



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE AGROPECUARIA**

**IDENTIFICACIÓN DE *Phytophthora* spp., EN CULTIVOS DE
TOMATE, A NIVEL DE LABORATORIO EN LA
PROVINCIA DE SANTA ELENA**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Requisito parcial para la obtención del título de:

INGENIERA AGROPECUARIA

Autora: Dennisse Elizabeth Zorrilla Villamar

LA LIBERTAD, DICIEMBRE 2025



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE AGROPECUARIA**

**IDENTIFICACIÓN DE *Phytophthora* spp., EN CULTIVOS DE
TOMATE, A NIVEL DE LABORATORIO EN LA
PROVINCIA DE SANTA ELENA**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Requisito parcial para la obtención del título de:

INGENIERA AGROPECUARIA

Autora: Dennisse Elizabeth Zorrilla Villamar

Tutora: Ing. Ligia Araceli Solís Lucas, Ph.D

LA LIBERTAD, DICIEMBRE 2025

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **DENNISSE ELIZABETH ZORRILLA VILLAMAR** como requisito parcial para la obtención del grado de Ingeniera Agropecuaria de la Carrera de Agropecuaria.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 09/12/2025

Ing. Lenni Ramírez Flores, Mgtr.
DIRECTORA DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Marlon Mena Montoya, Mgtr.
PROFESOR ESPECIALISTA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Araceli Solís Lucas, Ph.D.
PROFESORA TUTORA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Nadia Quevedo Pinos, Ph.D.
PROFESORA GUÍA DE LA UIC
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Washington Perero Vera, MSc.
ASISTENTE ADMINISTRATIVO
SECRETARIO

AGRADECIMIENTOS

A Dios por su protección.

A los docentes por la abnegada y esforzada labor de formar y enseñar. De forma especial a mi Tutora Ph.D. Araceli Solís, Blg. Javier Soto e Ing. Anthony Perero, por sus asesoramientos constantes en la elaboración de esta investigación.

A mi familia por su apoyo incondicional durante todo mi trayecto de vida.

A mis compañeros de laboratorio Marcos y José por su compañía y amistad brindada, en especial a José por su colaboración durante el proceso de la investigación.

DEDICATORIA

Dedico a mis padres María Villamar y José Mero por su amor y cariño brindado durante todo mi trayecto de vida, gracias por enseñarme el valor del esfuerzo, este logro es fruto de su apoyo silencioso, sus consejos y presencia firme. Cada logro alcanzado lleva ineludiblemente una parte de ustedes.

RESUMEN

El cultivo de tomate en la provincia de Santa Elena enfrenta desafíos críticos, principalmente por la alta incidencia de factores bióticos que elevan los costos de producción. Ante esta problemática, esta investigación se justificó en la necesidad de identificar y caracterizar la presencia del fitopatógeno *Phytophthora* spp. a nivel de laboratorio, dada su capacidad para causar pérdidas devastadoras. La metodología incluyó la toma de muestra de tejido vegetal y suelo en cuatro zonas productoras de tomate; las que fueron transportadas al laboratorio de Centro de Investigaciones Biotecnológicas CEB – UPSE. Las muestras fueron procesadas y aisladas utilizando medios selectivos como Agar Centeno, V8 y PDA. La presencia del patógeno se realizó mediante el análisis dicotómico (presencia/ausencia) en los medios de cultivo utilizados. La identificación morfológica del patógeno se confirmó mediante caracterización macroscópica (micelio algodonoso y blanquecino) y microscópica (hifas cenocíticas y esporangios limoniformes). Los resultados revelaron una distribución heterogénea del patógeno directamente influenciada por las prácticas de manejo y las condiciones edáficas. El Tambo mostró la mayor presencia de *Phytophthora* spp. en el suelo, lo que indica una elevada carga de inóculo residente, exacerbada por la ausencia de tutorado que facilita el contacto entre el cultivo y el suelo. En Manglaralto, el inóculo era predominantemente aéreo, sugiriendo dispersión por esporangios. Olmedo registró una ausencia total a pesar de problemas de drenaje, y Chanduy presentó un riesgo bajo, probablemente debido a temperaturas del suelo fuera del rango óptimo. Además de *Phytophthora* spp., se identificaron otros patógenos fúngicos (*Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Rhizoctonia* sp.) y el agente benéfico *Trichoderma* sp. Se concluye que *Phytophthora* spp. es una amenaza biológica latente y activa en la provincia, cuya severidad está ligada a factores culturales, haciendo indispensable el desarrollo de estrategias de manejo integrado y localizado para su control.

Palabras claves: Aislamiento, Manejo agronómico, Oomiceto.

ABSTRACT

Tomato cultivation in the province of Santa Elena faces critical challenges, mainly due to the high incidence of biotic factors that increase production costs. Given this problem, this research was justified by the need to identify and characterize the presence of the phytopathogen *Phytophthora* spp. at the laboratory level, given its ability to cause devastating losses. The methodology included taking plant tissue and soil samples in four tomato-producing areas, which were transported to the laboratory of the Center for Biotechnology Research CEB–UPSE. The samples were processed and isolated using selective media such as Rye Agar, V8, and PDA. The presence of the pathogen was determined by dichotomous analysis (presence/absence) in the culture media used. The morphological identification of the pathogen was confirmed by macroscopic characterization (cotton-like, whitish mycelium) and microscopic characterization (cenocytic hyphae and lemon-shaped sporangia). The results revealed a heterogeneous distribution of the pathogen directly influenced by management practices and soil conditions. Tambo showed the highest presence of *Phytophthora* spp. in the soil, indicating a high resident inoculum load, exacerbated by the absence of staking, which facilitates contact between the crop and the soil. In Manglaralto, the inoculum was predominantly aerial, suggesting dispersal by sporangia. Olmedo recorded a total absence despite drainage problems, and Chanduy presented a low risk, probably due to soil temperatures outside the optimal range. In addition to *Phytophthora* spp., other fungal pathogens (*Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Rhizoctonia* sp.) and the beneficial agent *Trichoderma* sp. It is concluded that *Phytophthora* spp. is a latent and active biological threat in the province, the severity of which is linked to cultural factors, making it essential to develop integrated and localized management strategies for its control.

Keywords: Isolation, Agronomic management, Oomycete.

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

El presente Trabajo de Integración Curricular titulado “**IDENTIFICACIÓN DE *Phytophthora* spp., EN CULTIVOS DE TOMATE, A NIVEL DE LABORATORIO EN LA PROVINCIA DE SANTA ELENA**” y elaborado por **Dennisse Elizabeth Zorrilla Villamar**, declara que la concepción, análisis y resultados son originales y aportan a la actividad científica educativa agropecuaria.

Transferencia de derechos autorales

"El contenido del presente Trabajo de Graduación es de mi responsabilidad; el patrimonio intelectual del mismo pertenece a la Universidad Estatal Península de Santa Elena".

Firma de la estudiante

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
Problema Científico	2
Objetivos	2
Objetivo General:	2
Objetivos Específicos:	2
Hipótesis	2
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1.1 Generalidades del cultivo de tomate	3
1.1.1 Origen	3
1.1.2 Clasificación taxonómica.....	3
1.2 Importancia económica del cultivo de tomate	3
1.3 Las enfermedades en el cultivo de tomate	4
1.4 Generalidades del género <i>Phytophthora</i> spp.	4
1.4.1 Taxonomía	4
1.4.2 Morfología de <i>Phytophthora</i> spp.	5
1.4.3 Biología de <i>Phytophthora</i> spp.	5
1.4.4 Factores que favorecen su desarrollo.....	6
1.5 Síntomas y signos de enfermedad	7
1.6 Mecanismos de infección y dispersión	8
1.7 Impacto económico de las enfermedades causadas por <i>Phytophthora</i> spp.	8
1.7.1 Pérdida en rendimiento y calidad del tomate	8
1.8 Protocolos de muestreos fitopatológicos	9
1.8.1 Muestreo de suelo	9
1.8.2 Muestreo de tejido vegetal	9
1.8.3 Manejo y conservación de las muestras.....	10
1.9 Bioseguridad en el laboratorio	10
1.10 Técnicas de laboratorio para análisis de las muestras	11
1.10.1 Medios de cultivo.....	11
1.10.2 Técnica de dilución de suelo.....	12
1.10.3 Aislamiento a partir de tejido vegetal	13
1.11 Identificación morfológica	13
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS	14
2.1 Caracterización del área de estudio	14
2.2 Condiciones edafoclimáticas de las fincas muestreadas	15
2.2.1 Olmedo.....	15
2.2.2 Manglaralto	15
2.2.3 El Tambo.....	15
2.2.4 Chanduy	15
2.3 Materiales, equipos y reactivos	16
2.3.1 Material de campo para colecta de muestras	16
2.3.2 Material de laboratorio.....	16
2.3.3 Equipos de laboratorio	16

2.3.4	Reactivos para medios de cultivo	16
2.4	Tipo de investigación	14
2.5	Metodología empleada en la investigación	14
2.5.1	Recolección de muestras de suelo y tejido vegetal	15
2.5.2	Muestreo de tejido vegetal	15
2.5.3	Muestreo de suelo	15
2.5.4	Manejo del experimento en laboratorio	15
2.5.5	Esterilización de materiales	15
2.5.6	Medio PDA (Potato Dextrosa Agar).....	16
2.5.7	Medio V8	16
2.5.8	Aislamiento de tejido vegetal.....	16
2.5.9	Aislamiento de muestras de suelo.....	17
2.5.10	Identificación morfológica.....	17
2.5.11	Purificación.....	17
2.5.12	Inoculación de frutos de pera.....	18
2.6	Parámetros evaluados	18
2.6.1	Presencia/ausencia de <i>Phytophthora</i> spp. en medios de cultivo utilizados	18
2.6.2	Características macroscópicas	18
2.6.3	Caracterización microscópica	18
2.6.4	Porcentaje de presencia de <i>Phytophthora</i> spp. en las zonas muestreadas	19
2.7	Análisis estadístico de los resultados.....	19
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		20
3.1	Aislamiento del género <i>Phytophthora</i> spp.	20
3.1.1	Purificación de <i>Phytophthora</i> spp.....	21
3.2	Identificación de <i>Phytophthora</i> spp	23
3.2.1	Inoculación de <i>Phytophthora</i> spp. en fruta de pera	24
3.3	Fincas muestreadas con presencia de <i>Phytophthora</i> spp.....	26
3.3.1	Característica general del cultivo en las fincas muestreadas	28
3.4	Conteo de colonias	29
3.4.1	Identificación de otros hongos encontrados en las fincas muestreadas	29
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		33
Conclusiones.....		33
Recomendaciones.....		33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		34
ANEXO.....		44

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.	Clasificación taxonómica del tomate (Vega, 2022).....	3
TABLA 2.	Taxonomía de <i>Phytophthora</i> spp. (SENASICA, 2021).....	4
TABLA 3.	morfología de <i>Phytophthora</i> spp.	5
TABLA 4.	Coordenadas geográficas de las zonas muestreadas (IGM, 2025).....	14
TABLA 5.	Recolección de muestras de suelo y tejido vegetal.....	15
TABLA 6.	Presencia (1) o ausencia (0) de crecimiento del patógeno en diferentes medios de cultivo.....	21
TABLA 7.	Caracterización macroscópica de los aislados de <i>Phytophthora</i> spp.....	23
TABLA 8.	Caracterización microscópica del género <i>Phytophthora</i> spp.....	24
TABLA 9.	Característica general de las fincas muestreadas ...	28

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.	Ciclo de vida de <i>Phytophthora</i> spp. (Reis <i>et al.</i> , 2023).	6
FIGURA 2.	síntomas de <i>Phytophthora</i> spp. En tomate. A. Síntoma de decaimiento inicial b. Manchas concéntricas en tomate c. Necrosis en tallo provocada por <i>P. Capsici</i> d. Síntomas en tomate de <i>p. Nicotianae</i> (Berra, 2022).	8
FIGURA 3.	Síntomas de <i>Phytophthora</i> spp. En plantas de tomate (García, 2021).....	10
FIGURA 4.	Diluciones seriadas (Hidalgo <i>et al.</i> , 2022).....	12
FIGURA 5.	Ubicación de las fincas muestreadas.....	14
FIGURA 6.	Diagrama metodológico de la identificación morfológica de hongos fitopatógenos en cultivos de tomate en la provincia de Santa Elena.	14
FIGURA 7.	<i>Phytophthora</i> spp. En medio de cultivo V8 a los 7 días después de incubación.....	21
FIGURA 8.	<i>Phytophthora</i> spp. En medio de cultivo Agar Centeno después de 7 días de incubación.	22
FIGURA 9.	Crecimiento de <i>Phytophthora</i> spp. En medio PDA a 7 días después de incubación. A. Diámetro 44.42 mm. B. Diámetro 59.98 mm. C. 51.99 mm.....	22
FIGURA 10.	Presencia de micelio algodonoso, blanquecino y lesión marrón oscuro con borde irregular y progresivo.....	25
FIGURA 11.	Estructuras reproductivas asexuales de <i>Phytophthora</i> spp. A. Hifas hialinas y ramificadas; b. Esporangios globoso no papilados; c. Esporangio elipsoide semipapilado; d. Esporangio caduco; e. Liberación de zoosporas.....	26
FIGURA 12.	Presencia de <i>Phytophthora</i> spp. En las cuatro fincas muestreadas de diferentes zonas de la provincia de Santa Elena.	28
FIGURA 13.	Cuantificación de unidades formadoras de colonias en las cuatro fincas muestreadas de diferentes zonas de la provincia de santa elena.	29
FIGURA 14.	Fotografía macro y microscópicas de los hongos fitopatógenos aislados. A. colonia de <i>Fusarium</i> sp. Color ligeramente violáceo, margen redondo, colonia lanosa b. Macroconidios en forma de medialuna, hialinos y septados de <i>Fusarium</i> sp. C. Colonia de <i>Rhizoctonia</i> sp. Color marrón oscuro; textura algodonosa. D. Hifas largas, gruesas y septadas, color marrón claro de <i>Rhizoctonia</i> sp. E. Colonia de <i>Alternaria</i> sp. Color marrón, textura algodonosa. E. Micelio color oscuro; hifas septadas; conidióforos septados de color oscuro ramificados; conidios grandes en forma de maza con divisiones longitudinales.....	31
FIGURA 15.	Fotografía macro y microscópica de hongos saprófitos aislados. A. Colonia de <i>Penicillium</i> sp. Colonias planas con aspecto aterciopelado. B. Hifas septadas; conidióforos en forma de pincel; fiálides rectas y paralelas. C. Colonia de <i>Aspergillus</i> sp. Colonia algodonosa, de color blanco y el centro café oscuro. D. Vesícula esporífera globosa, fiálides radiales, conidios redondos en cadena, conidióforo largo y liso. E. Colonia algodonosa, color amarillo. F. Hifas cenocíticas conidióforos, esporangios globosos.	32
FIGURA 16.	Fotografía macro y microscópica de <i>Trichoderma</i> sp. A. Color verde oscuro en el centro y blanco en los extremos, textura lanuda. B. Hifas hialinas, finas y ramificadas; conidióforos ramificados de manera irregular	32

ÍNDICE DE ANEXOS

- FIGURA 1A.** Ficha de muestreo en Olmedo.
- FIGURA 2A.** Ficha de muestreo en Chanduy
- FIGURA 3A.** Ficha de muestreo en El Tambo.
- FIGURA 4A.** Dueño de la finca de Olmedo.
- FIGURA 5A.** Cultivo de tomate variedad Micaela.
- FIGURA 6A.** Recolección de muestras de suelo.
- FIGURA 7A.** Recolección de muestras de suelo en Manglaralto.
- FIGURA 8A.** Recolección de muestras de tejido vegetal en Manglaralto.
- FIGURA 9A.** Dueño de la finca de El Tambo.
- FIGURA 10A.** Cultivo de tomate variedad Floradade.
- FIGURA 11A.** Dueño de la finca de Olmedo.
- FIGURA 12A.** Recolección de muestras de suelo y tejido vegetal en Chanduy.
- FIGURA 13A.** Jugo V8 utilizado para la preparación del medio de cultivo.
- FIGURA 14A.** PDA utilizado para la preparación de los medios de cultivo.
- FIGURA 15A.** Medio Sabourand Dextrosa Agar.
- FIGURA 16A.** Preparación de medios de cultivo.
- FIGURA 17A.** Siembra de suelo en medio de cultivo Agar Centeno.
- FIGURA 18A.** Siembra de tejido vegetal en medio de cultivo agar centeno.
- FIGURA 19A.** Reactivo utilizado para la tinción de los hongos.
- FIGURA 20A.** Libro de claves taxonómicas de hongos.
- FIGURA 21A.** Identificación de hongos.
- FIGURA 22A.** Medición del diámetro de las colonias de *Phytophthora*.
- FIGURA 23A.** Purificación de aislados de *Phytophthora*.
- FIGURA 24A.** Conservación de aislados de *Phytophthora*.

INTRODUCCIÓN

En la última década se ha manifestado un incremento constante del consumo global de tomate rojo, junto con un aumento en el consumo promedio por habitante. China se destaca como el principal productor y consumidor a nivel mundial, mientras que Estados Unidos es el mayor importador y México el principal exportador de esta hortaliza (Ortega *et al.*, 2022).

En Ecuador, según el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG, 2023), el tomate de mesa es un componente fundamental en la dieta y contribuye con el 0.5% del valor bruto agregado, y se extiende a 1 417 hectáreas a nivel nacional, con la provincia de Cotopaxi que tiene la mayor relevancia y que aporta con el 32.3% de las cuarenta mil toneladas producidas. Predominan las unidades de producción agropecuaria de menos de una hectárea, representando el 95.8% del total, con una concentración superior al 60% en las provincias de Cotopaxi, Chimborazo y Tungurahua.

En las provincias de Los Ríos, Manabí y la Península de Santa Elena, Lainez (2019) indica, que se cultiva el tomate durante la temporada de verano. El autor mencionado señala que, hace una década existían grandes extensiones agrícolas (aproximadamente 103 hectáreas) en la provincia de Santa Elena, las cuales se dedicaban al cultivo a campo abierto. Sin embargo, la aparición de problemas fitosanitarios tanto bióticos (plagas y enfermedades) y abióticos (salinidad) han impactado negativamente en el rendimiento.

Entre los factores bióticos que sobresalen como agentes de enfermedades de *Solanum lycopersicum*, son las causadas por fanerógamas parasitarias, bacterias, fitoplasmas, virus, viroides, nematodos, insectos y hongos. De los agentes mencionados, se destacan las enfermedades fúngicas; los géneros más importantes, según Salas *et al.* (2022), son *Botrytis* sp., *Alternaria* sp., *Pythium* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. y *Phytophthora* sp. Este último género representa una amenaza importante para los cultivos de la familia Solanácea, ocasionando pérdidas totales en la producción, si no se aplica ninguna medida de control (Cruz *et al.*, 2021).

Por lo que, considerando lo antes mencionado, esta investigación busca en específico, identificar y describir la presencia del género *Phytophthora* spp., a nivel de laboratorio, por su conocida capacidad patogénica en el cultivo en estudio.

La identificación precisa de *Phytophthora* spp. a nivel de laboratorio es fundamental para el desarrollo de estrategias de manejo efectivas y sostenibles. Este proceso permitirá a

los agricultores, implementar medidas de control preventivas y adecuadas, contribuyendo a reducir las pérdidas en la producción y mejorar la salud general de los cultivos.

Problema Científico

La producción de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en la provincia de Santa Elena enfrenta un desafío significativo debido a la alta incidencia de enfermedades causadas por fitopatógenos. Entre ellos se destaca *Phytophthora* spp., un agente etiológico conocido por causar enfermedades como tizón tardío, podredumbre radicular, entre otros, afectando la rentabilidad del cultivo, no obstante, la limitada información sobre el patógeno en Santa Elena dificulta su manejo adecuado. Es fundamental identificar al patógeno, y su distribución en la provincia, por lo que se plantea la siguiente interrogante:

¿Es posible identificar la presencia de *Phytophthora* spp. a nivel de laboratorio, a partir de muestras de suelo y tejido vegetal, de cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), obtenidas de distintas zonas productoras de la provincia de Santa Elena?

Objetivos

Objetivo General:

- ❖ Identificar al género *Phytophthora* spp. a nivel de laboratorio, en muestras de tejido vegetal y suelo recolectadas de cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en la provincia de Santa Elena.

Objetivos Específicos:

1. Aislar al género *Phytophthora* spp. utilizando técnicas de laboratorio.
2. Identificar el género *Phytophthora* spp. mediante la caracterización morfológica.
3. Determinar la distribución de *Phytophthora* spp. en las fincas productoras de tomate muestreadas, de la provincia de Santa Elena.

Hipótesis

El inóculo viable del género *Phytophthora* spp. está presente y es factible de ser caracterizado morfológicamente a partir de las muestras de suelo y tejido vegetal de los cultivos de tomate en la provincia de Santa Elena.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Generalidades del cultivo de tomate

1.1.1 Origen

Granda (2024) menciona que el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) proviene de la región andina, extendiéndose por Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile. Aunque se piensa que fue domesticado en México y Centroamérica, su origen exacto y su historia de domesticación aún son un misterio. Lo que sí es claro es que la gran dispersión de las variedades tradicionales de tomate demuestra su notable adaptabilidad, con rasgos agronómicos que les permiten soportar condiciones ambientales difíciles. Aguilar (2021) menciona que aún se pueden encontrar tomates silvestres en diversas partes de Sudamérica, lo que brinda oportunidades para la investigación y el desarrollo de nuevas variedades.

1.1.2 Clasificación taxonómica

Vega (2022) indica que el tomate de mesa pertenece a la familia de las Solanáceas, junto con otras hortalizas como el tomate de árbol, papa, berenjena y pimiento, entre otros. Su clasificación taxonómica es la siguiente (Tabla 1):

Tabla 1. Clasificación taxonómica del tomate (Vega, 2022).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>Lycopersicum</i>

1.2 Importancia económica del cultivo de tomate

En Tungurahua, según Ortega *et al.* (2022), el cultivo de tomate concentra el 60% de la producción nacional, mientras que en la provincia de Manabí, según datos de la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC, 2016) se cultivan 122 hectáreas de tomate, lo que resulta en una producción total de 1391 toneladas..

1.3 Las enfermedades en el cultivo de tomate

El tomate (*Solanum lycopersicum*) ostenta un papel preponderante en la economía agrícola mundial, al ser la hortaliza con mayor superficie de siembra a escala global y un producto esencial en la alimentación, consolidando su importancia en la gastronomía. No obstante, esta producción vital se encuentra bajo la constante amenaza de diversos patógenos. Entre estos factores bióticos, los problemas fitopatológicos de origen fúngico han demostrado ser los más importantes, destacando especialmente el oomiceto del género *Phytophthora* (Khaliluev *et al.*, 2022).

La peligrosidad de este patógeno se exagera por su amplia gama de hospederos. Reportes históricos han documentado consistentemente la capacidad de especies de la familia Solanácea de servir como hospederos alternativos de *P. infestans*, tanto en condiciones naturales como en sistemas de cultivo. El autor Delesma *et al.* (2020), indica que se han identificado hasta 89 hospederos de *Phytophthora infestans*, distribuidos en varias familias botánicas, siendo la familia Solanácea la más representativa debido a su susceptibilidad.

1.4 Generalidades del género *Phytophthora* spp.

1.4.1 Taxonomía

Según el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA, 2021), la taxonomía de *Phytophthora* spp. es la siguiente (Tabla 2):

Tabla 2. Taxonomía de *Phytophthora* spp. (SENASICA, 2021).

Reino	Chromista
Superfilo	Stramenopiles
Filo	Oomycota
Clase	Oomicetos
Orden	Peronosporales
Familia	Peronosporaceae
Genero	<i>Phytophthora</i>

1.4.2 Morfología de *Phytophthora* spp.

Debido a su similitud morfológica con los hongos verdaderos, el género *Phytophthora* fue inicialmente incluido en el reino Fungi. Sin embargo, la taxonomía moderna, respaldada por análisis moleculares, lo reubica en el reino Chromista (Abad *et al.*, 2023). A continuación, se describen las principales estructuras morfológicas distintivas de este patógeno (Tabla 3):

Tabla 3. Morfología de *Phytophthora* spp.

Estructura	Descripción	Función
Micelio	Cenocítico con filamentos hialinos y ramificados.	Crecimiento del patógeno (Mugao, 2023).
Esporangio	La forma y tamaño presenta gran variación, los hay desde ovoides-elipsoides, limoniformes, periformes.	Estructuras de reproducción asexual (Mugao, 2023).
Zoosporas	Célula móvil, biflagelada.	Búsqueda y colonización de nuevos hospederos (Trinidad <i>et al.</i> , 2021).
Clamidosporas	Suelen ser esféricas, pero en algunas especies suelen adoptar formas irregulares o alargadas.	Esporas asexuales relacionadas a la supervivencia del patógeno en periodos críticos (Quispe <i>et al.</i> , 2022).
Oogonio	Estructura grande y esférica que se forma directamente del micelio.	Estructura de reproducción sexual.
Anteridio	Célula sexual masculina, presenta forma irregular y es más pequeña.	Se encarga de la fertilización (Pons <i>et al.</i> , 2020).

1.4.3 Biología de *Phytophthora* spp.

El género *Phytophthora* spp. es un patógeno de plantas transmitidas en el suelo que afectan principalmente a dicotiledóneas, tanto herbáceas como leñosas. Causan enfermedades como la pudrición de la raíz, la pudrición basal del tallo, la mancha o tizón de las hojas y la pudrición de la fruta. Pueden infectar plantas cultivadas y silvestres en todo el mundo, provocando graves pérdidas agrícolas y alterando los ecosistemas forestales naturales (Manvert, 2022).

El comportamiento de *Phytophthora* spp. se debe en gran medida a sus estructuras especializadas, que les permiten dispersarse en el entorno y resistir condiciones desfavorables. Este patógeno hiberna como oosporas, clamidosporas o micelio en el suelo o en raíces infectadas. Una vez que las condiciones se vuelven favorables, las oosporas y clamidosporas germinan, mientras que el micelio continúa desarrollándose y produciendo zoosporas móviles que al entrar en contacto con la punta de la raíz de la planta, la penetra a través de una extensión hifal (Ortiz, 2021). El ciclo de vida de *Phytophthora* spp. se observa en la Figura 1.

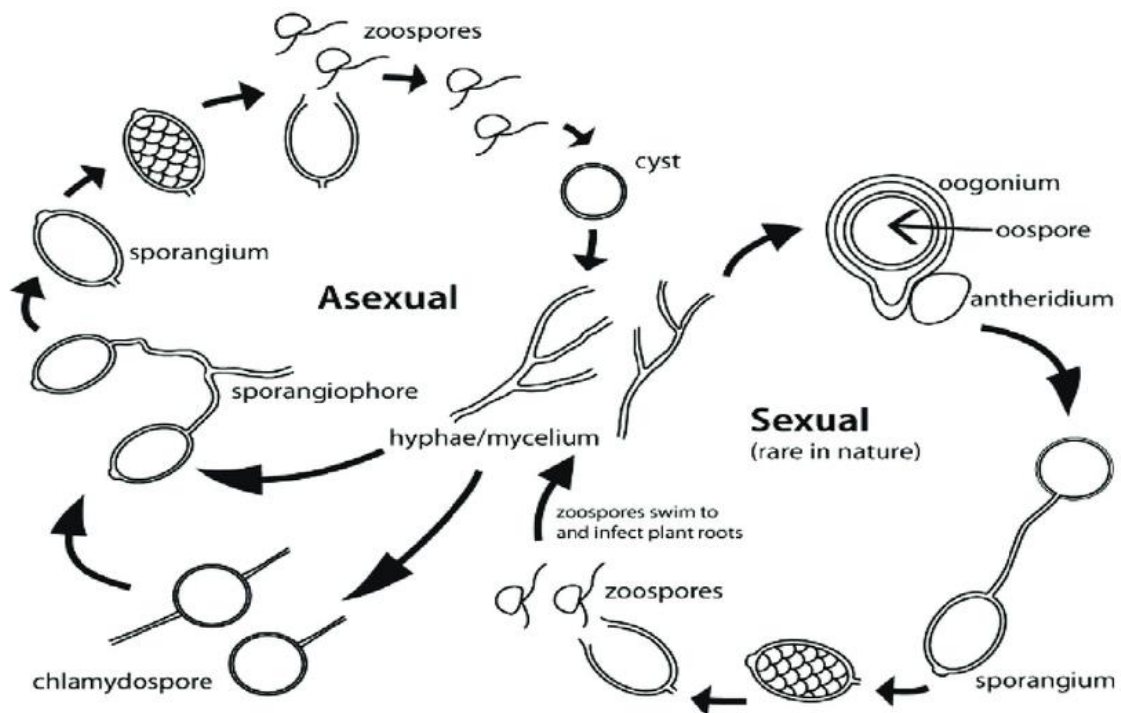


Figura 1. Ciclo de vida de *Phytophthora* spp. (Reis *et al.*, 2023).

1.4.4 Factores que favorecen su desarrollo

El desarrollo y la proliferación del género *Phytophthora* se ven favorecidos por condiciones de alta humedad ambiental y temperaturas que oscilan entre los 15 y 35 °C. Asimismo, los climas húmedos, caracterizados por precipitaciones abundantes, y los terrenos o sustratos con carencia de nutrientes, proporcionan un entorno propicio para su crecimiento (Torrejano, 2024).

El drenaje deficiente en suelos arcillosos induce el encharcamiento y la consecuente saturación hídrica. Este ambiente de alta humedad edáfica potencia la susceptibilidad de la plantación a la infestación (Cristancho *et al.*, 2012; Besoain *et al.*, 2020).

Bajo condiciones de alta humedad ambiental, generadas ya sea por períodos prolongados de precipitación o por un manejo hídrico deficiente, el patógeno coloniza el sistema radicular. Una vez dentro, procede a ocupar los haces vasculares, lo que desencadena un marchitamiento sistémico y acelerado que resulta en la muerte de la planta en cuestión de días (Yentzen, 2020).

1.5 Síntomas y signos de enfermedad

Los síntomas iniciales en las hojas se manifiestan como pequeñas manchas de color verde claro, cuya apariencia varía significativamente según la temperatura, humedad, intensidad de la luz, variedad de la planta huésped y a menudo, la infección comienza en los bordes de las hojas y se extiende a lo largo de las nervaduras; las manchas evolucionan hacia lesiones necróticas de mayor tamaño, de color marrón a negro, que pueden causar la muerte de los folíolos y propagarse a través de los pecíolos hasta el tallo, lo que en muchos casos resulta en la muerte de la planta (Murillo, 2024).

En el tallo, los síntomas se manifiestan como lesiones necróticas (pardas claras u oscuras) y continuas, localizadas predominantemente en el tercio medio o superior de la planta. Estas lesiones presentan una consistencia vítrea y son altamente quebradizas. La infección por tizón tardío en el tallo puede provocar un estrechamiento de este, resultando en la marchitez o colapso de las hojas distales al punto de la lesión (Castillo, 2022).

Otro síntoma predominante generada por *Phytophthora capsici* es la pudrición del fruto que afecta a frutos sanos en cualquier etapa. La infección se inicia generalmente en los frutos que contactan el suelo, manifestándose como manchas oscuras y empapadas de agua. Es importante señalar que los síntomas de pudrición del fruto causados por otras especies del género, *P. dreschlera*, *P. nicotianae* y *P. parasítica*, son muy parecidos. Sin embargo, la podredumbre inducida por *P. infestans* (agente causal del tizón tardío) se diferencia por presentar una apariencia arrugada con un margen hundido y bien delimitado (Figura 2) (Roberts *et al.*, 2022).



Figura 2. Síntomas de *Phytophthora* spp. en tomate: **A.** Síntoma de decaimiento inicial; **B.** Manchas concéntricas en tomate; **C.** Necrosis en tallo provocada por *P. capsici*; **D.** Síntomas en tomate de *P. nicotianae* (Berra, 2022).

1.6 Mecanismos de infección y dispersión

La infección iniciada por *Phytophthora* spp. se regula mediante la rápida formación del tubo germinal de las zoosporas. Este tubo penetra directamente el tejido del hospedante a través de una estructura especializada denominada apresorio, lo que resulta en la diseminación de la enfermedad (Cedeño *et al.*, 2020).

El patógeno comienza su desarrollo y los esporangios pueden infectar raíces, tallos y hojas sanas, a través del suelo, agua de riego y el aire. El patógeno se multiplica en las plantas infectadas, extendiéndose a otras plantas del mismo campo y actuando como fuente de infección para campos vecinos (Drenth, 2013; Rawnaq *et al.*, 2021).

La infección se inicia cuando las estructuras reproductivas se establecen en las hojas o en la unión de la hoja con el tallo. La infección en el campo es frecuente en condiciones de temperatura que superen los 25 °C, y humedad relativa entre los 90-95%, la infección ocurre en los extremos y bordes de hojas, donde suele haber una capa de agua (Kaen *et al.*, 2023).

1.7 Impacto económico de las enfermedades causadas por *Phytophthora* spp.

1.7.1 Pérdida en rendimiento y calidad del tomate

En el caso de México, la producción de tomate se ve gravemente amenazada por diversas enfermedades, entre las que destaca el tizón tardío, causado por el patógeno

Phytophthora infestans. Esta enfermedad, junto con otras como el tizón temprano y las pudriciones radiculares, ocasiona pérdidas que pueden alcanzar hasta el 100% de la cosecha. *Phytophthora infestans* en particular, provoca daños devastadores, llevando a la muerte de las plantas ya la producción de frutos de muy baja calidad (Leyva *et al.*, 2013).

Las cosechas de tomate (*Solanum lycopersicum*) en áreas productoras como Sinaloa, en México, han sufrido graves daños a causa del tizón tardío, enfermedad producida por *Phytophthora infestans*, con pérdidas que han alcanzado el 100% (Rodríguez *et al.*, 2021).

El tizón tardío, enfermedad causada por *Phytophthora infestans*, tiene la capacidad de destruir cultivos enteros en un lapso de 10 a 15 días. Aunque su control principal se basa en fungicidas sistémicos y de contacto, el uso excesivo de estos productos químicos conlleva graves consecuencias para el medio ambiente y la salud. Además, la aplicación de estos insumos por parte de pequeños productores se ve limitada por sus altos costos (Bustamante, 2015).

1.8 Protocolos de muestreos fitopatológicos

1.8.1 Muestreo de suelo

Los muestreos fitopatológicos deben seguir los protocolos estandarizados. Para, tomar las muestras de suelo, estas deben recolectarse húmedas, preferiblemente durante o justo después de un clima lluvioso, ya que la humedad aumenta la actividad del patógeno. Lo ideal es tomarlas al menos 5 cm por debajo de la superficie, cerca de las raíces de la planta, ya que la capa superior del suelo es inhóspita para *Phytophthora* debido a la sequía y el calor; se recomienda muestrear bajo la copa del árbol o planta, donde el crecimiento de las raíces es más vigoroso (Drenth *et al.*, 2004; Meszka *et al.*, 2016).

La Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (AGROCALIDAD, 2018), del Ecuador indica que para el muestreo de suelo, se debe limpiar la superficie, posteriormente se cava un hoyo de 0-20 cm de profundidad, luego de una de las paredes del hoyo se saca una tajada de suelo de 5 cm de ancho. Las muestras recolectadas se introducen en fundas plásticas herméticas para su envío con el fin de evitar la pérdida de humedad.

1.8.2 Muestreo de tejido vegetal

Soto *et al.* (2017) mencionan que la toma de muestras de tejido vegetal se realiza en la zona de transición, entre el tejido enfermo y el tejido sano adyacente (Figura 3), donde el

patógeno presenta un crecimiento activo, y se recolectan ejemplares cercanos, incluyendo hojas, tallos y raíces.

Las muestras recolectadas se envuelven en material absorbente seco como papel, luego se colocan dentro de una bolsa plástica sellada herméticamente, esto ayuda a controlar la humedad de la muestra (AGROCALIDAD, 2023).



Figura 3. Síntomas de *Phytophthora* spp. en plantas de tomate (García, 2021)

1.8.3 Manejo y conservación de las muestras

El manejo posterior a la recolección es vital para mantener la viabilidad de la muestra. Para evitar que las muestras se sequen, deben colocarse en bolsas de plástico. Es fundamental protegerlas de temperaturas extremas; no deben ser expuestas a un calor superior a 45 °C ni a temperaturas bajo cero, ya que el patógeno no sobrevive a la congelación. Para su almacenamiento temporal, lo ideal es transportarlas en una nevera portátil y conservarlas a una temperatura de 10-15 °C, asegurándose de que permanezcan húmedos si es necesario (Drenth *et al.*, 2004; Trinidad *et al.*, 2022).

1.9 Bioseguridad en el laboratorio

La bioseguridad se define como el conjunto de medidas implementadas para reducir o eliminar los riesgos para el personal, derivados de la manipulación de agentes infecciosos, físicos, químicos y mecánicos (Campoverde, 2023).

Nápoles *et al.* (2023) indican que, las normas de bioseguridad se sustentan en prácticas higiénicas y el uso adecuado de equipos de protección personal (EPP):

- Lavado de Manos: Se establece como la estrategia fundamental para el control de infecciones por exposición a fluidos potencialmente contaminantes. Su uso, con agua y jabón, previene la exposición directa de las membranas mucosas a agentes infecciosos.
- Guantes: Su objetivo es reducir el riesgo de contaminación de las manos por agentes biológicos, pero no sustituyen las prácticas de higiene. Es fundamental realizar el lavado correcto de las manos antes de la colocación y después del retiro de los guantes, ya que no previenen cortes o pinchazos.
- Tapabocas: Debe utilizarse cubriendo por completo la nariz y la boca, desde el tabique nasal hasta la barbilla, para minimizar la exposición a aerosoles.
- Batas de laboratorio: Deben emplearse siempre que exista riesgo de que la ropa o la piel puedan exponerse a fluidos corporales. Para el uso reutilizable, se exige que sean elaboradas en tela antilíquidos de color blanco, con puño, cuello militar y cremallera, siendo de uso obligatorio dentro del recinto.

1.10 Técnicas de laboratorio para análisis de las muestras

1.10.1 Medios de cultivo

Un factor clave al seleccionar un medio de cultivo adecuado para aislar, describir e identificar especies de *Phytophthora* es la especie específica con la que se está trabajando. Esto se debe a que la elección del medio es de suma importancia para lograr resultados precisos. Un medio de cultivo debe ser específico para la especie de *Phytophthora* que se desea aislar. Por ejemplo, el agar centeno es ideal para especies como *P. infestans*, *P. ipomoeae* y *P. mirabilis*. Otros medios, como el 3-P y PCH (pimaricina, cloranfenicol, himexazol), se usan específicamente para aislar *P. cinnamomi* de suelos y raíces.

A nivel de laboratorio se pueden preparar medios de cultivo con ingredientes disponibles, tales como: agar V8, agar de centeno, harina de avena, agar de zanahoria, frijol lima y chícharo con sacarosa. Se aconseja probar varios métodos de preparación para seleccionar el más adecuado según las necesidades de cada laboratorio (Soto *et al.*, 2017) .

El género *Phytophthora* es difícil de aislar y purificar en medios de cultivo comunes, por lo que utilizan diversos sustratos orgánicos para fomentar su crecimiento, esporulación y almacenamiento. Estos incluyen: maíz dulce, guisantes, frijoles, avena, jugo V8 y granos

de cereales, entre otros, sin embargo, entre todos los medios disponibles, el agar de centeno destaca como el sustrato orgánico más utilizado para este fin. Esto se debe a que resulta especialmente efectivo para promover la esporulación de *P. infestans*, lo que facilita su estudio y conservación a largo plazo (Ghazanfar *et al.*, 2022).

1.10.2 Técnica de dilución de suelo

El método de dilución en placas es una técnica común para contar bacterias y hongos en una muestra de suelo, consiste en mezclar 10 g de suelo con 90 ml de solución salina para crear una suspensión inicial. Luego, se hacen series de diluciones consecutivas, generalmente hasta una dilución final de 0 – 5, que son distribuidos en las cajas petri con medio de cultivo 100 μ l de la solución (Figura 4). Este medio suele modificarse con antibióticos para evitar que las bacterias crezcan y compitan con los hongos. Sin embargo, este método tiene una limitación importante ya que favorece a los hongos que producen muchas esporas y crecen rápidamente en el medio de cultivo. Como resultado, subestima la diversidad de hongos que existen principalmente como micelio activo en el suelo y que no son tan competitivos en un medio de cultivo rico en nutrientes (Pfenning *et al.*, 2021).

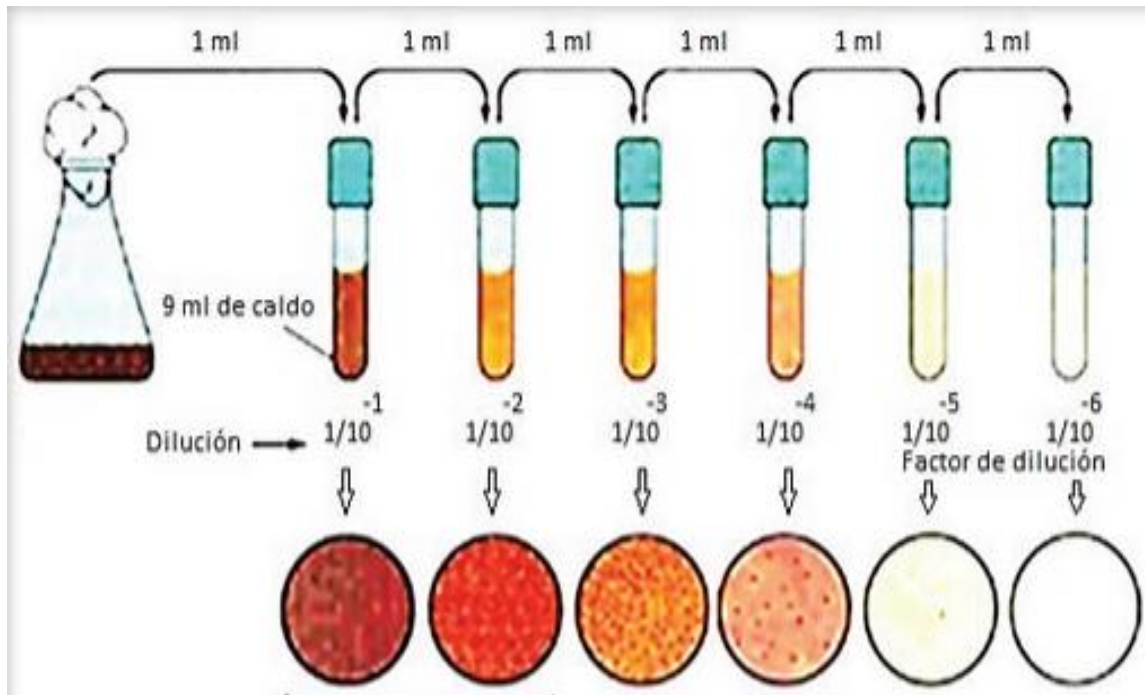


Figura 4. Diluciones seriadas (Hidalgo *et al.*, 2022)

1.10.3 Aislamiento a partir de tejido vegetal

Para extraer *Phytophthora* spp. de una planta enferma, se debe seleccionar cuidadosamente tejido con una infección reciente. Lo ideal es tomar una muestra del borde de una lesión activa, donde el patógeno está creciendo. La muestra de hojas o tallos debe incluir tanto tejido enfermo como tejido sano. Los trozos de tejido se desinfectan con una solución de cloro comercial al 10 % v/v, posteriormente se enjuagan con agua destilada estéril y se seca con papel absorbente (Reyes *et al.*, 2021).

Utilizando técnicas de esterilización y un bisturí esterilizado a la llama, se extrae un fragmento de tejido de 5 mm cuadrados del borde del área infectada, que se siembra inmediatamente en un medio selectivo. Las placas se sellan con parafilm y se incuban a 23-25 °C en oscuridad durante 5-7 días. Los micelios de *Phytophthora* spp. recuperados pueden transferirse a un nuevo medio mediante técnicas estériles (Parada *et al.*, 2021).

Rodríguez *et al.* (2021) sugieren desinfectar la superficie del tejido vegetal antes de proceder, este proceso implica sumergir secciones del tejido en etanol al 70% durante un breve período (10-30 segundos). Luego, se enjuagan las secciones con agua destilada estéril y secan con papel de filtro estéril y por último las secciones se colocan en un medio de cultivo selectivo para *Phytophthora*.

1.11 Identificación morfológica

Hay varias características morfológicas que son clave para identificar las especies de *Phytophthora*, estas incluyen la forma del esporangio, si presenta o no una papilación, si es caducifolio, y la morfología del esporangióforo. La identificación morfológica se realiza de acuerdo con claves taxonómicas (Gallegly *et al.*, 2008).

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Caracterización del área de estudio

El experimento se llevó a cabo en los laboratorios del Centro de Investigaciones Biotecnológicas (CEB), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Los puntos de muestreo fueron registrados mediante coordenadas, utilizando la funcionalidad GPS del teléfono móvil. Los datos fueron corroboradas con información oficial del Instituto Geográfico Militar de Ecuador (IGM, 2025) para establecer la georreferenciación, Tabla 4.

Tabla 4. Coordenadas geográficas de las zonas muestreadas (IGM, 2025).

Olmedo	Latitud Sur $2^{\circ}11'58''$, Longitud Oeste $79^{\circ}52'59''$. Se encuentra a una altitud aproximada de 4 metros sobre el nivel del mar, dado que se ubica en el casco urbano de Guayaquil.
Manglaralto	Coordenadas geográficas $01^{\circ}50'29''$ latitud sur, $80^{\circ}44'24''$ longitud oeste, a una altura de 12m.s.n.m; topografía plana con pendiente menor al 1 %.
El Tambo	El Tambo cuyas coordenadas geográficas son: Latitud Sur $02^{\circ}17'02''$, Longitud Oeste $80^{\circ}51'27''$, a una altitud aproximada de 5 metros sobre el nivel del mar.
Chanduy	Latitud Sur $02^{\circ}24'05.3''$, Longitud Oeste $80^{\circ}41'07.4''$, a una altitud aproximada de 12 metros sobre el nivel del mar.

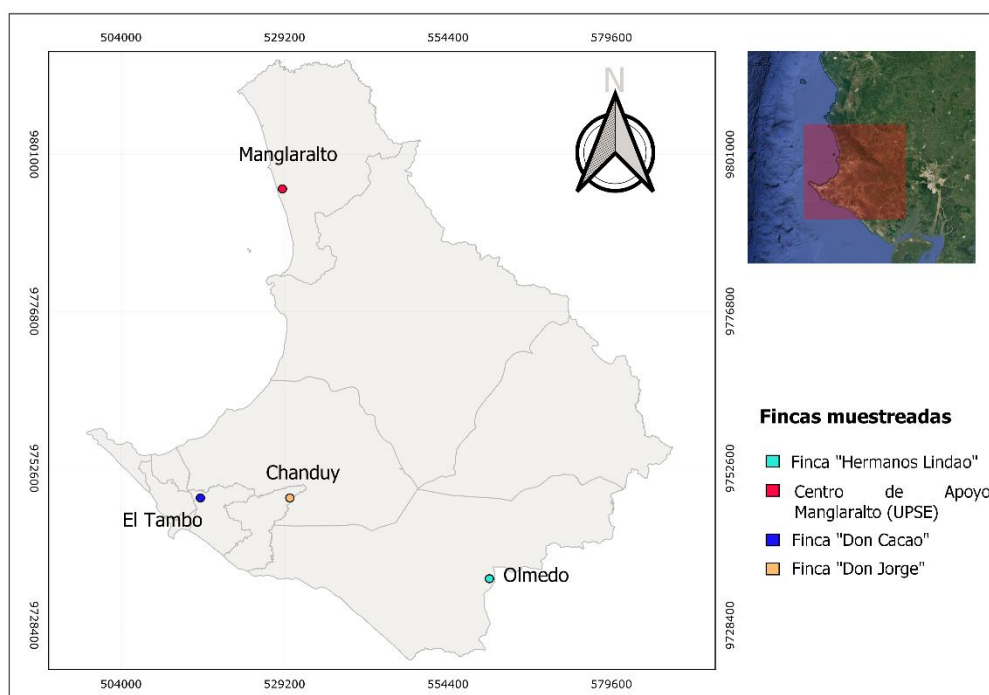


Figura 5. Ubicación de las fincas muestreadas.

2.2 Condiciones edafoclimáticas de las fincas muestreadas

2.2.1 Olmedo

El clima predominante es Tropical Monzónico, caracterizado por temperaturas medias anuales elevadas, entre 25 y 27 °C, y una alta humedad relativa constante, intensificada durante la estación lluviosa. Los suelos son sustancialmente franco-arcillosos a arcillosos, derivados de depósitos aluviales. Esta composición textural, junto con la topografía plana, causa una baja permeabilidad y drenaje deficiente. En consecuencia, la saturación hídrica del suelo es frecuente durante los periodos de alta pluviosidad (Moreno *et al.*, 2013).

2.2.2 Manglaralto

Según el Gobierno Autónomo Descentralizado (GAD, 2023), el clima de la provincia de Santa Elena es, en general, seco y árido, pero se distingue por tres zonas climáticas. El clima tropical húmedo se localiza en la Cordillera Chongón-Colonche, fuente de ríos como el de Manglaralto. La franja costera presenta un clima tropical seco. Finalmente, el clima tropical de sabana, que cubre la mayor parte de la provincia (valles y zonas bajas), se caracteriza por largos ciclos secos donde las precipitaciones se concentran exclusivamente entre febrero y marzo, adaptando la vegetación a la sequía.

2.2.3 El Tambo

El Tambo presenta un clima árido cálido (BWh), caracterizado por temperaturas altas durante todo el año, escasas precipitaciones. Presenta estación seca (junio a noviembre), cálida y ligeramente lluviosa (diciembre a mayo). La temperatura promedio anual en la provincia es de alrededor de 23.1 °C. la alta humedad relativa provoca que la sensación térmica percibida sea más alta que la temperatura real registrada (Morales, 2014).

2.2.4 Chanduy

Según el Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquia Rural (GADPR, 2019) en la Parroquia Chanduy, se pueden identificar tres tipos de clima: Clima árido que se caracteriza por la falta de agua y temperaturas cálidas, clima seco, similar al árido, con poca agua y altas temperaturas, clima subhúmedo en el que predomina la deficiencia de agua durante la estación seca, y las temperaturas son cálidas. El clima en la Parroquia Chanduy es principalmente cálido, con una temperatura promedio anual de 23.7 °C.

2.3 Materiales, equipos y reactivos

Para la investigación se utilizaron los siguientes materiales y equipos:

2.3.1 *Material de campo para colecta de muestras*

- Palas
- Guantes
- Fundas herméticas
- Rotuladores
- Tijeras

2.3.2 *Material de laboratorio*

- Cajas Petri (desechable y vidrio)
- Pinzas
- Vidrio reloj
- Bisturí
- Vasos de precipitación
- Agitadores
- Matraz
- Mecheros
- Cinta parafilm 4 x 125 FT
- Cubre y porta objetos
- Espátula
- Asa de platino

2.3.3 *Equipos de laboratorio*

- Contador de colonias
- Autoclave
- Incubadora
- Microscopio
- Cámara de flujo laminar
- Balanza
- Calentador

2.3.4 *Reactivos para medios de cultivo*

- Azul de lactofenol
- Agua destilada
- Medio de cultivo PDA
- Alcohol al 95 %

- Sabouraud Dextrosa Agar
- Agar Centeno y V8
- NaCl

2.4 Tipo de investigación

El diseño de la investigación se basó en un enfoque descriptivo, dentro de un marco de investigación básica y exploratoria (Guevara, 2020), ya que se enfoca en la identificación y caracterización del género *Phytophthora* spp. a partir de muestras recolectadas en cuatro fincas específicas en la provincia de Santa Elena. Además, esta investigación se encuentra directamente vinculada a un proyecto denominado “Elicitores, crecimiento y desarrollo de especies hortofrutícolas en condiciones de estrés biótico y abiótico” el cual tiene como objetivo evaluar la interacción entre los microorganismos del suelo y los compuestos bioactivos que estimulan la resistencia vegetal. De esta manera, el presente trabajo contribuye a la fase inicial de diagnóstico de patógenos que afectan al cultivo de tomate.

2.5 Metodología empleada en la investigación

El proceso completo de identificación de los aislamientos fúngicos se llevó a cabo conforme a la secuencia metodológica descrita por Guanoquiza *et al.* (2025). Dicha metodología se esquematiza en la Figura 6.

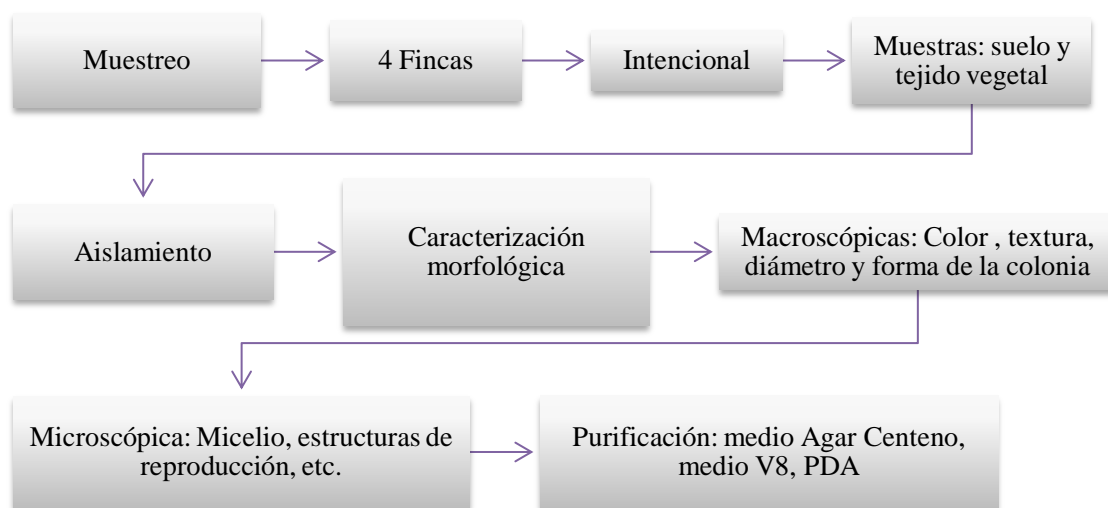


Figura 6. Diagrama metodológico de la identificación morfológica de hongos fitopatógenos en cultivos de tomate en la provincia de Santa Elena.

2.5.1 *Recolección de muestras de suelo y tejido vegetal*

La Tabla 5 detalla el origen y la cantidad de las muestras de suelo y tejido vegetal recolectadas. De cada finca se recolectaron 5 muestras de suelo y 5 de tejido vegetal, lo que resultó en un total de 40 muestras para el análisis.

Tabla 5. Recolección de muestras de suelo y tejido vegetal

LUGAR	FINCA	MUESTRA	
		Suelo	Tejido vegetal
Olmedo	“Hermanos Lindao”	5	5
Manglaralto	"Centro de Apoyo Manglaralto (UPSE)"	5	5
El Tambo	"Don Cacao"	5	5
Chanduy	“Don Jorge”	5	5

2.5.2 *Muestreo de tejido vegetal*

Se recolectaron muestras de plantas que presentaban lesiones (síntomas de enfermedades fúngicas) principalmente de hojas y tallos. Las herramientas utilizadas fueron previamente desinfectadas antes de cada toma de muestra. Posteriormente, las muestras se colocaron en bolsas herméticas, que fueron rotuladas y transportadas en laboratorio para su procesamiento, acorde a las recomendaciones de diversos autores (Soto *et al.*, 2017).

2.5.3 *Muestreo de suelo*

Para el muestreo de suelo, se tomaron cinco muestras en las zonas donde las plantas presentaban síntomas visibles. Utilizando una pala desinfectada, cada muestra se extrajo a una profundidad de 20 cm. Posteriormente, se guardaron en bolsas herméticas que fueron rotuladas y transportadas en laboratorio para su análisis, considerando las recomendaciones de AGROCALIDAD, (2023).

2.5.4 *Manejo del experimento en laboratorio*

2.5.5 *Esterilización de materiales*

La esterilización de los materiales de vidrio y otros implementos de laboratorio, que incluyen fiolas, varillas de vidrio, vasos Beacker, tubos de ensayo y cajas Petri, se realizó mediante el proceso de autoclave (Gómez, 2024).

2.5.5.1 Preparación del medio Agar Centeno

Inicialmente se pesaron 30 g de grano de centeno y se colocaron en un matraz de 1000 ml, el grano se cubrió con agua destilada (aproximadamente dos cm por encima del nivel del grano) se dejó en remojo por 24 horas para su hidratación. Al concluir el remojo el líquido se separó y se reservó. El grano hidratado fue sometido a ebullición durante una hora, con adiciones de agua destilada para mantener constante el nivel de inmersión. Posteriormente el grano cocido se exprimió manualmente mediante un lienzo para maximizar la extracción del líquido. El extracto obtenido se mezcló con el líquido reservado del remojo, se midió el volumen total y se enrasó a 0.5 L con agua destilada. Finalmente, la solución se traspasó en un matraz, se le añadió 10 g de azúcar, y 7.5 g de bactoagar. Finalmente se esterilizó (Chiquito, 2015).

2.5.5.2 Medio Sabourand

Se pesaron 65 g de Agar Sabouraud Dextrosa y se suspendieron en 1000 ml de agua destilada. La solución se mezcló de manera uniforme y se calentó con agitación constante hasta la completa disolución del polvo. Posteriormente, el medio se esterilizó en autoclave para su uso posterior (Sagar, 2023).

2.5.6 Medio PDA (Potato Dextrosa Agar)

Para la preparación del medio PDA, se pesaron 39 g y se suspendieron en 1000 ml de agua destilada. La mezcla se transfirió a un matraz Erlenmeyer y se calentó con agitación constante en una estufa hasta la completa disolución del polvo. Posteriormente, se esterilizó en autoclave a 121 °C y 15 psi de presión durante 15 minutos (Sagar, 2022).

2.5.7 Medio V8

Para la preparación del medio V8 se mezclaron 200 ml del Jugo V8 y 800 ml de agua destilada, resultando en un volumen total de 1000 ml. Posteriormente la mezcla fue suplementada con 15 g de agar y se adicionaron 2 g de carbonato de calcio, la solución fue calentada y agitada hasta alcanzar la homogeneización. (Harethi *et al.*, 2024).

2.5.8 Aislamiento de tejido vegetal

El tejido de la muestra se cortó en trozos y se desinfectó con alcohol, luego se enjuagó con agua destilada estéril y se secó con papel absorbente estéril. Utilizando un bisturí esterilizado a la llama, se extrajeron fragmentos de tejido de 5 mm, los cuales se transfirieron a las placas Petri que contenían el medio de cultivo. Se realizaron tres

repeticiones por cada muestra. Finalmente, las placas se sellaron, rotularon e incubaron a 25°C en oscuridad durante siete días (Parada *et al.*, 2021).

2.5.9 Aislamiento de muestras de suelo

Para el análisis de las muestras de suelo, se prepararon 200 ml de solución salina. De esta solución, se utilizaron 90 ml para mezclar 10 g de suelo, y los 110 ml restantes se distribuyeron en tubos de ensayo, con 9 ml en cada uno.

Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas (10^{-1} a 10^{-5}). Con una micropipeta, se tomaron 1000 μ l de la solución de suelo y se agregaron al primer tubo de ensayo (dilución 10^{-2}). Después de 5 minutos de reposo, se extrajeron 1000 μ l del primer tubo y se transfirieron al segundo (dilución 10^{-3}), y así sucesivamente hasta alcanzar la dilución 10^{-5} .

Finalmente, se sembraron las diluciones en cajas de Petri con los medios de cultivo Agar Centeno, Sabourand y PDA realizando tres repeticiones por cada dilución. Luego se rotularon e incubaron a 25°C por siete días (Pfenning *et al.*, 2021).

2.5.10 Identificación morfológica

Tras siete días de incubación, se realizaron las observaciones al microscopio, una vez que se obtuvo un crecimiento visible de colonias, cuyo conteo se efectuó con un contador de colonias. Para la preparación de las muestras, se tomó un pequeño fragmento de cada colonia, empleando palillos estériles; luego se colocó en un portaobjetos agregando azul de lactofenol para la tinción. Posteriormente, se puso el cubreobjetos y se observó cada muestra con los objetivos de 40x (Perero, 2024).

La identificación de los hongos se realizó basándose en sus características morfológicas, utilizando las claves de Finch (1974) y Gallegly *et al.* (2008). Además, se fotografiaron las estructuras observadas y se compararon con bases de datos visuales utilizando una herramienta de inteligencia artificial ChatGPT (2025). Finalmente, las colonias que se identificaron como el hongo patógeno fueron transferidos a los medios Agar centeno, V8 y PDA para obtener cultivos axénicos.

2.5.11 Purificación

Para la purificación de las colonias de hongos aislados se extrajo una porción de micelio con un asa de platino esterilizado a la llama, el micelio fue colocado en cajas Petri con nuevo medio de cultivo Agar centeno, V8 y PDA. Esto se realizó con el fin de evitar

contaminantes. El procedimiento se realizó de dos a tres veces hasta obtener aislamientos puros. Las placas fueron rotuladas e incubadas en oscuridad a 25°C por siete días (May, 2022).

2.5.12 Inoculación de frutos de pera

Para fomentar la esporulación del patógeno, se inoculó en frutos de pera, siguiendo la metodología sugerida por Drenth *et al.* (2004). El procedimiento consistió en hacer un corte triangular en la pulpa del fruto, retirar un fragmento de tejido y colocar dentro de la cavidad 20 µl del hongo. Los frutos inoculados se mantuvieron en una cámara húmeda hasta que aparecieron los primeros síntomas o estructuras del hongo patógeno a los tres días de inoculado.

2.6 Parámetros evaluados

2.6.1 Presencia/ausencia de *Phytophthora* spp. en medios de cultivo utilizados

La presencia/ausencia de *Phytophthora* spp. en los medios de cultivo se evaluó como un parámetro cualitativo, mediante la observación del crecimiento (1) o no crecimiento (0) de colonias características del género en los distintos medios utilizados. Esta variable permite determinar la efectividad del medio de cultivo para el aislamiento del patógeno y su distribución en las muestras analizadas (Caggiano *et al.*, 2020).

2.6.2 Características macroscópicas

Para la descripción de las colonias, se evaluaron el color, textura y forma. Es importante destacar que tanto el color como la forma de la colonia pueden variar dependiendo del medio de cultivo utilizado, como lo señalan (Drenth *et al.*, 2013).

2.6.3 Caracterización microscópica

Para la identificación, se evaluaron las estructuras morfológicas de los aislamientos en el microscopio. Las características observadas se compararon con las descripciones de las claves taxonómicas de Finch (1974) y Gallegly *et al.* (2008). Para confirmar la capacidad patogénica de los aislamientos y forzar la esporulación, se empleó la técnica de inoculación en fruto. Según Sánchez (2020), esta metodología es esencial para la identificación taxonómica de *Phytophthora* spp. al inducir la formación de sus estructuras reproductivas.

2.6.4 Porcentaje de presencia de *Phytophthora* spp. en las zonas muestreadas

Para determinar el porcentaje de presencia del patógeno en las fincas muestreadas, se procedió al conteo total de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) del patógeno en relación con el total de UFC aisladas en las placas de cultivo, de acuerdo a lo descrito por Acasa *et al.* (2017). El porcentaje de presencia en las muestras se calculó aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{Presencia} = \left(\frac{\text{Unidades de } \textit{Phytophthora}}{\text{Unidades totales aisladas}} \right) \times 100$$

2.7 Análisis estadístico de los resultados

El análisis de los resultados se realizó mediante la aplicación de pruebas dicotómicas de presencia-ausencia del patógeno en los medios de cultivo y la cuantificación del patógeno, para generar mapa de su porcentaje de presencia en las fincas muestreadas. Adicional a esto se realizó el conteo de Unidades formadoras de Colonias (UFC) general de los diferentes hongos aislados en cada zona, diferenciando entre las muestras de tejido vegetal y suelo. Todos los datos obtenidos fueron tabulados y procesados en la hoja de cálculo Microsoft Excel.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Aislamiento del género *Phytophthora* spp.

La detección preliminar y el aislamiento del género *Phytophthora* spp. se realizaron empleando los medios de cultivo agar centeno, V8, Sabourand y PDA. La presencia o ausencia del patógeno se estableció a partir de la evaluación macroscópica del desarrollo micelial, considerando patrones de crecimiento, textura y morfología compatibles con colonias características del género.

Los resultados de esta evaluación dicotómica (presencia/ausencia) en los distintos medios de aislamiento se resumen en la Tabla 6. En el medio agar centeno no se registró crecimiento de *Phytophthora* spp., lo cual podría atribuirse a una baja carga del inóculo presente en las muestras de suelo y tejido vegetal, el agar centeno es menos nutritivo en azúcares simples, puede no haber proporcionado las condiciones energéticas para establecerse antes de que los hongos filamentosos, que crecen con dietas más variadas, lo superaran. Una situación similar se observó en el medio V8, tampoco se detectó desarrollo del patógeno, es probable que los hongos contaminantes como *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp., que tienen una alta tasa de crecimiento y esporulación colonizaron la placa primero, agotando los recursos y liberando posiblemente metabolitos que inhibieron el desarrollo posterior de *Phytophthora* spp.

Los resultados mencionados anteriormente, difieren con Harethi *et al.* (2024) quienes en un estudio compararon los medios agar centeno y V8, y obtuvieron que el medio agar centeno fue más efectivo que el V8 para promover el máximo crecimiento micelial de *Phytophthora* spp., evidenciando que la eficiencia de cada medio puede variar en función del origen del aislado, la fisiología del micelio y la presencia de microorganismos competidores.

Con respecto al PDA si hubo presencia del patógeno tanto de muestras de suelo como tejido vegetal, esto se logró debido a que este medio tiene un alto contenido de dextrosa entre sus componentes lo que proporcionó una fuente de energía para que el hongo pudiera establecerse, si bien también hubo presencia de otros hongos, permitió que *Phytophthora* se desarrollara lo necesario para ser identificado y purificado.

Lo resultados del presente ensayo, son contrarios a lo observado por González *et al.* (2014) quienes en su estudio sobre el efecto de diferentes medios de cultivo sobre desarrollo de *Phytophthora*, obtuvieron que las cepas de *Phytophthora* spp. crecían a

mayor velocidad en medios como berenjena cacao y tomate, mientras que en PDA tardaban mucho más tiempo en alcanzar el borde de la placa.

Con respecto al medio Sabourand, la presencia del patógeno en el suelo sugiere la viabilidad de las estructuras de resistencia presentes en la muestra edáfica, y su ausencia en el tejido vegetal podría indicar que la carga de inóculo en el tejido era demasiado baja para competir en ese sustrato.

Tabla 6. Presencia (1) o ausencia (0) de crecimiento del patógeno en diferentes medios de cultivo.

Medios de cultivo	Tejido vegetal	Suelo
Agar centeno	0	0
Medio V8	0	0
PDA	1	1
Sabourand	0	1

3.1.1 Purificación de *Phytophthora* spp.

Para la purificación de *Phytophthora*, se utilizaron los medios de cultivo V8 (Figura 7), agar centeno (Figura 8) y PDA. Tanto el agar centeno como el medio V8, aunque son medios selectivos específico para el patógeno, no promovieron un desarrollo adecuado de *Phytophthora*. El crecimiento fúngico fue extremadamente lento.

Contrario a Ghazanfar *et al.* (2022), quienes en su estudio sobre la morfología el crecimiento de *Phytophthora* en diferentes medios de cultivo, determinaron que el agar centeno favorece la mayor esporulación del patógeno, seguido del medio de a base de harina de maíz.



Figura 7. *Phytophthora* spp. en medio de cultivo V8 a los 7 días después de incubación.



Figura 8. *Phytophthora* spp. en medio de cultivo Agar Centeno después de 7 días de incubación.

Por otro lado, el medio PDA (Figura 9) evidenció un desempeño superior, al promover un crecimiento uniforme de las colonias de *Phytophthora*. Aunque este medio no es específico para el patógeno, su formulación rica en nutrientes permitió un desarrollo continuo, lo que facilitó su purificación.

A diferencia de lo registrado por Pérez *et al.* (2019) quienes evaluaron la dinámica de crecimiento de *Phytophthora* en medios de cultivos alternativos y obtuvieron que el PDA fue el medio nutritivo en el que se registraron las tasas de crecimiento más bajas.

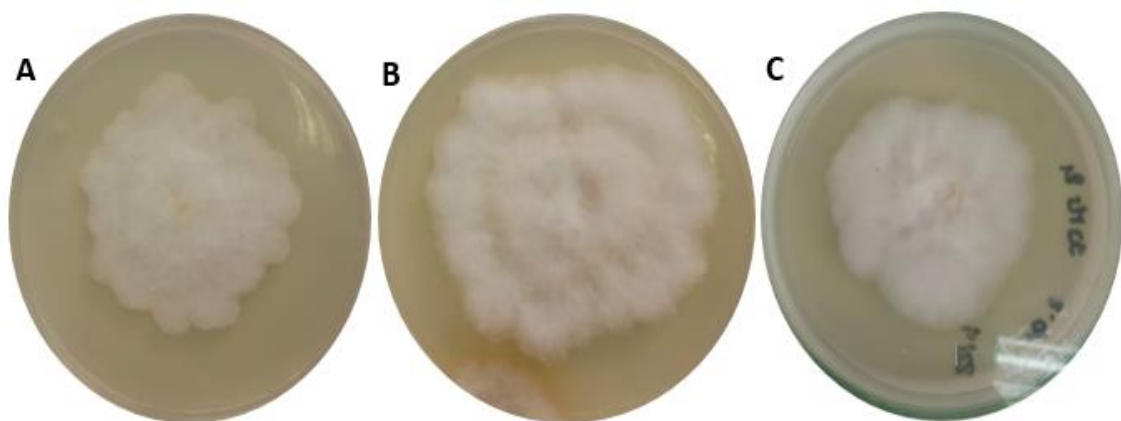





Figura 9. Crecimiento de *Phytophthora* spp. en medio PDA a 7 días después de incubación. A. Diámetro 44.42 mm. B. Diámetro 59.98 mm. C. 51.99 mm.

3.2 Identificación de *Phytophthora* spp.

A nivel macroscópico, las colonias a los 14 días evidenciaron un crecimiento rápido con una textura algodonosa, con circunferencias concéntricas, con patrón rosáceo y bordes regulares (Tabla 7). Estos rasgos morfológicos son característicos del género, lo que facilita su diferenciación frente a otros patógenos fúngicos. Estos resultados son similares a lo observado por Aristizábal *et al.* (2015) al encontrar que los aislados de *Phytophthora* mostraron un crecimiento algodonoso no muy elevado, con circunferencias concéntricas que a medida que maduraba eran menos visibles hasta que la colonia quedaba algodonosa sin evidencia de circunferencia. De igual forma, coincide con Harethi *et al.* (2024) observaron que las colonias de *Phytophthora* tras 14 días de inoculación presentaron un micelio blanco y algodonoso en las placas petri.

De igual forma, los resultados son coincidentes con los observado por Sharma *et al.* (2018) quienes mostraron que el crecimiento de las colonias de *Phytophthora* en medio PDA presentaban colonias circulares con un patrón rosáceo, y concuerda con los Cedeño *et al.* (2020) quienes en su investigación sobre la caracterización de *Phytophthora*, observaron la presencia de patrones de colonias algodonosos con borde regular.

Tabla 7. Caracterización macroscópica de los aislados de *Phytophthora* spp.

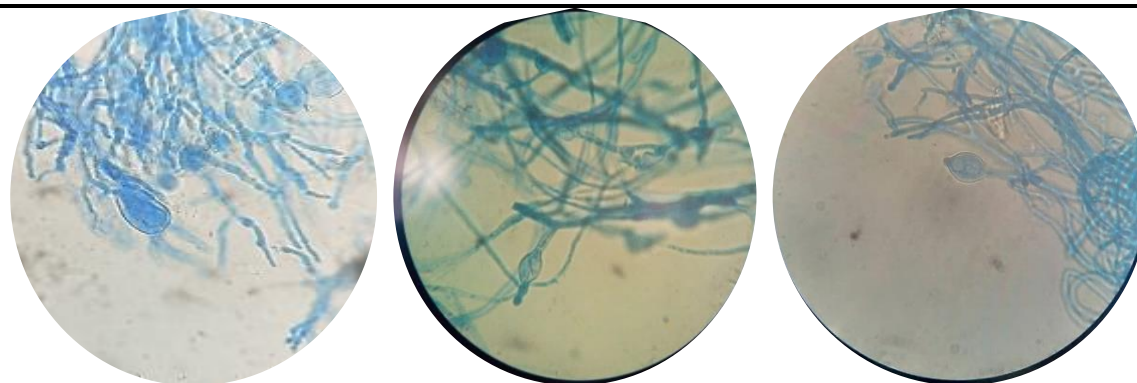
		
Diámetro 82.25 mm Color blanco Margen ligeramente ondulado Textura algodonosa de aspecto esponjoso y denso. Presenta anillo concéntricas bien marcadas.	Diámetro 84.26 mm Color blanquecino Textura algodonosa y densa, margen irregular	Diámetro 88.82 mm Color blanco, densa, Textura esponjosa Margen definido y regular, extendiéndose radialmente.

A nivel microscópico, la observación de hifas cenocítica y esporangios limoniforme con una pápila distintiva confirma la identidad de los aislamientos como pertenecientes al

género *Phytophthora* (Tabla 8). La variabilidad en el tamaño y la forma de la colonia, aunque dentro de los rangos esperados, puede ser atribuida a la diversidad genética entre las cepas aisladas de diferentes fincas o la adaptación a las condiciones específicas del sustrato.

Los resultados son similares a Ghazanfar *et al.* (2022) quienes en su investigación sobre la caracterización de *Phytophthora* observaron que las colonias mostraron un anillo blanco concéntrico en la colonia algodonosa. Y a nivel microscópico mostraron un micelio hialino, ramificado y cenocítico. De igual forma, Sánchez (2020) observó que sus aislados de *Phytophthora* presentaban un micelio continuo, esporangios papilados, con forma limoniforme terminales y caducos. Y concuerdan con Cárdenas *et al.* (2021) quienes en su investigación sobre el aislamiento de *Phytophthora* spp. observaron que los aislados desarrollaron esporangios ovoides papilados, esporangios simples (sin proliferación), sin presencia de hinchamientos en las hifas.

Tabla 8. Caracterización microscópica del género *Phytophthora* spp.



Hifas hialinas, aseptadas y ramificadas irregularmente. Esporangio ovoide con pedicelo corto

Hifas hialinas, no septadas, y de pared delgada, esporangio presenta una pequeña protuberancia apical

Hifas hialinas, no tabicadas, ramificación de forma irregular. Esporangios limoniforme papilado.

3.2.1 Inoculación de *Phytophthora* spp. en fruta de pera

Los resultados de la inoculación confirman la capacidad de los aislados de *Phytophthora* spp. para inducir síntomas en frutos de pera, donde se pudo observar lesiones color café oscuro con desarrollo de un micelio algodonoso blanquecino a los tres días post-inoculación (Figura 10).

Similar a lo mencionado por Vélez *et al.* (2008) quienes inocularon al patógeno en frutos de pera y observaron que el tejido alrededor del sitio de inoculación se tornó de color café oscuro, completamente acuoso y con proceso de descomposición rápida.



Figura 10. Presencia de micelio algodonoso, blanquecino y lesión marrón oscuro con borde irregular y progresivo.

En la figura 11 se muestran las estructuras reproductivas del patógeno, la presencia de hifas hialinas y ramificadas, junto con esporangios de diversas formas (globosos y elipsoides), así como la liberación de zoosporas, son características taxonómicas distintivas de *Phytophthora*. La capacidad de los esporangios para ser caducos es un rasgo clave que contribuye a la rápida dispersión del patógeno a través del agua.

Esto concuerda con Vélez *et al.* (2008), quienes evaluaron y cuantificaron las estructuras de *Phytophthora* inoculando el patógeno en frutos de pera, pimentón y papaya, y determinaron que la mayor formación de esporangios se registró en los frutos de pera. Y similar a Reyes *et al.* (2021), al caracterizar a nivel morfológico los aislados de *Phytophthora* y observar esporangios de forma ovoide, globosos y caducos.

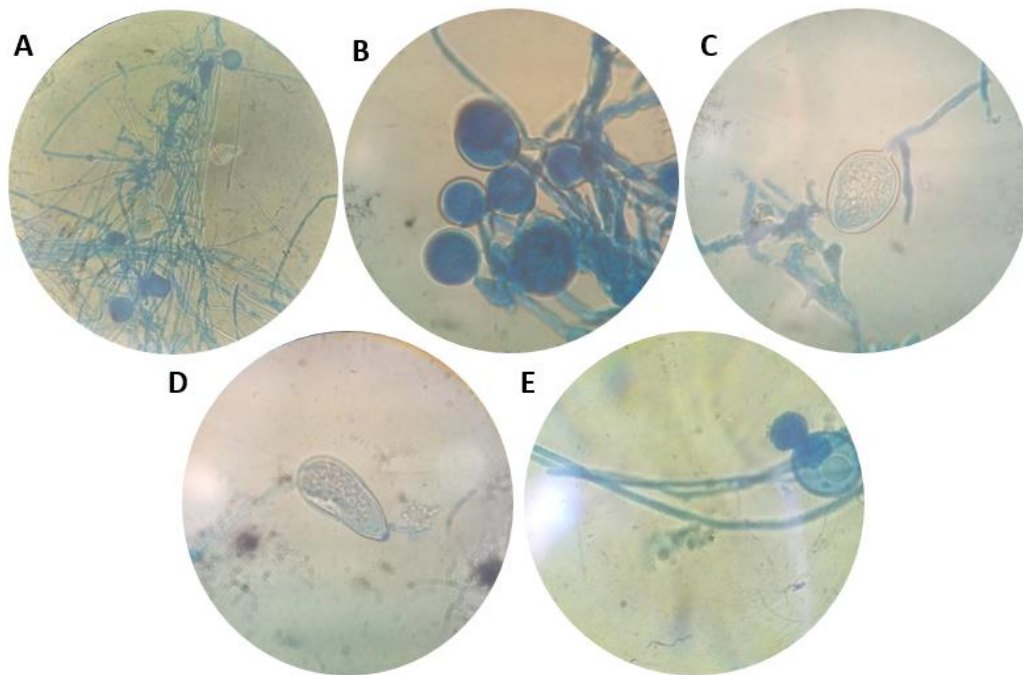


Figura 11. Estructuras reproductivas asexuales de *Phytophthora* spp.: A. Hifas hialinas y ramificadas; B. Esporangios globoso no papilados; C. Esporangio elipsoide semipapilado; D. Esporangio caduco; E. Liberación de zoosporas.

3.3 Fincas muestreadas con presencia de *Phytophthora* spp.

El porcentaje de presencia de *Phytophthora* spp. en las fincas muestreadas se presentan en la Figura 12. En la Finca 1 que corresponde a los “Hermanos Lindao” en Olmedo, se registró una ausencia total del patógeno, esto puede deberse a factores ambientales o edáficos limitantes que impiden el establecimiento y supervivencia del patógeno o la falta de inóculo primario en el área, el cual ha evitado la infección a pesar del manejo hídrico inadecuado.

Con respecto a la Finca 2 “Centro de Apoyo Manglaralto (UPSE)” hay una presencia notable en tejido vegetal pero baja en el suelo, esto indica que el inóculo residente en el suelo es bajo y probablemente no es la principal fuente de infección. La mayor presencia en tejido vegetal indica que la infección es principalmente aérea, proveniente de esporangios dispersados por el viento o lluvia.

Esto concuerda con Ortiz *et al.* (2022) quienes en su estudio sobre el efecto del clima en relación con el tizón tardío, confirman que *Phytophthora* spp. puede utilizar medios abióticos para su rápida diseminación aérea.

En la Finca 3 “Don Cacao” en El Tambo, fue la que más presencia del patógeno, tanto en suelo como en tejido vegetal, pero el suelo fue el que tuvo mayor presencia, lo que

es un indicador de una elevada carga de inóculo residente. Estos resultados concuerdan con los hallazgos de Gallegly *et al.* (2008), quienes identificaron el suelo como el principal reservorio de inóculo de este patógeno. Cabe mencionar que, a diferencia de las demás zonas muestreadas, el manejo de las plantas en El Tambo se realizaba sin tutorado (Tabla 9), lo que promueve el contacto directo entre las partes de la planta y el suelo contaminado, facilitando la infección.

El porcentaje de plantas asintomáticas indica que las plantas presentan infecciones latentes, esto indica que el patógeno ha logrado colonizar los tejidos, pero el desarrollo de la enfermedad se encuentra detenido o ralentizado por factores externos o por las propias defensas de la planta. No obstante, esta colonización asintomática representa un elevado riesgo potencial, ya que el hongo puede estar como micelio latente o presentar sus estructuras de supervivencia como clamidosporas que al presentar condiciones favorables las activarían.

Esto concuerda con Volynchikova *et al.* (2022) quienes señalan que *Phytophthora* spp. puede sobrevivir en el tejido o en el suelo y activarse rápidamente para causar síntomas severos cuando se presentan condiciones de alta humedad y temperaturas favorables.

Con respecto a la Finca 4 “Don Jorge” en Chanduy, aunque el inóculo está presente en el suelo, algo está inhibiendo su capacidad para infectar, a pesar de la presencia de inóculo en el suelo, esto puede ser por la competencia microbiana que existe en el suelo. Estos resultados concuerdan con Reis *et al.* (2023) quienes indican que la microbiota del suelo influye en la presencia activa de *Phytophthora* spp., al ejercer presión competitiva sobre el patógeno.

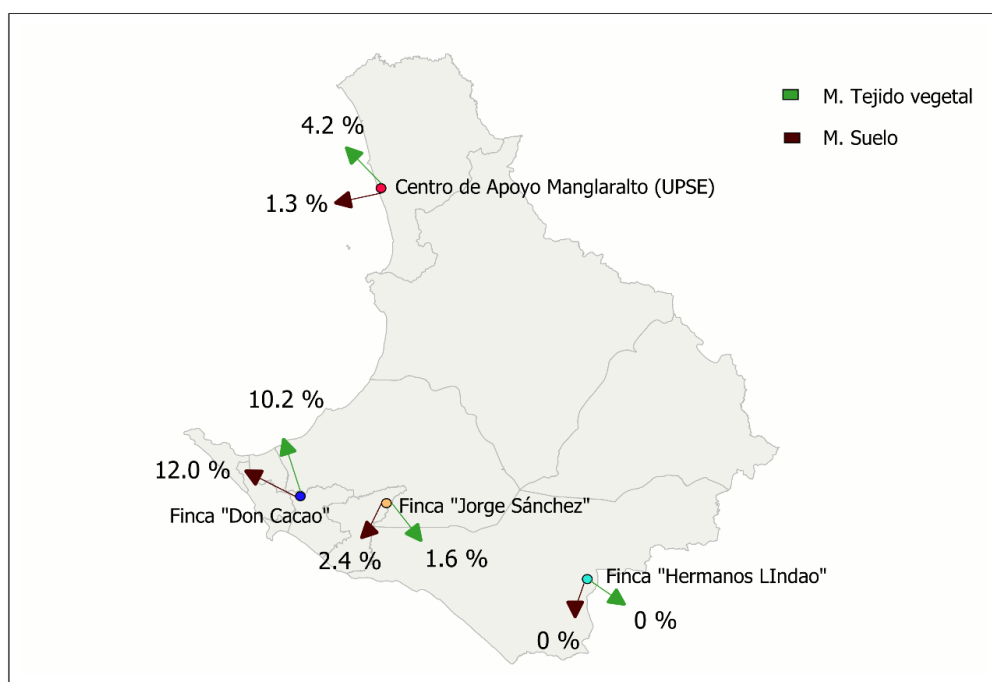


Figura 12. Presencia de *Phytophthora* spp. en las cuatro fincas muestreadas de diferentes zonas de la provincia de Santa Elena.

3.3.1 Característica general del cultivo en las fincas muestreadas

La Tabla 9 sintetiza las características generales y de manejo agronómico de los cuatro predios incluidos en el muestreo. La información fue recopilada mediante observación directa en campo y mediante preguntas hacia los productores de cada zona, permitiendo obtener datos cualitativos sobre las prácticas implementadas.

Tabla 9. Característica general de las fincas muestreadas.

Fincas	Variedad	Tutorado	Observaciones
“Los Hermanos Lindao”	Micaela	Por espaldera	El cultivo se encontraba en fase de floración, el sistema de riego era por goteo. Se observaron zonas con suelo saturado, evidenciando problemas de drenaje, Hubo presencia de problemas fúngicos por <i>Fusarium</i> , y su control se basaba en la aplicación de fungicidas.
“Centro de Apoyo Manglaralto (UPSE)”	-	Por estaca	El cultivo presentaba daños por insectos y síntomas de enfermedades fúngicas.
“Don Cacao”	Floradade	Sin tutorado	El cultivo estaba en fase de fructificación, con sistema de riego por goteo, aplicaban fungicidas una vez por semana como preventivo.
“Don Jorge”	Sheila	Por espaldera	El cultivo estaba en fase vegetativa. Se utiliza el sistema de riego por goteo.

3.4 *Conteo de colonias*

La Figura 13 presenta el recuento promedio de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) obtenidos a partir de muestras de tejido vegetal y muestras de suelo en las cuatro fincas muestreadas. Se observa que la mayor cantidad de Unidades Formadoras de Colonias se registró en la Finca 4, tanto en las muestras de tejido vegetal (124 UFC) como en las de suelo (290 UFC). En contraste, la Finca 2 mostró el menor número de UFC en muestras de tejido vegetal. La mayor cantidad de UFC se encuentran en el suelo, esto es debido a la disponibilidad de recursos.

Los resultados encontrados concuerdan con Qian *et al.* (2019) al indicar, que la mayor disponibilidad de recursos en el suelo impulsa la proliferación y abundancia de comunidades microbianas, incluyendo patógenos fúngicos y oomicetos.

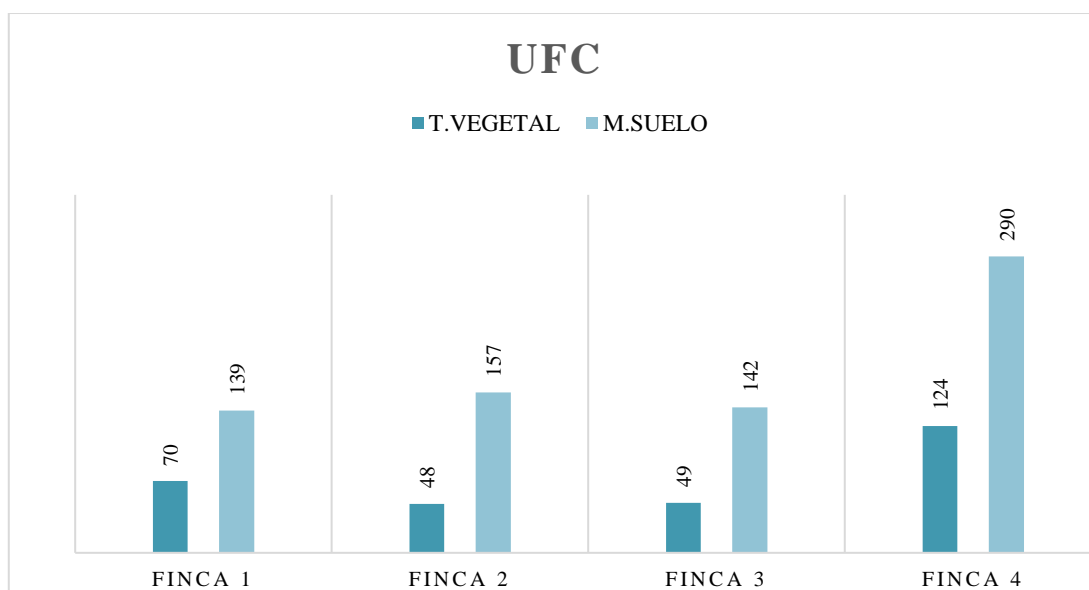


Figura 13. Cuantificación de Unidades Formadoras de Colonias en las cuatro fincas muestreadas de diferentes zonas de la provincia de Santa Elena.

3.4.1 *Identificación de otros hongos encontrados en las fincas muestreadas*

Los aislamientos se agruparon según su rol ecológico predominante, identificando patógenos, saprófitos y benéficos.

Se identificaron tres géneros de hongos considerados fitopatógenos debido a su potencial para causar enfermedades significativas en el cultivo: *Fusarium* sp. *Rizoctonia* sp. y *Alternaria* sp. (Figura 14). Con respecto al género *Fusarium* en las placas tuvo una colonia color púrpura con textura algodonosa. Por su parte, *Alternaria* sp, mostró hifas septadas con conidios de color oscuro y ovalados.

Similar a Guanoquiza *et al.* (2025) quienes en sus aislamientos fúngicos de *Fusarium* sp. realizados en medio de cultivo PDA mostraron un crecimiento micelial denso con textura algodonosa, inicialmente de tonalidad blanco-púrpura.

Concuerda con Matas *et al.* (2022) que los aislados de *Alternaria* sp. mostraron hifas hialinas septadas y con conidios de forma ovalada a oblonga, transversalmente septados con tres a cinco divisiones, con color oscuro cuando están maduros.

Ormeño (2024) indica que varias especies de *Alternaria* son patógenas de plantas produciendo frecuentemente manchas foliares.

Los hongos: *Rhizopus* sp. *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. se clasificaron principalmente como saprófitos (Figura 15) ya que su presencia en el campo está asociada a la revisión de materia orgánica y pueden actuar como patógenos oportunistas especialmente en post-cosecha.

Esto corrobora con Ormeño (2024) en su investigación sobre los hongos fitopatógenos, el cual señala que *Rhizopus* sp. se encuentra en suelo y vegetación en descomposición, generalmente son saprófitos, provocando pudriciones post-cosecha de productos agrícolas. Con respecto a *Penicillium* sp. indica que tiene gran importancia en conservación de productos, por el deterioro que produce en vegetales almacenados, también puede ejercer acción preventiva de enfermedades en plantas, entre otros, por inducir resistencia sistémica.

El mismo autor indica que los géneros de *Aspergillus* sp. se dispersan por corrientes de aire y se encuentran en todo el mundo en diferentes hábitats, particularmente en suelo y desechos vegetales.

También se identificó la presencia de *Trichoderma* sp. (Figura 16) reconocido por su función como agente biocontrolador, ya que contribuye a la sanidad del suelo mediante mecanismos de micoparasitismo y antagónico de patógenos de la rizósfera. Este presentó una coloración verdosa en el centro de las placas.

Similar a Matas *et al.* (2022) quienes caracterizaron a nivel morfológico el género *Trichoderma* sp. y obtuvieron que el aislado presentó micelio blanco de consistencia esponjosa que se extendió por toda la placa, dos o tres anillos concéntricos, con color amarillo e indicaron que diversas especies tienen la capacidad de actuar como antagonistas de patógenos mediante micoparasitismo, antibiosis y competencia por espacio y nutrientes.

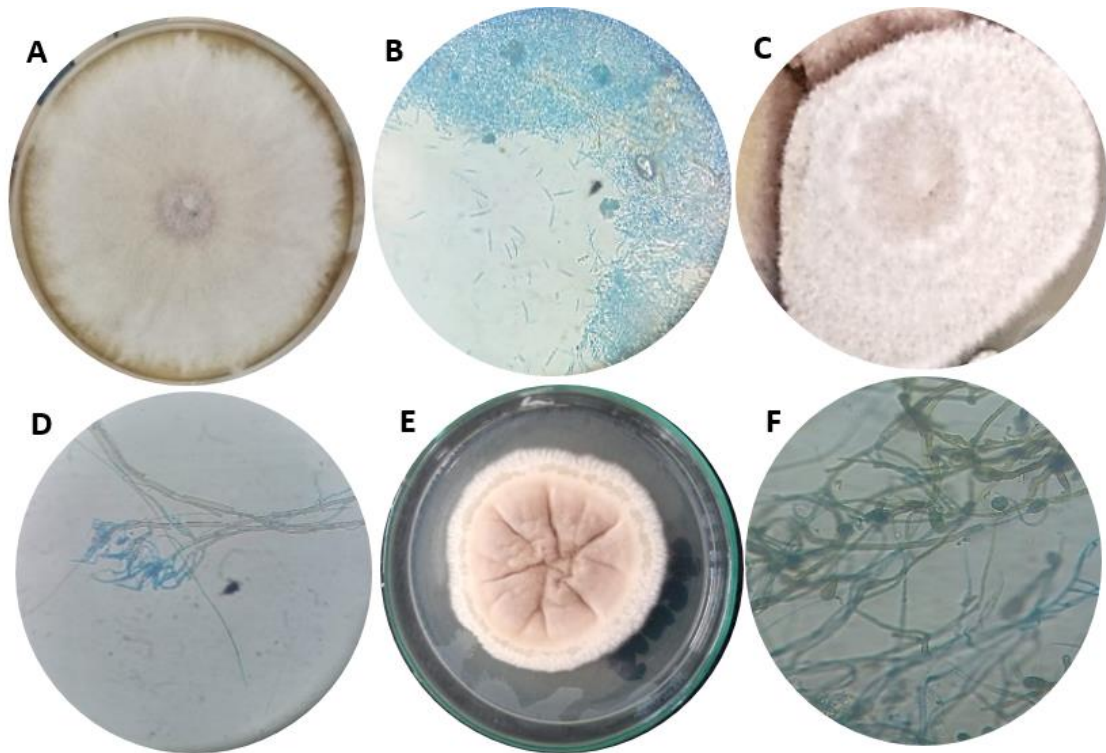


Figura 14. Fotografía macro y microscópicas de los hongos fitopatógenos aislados. A. Colonia de *Fusarium* sp. color ligeramente violáceo, margen redondo, colonia lanosa; B. Macroconidios en forma de medialuna, hialinos y septados de *Fusarium* sp; C. Colonia de *Rhizoctonia* sp. color marrón oscuro; textura algodonosa; D. Hifas largas, gruesas y septadas, color marrón claro de *Rhizoctonia* sp; E. Colonia de *Alternaria* sp. color marrón, textura algodonosa; F. Micelio color oscuro; hifas septadas; conidióforos septados de color oscuro ramificados; conidios grandes en forma de maza con divisiones longitudinales.

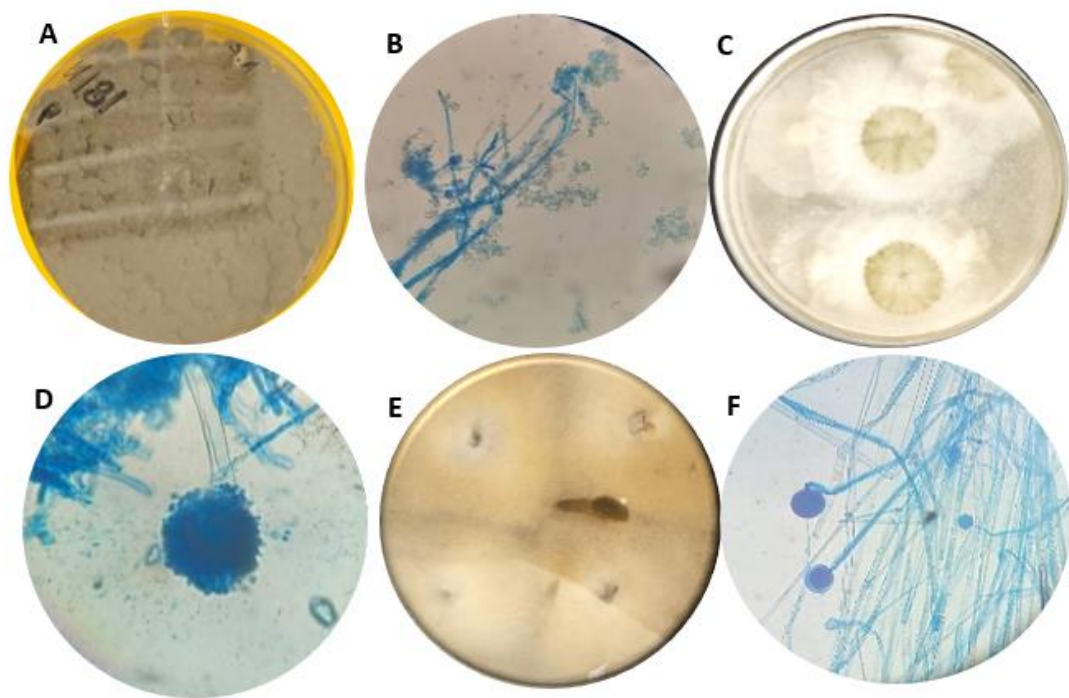


Figura 15. Fotografía macro y microscópica de hongos saprófitos aislados. A. Colonia de *Penicillium* sp. colonias planas con aspecto aterciopelado; B. Hifas septadas; conidióforos en forma de pincel; fiálides rectas y paralelas; C. Colonia de *Aspergillus* sp. colonia algodonosa, de color blanco y el centro café oscuro; D. Vesícula esporífera globosa, fiálides radiales, conidios redondos en cadena, conidióforo largo y liso; E. Colonia algodonosa, color amarillo; F. Hifas cenocíticas conidióforos, esporangios globosos.

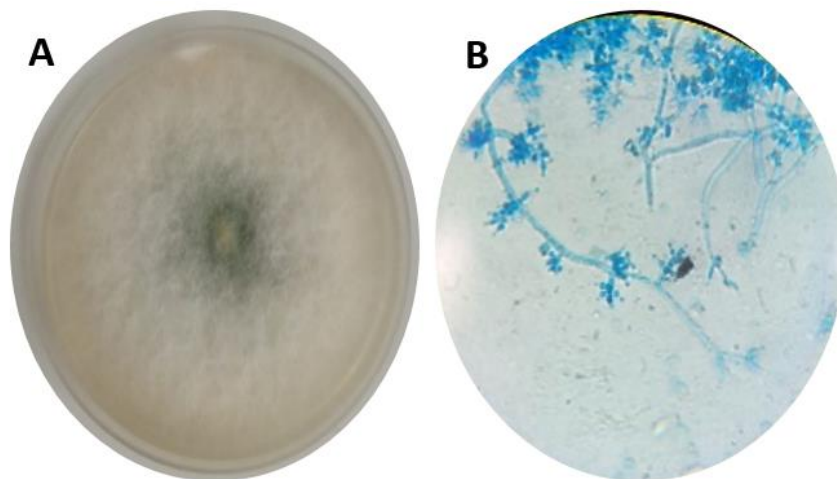


Figura 16. Fotografía macro y microscópica de *Trichoderma* sp. A. Color verde oscuro en el centro y blanco en los extremos, textura lanuda; B. Hifas hialinas, finas y ramificadas; conidióforos ramificados de manera irregular

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El aislamiento del género *Phytophthora* spp. se obtuvo al utilizar los medios PDA y Sabouraud que permitieron un crecimiento satisfactorio de las colonias.

El género *Phytophthora* spp. fue identificado mediante la caracterización morfológica. Las estructuras microscópicas observadas, incluyendo hifas cenocíticas y esporangios limoniformes con pápila, son consistentes con las claves taxonómicas y confirman la identidad del patógeno aislado.

El análisis de las muestras recolectadas en la provincia de Santa Elena permitió identificar las fincas con mayor presencia de *Phytophthora* spp., se determinó que en la Finca “Don Cacao” hubo un mayor porcentaje de presencia de *Phytophthora* spp., tanto en muestras de suelo (12%) como en tejido vegetal (10.2%). Esto lo establece como la zona con mayor riesgo del patógeno. En las tres fincas donde se detectó el patógeno, la presencia fue superior en las muestras de suelo en comparación con el tejido vegetal, lo reafirma que el suelo actúa como el principal reservorio de inóculo en el sistema de cultivo.

Recomendaciones

- Estandarizar el uso del medio PDA (Potato Dextrosa Agar) suplementado con agentes selectivos para el diagnóstico de campo.
- Se recomienda la identificación de *Phytophthora* spp. a nivel de especie debido a que la virulencia y el rango de hospedantes varían entre especies.
- Realizar evaluaciones de la resistencia de las variedades de tomate cultivadas en la zona frente a los aislados de *Phytophthora* spp.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, Z.G., Burgess, T.I. y Bourret, T. (2023) «*Phytophthora : taxonomic and phylogenetic revision of the genus*», *Studies in Mycology*, 106, pp. 259-348. Disponible en: <https://doi.org/10.3114/sim.2023.106.05>.
- Acasa-Quisbert, F., Loza-Murguía, M. y Bonifacio-Flores, A. (2017) «*Comunidad de hongos filamentosos en suelos del Agroecosistema de K'iphak'iphani, Comunidad Choquenaira-Viacha*», 8(1), pp. 2-25.
- Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (2018) «*Muestreo para análisis de suelo*». Disponible en: <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/agua8.pdf>.
- Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (2023) «*Toma de muestras para el laboratorio de fitopatología*». Disponible en: https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2024/12/int_fp_01_rev_4_20231117-s-1.pdf.
- Aguilar Pezo, E.T. (2021) «*Evaluación de la adaptabilidad fenotipo ambiente de seis cultivares de tomate (Solanum lycopersicum L.) en el cantón Machala provincia de el Oro*». Disponible en: <https://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16536/1/TTUACA-2021-IA-DE00002.pdf>.
- Aristizábal Castillo, N. y Torres G., C. (2015) «*Caracterización morfológica y molecular de Phytophthora en ají (Capsicum frutescens var. Tabasco), Valle del Cauca*», *Revista de Ciencias*, 19(2), pp. 71-89.
- Berra, D. (2022) «*Podredumbre de Cuello y Raíz (Phytophthora spp.)*». Disponible en: https://sanidadyproteccionvegetal.com/podredumbre-cuello-raiz-tomate-y-pimiento/?srsltid=AfmBOopqLg_VV11EHSIULWGoym9GfsqmAZMy9b7QF7qy4hLG3oQgChA.
- Besoain, X. y Súa, S. (2020) «*Manejo integrado para el control de especies de Phytophthora que afectan al nogal en Chile*». Disponible en: <https://www.chilenut.cl/wp-content/uploads/2020/06/01.-Manual-de-Manejo-Integrado-de-Phytophthora.pdf>.
- Bustamante Gavilanes, A. (2015) *Control biológico del tizón tardío (Phytophthora infestans) en papa (Solanum tuberosum) a través de consorcios microbianos formado por hongos nativos del género Trichoderma sp.* Experimental. Universidad

- Politécnica Salesiana. Disponible en:
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7692/1/UPS-CT004553.pdf>.
- Caggiano, G., Diella, G. y Triggiano, F. (2020) «*Occurrence of Fungi in the Potable Water of Hospitals: A Public Health Threat*», *Pathogens*, 9(10), p. 783. Disponible en:
<https://doi.org/10.3390/pathogens9100783>.
- Campoverde (2023) «*Manual de bioseguridad*». Disponible en:
<https://www.investigacionsalud.gob.ec/webs/intranet/wp-content/uploads/2022/09/M-BS-001-ed-02-Manual-de-Bioseguridad.pdf>.
- Cárdenas Rodríguez, J., Yáñez Juárez, M.G. y López Orona, C.A. (2021) «*Especies de Phytophthora asociadas a agua de irrigación en el Valle de Culiacán*», *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(3), pp. 473-483. Disponible en:
<https://doi.org/10.29312/remexca.v12i3.2619>.
- Castillo Gavidia, G.R. (2022) *Evaluación de la rotación y periodos de aplicación de productos para el manejo de Phytophthora infestans en tomate (Solanum lycopersicum) a campo abierto*. Proyecto de Investigación. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Disponible en:
<https://dspace.esPOCH.edu.ec:8080/server/api/core/bitstreams/fedd91f0-aa14-4a4b-8165-b3e36800f631/content>.
- Cedeño Moreira, Á.V., Romero Meza, R.F. y Auhing Arcos, J.A. (2020) «*Caracterización de Phytophthora spp. y aplicación de rizobacterias con potencial en biocontrol de la enfermedad de la mazorca negra en Theobroma cacao variedad CCN-51*», *Scientia Agropecuaria*, 11(4), pp. 503-512. Disponible en:
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.04.05>.
- Chiquito Nuñez, fernando D. (2015) *Efecto de elicitors en el crecimiento y desarrollo de semilleros de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) sometido a estrés biótico provocado por Phytophthora infestans*. Universidad Estatal Península de Santa Elena. Disponible en:
<https://repositorio.upse.edu.ec/server/api/core/bitstreams/667eb4d2-38e7-4956-a032-fa0b6649b2bc/content>.
- Cristancho, J.A., Alfonso, Ó.A. y Molina, D.L. (2012) «*Revisión de literatura sobre el papel del suelo y la nutrición de plantas en la Pudrición del cogollo de la palma de aceite*», *Palmas*, 33(2), pp. 9-22.

- Cruz Trujillo, J.J., Hernández Gutiérrez, V. y Sánchez Leal, L.C. (2021) «*Alternativas de control biorracionales sobre Phytophthora infestans, fitopatógeno causante de la gota en papa*», *Nova*, 19(36), pp. 31-48. Disponible en: <https://doi.org/10.22490/24629448.5287>.
- Delesma-Morales, L., Lozoya-Saldaña, H. y Rodríguez-Pérez, E. (2020) «*Patosistema Solanum lycopersicum-Phytophthora infestans en Chapingo, México. Esperado, observado y simulado*», 38(1). Disponible en: <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1910-5>.
- Drenth, A. y Guest, D. (2013) «*Phytophthora: la destructora de plantas*», *Palmas*, 34, pp. 49-56.
- Drenth, A. y Guest, D.I. (2004) *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia*. Disponible en: <file:///C:/Users/USUARIO/Desktop/mn114-part1.pdf>.
- Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (2016) «ESPAC 2016». Disponible en: https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2016/Informe%20ejecutivo%20ESPAC_2016.pdf.
- Gallegly, M. y Chuanxue Hong (2008) *Phytophthora: Identifying Species by Morphology and DNA Fingerprints*. Disponible en: <https://my.apsnet.org/APSSStore/APSSStore/Product-Detail.aspx?iProductCode=43641&WebsiteKey=2661527a-8d44-496c-a730-8cfeb6239be7>.
- García, S. (2021) «*Enfermedades fúngicas aéreas del tomate*». Disponible en: <https://www.monografias.com/trabajos101/enfermedades-fungosas-aereas-tomate/enfermedades-fungosas-aereas-tomate2#bibliograa>.
- Ghazanfar, M.U., Muhammad, A. y Muhammad, Z. (2022) «*Caracterización morfológica de Phytophthora infestans y su crecimiento en diferentes medios de crecimiento*», 15 de Septiembre 2022 [Preprint]. Disponible en: <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/20190522060512>.
- Gobierno Autónomo Descentralizado (2023) «*Plan de Desarrollo y Ordenamiento territorial*». Disponible en: https://gadmanglaralto.gob.ec/media/gadmanglaralto/pdot_archivos/PDOT_20232027.pdf.

- Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural (2019) «*Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de la parroquia rural Chanduy*». Disponible en: https://gadparroquialtarifa.gob.ec/media/chanduy/pdot_archivos/Atualizacion_PDY_OT2014-2019.pdf.
- Gómez Tejena, N.D. (2024) *Efecto físico, químico y microbiológico del suelo en el cultivo de café (Coffea arábica L.) en Manglaralto y Colonche, Provincia de Santa Elena*. Universidad Estatal Península de Santa Elena. Disponible en: <https://repositorio.upse.edu.ec/server/api/core/bitstreams/9c850d67-e8e7-45eb-abf4-611aa812888f/content>.
- González, D., Costales, D. y Falcón, A. (2014) «*Efecto de diferentes medios de cultivo sobre el desarrollo de Phytophthora nicotianae Breda de Haan*». Disponible en: [306034715_Efecto_de_diferentes_medios_de_cultivo_sobre_el_desarrollo_de_Phytophthora_nicotianae_Breda_de_Haan](https://repositorio.unl.edu.ec/server/api/core/bitstreams/de25d5f1-dcfa-4147-98a2-c1ae74101ed5/content).
- Granda Mora, K.I. (2024) *Aplicación de rizobacterias en el desarrollo vegetativo del cultivo de tomate de riñón (Solanum lycopersicum L.) y sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo bajo condiciones de invernadero en la Quinta Experimental La Argelia*. Experimental. Universidad Nacional de Loja. Disponible en: <https://dspace.unl.edu.ec/server/api/core/bitstreams/de25d5f1-dcfa-4147-98a2-c1ae74101ed5/content>.
- Guanquizza Calero, J.C., Freire Vaca, E.R. y Quintana Zambrano, J.J. (2025) «*Caracterización morfológica y molecular de fitopatógenos causantes de pudrición del tallo en Nicotiana tabacum L.*», 2025, 9(3). Disponible en: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i3.17723.
- Harethi, A., Abdullah, Q. y Jobory, H. (2024) «*Phytophthora infestans Culture Media: A Comparative Study of Cost-Effective V8 Agar and Rye Agar*», *ResearchGate*, 2(1), pp. 103-106. Disponible en: <https://doi.org/10.59628/jast.v2i1.768>.
- Hidalgo Mata, D. y Tello Torres, C. (2022) «*Manual para la producción de hongos entomopatógenos y análisis de calidad de bioformulados*». Disponible en: [file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Manual%20para%20la%20producci%C3%B3n%20de%20hongos%20entomopat%C3%B3genos%20y%20an%C3%A1lisis%20de%20calidad%20de%20bioformulados%20\(2\)%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Manual%20para%20la%20producci%C3%B3n%20de%20hongos%20entomopat%C3%B3genos%20y%20an%C3%A1lisis%20de%20calidad%20de%20bioformulados%20(2)%20(1).pdf).
- Instituto Geográfico Militar (2025) «*IGM*». Disponible en: <https://www.geoportalignm.gob.ec/portal/>.

- Kaen, R., Juri, C. y Latorre Mejía, M. (2023) «*Optimización de la técnica para la detección y el aislamiento de Phytophthora sp en Nopal*». Disponible en: https://editorial.unca.edu.ar/Publicacione%20on%20line/CUADERNOS%20DE%20CATEDRA/Felisa%20Seleme/Optimizacion_de_tecnica.pdf.
- Khaliluev, M.R., Bogoutdinova, L. y Raldugina, G. (2022) «*Un método de bioensayo simple y eficaz, adecuado para el estudio comparativo in vitro de la tolerancia a la sal del tomate en las primeras etapas de desarrollo.*» Disponible en: https://www.mdpi.com/2409-9279/5/1/11?utm_source=researchgate.
- Lainez Franco, S.J. (2019) *Comportamiento agronómico de once líneas promisoras de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) tolerantes al estrés hídrico en el sector Velasco Ibarra, cantón la Libertad*. Experimental. Universidad Estatal Península de Santa Elena. Disponible en: <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/4964/1/UPSE-TIA-2019-0014.pdf>.
- Leyva-Mir, S.G., González-Solano, C.M. y Rodríguez-Pérez, J.E. (2013) «*Comportamiento de líneas avanzadas de tomate (Solanum lycopersicum L.) a fitopatógenos en Chapingo, México*», *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 19(3), pp. 301-313. Disponible en: <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2012.12.070>.
- Manvert (2022) «*Phytophthora: cómo prevenir y controlar esta enfermedad*». Disponible en: https://manvert.com/medios/phytophthora-sintomas-tratamiento-fosika?utm_source=rss&utm_medium=postrss.
- Matas-Baca, M.Á., Urías García, C. y Pérez-Álvarez, S. (2022) «*Caracterización morfológica y molecular de un nuevo aislado autóctono de Trichoderma sp. y su eficacia de biocontrol contra Alternaria sp.*», *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), pp. 2620-2625. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.12.052>.
- May, S. (2022) «*Consejos para la purificación de hongos y oomicetos*». Disponible en: https://www-npdn-org.translate.goog/newsletter/2022/01/article/3?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es&_x_tr_pto=tc.
- Meszka, B. y Michalecka, M. (2016) «*Identification of Phytophthora spp. isolated from plants and soil samples on strawberry plantations in Poland*», *Journal of Plant Diseases and Protection*, 123(1), pp. 29-36. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s41348-016-0007-2>.

- Ministerio de Agricultura y Ganadería (2023) «*Boletín situacional: Cultivo de tomate riñon*». Disponible en: <https://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/situacionales-agricolas/situacional-tomaterinon>.
- Morales Muñoz, X. (2014) «*Modelo de gestión administrativa para la comuna el Tambo, parroquia Ancón, provincia de Santa Elena, año 2014*». Disponible en: <https://repositorio.upse.edu.ec/server/api/core/bitstreams/86fca2c0-4301-4016-a025-c9bedaf1ffb7/content>.
- Moreno, J. y Lasso Benítez, L. (2013) «*Generación de geoinformación para la gestión del territorio a nivel nacional escala 1:25000*». Disponible en: https://www.geoportalignm.gob.ec/geodescargas/olmedo_loja/mt_olmedo_capacidad_uso_de_las_tierras.pdf.
- Mugao, L. (2023) «*Morphological and Molecular Variability of Alternaria solani and Phytophthora infestans Causing Tomato Blights*», *International Journal of Microbiology*, 2023, p. 8951351. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2023/8951351>.
- Murillo Cantos, C.I. (2024) *Manejo integrado del mildiu (Phytophthora infestans L.) en el cultivo de tomate (Solanum lycopersicum L.)*. Experimental. Universidad Técnica de Babahoyo. Disponible en: <https://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/16133/E-UTB-FACIAG-AGRON-000149.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Nápoles Vega, D., Sebasco Rodríguez, K. y Fernández Regalado, R. (2023) «*La Bioseguridad en los laboratorios de las universidades de Ciencias Médicas*», 22(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2023000300004.
- Ormeño Villajos, S. (2024) *Introducción a los hongos fitopatógenos*. 1ª Edición. Madrid. Disponible en: <https://oa.upm.es/82782/1/HongosFitopatogenos.pdf>.
- Ortega, J., Gutiérrez, Kevin C. y Velázquez, R.V. (2022) «*Evaluación y selección de híbridos de tomate Solanum lycopersicum L. (Mill.) en Puerto la Boca, Ecuador*», *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 10(1), pp. 21-31.
- Ortiz Estupiñán, D.P. (2021) «*Caracterización de esporangios de Phytophthora betacei producidos en medios artificiales y en lesiones de hojas de Solanum betaceum*». Disponible en:

<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/81967/Tesis%20Diana%20Ortiz%20envio.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

- Ortiz, W.A.W., Diaz, R.E.V. y Malagón, E.M.E. (2022) «Efectos del clima y su relación con el tizón tardío (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) en cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.)», *Siembra*, 9(2), pp. e4008-e4008. Disponible en: <https://doi.org/10.29166/siembra.v9i2.4008>.
- Parada-Rojas, C., Granke, L.L. y Naegele, R.P. (2021) «Guía de diagnóstico para la infección por *Phytophthora capsici* en cultivos hortícolas». Disponible en: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHP-02-21-0027-FI>.
- Perero Perero, A.D. (2024) *Características físicas, químicas y microbiológicas del suelo aisladas de dos variedades de pasto en Manglaralto y Colonche Provincia de Santa Elena*. Universidad Estatal Península de Santa Elena. Disponible en: <https://repositorio.upse.edu.ec/server/api/core/bitstreams/0cd4fb05-a537-49ea-9125-0f49d1a89032/content>.
- Pérez, A.H., Fuentes, Y.M.O. y Chávez, E.C. (2019) «Dinámica del crecimiento *in vitro* de *Phytophthora cinnamomi* en medios de cultivo alternativos», *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (23), pp. 331-338. Disponible en: <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i23.2032>.
- Pfenning, L.H. y Magalhães de Abreu, L. (2021) «Hongos del suelo saprófitos y patógenos de plantas», en *Manual de biología de suelos tropicales*. Disponible en: <https://www.studocu.com/es-ar/document/universidad-nacional-de-jujuy/microbiologia/cap8-hongos-de-suelo-saprofitos-y-patogenos/77193226>
- Pons-Hernández, J.L., Guerrero-Aguilar, B.Z. y González-Chavira, M.M. (2020) «Variabilidad genotípica de aislados de *Phytophthora capsici* en Guanajuato», *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(8), pp. 1891-1901. Disponible en: <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i8.2618>.
- Qian, X., Li, H. y Wang, Y. (2019) «Leaf and Root Endospheres Harbor Lower Fungal Diversity and Less Complex Fungal Co-occurrence Patterns Than Rhizosphere», *Frontiers in Microbiology*, 10. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01015>.
- Quispe-Quispe, E., Moreira-Morrillo, A.A. y Garcés-Fiallos, F.R. (2022) «Una revisión sobre biocontroladores de *Phytophthora capsici* y su impacto en plantas de *Capsicum*: Una perspectiva desde el exterior al interior de la planta», *Scientia*

- Agropecuaria*, 13(3), pp. 275-289. Disponible en: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.025>.
- Rawnaq, N.C., Connie, T. y Emmanuel, B. (2021) «*Patotipos comunes de Phytophthora sojae presentes en Dakota del Sur*», 22(3). Disponible en: <https://doi.org/10.1094/PHP-02-21-0039-FI>.
- Reis, A., Sousa, M. y Newman, E. (2023) «*Espécies fitopatogênicas de Phytophthora*», 29. Disponible en: <https://doi.org/10.31976/0104-038321v290003>.
- Reyes-Tena, A., Rodríguez-Alvarado, G. y Fernández-Pavía, S.P. (2021) «*Caracterización morfológica de aislados de Phytophthora capsici provenientes de Jalisco y Michoacán, México*», *Revista mexicana de fitopatología*, 39(1), pp. 75-93. Disponible en: <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2007-5>.
- Roberts, P.D. y Kucharek, T.A. (2022) *Vegetable Diseases Caused by Phytophthora capsici in Florida*, Ask IFAS - Powered by EDIS. Disponible en: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/VH045> (Accedido: 28 de mayo de 2025).
- Rodríguez, J.C., Juárez, M.G.Y. y Orona, C.A.L. (2021) «*Oomycetes Especies de Phytophthora asociadas a agua de irrigación en el Valle de Culiacán*», *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(3), pp. 473-483. Disponible en: <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i3.2619>.
- Sagar, A. (2022) «*Agar patata dextrosa (PDA): Principio, usos, composición, procedimiento y características de las colonias*». Disponible en: <https://microbiologyinfo.com/potato-dextrose-agar-pda-principle-uses-composition-procedure-and-colony-characteristics/>.
- Sagar, A. (2023) «*SDA: Composición, Principio, Preparación, Resultados, Usos*». Disponible en: <https://microbenotes.com/sabouraud-dextrose-agar-sda/>.
- Salas Gómez, A.L., Osorio Hernández, E. y Espinoza Ahumada, C.A. (2022) «*Principales enfermedades del cultivo de tomate (Solanum lycopersicum L.) en condiciones de campo*», 2022, 6(1), p. p 4190.
- Sanchez Aixa (2020) *Biocontrol de Phytophthora spp. con aislados regionales de Trichoderma spp. del Alto Valle de Río Negro en plantaciones de pera comercial*. Experimental. Universidad Nacional de Cuyo. Disponible en: <https://rdi.uncoma.edu.ar/bitstream/handle/uncomaid/15878/Tesis%20doctoral%20Aixa%20Sanchez.docx.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (2021) *Ficha técnica para el diagnóstico de: Phytophthora fragariae, P. rubi, P. citricola, P. erythroseptica en cultivos de fresa y frambuesa*. Disponible en: <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Ficha%20tecnica%20Diagnostico%20Phytophthora.pdf>.
- Sharma, M. y Ghosh, R. (2018) «Aislamiento, identificación y patogenicidad de la plaga *Phytophthora* del gandul», 19(3). Disponible en: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHP-04-18-0014-DG>.
- Soto Plancarte, A., Rodríguez Alvarado, G. y Fernández Pavía, Y.L. (2017) «Protocolos de aislamiento y diagnóstico de *Phytophthora* spp. enfoque aplicado a la investigación», *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(8), pp. 1867-1880. Disponible en: <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i8.708>.
- Torrejano, V.M. (2024) *Factores que determinan la incidencia de Phytophthora palmivora en sistemas productivos de cacao del municipio de Algeciras Huila*. Experimental. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD.
- Trinidad, M., Moreira, A. y Cardillo, E. (2022) «Gestión y prevención de la enfermedad causada por *Phytophthora cinnamomi* en dehesas y montados». Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/376411672_Gestion_y_preencion_de_la_enfermedad_causada_por_Phytophthora_cinnamomi_en_dehesas_y_montados.
- Trinidad-Cruz, J.R., Rincón-Enríquez, G. y Evangelista-Martínez, Z. (2021) «Control biorracional de *Phytophthora capsici* en plantas de chile mediante *Streptomyces* spp.», *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 27(2), pp. 85-99. Disponible en: <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2020.06.014>.
- Vega Pallo, K.V. (2022) «Evaluación de dos bioestimulantes en el desarrollo vegetativo de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum*) en la parroquia Eloy Alfaro, cantón Latacunga.» Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/server/api/core/bitstreams/9c385219-bed0-4630-bf42-7c09f4e95a4b/content>.
- Vélez, D.C., Noreña, C. y Sarria, G.A. (2008) «Evaluación y cuantificación de estructuras de *Phytophthora palmivora*, el responsable de la pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite», 2008, p. 7.
- Volynchikova, E. y Kim, K.D. (2022) «Biological Control of Oomycete Soilborne Diseases Caused by *Phytophthora capsici*, *Phytophthora infestans*, and *Phytophthora*

nicotianae in Solanaceous Crops», *Mycobiology*, 50(5), pp. 269-293. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/12298093.2022.2136333>.

Yentzen (2020) «*Phytophthora: cómo prevenir y curar esta enfermedad*», 5 agosto. Disponible en: <https://www.portalfruticola.com/noticias/2020/08/05/phytophthora-como-prevenir-y-curar-esta-enfermedad/> (Accedido: 28 de mayo de 2025).

ANEXO



Información de la finca	
Nombre de la finca	Hermanos Lindao "51"
Ubicación de la finca Propietario	Comuna Olmedo
Responsable del muestreo	
Fecha del muestreo	14 / 07 / 2025
Características del suelo	
Tipo de suelo	Aciloso
Textura del suelo	Acilla
Profundidad del muestreo	20 cm
Método de muestreo	
Método de extracción	Pala
Número de muestras	10
Distribución de las muestras	Tejido vegetal y suelo
Observaciones	
<u>Suelo saturado, compactado</u>	
<u>Aplicación de fungicidas</u>	
<u>Con tubo</u>	



Información de la finca	
Nombre de la finca	Finca Jorge Sánchez "54"
Ubicación de la finca Propietario	Entrada de Chanduy
Responsable del muestreo	
Fecha del muestreo	16 / 09 / 2025
Características del suelo	
Tipo de suelo	franco aciloso
Textura del suelo	Acilla
Profundidad del muestreo	20 cm
Método de muestreo	
Método de extracción	Pala
Número de muestras	10
Distribución de las muestras	Tejido vegetal y suelo
Observaciones	
<u>Con tubo</u>	
<u>Aplicación de fungicidas</u>	
<u>Presencia de virus</u>	

FIGURA 1A. Ficha de muestreo en Olmedo.

FIGURA 2A. Ficha de muestreo en Chanduy



Información de la finca	
Nombre de la finca	Finca Don Cacao "53"
Ubicación de la finca Propietario	El Tambo
Responsable del muestreo	
Fecha del muestreo	23 / 08 / 2025
Características del suelo	
Tipo de suelo	franco arenoso
Textura del suelo	arenoso
Profundidad del muestreo	20 cm
Método de muestreo	
Método de extracción	Pala
Número de muestras	10
Distribución de las muestras	Tejido vegetal y suelo
Observaciones	
<u>Rotación de cultivo</u>	
<u>Aplicación de fungicida semanal</u>	
<u>Sin tubo</u>	



FIGURA 3A. Ficha de muestreo en El Tambo.

FIGURA 4A. Dueño de la finca de Olmedo.



FIGURA 5A. Cultivo de tomate variedad Micaela.



FIGURA 6A. Recolección de muestras de suelo.



FIGURA 7A. Recolección de muestras de suelo en Manglaralto.



FIGURA 8A. Recolección de muestras de tejido vegetal en Manglaralto.



FIGURA 9A. Dueño de la finca de El Tambo.



FIGURA 10A. Cultivo de tomate variedad Floradade.



FIGURA 11A. Dueño de la finca de Olmedo.



FIGURA 12A. Recolección de muestras de suelo y tejido vegetal en Chanduy.



FIGURA 13A. Jugo V8 utilizado para la preparación del medio de cultivo.



FIGURA 14A. PDA utilizado para la preparación de los medios de cultivo.

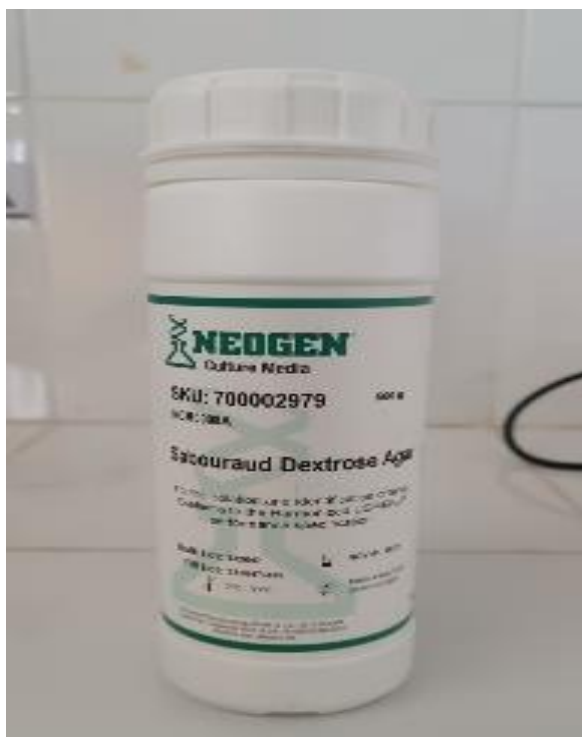


FIGURA 15A. Medio Sabourand Dextrosa Agar.



FIGURA 16A. Preparación de medios de cultivo.



FIGURA 17A. Siembra de suelo en medio de cultivo Agar Centeno.



FIGURA 18A. Siembra de tejido vegetal en medio de cultivo Agar Centeno.



FIGURA 19A. Reactivo utilizado para la tinción de los hongos.

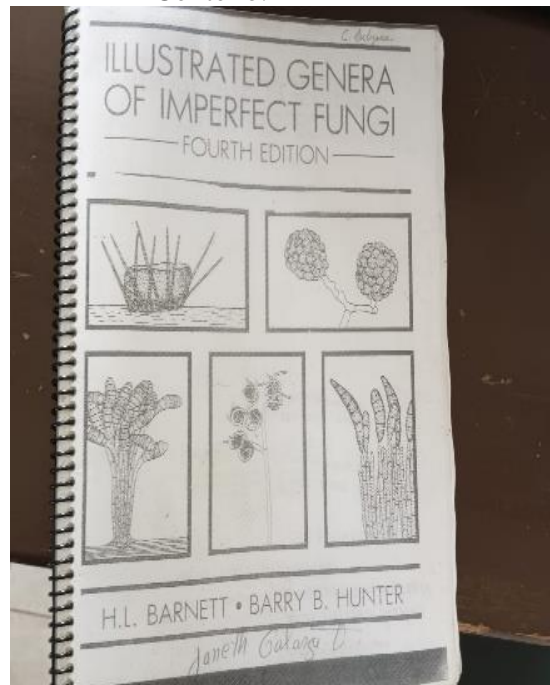


FIGURA 20A. Libro de Claves taxonómicas de hongos.



FIGURA 21A. Identificación de hongos.



FIGURA 22A. Medición del diámetro de las colonias de *Phytophthora* spp.

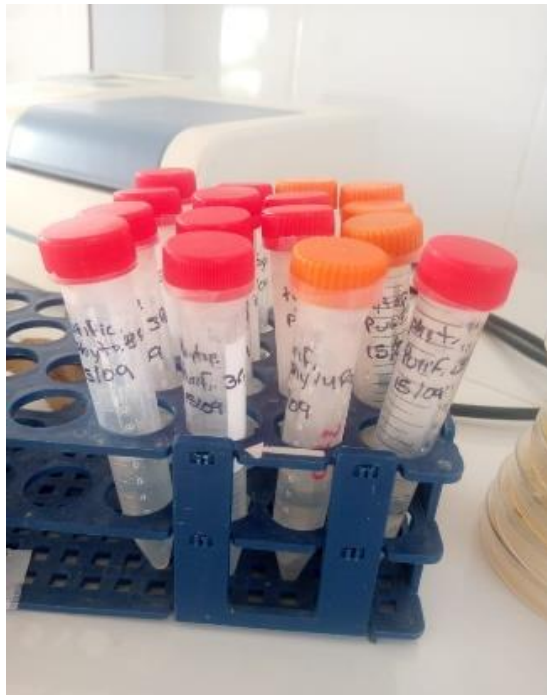


FIGURA 23A. Purificación de aislados de *Phytophthora* spp.



FIGURA 24A. Conservación de aislados de *Phytophthora* spp.