



RESUMEN

TÍTULO: "Evaluación de hongos y pseudohongos patógenos en el orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca"

La investigación sobre "Evaluación de hongos y pseudohongos patógenos en el orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca", se desarrolló en el orquideario y laboratorio de Fitopatología.

Se evaluó la incidencia y severidad e identificó los hongos y pseudohongos patógenos; y se planteó una propuesta de manejo agroecológico.

De 1650 plantas presentaron sintomatología el 10,73%, en los géneros: *Anguloa*, *Brassia*, *Cattleya*, *Cochlioda*, *Cyrtochilum*, *Dracula*, *Epidendrum*, *Gongora*, *Ida*, *Lepanthes*, *Masdevallia*, *Maxillaria*, *Mormodes*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Phragmipedium*, *Pleurothallis*, *Prosthechea*, *Restrepia*, *Stanhopea*, *Stelis*, *Symphoglossum*, *Trigonidium* y *Xilovium*; la severidad fue inferior al 2% del área afectada.

Las muestras fueron sometidas a cámara húmeda y cultivo en PDA, determinándose los siguientes hongos y pseudohongos:

En cámara húmeda, *Colletotrichum* sp. presentó el 53,48%, *Fusarium* sp. 13,04%, *Cladosporium* sp. 12,61%, *Phoma* sp. 6,52%, *Cercospora* sp. 2,17%, *Rhizoctonia* sp. 1,74%; *Phyllosticta* sp. 1,30%, *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp. 0,87% y *Phytophthora* sp. 0,43%.

En PDA, *Colletotrichum* sp. 39,81%, *Cladosporium* sp. 9,95%, *Phoma* sp. 7,41%, *Fusarium* sp. 6,71%, *Phyllosticta* sp. 1,16%, *Cercospora* sp. 0,93%, *Rhizoctonia* sp. 0,93%, y *Alternaria* sp., *Phytophthora* sp. 0,46%.

Se determinó como patógenos a: *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phyllosticta* sp. y *Phytophthora* sp.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Se recomienda continuar manejando agroecológicamente, fomentando organismos benéficos y creando condiciones cercanas a su medio natural.

Palabras claves: Hongos, pseudohongos, patógenos, incidencia, severidad, orquídeas.

ÍNDICE GENERAL	Página
I.- INTRODUCCIÓN	12
II.- OBJETIVOS E HIPÓTESIS	14
Objetivo general	14
Objetivos específicos	14
Hipótesis	14
III.- REVISIÓN DE LITERATURA	15
3.1. Las orquídeas	15
3.2. Enfermedades de las orquídeas	15
3.2.1. Clasificación de los pseudohongos y hongos patógenos en orquídeas	18
3.2.1.1. <i>Alternaria</i> sp.	19
Agente etiológico	19
Etiología	19
Síntomas	20
3.2.1.2. <i>Botrytis</i> sp.	21
Agente etiológico	21
Etiología	22
Síntomas	22
3.2.1.3. <i>Cercospora</i> sp.	22
Los agentes etiológicos	22
Etiología	24
Síntomas	24
3.2.1.4. <i>Bipolaris</i> spp.	25
Agente etiológico	25

Tema: Evaluación de hongos y pseudohongos patógenos en el orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca

Autor: Francisco Merchán Beltrán



Síntomas	25
3.2.1.5. <i>Colletotrichum</i> sp.	25
Etiología	25
Agente etiológico	26
Morfología	26
Síntomas	31
3.2.1.6. <i>Curvularia</i> spp.	33
Agente etiológico	33
Etiología	34
Síntomas	34
3.2.1.7. <i>Fusarium</i> sp.	35
Agente etiológico	35
Hospedantes	35
Etiología	36
Síntomas	36
3.2.1.8. <i>Phyllosticta</i> sp.	38
Agente etiológico	38
Etiología	38
Síntomas	40
3.2.1.9. <i>Phoma</i> sp.	41
Agente etiológico	41
Síntomas	43
3.2.1.10. <i>Pythium</i> y <i>Phytophthora</i> sp.	43
Agentes etiológicos	43
Etiología	44
Síntomas	45
3.2.1.11. <i>Pythium</i> sp.	45
Agente etiológico	45
Sintomas	46



3.2.1.12. <i>Phytophthora</i> spp.	46
Agente etiológico	47
Etiología	48
Síntomas	48
3.2.1.13. <i>Rhizoctonia</i> spp.	49
Agente etiológico	49
Etiología	49
Síntomas	50
3.2.1.14. <i>Sphenospora</i> sp.	51
Agentes etiológicos	51
Etiología	53
Síntomas	53
3.2.1.15. <i>Septoria</i> sp.	54
Agente etiológico	54
Etiología	54
Síntomas	55
3.3. Manejo Agroecológico	56
3.4. Control biológico de enfermedades	59
3.5. Prevención y control de hongos y pseudohongos	60
IV.- MATERIALES Y MÉTODOS	61
4.1. Características del lugar de la investigación	61
4.2. Materiales	61
4.2.1. De laboratorio	61
a. Físicos	61
b. Químicos	61
c. Biológicos	61
4.2.2. De invernadero	62
4.3. Métodos	63
4.3.1. Diseño estadístico	63



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

4.3.2. Determinación de la incidencia y severidad	63
4.2.3. Evaluación de la incidencia y severidad	64
4.3.4. Fase de laboratorio	65
a. Esterilización de los materiales	65
b. Preparación del medio de cultivo	65
c. Manejo de las muestras	67
c.1. Invernadero	67
c.2. Laboratorio	67
d. Identificación directa	67
e. Procesamiento de las muestras en el laboratorio	68
f. Cámara húmeda	69
g. Cultivo en PDA.	69
h. Sub cultivo	71
i. Toma de muestras para la identificación de los organismos presentes	72
j. Eliminación de medio del cultivo de cajas petri y tubos de ensayo	73
k. Identificación de hongos y pseudohongos	74
4.3.5. Prueba de patogenicidad	74
4.3.6. Documentación fotográfica	75
4.3.7. Manejo de los resultados	75
4.3.8. Identificación de las especies de orquídeas	76
V.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	77
5.1. Evaluación de la incidencia y severidad	77
5.1.1. Incidencia	77
5.1.1.2.- Severidad	81
5.2. Determinación de hongos y pseudohongos patógenos	86
5.2.1. Observación directa de las muestras	86
5.2.2. Desarrollo en cámara húmeda	86



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

5.2.2.1. Asociación entre hongos	91
5.2.3. Cultivo en PDA.	93
5.2.3.1. Colonias de hongos y pseudohongos puros y en asociación	96
5.2.4. Cámara húmeda y PDA.	97
5.3. Prueba de patogenicidad	100
5.4. Sintomatología	100
5.5.- Propuesta de manejo Agroecológica	103
VI.- CONCLUSIONES	106
VII.- RECOMENDACIONES	111
VIII.- BIBLIOGRAFÍA	112
ANEXOS	120
Anexo N. 1. Plano del Orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca. Áreas y codificaciones	121
Anexo N. 2. Escala gráfica de la severidad de hongos y pseudohongos para orquídeas.	122
Anexo N. 3. Número de plantas por zonas de los invernaderos	123
Anexo N. 4. Género y especies de orquídeas sanas en el invernadero de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.	124
Anexo N. 5. Evaluación de severidad	125
Anexo N. 6. Resultados del desarrollo de hongos y pseudohongos en cámara húmeda.	127
Anexo N. 7. Resultados del desarrollo de hongos y pseudohongos en PDA (Papa, dextrosa y agar)	129
Anexo N. 8. Fotográfico	131
	Página



ÍNDICE DE CUADROS Y GRÁFICOS

Cuadro N. 1. Incidencias en porcentajes de plantas que presentaron síntomas distribuidos por áreas de la planta	77
Cuadro N. 2. Géneros de orquídeas e incidencia en los invernaderos y umbráculos	79
Cuadro N. 3. Severidad en plantas que presentaron síntomas distribuida por áreas de la planta	81
Cuadro N. 4. Géneros de orquídeas, severidad en número de casos por rangos de categorías en los invernaderos y umbráculos	85
Cuadro N. 5. Número de días hasta conseguir la esporulación en cámara húmeda	86
Cuadro N. 6. Géneros de hongos y pseudohongos por partes de la planta distribuidos en número de desarrollos en cámara húmeda y en porcentajes	87
Cuadro N. 7. Número de géneros de hongos y pseudohongos en asociación y desarrollos puros identificados bajo el microscopio	92
Cuadro N. 8. Géneros de hongos y pseudohongos por partes de la planta distribuidos en número y porcentaje de desarrollos en medio de cultivo PDA	93
Cuadro N. 9. Número de géneros de hongos y pseudohongos en asociación y puros desarrollados en medio de cultivo PDA e identificados microscópicamente	97
Cuadro N. 10. Resultados totales del desarrollo de hongos y pseudohongos en cámara húmeda, PDA, número de especies que coinciden en los dos sistemas de desarrollo y los valores en porcentaje de coincidencia	99



Universidad de Cuenca **Facultad de Ciencias Agropecuarias.**

Gráfico N. 1. Severidad en plantas que presentaron síntomas visibles distribuidos por áreas de la planta	82
Gráfico N. 2. Géneros de hongos y pseudohongos por partes de la planta distribuidos en número de desarrollos en cámara húmeda y en porcentajes	88
Gráfico N. 3. Porcentajes de géneros de hongos y pseudohongos de las plantas con síntomas distribuidos por áreas de la planta, obtenidos en el medio de cultivo PDA.	93
Gráfico N. 4. Totales del desarrollo de hongos y pseudohongos en cámara húmeda y PDA	100



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.



UNIVERSIDAD DE CUENCA
Fundada en 1867

Yo, Francisco Leonardo Merchán Beltrán, autor de la tesis "Evaluación de hongos y pseudohongos patógenos en el orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Magíster en Agroecología y Ambiente. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 29 de enero de 2013


Francisco Leonardo Merchán Beltrán
0101050888

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316
e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103
Cuenca - Ecuador



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.



UNIVERSIDAD DE CUENCA
Fundada en 1867

Yo, Francisco Leonardo Merchán Beltrán, autor de la tesis "Evaluación de hongos y pseudohongos patógenos en el orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 29 de enero de 2013

Francisco Leonardo Merchán Beltrán.
0101050888

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cjbbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

UNIVERSIDAD DE CUENCA



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Maestría en: Agroecología y Ambiente

Evaluación de hongos y pseudohongos patógenos en el
orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la
Universidad de Cuenca

Tesis previa a la obtención del Título de Magíster en Agroecología y
Ambiente

Autor: Francisco Leonardo Merchán Beltrán

Director: Ing. M.Sc. Franklin Santillán Santillán.

Cuenca – Ecuador

2012



I.- INTRODUCCIÓN

Las modificaciones de los ecosistemas a causa de talas, quemas, avance de la frontera agrícola, uso de agroquímicos y explotación indiscriminada, han alterado los ecosistemas, la flora y fauna y consecuentemente la destrucción, de las orquídeas, algunas en vías de extinción.

Las orquídeas son un grupo especial de plantas que se han adaptado a las diferentes condiciones climáticas de todo el mundo. La familia de las orquideaceas se encuentra a nivel mundial. Las orquídeas constituyen el 20% (4032 especies) de la riqueza florística del Ecuador y el 42% (1710 especies) de ellas son endémicas. 1455 especies poseen algún tipo de amenaza: 2% peligro crítico, 11% en peligro, y 87% vulnerables, 226 spp (13%) se encuentran fuera del Sistema Nacional de Áreas Protegidas Endara, Williams, & León-Yáñez (2010), se encuentran desde el nivel del mar hasta los 3800 m en la provincia del Azuay y en diferentes nichos que brindan condiciones especiales para las especies.

El manejo de las plantas bajo invernadero implica un cambio o reemplazo de las condiciones naturales como el sustrato, horas e intensidad de luz, temperatura, humedad, períodos de reposo, espaciamento entre plantas, presencia de diferentes microorganismos endógenos y exógenos que permiten una correcta simbiosis. Las condiciones artificiales de invernadero no son las más adecuadas para las especies, por los cambios que implica, generan desequilibrios y éstos hacen posible la presencia de plagas y enfermedades, que pueden ser devastadoras para las especies.

El diagnóstico de la incidencia y severidad fúngica patógena en el orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, permitirá conocer a nivel local y nacional, los principales patógenos fúngicos que son una amenaza para los procesos de



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

conservación ex situ de nuestra biodiversidad y de conservación de semillas en el banco germoplásmico.

Existen reportes de los principales problemas fúngicos a nivel mundial, en el Ecuador y especialmente en nuestro orquideario, no se han realizado trabajos de diagnóstico de incidencia, severidad e identificación de los agentes fúngicos patógenos. La investigación será de utilidad para evitar daños y mortalidad; además, en base a la información obtenida se podrá diseñar estrategias que permitan tomar medidas preventivas y sanitarias. La difusión de los resultados obtenidos, permitirá a técnicos y aficionados orientar las acciones para prevenir o controlar ecológicamente los daños causados por hongos y pseudohongos en las diferentes condiciones de manejo.



II.- OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivo general

Diagnosticar el estado sanitario del orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.

Objetivos específicos

Evaluar en el orquideario, la incidencia y severidad, por síntomas de él o los hongos y pseudohongos patógenos.

Determinar microscópicamente los hongos y pseudohongos patógenos en el orquideario.

Realizar una propuesta agroecológica de manejo y control para los hongos y pseudohongos patógenos.

Hipótesis

- 1.- Todos los hongos y pseudohongos patógenos que se identifiquen por observación directa, desarrollarán en cámara húmeda y en medio de cultivo PDA a excepción de hongos y pseudohongos obligados.
- 2.- Todas las orquídeas manifiestan el mismo síntoma por un mismo organismo causal.
- 3.- En todas las orquídeas existentes en el orquideario de la Facultad, la distribución de los patógenos es igual en todas las plantas.



III.- REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Las orquídeas

Las grandes colecciones se han obtenido mediante el intercambio o la donación. De la misma manera se han recuperado otras pérdidas destruidas en guerras, desastres naturales o por negligencia. El germoplasma normalmente se introduce con fines de producción, pero además se puede utilizar para restaurar un hábitat o reintroducir donde se ha perdido. Esta antigua forma de utilización es conveniente porque aprovecha materiales con buenas características, pero implica riesgos como la introducción de plagas, enfermedades y malezas; el intercambio o la donación se deben hacer a través de instituciones autorizadas y dentro de lo estipulado en la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria FAO (1997), citado por Jaramillo & Baena (2000).

La familia Orquidaceae, cuenta con las características más avanzadas desde el punto de vista evolutivo, pues exhibe notables especializaciones de polinización, de almacenamiento de agua en las estructuras llamadas pseudobulbos y tiene una particular complejidad floral, Munguía Gómez, & Olalde (2008).

3.2. Enfermedades de las orquídeas

Costa Rica cuenta con aproximadamente 1360 especies de orquídeas. Sin embargo, no existe suficiente información sobre la situación real de las enfermedades de las orquídeas en este país. Se han encontrado 13 géneros de hongos patógenos (*Botrytis cinerea*, *Capnodium citri*, *Cercospora spp.*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Glomerella cingulata*, *Phyllosticta sp.*, *Phoma sp.*, *Macrophoma sp.*, *Rhizoctonia solani*, *Sphenospora sp.*, *Uredo sp.* y *Mycoleptodiscus sp.*). Además de ellos, algunos hongos



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

patógenos no reportados en las orquídeas de Costa Rica se encontraron a: (*Guignardia* sp., *Lembosia* sp. *Fusarium* y *Cladosporium* sp.). Otros hongos como: (*Physarum* sp.) y una alga roja (*Cephaleurus virescens*). Además de los mencionados microorganismos dos Oomycetes (*Phytophthora* sp. y *Pythium* sp.), Cárdenas (2003).

De la recolección de enfermedades en orquídeas, de varios sectores del Estado de Río de Janeiro entre abril de 2006 y junio 2008. Cincuenta y tres plantas tenían sus enfermedades y agentes patógenos identificados, de los cuales 35,9% eran infectados por hongos, siendo el 17% por *Fusarium oxysporum*, 13,2% por *Colletotrichum gloeosporioides*, 1,9% por *Botrytis* sp., 1,9% por *Puccinia* sp. y 1,9% en *Phyllosticta capitalensis*. 51% de las plantas estaban infectadas por virus con infecciones simples y dobles de *Cymbidium mosaic virus* - CymMV y *Odontoglossum virus* mancha anular - ORSV. 1,9% eran infectadas por la bacteria *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* y el 3,8% por nematodos del género *Aphelenchoides*. Los nematodos *Aphelenchoides fragariae* y *A. ritzemabosi* se identificaron al infestar a orquídeas híbridas, que es el primer reporte de parasitismo de estos nematodos en las orquídeas y de *A. ritzemabosi* parasitando *Asplenium nidus* L. en Brasil. También el primer registro de la ocurrencia del virus del mosaico del Cymbidium - CymMV al infectar a Bamboo orchid *Arundina bambusifolia* Lindl. en el Estado de Río de Janeiro. Basado en la identificación de los agentes patógenos de dicha encuesta, se desarrolló un kit de diagnóstico para las principales enfermedades de orquídeas, Studt (2008).

La gran mayoría de envíos provenientes de Tailandia y de las Filipinas se reportaron positivos para uno o ambos virus; los de Taiwán tuvieron menor incidencia, y en los de Hawai y California no se encontraron resultados positivos de los virus, se detectaron muchos hongos fitopatógenos en importaciones de todos los lugares, como *Colletotrichum*, *Cercospora*, *Phyllosticta*, *Fusarium*,



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Phytophthora, *Sclerotium*, *Helminthosporium* y *Alternaria*. En pocas ocasiones también se detectó pudrición bacterial (Wall & Wiecko, 2009).

En las flores de orquídeas de los géneros: *Dendrobium* sp., *Cattleya* sp., *Cymbidium* sp., *Oncidium* sp. y *Vanda* sp., y sobre manchas circulares pequeñas, de color café en los pétalos y necrosis en los botones, con síntomas similares, Salazar (2009), el tamaño y tonalidad de las manchas varían según el género y el lugar donde se localizan en la flor. En pétalos y sépalos de *Cattleya* identificaron un complejo de hongos de los géneros: *Gloeosporium* spp., *Alternaria* spp., *Fusarium* spp. y *Colletotrichum* spp. En pétalos de *Cattleya* identificaron a *Bipolaris* spp., y en las hojas aislaron *Curvularia* spp., en pétalos de *Vanda*, aislaron *Gloeosporium* y en hojas de *Dendrobium*, *Cercospora* spp. Estévez & Mercado (2005).



3.2.1. Clasificación de los pseudohongos y hongos patógenos en orquídeas

Según Agrios (2005), la taxonomía que propone para los organismos fúngicos es la siguiente:

Reino: Chromista (Stramenopiles)

Phylum: Oomycota

Clase: Oomycetes

Orden: Peronosporales

Familia: *Pythiaceae*

Géneros: *Pythium* y *Phytophthora*

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Filamentoso ascomicetes

A. Pyrenomycetes.

Orden: Hypocreales

Género: *Gibberella*

Orden: Phyllachorales

Género: *Glomerella*, fase anamórfica, *Colletotrichum gloeosporioides*

B. Loculoascomycetes

Orden: Pleosporales

Género: *Mycosphaerella*, anamorfos puede ser *Cercospora*, *Septoria*, *Cochliobolus*, su fase anamórfica es *Bipolaris* o *Curvularia*, *Leptosphaeria* (anamorfo es *Phoma*) *Guignardia* (anamorfo es *Phyllosticta*)

D. Deuteromycetes, hongos mitospóricos (hongos imperfectos o asexual)

Etapa anamórfico

Teleomórfica cierta o probable grupo

Perithecial ascomicetes

Trichoderma,
Fusarium,
Colletotrichum

Hypocrea
Gibberella
Glomerella

Loculoascomycetes

Cercospora
Septoria
Phyllosticta
Alternaria,
Bipolaris
Curvularia

Mycosphaerella
Mycosphaerella
Guignardia
Lewia
Cochliobolus
Cochliobolus

Apothecial ascomicetes

Botrytis

Botryotinia

Basidiomycetes

Rhizoctonia,

Thanatephorus

Phylum: Basidiomycota

Orden: Ceratobasidiales

Género: *Thanatephorus*, teleomorfo de *Rhizoctonia solani*.



3.2.1.1. *Alternaria* sp.

Agente etiológico

Alternaria spp. USAID-RED (2005) y *A. alternata*, según Uchida & Aragaki (1991) y Wall & Wiecko (2009).

Alternaria alternata tiene una amplia gama de hospederos, se encuentra sobre muchas especies de plantas y otros substratos, incluyendo materiales alimenticios, suelo y textiles; es una especie cosmopolita EcuRed (2012).

Etiología

El medio de crecimiento de malta-agar (MA) a pH 6,5, la especie tiene un crecimiento relativamente rápido, de color pardo gris a negro, la colonia es de corta altura y semejante a gamuza, con una periferia blanca; al reverso de la caja petri es de color marrón oscuro a negro. In vitro, algunos aislados son estériles. El crecimiento aéreo está casi enteramente compuesto de cadenas de esporas. Los conidióforos negros son de 1 a 3 septas y con paredes lisas, rectas o flexuosas con crecimiento sympodial, su tamaño medio es de 50 x 5 micras, MYCOTA (s.f.). Los segmentos de las hifas son cortos, mayormente no ramificados y sin constricciones en su septa y 3-8 μm de ancho EPPO (1997), citado por la Secretaria General de la Comunidad Andina (2004).

Los conidios son producidos a través de uno o varios poros en la pared del conidióforo, en cadenas de 3-9 conídias, simples o ramificados, son de 60 x 15 μm ., según MYCOTA (s.f.) y de 28 x 12 μm (máximo 29 x 13 μm). EPPO (1997) citado por la Secretaria General de la Comunidad Andina (2004), las conídias son multicelulares de color marrón a amarillo-marrón, en forma de mazo, con un pico apical (MYCOTA, s.f.).



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

A. alternata es saprófito y facultativo, requiere condiciones medias de humedad. El crecimiento óptimo se da a 25 °C., el rango de temperatura de crecimiento varía entre 2 y 32 °C, con temperaturas óptimas entre 25 y 28 °C., MYCOTA (s.f.) y EcuRed (2012) y con pH de 4 a 5,4; pero este hongo puede crecer en una gama bastante amplia de pH 2,7 a 8, es capaz de desarrollarse en condiciones anóxicas (0,25% nivel de oxígeno). Las esporas contienen 86% de agua y son viables durante varios años bajo condiciones muy secas, MYCOTA (s.f.). Entre los metabolitos producidos se encuentran varios que pueden considerarse como micotoxinas Agrios (2005) y EcuRed (2012).

Alternaria alternata produce una toxina que inhibe la síntesis en el retículo endoplasmático con la enzima ceramida sintasa, probablemente pueden alterar la actividad de transducción de señal de la proteína quinasa (Agrios, 2005).

Numerosas infecciones secundarias se presentan en condiciones lluviosas y de calor. La diseminación de la enfermedad es favorecida por la lluvia y avanza rápidamente en un rango de temperatura óptima entre 25 - 30 °C y clima húmedo. Bajo estas condiciones la infección ocurre después de 5 a 6 horas de humedad y las lesiones pueden aparecer en el campo 2 días después de la infección, causando una seria epidemia Yoder & Biggs (1998), citado por la Secretaria General de la Comunidad Andina (2004). Las manchas en las hojas son generalmente de color marrón oscuro a negro, a menudo numerosos; el desarrollo en general es en anillos concéntricos (Agrios, 2005).

Síntomas

Alternaria alternata es frecuentemente mencionado en literatura fitopatológica como causante de manchas en hojas y frutos o pudrición de frutos. En casi todos los casos, este se comporta como un parásito de heridas. La penetración directa y estomatal puede ocurrir o invadir un hospedero que está fisiológicamente o patológicamente debilitado. Es común en abonos, plantas, pulpa de madera y



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

madera podrida, también se encuentra en alimentos y tejidos, así como en diferentes tipos de suelo y en cultivos de invernadero. Su distribución es universal (EcuRed, 2012).

Este hongo se muestran como pequeñas pecas y puntos en las flores de *Dendrobium*, de un color ligeramente café a café oscuro, oval o circular, algunas veces hundidas, USAID-RED (2005), cita Salazar (2009) como mancha de la hoja causada por *Alternaria* sp. en *Cattleya* en Costa Rica según, AOS (1995), Rivera (1998), Rivera y Corrales (2007).

3.2.1.2. *Botrytis* sp.

El mildiu, petal blight, moho gris, mancha de la flor o tizón de los pétalos de las flores de las orquídeas es causado por *Botrytis cinerea* según mencionan por: The Connecticut Agricultural Experiment Station (2007), Simone & Burnett (1995), USAID-RED (2005), Cárdenas (2003), Bottom (s.f.) y Light (2004).

Agente etiológico

El Ministerio de Agricultura y Ganadería (2009), identifica como *Botrytis cinerea* Pers., e.t. *Sclerotinia fuckeliana* (de Bary) Fuckel., en flores, según Studt (2008) señala a *Botrytis cinerea* Pers y *Botrytis* sp.

Botrytis cinerea, ha sido obtenido en aislamientos de: *Aerides*, *Ascocentrum*, *Brassia*, *Brassocattleya*, *Brassolaeliocattleya*, *Broughtonia*, *Calanthe*, *Cattleya*, *Cycnoches*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Doritaenopsis*, *Epidendrum*, *Laelia*, *Laeliocattleya*, *Maxillaria*, *Miltonia*, *Oncidium*, *Paphiopedilum*, *Phaius*, *Phalaenopsis*, *Potinara*, *Trichoglottis*, *Vanda* y *Vainilla*, de acuerdo a Simone & Burnett (1995).



Etiología

Botrytis, es un patógeno facultativo que sobrevive como saprófitos en la materia orgánica, como esclerocio y / o micelio latente, se ve favorecida por las condiciones de alta humedad, mala ventilación y temperaturas entre 16 y 18 °C; la propagación se produce principalmente por el viento, Gioria et al. (2003), citado por Studt (2008). Conforme avanza el desarrollo de las flores, es típica la presencia del moho gris que corresponde a la esporulación, Murguía (2007). Las temperaturas deben caer normalmente por debajo de 21°C antes que *Botrytis* se convierta en un problema (USAID-RED, 2005).

Síntomas

En las flores de orquídeas de los géneros de *Dendrobium* sp., *Cattleya* sp., *Cymbidium* sp., *Oncidium* sp. y *Vanda* sp., se presenta como manchas circulares pequeñas, manchas marrones como puntos café Salazar (2009) y Murguía (2007); se inicia como manchas circulares, rosadas o marrón según Missouri Botanical Garden (sf), que crecen hasta destruir totalmente las flores, las flores de tamaño grande tienen una mayor susceptibilidad a infecciones Studt (2008). El hongo es un problema en el tejido de flores muertas o moribundas, los brotes de las hojas son frecuentemente infectados, pero no las hojas y tallos, el saneamiento del área de cultivo es importante para evitar la diseminación, citado por Missouri Botanical Garden (sf).

3.2.1.3. *Cercospora* sp.

Los agentes etiológicos

Cercospora angraeci, *Cercospora dendrobii*, *Cercospora epipactidis*, *Cercospora peristeriae* y *Cercospora species citados por* Simone & Burnett (1995), *Cercospora odontoglossi* Prill. y Delacr., *C. angraeci*, *C. dendrobii*, *C. epipactidis*, *C. persisteriae* y *Cercospora*. spp. Bergmann & Alexander (1998), han sido



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

obtenidos en 70 géneros de orquídeas, siendo los más importantes en los géneros: *Brassavola*, *Brassia*, *Brassocattleya*, *Brassolealiocattleya*, *Catasetum*, *Cattleya*, *Cochleantes*, *Cymbidium*, *Cyrtopodium*, *Dendrobium*, *Doritis*, *Epicattleya*, *Epidendrum*, *Eria*, *Gongora*, *Huntleya*, *Ionopsis*, *Laelia*, *Lycaste*, *Maxillaria*, *Miltonia*, *Odontoglossum*, *Oncidium* *Phaphiopedium*, *Peristeria*, *Pescatorea*, *Phalaenopsis*, *Phragmipedium*, *Pleurothallis*, *Rodriguezia*, *Schomburgkia*, *Stanhopea*, *Trichopilia*, *Vanda*, *Vanilla*, y *Zygopetalum*, Simone & Burnett (1995) el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2009) identifica a los agentes causales en las hojas como: *Cercospora* spp., *Cercospora epipactidis* Massal., *Cercospora odontoglossii* Prill. y Delacr. además manifiesta a *Pseudocercospora dendrobii* (Burnett) Braun & Crous., en las hojas, como sinónimo de *Cercospora dendrobii*. Según To-Anun y otros (2011), indican además de las anteriores los siguientes géneros y especies de cercosporas *C. cyripedii* Ellis & Dearn., *C. dendrobii* H.C. Burnett, *C. odontoglossii* Prill. y Delacr. y *C. peristeriae* H.C. Burnett, que han sido excluidos y reasignados al género *Pseudocercospora* Speg. Crous & Braun (2003). *Cercospora angraeci* Feuilleaub. Y Roum, descrito a partir de orquídeas, es una especie insuficientemente conocida para tener una clara afinidad del género y cita a Crous & Braun (2003), pero en base a la descripción original de *C. habenariicola* difiere de *C. angraeci* en ser mucho más larga, ocasionalmente ramificada los conidióforos Chupp (1954). *Cercospora cephalantherae* Ondřej y Zavřel, se manifiesta como un auténtica especie de *Cercospora* s. str., se caracteriza por tener muy cortas y angostos conidióforos (10-25 × 3,5 µm) y relativamente cortos y estrechos los conidios (40-100 × 2-3.5 µm). *Cercospora habenariicola* es morfológicamente cercana a *C. epipactidis* Massal; sin embargo, esta última especie no presenta ramificaciones, los conidióforos son pequeños (10-45 x 4-6 micras) y cortos y estrechos los conidios (30-130 × 3.5-5 micras) (Chupp 1954). *Cercospora eulophiae* M.S. Patil es otro hongo cercosporoide de las orquídeas (*Eulophia* sp.), Pero esta especie fue descrita por tener menor flexuosa los conidióforos y los conidios pigmentados de (75-250 × 3.2-4 µm). Stromata intraepidérmica, bien desarrolladas, subglobosas, marrón a negro



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

marrón. Conidióforos 50-285 × 7.3-7.5 micras, de vez en cuando hasta a 952 micras de largo, 2-9 septadas, numerosas, simples, rectas, pálida suave, amarillo a marrón pálido, raramente ramificado, subcilíndricos, geniculado a sinuosa. (To-Anun, Hidayat, & Meeboon, 2011).

Etiología

Aunque la incidencia de *Cercospora* es común, no tiene mayor importancia en este cultivo ornamental Gioria et al. (2003), es favorecido en las estaciones de alta humedad, o por la lluvia y es frecuente en las plantas de semillero o en macetas colectivas en éstas las plantas son colocadas muy próximas, citado por Studt (2008).

Síntomas

Aparecen como zonas irregulares y de color amarillento en la parte inferior de las hojas, que progresan a deprimido marrón-púrpura pálido con el centro marrón y con zonas de coloración negro (fructificación del hongo). En el haz con una zona clorótica, que finalmente se convierte necrótico Gioria et al. (2003) citado por Studt (2008).

Bottom (s.f.), Light (2004), Murguía (2007), y según Missouri Botanical Garden (sf), el síntoma comienza como manchas amarillas en el envés de las hojas que se agrandan y eventualmente se manifiesta en toda la hoja. Las manchas viejas son de color púrpura-negro y las hojas caen de la planta prematuramente. Una vez que una hoja se infecta la condición de daño no se puede revertir.

Cercospora, se manifiesta como manchas de 15-30 mm diámetro, circular o subcircular, inicialmente de un color pálido verdoso a ocre, marrón y después se manifiesta un color marrón oscuro y finalmente con un marrón grisáceo en el centro, rodeada por un margen oscuro o halo marrón. (To-Anun, Hidayat, & Meeboon, 2011).



3.2.1.4. *Bipolaris* spp.

Agente etiológico

Bipolaris setariae, *B. urochloae*, *B. sorokiniana*, producen esporas que son transportadas en el aire y se ven favorecidas por temperaturas entre 24-28 ° C. Uchida & Aragaki (1991), las esporas se reproducen en las hierbas y otras plantas dentro de los invernaderos y alrededor de la producción de orquídeas. (USAID-RED, 2005)

Síntomas

En *Dendrobium*, son pequeñas manchas de color marrón, negro o café oscuro, circulares y algunas veces hundidas, con frecuencia menor a 1 mm de diámetro, deterioran las flores de *Dendrobium* y su valor para la comercialización. Las manchas representan la infección y la muerte de unas pocas células del huésped en el punto de penetración del hongo, Uchida & Aragaki (1991) y USAID-RED (2005)

3.2.1.5. *Colletotrichum* sp.

Etiología

Hongo de distribución en todo el mundo, pero es más frecuente en los climas tropicales y subtropicales. Su desarrollo se ve favorecido por la alta humedad, días nublados periódicos y temperaturas entre 10 y 20 °C. Su difusión se produce básicamente con la ayuda de agua, las lesiones ocasionadas por daños mecánicos o por el frío, sol, etc., son lugares donde se producen las infecciones, el exceso de nitrógeno también favorece el ataque del patógeno. (Studt, 2008).



Agente etiológico

La antracnosis en las hojas es causado por *Gloeosporium* spp., citados por The Connecticut Agricultural Experiment Station (2007), Simone & Burnett (1995), y como *Gloeosporium* spp. y *Colletotrichum* spp., por The Connecticut Agricultural Experiment Station (2007).

Colletotrichum gloeosporioides Penz., causante de la pudrición de la raíz y tizón de la hoja en *Laeliocattleya* citado en 1983 e identificado como *Glomerella cingulata* aislado de *Maxillaria neglecta*, *Catasetum maculatum*, *Sobralia* sp. y *Encyclia fragrans* en 1991. Citados por la University of Alberta Microfungus Collection & Herbarium UAMH (2012).

Colletotrichum gloeosporioides Penz. Se han identificado en los siguientes géneros de orquídeas: *Aerides*, *Aliceara*, *Angraecum*, *Ansellia*, *Ascocenda*, *Ascocentrum*, *Brassavola*, *Brassia*, *Brassocattleya*, *Brassolaelio*, *Cattleya*, *Bulbophyllum*, *Catasetum*, *Cattleya*, *Cattleytonia*, *Cochleanthes*, *Cymbidium*, *Cyrtopodium*, *Dendrobium*, *Doritis*, *Epicattleya*, *Epidendrum*, *Eria*, *Góngora*, *Gramatophyllum*, *Huntleya*, *Ionopsis*, *Laelia*, *Laeliocattleya*, *Lycaste*, *Maxillaria*, *Miltonia*, *Neomoorea*, *Odontocidium*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Paphiopedilum*, *Peristeria*, *Pescatorea*, *Phaiocalanthe*, *Phaius*, *Phalaenopsis*, *Phragmipedium*, *Pleurothallis*, *Renades*, *Rhynchostylis*, *Rodriguezia*, *Schomboepidendrum*, *Schomburgkia*, *Sophrolaeliocattleya*, *Spathoglottis*, *Stanhopea*, *Trichopilia*, *Vanda*, *Vandopsis*, *Vainilla*, *Vulstekeara* y *Zygopetalum Wilsonara*. (Simone & Burnett, 1995).

Morfología

El largo promedio del tamaño de las setas es de 30 μm . Las dimensiones de los conidios en sustrato natural oscilaron entre 16-24 μm x 4-6 μm . Los conidios de acérvulos son hialinos, oblongos o cilíndricos, unicelulares, de extremos redondeados. Los conidios depositados en cámaras húmedas forman una



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

proporción variable de apresorios coloreados, globosos a irregulares. El tamaño de los apresorios es de 8,25(12,7)13,50 μm x 8(7,5)11 μm . Los conidios sus apresorios del segundo tipo son algo menores y las dimensiones son (8-10 μm x 6-8,5 μm). En sustrato artificial, el largo de los conidios osciló entre 16,30(17,41)18,52 μm x 4,62(4,82)5,02 μm , Cabrera, Galmarini, & Flachsland (2003).

Las variaciones sectoriales presentes en las colonias desarrolladas en medio de cultivo y la presencia o no de setas de acuerdo con la información de Arx (1970), referida a los cambios que este tipo de hongos manifiesta en cultivos artificiales, nos inducen a considerar que se trata de cepas o formas especiales del mismo agente. En cultivos de más de 25 días en medio agarizado, se observó la formación de cuerpos oscuros, globosos a o piriformes, ostiolados, esparcidos en el sustrato y bajo el micelio. En las preparaciones microscópicas se revelaron peritecios castaños, de 85-95 x 130-200 μm . También se observaron los ascos hialinos con 8 ascosporas elipsoidales, hialinas, unicelulares, de 17 x 4,5 μm en promedio. (Cabrera, Galmarini, & Flachsland, 2003).

Colletotrichum nymphaeae (Pass.), causa una enfermedad de *Nymphaea*, cuya gravedad depende de las condiciones humedad del medio (Van der Aa, 1978; Boerema y Van Kesteren, 1979). Estudios recientes han demostrado que el hongo suele estar presente como endófito en etapas muy tempranas del desarrollo de la planta. En función de las influencias ambientales, el hábito endofítico puede cambiar a un modo parasitario van der Aa, Noordeloos, & De Gruyter (1990).

Los cultivos puros se obtuvieron de puntas de hifas subcultivados en placas de PDA. Las colonias generadas tenían micelio aéreo blanco y naranja, por las masas conidiales. El color de la colonia inversa varía entre incoloro y naranja pálido. Las observaciones microscópicas de los conidios identificados como cilíndrica, recta, y redondeadas en ambos extremos. Además, los conidios fueron de aproximadamente 15,0 a 18,0 micras de largo y 5,0 a 6,5 micras de diámetro.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Estas características morfológicas observadas sugieren que estos aislamientos poseían las mismas características como se ha descrito para *Colletotrichum karstii*, El análisis de ADN de las secuencias representativas obtenidas (GenBank No. de acceso JQ277352) sugirió que el patógeno aislado es *C. karstii*. Este tipo de hongo no se había documentado en los EE.UU., aunque se ha reportado en China y Tailandia. (Jadrane, Kornievsky, Desjardin, & He, 2012).

De manchas foliares se realizaron los cultivos sobre agar-papa-glucosa, produjeron abundantes colonias de micelio aéreo gris y conidios unicelulares, oblongos, hialinos, con extremos redondeados de 16,0 a 24,0 μm x 4,0 a 6,0 μm . Las setas fueron rectas y oscuras. Sobre la base de características morfológicas, el hongo se identificó como *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Sacc. Se manifestó el teleomorfo *Glomerella cingulata*. Se determinó la patogenicidad en inoculaciones con heridas y se observaron síntomas una semana después de la inoculación. Se reaisló a *C. gloeosporioides* como patógeno. Se detectaron con frecuencia plantas con lesiones necróticas y manchas foliares agresivamente destructoras. (Cabrera, Galmarini, & Flachsland, 2003).

Según Damm, y otros (2012), recientemente descrito el hongo *Colletotrichum boninense* en la literatura se manifiesta como un patógeno de la antracnosis o endófito de una amplia gama de plantas de todo el mundo. Es especialmente importante en los miembros de *Amaryllidaceae*, *Orchidaceae*, *Proteaceae* y *Solanaceae*. Los informes de la literatura y los estudios preliminares, utilizando sus datos de secuencia de ADN, indica que *C. boninense* representa un complejo de especies de 86 cepas identificadas previamente como *C. boninense* y otras cepas relacionadas que determinó 18 clados. Estos subtipos se reconocen como especies separadas, incluyendo *C. boninense* s. str., *C. hippeastri*, *C. karstii* y 12 especies no descritas previamente, *C. annellatum*, *C. beeveri*, *C. brassicicola*, *C. brasiliense*, *C. colombiense*, *C. constrictum*, *C. cymbidiicola*, *C. dacrycarpi*, *C. novae zelandiae*, *C. oncidii*, *C. parsonsiae* y *C. torulosum*. Siete de las nuevas



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

especies sólo se conocen en Nueva Zelanda. La nueva combinación entre *C. phyllanthi* y *C. dracaenae* Petch el nombre fue sustituido por *C. petchii*. Típico del complejo de las especies *C. boninense* son las células conidiógenas con engrosamiento periclinal bastante prominente que también a veces se extienden para formar un nuevo locus conidiógenas o anillación, así como conidios que tiene una cicatriz basal prominente. Muchas de las especies de *C. boninense* tienen complejos teleomorfos.

Colletotrichum boninense fue descrita por primera vez en *Crinum asiaticum* var. *sinicum* (Amaryllidaceae), por Moriwaki et al. (2003). Según estos autores, la especie fue asociada con una variedad de plantas huéspedes en el Japón, incluyendo a *Cattleya* sp., *Cymbidium* sp. y *Dendrobium kingianum* (Orchidaceae), se ha identificado como un patógeno causante de la antracnosis de fruta y de la hoja, así como un endófito de una gama de plantas huésped en todo el mundo, sobre todo pertenecientes a Amaryllidaceae, Orchidaceae, Proteaceae y Solanaceae, estudiados y descritos por Lubbe et al. (2004), Protea Lubbe et al. (2006), Farr et al. (2006), Johnston y Jones (1997) y Johnston et al. (2005), además *C. boninense* es igual a *C. gloeosporioides* grupos E-I en Johnston y Jones (1997), (Tozze et al. 2009, 2010), (Yang et al. 2009). Lee et al. (2005a, b), Nguyen et al. (2009), (Silva-Rojas y Ávila-Quezada 2011). Lu et al. (2004), Pileggi et al. (2009), Joshee et al. (2009), en Colombia Afanador-Kafuri et al. (2003), Vega et al. (2010) y según Damm, y otros (2012)

Yang et al. (2011) informaron que *C. boninense* obtenido de pseudobulbos de *Pleione* y *Oncidium flexuosum* (Orchidaceae), describió una especie relacionada, *C. karstii* que se reportan en varias orquídeas en China. Los conidios de *C. boninense* s. lat. son similares a las de *C. gloeosporioides*, que sólo difieren ligeramente en relación longitud / anchura y en presencia de una cicatriz prominente en la base a las características de la conidio Moriwaki et al. (2003). Los aislamientos de *C. boninense* han sido a menudo identificados como *C.*



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

gloeosporioides; en el pasado Moriwaki et al. (2002), 2003, Johnston et al. (2005). Von Arx (1957) enumeran aproximadamente 600 sinónimos de *C. gloeosporioides* y nueve especies formas, y es probable que algunos de estos se refieren a *C. boninense*.

Colletotrichum incluye especies con estilos de vida endofítica, epífitas, saprófitas y fitopatógenos Kumar y Hyde (2004), Photita et al, (2001)a, b, (2003), (2004), Liu et al, (2007), Prihastuti et al. (2009), así como patógenos en humanos, Cano et al. (2004). El género tiene importancia a nivel mundial. *Colletotrichum* se considera como uno de los géneros más estudiados de hongos fitopatógenos.

La identificación de las especies de *Colletotrichum* es complicada ya que las especies tienen pocas diferencias en los caracteres morfológicos y porque la etapa teleomórfica rara vez se forma, Hyde et al. (2009). Algunos taxones tienen extensos hospederos y variaciones patológicas y con frecuencia son morfológicamente variables en medio de cultivo (Simmonds, 1965; Bailey y Jeger, 1992; TeBeest et al, 1997; Freeman et al, 2000; Latunde-Dada, 2001; Du et al, 2005; Thaug, 2008). TeBeest et al. (1997) concluyeron que la incertidumbre taxonómica ha hecho una identificación imprecisa difícil y complicados esfuerzos para comprender las relaciones de acogida, diagnosticar enfermedades con precisión, desarrollar eficaces estrategias de control y establecer programas de cuarentena.

Según Hyde, y otros (2009) tradicionalmente, las especies de *Colletotrichum* se han identificado y delimitado por sus características morfológicas, varias características han sido utilizadas por los taxónomos, como el tamaño y forma de conidios y apresorios, la presencia o ausencia de setas, esclerocios, acérvulos y estado teleomorfo y, además de las propiedades en medios de cultivo como color de las colonias, tasa de crecimiento y textura (Simmonds, 1965; Smith and Black, 1990; Sutton, 1992; TeBeest et al., 1997; Photita et al., 2005; Than et al., 2008; Thaug, 2008). Estos criterios por sí solos no son siempre adecuados para



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

diferenciación fiable entre especies de *Colletotrichum* debido a la variación en la morfología y fenotipo entre especies en el medio ambiente.

Para superar las deficiencias de estos esquemas tradicionales, las técnicas moleculares de ADN se han utilizado para caracterizar e identificar taxones dentro de *Colletotrichum*. El uso combinado de la herramienta de diagnóstico molecular junto con las técnicas tradicionales morfológicas y con un apropiado y buen enfoque para el estudio del complejo de especies de *Colletotrichum* y la identificación precisa de las especies de *Colletotrichum* puede ser conseguida combinando el análisis de múltiples genes y caracteres morfológicos. (Hyde, y otros, 2009).

Síntomas

El patógeno ataca a todas las partes de la planta, sin embargo, por lo general los síntomas son más frecuentes en las hojas, se inicia como varios puntos y luego como manchas foliares por lo general comienzan como zonas amarillas en el envés de la hoja, pero a medida que se oscurecen las manchas son visibles en ambos lados. Esto comienza como un hundido, de coloración marrón, muy definido. Los cuerpos fructíferos se desarrollan en grandes cantidades en el tejido muerto Missouri Botanical Garden (sf). Los puntos en las hojas que se están expandiendo son circulares a ovales, café oscuro y muchas veces pueden estar rodeados por una área clorótica ancha. Las pudriciones de brotes y yemas pueden ser similares a las que causa *Botrytis*. Se desarrollan pudriciones ovaladas, oscuras en los tallos florales. Estas pudriciones se expanden, ocasionando que las yemas se pudran y se caigan. El clima frío favorece la enfermedad.

Las plantas jóvenes son bastantes susceptibles a este patógeno. Este hongo infecta las hojas, vainas, tallos y puede matar la planta. En nuevos brotes causa pudriciones negras que destruyen las hojas inmaduras y las puntas de nuevos



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

tallos, llevan a un amarillamiento de las hojas y su pérdida. El hongo también causa pudriciones de los tallos en las vainas. (USAID-RED, 2005).

Las hojas carnosas pueden presentar daños tanto en el limbo foliar como en la base y el ápice, o como lesiones extensivas que se originan en los márgenes, llegando a cubrir toda la superficie o causando canchales en el pseudobulbo. (Cabrera, Galmarini, & Flachslund, 2003).

La necrosis en hojas generalmente comienza como "motas" o áreas de color pardo uniforme, sin margen marcado, y al envejecer se bordean de una zona clorótica. Este síntoma se observa tanto en el haz como en el envés de las hojas. Otras veces, las hojas aparecen afectadas longitudinalmente sobre la nervadura central y alrededor de ella.

Cuando las lesiones envejecen, el centro de las lesiones se torna grisáceo y seco sobre las hojas carnosas, y fructificaciones negruzcas, subepidérmicas, de apariencia globosa y errumpentes se forman en la zona necrosada. En algunos casos, las lesiones oscuras se presentan con halos de tonalidad parda rojiza. (Cabrera, Galmarini, & Flachslund, 2003).

Según el reporte de Missouri Botanical Garden (sf), en las flores desarrollan puntos negros pequeños en los sépalos y los pétalos de las flores viejas o debilitadas, estos puntos se unen para cubrir la mayor parte o toda la flor.

En flores de *Phalaenopsis amabilis* y *P. aphrodite.*, en los pétalos blancos mostraron como lesiones donde el tejido necrótico está rodeado por un anillo de tejido verde. Los tejidos de halo verde alrededor del tejido necrótico contienen cloroplastos funcionales. (Jadrane, Kornievsky, Desjardin, & He, 2012).

Los síntomas de la enfermedad en las diversas especies estudiadas se manifestaron como lesiones oscuras, que variaron solo en el tamaño y la tonalidad, según el género y el lugar donde se localizaron. En los pseudobulbos se



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

observaron tejidos oscurecidos que abarcaban grandes sectores del órgano, o lo invaden por completo, ennegreciéndolo completamente. Al llegar a este estado, se los observa contraídos, mustios y secos. (Cabrera, Galmarini, & Flachslan, 2003).

En algunos casos de infecciones severas, se pudieron ver lesiones oscuras extensivas en las raíces. La raíz principal aparece con la mitad del tejido vascular necrosado longitudinalmente y con aspecto parduzco. Las raíces secundarias se presentan necrosadas, pardas y la corteza se desprende con facilidad. (Cabrera, Galmarini, & Flachslan, 2003)

En trabajos de aislamientos de hongos micorrícicos de raíces de orquídeas que fomentan la germinación de las semillas, se identificaron a *Colletotrichum acutatum* en raíces de *Trigonidium riopalenquense* en 1991. (University of Alberta Microfungus Collection & Herbarium (UAMH), 2012).

3.2.1.6. *Curvularia* spp.

Agente etiológico

En orquídeas manifiestan que han encontrado a: *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn., citado por el Ministry of Agriculture and Agro-Based Industry Malaysia (2004).

En el departamento de Protección Vegetal de la Universidad de Puerto Rico, de hojas de *Cattleya*, aislaron este hongo e identificaron como *Curvularia* spp. Estévez & Mercado (2005). Mancha causada por *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn en *Cattleya*. (Salazar, 2009).

Como especies hospederas se mencionan a: *Oncidium* sp. y *Phalaenopsis amabilis*, (Orchidaceae) además se encuentran en: *Ananas comosus*, *Axonopus affinis*, *Boehmeria nivea*, *Elaeis guineensis*, *Oryza sativa*, *Piper betle*, *Saccharum officinarum*, *Sorghum vulgare*, *Syzyguim aromaticum*, *Theobroma cacao*, *Thuja*



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

orientalis, *Zea mays* y *Zoysia matrella* según (Singh KG, 1980) citado por Ministry of Agriculture and Agro-Based Industry Malaysia (2004).

Etiología

Los conidióforos son de color marrón, frecuentemente simples, con esporas apicales en los nuevos puntos de crecimiento sympodial (Barnett HL, BB Hunter, 1972). Los conidios poseen paredes lisas y predominantemente con 3 septas, los conidios son curvos en algunas células conidiales y de color marrón oscuro y mide de 18-32 m x 8.16. Los estromas muy rara vez se forman en medio de cultivo y las colonias en PDA con zonas no marcadas según (Ellis, 1971) citado por Ministry of Agriculture and Agro-Based Industry Malaysia (2004). En cultivo in vitro se desarrollaron colonias que alcanzaron 5 cm de diámetro, a los ocho días después son de aspecto afieltrado y color gris oscuro, con el revés de la placa de color negro; las hifas del patógeno son oscuras, tabicadas y ramificadas. Los conidióforos (hifas fértiles que producen esporas asexuales o “conidios”) son también oscuros, tabicados, de crecimiento simpodial escaso, conidios curvos, de forma característica de medialuna. La célula central de estos conidios es más grande e irregular, de color muy oscuro, mientras las otras células son de coloración más clara. (Cabrera & Meyer, 2010).

Síntomas

En *Brassolaeliocattleya*, fueron manchas foliares castañas, extensivas, abarcando hasta el 70% de la hoja. El citoplasma de los tejidos estaba oxidado y se observaban deprimidos, más acentuados en el haz foliar. Además, se presenta clorosis en la mitad superior de las hojas afectadas, con pequeñas y numerosas puntuaciones, las plantas se deteriora rápidamente y ocasiona un severo manchado foliar y destrucción de órganos afectados según Cabrera & Meyer (2010).



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

“Curvularia es un hongo patógeno conocido en gramíneas, con los cambios en la ecología, que hace el hombre, los efectos se ven en otras plantas. Quizás antes pasaban desapercibidos, pero ahora son más visibles, si las condiciones del ambiente son de mucha humedad, estos hongos se vuelven más agresivos. (Cabrera & Meyer, 2010).

3.2.1.7. *Fusarium* sp.

Conocido como: *Fusarium* o pudrición de las raíces y pseudobulbos.

Agente etiológico

Fusarium oxysporum y *Fusarium oxysporum*, f.sp. *cattleyae*. Simone & Burnett (1995). *Fusarium moniliforme* Sheldon., obtenidos en aislamientos en *Dendrobium phalaenopsis* como híbridos. *Fusarium solani*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum* y *F. subglutinans* fueron aisladas de raíces enfermas de los géneros de orquídeas: *Coelogyne*, *Stanhopea* y *Cymbidium* y evaluada la patogenicidad del hongo en *Cymbidium*. Los cuatro hongos se asocian con un aumento de la necrosis radical de las raíces enfermas. (Benyon, Summerell, & Burgess, 1996.) y (Simone & Burnett, 1995).

Tres especies de *Fusarium*: *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. proliferatum*, fueron aisladas de raíz y pudrición del tallo de *Dendrobium*. *Fusarium oxysporum* fue la especie más frecuente, seguida de *F. solani* y *F. proliferatum*. Las tres especies de *Fusarium* se asocian con la pudrición de la raíz del *Cymbidium* (Benyon et al., 1996), en (*Phalaenopsis* sp.) (Kim et al., 2002) y la podredumbre seca de *Cymbidium* (Lee et al., 2002), mencionados por Latiffah, Nur Hayati, & Baharuddin (2008).

Hospedantes

Como plantas hospederas están: *Aerides*, *Ascocenda*, *Brassavola*, *Brassocattleya*, *Brassolaeliocattleya*, *Bulbophyllum*, *Catasetum*, *Cattleya*, *Cycnoches*, *Cymbidium*,

Tema: Evaluación de hongos y pseudohongos patógenos en el orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca

Autor: Francisco Merchán Beltrán



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Dendrobium, *Epicattleya*, *Epidendrum*, *Eria*, *Gramatophyllum*, *Lealia*, *Laeliocattleya*, *Lycaste*, *Oncidium*, *Phalaenopsis*, *Potinara*, *Sophrrolaeliocattleya* y *Vanda*, distribuidas en todos los Estados Unidos Simone & Burnett (1995).

Etiología

El hongo se ve favorecido por temperaturas que varían de 25 a 30 °C., es un patógeno vascular que infecta a las plantas a través de las raíces o rizomas, con lesiones que se produce principalmente durante la división de las plantas para propagación vegetativa. Produce clamidosporas, que son esporas en reposo o de supervivencia. (Studt, 2008).

Las hojas son infectadas cuando son jóvenes y la severidad de la enfermedad depende en la edad del brote y los niveles de humedad. (USAID-RED, 2005).

Síntomas

En los tallos se presentan por lo general, como una podredumbre seca; en las raíces, rizomas y llegar a través de la pseudobulbos al resto de la planta, sufre un largo proceso de decadencia, que culmina con la muerte después de un año o más. A menudo, esta enfermedad puede estar asociada con presencia de nematodos, que hieren a las raíces y facilitan la colonización (Bergmann & Alexander, 1998), citados por Studt (2008), en los rizomas se pueden encontrar círculos o bandas de color púrpura.

Los síntomas iniciales son pequeños puntos de color marrón en las hojas, crecen hasta convertirla a la hoja pálida y frágil (Tizón). En casos severos las hojas se secan, lo cual es inusual. Según Fast (1980), Las manchas en hojas maduras son pequeñas, oscuras y húmedas USAID-RED (2005). Las hojas, especialmente en el género *Vanda*, que se vuelven amarillas, de una en una, hasta que no queda ninguna hoja y la planta muere Light (2004). Este hongo invade las raíces y los sitios de corte en los rizomas cuando las plantas se han dividido. Las plantas



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

tienen hojas amarillas, delgadas y arrugadas y decaerá en pocos meses. Pudrición de raíces y con la presencia de una banda de color púrpura en el pseudobulbo Missouri Botanical Garden (sf). En las raíces fueron decoloración oscura que indica la descomposición de los tejidos y en los brotes de la planta infectada mostró decoloración amarillenta con apariencia a empapados en agua y muy friable con los síntomas de la enfermedad Latiffah, Nur Hayati, & Baharuddin (2008). El mismo hongo ha sido reportado en los Estados Unidos causando "damping-off" en plantaciones de flores de *Cymbidium* y como manchas en *Cattleya* Studt (2008). Causa puntos en las flores, las manchas son ovaladas de café oscuro a café-negruzco. Las vainas inmaduras son muy susceptibles, las pudriciones oscuras son comunes cuando las plantas son cultivadas en ambientes húmedos. Los brotes jóvenes pueden ser completamente podridos si la infección ocurre cuando los brotes emergen. Si no se destruyen completamente, las hojas jóvenes y la punta de los tallos se ennegrecen cuando las otras hojas están verdes. Estos brotes producen tallos cortos y no producen flores cuando maduran. (USAID-RED, 2005).

Los hongos: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, en *Dendrobiums* y *Vandas* que crecen en macetas que presenta anegamiento de agua por el sustrato, son susceptibles a una lenta e inexorable pudrición de las raíces y tallos bajos de la planta. Los pseudobulbos se vuelven esponjosos y descoloridos. Las plantas pueden ser recuperadas si la infección se detecta a tiempo. Pseudobulbos no infectados de *Dendrobiums* pueden servir para formar nuevas plantas. Si una *Vanda* tiene muchas raíces aéreas por encima de la parte enferma, cortar por encima de la línea de la infección y sembrar en un nuevo medio fresco y quemar el material infectado. (Light, 2004).



3.2.1.8. *Phyllosticta* sp.

Agente etiológico

Phyllosticta capitalensis P. Henn. – Hedwigia, *Phyllosticta phalenopsis* Marchal & Verplancke, *Phyllosticta phalenopsis* Marchal & Verplancke var. *Vanillae*, *Phyllosticta cymbidii* Sawada, *Phyllostictina pyriformis* Cash & Watson según van der Aa (1973). *Phyllosticta capitalensis* P. Henn. van der Aa (1973), Bottom (s.f.), Light (2004) y Simone & Burnett (1995). Informan como planta hospedera alrededor de 74 géneros de orquídeas que son atacados por este hongo, entre ellas: *Aerides*, *Bifrenaria*, *Brassavola*, *Brassia*, *Brassocattleya*, *Brassolealiocattleya*, *Catasetum*, *Cattleya*, *Chondrorhyncha*, *Cochleantes*, *Cymbidium*, *Cyrtopodium*, *Cyrtochis*, *Dendrobium*, *Doritis*, *Encyclia*, *Epicattleya*, *Epidendrum*, *Gongora*, *Huntleya*, *Laelia*, *Masdevallia*, *Maxillaria*, *Miltonia*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Phaphiopedium*, *Pescatorea*, *Phalaenopsis*, *Pleurotallis*, *Schomburgkia*, *Scuticaria*, *Stanhopea*, *Stelis*, *Trichopilia*, *Vanda*, *Vanilla*, *Xylobium* y *Zygopetalum* Simone & Burnett (1995).

Phyllosticta bifrenariae ha sido recientemente descrita en hoja y bulbo en *Bifrenaria harrisoniae* (Orchidaceae) es morfológicamente distinta de *P. capitalensis*, que fue descrito originalmente de *Stanhopea* en Brasil. Estos resultados sugieren que los endófitos, no patógenos aislados, que ocurren en un amplio rango de hospederos, sería más correcto referirse como *P. capitalensis*. Sin embargo, más genes deben ser analizados para resolver completamente la variación morfológica, observado dentro de este clado, Glienke, y otros (2011).

Etiología

Los picnidios son de color negro, solitario, o dispuestos en grupos de hasta 6, de base ovoide, con el cuello alargado y ápice redondeado; la pared de los picnidios son en varias capas, la externa de color marrón oscuro y angulares. Ostiolo único y central. Conidióforos reducidos a células conidiógenas, subcilíndricas a



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

ampulliformes, hialinas, lisas, 7-10 x 4-5 micras. Los conidios miden entre (10 -) 11-13 (-16) x (7 -) 8-9 micras; son solitarios, hialinos, aseptados, delgados con una gutula grande central, elipsoide a ovoide, estrechándose hacia un margen y trunca en la base, 4.3 μ m de ancho, está cubierto por una gruesa vaina mucilaginosa, 3-6 micras de espesor, y que lleva un apéndice apical hialino y mucoide, de 6-20 x 1-1.5 μ m. Características de cultivo: después de 14 días a 25 °C en la oscuridad en la OA, las colonias se presentan aplanadas y extendidas, de color gris oliváceo, con un moderado micelio aéreo.

Aunque el aislado ahora descrito como *P. bifrenariae*, fue considerado originalmente para ser representativo de *P. capitalensis*, es ecológicamente distintos en ser un patógeno en *Bifrenaria harrisoniae* (Orchidaceae) (Silva et al 2008), y también es filogenéticamente diferente. Morfológicamente *P. capitalensis* tiene conidios de (10 -) 11-12 (-14) x (5 -) 6-7 micras, se distingue por tener menor tamaño los conidios de *P. bifrenariae* (10-16 x 7-9 μ m). *Phyllosticta aplectri*, que se produce en *Aplectrum hyemale* (Orchidaceae, EE.UU.), tiene menor tamaño, los conidios son de 5-8 x 4-6 micras van der Aa (1973) y Glienke, y otros (2011).

Características del cultivo: las colonias crecen lentamente en agar, harina de avena y harina de maíz a 24 °C, llegando a unos 5 cm de diámetro en 20 días, al principio de color verdoso, pronto se vuelve negro, con un margen lobulado. Micelio sumergido de color marrón oscuro, muy denso, pero sin formar una costra estromática. Este hongo el micelio aéreo generalmente no se formó, se obtuvo de la planta hospedante *Stanhopea* y de otros géneros, el principal material examinado fue sobre *Cymbidium* van der Aa (1973).

Es más común en los climas cálidos, pero se puede encontrar en todo el mundo en diferentes tipos de orquídeas, esta enfermedad es también conocida como *Guignardia*, los nombres se aplican a dos diferentes etapas sexuales del mismo hongo. Los dos tipos de esporas de este hongo germinan en presencia de



Universidad de Cuenca **Facultad de Ciencias Agropecuarias.**

humedad, los conidios y ascosporas. Los conidios rápidamente pueden pasar de plantas enfermas a las sanas por salpicaduras de lluvia, aspersores o riego. Si se posan sobre una hoja húmeda, las ascosporas germinan e inician la infección al huésped orquídea, y comienza un nuevo ciclo. Los primeros síntomas de una infección de *Phyllosticta* en orquídeas Vandaceous aparecen como pequeñas manchas alargadas de color violeta o negro a lo largo de las nervaduras de las hojas. Estas lesiones crecen gradualmente de tamaño, aparecen como largas, negruzcas, con forma de estrías de diamante, y finalmente toman la apariencia característica de mancha ocular con el perímetro negro, que rodea una área de tono gris de tejido muerto, con cuerpos fructíferos de color negro en el centro. A medida que la infección progresa, las manchas se unen para cubrir la hoja. La hoja puede llegar a morir y caer.

En Dendrobiums, el hongo se manifiesta como manchas foliares, comenzando como pequeñas manchas circulares de color amarillo que poco a poco se hacen negra. A medida que el hongo madura, las hojas amarillas, muestran un patrón de tela de araña negro, se vuelven más susceptibles a la pudrición marrón y puede morir y caer. Puede tomar de tres a seis semanas para aparecer los síntomas, como pequeñas manchas en las hojas infectadas, y varias semanas más en manifestarse como lesiones fácilmente visibles. Los niveles más altos de luz y clima seco inhiben el crecimiento y la diseminación del hongo. (American Orchid Society. Jones, 2004).

Síntomas

Phyllosticta capitalensis P. Henn, produce puntos circulares amarillos en las hojas. A medida que la hoja envejece, los puntos amarillos se vuelven marrón y el crecimiento del hongo se manifiesta con manchas circulares u ovals. Cuando los niveles de la enfermedad son altos, las flores también son atacadas. USAID-RED (2005), en plantas silvestres de orquídeas *Bifrenaria harrisoniae*, se presenta



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

como manchas necróticas en la superficie de las hojas y de pseudobulbos. (Silva, Pereira, Braga, & Lelis, 2008).

3.2.1.9. *Phoma* sp.

Agente etiológico

Según Ordoñez (2012), *Phoma* ha sido reportado como patógeno en otras plantas y no manifiesta síntomas en plantas inoculadas.

El hongo *Phoma* sp., a partir de crecimientos obtenidos en los medios Malta agar y Avena agar, permitieron evidenciar la formación de picnidios oscuros, ostiolados, de forma ovalada, con dimensiones de 25-280 x 25-277 micras, en su interior presentaron abundantes conídias o picnidiosporas de 1-5 x 1-6 micras, sin septas o con una septa. El micelio es hialino y ramificado. Estas características coinciden con las mencionadas por Echandi (1957) para *P. costarricensis*. (Vidal, 1977).

Según van der Aa (1990). A principios de la década de 1960, Boerema y compañeros de trabajo comenzaron un extenso estudio de la taxonomía de *Phoma*, concentrándose en las especies fitopatógenas.

La distinción de *Phoma* se basa principalmente en la disposición acropleurogenous de las células conidiógenas sobre los conidióforos elongados y no elongados por la presencia de setas en el conidiomas. Las identificaciones de las especies de *Phoma* en la planta hospedera solo rara vez son confiables, la identificación sólo puede ser provisional a menos que los caracteres puedan ser evaluados in vitro.

Alrededor de 200 taxones *Phoma* se han definido y reconocido durante los estudios en Wageningen. Éstos se pueden dividir en dos grandes grupos: (i) los hongos, generalmente saprófitos plurívoras o parasitarias débilmente oportunista y (ii) agentes patógenos específicos de las plantas cultivadas.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Dentro de *Phoma*, un número de secciones se distinguen y forman la base para la disposición de los taxones. Estos incluyen:

- *Phoma* Sacc. secta. *Phoma*. *Phoma herbarum* Westend. Picnidios simple o complejo, de paredes delgadas, glabras. Los conidios siempre unicelulares in vitro e in vivo. Las clamidosporas, si están presentes, son unicelulares. Teleomorfo desconocido.

- *Phoma* Sacc. secta. *Phyllostictoides* (Zherbele) Boerema. com. noviembre = *Ascochyta* Lib. secta. *Phyllostictoides*. Tipo: *Ascochyta althaeina* Sacc. y Bizz. = *Phoma exigua* Desm. var. *exigua*. Picnidios simples o complejos, de paredes delgadas y glabras. Los conidios unicelulares principalmente in vitro, pero siempre con 2-3 conidios unicelulares (in vivo 5-95% de los conidios pueden ser septados). Las clamidosporas, si están presentes son unicelulares. Teleomorfo, si se produce, pertenece a *Didymella*.

- *Phoma* Sacc. secta. *Peyronellaea* (Goid. ex Togliani) Boerema, comb. noviembre = *Peyronellaea* Goidànich. Tipo: *Peyronellaea glomerata* (Corda) = *Phoma glomerata* (Corda). Picnidios simples o complejos, de paredes delgadas y glabras. Los conidios aseptados, a veces en algunos casos con dos células. Clamidosporas multicelulares siempre presentes (alternarioid, stemphylioid o irregular), clamidosporas son unicelulares y ocurren ocasionalmente. Teleomorfo desconocido.

- *Phoma* Sacc. secta. *Plenodomus* (Preuss). *Phoma* secta. *Plenodomus* Boerema.= *Plenodomus* = *Diploplenodomus* = *Leptophoma*. Tipo: *Plenodomus rabenhorstii* Preuss = *Phoma lingam* (Tode: Fr.). anamorfo de *Leptosphaeria maculans* (Desm.). Picnidios con paredes gruesas se produce in vivo y / o in vitro; son glabras, a veces también se presentan picnidios de pared delgada. Los conidios aseptados y a veces en algunos casos con tabique. Clamidosporas ausentes. Teleomorfo perteneciente a *Leptosphaeria*.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

- *Phoma* Sacc. secta. *Paraphoma* Boerema, comb. noviembre = *Paraphoma* Tipo: *Paraphoma radicina* (McAlp.) = *Pyrenochaeta radicina* McAlpine = *Phoma radicina* (McAlp.). Picnidios de paredes delgadas, con pelos o setas. Los conidios son unicelulares. Las clamidosporas, si están presentes, son unicelulares. Teleomorfo desconocido. (van der Aa, 1990).

Síntomas

Phoma sp., afecta principalmente a las hojas con manchas necróticas, y generalmente ingresa al tejido como consecuencia del ataque de trips, según Vasquez (2005)

3.2.1.10. *Pythium* y *Phytophthora* sp.

Bottom (s.f.) y Light (2004), indican como enfermedades fungosas en orquídeas a *Pythium* y *Phytophthora* sp. entre otros organismos, causan la pudrición en vegetales y es menos frecuente su presencia en orquídeas y sus ciclos de vida, la morfología, epidemiología y control son similares, ratificado por Murguía (2007).

Es la enfermedad más dañina de las orquídeas. La infección produce una lesión negra en las raíces, tallos y hojas. Si la lesión llega a la corona de la planta, ésta muere. (Missouri Botanical Garden, sf).

Agentes etiológicos

Phytophthora cactorum y *Pythium ultimum* Trow (Lebert y Cohn.) J. Schot. Se reportan aislamientos de *P. ultimum* en *Bothriochilus*, *Brassia*, *Coelogyne*, *Cymbidium*, *Huntleya*, *Laelia*, y *Vuylstekeara Renanthera*, mientras que la infección con *P. cactorum* fue encontrado en *Aerides*, *Ascocentrum*, *Epicattleya*, *Galeandra*, *Góngora*, *Maxillaria*, *Paphiopedilum*, *Potinara*, *Rhynchostylis*, *Rodriguezia*, *Schomburgkia*, *Trichocentrum* y *Trichocidium*. Estos hongos se aislaron en *Ascocenda*, *Brassavola*, *Brassocattleya*, *Brassolaeliocattleya*, *Cattleya*, *Cyrtopodium*, *Dendrobium*, *Epidendrum*, *Laeliocattleya*, *Oncidium*, *Phaius*,



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Sophrolaeliocattleya, *Vanda* y *Phalaenopsis* según (Gioria et al. 2003), citado por Studt (2008).

Son organismos que producen esporangios y zoosporas que funcionan como propágulos infecciosos. Los esporangios son diseminados principalmente por el viento o el salpique de lluvia, mientras que las zoosporas pueden movilizarse a cortas distancias por sí mismas, nadando en finas películas de agua; también pueden ser arrastradas por el agua en movimiento y al estar cerca de un hospedante se dirigen a él para establecerse. La diseminación a grandes distancias puede ocurrir por medio de agua y componentes de sustratos contaminados, así como por el transporte de orquídeas u otras plantas ornamentales afectadas por los mismos patógenos. Las oosporas son estructuras de sobrevivencia, (AOS 1995, Rivera 1998). La infección de los patógenos de suelo se ha documentado por varios autores en orquídeas epífitas, (i.e. Arditti 1987, AOS 1995, Rivera 1998, Gioria 2004, CAES 2007). En muchos casos esto obedece a malas prácticas de cultivo, donde se utilizan herramientas sin desinfectar, se usan sustratos contaminados o las plantas están cercanas al suelo (Arauz 1998), citados por Salazar (2009).

Etiología

P. ultimum y *P. cactorum* representan los problemas más graves en el cultivo de orquídeas. Son hongos altamente agresivos durante periodos de alta humedad y temperatura de 10 a 22 °C para *P. ultimum* y de 10 a 20 °C para *P. cactorum*. Producen zoosporas biflageladas y se propaga casi exclusivamente por el agua libre, si la introducción en los cultivos tiene lugar principalmente a través del agua de riego y / o lluvia, sustratos y recipientes contaminados. Las oósporos producen esporas que se propagan sexualmente y generan resistencia. (Studt, 2008).

Pythium ultimum puede diferenciarse de *P. cactorum* y *P. palmivora* basado en la morfología; sin embargo, *P. ultimum* es menos frecuente en orquídeas. A pesar de



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Phytophthora y *Pythium* ser géneros diferentes, sus ciclos de vida, morfología, epidemiología y control son similares, Cating, Palmateer, Stiles, & Davison (2009).

Síntomas

"Damping-off" o ahogamiento de plántulas, en trasplante, matan a todas las plantas en pocos días. En las plantas adultas, la infección produce manchas, por lo general de color negro, que progresan en orden ascendente, desde la raíz hasta las hojas.

En las plantas atacadas, los órganos afectados adquieren consistencia blanda y se destacan del resto de plantas sanas por los síntomas en las raíces, hojas o pseudobulbos. La penetración del hongo es por la raíz y / o tallo floral de cada planta. En casos extremos, la planta muere dentro 1 a 2 meses. (Studt, 2008).

3.2.1.11. *Pythium* sp.

Agente etiológico

Pythium ultimum Trow, *Pythium ultimum* VAR *ultimum* Trow, Ann. Bot. 15:300 (1901)., *Pythium splendens* Braun, mencionado por el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2009).

Morfología de las colonias: Colonias de CMA corn meal agar que forman un patrón difuso con algún micelio aéreo, el micelio con las hifas principales tienen de 3-7 (promedio 4), μm de ancho. Esporangios y zoosporas se forman en hinchazones hifales: globosos, intercalar, a veces terminal, 20-35 (promedio de $25,3 \pm 1,7$) μm de diámetro. Oogonias: terminal a veces intercalar, liso, 16-35 (media $20,8 \pm 0,5\mu\text{m}$) de diámetro. Anteridios: 1 (-3) / oogonio, monoclinos, en su mayoría de origen sésil justo debajo de la base oogonio, ocasionalmente hipógino. Las oosporas son: apleróticas, de 13-24 μm con un promedio de $17,0 \pm 0,5\mu\text{m}$, pared de 1-1.5 (promedio $1.2 \pm 0.1\mu\text{m}$), ooplasto 7-14 (promedio $10 \pm 0.4\mu\text{m}$) a una



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

temperatura de crecimiento mínima 5 a 25 °C óptimas, 30 °C máxima, la tasa de crecimiento diario en CMA a 25 °C es de 14 mm.

En las raíces enfermas, fue aislado con frecuencia de 32 de las 52 plantas hospedantes las especies de *Pythium* en Cisjordania o la Franja de Gaza. En esta área está en constante presencia en el suelo, se encuentra en todos los ámbitos. También frecuentemente aislado de corrientes de agua dulce. Otros registros de la región provienen de suelos en Egipto (El-Helaly et al., 1972) y el Líbano (Ahrens, 1971) citados por Ali - Shrayeh (1986).

En la lista de enfermedades de orquídeas de Costa Rica el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2009), menciona en: *Angraecoides* spp., *Cattleya* spp., *Cymbidium* spp., *Dendrobium* spp., *Miltonia* spp., *Odontoglossum* spp., *Oncidium* spp., *Paphiopedilum* spp., *Phalaenopsis* spp., *Vanda* spp. y otras. Señala a *Pythium ultimum* Trow., *Pythium splendens* Braun., obtenidos en aislamientos de raíces.

Síntomas

En las plantas infectadas las raíces se tornan de coloración café y en algunos casos pueden también estar huecas, con solo la epidermis rodeando los elementos vasculares. La invasión al tejido del tallo es rara. La pudrición de raíces ocasiona falta de vigor en la planta y un declive lento. (USAID-RED, 2005).

3.2.1.12. *Phytophthora* spp.

Llamada comunmente como pudrición negra de orquídeas, podredumbre marrón, podredumbre de la corona, y la pudrición de hoja, tallo, putrefacción superior, mancha de la hoja (Tao, Ho, Wu, & HE, 2011).

El género *Phytophthora* agrupa a más de 95 especies, además son importantes patógenos que causan enfermedades en un amplio abanico de plantas agrícolas y ornamentales en todo el mundo. Este género *Phytophthora* spp., está clasificado



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

como pseudohongo, con características más comunes con las algas biflageladas y distinto de los hongos verdaderos del Reino Hongos. (Tao, Ho, Wu, & HE, 2011).

Agente etiológico

Phytophthora palmivora y *Phytophthora cactorum*, según Cating, Palmateer, Stiles, & Davison (2009), los describen como organismos causales de la pudrición de la raíz en orquídeas entre otros organismos, *P. palmivora* y *P. cactorum*, (Hine, 1962; Uchida, 1994; Orlikowski y szkuta, 2006) citados por Jones (2002); sus características son muy similares, pueden ser diferenciados por las características morfológicas o por técnicas moleculares de diagnóstico según Tsai et al. (2006).

Phytophthora palmivora y *Phytophthora cactorum* son patógenos en varios géneros de orquídeas, entre ellos: *Aerides*, *Ascocenda*, *Brassavola*, *Dendrobium*, *Góngora*, *Maxillaria*, *Miltonia*, *Oncidium*, *Paphiopedilum*, *Phalaenopsis*, *Rhynchostylis* y *Schomburgkia*, así como otros menos cultivadas (Alfieri et al, 1994;. Orlikowski y szkuta, 2006), según Cating, Palmateer, Stiles, & Davison (2009).

Phytophthora palmivora es el patógeno principal de las orquídeas en Singapur (Rossetti, 1943), Ceilán (Thompson, 1959), Corea (con Soon-Yeong y Seung-weon, 1998), Taiwán (Yeh et al., 1998), Hawai (Uchida y Aragaki, 1991; Uchida, 1994), en Florida (cando et al, 2009), Polonia (Orlikowski y szkuta, 2006), Indonesia (Purwantara et al, 2004) y Filipinas (Portales, 2004), *P. parasitica* se encuentra atacando en Buenos Aires (Rossetti, 1943), Taiwán (Chen y Hsieh, 1978; Ann, 1995), Hawai (Uchida y Aragaki, 1991; Uchida, 1994) y Australia (Duff y Daly, 2002), mientras que *P. cactorum* ataca a las orquídeas en Florida (Burnett, 1974;. et al cando, 2009) y Hawai (Uchida y Aragaki, 1991; Uchida, 1994). Otras *Phytophthoras* en orquídeas son *P. erythroseptica* var. *erythroseptica* en Australia (Hall, 1989), *P. multivesiculata* en Holanda (Ilieva et al, 1998.) y ocasionalmente en Taiwán (Tsai et al, 2006.), *P. cinnamomi* en Hawai (Uchida y Aragaki, 1991;



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Uchida, 1994) otras especies de *Phytophthora* no identificadas se reportan en Taiwán (Chern y Ann, 1996), referidas por Tao, Ho, Wu, & HE (2011).

Etiología

Esta enfermedad es más frecuente durante la temporada de lluvias en los trópicos favorecidos por las salpicaduras de agua. También puede aparecer en lugares húmedos y con poca ventilación o en colecciones de hacinamientos. Las esporas deben ser expuestas a la humedad continua durante más de un día para que germinen y entrar en una parte de la planta. La infección también puede ocurrir a través de las superficies de corte. (Light, 2004).

Síntomas

Las pequeñas lesiones negras se puede observar en las raíces o porciones basales de los pseudobulbos. A medida que la edad de las lesiones avanza, se agrandan y pueden cubrir la hoja entera y pseudobulbos. El patógeno puede propagarse a través del rizoma a otras partes de la planta, según Cating, Palmateer, Stiles, & Davison (2009).

Phytophthora ocasiona manchas y decoloración en hojas, pudriciones en tallo y raíz, así como caída de flor; las plantas pueden ser rápidamente muertas. Las manchas en las hojas son inicialmente verde olivo a amarillo verdoso y se oscurecen a café o negro y la hoja se seca. Hay defoliación. En plantas adultas, las infecciones de las hojas progresan hasta alcanzar los tallos, las hojas se vuelven amarillas y la enfermedad gradualmente reduce el vigor y tamaño de la planta. Las pudriciones en el tallo son oscuras y húmedas en brotes jóvenes y de un café más claro, secas y fibrosas en brotes ya maduros. Las infecciones en raíces son severas en las plantas en macetas, especialmente si el drenaje es pobre. (USAID-RED, 2005).



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

La mayoría de las especies de *Dendrobium* prefieren los bosques de clima templado y húmedo (Lai et al., 2006) que tiende a favorecer el desarrollo de enfermedades causadas por pseudohongos patógenos zoospóricos. (Tao, Ho, Wu, & HE, 2011).

El nuevo brote se vuelve negro, por lo general desde la base hacia arriba con un micelio blanco y con zoosporangios en la superficie y con un olor a afrutado. La pudrición avanza rápidamente a través del resto de la planta, la misma que generalmente muere. La eliminación agresiva de las partes enfermas, junto con el tejido sano adyacente, puede resultar en una cura. Es altamente contagiosa durante la temporada de lluvias en los trópicos o en condiciones de mala ventilación. (Light, 2004).

3.2.1.13. *Rhizoctonia* spp.

Agente etiológico

Rhizoctonia solani Kühn, en aislamientos de tallos y raíces, identifican a la etapa teleomórfica como *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk, y han sido referidos por el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2009), Studt (2008) y Simone & Burnett (1995).

La pudrición de raíces, root rot, ocasionada por *Rhizoctonia* spp., son citadas por The Connecticut Agricultural Experiment Station (2007), Simone & Burnett (1995), Bottom (s.f.) y Light (2004).

Afecta a los siguientes géneros de orquídeas: *Aerides*, *Aliceara*, *Brassavola*, *Brassocattleya*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Doritaenopsis*, *Epicattleya*, *Epidendrum*, *Laeliocattleya*, *Oncidium*, *Paphiopedilum*, *Phalaenopsis*, *Potinara*, *Schomburgkia*, *Sophrolaeliocattleya*, *Trichocentrum* y *Vanda*, según American Orchid Society. Jones (2004) y Simone & Burnett (1995).



Etiología

El hongo es favorecido por la alta humedad y la temperatura del sustrato alrededor de 28 °C y puede sobrevivir en los residuos agrícolas como saprófitos, o en la forma de esclerocios. Hay una amplia gama de huéspedes, se puede transmitir por el agua contaminada y el sustrato. Es cosmopolita y puede atacar a las orquídeas que son susceptibles en cualquier edad. (Studt, 2008).

Síntomas

"Damping-off" o ahogamiento de plántulas y plantas. Se presenta de manera esporádica en plantas adultas de *Phalaenopsis* y *Cattleya*. Causan el deterioro del sistema radicular y la planta presenta síntomas de marchitez. Según Gioria et al. (2003), este hongo causa pudrición seca y marrón en las bases de los pseudobulbos maduros de las plantas, ocasionando la pérdida de vigor y la falta de nuevos brotes; el desarrollo de la enfermedad es lento. Las plantas afectadas pierden fuerza poco a poco, con el progresivo amarillamiento de las hojas y pseudobulbos. Los nuevos brotes son raros, (Bergmann y Alexandre, 1998), citado por Studt (2008).

En las hojas y tallos se observan lesiones redondeadas y alargadas, algunas de ellas con bordes definidos, el tejido afectado se torna de color marrón oscuro, cuando el ataque es muy severo puede afectar a todas las hojas y ocasionan la muerte de la planta. (Murguía, 2007).

Las raíces toman un color marrón y la podredumbre es seca. La enfermedad progresa lentamente generando debilidad y muerte. La enfermedad avanza hasta los pseudobulbos y hojas, éstos presentan coloración amarilla, se marchitan, son delgados y retorcidos. (Missouri Botanical Garden, sf).

Los cultivos puros de micorrizas han dado como resultado hongos basidiomicetes y hongos imperfectos, especialmente miembros del complejo *Rhizoctonia*. Este



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

tipo de micorriza es menos común y se encuentra solamente en las familias *Ericaceae* y *Orchidaceae* (Hadley. 1982), citado por Rivas, Warner, & Bermúdez (1998).

En las orquídeas epífitas andinas del Ecuador, los hongos identificados como micorrícicos pertenecen a los géneros teleomorfos *Tulasnella* y *Sebacina* según (Suárez et al., 2006). No se saben las causas de estas diferencias sobre la presencia de determinados géneros de hongos micorrícicos, pero la altitud que influye en las condiciones climáticas, puede estar cumpliendo un papel importante (Suárez, et al. 2006, Rasmussen y Whigham. 2002). Su importancia radica en el papel ecológico que cumplen, ya que contribuyen a la conservación de la población de orquídeas y por ende a la biodiversidad (Dearnaley. 2007), citados por Mosquera (2010).

3.2.1.14. *Sphenospora* sp.

Agentes etiológicos

Sphenospora kevorkianii Linder = *Uredo nigropunctata* P. Henn.; *Sphenospora mero* Cumm; *S. saphena* Cumm; *Uredo epidendri* P. Henn, *Uredo behnickiana* P. Henn. y *Hemileia oncidii* Griffon y Malbl. (Studt, 2008) y como *Sphenospora kevorkianii* Linder, han sido identificados por: Cúndom, Galdeano, Tarragó, & Flachsland (2008), Pereira, Cavallazzi, Rollemberg, & Kasuya (2002) y Ministerio de Agricultura y Ganadería (2009).

Afecta a los siguientes géneros de orquídeas: *Batemannia*, *Bletia*, *Bletilla*, *Brassia*, *Bulbophyllum*, *Capanemia*, *Catasetum*, *Cattleya*, *Caularthron*, *Cochlioda*, *Cycnoches*, *Cyrtopodium*, *Dendrobium*, *Encyclia*, *Epicattleya*, *Epidendrum*, *Gongora*, *Hexisea*, *Huntleya*, *Ionopsis*, *Laelia*, *Leochilus*, *Lockhartia*, *Lycaste*, *Masdevallia*, *Maxillaria*, *Miltonia*, *Mormodes*, *Notylia*, *Odontoglossum*, *Oeceoclades*, *Oncidium*, *Pelexia*, *Peristeria*, *Pescatorea*, *Ornithocephalus*, *Pleurothallis*, *Rodriguezia*, *Schomburgkia*, *Sigmatostalix*, *Stanhopea*, *Trichoceros*,



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Trichopilia, *Trigonidium*, *Xylobium*, *Zygostates* y *Zygopetalum*. Distribuido en toda América y en la India. (Simone & Burnett, 1995).

En la orquídea *Epidendrum secundum*, en sus hábitat rupestres y como epífita *Epidendrum xanthinum* de la zona lluviosa de Brasil, se encontró a *Sphenospora kevorkianii*. (Pereira, Band, & Silva, 2009).

En dos plantas de orquídeas del género *Oncidium* el 16 de mayo de 2006 se detectó la presencia de pústulas de roya en un invernadero Bonanza a 12 km del orquideario que dispone la Facultad de Ciencias Agropecuarias, las mismas que fueron identificadas en laboratorio.

El agente causal de la roya es identificado como *Sphenospora kevorkianii*. Las uredosporas son amarillento ovoide y equinuladas, la morfología y dimensiones de los uredinios y urediniosporas fueron similares a los reportados por Linder (1994). La telia observado en *E. paniculatum* es subepidérmica y errumpente, con numerosos paráfisis, claviformes. Se encontraron además las teliosporas, pediceladas longitudinalmente, septadas, hialinas y de pared delgada Cúndom, Galdeano, Tarragó, & Flachslan (2008).

Sphenospora kevorkianii fue descrita por primera vez por Linder (1994) sobre *Epidendrum difforme* de Nicaragua. Se reporta en Brasil en *Stanhopea graveolens* y otras especies de orquídeas, como *Pleurothallis mentigera* (Pereira et al., 2002), *Catasetum fimbriatum* (Pereira y Barreto, 2004) y *C. maranhense* (Soares da Silva y Barreto, 2006). Estos reportes muestran que *Sphenospora kevorkianii* tiene una amplia gama de huéspedes, Cúndom, Galdeano, Tarragó, & Flachslan (2008).

Pereira et al. (2002) sostienen que *Sphenospora kevorkianii*, las spermogonias y aecias son desconocidas. Las uredosporas en el envés de la hoja son subepidérmicas, convirtiéndose en errumpentes. Uredosporas ovoides, elipsoidales o subesféricos, 28-33 x 18-26 micras, membrana 1.5-3.5µm de espesor. Telia subepidérmicas, convirtiéndose en errumpentes con una gran



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

cantidad de un aceite de color naranja oscuro, llegando a ser de color marrón oscuro o negro, de 1 mm de diámetro. Las teliosporas son solitarias en los pedúnculos, elipsoide, de paredes delgadas, 23-28 x 13-16 micras. Paráfisis numerosos, claviformes o cilíndricos, algunas curvos, 100-116 micras x 8-10, pigmentados de amarillo. Basidiosporas amarillentas, globulares u ovoides e irregulares de 8-11 x 6-7 micras, Cúndom, Galdeano, Tarragó, & Flachsland (2008).

Etiología

Es un hongo endoparásito, que es favorecido por la alta humedad y temperatura leve, donde el agua se condensa en la noche. Las esporas se propagan por el viento y las salpicaduras de agua.

Síntomas

La enfermedad sólo se manifiesta en las hojas, casi exclusivamente en la cara inferior, donde inicia como pequeñas pústulas de color naranja, amarillo o marrón óxido Missouri Botanical Garden (sf) o de color amarillo anaranjado o rojizo-marrón. Estas pústulas, dependiendo de la edad, pueden oscurecerse y desarrollarse concéntricamente. Manchas cloróticas se presentan en la región opuesta a la mancha foliar (Gioria et al. 2003). Esta enfermedad es frecuente en especies de *Oncidium*. *Hemilea oncidii* difiere de otras royas por no producir pústulas, se manifiesta como una cubierta amarilla que recubre las áreas infectadas. Se caracteriza por presentar altas tasas de reproducción (Bergmann & Alexander, 1998) citado por Studt (2008).

En *Epidendrum paniculatum* y *Stanhopea graveolens*, colectadas en el 2007 en el Parque Nacional Yungas (noroeste de Argentina), algunos especímenes mostraron síntomas de roya, con áreas cloróticas pequeñas, dispersas en la superficie superior, en la parte inferior, presenta numerosas pústulas errumpentes, que contienen masas de uredosporas de color amarillo. Las pústulas más tarde



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

cambian a naranja oscuro cuando se forman las Telias. Los Uredinios se encontraron en ambas especies de orquídeas, mientras que Telia se desarrolló sólo en *E. paniculatum*, Cúndom, Galdeano, Tarragó, & Flachslan (2008).

Es el primer informe de *Sphenospora kevorkianii* infectando a *E. paniculatum* y *S. graveolens* en Argentina. Esta roya ha sido catalogada como una plaga en Hawai, el mayor productor de orquídeas en las Américas, y está ampliamente distribuida en Brasil, donde está altamente controlada químicamente en los viveros de orquídeas. La producción de orquídeas en Argentina ha aumentado mucho en los últimos 15 años. Aunque todavía lejos de la escala de Brasil o Ecuador, los viveros más importantes están produciendo 50.000 plantas al año. Especies de *Epidendrum* son buscados por los productores debido a su uso en el desarrollo de híbridos comerciales, mientras que las especies *Stanhopea* son en su mayoría recogidos por los entusiastas de las orquídeas por la rareza y belleza de sus flores. Cúndom, Galdeano, Tarragó, & Flachslan (2008).

3.2.1.15. Septoria sp.

Agente etiológico

Septoria selenophomoides Cash & Watson., aislado de hojas según el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2009), y como *Septoria* sp., en hojas de orquídeas y es corroborado y ratificado por Light (2004), Bottom (s.f.) y Simone & Burnett (1995).

Septoria se encontró en los Estados Unidos en las siguientes orquídeas: *Brassia*, *Bulbophyllum*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Encyclia*, *Laelia*, *Masdevallia*, *Miltonia*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Phalaenopsis*, *Stanhopea* y *Stenocoryne*, además se reporta su presencia en: Brasil, Colombia, República Dominicana, Inglaterra, Guatemala, India, Japón, México, Tailandia, Costa Rica, Filipinas y en los Estados Unidos en Florida, Simone & Burnett (1995).



Etiología

Las especies de *Septoria* requieren humedad alta para la infección y el desarrollo de la enfermedad y temperaturas, entre 10 y 27 °C. (Agrios, 2005).

Síntomas

Septoria comienza como pequeñas lesiones hundidas de color amarillo en la superficie de la hoja, éstas se agrandan formando parches circulares o irregulares. Las hojas caen prematuramente. (Missouri Botanical Garden, sf).

3.3. Manejo Agroecológico

En el suelo los microorganismos interactúan con las plantas presentando diferentes estrategias tróficas, pueden ser saprófitos, patógenos, biocontroladores de poblaciones de plagas o simbioses mutualistas, (Agrios, 2005). En el caso de los hongos, algunos son importantes patógenos de plantas y en contraste, otros pueden beneficiarlas de manera directa al formar micorrizas, o indirectamente, al actuar como biocontroladores de patógenos. Estos últimos pueden producir sustancias promotoras de crecimiento, como también inducir resistencia sistémica o tener una actividad antagónica por parasitismo, competencia o antibiosis, Agrios (2005). El género-forma *Rhizoctonia* cumple todas las funciones anteriormente mencionadas, (Agrios, 2002). Como patógeno, *Rhizoctonia solani* Kühn es agente causal de diversas enfermedades en cultivos de importancia económica y alimentaria, (Reyes y Castilla, 2003; Chaudhary *et al.*, 2003; Prado *et al.*, 2001; Correa *et al.*, 2001), citados por Mosquera (2010).

Dentro de las estrategias de manejo integrado de enfermedades, ha tomado importancia el uso de microorganismos antagonistas como medida de control biológico. La literatura muestra dentro de los métodos de control biológico contra *Rhizoctonia* spp. agente causal de damping-off, el uso de especies de Rizobacterias de los géneros *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*,



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Streptomyces; el hongo antagonista *Trichoderma* spp.; al igual que hongos micorrícicos arbusculares del género *Glomus*, (Brewer y Larkin, 2005; Berta *et al.*, 2005; Chung *et al.*, 2005; Aziz *et al.*, 1997; Asaka y Shoda, 1996).

El extracto de abono animal, es antagónico a *P. cinnamomi*, (Aryantha y Guest, 2006) y *Pythium ultimum*, un pseudohongo Pythiaceo zoospórico relacionados con *Phytophthora*, (Kerkeni *et al.*, 2007). Extracto de metanol de propóleo, una pegajosa sustancia gomosa y resinosa producida por las abejas para cubrir hoyos en las colmenas en Turquía, inhibe e incluso detiene completamente el crecimiento del micelio de *P. infestans*, *P. capsici* y *P. parasitica* in vitro, (Yusuf *et al.*, 2005). Extracto de ajo suprime a *Pythium ultimum*, (Alhussaen *et al.*, 2011). La preparación seca de microorganismos como *Trichoderma* spp. son antagonistas de una amplia variedad de patógenos de las plantas que se encuentran en el suelo, (Daghman *et al.*, 2010; Daami-Remadi *et al.*, 2010; Jegathambigai *et al.*, 2009); se debe incorporar en el suelo de las plantaciones de *Dendrobium*. Sin embargo, el control de las enfermedades de *Phytophthora* todavía se basa en el uso de fungicidas, citados por Tao, Ho, Wu, & HE (2011).

T. harzianum, produce proteasas que inactivan las enzimas hidrolíticas producidas por *Botrytis cinerea*. Las enzimas proteasas descomponen las enzimas hidrolíticas en las cadenas peptídicas y/o de sus aminoácidos constituyentes y con ello puede destruir su capacidad de actuar sobre las células de la planta. (Howell, 2002).

El concepto de la biosíntesis de la enzima, como un mecanismo de control biológico, se ha ampliado para incluir sinergismo entre enzimas y antibióticos. Kaewchai *et al.* (2009), cita a Di Pietro *et al.*, que estudiaron los efectos sinérgicos de endoquitinasa y gliotoxina sobre la germinación de conidias de *B. cinerea*. Otro mecanismo propuesto para explicar la actividad de biocontrol por las especies de *Trichoderma* es la inducción de la resistencia de la planta huésped mediante el tratamiento con el agente de biocontrol. Howell (2002). Según Kaewchai muchos antibióticos son producidos por especies de *Trichoderma*. Estos incluyen



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

gliotoxina, ácido harzianico, trichoviridin, viridin, viridiol, y alamethicins, estos antibióticos son sinérgicos cuando se combinan con diversas enzimas que degradan la pared celular, produciendo un fuerte efecto inhibitor sobre muchos patógenos de las plantas (Benítez et al, 2004; Woo y Lorito, 2007; Vinale et al, 2008). Trichotoxin A50 producida por *T. harzianum* PC01 puede inhibir el crecimiento del micelio y esporangios producidos en *Phytophthora palmivora* reportado por (Suwan et al., 2000). *Trichoderma harzianum* T-35 tiene control en especies de *Fusarium* y en varios cultivos se produce a través de la competencia por los nutrientes y colonización de la rizósfera (Viterbo et al., 2007), citados por Kaewchai, Soyong, & Hyde (2009).

La excreción extracelular de enzimas, la lisis son mecanismos de control de los patógenos según (Whipps, 2001; Benítez et al, 2004; Viterbo et al., 2007). Los agentes de control biológico son capaces de producir la lisis de las hifas de los patógenos por liberar enzimas líticas y esto es una importante y poderosa herramienta para el control de enfermedades de las plantas según (Chet et al., 1990; Flores et al, 1997; Viterbo et al, 2007), enzimas como las quitinasas, proteasas y β -1,3 glucanasas (Whipps, 2001), estas enzimas lisan las paredes celulares de las hifas del patógeno durante la actividad de micoparasitismo (Cruz et al, 1992; Schirmbock et al, 1994; El-Katathy et al, 2001; Khetan, 2001). β -1, 3 glucanasas tienen propiedades para degradar las paredes celulares, la inhibición del crecimiento del micelio y la germinación de las esporas de hongos patógenos de las plantas (Benítez et al, 2004; Lin et al., 2007). Por ejemplo, β -1, 3 glucanasas producidas a partir de *Chaetomium* sp., pueden degradar las paredes celulares de patógenos de plantas, incluyendo *Rhizoctonia solani*, *Gibberella zeae*, *Fusarium* sp. *Colletotrichum gloeosporioides* y *Phoma* sp. (Sun et al., 2006), mencionados por Kaewchai, Soyong, & Hyde (2009).

Estos autores también demostraron que las hifas de los biocontroladores penetran la epidermis y en la corteza superior de la raíz del pepino. La respuesta de la



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

planta se caracteriza por un aumento en la actividad de peroxidasa (a menudo asociada con la producción de compuestos fungitóxicos), un aumento de la actividad quitinasa, y la deposición de calosa enriquecida en la superficie interior de las paredes celulares. El aumento de las actividades enzimáticas fue observado en raíces y hojas. Los mecanismos empleados por el agente de biológico para efectuar el control de enfermedades de las plantas son muchas y complejas, y su uso varía con el tipo de agente de biocontrol, agente patógeno y la planta hospedante, involucrados en la interacción. Los mecanismos también están influenciados por el tipo de suelo, por la temperatura, pH, la humedad del entorno de la planta y el suelo, y por otros miembros de la microflora. Lo que observamos y definimos como control biológico puede ser la culminación de un número de diferentes mecanismos de trabajo sinérgico para lograr el control de la enfermedad, según Howell (2002).

Estudios han demostrado que *Stenotrophomonas maltophilia* producen una proteasa extracelular como resultado una actividad mejorada en contra de *Botrytis fabae*, *Pythium ultimum*. Las especies de hongos de *Teleromyces flavus*, actúan como agente de control biológico contra varios hongos patógenos como *Sclerotium rolfsii*, *Verticillium dahliae* y los agentes de la antracnosis y oidio y la acción de enzimas hidrolíticas de los hongos se ha considerado como el principal mecanismo involucrado en el proceso antagónico. (Haggag, Kansoh, & Aly, 2006).

Según Kaewchai, los antagonistas microbianos pueden suprimir enfermedades de las plantas y a los organismos patógenos, pueden ser referidos como agentes de control biológico (BCA) (Alabouvette et al, 2006; Pal y Gardener, 2006). Varias especies de hongos pueden ser utilizados como agentes de control biológico y puede proporcionar una actividad eficaz contra diversos microorganismos patógenos. Ejemplos son *Trichoderma harzianum*, especie con potencial de biocontrol contra *Botrytis cinerea*, *Fusarium*, *Pythium* y *Rhizoctonia* (Khetan, 2001); *Chaetomium globosum* y *C. cupreum*, tienen actividad de biocontrol contra



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

la enfermedad de pudrición de la raíz causadas por *Fusarium*, *Phytophthora* y *Pythium* (Soytong et al., 2001); *Gliocladium virens* con biocontrol eficaz de patógenos del suelo (Viterbo et al., 2007); *Coniothyrium minitans* es un micoparásito de *Sclerotinia* (Whipps et al, 2008.) y *Fusarium oxysporum* (especies no patógenas), con potencial de biocontrol contra *Fusarium oxysporum*. (Fravel, 2003).

Un agente de control biológico efectivo debe ser genéticamente estable y eficaz a bajas concentraciones, fácil de producir en masa en medios de cultivos baratos, y ser efectivo contra una amplia gama de patógenos (Wraight et al, 2001.; Irtwange, 2006). El control biológico de hongos también debe tener una forma fácil de distribución, no ser tóxicos para los seres humanos y animales, tener resistencia a pesticidas, ser compatible con otros tratamientos, y no patógeno contra la planta. (Fravel, 2005; Irtwange, 2006). (Kaewchai, Soytong, & Hyde, 2009).

En el sistema radicular de vainilla silvestre se aislaron e identificaron a los géneros: *Bipolaris* sp., *Phoma* sp., *Phomopsis* sp., *Trichoderma* sp. y *Grammotele* sp. además de un miembro de la familia Xylariaceae. Estos hongos han sido reportados como patógenos en otras plantas, sin embargo, en este caso no presentaron síntomas de enfermedad en las plantas de donde fueron aislados y en las que se inocularon. El crecimiento de plantas de vainilla se vio estimulada por la inoculación de hongos formadores de micorriza y endófitos; así mismo, se planteó la posibilidad de que estos hongos también pueden contribuir a tolerar algún tipo de estrés, favorecer la protección del ataque de patógenos y mejorar la disponibilidad de nutrientes en el suelo, situación inicial para el uso de herramientas como los bio inóculos. (Ordoñez, 2012).

3.4. Control biológico de enfermedades

Muchos hongos filamentosos y levaduras han demostrado ser antagonistas eficaces de los hongos que infectan a las plantas. Por ejemplo, la inoculación en



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

post floración de tomate con *Cladosporium herbarum* o *Penicillium* sp. suprimió casi completamente la infección de los frutos por *Botrytis cinerea*. Del mismo modo, la pulverización con *Cladosporium* sp., *Epicoccum* sp., y *Trichoderma*, luego de la poda de árboles frutales ha impedido la infección por cancro, la pudrición por *Botrytis* de las fresas y las uvas en el momento de la cosecha y el almacenamiento; la podredumbre por *Sclerotinia* en la cabeza de girasol y varias enfermedades foliares también se han reducido de manera significativa en más de un 50%, como en, *Alternaria*, *Cochliobolus*, *Septoria*, *Colletotrichum* y *Phoma*. (Agrios, 2005).

3.5. Prevención y control de hongos y pseudohongos

Según Light (2004), el control de las enfermedades es evitar que se propague principalmente por las salpicaduras, la superficie de los bancos estén lo suficientemente altos de la superficie del suelo para evitar salpicaduras del suelo por el agua, deje de regar o pulverizar las plantas y que no reciban la lluvia, aislar las plantas infectadas, quemar el material enfermo, lavarse las manos después de manipular material sospechoso, desinfectar herramientas.

Guardar las macetas nuevas en áreas desinfectadas, lo mejor es utilizar macetas nuevas, si esto no es posible, sumergir las macetas en una proporción de 1:3 de hipoclorito de sodio manteniendo el agua con agitación durante un mínimo de 10 minutos. (Cating, Palmateer, Stiles, & Davison, 2009).

Desinfecte todas las superficies de banco y las herramientas antes de cada uso para detener la propagación, con una tijera o cuchillo estéril cortar la parte enferma de la planta. Retire todo el material vegetal infectado, sacando una pequeña cantidad de tejido sano que bordea la zona afectada como medida de seguridad. (Jones, 2002).

Ejemplos de desinfectantes para las herramientas y bancos son: 1) 25% de cloro; 2) 25% de aceite de pino, 3) 50% de alcohol isopropilo 70%; 4) 50% de etanol



Universidad de Cuenca **Facultad de Ciencias Agropecuarias.**
desnaturalizado; 5) 5% de sales de amonio cuaternario. Remoje las herramientas durante 10 minutos y enjuagar con agua limpia. (Cating, Palmateer, Stiles, & Davison, 2009).



IV.- MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Características del lugar de la investigación

La investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología y orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca; ubicada al Sur Oeste del cantón Cuenca, en las coordenadas UTM 719768 m E y 9677340 m N, Datum WGS 84 y a una altura de 2584 m s.n.m.

4.2. Materiales

4.2.1. De laboratorio

a. Físicos

Microscopio binocular, Estéreo microscopio, estufa, cámara de aislamiento, cámara de flujo laminar, estufas, balanza, refrigeradora, licuadora, autoclave vertical, computadora, atomizador, cámara fotográfica digital.

Azas, bisturíes, pinzas, cajas petri, tubos de ensayo de 18 mm con tapa plástica, erlenmeyer de 1000 y 2000 cc, vasos de precipitación 1000, 500, 200, 100 cc, probeta graduada de 100 cc, tijeras, etiquetas, marcador, fundas plásticas, mechero para alcohol, papel estéril, cinta adhesiva, masquin y algodón.

b. Químicos

Agar agar, dextrosa, ácido láctico, alcohol etílico, hipoclorito de sodio, agua estéril, azul de metileno.

c. Biológicos

Plantas de orquídeas, hongos y pseudohongos presentes en las orquídeas, papa.



4.2.2. De invernadero

Invernadero: Tubos de 2 pulgadas en hierro galvanizado, cable acerado de alambre galvanizado # 10, alambre de cobre # 14 y 16, plástico UV calibres 6, 8, 10, serán al 50%, malla pre soldada galvanizada.

La construcción es en tubo de hierro galvanizado de 2 pulgadas de diámetro, de 3 metros a los laterales y con 5,60 m en la parte central, está conformado por 2 naves de 14,1 por 18,4 m y su superficie es de 259,44 m², cubiertas y laterales de plástico; umbráculo de 14,7 por 6,4 m con una superficie de 94,08 m² y un muro de piedra de 16 x 2,5 m. con una superficie de 40 m² con orientación noreste y cubiertas de serán al 50% de luminosidad.

Para el sistema de riego, se dispone de 2 tanques de reserva de 60 m³ y 1 m³, tubería PVC de 32 y 25 mm, bomba eléctrica de 2 HP, tanque de presurización con manómetro, el sistema está programado para que funcione a un mínimo de 54 y un máximo de 64 psi, 2 filtros de anillos de 120 mesh y de 32 mm instalados en paralelo, micro aspersores Nan 7110 descarga de 60 litros por hora, controlador de riego Galcon A61V de 6 salidas, válvulas solenoide de 24 V.

Las especies de orquídeas son de la sierra, costa y oriente, mayoritariamente provenientes del sur oriente ecuatoriano, donadas por los estudiantes, Ministerio del Ambiente y coleccionistas de orquídeas, con 1650 plantas de orquídeas, distribuidas de acuerdo al origen, anexo N1. Plano del orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.



4.3. Métodos

3.3.1. Diseño estadístico

La presente investigación tiene por objetivos determinar la incidencia, severidad e identificación de hongos y pseudohongos presentes en el orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias. Para este estudio no es necesario aplicar un diseño estadístico y se aplica evaluaciones en base a valores porcentuales.

4.3.2. Determinación de la incidencia y severidad

Para realizar esta evaluación, en el orquideario se dispuso de 1650 plantas, se procedió a contabilizar el número total de plantas, identificar los géneros y su ubicación dentro del orquideario, se contabilizó el número de plantas que presentaron el mismo síntoma a nivel de hoja, tallo o pecíolo, pseudobulbo, vareta floral, flor y cápsula, para la evaluación de las raíces se procedió a retirar el sustrato que lo cubría. Para tabular la información se procedió a elaborar un registro de fichas que previamente fue validada.

Para determinar la incidencia de enfermedades en porcentaje (IE) se utilizó la fórmula recomendada por Wolcan, Lori, Ronco, & Fernández (2001):

$$IE (\%) = \frac{\text{Número de plantas enfermas}}{\text{Número total de plantas (Enfermas + Sanas)}} \times 100$$

Para evaluar la severidad de la enfermedad (SE) se generó una escala cualitativa de cinco clases para poder determinar los porcentajes de daño por planta. La severidad fue calculada con la siguiente fórmula:

$$SE = \frac{(n * 1) + (n * 2) + (n * 3) + (n * 4) + (n * 5)}{\text{Número de plantas enfermas}}$$



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

n = Número de hojas, pecíolos, raíces tallos florales, flores o cápsulas que se evalúen en el rango de escala propuesta: 1, 2, 3, 4 y 5, valor de la escala propuesta para evaluar el porcentaje de daño del patógeno. (Wolcan, Lori, Ronco, & Fernández, 2001).

Se elaboró una escala gráfica para evaluar la severidad de daño fungoso en las orquídeas. Anexo N. 2.

Valores escalares y porcentaje de la severidad para la sintomatología.

Valor escalar	Porcentaje
1	0,1 al 1,9
2	2 al 7,9
3	8 al 17,9
4	18 al 41,9
5	42 al 78,0%

4.3.3. Evaluación de la incidencia y severidad

Para la presente investigación, se procedió a identificar las especies y su distribución en el invernadero por el tipo de planta, flor y codificaciones; se contabilizó el número total de plantas sanas y con síntomas. De cada especie se identificó el área afectada y se cuantificó el número de plantas existentes sobre la cual se realizó la determinación de la incidencia de los síntomas que manifestaron.

La severidad fue evaluada por especie, en cada planta con síntomas en base a la valoración del área afectada se obtuvo su valor promedio en porcentaje o mediante el empleo de la escala grafica del anexo N. 2.

Por especie y áreas de la planta, en el libro de invernadero, se registró el valor en porcentaje de incidencia; El valor evaluado de la severidad fue registrado en una de las cinco categorías de severidad, de acuerdo al valor escalar



4.3.4. Fase de laboratorio

a. Esterilización de los materiales

Luego de la evaluación de la incidencia y severidad de las plantas que presentaron síntomas, se tomó muestras de raíz, pseudobulbos, pecíolo, hoja, tallo floral, flor, o cápsula, material vegetal que fue procesado en el Laboratorio de Fitopatología para identificar el organismo fúngico presente, registrando la respectiva sintomatología como en el número de plantas en las que se manifestó.

En la autoclave: los medios de cultivo PDA, cajas petri, vasos de precipitación, papel periódico empaquetado en papel aluminio, agua para los lavados; se esterilizaron a 15 lb. /pulg² de presión y a 118 °C por 15 minutos.

A la llama sobre cajas petri con alcohol se flameó: pinzas, tijeras, bisturíes, azas.

Las jeringuillas hipodérmicas de 60 cc se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 1% por 5 minutos.

Las manos y brazos se lavaron con jabón y se pasó continuamente aspersiones de alcohol etílico al 70 %.

Para la esterilización de la cámara de flujo laminar y de aislamiento, se procedió a limpiar minuciosamente con alcohol al 70% y también todos los materiales que se utilizaron fueron atomizados con alcohol al 70% para evitar contaminación y los materiales metálicos fueron sumergidos en alcohol y luego flameados.

Para desinfectar el material vegetal para las siembras en PDA se utilizó hipoclorito de sodio al 1% por un minuto dentro de una jeringuilla hipodérmica de 60 cc.

b. Preparación del medio de cultivo

Para el desarrollo de los hongos y pseudohongos se empleó como medio de cultivo Papa, Dextrosa y Agar (PDA) con la siguiente formulación:



Papa pelada y cortada	200 g
Dextrosa	18 g
Agar	12 g
Agua destilada	1000 cc (hasta aforar)
Acido láctico al 50%	1,5 cc / litro.

Procedimiento

En primer lugar las papas se pelaron, picaron y lavaron.

Luego se pesó 200 gramos y se colocó en el erlenmeyer de 1000 cc aforando con agua hasta 450 cc, para su cocción.

En otro erlenmeyer de 1000 cc se colocó los 14 g de agar más los 18 g de dextrosa aforando con agua hasta 450 cc, se calentó con agitación hasta su dilución.

Obtenida la dilución del agar más la dextrosa y la cocción de la papa se mezcló y aforó a 1 litro en un erlenmeyer de 1000 cc.

El medio de cultivo listo se dispensó 500 cc en dos erlenmeyer de 1000 cc, se cubrió la boca de los erlenmeyer con algodón y sobre éste se colocó una cobertura de papel de aluminio.

En la autoclave se esterilizó el medio de cultivo contenido en dos erlenmeyer junto a cajas petri, papel periódico y agua.

Cuando el medio de cultivo estuvo a 70 °C, para siembras de muestras vegetales, se adicionó el acido láctico 1,5 cc por litro previo al dispensado de 35 cc por caja



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

petri estéril y sin ácido láctico para subcultivos en tubos de ensayo de 18 mm de diámetro, 5 cc de medio de cultivo por tubo, colocándose la respectiva tapa plástica, trabajo que se realizó en el interior de la cámara de flujo laminar para evitar contaminaciones. Hasta su uso las cajas petri y tubos de ensayo fueron enfundadas y conservadas en refrigeración a 5 °C.

c. Manejo de las muestras

c.1. Invernadero

Realizada la evaluación de la incidencia y severidad de los patógenos de las diferentes partes de las plantas de orquídeas en el invernadero, se procedió al etiquetado de las mismas previo al corte con una tijera o navaja estéril de la muestra de hoja, raíz o pseudobulbo pecíolo, cápsula de las orquídeas; las muestras vegetales con síntomas patogénicos visibles, se colocaron en el interior de una funda plástica nueva, para evitar contaminaciones entre muestras, así como, el deterioro de las mismas por el manipuleo.

c.2. Laboratorio

Se realizó la transcripción de los códigos registrados en el invernadero al libro de laboratorio de una manera ordenada para evitar confusiones o errores de cada muestra procesada y posteriormente se realizó la observación patológica directa bajo el microscopio, el desarrollo fúngico en cámara húmeda y el cultivo y subcultivo en PDA para la identificación de los microorganismos causales de los síntomas muestreados.

d. Identificación directa

De cada muestra tomada del invernadero, sobre el síntoma con la ayuda de un pedazo de cinta adhesiva fue tomada la muestra para identificar los microorganismos causales.



e. Procesamiento de las muestras en el laboratorio

Lavado

Todas las muestras fueron lavadas bajo un chorro de agua de grifo y con la ayuda de un cepillo blando se procedió a refregar, sin causar lesiones a las hojas; concluido el lavado de cada muestra el cepillo se sumergió en alcohol y se eliminó el mismo bajo un chorro de agua de grifo para ser empleado en una nueva muestra. Con un lavador plástico se aplicó agua estéril sobre la muestra, proceso que permitió eliminar los residuos de sustrato, polvo y otros contaminantes que pudieron interferir con el desarrollo fúngico, así como obstaculizar en la calidad de la muestra tomada.

Cada una de las muestras lavadas se colocaron sobre un pedazo individual de papel periódico estéril, en el interior de la cámara de flujo laminar, hasta que pierda el agua del lavado.

Recortes

De las hojas, con la ayuda de un bisturí o tijera estéril, se procedió a extraer un pedazo de tejido aproximadamente de 2,5 cm de ancho y largo, con uno de sus lados con una parte del tejido con síntoma, inmediatamente se procedió a la esterilización en hipoclorito de sodio al 1% por un minuto y a la eliminación del cloro por lavado, posteriormente se eliminó el área necrosada y se dejó tejido que manifestó el comienzo del síntoma o que inició una clorosis. De los pseudobulbos, con el bisturí se extrajo una muestra de 3 cm largo por 2 cm de ancho y 0,5 cm de profundidad luego del proceso de esterilización de esta sección se realizó la eliminación de toda el área necrosada y se efectuó recortes hasta obtener 2 mm de grosor.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

De las raíces con síntomas se procedió a realizar un corte lo más próximo al tejido aparentemente sano y un segundo corte aproximadamente a 2 cm del tejido sano, utilizando una tijera estéril, luego se realizó la esterilización en hipoclorito de sodio.

f. Cámara húmeda

Para el desarrollo fúngico en cámara húmeda se utilizaron fundas plásticas de 18 por 30 cm, en cada funda se adhirió la respectiva etiqueta de identificación, en su interior se depositó 3 a 4 hojas de papel higiénico esterilizado en la estufa a 110 °C por una hora y con un lavador plástico se aplicó agua estéril para humedecer las hojas de papel. Las muestras luego del proceso de lavado en agua de grifo, enjuagadas con agua estéril y extraída la sección respectiva para el cultivo en PDA, se colocó dentro de una funda plástica y se procedió a introducir aire, previo al anudado de la funda para mantenerlas selladas.

Se utilizó un estante con dos áreas y cada una con dos repisas para colocar ordenadamente las muestras, permaneció con las puertas cerradas para evitar la incidencia de la luz solar, como también el manipuleo indebido de las muestras.

Permanecieron en estas condiciones hasta observar el desarrollo del micelio para la identificación bajo el microscopio.

g. Cultivo en PDA.

El proceso de esterilización externa de la muestra se realizó en el interior de la cámara de flujo laminar, la misma se prendió 15 minutos antes del trabajo para disminuir los contaminantes ambientales del laboratorio, previamente limpiada con alcohol etílico al 70%, se colocaron los materiales y herramientas esterilizados por la acción de calor húmedo de la autoclave como pinzas, cajas petri, bisturís, tijeras, papel periódico empaquetados en folios de aluminio y el agua estéril. Para ser reutilizadas las pinzas, bisturís, tijeras, se sumergió con alcohol al 70 % en un vaso de precipitación y fueron flameados; las manos y hasta el codo se atomizó



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

alcohol al 70%; las muestras vegetales se esterilizaron en hipoclorito de sodio al 1 %, como también la jeringuilla hipodérmica de 60 cc. De manera individual, cada muestra fue introducida en alcohol etílico al 70% por medio minuto, con la ayuda de una pinza algodонера se pasó a una jeringuilla plástica de 60 cc, en la que se succionó aproximadamente 30 cc de hipoclorito de sodio al 1 %, la muestra en el interior de la jeringuilla se realizaba una sola vez un ligero vacío, con la ayuda del embolo de la jeringuilla se agitaba por 2 a 3 veces en el transcurso de un minuto, tiempo suficiente para eliminar los contaminantes externos.

Lavado

Transcurrido el tiempo de esterilización de las muestras, con la ayuda de una pinza algodонера se pasó a una caja petri estéril a la que previamente se adicionó agua estéril, para realizar tres cambios de agua, de 3 minutos cada uno, con el propósito de eliminar el hipo clorito de sodio del material vegetal a emplearse para la siembra. Se evitó que las muestras sean arrastradas por el agua de cambio, sujetando las mismas con una pinza estéril.

Recorte

Las muestras luego de haberse eliminado el cloro de esterilización, con la ayuda de otra pinza de punta fina se pasó a un pedazo de papel periódico estéril o a otra caja estéril para realizar los cortes de siembra. Se sujetó con una pinza la muestra y con las tijeras o bisturí se recortó las hojas y pseudobulbos y obtuvo un tamaño aproximado de 0,2 por 0,2 y 0,5 de cm; en el caso de las raíces, éstas fueron divididas longitudinalmente en 4 partes de aproximadamente 0,5 cm largo.

Siembra en PDA

Las cajas petri que se mantenían en refrigeración, empaquetadas en grupos de 5 cajas, se llevaron al cuarto de cultivo para que adquieran la temperatura ambiental, luego se aplicó alcohol al 70%, fueron flameadas y depositadas en el



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

interior de la cámara de flujo laminar, quedando listas para su uso; cada caja nuevamente fue cuidadosamente flameada especialmente en sus bordes, lo más próximo a la llama de un mechero con la ayuda de los dedos índice y pulgar de la mano izquierda se procedió a destaparlas unos 2 centímetros en uno de sus bordes, con una pinza estéril se tomó cada una de las tres secciones del material vegetal a ser sembrado de la caja petri o papel y se incrustó aproximadamente 0,5 de mm en el medio de cultivo PDA, quedando con una inclinación de 80 ° y a unos 2 centímetros de los bordes, formando un triángulo la ubicación de cada muestra en el interior de las cajas petri, procediéndose inmediatamente a adherir a un costado de la caja petri la etiqueta con el respectivo código de identificación.

Luego de cada siembra se eliminó el papel periódico sobre el que se realizaron los cortes, el área de trabajo se limpió con alcohol al 70%, las pinzas y bisturíes se sumergieron en alcohol y se flameó. Se repitió este procedimiento para cada muestra a ser sembrada en PDA.

Concluidas las siembras, las cajas petri se colocaron de forma invertida en la estufa de cultivo a 22 °C, hasta conseguir el desarrollo del micelio de los hongos. Dependiendo del desarrollo de los hongos, generalmente al tercer y hasta el quinto día, se revisó diariamente y se realizó el aislamiento de las colonias en el momento oportuno, esto es, cuando una colonia inició el proceso de desarrollo.

h. Sub cultivo

El medio de cultivo PDA en tubos de ensayo y cajas petri para el desarrollo de las colonias fúngicas aisladas no contenía ácido láctico para bajar el pH e impedir el desarrollo de bacterias en el medio de cultivo de las cajas petri; el medio de cultivo se dispensó de 4 a 5 centímetros cúbicos por tubo de ensayo de 18 mm de diámetro con tapa plástica, se incrementó la superficie del medio de cultivo en el interior del tubo de ensayo para facilitar los trabajos de repiques o extracción de la muestra; luego de la esterilización del tubo de ensayo más el medio de cultivo, se



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

dejó inclinado hasta su solidificación, se empaquetó en bloques de 15 tubos y conservó en refrigeración a 5 °C hasta su empleo.

La cámara de aislamiento, se limpió externa e internamente con alcohol etílico al 70%, luego se atomizó alcohol etílico; se introdujo todo el material de trabajo, previamente aplicados alcohol y flameados, y procedió a realizar los sub cultivos.

Características de la colonia para repique

Cuando las colonias en el medio de cultivo PDA más ácido láctico, se encontraban visibles, esto es del tamaño de 0,5 a 1 cm de diámetro, se realizó el repique a tubos de ensayo, con una aza de platino se tomó la muestra de uno de sus bordes, evitando tomar el medio de cultivo de la caja petri, inmediatamente se cerraba la caja petri y se tomaba el tubo de ensayo a ser repicado, se procedió a destapar el tubo, a flamear la boca del tubo y se mantuvo lo más próximo a la llama, se introdujo el aza para ser depositado por picado la muestra fúngica, inmediatamente se realizó un nuevo flameado de la boca del tubo previo al tapado, el aza utilizado para la siembra se introdujo en alcohol y se flameó, para la siembra de una nueva colonia se tomaba otra aza fría, proceso que se repitió hasta concluir la siembras de las colonias que se observaban diferentes en cada caja petri.

Para evitar confusiones se mantuvo una organización de depósito de tubos y cajas petri en el interior de la cámara de aislamiento. Concluidos los repiques se procedió al etiquetado de los tubos con los respectivos códigos de la especie de orquídea y fecha de repique.

Los tubos fueron colocados en una gradilla de espuma flex e introducidas en la estufa para el desarrollo de los hongos y pseudohongos, hasta conseguir su esporulación.



i. Toma de muestras para la identificación de los organismos presentes

Tubos de ensayo

Luego del sub cultivo se esperó más de 7 días para conseguir la esporulación, los tubos de ensayo fueron aplicados alcohol y flameados para depositarles en el interior de la cámara de aislamiento, luego se procedió al etiquetado de las placas y a depositar ordenadamente en el interior de la cámara de aislamiento, con el material de trabajo estéril; con una aza se procedió a tomar de cada tubo una muestra del organismo fúngico y colocados en la placa porta objetos previamente adicionado dos gotas de azul de metileno y un cubre objetos para llevar al microscopio para su observación e identificación de los hongos que desarrollaron.

Cámara húmeda

Conseguido el desarrollo fúngico en cámara húmeda, se procedió a extraer la muestra vegetal del interior de las fundas plásticas, con la ayuda de un pedazo de cinta adhesiva se tomó la muestra sobre el síntoma que se identificó y que fue extraído una parte para el cultivo en PDA, sobre una placa porta objetos se colocó 2 gotas de azul de metileno y sobre ésta se depositó la cinta adhesiva para ser llevado a la observación e identificación en el microscopio binocular.

j. Eliminación de medio del cultivo de cajas petri y tubos de ensayo

Luego de haber obtenido el aislamiento de los diferentes organismos desde las siembras o de ser identificado los hongos y pseudohongos desarrollados, los medios de cultivo para su descarte, fueron esterilizados en el autoclave en el interior de un recipiente metálico para evitar que se derrame el PDA en la autoclave. El agar en estado líquido fue eliminado a otro recipiente plástico para su descarte, los tubos de ensayo y cajas petri sin medio de cultivo fueron lavados en agua de grifo.



k. Identificación de hongos y pseudohongos

En base a la revisión bibliográfica de los organismos patógenos fúngicos reportados como aislados en orquídeas, se revisó las características morfológicas y claves de identificación, como actividad previa a la identificación de los microorganismos que desarrollaron en los medios de cultivo y cámara húmeda.

De los organismos fúngicos observados, sus estructuras fueron comparadas con las obtenidas de muestras de otras especies, documentadas fotográficamente, láminas gráficas que se encuentran en los libros de: Illustrated genera of imperfect fungi de Barnett (1972), The genera of fungi sporulating in pure cultura de Arx (1974), claves de identificación e información obtenida en internet para realizar su confirmación del organismo observado y reportar en los registros del laboratorio.

4.3.5. Prueba de patogenicidad

De los cultivos puros aislados y desarrollados en tubos de ensayo con PDA, se extrajeron aproximadamente 0,5 cm² de medio de cultivo con el hongo o pseudohongo, se colocó en un pedazo de algodón al mismo que se adhirió una etiqueta codificada de identificación.

En una de las hojas de orquídea sin ningún síntoma, en primer lugar se realizó un lavado de la superficie de la hoja con la ayuda de un lavador plástico, con una lija número 00 se procedió a realizar un ligero lijado de la superficie de la hoja, luego se lavó con agua estéril la superficie lijada y se depositó el algodón con el hongo, haciendo contacto con el área foliar lijada, el algodón fue humedecido con agua estéril y para evitar que se desplace se procedió a sujetarlo con un pedazo de cinta adhesiva. Depositado el inóculo inmediatamente se procedió a cubrir la hoja inoculada con una funda plástica, el extremo abierto de la funda plástica transparente fue sellada con cinta adhesiva para que se conserve internamente una alta humedad, producto de la transpiración de la hoja.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Para diferenciar entre el síntoma causado por el organismo inoculado y el efecto del lijado, se realizó el trabajo en hojas diferentes de la misma planta.

Mediante observaciones periódicas se evaluó los efectos de las inoculaciones y el lijado y se comparó con el testigo, que solo fue enfundada una hoja sin síntoma alguno.

4.3.6. Documentación fotográfica

Luego de la evaluación realizada en invernadero de la incidencia y severidad de cada especie, se procedió a identificar con una etiqueta adhesiva la especie con su respectivo código e inmediatamente fueron llevadas al laboratorio donde se obtuvo una fotografía digital del síntoma respectivo, de igual manera se procedió a tomar fotografías a través del microscopio de los microorganismos encontrados a nivel de cámara húmeda y desarrolladas en PDA.

4.3.7. Manejo de los resultados

Para el análisis de los datos obtenidos en los invernaderos de incidencia, severidad y de Laboratorio, cámara húmeda y en medio in vitro PDA, se utilizó una hoja de Excel para su digitalización y organización de las informaciones obtenidas.

La incidencia y severidad generó la identificación en filas de las siguientes variables: Número de muestra, código de planta, género y especie, fecha de muestreo, área de la planta con síntoma, número total de plantas, número de plantas con síntomas visibles, incidencia en porcentaje. Para determinar la severidad en el invernadero se consideró: el número de hojas y en cuantas se manifestó el síntoma y se obtuvo su porcentaje, sobre el síntoma que manifestaba la hoja se aplicó la escala gráfica de 5 categorías, de la menor a la mayor categoría en porcentaje. Cada una de ellas representó de 0,1% a 1,9%, de 2% a



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

7,9%, de 8% a 17,9%, de 18% a 41,9% y de 42% al 78%. En la hoja de cálculo Excel se generó 20 entradas con filas y 3 columnas para las áreas de la planta observadas, obteniéndose un total de 60 entradas por cada especie evaluada.

Para el manejo de la información generada en laboratorio por la identificación de los hongos y pseudohongos desarrollados en cámara húmeda, se utilizó otra hoja de cálculo con las siguientes entradas como filas: número de muestra, código de planta, zona del invernadero, género y especie, fecha de muestreo, fecha de observación en el laboratorio y el listado de cada uno de los hongos y pseudohongos posibles a obtenerse, los mismos que fueron: *Alternaria*, *Botrytis*, *Cercospora*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium*, *Phoma*, *Phyllosticta*, *Phytophthora*, Bacterias y otros.

Para el manejo de la información generada en cultivo in vitro se utilizó una hoja de Excel, similar a la utilizada para cámara húmeda, además se incorporó las siguientes filas: fecha de siembra, código de tubo, medio de cultivo, fecha de subcultivo, características de la colonia en el medio de cultivo, tuvo 12 alternativas, en total fueron 38 entradas por colonia.

Para el procesamiento de la información se recurrió al software Access, el mismo que permitió un manejo fluido de los datos.

4.3.8. Identificación de las especies de orquídeas

Para la identificación de las orquídeas con los nombres científicos de las especies nativas ubicadas en los invernaderos, se recurrió a los cinco tomos de identificación de Dotson (2004), Pridgeon (2006) y Zelenko (2002), con un proceso de 5 años de trabajo, nombres científicos y códigos utilizados y que constan en las diferentes entradas de evaluaciones y resultados obtenidos en los invernaderos y laboratorio y manejados como base de datos en Excel.



V.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las evaluaciones realizadas a las plantas de orquídeas de los síntomas visibles en las hojas, pseudobulbos, raíces y cápsulas en los invernaderos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca, de la incidencia y severidad, observación directa de las muestras, desarrollo en cámara húmeda, cultivo en PDA e inoculaciones, se obtuvieron los siguientes resultados de los hongos y pseudohongos.

5.1. Evaluación de la incidencia y severidad

5.1.1. Incidencia

Cuadro N. 1. Incidencias en porcentajes de plantas que presentaron síntomas distribuidos por áreas de la planta

Área	Evaluaciones		
	#	%	1650 Plantas
Hoja	165	93,22	10,00
Raíz	6	3,39	0,36
Pseudobulbos	5	2,82	0,30
Cápsula	1	0,56	0,06
TOTAL	177	100,00	10,73

La incidencia fue del 10,73% de 1650 plantas que corresponde a 177 plantas, cuadro N. 1, 2.

En el cuadro N. 1, se encuentra la distribución dentro del grupo de plantas que presentaron síntomas de incidencia de enfermedades, de un total de 177 evaluaciones positivas, de las cuales 165 corresponden al área foliar y en



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

porcentaje representó el 93,22%, que fue la de mayor presencia de síntomas en el follaje. En todo el invernadero se encontró en 6 plantas que sus sistemas radiculares presentaron síntomas visibles de incidencia de patógenos, en porcentaje representa el 3,39% de total de plantas con síntomas, como también se encontró en 5 pseudobulbos que representa el 2,82%. En 2 cápsulas en desarrollo de semillas se encontró solamente en 1 planta y esto es el 0,56% de incidencia dentro del grupo de plantas que manifestaron síntomas visibles.

De la evaluación de los 177 géneros y especies, se encontró con el 30,51% de incidencia de hongos y pseudohongos patógenos en el género *Maxillaria*, y en los invernaderos representó el 3,27%, seguido en importancia por el género *Pleurothallis* con 30 plantas que manifestaron síntomas, en porcentaje representó el 1,82% de incidencia en los invernaderos, a continuación se ubicaron los géneros de orquídeas no identificadas con 14 plantas que representó 0,85%, *Stelis* manifestó el 0,73%, *Oncidium* presentó el 0,61%, *Anguloa* se ubicó con el 0,48%, *Epidendrum* con el 0,42%, *Cyrtochilum* tuvo el 0,36%, *Restrepia* presentó el 0,30%, los géneros *Masdevallia* y *Stanhopea* coincidieron con el 0,24%, *Cattleya*, *Dracula* y *Odontoglossum* con el 0,18%, *Cochlioda*, *Ida* y *Phragmipedium* se determinó con el 0,12% y con el 0,06% se encontró en los géneros: *Brassia*, *Gongora*, *Lepanthes*, *Mormodes*, *Prosthechea*, *Symphoglossum*, *Trigonidium* y *Xilovium*, cuadro N. 2.



Cuadro N. 2. Géneros de orquídeas e incidencia en los invernaderos y umbráculos

Género	Plantas con síntomas	Porcentaje	
		De 177 plantas con síntomas	1650 total de plantas
No identificado	14	7,91	0,85
<i>Anguloa</i>	8	4,52	0,48
<i>Brassia</i>	1	0,56	0,06
<i>Cattleya</i>	3	1,69	0,18
<i>Cochlioda</i>	2	1,13	0,12
<i>Cyrtochilum</i>	6	3,39	0,36
<i>Dracula</i>	3	1,69	0,18
<i>Epidendrum</i>	7	3,95	0,42
<i>Gongora</i>	1	0,56	0,06
<i>Ida</i>	2	1,13	0,12
<i>Lepanthes</i>	1	0,56	0,06
<i>Masdevallia</i>	4	2,26	0,24
<i>Maxillaria</i>	54	30,51	3,27
<i>Mormodes</i>	1	0,56	0,06
<i>Odontoglossum</i>	3	1,69	0,18
<i>Oncidium</i>	10	5,65	0,61
<i>Phragmipedium</i>	2	1,13	0,12
<i>Pleurothallis</i>	30	16,95	1,82
<i>Prosthechea</i>	1	0,56	0,06
<i>Restrepia</i>	5	2,82	0,30
<i>Stanhopea</i>	4	2,26	0,24
<i>Stelis</i>	12	6,78	0,73
<i>Symphyglossum</i>	1	0,56	0,06
<i>Trigonidium</i>	1	0,56	0,06
<i>Xilovium</i>	1	0,56	0,06
Total general	177	100,00	10,73



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Entre las 1650 plantas (anexos N. 3 y 4), que se disponen en el orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, se mantienen 48 géneros, los mismos que son: *Ada*, *Andinia*, *Anguloa*, *Barbocella*, *Brassia*, *Cattleya*, *Caucaea*, *Chondrorhyncha*, *Cochlioda*, *Comparettia*, *Cyrtochilum*, *Dracula*, *Elleanthus*, *Encyclea*, *Epidendrum*, *Fernandezia*, *Gongora*, *Helcia*, *Huntleya*, *Ida*, *Kefersteinia*, *Lepanthes*, *Masdevallia*, *Maxillaria*, *Mesospinidium*, *Miltoniopsis*, *Mormodes*, *Mormolica*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Phragmipedium*, *Platystele*, *Pleurothallis*, *Polystachya*, *Prosthechea*, *Restrepia*, *Rodriguezia*, *Stanhopea*, *Stelis*, *Stenorrhynchos*, *Symphyglossum*, *Trichocentrum*, *Trichoceros*, *Trichosalpinx*, *Trigonidium*, *Xilovium* y *Zootrophion*; además de un grupo de plantas por no encontrarse en floración o codificadas, no se pudo realizar la identificación correspondiente, manejándose la información como plantas no identificadas, dando como resultado 164 géneros y especies identificadas.

Se encontraron libres de síntomas visibles el 89,27% de plantas de orquídeas en sus raíces, pseudobulbos, pecíolos, hojas, tallos florales y cápsulas. Noventa y un géneros y especies no manifestaron síntomas visibles hasta la última evaluación y estas fueron las siguientes: *Ada pozoi*, *Andinia schizopogon*, *Barbocella* sp., *Brassia arcuigera*, *B. caudata*, *B. lawrenceana*, *Cattleya máxima*, *Caucaea olivaceum*, *C. phalaenopsis*, *Chondrorhynchia viridisepala*, *Comparettia speciosa*, *Cyrtochilum edwardi*, *C. pastasae*, *C. polixantum*, *Dracula* sp., *D. felix*, *Elleanthus towarensis*, *E. myrosmatis*, *Encyclia fragans*, *Epidendrum cilindrostachis*, *E. coryophorum*, *E. nocturnum*, *E. schistochilum*, *Fernandezia* sp., *Gongora ecornuta*, *G. scaphephorus*, *Helcia sanguínea*, *Huntleya heteróclita*, *Ida denningiana*, *I. xitrophora*, *Kefersteinia lindneni*, *Lepanthes aculeata*, *Masdevallia brachyura*, *M. ensata*, *M. fractiflexa*, *M. guttulata*, *M. hercules*, *M. leucantha*, *M. maloi*, *M. pachyura* y una especie no identificada de *Masdevallia*, *Maxillaria* sp. (lacre), *M. lepidota*, *M. ochroleuca*, *M. perryae* y *M. pulla*, *Mesospinidium afín warcewiceii*, *Miltoniopsis vexillaria*, *Mormolica* sp., *Odontoglossum cirrossum*, *O. cristatellum*, *O. harryanum* y *O. lindleyanum*, *Oncidium abortivum*, *O. acinaceum*, *O. alticola*, *O.*



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

aureum, *O. cimicipherum*, *O. globuliferum*, *O. heteranthum*, *O. hyphaematicum* y *O. nubigenum*, *Phragmipedium dalessandroi* y *P. lindenii*, *Platystele densiflora*, *Pleurothallis acuminata*, *P. argentata*, *P. flexuosa*, *P. hemirhoda*, *P. lanceana*, *P. lilijae*, *P. secunda* y *P. truncata*, *Rodriguezia batemanii*, *Stenorrhynchos speciosum*, *Trichocentrum pulchrum*, *Trichoceros antennifer*, *T. muralis*, *T. oñaensis* y una especie proveniente de Loja sin identificar, *Trichosalpinx* sp., *Trigonidium insigne*, *Xilovium leontoglossum* y *Zootrophion Griffin*. Anexo N. 4.

5.1.1.2.- Severidad

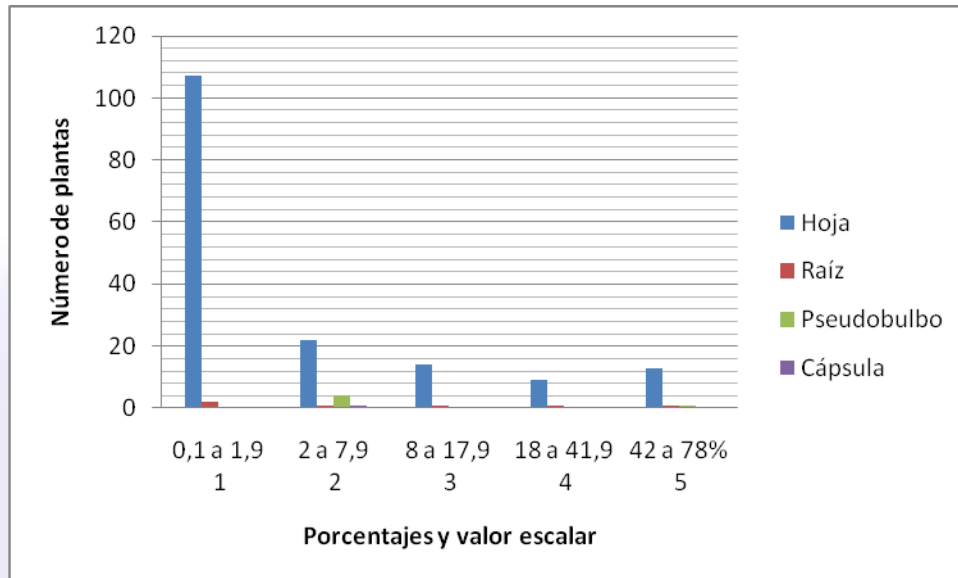
Cuadro N. 3. Severidad en plantas que presentaron síntomas distribuida por áreas de la planta

Área	Plantas		Severidad en número				
	#	%	0,1 a 1,9 1	2 a 7,9 2	8 a 17,9 3	18 a 41,9 4	42 a 78% 5
Hoja	165	93,22	107	22	14	9	13
Raíz	6	3,39	2	1	1	1	1
Pseudobulbos	5	2,82	0	4	0	0	1
Cápsula	1	0,56	0	1	0	0	0
TOTAL	177	100	109	28	15	10	15
Total en porcentaje			61,58	15,82	8,47	5,65	8,47



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Gráfico N. 1. Severidad en plantas que presentaron síntomas visibles distribuidos por áreas de la planta



La severidad evaluada por observación directa de las plantas que manifestaron síntomas en los invernaderos y mediante la aplicación de una escala anexo N. 2 previamente elaborada, generó la siguiente información:

Con los mayores valores de severidad superior al 42 % que corresponde al valor escala de 5, con lesiones en las hojas, están las siguientes géneros de orquídeas: *Pleurothallis*, *Stelis*, *Oncidium*, *Stanhopea*, *Odontoglossum* y el género de orquídeas no identificada; además en *Oncidium* con afección de pseudobulbos y en sus raíces con síntomas visibles. Anexo 5.

Con un valor escalar de 4, que corresponde a una severidad entre 18 al 41,9% se encontró en: *Maxillaria* con afecciones a nivel de hojas y raíces, sólo en sus hojas se presentó en el grupo de orquídeas no identificadas el género, además en *Stelis*, *Pleurothallis* y en *Epidendrum*.

Con una severidad de 3 de acuerdo al valor escalar que corresponde a porcentajes del 8 al 17,9%, con afecciones en las hojas se encontró los siguientes



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

géneros: *Cyrtorchilum*, *Maxillaria*, *Pleurothallis*, *Maxillaria*, *Epidendrum* y un grupo de 4 especies de orquídeas no identificadas.

En 20 especies, se encontró con una severidad de 2 de acuerdo al valor escalar que corresponde a porcentajes comprendidos entre el 2 y el 7,9%, con afecciones en las hojas se manifestó en los siguientes géneros: *Dracula*, *Stelis*, *Pleurothallis*, *Maxillaria*, *Restrepia*, *Oncidium*, *Xilovium*, *Anguloa*, *Epidendrum* y en una orquídea no identificada; en sus raíces afectadas se encontró en una planta de *Anguloa*, además de 3 pseudobulbos y en *Oncidium* en una planta en su cápsula. Anexo N. 5, cuadro N. 4 (géneros).

Con un valor escalar de 1 que corresponde a un porcentaje entre el 0,1 al 1,9% considerada como de baja severidad se encuentran 79 especies de orquídeas distribuidas en los siguientes géneros: en *Cochlioda*, *Cyrtorchilum*, *Dracula*, *Epidendrum*, *Gongora*, *Lepanthes*, *Masdevallia*, *Maxillaria*, *Mormodes*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Phragmipedium*, *Pleurothallis*, *Prosthechea*, *Restrepia*, *Stanhopea*, *Symphoglossum*, *Trigonidium*; en las raíces se encontró en *Brassia* y en una de las orquídeas no identificada el género, datos que se encuentran en el anexo N. 5, cuadro N. 4.(géneros).

Del cuadro N. 3. y gráfico N. 1, se desprende que del total de 1650 plantas en el invernadero, anexo 3, en 177 esto es el 10,73% del total de plantas en el invernadero; en las hojas se presentó en 165 casos de los cuales 107 corresponde a valores bajos de la presencia de síntomas entre el 0,1 y 1,9% de cobertura de la lámina foliar, con 22 casos se encontró a la presencia de síntomas en el rango del 2 y 7,9%, en importancia se encuentran las manifestaciones de los valores escalares de severidades 3 y 5 comprendidos entre el 8 al 17,9%, con 14 casos y con 13 están la presencia de síntomas mayores al 42% del área foliar afectada valor que manifiesta la pérdida de la hoja; la severidad categoría 4 que corresponde a valores en porcentaje del 18 al 41,9% de manifestaciones de síntomas en el follaje se ubicó a 9 casos. Anexo N 5.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

En el sistema radicular la severidad tuvo una distribución de un caso en cada una de los 5 grupos escalares, anexo 5, a excepción del primer grupo se presentó en 2 casos, la pérdida del sistema radicular implica que la planta puede llegar a morir si la orquídea no es capaz de formar un nuevo sistema radicular.

Una alta presencia de síntomas en los pseudobulbos sobre el 42% se obtuvo en un solo caso, y en 4 plantas la manifestación visible de los síntomas, su valoración fue entre el rango del 2 al 7,9% por su área dañada.

Manifestaciones de síntomas en las cápsulas se localizó en una sola planta en la que su valoración del daño se ubicó entre el 2 y 7,9% que corresponde al valor escalar 2.



Cuadro N. 4. Géneros de orquídeas, severidad en número de casos por rangos de categorías en los invernaderos y umbráculos

Género	Severidad en número					Total
	0,1 a 1,9	2 a 7,9	8 a 17,9	18 a 41,9	42 al 100 %	
No identificado	3	1	4	4	2	14
<i>Anguloa</i>	3	5				8
<i>Brassia</i>	1					1
<i>Cattleya</i>	3					3
<i>Cochlioda</i>	2					2
<i>Cyrtorchilum</i>	4		1		1	6
<i>Dracula</i>	1	2				3
<i>Epidendrum</i>	4	1		2		7
<i>Gongora</i>	1					1
<i>Ida</i>	2					2
<i>Lepanthes</i>	1					1
<i>Masdevallia</i>	3		1			4
<i>Maxillaria</i>	41	6	5	2		54
<i>Mormodes</i>	1					1
<i>Odontoglossum</i>	3					3
<i>Oncidium</i>	2	2			6	10
<i>Phragmipedium</i>	2					2
<i>Pleurothallis</i>	17	4	4	1	4	30
<i>Prosthechea</i>	1					1
<i>Restrepia</i>	3	2				5
<i>Stanhopea</i>	3				1	4
<i>Stelis</i>	6	4		1	1	12
<i>Symphoglossum</i>	1					1
<i>Trigonidium</i>	1					1
<i>Xilovium</i>		1				1
Total general	109	28	15	10	15	177
Porcentajes	61,58	15,82	8,47	5,65	8,47	100



5.2. Determinación de hongos y pseudohongos patógenos

5.2.1. Observación directa de las muestras

Concluida la evaluación de la incidencia y severidad en los invernaderos, se procedió a la toma de muestras con presencia de síntomas en el invernadero. De las muestras debidamente procesadas, e identificadas se llevaron a la observación bajo el microscopio, visualmente no se detectó presencia de micelio o esporulación sobre los síntomas al ser observadas bajo la magnificación de 10, 20 y 40 x 10 aumentos, debido a las condiciones desfavorables en el manejo del invernadero para la producción de estructuras fúngicas.

5.2.2. Desarrollo en cámara húmeda

Luego de la identificación y procesamiento de las muestras, se dio las condiciones ideales en sustrato, humedad y temperatura para favorecer el desarrollo fúngico. Foto N. 1, 2 y 3.

Con un tiempo de permanencia entre un mínimo de cuatro días y un máximo de 23 días y como resultado promedio se obtuvo de 14 días con una desviación estándar de 6 días cuadro N. 4, se obtuvo el desarrollo de micelio y esporulación de las respectivas muestras para la observación bajo el microscopio y la identificación de los hongos que desarrollaron como también de los patógenos presentes en cada una de las muestras que manifestaron síntomas visibles.

Cuadro N. 5. Número de días hasta conseguir la esporulación en cámara húmeda

Valor	# días
Máximo	23
Mínimo	4
Promedio	14
Desviación estándar	6



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

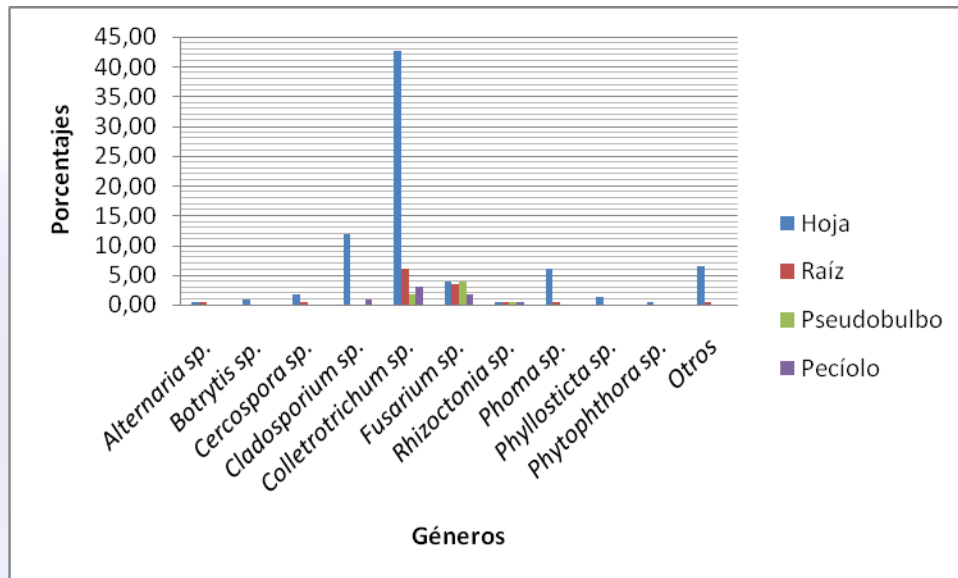
Se generó un ingreso de 136 muestras repartidas de la siguiente manera a nivel de láminas foliares fueron 125 muestras, en pecíolos 11, de pseudobulbos 9 y de raíces 16, en 15 casos se tomó 2 muestras de la misma especie que aparentemente correspondía a otra sintomatología.

Cuadro N. 6. Géneros de hongos y pseudohongos por partes de la planta distribuidos en número de desarrollos en cámara húmeda y en porcentajes

Género	Número	Hoja		Raíz		Pseudobulbo		Pecíolo		Total	% Plantas invernadero
		Número	% General	Número	% General	Número	% General	Número	% General		
<i>Alternaria</i> sp.	2	1	0,43	1	0,43	0	0,00	0	0,00	0,87	0,12
<i>Botrytis</i> sp.	2	2	0,87	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0,87	0,12
<i>Cercospora</i> sp.	5	4	1,74	1	0,43	0	0,00	0	0,00	2,17	0,30
<i>Cladosporium</i> sp.	29	27	11,74	0	0,00	0	0,00	2	0,87	12,61	1,76
<i>Colletotrichum</i> sp.	123	98	42,61	14	6,09	4	1,74	7	3,04	53,48	7,45
<i>Fusarium</i> sp.	30	9	3,91	8	3,48	9	3,91	4	1,74	13,04	1,82
<i>Phoma</i> sp.	15	14	6,09	1	0,43	0	0,00	0	0,00	6,52	0,91
<i>Phyllosticta</i> sp.	3	3	1,30	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1,30	0,18
<i>Phytophthora</i> sp.	1	1	0,43	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0,43	0,06
<i>Rhizoctonia</i> sp.	4	1	0,43	1	0,43	1	0,43	1	0,43	1,74	0,24
Otros	16	15	6,52	1	0,43	0	0,00	0	0,00	6,96	0,97
Total	230	175	76,09	27	11,74	14	6,09	14	6,09	100,00	13,94



Gráfico N. 2. Géneros de hongos y pseudohongos por partes de la planta distribuidos en número de desarrollos en cámara húmeda y en porcentajes



Se identificaron a 14 géneros de hongos y pseudohongos, con un total de 230 identificaciones que corresponde al 13,94% de la población de plantas de los invernaderos, distribuida de la siguiente manera: en 123 casos se identificó a *Colletotrichum* sp. que representa el 53,48% entre hongos desarrollados en cámara húmeda y el 7,45% a nivel de invernadero; *Fusarium* sp. su distribución en porcentaje fue del 13,04% que corresponde a 30 casos; *Cladosporium* sp. se presentó en 29 casos que corresponde al 12,61%, considerado como un hongo saprófito; de 16 muestras se agrupó dentro de otros géneros, entre los principales se encontró a *Macrophoma* sp., *Penicillium* sp. y otros hongos no identificados; el género de hongo *Phoma* sp. se encontró en 15 casos, sus porcentajes representan el 6,09 en hojas y es el 6,52% del total de hongos desarrollados; se determinó en 5 muestras que constituye 2,17% para *Cercospora* sp., *Rhizoctonia* sp. se manifestó en 4 placas que representó el 1,74%; *Phyllosticta* sp. se encontró en 3 casos e integra el 1,30% del total de hongos desarrollados; *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp., desarrolló en 2 muestras en cámara húmeda que en porcentajes



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

representan el 0,87% y el pseudohongo *Phytophthora* sp., se encontró en una sola muestra que representa el 0,43%. Cuadro N. 6, gráfico N. 2.

Alternaria sp., se desarrolló en muestras de dos especies: *Maxillaria splendens* y en *Oncidium* sp., anexo N. 6, de las hojas de *Maxillaria splendens* se obtuvo un solo desarrollo que representa el 0,43% para cada una de las especies. Representa el 0,12% de afección en los invernaderos. Cuadro N. 6, gráfico N. 2.

Botrytis sp., se manifestó en dos especies de *Maxillaria grandis* y *M. turkeliae*, representa el 1,14% de hongos desarrollados sobre el área foliar, es el 0,87% del total de hongos desarrollados en cámara húmeda y le corresponde el 0,12% de presencia entre las plantas de los invernaderos, cuadro N.6 y anexo N. 6.

Cercospora sp., se obtuvo en las siguientes muestras: de las raíces de una planta no identificado el género ni la especie, representa el 0,43%; además en *Encyclia*, *Maxillaria* y *Stelis* sp. en porcentaje representa el 1,74% del total de hongos desarrollados en el área foliar; en el orquideario entre las 1650 plantas su presencia representa 0,30%. Cuadro N. 6.

Cladosporium sp., considerado como un hongo saprófito se desarrolló en 29 muestras de los siguientes géneros de orquídeas, en hojas de: *Cattleya*, *Ida*, *Lepanthes*, *Maxillaria*, *Oncidium*, *Pleurothallis*, *Stanhopea*, *Stelis*, *Xilovium* y una planta no identificada el género; en pecíolos de los géneros: *Maxillaria* y *Pleurothallis*. Anexo N. 6. teniendo una distribución del 11,74% y el 0,87% desarrollados en las hojas y pecíolos; del total de plantas representa el 1,76% de presencia de este hongo.

Colletotrichum sp., mediante el desarrollo en cámara húmeda se determinó en 98 muestras de hojas de las siguientes orquídeas: *Cattleya* sp., *Cochlioda*, *Cyrtochilum*, *Dracula*, *Encyclia* sp., *Epidendrum*, *Gongora*, *Lepanthes*, *Masdevallia*, *Maxillaria*, *Mormodes*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Phragmipedium*, *Pleurothallis*, *Restrepia*, *Stanhopea*, *Stelis*, *Symphoglossum* y *Xilovium*, y en un



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

género no identificado, con un total de 123 identificaciones de este hongo que representa el 42,61% de presencia en el follaje. En sus raíces se desarrolló en *Anguloa*, *Brassia*, *Masdevallia* y en *Pleurothallis*. En *Oncidium* en 10 muestras se encontró en sus pseudobulbos y pecíolos de hojas.

La distribución por áreas de las plantas de orquídeas fue la siguiente: en las hojas se determinó con el 42,61%, en las raíces el 6,09%, en los pseudobulbos el 1,74% y en los pecíolos fue del 3,04%, siendo los valores porcentuales más altos encontrados, que corresponde a una mayor presencia en todas las partes de las plantas de orquídeas. *Colletotrichum* sp. tuvo una distribución en los invernaderos y en las plantas de orquídeas del 7,45%. Cuadro N. 6 y gráfico N. 2.

Fusarium sp., con el 3,91%, se manifestó en los siguientes géneros de orquídeas: *Cyrtorchilum*, *Epidendrum*, *Oncidium* y en una planta de orquídea no identificada el género, con un valor total de 30 casos de tejido de orquídeas muestreados y colocados en cámara húmeda que resultó positivo para este hongo, su distribución fue la siguiente: en 9 placas preparadas de las hojas que representa el 3,91%; de su sistema radicular se obtuvo de: *Brassia* y en 7 muestras de *Oncidium*, equivale al 3,48% que es el segundo en importancia por su porcentaje y en pseudobulbos ocupa el primer lugar con el 3,91%, además se presentó en 4 muestras de pecíolos que le corresponde al 1,74%. La distribución de este hongo en los invernaderos le corresponde una presencia en porcentaje del 1,82%. Anexo N. 6 y cuadro N. 6.

Rhizoctonia sp., se manifestó en el área foliar de *Maxillaria*, representa el 0,43%; en las raíces del género *Oncidium*, en los pseudobulbos de *Anguloa* y en los pecíolos de *Pleurothallis* se manifestó con el 0,43% que corresponde al 1,74% de la distribución entre géneros de hongos y su manifestación en los invernaderos fue del 0,24% del total de plantas.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Phoma sp., se manifestó en las siguientes géneros: *Cyrtochilum*, *Dracula*, *Masdevallia*, *Maxillaria*, *Oncidium*, *Pleurothallis* sp., *Stanhopea* y en una no identificada el género ni la especie, con un total de 14 muestras, en porcentaje representa el 6.09% en el área foliar, como también en el sistema radicular de *Anguloa* en porcentaje le corresponde el 0,43%; se manifestó con el 6,52% de distribución entre los géneros de hongos y del total de plantas en el orquideario representa el 0,91%. Cuadro N. 6, anexo 6.

Phyllosticta sp., su desarrollo se dio en 3 muestras de los siguientes géneros de orquídeas en su área foliar de: *Epidendrum*, *Pleurothallis* y en *Stelis*, le corresponde el 1,30% y entre todas las plantas de los invernaderos le corresponde el 0,18% de presencia de este hongo.

Phytophthora sp., de sus síntomas en las hojas de *Epidendrum*, puesto en cámara húmeda, desarrolló el micelio y zoosporangio que permitió su identificación, se manifestó en una muestra de las puestas en cámara húmeda, en porcentaje es el 0,43% del total de hongos presentes en las diferentes áreas de la plantas y su presencia del total de plantas de los invernaderos fue del 0,06%.

Dentro del grupo "otros hongos" se encontró en 16 casos en las siguientes orquídeas: *Cochlioda*, *Epidendrum*, *Gongora*, *Maxillaria*, *Pleurothallis*, *Stelis* sp. en dos plantas de orquídeas que no se identificó por falta de floración y en el sistema radicular de *Anguloa*. Se manifestaron en el follaje con 6,52% y en el sistema radicular con el 0,43%, entre todas las orquídeas de los invernaderos se determinó el 0,97% de presencia.

5.2.2.1. Asociación entre hongos

La presencia de un solo organismo fúngico tuvo la siguiente distribución: en *Colletotrichum* sp. se manifestó con el 56,9% como el de mayor porcentaje de organismos puros, *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp. con el 50,00% de organismos fúngicos puros que se desarrolló en cámara húmeda con mayor



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

frecuencia se manifestó *Fusarium* sp., en orden decreciente se encuentran: *Phyllosticta* con el 33,3%, *Cladosporium* sp. se ubicó con el 24,1%, *Phoma* sp. con el 13,3% y *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia* sp., *Cercospora* sp., y el grupo de otros hongos en cámara húmeda no se obtuvo en las muestras puras observadas en el microscopio. Cuadro N. 7, se encuentran todas las combinaciones entre los hongos que se manifestaron en cámara húmeda.

Cuadro N. 7. Número de géneros de hongos y pseudohongos en asociación y desarrollos puros identificados bajo el microscopio

Género	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Botrytis</i> sp.	<i>Cercospora</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Rhizoctonia</i> sp.	<i>Phyllosticta</i> sp.	<i>Phytophthora</i> sp.	<i>Phoma</i> sp.	Otros
<i>Alternaria</i> sp.	x	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Botrytis</i> sp.	0	x	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cercospora</i> sp.	0	0	x	1	3	0	0	0	1	0	0
<i>Cladosporium</i> sp.	0	1	1	x	32	1	2	0	0	5	10
<i>Colletotrichum</i> sp.	1	0	3	32	x	20	4	1	0	10	0
<i>Fusarium</i> sp.	0	0	0	1	20	x	1	0	0	0	1
<i>Rhizoctonia</i> sp.	0	0	0	2	4	1	x	0	0	0	0
<i>Phyllosticta</i> sp.	0	0	0	0	1	0	0	x	0	0	1
<i>Phytophthora</i> sp.	0	0	1	0	1	0	0	0	x	0	0
<i>Phoma</i> sp.	0	0	0	5	10	1	0	0	0	x	0
Otros	0	0	0	10	0	1	0	1	1	3	x
Total	2	2	5	29	123	30	4	3	1	15	16
Colonias puras	1	1	0	7	70	15	0	1	0	2	0
% de colonias puras	50,0	50,0	0,0	24,1	56,9	50,0	0,0	33,3	0,0	13,3	0,0

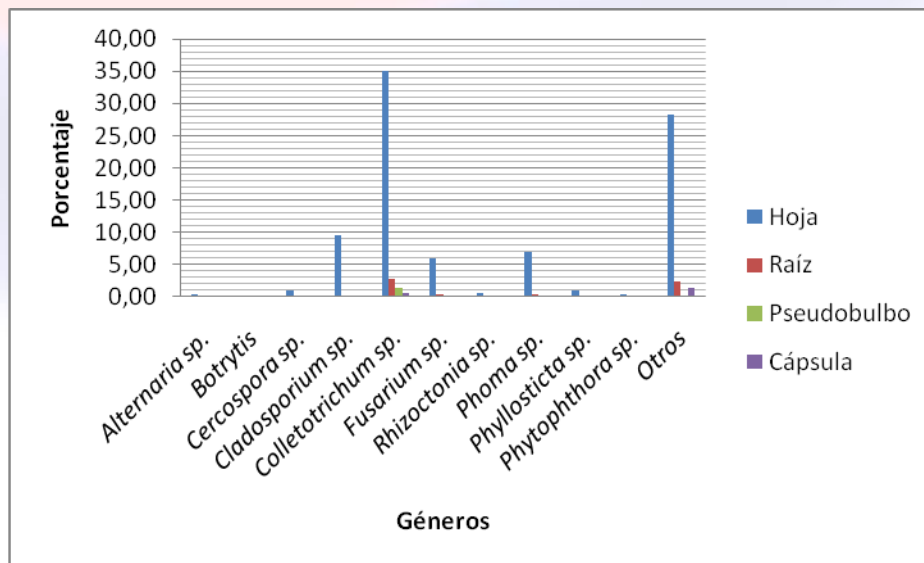


5.2.3. Cultivo en PDA

Cuadro N. 8. Géneros de hongos y pseudohongos por partes de la planta distribuidos en número y porcentaje de desarrollos en medio de cultivo PDA

Género	Número	Hoja		Raíz		Pseudobulbo		Cápsula		Total	% Plantas Invernadero
		Número	% General	Número	% General	Número	% General	Número	% General		
<i>Alternaria</i> sp.	2	2	0,46	0	0	0	0	0	0	0,46	0,12
<i>Botrytis</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cercospora</i> sp.	4	4	0,93	0	0	0	0	0	0	0,93	0,24
<i>Cladosporium</i> sp.	43	41	9,49	1	0,23	0	0	1	0,23	9,95	2,61
<i>Colletotrichum</i> sp.	172	151	34,95	12	2,78	6	1,39	3	0,69	39,81	10,42
<i>Fusarium</i> sp.	29	26	6,02	2	0,46	1	0,23	0	0	6,71	1,76
<i>Rhizoctonia</i> sp.	4	3	0,69	1	0,23	0	0	0	0	0,93	0,24
<i>Phoma</i> sp.	32	30	6,94	2	0,46	0	0	0	0	7,41	1,94
<i>Phyllosticta</i> sp.	5	4	0,93	1	0,23	0	0	0	0	1,16	0,3
<i>Phytophthora</i> sp.	2	2	0,46	0	0	0	0	0	0	0,46	0,12
Otros	139	122	28,24	10	2,31	1	0,23	6	1,39	32,18	8,42
Total	432	385	89,12	29	6,71	8	1,85	10	2,31	100	26,18

Grafico N. 3. Porcentajes de géneros de hongos y pseudohongos de las plantas con síntomas distribuidos por áreas de la planta, obtenidos en el medio de cultivo PDA.





Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

De las 136 muestras sembradas en el medio de cultivo PDA, se generó 432 subcultivos y se obtuvo los siguientes datos: en 172 casos se desarrolló *Colletotrichum* sp. que representa el 39,81%; el hongo *Phoma* sp., el 7,41%; *Fusarium* sp., el 6,71%; y *Phyllosticta* sp., con el 1,16%; *Cercospora* sp. y *Rhizoctonia* sp. se aisló en 4 tubos de ensayo y se consiguió su desarrollo de cada uno de los hongos que corresponde al 0,93%; en 2 medios de cultivo con PDA se obtuvo a *Alternaria* sp. y al pseudohongo *Phytophthora* sp. que representa el 0,46% de acuerdo a la distribución en porcentajes entre los hongos y pseudohongos subcultivados. Datos del anexo y cuadro N. 7 y gráfico N. 3.

El desarrollo de los hongos y pseudohongos en PDA se obtuvo los siguientes resultados para: *Alternaria* sp., el 0,46% en los géneros: *Epidendrum* y *Stanhopea*, entre todas las plantas del invernadero su presencia fue del 0,12%.

Cercospora sp., se aisló del área foliar de 3 géneros que son: *Restrepia*, *Pleurothallis* y de un género no identificado, en porcentaje representa el 0,93% y su distribución entre todas las plantas le corresponde al 0,24%.

Cladosporium sp., se presentó en 43 sub cultivos que representa el 9,95% de aislamientos, de las hojas se aisló en 41 subcultivos en PDA, de los géneros: *Cochlioda*, *Cyrtochilum*, *Dracula*, *Lepanthes*, *Masdevallia*, *Maxillaria*, *Oncidium*, *Pleurothallis*, *Prosthechea*, *Stelis* y en un género no identificado, en porcentaje representa el 9,49% y en el sistema radicular y cápsula de *Oncidium*, se determinó el 2,61% entre todas la plantas de los invernaderos.

Colletotrichum sp., se desarrolló en 172 sub cultivos con el 39,81% del total del hongos aislados en medio de cultivo PDA, en los siguientes géneros: del área foliar se obtuvo 151 casos positivos que representa el 34,95% en los géneros: *Anguloa*, *Brassia*, *Cattleya*, *Cochlioda*, *Cyrtochilum*, *Dracula*, *Epidendrum*, *Ida*, *Lepanthes*, *Masdevallia*, *Maxillaria*, *Mormodes*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Phragmipedium*, *Pleurothallis*, *Prosthechea*, *Restrepia*, *Stanhopea*, *Stelis*,



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Symphyglossum y en una muestra no identificada el género; con el 2,78% a nivel de raíz en: *Anguloa*, *Brassia*, *Oncidium* y de una planta no identificada en 9 muestras, en total se obtuvo de 12 siembras de sus raíces. En los pseudobulbos de *Oncidium* y *Maxillaria* con 6 aislamientos este hongo representó el 1,39% además se encontró en las cápsula de *Oncidium* en porcentaje fue el 0,69% de la distribución por partes de las plantas. En medio de cultivo fue el hongo reportado como patógeno con mayor presencia en los aislamientos, representa el 39,81% y a nivel de invernaderos su presencia fue del 10,42%. Cuadro N. 7, gráfico N. 3 y anexo N. 7.

Fusarium sp., se determinó en 26 subcultivos con el 6,75%. En las hojas se encontró en los géneros: *Cyrtochilum*, *Epidendrum*, *Gongora*, *Ida*, *Maxillaria*, *Oncidium*, *Phragmipedium*, *Pleurothallis*, *Stanhopea* y de una planta no identificada; de raíces en 2 subcultivos con el 0,46% del género *Brassia*; también se aisló en los pseudobulbos de *Oncidium* que representa el 0,23%, su presencia en los invernaderos se estimó en el 1,76%.

Rhizoctonia sp., se identificó en las hojas en dos géneros: *Gongora* y *Oncidium* con el 0,69% y en raíces de *Oncidium* con el 0,23%; le corresponde el 0,24% entre todas las plantas del orquideario.

Phoma sp., desarrolló en 30 muestras de sub cultivos del follaje y en 2 del sistema radicular, en porcentajes representan el 6,94 y 0,46% respectivamente, en los géneros: *Anguloa*, *Cyrtochilum*, *Dracula*, *Epidendrum*, *Maxillaria*, *Odontoglossum*, en *Oncidium*, *Phragmipedium*, *Pleurothallis*, *Restrepia*, *Stelis*, *Xilovium* y de una planta no identificada, con el 1,94% entre todas las plantas de orquídeas.

Phyllosticta sp., se encontró en: *Anguloa*, *Cyrtochilum*, *Dracula*, *Odontoglossum* y *Oncidium*. En porcentaje representa el 0,93% en el área foliar y en el sistema radicular con el 0,23% en *Anguloa* y entre todas las plantas de los invernaderos con el 0,30%.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Phytophthora sp., se encontró en *Epidendrum* con el 0,46% en el área foliar, y su distribución entre todas las plantas es el 0,12%.

Los hongos no identificados desarrollados de hojas, se obtuvo de los géneros: *Anguloa*, *Cattleya*, *Cochlioda*, *Cyrtochilum*, *Dracula*, *Epidendrum*, *Ida*, *Lepanthes*, *Masdevallia*, *Maxillaria*, *Mormodes*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Phragmipedium*, *Pleurothallis*, *Prosthechea*, *Restrepia*, *Stanhopea*, *Stelis*, *Symphyglossum* y de una planta no identificada, con el 28,24%. De raíces se encontró en *Masdevallia* y en *Oncidium*. De los 139 casos, 122 de fueron de hojas; en raíces con el 2,31%, de pseudobulbos con el 0,23% y en 6 casos de cápsulas de *Oncidium*, representa el 1,39. Entre todas las plantas del invernadero le corresponde el 8,42%.

5.2.3.1. Colonias de hongos y pseudohongos puros y en asociación

Fusarium sp., se presentó colonias puras en el 31%, en un caso se encontró con *Rhizoctonia* sp. y en 10, mezclado con organismos fúngicos que integraron el grupo de otros hongos; se desarrolló el 28,5% de colonias puras el género de hongo patógeno *Colletotrichum* sp., colonias que se manifestaron de color negro en el medio de cultivo PDA.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Cuadro N. 9. Número de géneros de hongos y pseudohongos en asociación y puros desarrollados en medio de cultivo PDA e identificados microscópicamente

Género	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Botrytis</i> sp.	<i>Cercospora</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Rhizoctonia</i> sp.	<i>Phyllosticta</i> sp.	<i>Phytophthora</i> sp.	<i>Phoma</i> sp.	Otros
<i>Alternaria</i> sp.	x	0	0	0	1	0	0	0	1	1	2
<i>Botrytis</i> sp.	0	x	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cercospora</i> sp.	0	0	x	0	0	0	0	0	0	2	1
<i>Cladosporium</i> sp.	0	0	0	x	25	0	2	0	0	0	16
<i>Colletotrichum</i> sp.	1	0	0	25	x	11	2	0	0	13	74
<i>Fusarium</i> sp.	0	0	0	0	11	x	1	1	0	0	10
<i>Rhizoctonia</i> sp.	0	0	0	2	2	1	x	0	0	0	0
<i>Phyllosticta</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	x	0	0	0
<i>Phytophthora</i> sp.	1	0	0	0	0	0	0	0	x	2	4
<i>Phoma</i> sp.	1	0	0	0	13	0	0	3	2	x	14
Otros	2	0	0	16	74	10	0	4	2	14	x
Total	2	0	4	43	172	29	4	5	2	32	139
Colonias puras	0	0	1	6	49	9	1	1	0	7	24
% de colonias puras	0,0	0,0	25,0	14,0	28,5	31,0	25,0	20,0	0,0	21,9	17,3

5.2.4. Cámara húmeda y PDA.

Los resultados obtenidos del desarrollo en cámara húmeda y PDA de hongos y pseudohongos, se presentan en el cuadro N. 10 y gráfico N. 4.

Alternaria sp., del total de 4 resultados positivos, en un número de 2 se desarrolló en cámara húmeda y en PDA, cada desarrollo se originó de muestras diferentes.

Botrytis sp., obtuvo en cámara húmeda en 2 muestras.



Universidad de Cuenca **Facultad de Ciencias Agropecuarias.**

Cercospora sp., se manifestó 5 casos en cámara húmeda y en 4 subcultivos, de una misma muestra se desarrolló en cámara húmeda y PDA, corresponde el 0.60% de coincidencia para los dos métodos de desarrollo de hongos.

Cladosporium sp., se manifestó en 49 muestras de las cuales 29 se desarrolló en cámara húmeda y se presentó en 43 sub cultivos, coincidió en 23 muestras, en porcentaje representa el 13,77%.

Colletotrichum sp., se desarrolló en 189 casos, 123 en cámara húmeda y en PDA en 172 muestras, en los dos métodos en 106 muestras coincidieron y corresponde al 63,47%.

Fusarium sp., se desarrollo de 50 muestras de las cuales en 30 en cámara húmeda y en 29 en medio de cultivo; de las mismas muestras en los dos métodos de cultivo en 9 coincidieron.

Rhizoctonia sp., de una muestra se desarrolló en cámara húmeda y en PDA y 6 muestras de diferentes plantas, en cada método se desarrolló 3.

Phyllosticta sp., también se identificó en 7 muestras de las que en cámara húmeda y PDA se desarrolló en 3 y 5 casos respectivamente.

Phytophthora sp., se manifestó en cámara húmeda en 1 caso y en PDA 2 de especies diferentes. *Rhizoctonia* sp., *Phyllosticta* sp. y *Phytophthora* sp. coincidieron en un caso en los dos métodos de cultivo, en porcentaje representa el 0,60%. *Phoma* sp. sobre PDA, desarrolló el mayor número en comparación con el método de cámara húmeda, de 15 muestras en 12 casos coincidió.

El grupo otros hongos que reúne a hongos no parásitos o que no se han identificado por falta de esporulación u hongos cuyas estructuras miceliales o de esporulación no permitió su correcta identificación, en cámara húmeda se manifestó en 16 casos y en el medio de cultivo PDA en 139 muestras, del total de



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

identificaciones para este grupo de hongos en 13 muestras que representa el 7,78% de coincidencia en los 2 métodos de cultivo.

Del total de 495 hongos, 230 fueron del desarrollo en cámara húmeda y 432 casi el doble en número en el medio de cultivo PDA.

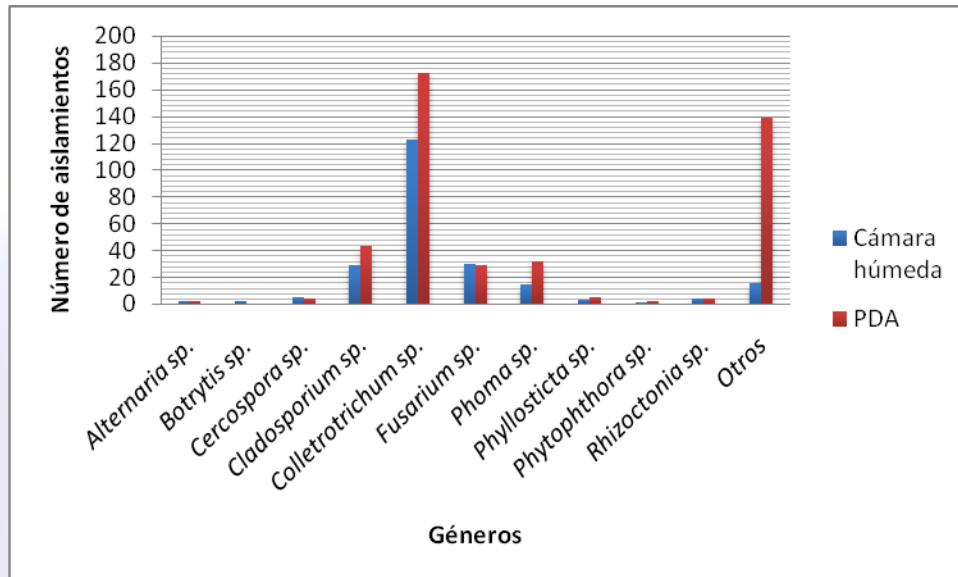
Cuadro N. 10. Resultados totales del desarrollo de hongos y pseudohongos en cámara húmeda, PDA, número de especies que coinciden en los dos sistemas de desarrollo y los valores en porcentaje de coincidencia

Género	Total muestras	Cámara húmeda	PDA sub cultivo	Coinciden en #	Coinciden en %
<i>Alternaria</i> sp.	4	2	2	0	0
<i>Botrytis</i> sp.	2	2	0	0	0
<i>Cercospora</i> sp.	8	5	4	1	0,6
<i>Cladosporium</i> sp.	49	29	43	23	13,77
<i>Colletotrichum</i> sp.	189	123	172	106	63,47
<i>Fusarium</i> sp.	50	30	29	9	5,39
<i>Phoma</i> sp.	35	15	32	12	7,19
<i>Phyllosticta</i> sp.	7	3	5	1	0,6
<i>Phytophthora</i> sp.	2	1	2	1	0,6
<i>Rhizoctonia</i> sp.	7	4	4	1	0,6
Otros	142	16	139	13	7,78
Total	495	230	432	167	100



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Grafico N. 4. Totales del desarrollo de hongos y pseudohongos en cámara húmeda y PDA



5.3. Prueba de patogenicidad

Alternaria sp., *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia sp.* y *Phyllosticta sp.*, desarrollaron la sintomatología en el área foliar donde se realizaron las inoculaciones, lo que permite confirmar que los organismos fúngicos aislados de las orquídeas son hongos patógenos. *Phytophthora sp.* generó síntomas visibles a los 20 días. *Phoma sp.* no manifestó la sintomatología por lo que se asume que su presencia corresponde a un hongo saprófito presente en la muestras, ratificando lo señalado por Ordoñez (2012).

Cladosporium sp., no desarrolló sintomatología.

5.4. Sintomatología

Con los resultados obtenidos de las muestras de tejido vegetal en cámara húmeda y en el medio de cultivo PDA del desarrollo de hongos y pseudohongos, se cotejó con las fotografías digitales de los síntomas obteniéndose la siguiente información:



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Alternaria sp., las manchas en las hojas son generalmente de color marrón oscuro a negro, coincide con el reporte de Salazar (2009) como mancha de la hoja. Se encontró y manifestó solo en *Maxillaria splendens*.

Botrytis sp., no se presentó en las flores de las orquídeas. Se presentó en hojas de *Maxillaria turkeliae* y *M. grandis*, su presencia en las hojas no concuerda con lo reportado por Missouri Botanical Garden (sf).

Cercospora sp., aparece como zonas irregulares y de color amarillento en la parte inferior de las hojas, que progresan a deprimido marrón-púrpura pálido con el centro marrón y con zonas de coloración negro (fructificación del hongo). En el haz con una zona clorótica, que finalmente se convierte necrótico, ratifican lo reportado por (Gioria et al. 2003) citado por Studt (2008). La sintomatología observada no corresponde a las descritas por Bottom (s.f.), Light (2004), Murguia (2007), Missouri Botanical Garden (sf), To-Anun, Hidayat, & Meeboon (2011).

Colletotrichum sp., en las hojas, se inicia como puntos y luego como manchas foliares visibles en ambos lados, comienza como un hundido, de coloración marrón muy definido, fue observado en *Cyrtorchilum serratum*, se concuerda la descripción del Missouri Botanical Garden (sf). Los puntos en las hojas en crecimiento son circulares a ovales, café oscuro y muchas veces pueden estar rodeados por una área clorótica ancha, con frecuencia manifestado en el género *Pleurothallis*. En nuevos brotes y las puntas de nuevos tallos causa pudriciones negras, se coinciden con lo reportado por USAID-RED (2005). No se encontró lesiones oscuras con halos de tonalidad parda rojiza, como indica Cabrera, Galmarini, & Flachslan (2003).

Los síntomas como lesiones oscuras, varían solo en el tamaño y la tonalidad, según el género y el lugar donde se localizaron, se coincidió con Cabrera, Galmarini, & Flachslan (2003), además se observó diferencias en profundidad de la depresión.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Fusarium sp., fue observada como podredumbre seca en las raíces, pseudobulbos, se encontró asociada con la presencia de nematodos, que facilitan la colonización vegetal por el hongo patógeno, se ratifica lo manifestado por (Bergmann y Alexander, 1998), citados por Studt (2008), se encontró en *Anguloa uniflora*. En las hojas de *Cyrtochilum loxense* fueron de color marrón, pálida y frágil ratificando el reporte de Missouri Botanical Garden (sf). En las raíces, coloración oscura que indica la descomposición de los tejidos y en los brotes de la planta infectada de coloración amarillenta con apariencia a empapados en agua, los brotes jóvenes son podridos cuando los brotes emergen, sintomatología que se manifestó en plantas in vitro luego de 2 años de adaptadas al invernadero.

Phyllosticta sp., se presentó como manchas necróticas en la superficie de hojas y pseudobulbos, ratificando lo reportado por Silva, Pereira, Braga, & Lelis (2008).

Phyllosticta sp., en *Epidendrum medusae* se manifestó como pequeñas manchas redondas o alargadas de color negro, luego toman la apariencia de mancha ocular con el perímetro más oscuro, ratificando lo reportado por American Orchid Society. Jones (2004).

Phytophthora sp., inició como pequeñas lesiones negras en las hojas, a medida que la edad de las lesiones avanza, se agrandan y pueden cubrir la hoja entera, *Epidendrum medusae* fue la única especie que manifestó la presencia de *Phytophthora* y se ratifica con la sintomatología descrita por Cating, Palmateer, Stiles, & Davison (2009)

Rhizoctonia spp., en hojas y tallos se observaron lesiones, algunas de ellas con bordes definidos en los cuales el tejido se torna de color marrón oscuro y se ratifica lo reportado por Murguía (2007), sintomatología observada en *Maxillaria splendens*. Las raíces de color marrón, podredumbre seca, se ratifica lo reportado por el Missouri Botanical Garden (sf) y en *Masdevallias* y *Draculas* generó el amarillamiento y desprendimiento de las hojas.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Sphenospora sp., se manifestaron en la cara inferior de las hojas, inicia como pequeñas pústulas de color naranja, amarillo o marrón óxido o de color amarillo anaranjado o rojizo-marrón. Estas pústulas, dependiendo de la edad, se oscurecen y desarrollan concéntricamente. Con manchas cloróticas en la región opuesta se ratifica lo reportado por Gioria et al. (2003). Es frecuente en especies de *Oncidium* observaciones y sintomatología que se ratifica lo reportado por (Bergmann & Alexander, 1998) citado por Studt (2008) y Cúndom, Galdeano, Tarragó, & Flachsland (2008).

Septoria sp., la sintomatología en las hojas no se manifestó según lo descrito por el Missouri Botanical Garden (sf), debido posiblemente a la presencia de otros hongos, a las especies en las que se encuentra, condiciones de manejo, o que se encuentre como saprófito.

De la comparación entre los resultados obtenidos en el laboratorio y los síntomas en fotografías digitalizadas, se ratifica con las sintomatologías descritas para los siguientes hongos y pseudohongos: *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Phyllosticta* sp., *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia* spp. y *Sphenospora*.

5.5. Propuesta de manejo Agroecológico

El manejo inicial realizado en el orquideario se basó en el uso de los diferentes agroquímicos: abonos foliares, fungicidas, insecticidas y bactericidas; en aplicaciones periódicas, de acuerdo a manifestaciones de enfermedades o plagas, empleándose las dosis bajas de los diferentes plaguicidas por la alta capacidad que tienen las orquídeas de absorber por el follaje.

Desde agosto del 2007, se inició con el manejo agroecológico, buscando crear las condiciones más cercanas al ambiente donde se encuentran las orquídeas como: sustratos, nutrición, espaciamiento, temperatura, humedad, intensidad luminosa y ventilación.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Para el control de pulgones, cochinillas y otros, se recurrirá a las aplicaciones de agua a presión al follaje desde abajo hacia arriba y destruir huevos, larvas y adultos.

Las enfermedades se manejarán evitando el contacto de las raíces con el suelo; se proporcionará una adecuada aireación al sistema radicular, se cultivará musgo y se cubrirán las raíces de las orquídeas, se retirará periódicamente el exceso de musgo sobre pseudobulbos y pecíolos que permitirá conservar la humedad y al cumplir su ciclo de vida, por descomposición proporcionará nutrientes en forma balanceada y permanente; se complementará con aspersiones periódicas de biol al follaje y sistema radicular, en conductividad inferior a 2 mili mohos por cm cada 21 días.

Se eliminará constantemente el material vegetal que se encuentre enfermo o que haya cumplido su ciclo de vida.

Para recuperar micorrizas se licuarán raíces de orquídeas y se distribuirán en todos los invernaderos, además se aplicará *Trichoderma harzianum*, con intervalos de 2 meses.

Se mantendrán los invernaderos en condiciones de baja humedad en los sustratos y en el ambiente mediante nebulizaciones de 2 mm en períodos húmedos y de 4 mm por día en épocas secas con 2 aspersiones diarias, se harán aplicaciones de riegos adicionales para cubrir áreas con bajo contenido en humedad o en sustratos que requieren de mayor cantidad de agua; se controlará que no permanezcan húmedas las plantas en la noche.

De acuerdo al tamaño de la planta, se ubicará, agrupará y evitará competencias entre ellas, lo que permitirá la adecuada circulación de aire, además se considerará las condiciones ecológicas del origen de las plantas para ubicarlas o reubicarlas en los diferentes ambientes disponibles, la temperatura y circulación del aire se manejará mediante la apertura de cortinas. Todas las áreas de los



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

invernaderos serán manejados a intensidad luminosa del 50% mediante un sarán fijo ubicado en la parte superior de los invernaderos.

La ausencia de polinizantes, se sustituirá mediante el traspaso manual de los sacos polínicos de una planta a otra para conservar la variabilidad genética de la especie.



VI.- CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos e hipótesis planteadas y en base a la metodología planteada se concluye que:

El orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias presenta el 89,27% de orquídeas sanas, debido a las buenas prácticas de manejo y son: *Ada pozoi*, *Andinia schizopogon*, *Barbocella* sp., *Brassia arcuigera*, *B. caudata* y *B. lawrenceana*, *Cattleya máxima*, *Caucaea olivaceum* y *C. phalaenopsis*, *Chondrorhynchia viridisepala*, *Comparettia speciosa*, *Cyrtochilum edwardi*, *C. pastasae*, *C. polixantum*, *Dracula* sp. y *D. felix*, *Elleanthus towarensis* y *E. myrosmatis*, *Encyclia fragans*, *Epidendrum cilindrostachis*, *E. coryophorum*, *E. nocturnum* y *E. schistochilum*, *Fernandezia* sp., *Gongora ecornuta* y *G. scaphephorus*, *Helcia sanguinea*, *Huntleya heteroclita*, *Ida denningiana* e *I. xitrophora*, *Kefersteinia lindneri*, *Lepanthes aculeata*, *Masdevallia brachyura*, *M. ensata*, *M. fractiflexa*, *M. guttulata*, *M. hercules*, *M. leucantha*, *M. maloi*, *M. pachyura*, *Maxillaria* sp. (lacre), *M. lepidota*, *M. ochroleuca*, *M. perryae* y *M. pulla*, *Mesospinidium afín warcewiceii*, *Miltoniopsis vexillaria*, *Mormolica* sp., *Odontoglossum cirrossum*, *O. cristatellum*, *O. harrayanum* y *O. lindleyanum*, *Oncidium abortivum*, *O. acinaceum*, *O. alticola*, *O. aureum*, *O. cimicipherum*, *O. globuliferum*, *O. heteranthum*, *O. hyphaematicum* y *O. nubigenum*, *Phragmipedium dalessandroi* y *P. lindenii*, *Platystele densiflora*, *Pleurothallis acuminata*, *P. argentata*, *P. flexuosa*, *P. hemirhoda*, *P. lanceana*, *P. lilijae*, *P. secunda* y *P. truncata*, *Rodriguezia batemanii*, *Stenorrhynchos speciosum*, *Trichocentrum pulchrum*, *Trichoceros antennifer*, *T. muralis*, *T. oñaensis*, *Trichosalpinx* sp., *Trigonidium insigne*, *Xilovium leontoglossum* y *Zootrophion Griffin*.

El 10,73% presenta síntomas visibles de hongos y pseudohongos, con el 10,0% en las hojas y de 0,73% en las raíces, pseudobulbos y cápsulas. Cuadro N. 1, 2.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

La incidencia de hongos y pseudohongos en las 1650 plantas del orquideario es la siguiente: 3,27% en el género *Maxillaria*, con el 1,82% en *Pleurothallis*, a continuación se ubican los géneros no identificados con el 0,85%; entre el 0,73 y 0,06% están los siguientes géneros: *Stelis*, *Oncidium*, *Anguloa*, *Epidendrum*, *Cyrtorchilum*, *Restrepia*, *Masdevallia* y *Stanhopea*, *Cattleya*, *Dracula*, *Odontoglossum*, *Cochlioda*, *Ida*, *Phragmipedium*, *Brassia*, *Gongora*, *Lepanthes*, *Mormodes*, *Prosthechea*, *Symphyglossum*, *Trigonidium* y *Xilovium*, cuadro N. 2.

Del 10,73% de plantas con síntomas, el 61,58%, presentan severidad en el rango de 0,1 y 1,9%; el 15,82%, en el rango 2 al 7,9%; el 8,47%, en el rango 8 a 17,9%; el 5,65%, en el rango 18 al 41,9%; y sobre el 42% de severidad está 8,47%. Los síntomas se manifestaron predominantemente en las hojas. Cuadro N. 3, 4.

Los hongos y pseudohongos que se encuentran en las orquídeas son: *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Cercospora* sp., *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phoma* sp., *Phyllosticta* sp. y *Phytophthora* sp. De los cuales, *Colletotrichum* sp., es el más frecuente y agresivo, seguido por *Fusarium* sp.

Alternaria sp., su presencia en el invernadero fue del 0,12%, representó el 0,87% y el 0,46% del total de hongos desarrollados y se encontró en muestras puras el 50% y el 0,0% en cámara húmeda y PDA respectivamente.

Botrytis sp., su presencia en el invernadero fue del 0,12%, representó el 0,87% del total de hongos desarrollados, en cámara húmeda y en PDA no se desarrolló.

Cercospora sp., su presencia fue del 0,30% y de 0,24%, representó el 2,17% y el 0,93% del total de hongos desarrollados en cámara húmeda y PDA respectivamente. No se encontró muestras puras en cámara húmeda y en un 25% se manifestó en PDA.

Cladosporium sp., su presencia fue del 1,76% y de 2,61%, en cámara húmeda y PDA respectivamente, representando el 12,61% y el 39,81% del total de hongos



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

desarrollados. Se encontró en muestras puras el 24,1% en cámara húmeda y el 14% en PDA.

Colletotrichum sp., su presencia fue del 7,45% en cámara húmeda y del 10,42% en PDA, representando el 53,48% y el 39,81% del total de hongos.

Fusarium sp., su presencia fue en plantas de 2 años de edad de origen in vitro, con el 1,82% y 1,76% del total de hongos desarrollados, representó el 13,04% y el 6,71% en cámara húmeda y PDA respectivamente.

Rhizoctonia sp., su presencia fue del 0,24% tanto en cámara húmeda como en PDA, representando el 1,74% y el 0,93% del total de hongos desarrollados.

Phoma sp., su presencia fue del 0,91% y de 1,94%, en cámara húmeda y PDA respectivamente, representando el 6,52% y el 7,41% del total de hongos.

Phyllosticta sp., su presencia fue del 0,18% y de 0,3%, en cámara húmeda y PDA respectivamente, representando el 1,30% y el 1,16% del total de hongos desarrollados.

Phytophthora sp., su presencia fue del 0,06% y de 0,12%, en cámara húmeda y PDA respectivamente, representando el 0,43% y el 0,46% del total de hongos desarrollados.

El grupo de otros hongos, su presencia fue del 0,97% y de 8,42%, en cámara húmeda y PDA respectivamente, representando el 6,96% y el 32,18% del total de hongos desarrollados.

De los hongos desarrollados en cámara húmeda, la mayor presencia se determinó para *Colletotrichum* sp., con el 53,48%; seguido por *Fusarium* sp., con el 13,04%; *Cladosporium* sp., con el 12,61%; el grupo de otros hongos con el 6,96%; *Phoma* sp., con el 6,52%; *Cercospora* sp. con el 2,17% y con porcentajes inferiores al 2%



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

y en orden decreciente se manifestaron *Rhizoctonia* sp., *Phyllosticta* sp., *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp.

En el medio de cultivo PDA, la mayor presencia se determinó para *Colletotrichum* sp., con el 39,81%; seguido por el grupo de otros hongos, con el 32,18%; *Cladosporium* sp., con el 9,95%; *Phoma* sp., con el 7,41% y en orden decreciente se manifestaron: *Phyllosticta* sp., *Rhizoctonia* sp. y *Alternaria* sp., que porcentualmente no difieren en relación a la determinada en cámara húmeda.

Al aplicar los postulados de Koch, resultaron como patógenos: *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phyllosticta* sp. y *Phytophthora* sp.

De las muestras en cámara húmeda como en el medio de cultivo PDA, se encontró a: *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Cercospora* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phyllosticta* sp., *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Phoma* sp., el grupo de otros hongos, *Cladosporium* sp., que no cumplieron con la hipótesis uno que dice "Todos los hongos y pseudohongos patógenos que se identifiquen por observación directa, desarrollarán en cámara húmeda y en medio de cultivo PDA a excepción de hongos y pseudohongos obligados", *Colletotrichum* sp., con el 63,47% si cumple con la hipótesis.

Se encontraron diferencias para un mismo organismo causal en sus síntomas entre los diferentes géneros de orquídeas, no se confirma la hipótesis dos que dice "Todas las orquídeas manifiestan el mismo síntoma por un mismo organismo causal".

Con la información obtenida sobre la distribución de patógenos en el orquideario, se descarta la tercera hipótesis que dice "En todas las orquídeas existentes en el orquideario de la Facultad, la distribución de los patógenos es igual en todas las plantas".



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

En la formulación de la propuesta agroecológica de manejo de las plantas en el orquiderio, se fortalecerá en satisfacer las exigencias de: intensidad de luz, humedad, temperatura, nutrientes, espaciamiento, sustrato, aireación y ventilación, necesarios para el desarrollo saludable de las mismas.



VII.- RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar con el manejo agroecológico realizado.

Se recomienda que el 10,73% de las orquídeas susceptibles, sean reubicadas en los invernaderos para realizar tratamientos con atención especial sobre *Fusarium* sp. y *Phytophthora* sp. por su virulencia.

Eliminar oportunamente el material vegetal que ha cumplido su ciclo, hojas enfermas, residuos de podas, recortar las áreas enfermas de los pseudobulbos, aplicar una pasta cúprica y realizar una aspersion especialmente a las plantas vecinas.

Utilizar sustratos nuevos, las macetas para su reutilización, deben ser desinfectados en agua hirviente, vapor y/o solarizados, las herramientas de uso en el invernadero en una solución de aceite de pino al 25% o alcohol etílico al 70%.

Para el control de los hongos y pseudohongos fitopatógenos, se recomienda aplicar extracto de cola de caballo (*Equisetum giganteum* L.) o productos biológicos antagónicos como *Trichoderma*, en caso de persistencia y como medida extrema utilizar fungicidas de baja toxicidad como el sulfato de cobre o caldo bordelés.

Confirmar los organismos causales de las enfermedades en las orquídeas, realizando el desarrollo en cámara húmeda o en medio de cultivo PDA.

Realizar periódicamente aspersiones de biol con conductividad menor a 2 milimhos/cm, para dotar de nutrientes y fitohormonas a las plantas y sustratos.

Determinar en cultivos in vitro, el efecto de los fungicidas en endo y ectomicorrizas de las orquídeas.



VIII.- BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology* (Quinta ed.). San Diego, California, USA: Elsevier Academic Press.
- Ali - Shrayeh, M. (1986). *The genus **Pythium**. In the West Bank and Gaza Strip*. Recuperado el 10 de enero de 2012, de http://www.najah.edu/sites/default/files/the_genus_pythium.pdf1268805678.pdf.
- American Orchid Society. Jones, S. (2004). ***Phyllosticta** Leaf Spot*. Recuperado el 15 de febrero de 2012, de <http://www.aos.org/Default.aspx?id=135>.
- Arx, J. v. (1974). *The genera of Fungi sporulating in pure culture*. J. Gramer: Germany.
- Barnett, H. L. (1972). *Illustrated genera of imperfecti*. (Tercera ed.). Burgess Publ. Co.
- Benyon, F., Summerell, B. A., & Burgess, L. (1996). *Association of **Fusarium** species with root rot of Cymbidium orchids. Australasian Plant Pathology*. Recuperado el 22 de Septiembre de 2011, de <http://www.publish.csiro.au/paper/AP96041.htm>.
- Bottom, S. (s.f.). *Orchid Pests and Diseases Diagnosis, Treatment and Prevention*. Recuperado el 29 de Septiembre de 2011, de <http://www.staugorchidsociety.org/PDF/OrchidPestsandDiseasesbySueBottom.pdf>.
- Cabrera, M. G. & Meyer, S. (2010). *Descubren un nuevo patógeno que afecta a orquídeas del NEA*. Facultad de Ciencias Agrarias de la UNNE. Argentina. Recuperado el 25 de mayo de 2012, de <http://www.diariolarepublica.com.ar/notix/noticia.php?i=169683>.
- Cabrera, M., Galmarini, M. R., & Flachsland, E. (2003). ***Colletotrichum gloeosporioides**, patógeno de orquídeas en el noreste de Argentina*. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) (68), 57-61.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Recuperado el 2 de Agosto de 2012, de

<http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A1978E/A1978E.PDF>.

Cárdenas, C. (2003). *Diagnóstico de las enfermedades que afectan las orquídeas cultivadas en el Valle Central de Costa Rica.*, (Tesis Licenciatura, Universidad Nacional, Escuela de Ciencias Agrarias, CR.) Recuperado el 30 de Octubre de 2012, de <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/>.

Cating, R., Palmateer, A. J., Stiles, C. M., & Davison, D. A. (2009). *Black Rot of Orchids Caused by **Phytophthora palmivora** y **Phytophthora cactorum***. One of a series of the Plant Pathology Department, Florida Cooperative Extension Servi. pp. 260. Recuperado el 29 de Septiembre de 2011, de <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/PP/PP26000.pdf>.

Cúndom, M. A., Galdeano, E., Tarragó, J. R., & Flachsland, E. (2008). ***Sphenospora kevorkianii** on the orchids **Epidendrum paniculatum** and **Stanhopea graveolens** newly reported in Argentina*. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, Sargento Cabral 2131. Corrientes, Argentina. Recuperado el 15 de febrero de 2012, de <http://www.ndrs.org.uk/article.php?id=017018>.

Damm, U., Cannon, F., Woudenberg, J., Johnston, P. R., Weir, B. S., Tan, Y., & Shivas, R. G. (2012). *The **Colletotrichum boninense** species complex*. *Studies in Mycology* 73, 1–36. Recuperado el 15 de Abril de 2012, de www.studiesinmycology.org.

Dotson, C. (2004). *Native Ecuadorian orchids* (primera ed., Vol. V). Quito, Ecuador: Mariscal.

EcuRed. (2012). ***Alternaria alternata***. Recuperado el 16 de julio de 2012, de http://www.ecured.cu/index.php?title=Alternaria_alternata&action=edit.

Eguívar, R. D., & Garcia, W. (2006). *Alternativa agroecológica para el control del tizón tardío, **Phytophthora infestans**, de la papa en Colomi – Bolivia*. Garcia Universidad Católica Boliviana. Fundación PROINPA. ACTA NOVA, (3)3. Recuperado el 14 de marzo de 2012, de rosmeryd@gmail.com.

Endara, L., Williams, N., & León-Yáñez, S. (2010). *Explorando los patrones de endemismo de orquídeas endémicas ecuatorianas y las implicaciones para su conservación*. Recuperado el 22 de mayo de 2012, de <http://www.flmnh.ufl.edu/ecuadororchids/Endemicas2.pdf>.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Estévez, C., & Mercado, W. (2005). *Determinación del agente causal de manchas en flores de orquídeas*. Universidad de Puerto Rico. Departamento de Protección de Cultivos. Recuperado el 29 de Septiembre de 2011, de <http://136.145.83.33:8000/jspui/bitstream/10476/19>.

Glienke, C., Pereira, O., Stringari, D., Fabris, J., Kava-Cordeiro, V., Galli-Terasawa, L., & Cunningham, J. S. (2011). *Endophytic and pathogenic **Phyllosticta** species, with reference to those associated with Citrus Black Spot*. Recuperado el 1 de octubre de 2012, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22025803>.

Haggag, W. M., Kansoh, A. L., & Aly, A. M. (2006). *Proteases From **Talaromyces flavus** and **Trichoderma harzianum** : Purification, Characterization and Antifungal Activity Against Brown Spot Disease on Faba Bean*. Plant Pathol Bull. 15 (pp. 231-239). Recuperado el 20 de Agosto de 2012, de <http://140.112.183.1/cpps/pdf/15-4/p231-239.pdf>.

Hernández Acevedo, Y. (2010). *Identificación de hongos asociados a las principales enfermedades que atacan a las orquídeas de Michoacan*. Recuperado el 27 de Agosto de 2012, de <http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/jspui/bitstream/123456789/5235/1/IDENTIFICACIONDEHONGOSASOCIADOSALASPRINCIPALESENFERMEDADESQUEATACANLASORQUIDEASENMICHOACAN.pdf>.

Howell, C. R. (2002). *Mechanisms employed by **Trichoderma** Species*. Plant Disease, 87 (1). Recuperado el 28 de Agosto de 2012, de <http://naldc.nal.usda.gov/download/27028/PDF>.

Hyde, K. D., Cai, L., McKenzie, E. H., Yang, Y. L., Zhang, J. Z., & Prihastuti, H. (2009). ***Colletotrichum**: a catalogue of confusion*. Fungal diversity. 39, 1-17. Recuperado el 12 de Marzo de 2012, de <http://www.fungaldiversity.org/fdp/sfdp/FD39-1-E.pdf>.

Jadrane, I., Kornievsky, M., Desjardin, D. E., & He, Z.-H. (2012). *First Report of Flower Anthracnose Caused by **Colletotrichum karstii** in White Phalaenopsis Orchids in the United States*. (R. M. Davis, Ed.) Recuperado el 2 de Septiembre de 2012, de <http://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-04-12-0360-PDN>: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-04-12-0360-PDN>



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Jaramillo, S., & Baena, M. (2000). *Material de apoyo a la capacitación en conservación ex situ de recursos fitogenéticos. Instituto Internacional de Recursos fitogenéticos (IPGRI)*. Recuperado el 27 de Septiembre de 2011, de <http://www.biodiversityinternational.org>.

Jones, S. (2002). *Black Rot. American Orchid Society*. Recuperado el 29 de Agosto de 2012, de <http://www.aos.org/Default.aspx?id=119>.

Kaewchai, S., Soyong, K., & Hyde, K. (2009). *Mycofungicides and fungal biofertilizers. Fungal Diversity*, 38, 25-50. Recuperado el 30 de Agosto de 2012, de <http://www.fungaldiversity.org/fdp/sfdp/FD38-2.pdf>.

Latiffah, Z., Nur Hayati, M. Z., & Baharuddin, S. (2008). *Vegetative compatibility group of **Fusarium** species associated with root and stem rot of Orchid. Malaysian Journal of Microbiology*, 4(1), 49-52. Recuperado el 3 de octubre de 2012, de <http://web.usm.my/mjm/issues/vol4no1/short2.pdf>.

Light, M. H. (2004). *Orchid Diseases: Part II - Problems and Solutions*. Ottawa Orchid Society. Recuperado el 29 de Septiembre de 2011, de http://www.ottawaorchidsociety.com/diseases_two.pdf.

Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2009). *Lista de enfermedades de los cultivos agrícolas*. C.R. Recuperado el 6 de enero de 2012, de http://www.sfe.go.cr/laboratorios/Lista_de_plagas_agricolas_y_forestales_de_CR.pdf.

Ministry of Agriculture and Agro-Based Industry Malaysia. (2004). *Technical document for market access on pineapple*. Recuperado el 1 de julio de 2012, de http://www.ippc.int/file_uploaded/1115281616033_Technical_Document_pineapple.pdf.

Missouri Botanical Garden. (sf). *Orchids: Problems*. Recuperado el 4 de febrero de 2012, de <http://www.missouribotanicalgarden.org/Portals/0/Gardening/Gardening%20Help/Factsheets/Orchid%20Problems34.pdf>: www.gardeninghelp.org

Mosquera, A. T. (2010). *Evaluación del efecto biocontrolador de Rhizoctonia de orquídeas sobre **Rhizoctonia solani** kühn patógeno del suelo en arroz (**Oryza sativa** L.)*. (Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Colombia).



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Recuperado el 16 de Marzo de 2012, de

<http://www.bdigital.unal.edu.co/3340/357/9106501.2010.pdf>.

- Mosquera, A., Bayman, P., & Túpac, J. (2010). *Ceratobasidium como hongo micorrízico de orquídeas en Colombia*. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Recuperado el 17 de Agosto de 2011, de http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/artic.
- Munguía, F., Gómez, S., & Olalde, P. V. (2008). *Aislamiento de hongos micorrizicos de raíz de orquídeas originarias del Soconusco, Chiapas*. Universidad Autónoma de Querétaro. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV). Recuperado el 6 de Agosto de 2011, de <http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2008/10VeranoRegionCentro/13UAQMunguiaFragozo.pdf>.
- Murguía, G. (2007). *Producción de: Orquídea, Anturio, Gardenia y Ave de Paraíso*. Curso de capacitación. Apuntes. Recuperado el 29 de Septiembre de 2011, de <http://www.funprover.org/formatos/cursos/Manual%20de%20Produccion%20de%20Orquideas-Anturio-Gardenia-Ave>.
- MYCOTA. (s.f.). *Centre de Recherche sur la Conservation des Collections (CRCC)*. Recuperado el 12 de mayo de 2012, de <http://mycota-crcr.mnhn.fr/site/specie.php?idE=1#ancre9>.
- Ordoñez, N. F. (2012). *Efecto de hongos endófitos de orquídeas del grupo Rhizoctonia y otros endófitos cultivables sobre el desarrollo de plantas de Vanilla planifolia Jacks.* (Tesis de Magíster, Universidad Nacional de Colombia, Medellín). Recuperado el 20 de 9 de 2012, de <http://www.bdigital.unal.edu.co/6760/1/52518492.2012.pdf>.
- Pereira, L., Cavallazzi, J., Rollemberg, C. L., & Kasuya, M. (2002). **Sphenospora kevorkianii**, a rust fungus (Uredinales: Raveneliaceae) on the orchid **Pleurothallis mentigera**. *Braz. J. Microbiol.* 33(2). São Paulo. Recuperado el 20 de enero de 2012, de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822002000200011: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822002000200011>
- Pereira, O. L., Band, A., & Silva, M. (2009). *Two new hosts, Epidendrum secundum y Epidendrum xanthinum, for the orchid rust Sphenospora kevorkianii (Raveneliaceae) in Brazil*. *Australasian Plant Disease Notes*.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Recuperado el 27 de Septiembre de 2011, de
http://www.publish.csiro.au/view/journals/dsp_journal_fulltext.cfm?nid=208&f=DN09026.

- Pridgeon, A. M. (2006). *The illustrated encyclopedia of orchids*. (M. A., Ed.)
Portland, Oregon: Timber.
- Rivas, M., Warner, J., & Bermúdez, M. (1998). Revista de Biología Tropical.
Presencia de micorrizas en orquídeas de un jardín botánico neotropical.
Versión impresa ISSN 0034-7744. Rev. biol. trop 46(2). San José.
Recuperado el 5 de Agosto de 2011, de
http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77441998000200004&script=sci_arttext&tIng=es.
- Salazar, W. J. (2009). *Descripción de problemas fitosanitarios de orquídeas en dos ambientes: zona protectora cerros de la Carpintera, Cartago y orquideario 25 de mayo, Sabanilla de Montes de Oca*. Recuperado el 28 de diciembre de 2011, de
http://siemprelistos.org/files/download/247_descripcion_problemas_fitosanitarios_orquideas.pdf.
- Secretaria General de la Comunidad Andina. (2004). Ficha Técnicas. *Perfil para la caracterización de plagas en los paices miembros de la comunidad andina*.
Recuperado el 20 de abril de 2012, de
<http://intranet.comunidadandina.org/Documentos/Consultorias/Con7203.pdf>.
- Silva, M., Pereira, O., Braga, I., & Lelis, S. (2008). *PLeaf and pseudobulb diseases on **Bifrenaria harrisoniae** (Orchidaceae) caused by **Phyllosticta capitalensis** in Brazil*. Australasian Plant Disease. Notes, 3(1), 53 56.
Recuperado el 27 de Septiembre de 2011, de
http://www.publish.csiro.au/view/journals/dsp_journal_fulltext.cfm?nid=208&f=DN08022.
- Simone, B. W., & Burnett, H. C. (1995). *Orchid pest and diseases. Diseases caused by bacteria and fungi*. American Orchid Society. (A. O. Society, Ed.),
Florida, Estados Unidos.
- Studt, E. H. (2008). *Levantamento e desenvolvimento de kit diagnóstico de patógenos e propagação in vitro de orquídeas no estado do Rio de Janeiro*. (Tesis Maestria, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro).
Recuperado el 25 de enero de 2012, de



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

http://www.ufrj.br/posgrad/PPFBA/paginas/docs_dissertacoes/2008/2008EveraldoHansStudtKlein.pdf.

Tao, Y., Ho, H., Wu, Y., & HE, Y. (2011). *Phytophthora nicotianae* causing *Dendrobium* blight in Yunnan Province, China. *International Journal of Plant Pathology*, 2, 177-186. Recuperado el 15 de diciembre de 2011, de <http://www.scialert.net/fulltext/?doi=ijpp.2011.177.186&org=12>: <http://scialert.net/abstract/?doi=ijpp.2011.177.186>

The Connecticut Agricultural Experiment Station. (2007). *Orchidaceae plant Health Problems. Diseases caused by Fungi*. Recuperado el 28 de Septiembre de 2011, de <http://www.ct.gov/caes/cwp/view.asp?a=2823&q=377850>.

To-Anun, C., Hidayat, I., & Meeboon, J. (2011). *Genus Cercospora in Thailand: Taxonomy and Phylogeny with a dichotomous*. Recuperado el 16 de enero de 2012, de http://plantpathologyquarantine.org/PDFs/PPQ1_1__No3.pdf.

Uchida, J. Y., & Aragaki, M. (1991). *Fungal diseases of Dendrobium flowers*. Research extension series 133. Recuperado el 4 de junio de 2012, de <http://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/RES-133.pdf>.

University of Alberta Microfungus Collection & Herbarium (UAMH). (2012). *Information on orchid associated fungi*. Recuperado el 11 de agosto de 2012, de http://www.uamh.devonian.ualberta.ca/en/CollectionActivities/~/_media/uamh/CollectionActivities/Orchid%20Conservation/Orchid_endophytes.pdf: <http://www.uamh.devonian.ualberta.ca>

USAID-RED. (2005). *Guia de reproduccion de orquideas Dendrobium*. Recuperado el 20 de septiembre de 2012, de http://www.fintrac.com/docs/RED/USAID_RED_Manual_Produccion_04_Orquideas_12_05.pdf.

van der Aa, H. A. (22 de octubre de 1973). *Studies in Phyllosticta*. *Studies in Mycology* No. 5. Recuperado el 7 de enero de 2011, de http://www.cbs.knaw.nl/publications/1005/contentmap/txt_005.htm.

van der Aa, H. A., Noordeloos, M. E., & De Gruyter, J. (1990). *Developments in the taxonomy of anamorphic fungi*. Fourth International Mycological Congress, Regensburg. Sim. 32. Recuperado el 16 de diciembre de 2011, de <http://www.cbs.knaw.nl/publications/1032/full%20text.htm>.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

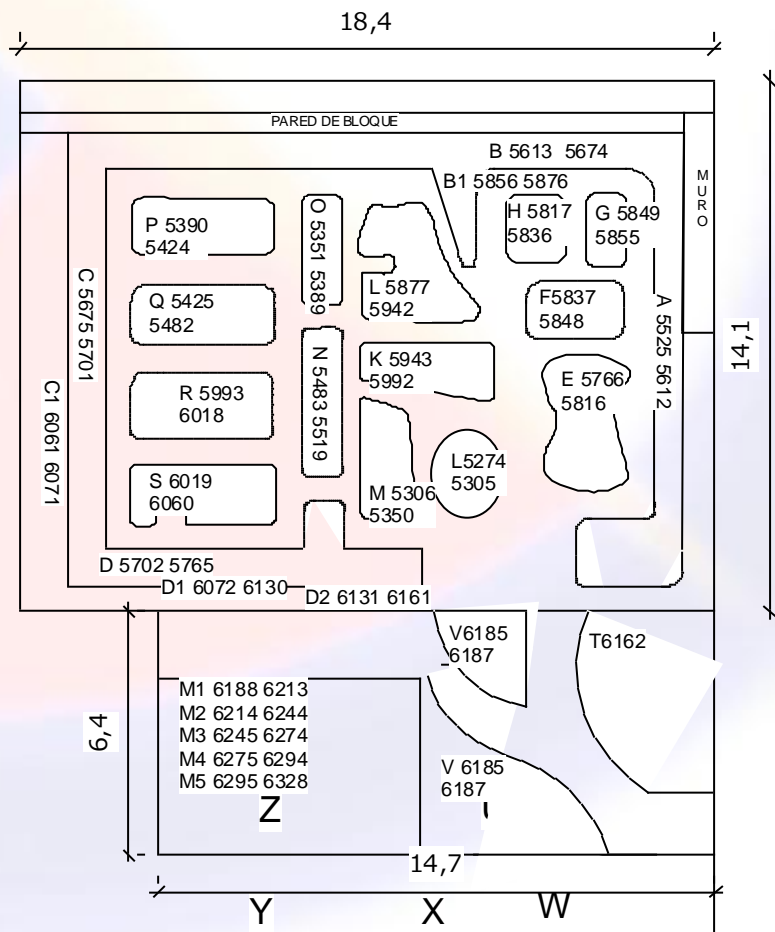
- Vázquez, L., González, F., Lauzardo, R., García, T., Simonetti, J. A., & Ramírez, R. (2005). *Manejo agroecológico de plagas en fincas de la agricultura urbana (MAPFAU). Ciudad de La Habana*. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Ministerio de la Agricultura. Recuperado el 20 de enero de 2012, de <http://www.inisav.cu/fitosanidad/2010/14%283%2910.pdf>.
- Vidal, G. (1977). *Estudio sobre el agente causal de la muerte descendente en el caféto (*Coffea arabica*) L. y comportamiento en cuatro variedades comerciales.* (Tesis Magister Science, Universidad Nacional - ICA. Bogotá Co). Recuperado el 14 de febrero de 2012, de <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=CAFE.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=011779>.
- Wall, G. C., & Wiecko, A. T. (2009). *Sondeo de enfermedades virales y de otra índole en orquídeas importadas de Guam*. XV Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Recuperado el 24 de marzo de 2012, de <http://www.fitopatologiachile.cl/trabajos02/PDF/XVIII.pdf>.
- Wolcan, S. M., Lori, G. A., Ronco, L. M., & Fernández, R. (2001). *Enanismo y podredumbre basal de *Eustoma grandiflorum* y su relación con la densidad de *Fusarium solani* en el suelo*. Fitopatol. bras. Recuperado el 1 de Octubre de 2011, de <http://www.scielo>.



Anexos



Anexo N. 1. Plano del Orquideario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca. Áreas y codificaciones



M1 M5 = Mesa de la 1 a la 5.

P 5390 5424 = Área P del invernadero, código de las orquídeas del número 5390 al 5424.



Anexo N. 2. Escala gráfica de la severidad de hongos y pseudohongos para orquídeas.

E1 0,1 – 1,9 E2 2,0 – 7,9 E3 8 a 17,9 E4 18 a 41,9 E5 42 a 78%



Elaborada en base al área afectada.

E1 = Valor escalar 1.

0,1 – 1,9 = Rango de porcentajes.



Anexo N. 3. Número de plantas por zona de los invernaderos

Zona del invernadero	Número de plantas
A	56
B	71
C	77
D	218
E	56
F	27
G	10
H	26
K	50
L	20
M	56
N	48
O	12
P	36
Q	58
R	40
S	29
T	22
U	14
V	42
M1	29
M2	44
M3	31
M4	78
M5	21
W	22
X	16
Y	13
Muro (I, J)	350
Biotecnología	78
TOTAL	1650
Sanas	1473
Con síntomas	177



Anexo N. 4. Género y especies de orquídeas sanas en el invernadero de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.

#	Género	Especie	#	Género	Especie
1	(?)	sp.	45	<i>Maxillaria</i>	<i>acuminata</i>
2		(blanca 1)	46		<i>lepidota</i>
3	<i>Ada</i>	<i>pozoi</i>	47		<i>ochroleuca</i>
4	<i>Andinia</i>	<i>schizopogon</i>	48		<i>perryae</i>
5	<i>Barbocella</i>	sp.	49		<i>pulla</i>
6	<i>Brassia</i>	<i>arcuigera</i>	50	<i>Mesospinidium</i>	<i>afin warcewiceii</i>
7		<i>caudata</i>	51	<i>Miltoniopsis</i>	<i>vexillaria</i>
8		<i>lawrenceana</i>	52	<i>Mormolica</i>	sp.
9	<i>Cattleya</i>	<i>maxima</i>	53	<i>Odontoglossum</i>	<i>cirrossum</i>
10	<i>Caucaea</i>	<i>olivaceum</i>	54		<i>crystalatum</i>
11		<i>phalaenopsis</i>	55		<i>harryanum</i>
12	<i>Chondrorhyncha</i>	<i>viridisepala</i>	56		<i>lindleyanum</i>
13	<i>Comparettia</i>	<i>speciosa</i>	57	<i>Oncidium</i>	<i>abortivum</i>
14	<i>Cyrtorchilum</i>	<i>edwardi</i>	58		<i>acinaceum</i>
15		<i>pastasae</i>	59		<i>alticola</i>
16		<i>polixantum</i>	60		<i>aureum</i>
17	<i>Dracula</i>	<i>felix</i>	61		<i>cimiciferum</i>
18		sp.	62		<i>globuliferum</i>
19	<i>Elleanthus</i>	(tovarensis)	63		<i>heteranthum</i>
20		<i>myrosomatis</i>	64		<i>hyphaematicum</i>
21	<i>Encydea</i>	<i>fragans</i>	65		<i>nubigenum</i>
22	<i>Epidendrum</i>	(café)	66	<i>Phragmipedium</i>	<i>dalessandroi</i>
23		<i>cilindrostachis</i>	67		<i>lindenii</i>
24		<i>coryophorum</i>	68	<i>Platystele</i>	<i>densiflora</i>
25		<i>nocturnum</i>	69	<i>Pleurothallis</i>	sp.
26		<i>schistochilum</i>	70		<i>acuminata</i>
27	<i>Fernandezia</i>	sp.	71		<i>argentata</i>
28	<i>Gongora</i>	<i>ecornuta</i>	72		(blanca 1)
29		<i>scaphephorus</i>	73		<i>flexuosa</i>
30	<i>Helcia</i>	<i>sanguinea</i>	74		<i>hemirhoda</i>
31	<i>Huntleya</i>	(heteroclita)	75		<i>lanceana</i>
32	<i>Ida</i>	<i>denningiana</i>	76		<i>lilijae</i>
33		<i>xitrophora</i>	77		<i>macroblepharis</i>
34	<i>Kefersteinia</i>	<i>lindneri</i>	78		<i>secunda</i>
35	<i>Lepanthes</i>	<i>aculeata</i>	79		<i>truncata</i>
36	<i>Masdevallia</i>	<i>brachyura</i>	80	<i>Polystachya</i>	<i>concreta</i>
37		<i>ensata</i>	81	<i>Rodriguezia</i>	<i>batemanii</i>
38		<i>fractiflexa</i>	82	<i>Stenorrhynchos</i>	<i>speciosum</i>
39		<i>guttulata</i>	83	<i>Trichocentrum</i>	<i>pulchrum</i>
40		<i>hercules</i>	84	<i>Trichoceros</i>	<i>antennifer</i>
41		<i>leucantha</i>	85		<i>muralis</i>
42		<i>maloi</i>	86		<i>oñaensis</i>
43		<i>pachyura</i>	87		sp.
44		<i>sertula</i>	88	<i>Trichosalpinx</i>	sp.
			89	<i>Trigonidium</i>	<i>insigne</i>
			90	<i>Xilovium</i>	<i>leontoglossum</i>
			91	<i>Zootrophion</i>	<i>griffin</i>

() Género o especie no identificada.



Anexo N. 5. Evaluación de severidad

Género	Especie	COD 2	Severidad				
			0,1 a 1,9 1	2 a 7,9 2	8 a 17,9 3	18 a 41,9 4	42 a 78% 5
(?)	sp.	h	2	1	4	4	2
		r	1				
Total ?			3	1	4	4	2
<i>Anguloa</i>	<i>uniflora</i>	h	3	1			
		r		1			
		s		3			
Total <i>Anguloa</i>			3	5			
<i>Brassia</i>	<i>caudata</i>	r	1				
Total <i>Brassia</i>			1				
<i>Cattleya</i>	hoja larga	h	1				
	sp. (j.v.)	h	2				
Total <i>Cattleya</i>			3				
<i>Cochlioda</i>	<i>rosea</i>	h	1				
	<i>vulcanica</i>	h	1				
Total <i>Cochlioda</i>			2				
<i>Cyrtorchilum</i>	<i>loxense</i>	h	1				
	<i>macranthum</i>	h	1				
	<i>pardinum</i>	h	1				
	<i>ramosiscimum</i>	h			1		
	<i>serratum</i>	h	1				1
Total <i>Cyrtorchilum</i>			4		1		1
<i>Dracula</i>	<i>chimerae</i>	h		1			
	<i>lotax</i>	h		1			
	sp.	h	1				
Total <i>Dracula</i>			1	2			
<i>Epidendrum</i>	<i>atacazoicum</i>	h	1				
	sp. (café)	h					
	<i>medusae</i>	h				2	
	sp. (morado)	h	1				
	sp.	h	2	1			
Total <i>Epidendrum</i>			4	1		2	
<i>Gongora</i>	<i>rufescens</i>	h	1				
Total <i>Gongora</i>			1				
<i>Ida</i>	sp. (blanca)	h	1				
	<i>gigantea</i>	h	1				
Total <i>Ida</i>			2				
<i>Lepanthes</i>	<i>ejecta</i>	h	1				
Total <i>Lepanthes</i>			1				
<i>Masdevallia</i>	sp.	h	3				
		r			1		
Total <i>Masdevallia</i>			3		1		
<i>Maxillaria</i>	<i>calantha</i>	h	2				
	<i>fletcheriana</i>	h	1				
	<i>grandis</i>	h	1	1	1	1	
		r				1	
	s		1				
	sp. (lacre)	h	1				
<i>longissima</i>	h	1					



Género	Especie	COD 2	Severidad				
			0,1 a 1,9 1	2 a 7,9 2	8 a 17,9 3	18 a 41,9 4	42 a 78% 5
<i>Maxillaria</i>	<i>luteo-alba</i>	h	4				
	<i>nutans</i>	h	2				
	<i>premio</i>	h	1				
	sp.	h	4	1	1		
	<i>splendens</i>	h	3	2	2		
	<i>striata</i>	h	1				
	<i>turkeliae</i>	h	19	1	1		
Total <i>Maxillaria</i>			41	6	5	2	
<i>Mormodes</i>	<i>andreettae</i>	h	1				
Total <i>Mormodes</i>			1				
<i>Odontoglossum</i>	<i>hally</i>	h	3				
Total <i>Odontoglossum</i>			3				
<i>Oncidium</i>	<i>aureum</i>	h	1				
	<i>excavatum</i>	c		1			
		h	1	1			2
		r					1
	s					1	
sp.	h					2	
Total <i>Oncidium</i>			2	2			6
<i>Phragmipedium</i>	<i>besseae</i>	h	1				
	<i>wallisii</i>	h	1				
Total <i>Phragmipedium</i>			2				
<i>Pleurothallis</i>	<i>ruberrima</i>	h					1
	sp.	h	17	4	4	1	3
Total <i>Pleurothallis</i>			17	4	4	1	4
<i>Prosthechea</i>	<i>crocea</i>	h	1				
Total <i>Prosthechea</i>			1				
<i>Restrepia</i>	sp.	h	1	2			
	<i>striata</i>	h	2				
Total <i>Restrepia</i>			3	2			
<i>Stanhopea</i>	<i>jenishiana</i>	h	3				1
Total <i>Stanhopea</i>			3				1
<i>Stelis</i>	sp.	h	6	4		1	1
Total <i>Stelis</i>			6	4		1	1
<i>Symphyglossum</i>	<i>sanguineum</i>	h	1				
Total <i>Symphyglossum</i>			1				
<i>Trigonidium</i>	<i>insigne</i>	h	1				
Total <i>Trigonidium</i>			1				
<i>Xilovium</i>	sp.	h		1			
Total <i>Xilovium</i>				1			
Total general			109	28	15	10	15

() = Género o especie no identificada.

Cod2: r = Raíz, s = Pseudobulbos, h = Hojas, c = Cápsula.



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Anexo N. 6. Resultados del desarrollo de hongos y pseudohongos en cámara húmeda

Género	Especie	Código	Alternaria	Botrytis	Cercospora	Cladosporium	Colletotrichum	Fusarium	Rhizoctonia	Phoma	Phyllosticta	Phytophthora	Otros	Muestras
(?)	sp.	h				5	8	1		4			2	13
		r			1		1							1
Total ?					1	5	9	1		4			2	14
Anguloa	uniflora	h												1
		r					1			1			1	1
		s						1	1					1
Total Anguloa							1	1	1	1			1	3
Brassia	caudata	r					1	1						1
Total Brassia							1	1						1
Cattleya	hoja larga	h					1							1
	sp. j.v.	h				1	1							2
Total Cattleya						1	2							3
Cochlioda	rosea	h					1						1	1
	vulcanica	h					1							1
Total Cochlioda							2						1	2
Cyrtochilum	aureum	h					1							1
	loxense	h						1						1
	macranthum	h					1							1
	pardinum	h					1							1
	ramosiscimum	h					1	1						1
	serratum	h					1			2				2
Total Cyrtochilum							5	2		2				7
Dracula	guigas	h					1							1
	lotax	h					1			1				1
	sp.	h					1							1
Total Dracula							3			1				3
Encyclia	sp. frag2	h			1		1							1
Total Encyclia					1		1							1
Epidendrum	atacazoicum	h					1						1	1
	medusae	h					1				1	1	1	2
	morado	h					1	1					1	1
	sp.	h					3	3						3
Total Epidendrum							6	4			1	1	3	7
Gongora	rufescens	h					1						1	1
Total Gongora							1						1	1
Ida	blanca	h				1								1
	gigantea	h												1
Total Ida						1								2
Lepanthes	ejecta	h				1	1							1
Total Lepanthes						1	1							1
Masdevallia	carrutherciana	h					1							1
	sp.	h					2			1				2
		r					1							1
Total Masdevallia							4			1				4



Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Género	Especie	Código	Alternaria	Botrytis	Cercospora	Cladosporium	Colletotrichum	Fusarium	Rhizoctonia	Phoma	Phyllosticta	Phytophthora	Otros	Muestras
Maxillaria	calantha	h					2							2
	fletcheriana	h				1	1							1
	grandis	h		1		1								2
		p				1	1							1
	luteo-alba	h			1	2			1			2	2	
	nutans	h			1	2							2	
	premio	h										1	1	
	sp.	h				1	3			1				4
	splendens	h	1			1	1		1					2
	striata	h				1	1							1
turkeliae	h			1	2	2	3						6	
Total Maxillaria			1	2	2	10	16		1	2		3	24	
Mormodes	andreettae	h					1							1
Total Mormodes							1							1
Odontoglossum	hally	h					3							3
Total Odontoglossum							3							3
Oncidium	excavatum	h				1	5	1						7
		p					5	4						9
		r	1				10	7	1					16
	s					4	8							8
sp.	h					2	1		1				2	
Total Oncidium			1			1	26	21	1	1			42	
Phragmipedium	vessea	h					1							1
	wallisii	h												1
Total Phragmipedium							1							2
Pleurothallis	blanca 1	h					1							1
	ruberrima	h					1					1	1	1
	sp.	h				3	24			2	1		3	25
p					1	1		1					1	
Total Pleurothallis						4	27		1	2	1	4	28	
Restrepia	sp.	h					2							2
	striata	h					1							1
Total Restrepia							3							3
Stanhopea	jenishiana	h				2	3			1				4
Total Stanhopea						2	3			1				4
Stelis	sp.	h			1	3	5				1		1	10
Total Stelis					1	3	5				1		1	10
Symphyglossum	sanguineum	h					1							1
Total Symphyglossum							1							1
Trigonidium	insigne	h												1
Total Trigonidium														1
Xilovium	sp.	h				1	1							1
Total Xilovium						1	1							1
Total general			2	2	5	29	123	30	4	15	3	1	16	169
Total general en %			0,9	0,9	2,2	13	53	13	1,7	6,5	1,3	0,4	7	100

() Género o especie no identificada. r = Raíz, s = Pseudobulbos, h = Hojas, p= peciolo, c = Cápsula.



Anexo N. 7. Resultados del desarrollo de hongos y pseudohongos en PDA

Género	Especie	Código	Alternaria	Botrytis	Cercospora	Cladosporium	Colletotrichum	Fusarium	Rhizoctonia	Phyllosticta	Phytophthora	Phoma	Otros
(?)	sp.	h				3	20	3				5	19
		r			1		1					1	1
Total ?					1	3	21	3				6	20
Anguloa	uniflora	h											2
		r					1			1		1	2
Total Anguloa							1			1		1	4
Brassia	caudata	r					1	2					1
Total Brassia							1	2					1
Cattleya	sp. (hoja larga)	h					1						1
		h					2						1
Total Cattleya							3						2
Cochlioda	rosea	h				1							1
		h				2	3						2
Total Cochlioda						3	3						3
Cyrtochilum	loxense	h				1	1	1		1			1
		h					2						
		h					1	1					
		h					1	1					
		h					2	1					3
Total Cyrtochilum						1	7	4		1		3	2
Dracula	guigas	h				1	5					2	3
		h					1					1	
		h					2			1		1	3
Total Dracula						1	8			1		4	6
Epidendrum	atacazoicum	h					1						1
		h	1					1			2	2	2
		h						1					2
		h					2	5					2
Total Epidendrum			1				4	6			2	2	7
Gongora	rufescens	h						1	1				
Total Gongora								1	1				
Ida	sp. (blanca)	h					1	1					
		h					1	1					1
Total Ida							2	2					1
Lepanthes	ejecta	h				1	1						1
Total Lepanthes						1	1						1
Masdevallia	carrutherciana	h				1	2						2
		h					3						1
		r											1
Total Masdevallia						1	5						4
Maxillaria	calantha	h				1	4					1	1
		h											1
		h				1	1					2	1
	grandis	s					1						



Género	Especie	Código	Alternaria	Botrytis	Cercospora	Cladosporium	Colletotrichum	Fusarium	Rhizoctonia	Phyllosticta	Phytophthora	Phoma	Otros
Maxillaria	<i>luteo-alba</i>	h				1	1						1
	<i>nutans</i>	h				1	1						2
	sp. (premio)	h					1						
	sp.	h				3	5	1				1	6
	<i>splendens</i>	h				1	4						3
	<i>striata</i>	h				2	3						1
	<i>turkeliae</i>	h				1	8	1					7
Total Maxillaria						11	29	2				4	23
Mormodes	<i>andreettae</i>	h					3						2
Total Mormodes							3						2
Odontoglossum	<i>hally</i>	h					2			1		1	3
Total Odontoglossum							2			1		1	3
Oncidium	<i>aureum</i>	h					2		1				1
	<i>excavatum</i>	c				1	3						5
		h				1	1						
	<i>excavatum</i>	h					3						1
		s					5	1					1
		r					1	9		1			5
sp.	h				1	4	1	1	1		2	3	
Total Oncidium						4	27	2	3	1	2	16	
Phragmipedium	<i>vessea</i>	h					3	1					2
	<i>wallisii</i>	h										1	1
Total Phragmipedium						3	1				1	3	
Pleurothallis	sp. (blanca 1)	h				8	1						1
	<i>ruberrima</i>	h					3						2
	sp.	c											1
		h				2		29	3			4	23
Total Pleurothallis				2	8	33	3				4	27	
Prosthechea	<i>crocea</i>	h				2	2						1
Total Prosthechea						2	2						1
Restrepia	sp.	h			1		2					2	1
	<i>striata</i>	h					1						1
Total Restrepia				1		3					2	2	
Stanhopea	<i>jenishiana</i>	h	1				2	3					5
Total Stanhopea			1				2	3					5
Stelis	sp.	h				8	11					1	5
Total Stelis						8	11					1	5
Symphyglossum	<i>sanguineum</i>	h					1						1
Total Symphyglossum							1						1
Xilovium	sp.	h										1	
Total Xilovium												1	
Total general			2		4	43	172	29	4	5	2	32	139
Total general en %			0,46	0,00	0,93	9,95	39,81	6,71	0,93	1,16	0,46	7,41	32,18

() Género o especie no identificada.

Nomenclatura: r = Raíz, s = Pseudobulbos, h = Hojas, p = pecíolo, c = Cápsula.



Anexo fotográfico en cámara húmeda, manejo de muestras, desarrollo de hongos y pseudohongos en PDA e inoculación en invernadero



Foto N.1. Lavado de la muestra



Foto N. 2. Preparado de la cámara húmeda



Foto N. 3. Desarrollo de hongos en cámara húmeda



Foto N. 4. Presencia de micelio en cámara



Foto N. 5. Raíces lavadas con síntomas



Foto N. 6. Materiales estériles para la siembra en PDA



Foto N. 7. Recortes de hoja para la siembra

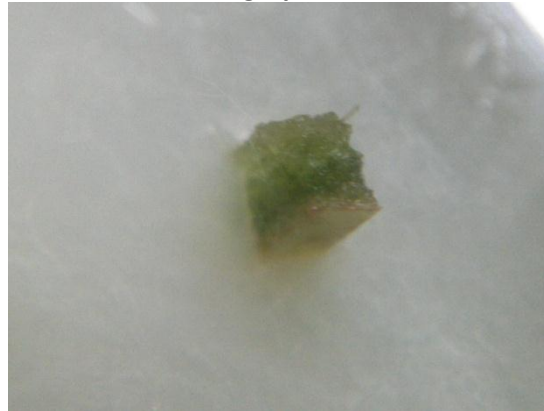


Foto N. 8. Recortes de pseudobulbos



Foto N. 9. Tamaño del material de siembra



Foto N. 10. Siembras en PDA



Foto N. 11. Material para la identificación



Foto N. 12. Desarrollo fúngico en la estufa



Foto N. 13. Material para inoculación



Foto N. 14. Lijado de la hoja



Foto N. 15. Depósito del hongo sobre la hoja



Foto N. 16. Conservación de la humedad en las inoculaciones



Foto N. 17. Desarrollo de síntomas



Foto N. 18. Manifestación de síntoma



Anexo fotográfico. Fotos tomadas en el microscopio de los hongos y pseudohongos y síntomas en plantas de orquídeas.

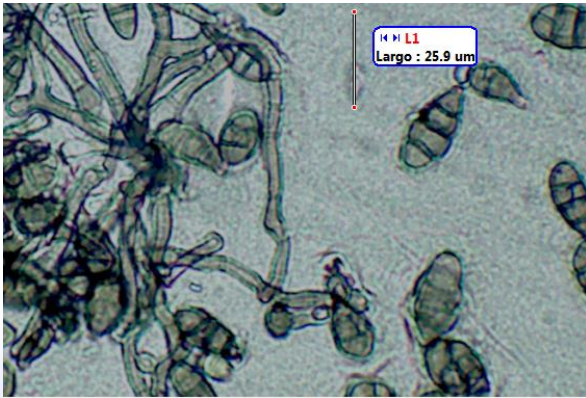


Foto N. 19. *Alternaria* sp. a 40 X



Foto N. 20. Síntoma en *Maxillaria splendens*

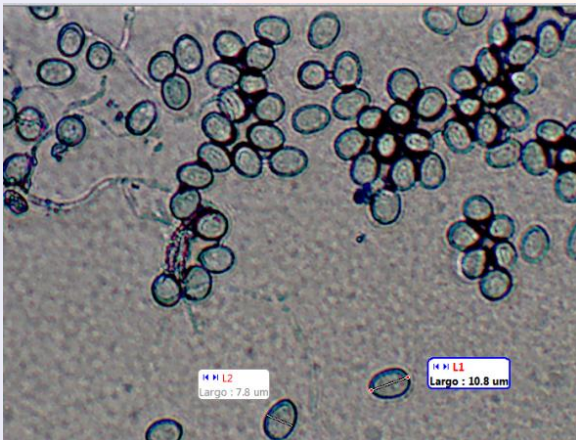


Foto N. 21. *Botrytis* sp. a 40 X

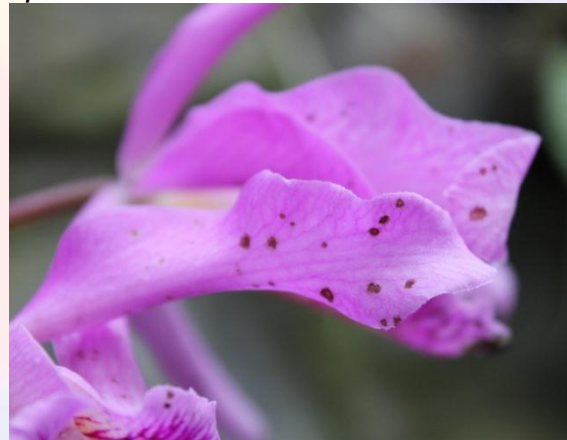


Foto N. 22. *Botrytis* sp. en flor



Foto N. 23. *Botrytis* sp. en *Maxillaria turkeliae*



Foto N. 24. *Botrytis* sp. en *Maxillaria grandis*

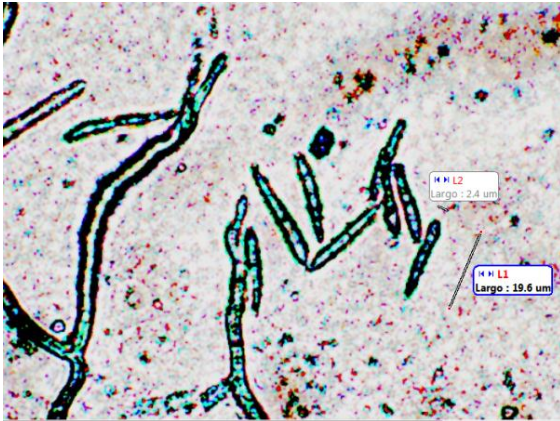


Foto N. 25. *Cercospora* sp. a 40 X



Foto N. 26. *Cercospora* sp. en *Encyclia fragans*



Foto N. 27. *Cercospora* sp. en *Maxillaria* sp.



Foto N. 28. *Cercospora* sp. en *Stelis* sp.

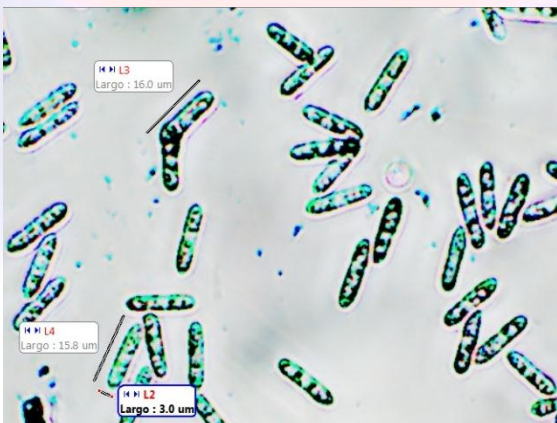


Foto N. 29. *Colletotrichum* sp. a 40 X



Foto N. 30. *Colletotrichum* sp. en *Anguloa uniflora*



Foto N. 31. *Colletotrichum* sp. en *Cattleya* sp.



Foto N. 32. *Colletotrichum* sp. en *Dracula lotax*



Foto N. 33. *Colletotrichum* sp. en *Maxillaria grandis*

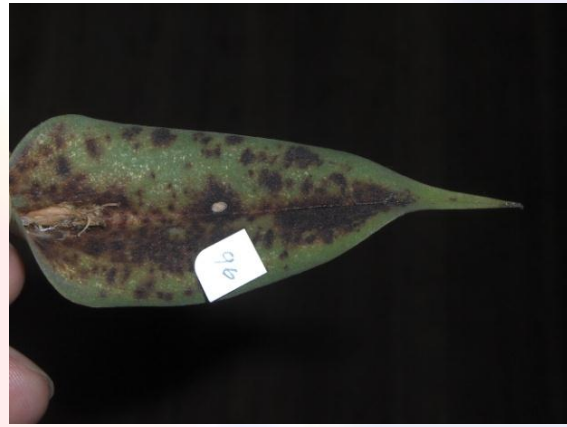


Foto N. 34. *Colletotrichum* sp. en *Stelis* sp.



Foto N. 35. *Colletotrichum* sp. en *Maxillaria splendens*



Foto N. 36. *Colletotrichum* sp. en *Maxillaria* sp.

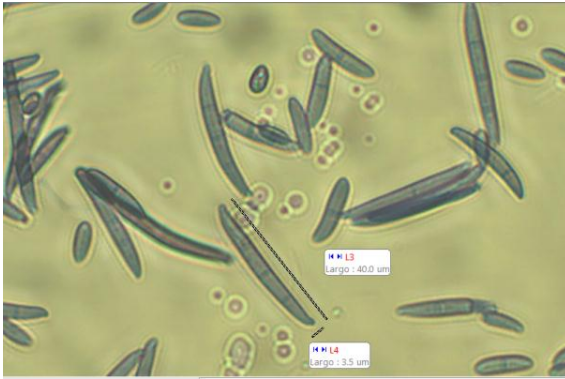


Foto N. 37. *Fusarium* sp. a 40 X

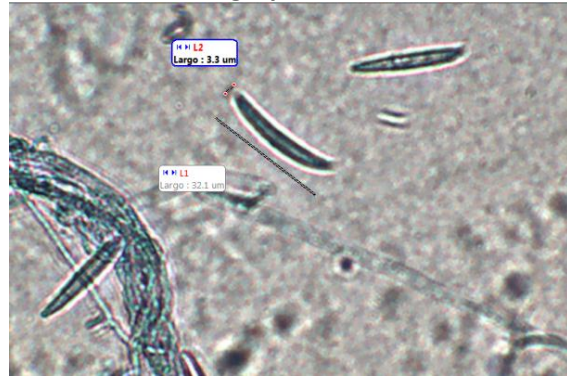


Foto N. 38. *Fusarium* sp. a 40 X



Foto N. 39. *Fusarium* sp. en *Cyrtochilum loxense*



Foto N. 40. *Fusarium* sp. en *Cyrtochilum serratum*



Foto N. 41. *Phyllosticta* sp. a 40 X

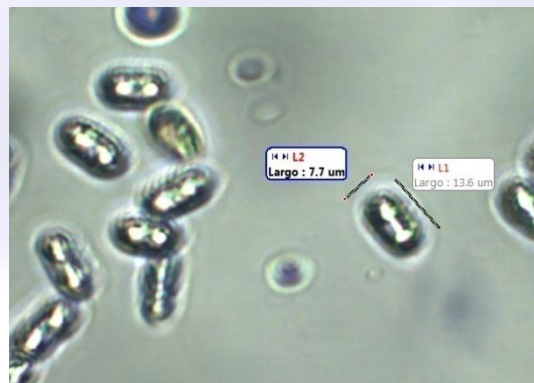


Foto N. 42. *Phyllosticta* sp. a 40 X



Foto N. 43. *Phyllosticta* sp. en *Stelis* sp.



Foto N. 44. *Phyllosticta* sp. en *Epidendrum medusae*



Foto N. 45. *Phoma* sp. en *Phragmipedium wallisii*



Foto N. 46. *Phoma* sp. en *Pleurothallis* sp.

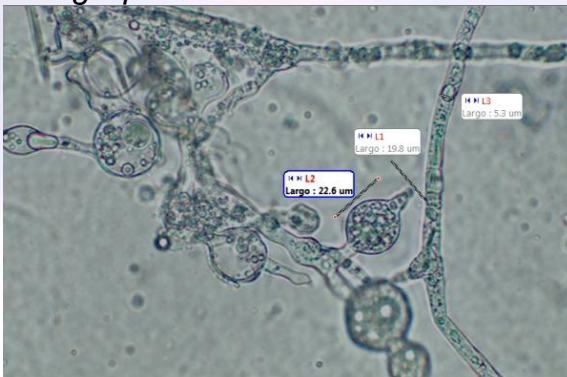


Foto N. 47. *Phytophthora* sp. a 40 X

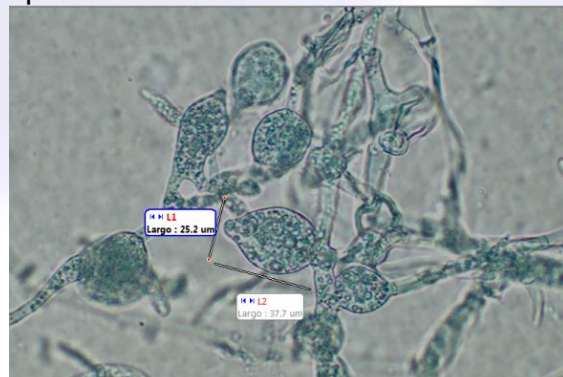


Foto N. 48. *Phytophthora* sp. a 40 X



Foto N. 49. *Phytophthora* sp. en *Epidendrum medusae*



Foto N. 50. *Phytophthora* sp. en *Epidendrum medusae*

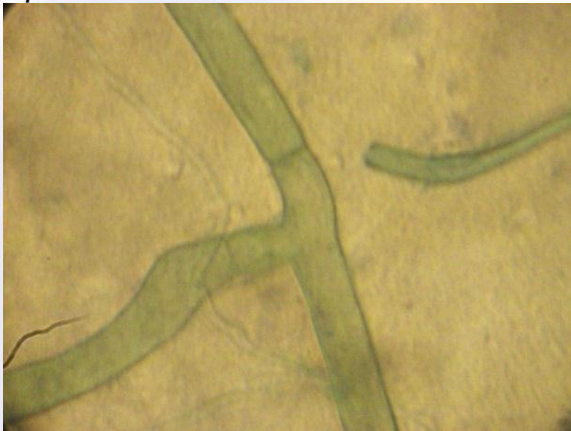


Foto N. 51. *Rhizoctonia* sp. a 40 X



Foto N. 52. *Rhizoctonia* sp. en *Dracula lotax*

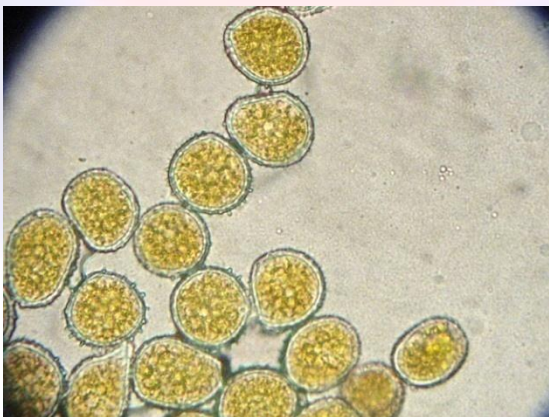


Foto N. 53. Uredosporas de *Sphenospora* sp.



Foto N. 54. *Sphenospora* sp. en *Oncidium* sp.

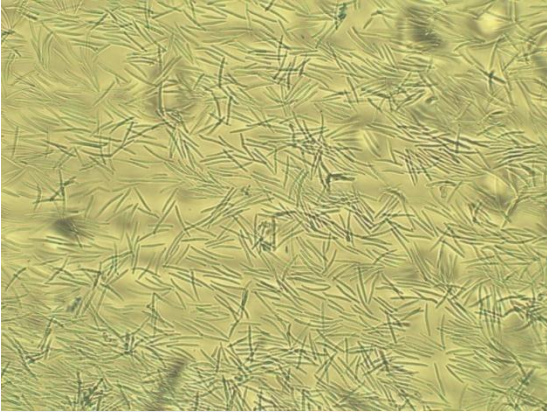


Foto N. 55. *Septoria* sp. por 40 X