y ENERG	CONSULTOR AMBIENTAL	PRIVADA	01/01/2008	30/09/2014		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
GREEN OIL MANEJO AMBIENTAL	CONSULTORIA AMBIENTAL	CONSULTOR AMBIENTAL	PRIVADA	01/01/2011	30/09/2014		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
CORPORACIÓN SEGURIDAAD & AMBIENTE CORPOYANAPANÁ S.A.	CONSULTORIA AMBIENTAL	CONSULTOR AMBIENTAL	PRIVADA	01/01/2011	30/09/2014		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
OPERADORA OMY	INSTRUCTOR POR COMPETENCIAS L	INSTRUCTOR AMBIENTA	PRIVADA	01/01/2011	30/09/2014		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR	COORDINADOR EDUCACIÓN A DISTA	COORDINADOR	PÚBLICA OTRA	01/01/2006	30/12/20199		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
MISIÓN DEL PUESTO							
ACTIVIDADES ESCENCIALES							

* Adjuntar historial laboral del IESS hoja resumen

* Todos la información registrada en el presente formulario debe constar en el expediente personal del archivo que maneja la Dirección de Talento Humano



 FIRMA

Anexo 2. Currículum Vitae del Estudiante

HOJA DE VIDA

I. DATOS PERSONALES.

NOMBRES: Katherine Adriana.

APELLIDOS: Guevara Castillo.

LUGAR DE NACIMIENTO: Santa Prisca – Quito – Ecuador.

CÉDULA DE CIUDADANÍA: 175291663-3.

FECHA DE NACIMIENTO: 11 de enero de 1996.

EDAD: 24 años.

ESTADO CIVIL: Soltera.

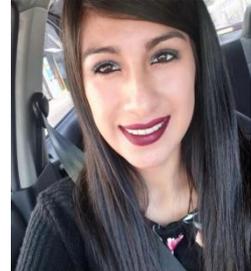
CIUDAD DOMICILIARIA: Quito

DIRECCIÓN: Quitumbe Calle Amauta y S35C Lote 4

TELÉFONO FIJO: (02) 27385-13

CELULAR: 0983458704

E-MAIL: katherine.guevara6633@utc.edu.ec



II. DATOS DE INSTRUCCIÓN.

ESTUDIOS PRIMARIOS:

“Escuela Aristóteles Bilingüe.”

ESTUDIOS SECUNDARIOS:

“Colegio Técnico Humanístico Experimental Quito”

Títulos: Bachiller en Químico - Biólogo

ESTUDIOS UNIVERSITARIOS:

Universidad Técnica de Cotopaxi (2015 – 2020)

Título: Cursando el Décimo Ciclo de la Carrera de Ingeniería en Medio Ambiente

Suficiencia en el Idioma inglés, en la Universidad Técnica de Cotopaxi U.T.C.

Anexo 3. Aval de traducción



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

CENTRO DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que: La traducción del resumen del proyecto de investigación al Idioma Inglés presentado por la Seta. Egresada de la Carrera de **INGENIERIA EN MEDIO AMBIENTE** de la **FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**; **GUEVARA CASTILLO KATHERINE ADRIANA**, cuyo título versa **“ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN FRUTOS DEL COMPONENTE FLORÍSTICO EN EL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 – 2020.”**, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a la peticionaria hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimare conveniente.

Latacunga, septiembre del 2020.

Atentamente,

Lic. Marcelo Pacheco MSc.
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 050261735-0



CENTRO
DE IDIOMAS

Anexo 4. Preguntas para una colecta eficiente

1	¿Qué es el diagnóstico de las enfermedades?
2	¿Por qué es indispensable llevar a cabo un diagnóstico?
3	¿En cuáles casos es fácil diagnosticar una enfermedad?
4	¿Qué actividades se deben realizar cuando el diagnóstico se complica?
5	¿Qué es una colecta?
6	¿Por qué y cuándo se debe realizar una colecta?
7	¿Qué observaciones se deben hacer en el campo?
8	¿Cuál es el objetivo de esta práctica?
9	¿Qué material se necesita para realizar una colecta?
10	¿Cómo se detectan los problemas fitopatológicos?
11	¿De qué dependen las partes vegetales que es necesario coleccionar?
12	¿Qué se debe coleccionar en un cultivo anual?
13	¿Qué se debe coleccionar en un cultivo perenne?
14	¿Qué se debe hacer si el tejido es carnoso?
15	¿Qué se debe hacer si la planta presenta nodulaciones en la raíz?
16	¿Qué se debe anotar en la libreta de campo con respecto al material coleccionado?
17	¿Qué usos se le puede dar al material coleccionado?
18	¿Qué se debe hacer si el material coleccionado se va a utilizar para realizar aislamientos?
19	¿Qué se debe hacer si el material coleccionado se destinará al herbario fitopatológico?
20	¿Qué es una solución fijadora?

Anexo 5. Datos generales para la libreta de campo

1. Datos generales

Muestra No. _____ Variedad _____
 Localidad _____ Edad del cultivo _____
 Fecha _____ Cultivos anteriores _____
 Cultivo (hospedero) _____ Predio _____

2. Apariencia general del cultivo

Marchitez _____ Tizones _____
 Amarillamiento _____ Desarrollo anormal _____
 Áreas muertas _____ Otros _____
 Manchas foliares _____

3. Partes atacadas de las plantas

Raíz _____ Brotes o tallos _____
 Hojas _____ Flores _____
 Frutos _____

4. Distribución de la enfermedad

Plantas aisladas _____ Manchones o grupos de plantas _____
 Áreas grandes _____ Áreas pequeñas _____
 Bandas o franjas _____ Bordes de cultivo _____

5. Condiciones prevalecientes durante la aparición de los primeros síntomas y el desarrollo de la enfermedad

Precipitación _____ Humedad relativa _____
 Vientos _____ Heladas _____
 Granizo _____ Otros _____

6. Labores culturales

Frecuencia de riego _____ Fertilizaciones _____
 Incorporación de materia orgánica _____ Aclareos _____
 Podas _____ Otros _____

7. Químicos aplicados al cultivo (concentraciones y dosis)

Fertilizantes _____ Fungicidas _____
 Herbicidas _____ Insecticidas _____
 Defoliantes _____ Otros _____

8. Características del suelo

Drenaje _____ Textura _____
 pH _____ Otros _____

9. Posibles deficiencias o excesos nutricionales

Zn _____ Mn _____ N _____
 K _____ Mg _____ Bo _____
 P _____ Otros _____

Anexo 6. Tipo de semillas

Según sus cotiledones	Según su base agrícola	Según su contenido de humedad	Según su base botánica	Según et tipo de germinación	Según su contenido ele reserva	Híbridas
Según Stone y Gifford (1997)	Basado en Cedeño (2015)	Basado en Cedeño (2015)	Según Stone y Gifford (1997)	Tomado de Raffaele (1999)	Según Stone y Gifford (1997)	
Monocotiledóneas La semilla contiene solamente un cotiledón.	Semilla verdadera Semillas que se originan de una flor, una vez fertilizada y madura es considerada como verdadera.	Recalcitrantes No soportan contenidos bajos de humedad.	Semilla desnuda No se requiere de un fruto o una flor, este tipo de semillas usualmente se encuentra en las coníferas.	Hípógena Los cotiledones se mantienen bajo suelo y la plúmula es llevada sobre los cotiledones.	Perispermadas Tienen un tejido nuclear llamado perisperma que funciona como una reserva nutritiva	Combinación de dos semillas puras de distintas especies. Mejoran la producción de ciertas plantas, ya que toman resistencias de ambas semillas iniciales.
Dicotiledóneas La semilla contiene dos cotiledones.	Semilla vegetativa Como en el caso de la papa, que siendo un tubérculo la papa funciona como raíz para el nacimiento de una nueva planta. Otros ejemplos son la cebolla, jengibre, entre otras.	Ortodoxas Pueden soportar procesos de secado que eliminan la humedad disponible.	Semilla cubierta Embrión fertilizado y maduro que se encuentra recubierto por el tejido seminal.	Epígea Los cotiledones se encuentran sobre el suelo por elongación del hipocótilo.	Oleaginosas Predominan los lípidos en su contenido de reserva.	
					Endospermadas Las reservas se acumulan en el endospermo debido a la doble fecundación	
					Exendospermadas las sustancias de reserva se acumulan en los cotiledones	

Fuente: (León, 2017)

Anexo 7. Abundancia Absoluta de las especies arbóreas según su clasificación

Familia	Especie	Nombre común	Abundancia absoluta	Clasificación
<i>Euphorbiaceae</i>	Alchornea glandulosa	Niguas	16	E
<i>Euphorbiaceae</i>	Alchornea triplinervea	Tumbil	1	MR
<i>Salicaceae</i>	Casearia sylvestris sw.	Willa	3	MR
<i>Urticaceae</i>	Cecropia aderiopus	Guarumo	6	R
<i>Euphorbiaceae</i>	Croton draconoides	Sangre de drago	1	MR
<i>Fabaceae</i>	Erythrina caffra	Porotillo	8	R
<i>Arecaceae</i>	Euterpe edulis	Palma	3	MR
<i>Moraceae</i>	Ficus	Higueron	14	R
<i>Moraceae</i>	Ficus crocata	Uabolón	17	E
<i>Myristicaceae</i>	Ficus obtusiuscula	Quitazol	11	R
<i>Moraceae</i>	Ficus schippii standl	Locma de monte	2	MR
<i>Meliaceae</i>	Guarea Sp.	Manzano	10	R
<i>Euphorbiaceae</i>	Hevea brasiliensis	Caucho	3	MR
<i>Chrysobalanaceae</i>	Hirtella triandra sw.	Insilillo	2	MR
<i>Fabaceae</i>	Inga edulis	Uavillo	17	E
<i>Chrysobalanaceae</i>	Licania sp.	Samil colorado	2	MR
<i>Moraceae</i>	Maclura tintoria	El moras	3	MR
<i>Melastomataceae</i>	Miconia	Aguacatillo	6	R
<i>Moraceae</i>	Perebea sp.	Colca	7	R
<i>Arecaceae</i>	Phytelephas macrocarpa	Tagua	2	MR
Total general			134	

Fuente: (Pilatasig, 2017)

Anexo 8. Manejo de los residuos biológicos peligrosos

En las prácticas 2, 3, 4 y 5, cuando los aislamientos de microorganismos (bacterias, hongos y nematodos) se desechan, se convierten en residuos biológicos peligrosos. Por lo tanto, es muy importante darle el manejo adecuado que contrarreste su peligrosidad. Todos los recipientes que contengan estos cultivos (principalmente cajas de PETRI), deberán envolverse en papel periódico en paquetes de tres cajas cada uno. Una vez envueltos se esterilizarán en autoclave para destruir el inóculo patógeno. El medio de cultivo sobrante y las cajas de Petri desechables deberán ponerse en bolsas especiales para incinerarse en el horno de veterinaria. Así mismo, los restos que contengan nematodos deberán seguir el mismo procedimiento.

Anexo 9. Frutos infectados por hongos

	
<p>Foto 1. Moho verde (<i>Penicillium digitatum</i>) en naranja.</p>	<p>Foto 2. Moho azul (<i>Penicillium italicum</i>) y moho verde (<i>P. digitatum</i>) en limones.</p>
	
<p>Foto 5. Podredumbre morena (<i>Monilinia fructicola</i>) en duraznos.</p>	<p>Foto 6. Podredumbre morena (<i>Monilinia fructicola</i>) en ciruelas.</p>
	
<p>Foto 7. Podredumbre gris (<i>Botrytis cinerea</i>) en uva de mesa.</p>	<p>Foto 8. Podredumbre ácida en racimo de uva de mesa.</p>
	
<p>Foto 10. Podredumbre por <i>Alternaria</i> (<i>Alternaria alternata</i>) en baya de uva de mesa</p>	<p>Foto 9. Podredumbre ácida en baya de uva de mesa</p>
	
	<p>Foto 17. Podredumbre por <i>Alternaria</i> en arándano.</p>

	
Foto 3. Moho azul (<i>Penicillium expansum</i>) en peras.	Foto 4. Podredumbre gris (<i>Botrytis cinerea</i>) en peras.

Anexo 10. Camaras humedas con muestras vegetales

	
En caja de icopor	En bolsa plastica

Fuente: (Estrada & Ramírez, 2019)

Anexo 11. Aislamiento de hongos de síntomas de muestras de tejido vegetal

	
Cámara húmeda después del periodo de incubación	Cortes de porciones de tejido vegetal para la siembra

	
<p>Tejido vegetal en hipoclorito de sodio al 0,25 % por 30 segundos</p>	<p>Tejido vegetal en agua destilada esteril por 1 minuto</p>
	
<p>Secado del tejido vegetal</p>	<p>Siembra directa de tejido vegetal con síntomas</p>
	
<p>Finalizacion de la siembra de tejido vegetal con síntomas</p>	<p>Crecimiento de colonias despues del periodo de incubacion</p>
	
<p>Purificación del crecimiento del hongo</p>	

Fuente: (Estrada & Ramírez, 2019)

Anexo 12. Aislamiento de hongos de signos de muestras de tejido vegetal

	
Tejido vegetal con signos	Toma del hongo del tejido vegetal
	
Siembra del hongo en medio de cultivo	Crecimiento del hongo despues del periodo de incubacion

Fuente: (Estrada & Ramírez, 2019)