



**Identificación preliminar de hongos asociados a la pudrición de corona en banano
Cavendish tipo exportación provenientes de tres fincas productoras del Urabá Antioqueño**

Shirley Elena Cavadia Berrio

Proyecto de práctica empresarial para optar por el título de ingeniera bioquímica

Asesores

Dalma Elizabeth Marsiglia López, Magíster (MSc) en Ingeniería Química

Diego Hernando Lozada Bedoya, Ingeniero agrónomo

Universidad de Antioquia
Facultad de ingeniería
Ingeniería bioquímica
Carepa, Antioquia, Colombia.

2023

Cita	Cavadia Berrio
Referencia Estilo IEEE (2020)	[1] S. E. Cavadia Berrio, “Aislamiento e identificación de hongos asociados a la pudrición de corona en banano Cavendish tipo exportación para la empresa Fitoplant S.A.S en la zona del Urabá Antioqueño”, Semestre de industria, Ingeniería Bioquímica, Universidad de Antioquia, Carepa, Antioquia, Colombia 2023.



Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

Rector: John Jairo Arboleda Céspedes.

Decano/director: Julio César Saldarriaga Molina.

Jefe departamento: Lina María Gonzáles Rodríguez.

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Dedicatoria

A Dios, mi abuela, mis tías y mi amor, su presencia ha sido fundamental en mi vida y su apoyo ha sido la fuerza que me ha impulsado a seguir adelante.

Agradecimientos

Quiero expresar mis agradecimientos a todas las personas que contribuyeron con sus conocimientos y habilidades en el desarrollo de este proyecto, su aporte fue esencial para lograr los objetivos planteados: Dairon Andrés Machado Agudelo, Dalma Elizabeth Marsiglia López, Mauricio José Sierra Bautista, Jairo Hernán Álvarez Peralta, Christian Andrés Mosquera Jaraba, y Yennifer Hinestroza Durango. También quiero agradecer a las personas que me brindaron apoyo económico y recursos durante este tiempo: Diego Hernando Lozada Bedoya, Genis Judith Causil Amariles, y Leidy Paola Gonzales Cano. Finalmente, agradezco de todo corazón a todas esas personas que me han acompañado en los momentos de estrés, incertidumbre y cansancio. Sus palabras de aliento, consejos y muestras de cariño me han motivado a seguir adelante: Diego Londoño, Shirley Romero, Juan David Ramos, Liliana Cavadia, Emmanuel Romero y Samuel Romero.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	11
ABSTRACT	12
I. INTRODUCCIÓN	13
II. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivo general	15
2.2. Objetivos específicos	15
III. MARCO TEÓRICO	16
3.1. <i>Musa paradisiaca</i>	16
3.2. Enfermedades del banano	17
3.2.1. Pudrición de corona (Crown Rot) en banano	18
3.2.2. Hongos asociados a la pudrición de corona en banano	20
3.3. Identificación de hongos asociados a la pudrición de corona en banano	21
3.3.1. Recolecta de muestras	21
3.3.2. Procesamiento de muestras en el laboratorio	22
3.3.3. Medios de cultivo y preparación	22
3.3.4. Inoculación o siembra	22
3.3.5. Estudio morfológico	23
3.3.5. Identificación	26

3.3.7. Patogenicidad	27
3.4. Elaboración de manuales de laboratorio	27
IV. METODOLOGÍA.....	29
4.1. Recolección de los frutos de banano.	29
4.2. Toma de muestras	32
4.3. Procesamiento de las muestras en laboratorio	34
4.3.1. Preparación de muestras	34
4.3.2. Preparación de medios de cultivo	34
4.3.3. Inoculación.....	35
4.3.4. Aislamiento de hongos (resiembra)	35
4.3.5. Estudio morfológico de los hongos	36
4.4. Identificación	39
4.5. Manual de aislamiento e identificación de hongos asociados a la pudrición de corona en banano	39
V. RESULTADOS.....	40
5.1. Aislamientos fúngicos obtenidos	40
5.2. Identificación de los géneros.....	44
5.2.1. <i>Fusarium spp</i>	44
5.2.2. <i>Curvularia spp</i>	46
5.2.3. <i>Acremonium spp</i>	48

5.2.4. <i>Nigrospora spp</i>	50
5.2.5. <i>Verticillium s.I.</i>	52
5.2.6. <i>Penicillium sp</i>	54
5.2.7. <i>Cladosporium spp</i>	56
5.2.8. <i>Clonostachys sp</i>	58
5.2.9. No identificados.....	60
5.3. Manual de aislamiento e identificación de hongos asociados a la pudrición de corona en banano.	61
VI. ANÁLISIS.....	62
VII. CONCLUSIONES.....	65
VIII. RECOMENDACIONES	66
IX. REFERENCIAS.....	67
X. ANEXOS	89

LISTA DE TABLAS

TABLA I. GENERALIDADES DE <i>Musa paradisiaca</i>	17
TABLA II. ENFERMEDADES DEL BANANO	18
TABLA III. HONGOS ASOCIADOS A LA PUDRICIÓN DE CORONA REPORTADOS EN LITERATURA.....	21
TABLA IV. ORIGEN Y FECHA DE RECOLECCIÓN DE LA FRUTA	30
TABLA V. MATERIALES PARA LA TOMA DE MUESTRAS.....	33
TABLA VI. MATERIALES PARA LA PREPARACIÓN DE MUESTRAS.....	34
TABLA VII. MATERIALES PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO	35
TABLA VIII. MATERIALES PARA NECESARIOS PARA LA INOCULACIÓN.	35
TABLA IX. MATERIALES NECESARIOS PARA LA RESIEMBRA.	36
TABLA X. MATERIALES PARA LA OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA.....	39
TABLA XI. HONGOS AISLADOS DE LA ZONA DE URABÁ.....	40
TABLA XII. HONGOS AISLADOS DE LA LOCALIDAD CHIGORODÓ.....	41
TABLA XIII. HONGOS AISLADOS LOCALIDAD CAREPA	42
TABLA XIV. HONGOS AISLADOS LOCALIDAD APARTADÓ	43
TABLA XV. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO <i>Fusarium spp</i>	46
TABLA XVI. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO <i>Curvularia spp</i>	48
TABLA XVII. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO <i>Acremonium spp</i>	50
TABLA XVIII. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO <i>Nigrospora spp</i>	52
TABLA XIX. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO <i>Verticillium spp</i>	54
TABLA XX. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>Penicillium spp</i>	55
TABLA XXI. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO <i>Cladosporium spp</i>	56
TABLA XXII. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO <i>Clonostachys sp</i>	58

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. Taxonomía de <i>Musa paradisiaca</i>	16
Fig. 2. Escala de Frossard.	19
Fig. 3. Ejemplo de estructuras de hongos filamentosos.	24
Fig. 4. Estructuras de las hifas.	25
Fig. 5. Formas de describir los conidios.	26
Fig. 6. Caja de banano localidad Chigorodó.....	31
Fig. 7. Caja de banano localidad Apartadó.....	31
Fig. 8. Caja de banano localidad Carepa.....	31
Fig. 9. Índice de pudrición de corona según escala de Frossard.....	32
Fig. 10. Procedimiento toma de muestra.....	33
Fig. 11. Ejemplo de método de medición del diámetro de la colonia.....	37
Fig. 12. Paleta de colores usada para describir las colonias.....	38
Fig. 13. Frecuencia de cada género aislado de las tres localidades.....	40
Fig. 14. Frecuencia de cada género aislado de Chigorodó.....	41
Fig. 15. Frecuencia de cada género aislado de Carepa.....	42
Fig. 16. Frecuencia de cada género aislado de Apartadó.....	43
Fig. 17. Colonias y estructuras microscópicas de <i>Fusarium spp</i> en agar PDA.	45
Fig. 18. Colonias y estructuras microscópicas de <i>Curvularia spp</i> en agar PDA.....	47
Fig. 19. Colonias y estructuras microscópicas de <i>Acremonium spp</i> en agar PDA.....	49
Fig. 20. Colonias y estructuras microscópicas de <i>Nigrospora spp</i> en agar PDA.....	51
Fig. 21. Colonias y estructuras microscópicas de <i>Verticillium s.I</i> en agar PDA.....	53
Fig. 22. Colonias y estructuras microscópicas de <i>Penicillium spp</i> en agar PDA.....	55

Fig. 23. Colonias y estructuras microscópicas de <i>Cladosporium spp</i> en agar PDA	57
Fig. 24. Colonias y estructuras microscópicas de <i>Clonostachys sp</i> en agar PDA	59
Fig. 25. Colonias y estructuras microscópicas de hongos no identificados en agar PDA.	60
Fig. 26. Colonias de hongos no identificados en agar PDA	61
Fig. 27. Algunas coronas de banano con síntomas de pudrición usadas en el experimento.....	89
Fig. 28. Muestras en laboratorio	90
Fig. 29. Medios de cultivo.	90
Fig. 30. Muestras inoculadas en agar PDA	90
Fig. 31. Consorcio de hongos creciendo a partir de las muestras inoculadas.....	91
Fig. 32. Repiques o aislamientos.	92
Fig. 33. Cámara de refrigeración de la empresa Fitoplant S.A.S.....	117
Fig. 34. Cabina de flujo laminar usada en el trabajo.....	117
Fig. 35. Cajón donde se llevó a cabo la incubación en oscuridad a temperatura ambiente de los hongos	118

SIGLAS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

mL	Militros
g	Gramos
PDA	Agar papa dextrosa
sp	Género sin especie identificada.
<i>Spp</i>	Géneros sin especies identificadas
s.l	Sensu Lato “En sentido amplio”
mm	Milímetros
m	Metros
Min	Minutos
s	Segundos
Msnm	Metros sobre el nivel del mar
°C	Grados Celsius
MSc	Magister Scientiae
UdeA	Universidad de Antioquia

RESUMEN

La pudrición de corona es una enfermedad postcosecha que afecta el banano durante los periodos de exportación por transporte marítimo, causada por un complejo de hongos que incide en la estética y en la maduración de la fruta disminuyendo la aceptación por parte del consumidor y ocasionando pérdidas económicas. El objetivo de este trabajo fue identificar hongos asociados a la pudrición de corona en bananos tipo exportación provenientes de tres fincas productoras del Urabá Antioqueño, con el fin de elaborar un manual de procedimientos destinado a la empresa Fitoplant S.A.S que sirva de apoyo para la implementación de un servicio de identificación de hongos fitopatógenos. Para ello se recolectó banano Cavendish de tres fincas productoras de la región, se almacenó en cámara de refrigeración, se tomaron muestras de las coronas con síntomas de pudrición a los 16 y 24 días, las cuales se llevaron al laboratorio para realizar los aislamientos y su posterior identificación. Se obtuvo un total de 114 aislamientos, pertenecientes a 8 géneros. El género más frecuente fue *Fusarium spp* (34,21 %), seguido por *Curvularia spp* (22,81 %), *Acremonium spp* (13,16 %), *Nigrospora spp* (12,28 %), *Verticillium sI* (7,02 %), *Penicillium spp* (1,75 %), *Cladosporium spp* (1,75 %), *Clonostachys spp* (0,88 %) y no identificados (6,14 %). Los resultados obtenidos se ajustan a los reportados en literatura como agentes asociados a la enfermedad, sin embargo, se recomienda análisis moleculares para llegar hasta la identificación de especies y realizar pruebas de patogenicidad que respalden el estudio.

Palabras clave — *Musa sp*, Banano, Pudrición de corona, hongos, *Fusarium spp*, *Curvularia spp*.

ABSTRACT

Crown rot is a postharvest disease that affects the bananas during export periods by maritime transport, caused by a fungal complex that affects the aesthetics and ripening of the fruit, decreasing acceptance by the consumer, and causing economic losses. The objective of this work was to identify fungi associated with crown rot in export-type bananas from three producing farms in Urabá Antioqueño, to prepare a procedures manual for the company Fitoplant S.A.S that serves as support for the implementation of a service for the identification of phytopathogenic fungi. For this, Cavendish bananas were collected from three producing farms in the region, stored in a refrigeration chamber, samples were taken from the crowns with rotting symptoms at 16 and 24 days, which were taken to the laboratory to carry out the isolations and their analysis. later identification. A total of 114 isolates, belonging to 8 genera, were obtained. The most frequent genus was *Fusarium spp* (34.21 %), followed by *Curvularia spp* (22.81 %), *Acremonium spp* (13.16 %), *Nigrospora spp* (12.28 %), *Verticillium sI* (7.02 %), *Penicillium spp* (1.75%), *Cladosporium spp* (1.75%), *Clonostachys spp* (0.88%) and unidentified (6.14%). The results obtained are consistent with those reported in the literature as agents associated with the disease, however, molecular analyzes are recommended to reach the identification of species and perform pathogenicity tests that support the study.

Keywords — *Musa sp*, Banana Tree, Crown Rot, Fungus, *Fusarium spp*, *Curvularia spp*.

I. INTRODUCCIÓN

El banano del grupo Cavendish es un híbrido del cruce entre *Musa acuminata* y *Musa balbisiana*, denominado *Musa paradisiaca* según las normas del Código Internacional de Nomenclatura Botánica (ICBN) [1]. Este cultivo es tradicional en la economía de Colombia que ocupa el tercer lugar de producción en el mundo con más de 3 millones de toneladas por año y el primer lugar en exportación seguido por Filipinas y Uganda, los departamentos donde más se cultiva este fruto son Arauca, Antioquia, Meta, Valle del Cauca y Córdoba [2]. La región de Urabá en Antioquia cuenta con aproximadamente 65.000 hectáreas de siembra de las cuales 35.000 producen banano tipo exportación, generando más de 25.000 empleos directos y de 65.000 a 100.000 empleos indirectos en la zona. [3]

La pudrición de corona es una enfermedad postcosecha que afecta los frutos de banano durante los periodos de exportación, presentándose como un problema para la industria bananera desde 1960, debido a la adopción de la variedad Cavendish para la comercialización en reemplazo del cultivar Gros – Michael que era muy susceptible al Mal de Panamá [4]. Sin embargo, el banano Cavendish es muy propenso a daños mecánicos durante el transporte por lo que para exportarlo es empacado en cajas que contienen aproximadamente 120 dedos en forma de manos o clústers unidos por un tejido llamado “corona”, el cual se vuelve un sustrato apropiado para la colonización de diferentes microorganismos haciendo posible que se presente la enfermedad [5]. La afección es un problema principalmente estético, se evidencia por el ennegrecimiento y ablandamiento del tejido superficial en el corte de la corona, pero puede afectar el pedúnculo y la fruta. No obstante, las implicaciones económicas son de gran importancia para las empresas, ya que las comercializadoras deben asumir el costo del rechazo en el destino de la fruta [6]. En 2021 una caja de banano de 20 kg costaba alrededor de US\$8,75, una tonelada consta de aproximadamente 50 cajas y en Colombia se exportan alrededor de 1070 millones de toneladas de banano anualmente, principalmente a países de Europa, Estados Unidos y Asia [7]. Es decir, que las pérdidas económicas debido a este problema pueden ser millonarias. En Filipinas en el 2000 se reportaron pérdidas de aproximadamente el 86 % para bananos no tratados [8].

La causa de la enfermedad se le atribuye principalmente a un complejo de hongos, el papel de las bacterias no ha sido ampliamente estudiado [9]. Se ha reportado en la literatura que muchas especies de hongos en diferentes partes del mundo han sido relacionadas con la pudrición de corona y que estas varían de acuerdo con el lugar y el periodo del año [10] [11] [12]. Sin embargo, no se sabe a ciencia cierta sobre las relaciones antagónicas o sinérgicas entre estas diferentes especies. Los patógenos como: *Fusarium spp*, *Acremonium spp*, *Verticillium spp*, *Colletotrichum musae* y *Curvularia sp* han sido géneros predominantes en los reportes [11]. La principal fuente de inóculo son las hojas, flores, brácteas y frutos. El agua y el viento son los principales vectores de las esporas contaminantes, pero los tejidos son especialmente susceptibles cuando se dividen los racimos en manos con cuchillos contaminados, o se lavan con agua contaminada. La inoculación del patógeno en la corona puede ocurrir en cualquier etapa de la postcosecha si no se tienen especiales cuidados, pero las lesiones se desarrollan durante el transporte [13].

El control de la enfermedad se inicia desde el campo con la aplicación de buenas prácticas sanitarias que incluyen la eliminación de las fuentes de inóculo, el manejo cuidadoso durante la cosecha y el control y limpieza de las áreas de manipulación y empaque [9]. El tratamiento más efectivo y utilizado actualmente es la aplicación de fungicidas [14]. El imazalil ha sido la sustancia activa principal utilizada en el control de la pudrición de corona, no obstante, el Reglamento 2019/1582 de la Comisión, emitido el 25 de septiembre de 2019, ha establecido una disminución en los límites máximos de residuos (LMR) para esta sustancia activa a partir del 16 de abril de 2020, por lo que se ha implementado el uso de otras sustancias como azoxistrobin y miclobutanil [15] [16]. El uso de fungicidas en postcosecha conlleva riesgos significativos, como la presencia de residuos en los alimentos, la toxicidad para los trabajadores, el desarrollo de resistencia en los patógenos, el impacto ambiental negativo y la posible pérdida de calidad del producto tratado [17]. Estos factores deben ser considerados y gestionados adecuadamente para garantizar la seguridad y la sostenibilidad en la industria bananera.

En este contexto, una identificación preliminar de hongos asociados a la pudrición de corona en la región de Urabá permite tener un acercamiento a conocer la situación actual sobre la diversidad de hongos fitopatógenos presentes. Esta información podría ser de gran ayuda para evaluar la magnitud del problema y establecer estrategias de manejo adecuadas.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Identificar hongos asociados a la pudrición de corona en bananos tipo exportación provenientes de tres fincas productoras del Urabá Antioqueño, con el fin de elaborar un manual de procedimientos destinado a la empresa Fitoplant S.A.S que sirva de apoyo para la implementación de un servicio de identificación de hongos fitopatógenos.

2.2. Objetivos específicos

- Aislar hongos de la corona de banano Cavendish tipo exportación, provenientes de tres fincas productoras de la zona de Urabá.
- Identificar los hongos aislados mediante caracterización macroscópica y microscópica de las muestras.
- Elaborar un manual de aislamiento e identificación de hongos asociados a la pudrición de corona en *Musa sp* para la empresa Fitoplant S.A.S.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. *Musa paradisiaca*

Las plantas herbáceas del género *Musa*, conocidas como plátano, banano, cambur o guineo, tienen una taxonomía compleja que incluye una gran cantidad de híbridos de variada composición genética (**Fig. 1**) [18]. Los cruces entre las especies *Musa acuminata* y *Musa balbisiana* se denominan *Musa paradisiaca*. Según la tipología, se designa la letra “A” a los ejemplares con características semejantes a *Musa acuminata* y “B” a los de *Musa balbisiana* [19]. Actualmente, el grupo Cavendish que refiere a los cultivares de tipología AAA, es el banano más consumido en el mundo. Estos cultivares descienden de *Musa acuminata* y se caracterizan por ser resistentes a la enfermedad conocida como Mal del Panamá [20]. Las generalidades de la especie se pueden ver en la **TABLA I**.

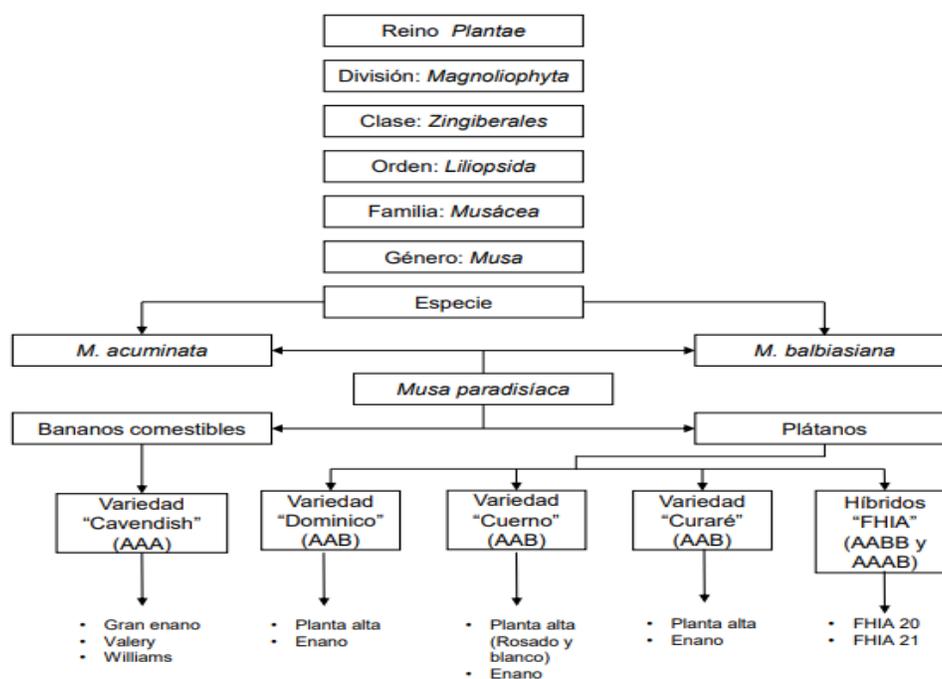


Fig. 1. Taxonomía de *Musa paradisiaca*.

Nota: Fuente adaptado de [5] [21] [22]

TABLA I.
GENERALIDADES DE *Musa paradisiaca*

Ítem	Detalle
Planta	Herbácea perenne gigante, con rizoma corto y alto aparente, que resulta de la unión de las vainas foliares, cónico y de 3.5 - 7.5 m de altura, terminando en una corona de hojas. desarrolla un rizoma subterráneo del que emerge un pseudo -tallo aéreo, que emite raíces y yemas laterales.
Rizoma o bulbo	Tallo subterráneo con numerosos puntos de crecimiento (meristemos) que dan origen a pseudo - tallos, raíces y yemas vegetativas.
Sistema radicular	El sistema radicular está formado por una abundante cantidad de raíces primarias, secundarias y terciarias, varios investigadores han planteado la existencia de dos clases de raíces primarias: las horizontales y las verticales, que conforman un sistema entrecruzado que le da un magnífico anclaje o fijación al suelo a la planta, denominándose pioneras a las verticales y alimentadoras a las horizontales.
Tallo	Es un rizoma grande, almidonoso, subterráneo, que está coronado con yemas, las cuales se desarrollan una vez que la planta ha florecido y fructificado, a medida que cada cormo del rizoma alcanza la madurez, su yema terminal se convierte en una inflorescencia al ser empujada hacia arriba desde el interior del suelo por el alargamiento del tallo, hasta que emerge arriba del pseudo – tallo.
Hojas	Muy grandes y dispuestas en forma de espiral, de 2 - 4 m de largo y hasta de medio metro de ancho, con un peciolo de 1 m o más de longitud y limbo elíptico alargado, ligeramente decurrente hacia el peciolo, un poco ondulado y glabro.
Flores	Flores amarillentas, irregulares y con seis estambres, de los cuales uno es estéril, reducido a estaminodio petaloideo, el gineceo tiene tres pistilos, con ovario ínfero, el conjunto de la inflorescencia constituye el "régimen" de la platanera, cada grupo de flores reunidas en cada bráctea forma una reunión de frutos llamada "mano", que contiene de 3 a 20 frutos, un régimen no puede llevar más de 4 manos, excepto en las variedades muy fructíferas, que pueden contar con 12-14.
Fruto	Baya oblonga, durante el desarrollo del fruto éstos se doblan geotrópicamente, según el peso de este, determinando esta reacción la forma del racimo, los plátanos son polimórficos, pudiendo contener de 5-20 manos, cada una con 2-20 frutos, siendo su color amarillo verdoso, amarillo, amarillo-rojizo o rojo.
Condiciones óptimas de desarrollo.	<ul style="list-style-type: none"> - Humedad relativa (76 - 78) % - Temperatura (24 – 35) °C - Altitud (1000 – 2600) msnm - pH de suelo y agua (4,7 – 7,8)
Plagas	Picudo negro o gorgojo del plátano (<i>Cosmopolites sordidus</i>), picudo rayado (<i>Matamasius hemipterus</i>) y picudo amarillo (<i>Metamasius hebetatus</i>). Nematodos (<i>Radopholus similis</i> ; <i>Helicotylenchus multicintus</i>). Mosca blanca espiral del plátano y el banano (<i>Aleurodicus floccissimus</i>)

Nota: Fuente adaptado de [21] [22] [23] [24] [25] [26] [27] [28].

3.2. Enfermedades del banano

Como cualquier otra especie, la planta de banano es atacada por plagas o microorganismos que le producen enfermedades, afectando los órganos que la conforman, como el sistema radicular,

el pseudotallo, el tallo floral y los frutos. Esto limita la absorción de nutrientes y la actividad fotosintética [29]. Entre las principales enfermedades se encuentran aquellas que se muestran en la **TABLA II**. Además, existe otra enfermedad que se presenta en postcosecha, llamada pudrición de corona y es de gran importancia económica ya que afecta la estética y la maduración normal de la fruta, generando rechazo por parte del consumidor [9].

TABLA II.
ENFERMEDADES DEL BANANO

Enfermedad	Agente causal	Descripción
Moko o madurabiche	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Enfermedad causada por la bacteria <i>Ralstonia solanacearum</i> , todos los órganos de la planta, desde las raíces hasta el escapo floral, pueden ser infectados y presentan síntomas internos y externos, estos varían según la edad de la planta, medio de transmisión y órgano afectado.
Pudrición acuosa del pseudotallo o bacteriosis	<i>Dickeya chrysanthemi</i>	En las plantas afectadas se observa inicialmente una quemazón en el borde de las hojas más viejas que luego avanza a toda la lámina foliar, ocasionando un amarillamiento total de la hoja.
Mal de Panamá	<i>Fusarium oxysporum</i>	Este hongo produce potentes toxinas que ocasionan marchitez vascular, pudrición en semillas, pudrición de raíces, tallos, cormos y tubérculo.
Sigatoka negra	<i>Mycosphaerella fijiensis</i>	Enfermedad foliar afecta sólo las hojas de banano y plátano, se caracteriza por la presencia de gran número de rayas y manchas más notorias por debajo de las hojas, las cuales aceleran el secamiento y muerte del área foliar.

Nota: Fuente adaptado de [28] [30] [31].

3.2.1. Pudrición de corona (Crown Rot) en banano

Es una enfermedad postcosecha causada por diversas especies de hongos que se proliferan a temperaturas entre 25 °C y 30 °C. Se evidencia por el ennegrecimiento y ablandamiento del tejido superficial en el corte de la corona. Básicamente, consiste en podredumbres localizadas en los restos del raquis y en la corona o cojinete. El principal indicio es la putrefacción que afecta tejidos, comenzando con el desarrollo del micelio en la corona y posteriormente ocurre un desarrollo interno que afecta al pedúnculo y la fruta [13]. Algunos autores utilizan la escala de Frossard (**Fig. 2**) como índice de valoración visual de podredumbre de corona. Esta escala tiene 9 niveles, siendo el número 1 cuando la fruta está totalmente sana y número 9 cuando la pudrición alcanza la pulpa [32] [33] [34] [35].

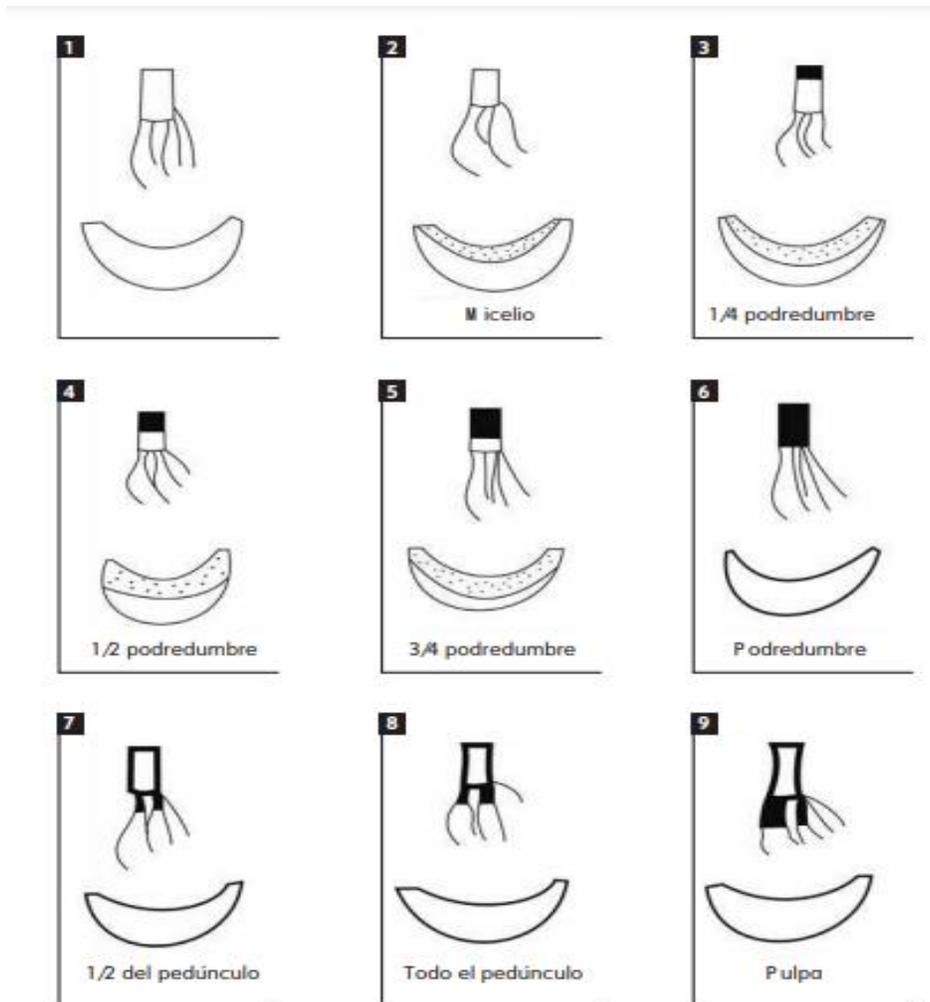


Fig. 2. Escala de Frossard.

Nota: imagen tomada de [32].

Esta enfermedad representa un riesgo que puede afectar la calidad de la fruta, debido a que desmejora el aspecto de los clústeres y disminuye la aceptación por parte del consumidor. Además, puede causar el desprendimiento de los dedos cuando la enfermedad está avanzada. Los hongos relacionados con este problema pueden incrementar la tasa metabólica de los tejidos y estimular la producción de etileno por parte de las células vegetales, lo que puede acelerar el proceso de maduración y ser un inconveniente para los exportadores, ya que el envío marítimo puede tardar hasta 45 días en llegar a su destino [9].

La principal fuente de inóculo son las hojas, flores, brácteas, frutos y hojas en crecimiento infectadas. El inóculo primario es el micelio, y la infección ocurre inicialmente en la superficie del corte de la corona durante el closteo (separación de las manos de banano del racimo) con curvos (cuchillos) contaminados y el lavado con agua contaminada. La fruta en desarrollo puede ser infectada y las lesiones se desarrollan después de la cosecha, cuando los frutos han sido empacados y transportados a temperaturas entre 13.5 °C - 15.5 °C [13].

Es fundamental comenzar el control de esta enfermedad desde el campo, implementando medidas de higiene y buenas prácticas. Estas incluyen la eliminación de las fuentes de propagación de la enfermedad, el manejo cuidadoso durante la recolección, así como el control y la limpieza de las zonas donde se manipulan y empacan los productos. En algunos casos, es necesario el uso de control químico mediante la aplicación de fungicidas. Actualmente, se investigan alternativas para el control de la enfermedad, como extractos naturales, control biológico, atmósferas controladas y modificadas, irradiación y choque térmico [9].

3.2.2. Hongos asociados a la pudrición de corona en banano

La pudrición de corona es el resultado de la actividad de diversos hongos, y en ocasiones también pueden estar involucradas bacterias. El microorganismo con mayor incidencia en la enfermedad varía según la época del año, localidad y otros factores, sin embargo, algunas especies predominan en la mayoría de las áreas productoras del mundo, como *Fusarium pallidoroseum*, *F. moniliforme*, *C. musae*, *Verticillium theobromae* y *Acremonium spp.* [11] A continuación, se muestra una lista de hongos relacionados reportados en la literatura (**Tabla III**).

TABLA III.
HONGOS ASOCIADOS A LA PUDRICIÓN DE CORONA REPORTADOS EN LITERATURA.

Especie	Número de aislados	Especie	Número de aislados
<i>Fusarium pallidoroseum</i>	875	<i>Alternaria sp</i>	19
<i>Colletotrichum musae</i>	515	<i>Curvularia lunata</i>	10
<i>Verticillium theobromae</i>	153	<i>Verticillium sp</i>	10
<i>Fusarium oxysporum</i>	105	<i>Fusarium concolor</i>	9
<i>Fusarium solani</i>	94	<i>Clandosporium oxysporum</i>	8
<i>Fusarium equiseti</i>	50	<i>Curvularia pallescens</i>	7
<i>Fusarium sp</i>	50	<i>Penicillium sp</i>	6
<i>Fusarium moniliforme</i>	45	<i>Ceratocystis paradoxa</i>	1
<i>Fusarium ventricosum</i>	31	<i>Periconia sp</i>	45
<i>Alternaria alternata</i>	22	<i>Acremonium sp</i>	38
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	20	Otros	45

Nota: Fuente adaptado de [10] [11] [12].

3.3. Identificación de hongos asociados a la pudrición de corona en banano

La identificación de hongos es imprescindible para la implementación de métodos de prevención y control de las enfermedades que causan. El proceso comienza con la recolección de los tejidos de la corona que presentan síntomas de pudrición, los cuales son llevados al laboratorio donde se aíslan los hongos mediante diferentes técnicas para su posterior observación. Finalmente, se verifica la patogenicidad a través de la consulta de reportes en la literatura científica o mediante pruebas basadas en los postulados de Koch. A continuación, se describen los pasos generales que se pueden seguir para identificar hongos fitopatógenos:

3.3.1. Recolección de muestras

El proceso de aislamiento comienza con la recolección de tejido vegetal afectado. Se deben tomar muestras de la zona afectada en la corona del clúster de banano para su posterior análisis en laboratorio. Es importante evitar la selección de fragmentos con un grado avanzado de la enfermedad o en estado de descomposición, ya que estos pueden ser colonizados fácilmente por

microorganismos secundarios lo que podría dificultar el aislamiento y obtención de un cultivo puro del patógeno [36]. Las muestras deben ser enviadas al laboratorio lo más pronto posible para evitar su deterioro o contaminación. En caso de que no puedan ser procesadas de inmediato, se recomienda almacenarlas a temperatura de 4 °C a 6 °C en un lugar oscuro con baja humedad relativa [37] [38].

3.3.2. Procesamiento de muestras en el laboratorio

La técnica más comúnmente utilizada para el aislamiento de hongos fitopatógenos es la siembra de tejido vegetal en medio de cultivo. Esto implica cortar pequeños trozos de 3 a 5 mm de la zona afectada por la enfermedad y sembrarlos en los medios de cultivo. Es importante realizar una desinfección superficial del tejido antes de sembrarlo, con el fin de eliminar microorganismos no deseados.

3.3.3. Medios de cultivo y preparación

Hay diferentes tipos de medios de cultivo utilizados en micología, los cuales se clasifican de acuerdo con el efecto que tienen sobre los microorganismos. Según su composición, existen medios sintéticos, semisintéticos o naturales, así como selectivos y no selectivos [39]. Los medios selectivos tienen componentes específicos que favorecen o inhiben el crecimiento de ciertos microorganismos [40]. Uno de los medios de cultivo más utilizados en micología es el Agar papa dextrosa Agar (PDA) que es un medio no selectivo y se utiliza ampliamente para el aislamiento y cultivo de hongos fitopatógenos [41].

3.3.4. Inoculación o siembra

La siembra o inoculación implica la introducción de una muestra (inóculo) de un microorganismo en un medio adecuado para su crecimiento, con el objetivo aislarlos y mantener su viabilidad a lo largo del tiempo [42]. Para realizar una siembra efectiva, es importante contar con medios de cultivo e instrumental estériles, minimizar las manipulaciones innecesarias y trabajar en condiciones asépticas utilizando mecheros o cabinas de flujo [43]. Una vez que se

observe el crecimiento del hongo en las cajas de Petri inoculadas con las muestras, realiza un aislamiento a nuevas cajas con agar. Esto se lleva a cabo tomando un fragmento del hongo con un asa micológica y colocándolo sobre el medio de cultivo de una nueva caja Petri, es un proceso conocido como resiembra o transferencia [44].

3.3.5. Estudio morfológico

El estudio morfológico se centra en la observación y descripción de las características macroscópicas y microscópicas del hongo. Para la observación microscópica se requiere el uso de un microscopio y técnicas de tinción [45]. se recomienda la tinción de azul algodón de lactofenol, ya que permite una mejor claridad al observar las estructuras al microscopio [38]. Esta tinción simple, basada en la afinidad del colorante por las estructuras fúngicas, y consta de tres características: el ácido láctico para preservar las estructuras fúngicas, el fenol para destruir el microbiota acompañante e inactiva la célula y el azul de algodón para teñir el citoplasma y la quitina presente en las células fúngicas, resultando en una coloración delicada de azul claro [46] [47] [48]. A continuación, se describen las características macroscópicas y microscópicas que deben tenerse en cuenta para un estudio morfológico preciso.

- **Observación macroscópica:** es importante describir detalladamente las características macroscópicas de la colonia, que pueden variar según el tipo de hongo y las condiciones de crecimiento. Generalmente, se debe incluir [49]:
 - Medio de cultivo utilizado.
 - Diámetro de la colonia respecto al tiempo de incubación.
 - Textura: correosa, granulosa, pulverulenta, vellosa, aterciopelada, algodonosa.
 - Pigmentación difusible en el medio de cultivo.
 - Color en el anverso y reverso de la colonia (este puede variar en diferentes tonalidades, se recomienda utilizar escalas para describir el tono exacto).

- **Observación microscópica:** Los hongos bajo microscopio suelen exhibir estructuras distintivas, como hifas, conidióforos, fiálides y conidios (**Fig. 3**) [50].

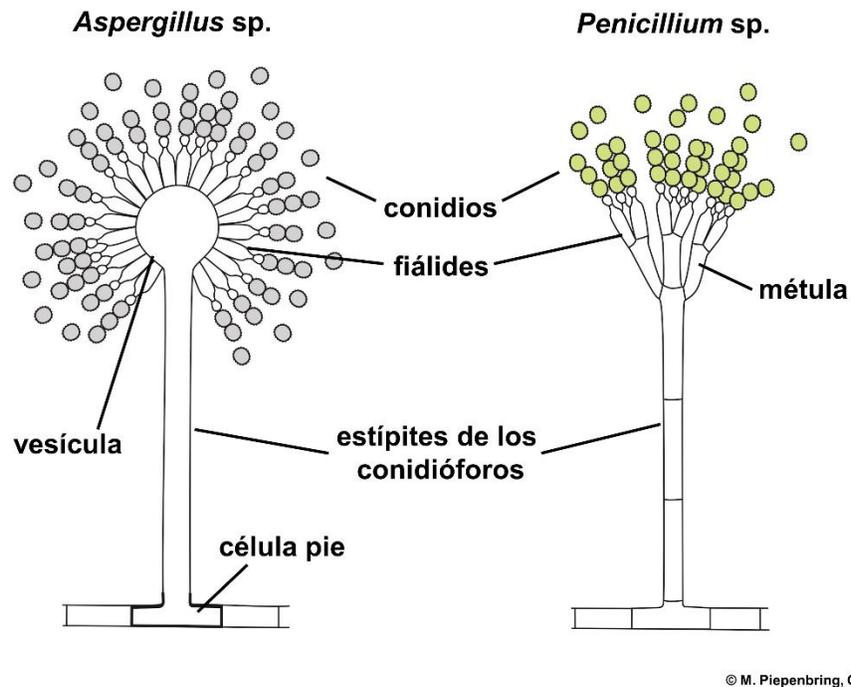


Fig. 3. Ejemplo de estructuras de hongos filamentosos.

Nota: Imagen tomada de [51].

- **Hifas:** Filamento, ramificado o no, de tamaño microscópico, que reunido con otros filamentos forma el cuerpo vegetativo de los hongos, el micelio. Pueden ser **septadas** (divisiones transversales llamadas septos que separan las células individuales a lo largo de la longitud de la hifa, son características de los hongos ascomicetos y basidiomicetos) o **Cenocíticas** o hifas continuas (que no tienen septos y están formadas por una sola célula multinucleada, son características de los hongos mucolares) (**Fig.4**) [52].

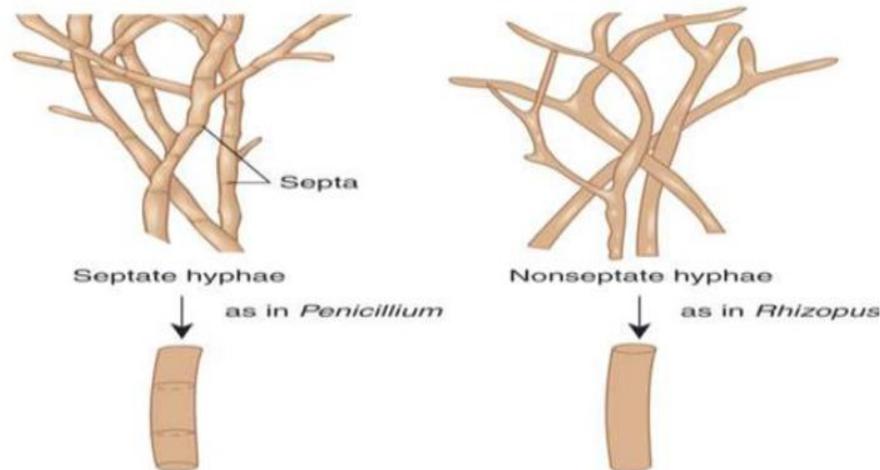


Fig. 4. Estructuras de las hifas.

Nota: Imagen tomada de <https://slideplayer.es/slide/159769/>

- **Conidióforo:** Hifa especializada sobre la cual se producen uno o varios conidios, pueden ser cilíndricos, ramificados, con una sola fila de conidios o con varias filas de conidios, pueden tener diferentes tamaños de longitud desde micrómetros hasta milímetros, pueden ser de cualquier color dependiendo de la especie del hongo, su superficie puede ser lisa, áspera o verrugosa [53].
- **Células conidiógenas:** Las células conidiógenas, se encargan de producir y liberar conidios en algunas especies de hongos. Pueden tener diferentes formas como cilíndrica, esférica o en forma de botella, su tamaño puede ser tan pequeño como unos pocos micrómetros o tan grande como varios milímetros de longitud, se ubican en el conidióforo o en el extremo de una rama lateral que crece a partir de él, la superficie puede ser lisa, áspera o verrugosa, todo depende de la especie de hongo [38].
- **Conidios:** son estructuras reproductivas asexuales, pueden tener diversas formas ver (**Fig.5**) el color puede variar desde transparente hasta negro, pasando por tonos marrones, amarillos y naranjas, se encuentran solos o en agrupaciones [38].

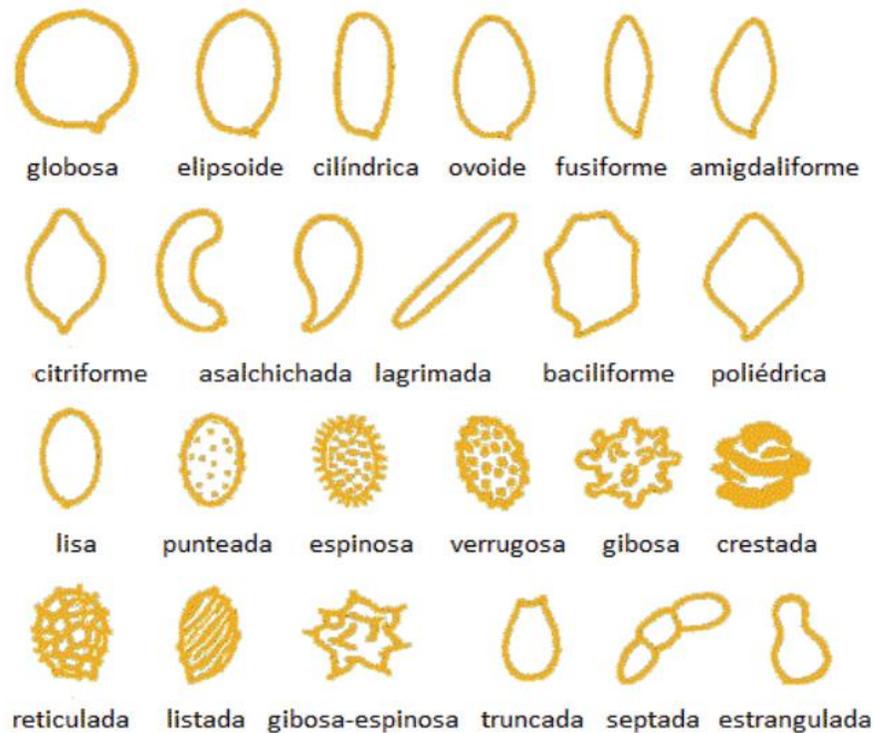


Fig. 5. Formas de describir los conidios.

Nota: Imagen tomada de [54]

3.3.5. Identificación

Con el estudio morfológico macroscópico y microscopio se puede sugerir la clase, orden, familia y género al cual pertenece un hongo, utilizando las claves taxonómicas propuestas por Barnett y Hunter [55]. Las claves son herramientas que se emplean para identificar organismos ya sean animales, plantas, hongos u otros seres vivos, y están constituidas por una serie de pasos encadenados mediante los cuales se comparan las características del ejemplar que se desea conocer avanzando de un paso a otro hasta llegar a su identificación [56]. Para la identificación a nivel de especie, se requiere la realización de pruebas moleculares.

3.3.7. Patogenicidad

Un hongo aislado de la zona enferma de la planta puede considerarse como asociado a la enfermedad si existen registros en la literatura que lo demuestren, en caso contrario, si se sospecha de su asociación, pero no hay registros que lo respalden, se deben plantear métodos para su verificación, como los postulados de Koch, que son 4 criterios utilizados para determinar si un microorganismo es la causa de una enfermedad en un organismo [57]:

1. El hongo debe estar presente en todas las plantas enfermas.
2. El hongo debe ser aislado y cultivado en medios de cultivo apropiados.
3. El hongo cultivado debe causar la misma enfermedad cuando se inocula en una planta sana.
4. El hongo debe ser recuperado de la planta infectada y cultivado de nuevo en medios de cultivo para confirmar su identidad.

Es importante tener en cuenta que pueden existir limitaciones en la identificación de hongos fitopatógenos, y en algunos casos puede ser necesario utilizar técnicas moleculares para una identificación más precisa [57].

3.4. Elaboración de manuales de laboratorio

En Colombia, existen algunas normas que pueden ser útiles para la elaboración de manuales de técnicas y procedimientos de laboratorio, y que se aplican en el contexto nacional. Algunas de ellas son:

- Resolución 2003 de 2014 del Ministerio de Salud y Protección Social: establece las condiciones sanitarias que deben cumplir los laboratorios clínicos en Colombia, incluyendo la elaboración y actualización de manuales de procedimientos.
- Norma Técnica Colombiana NTC-ISO/IEC 17025:2017: adopta la norma ISO/IEC 17025:2017 en Colombia, estableciendo los requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.
- Resolución 2405 de 2019 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible: establece los requisitos para la implementación de los planes de monitoreo ambiental en Colombia,

incluyendo la elaboración de manuales de procedimientos para la toma de muestras y análisis en laboratorio.

Es importante tener en cuenta que, además de estas normas y guías, cada institución o laboratorio puede establecer sus propios procedimientos y formatos de documentación, según sus necesidades y actividades específicas [39] [58] [59]. En general, un manual debe tener un lenguaje simple, directo y comprensible, un formato fácil de seguir, ser preciso y completo, con todos los pasos descritos de manera clara, y proporcionar información suficiente que permita al usuario completar la tarea con éxito. La estructura básica de un manual es la siguiente [60]:

1. Portada: con el título del manual, el nombre de la institución y del departamento o área de laboratorio que lo elabora.
2. Índice: con la lista de contenidos del manual.
3. Definiciones: términos de importancia para la comprensión del manual.
4. Introducción: Descripción del tema, importancia, objetivos.
5. Descripción de los procedimientos: sección principal del manual, en la que se detallan las técnicas y procedimientos que se realizan en el laboratorio, con indicaciones precisas de los materiales, equipos y reactivos necesarios.
6. Anexos: con información adicional que puede ser de utilidad para el usuario del manual, como ejemplos de formatos de registros o fichas de seguimiento, diagramas de flujo, tablas de datos etc.
7. Referencias bibliográficas.

IV. METODOLOGÍA

La metodología empleada para llevar a cabo la identificación de hongos asociados a la pudrición de corona en banano se fundamentó en un enfoque observacional. Donde se registraron y analizaron características morfológicas macroscópicas y microscópicas de hongos obtenidos a partir de muestras de coronas de banano afectadas. En primer lugar, se realizó una recolección de frutos de banano tipo exportación de tres fincas productoras de la región de Urabá, los cuales se pusieron en cámara de refrigeración para simular condiciones de transporte marítimo. Durante este proceso, se realizó una observación sistemática de las coronas de las frutas para identificar los signos de pudrición y seleccionar las muestras afectadas para su posterior análisis. Las muestras seleccionadas fueron llevadas al laboratorio para su procesamiento y siembra, cuando se observó el crecimiento de los hongos se realizó un aislamiento preliminar y una posterior observación de las características morfológicas macroscópicas y microscópicas de los hongos presentes. Estas observaciones incluyeron aspectos distintivos relevantes para la identificación de los hongos. La identificación se llevó a cabo a nivel de género utilizando una combinación de la literatura y claves taxonómicas. Se realizaron comparaciones y se verificaron los resultados obtenidos a través de una revisión de la literatura científica. Finalmente, con el aprendizaje de la experimentación realizada, se elaboró un manual de procedimientos para la identificación de hongos fitopatógenos destinado a la empresa Fitoplant S.A.S. A continuación, se detalla el proceso metodológico realizado.

4.1. Recolección de los frutos de banano.

Se recolectaron muestras de banano Cavendish tipo exportación de tres localidades diferentes de la región de Urabá, esto con el propósito de obtener variabilidad geográfica, ya que cada localidad puede tener características únicas en términos de suelo, clima, manejo agrícola y otros factores que podrían influir en la presencia de los hongos. Las condiciones para exportación implican que las manos de banano deben contar con unas características específicas de tamaño, peso, grado de madurez, ausencia de defectos visibles, longitud del pedúnculo, textura y firmeza, entre otros. Por lo que se optó por ir hasta las fincas productoras y exportadoras en busca de que proporcionaran la fruta con el cumplimiento de los requisitos.

Las localidades seleccionadas fueron Apartadó, Carepa y Chigorodó. De cada finca productora se tomó una caja con el cumplimiento de los requisitos. Todas las frutas fueron cosechadas de racimos con edades entre 10 y 11 semanas después del enfunde. Los racimos se desmanaron, y pasaron por un proceso de lavado en agua preparada con alumbre y cloro (deslecharon) durante aproximadamente 15 minutos. Posteriormente, se empacaron en bolsas plásticas Banavac y finalmente se colocaron en sus respectivas cajas (no se les aplicó fungicida). En la **TABLA IV** se describe el origen de cada una de las cajas y su fecha de recolección.

TABLA IV.
ORIGEN Y FECHA DE RECOLECCIÓN DE LA FRUTA

Numero de caja	Localidad	Fecha de recolección
Caja 1 Fig. 6	Chigorodó finca Almendros	8 de febrero de 2023
Caja 2 Fig. 7	Apartadó finca el Cortijo	27 de febrero de 2023
Caja 3 Fig. 8	Carepa finca el Nuevo horizonte	07 de marzo de 2023

Cada caja contenía entre 120 dedos repartidos entre 16 y 20 manos, todos de diferentes racimos de la plantación, garantizando la toma de muestra de distintos puntos del cultivo. Las frutas se colocaron en una cámara de refrigeración de la empresa Fitoplant, a una temperatura de 13 °C a 15 °C y una humedad relativa del 90 %, durante 24 días, con el objetivo de aproximarse a las condiciones y al tiempo promedio del transporte marítimo [61]. Esto se hizo además para retardar el proceso de maduración y prevenir el crecimiento de microorganismos oportunistas que pudieran dificultar el aislamiento de los hongos asociados.



Fig. 6. Caja de banano localidad Chigorodó



Fig. 7. Caja de banano localidad Apartadó



Fig. 8. Caja de banano localidad Carepa.

4.2. Toma de muestras

La toma de muestras se realizó cuando se observó síntomas de la enfermedad en los clústers, esta observación visual se basó en la escala de Frossard (**Fig. 2** y **Fig.9**).

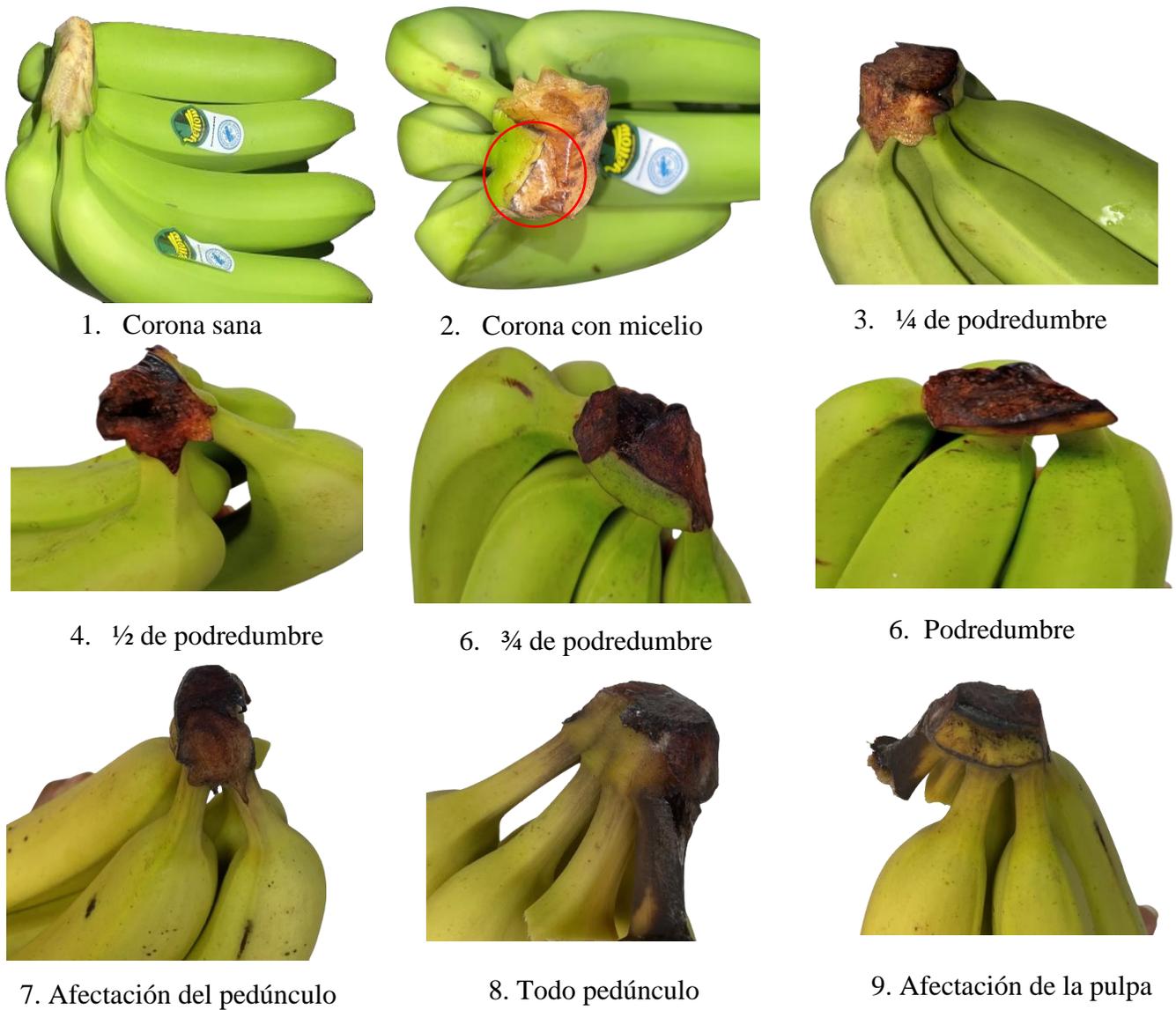


Fig. 9. Índice de pudrición de corona según escala de Frossard

Nota: Fuente propia, basada en la escala de Frossard.

De acuerdo con lo anterior la toma de muestras en cada caja se realizó desde que se observaron síntomas de la enfermedad en los clústers, esto sucedió aproximadamente a los 16 y 24 días de situada la caja en cámara de refrigeración. El procedimiento realizado fue el siguiente: **(Fig. 10)** Con un bisturí quirúrgico hoja # 10, se cortaron trozos representativos de cada lado de la corona, se envolvieron en papel Kraft, se depositaron en bolsas Ziploc, se rotularon y llevaron al laboratorio de la Universidad de Antioquia sede Apartadó. Los materiales utilizados se listan a continuación (**TABLA V**).

TABLA V.
MATERIALES PARA LA TOMA DE MUESTRAS.

Materiales - Colecta de muestra	
1. Marcador Sharpie negro punta delgada	5. Hoja de bisturí # 10
2. Papel Kraft	6. Alcohol
3. Toallas de papel estériles	7. Hipoclorito
4. Bolsas Ziploc estériles 4 x 6 cm	8. Rótulos

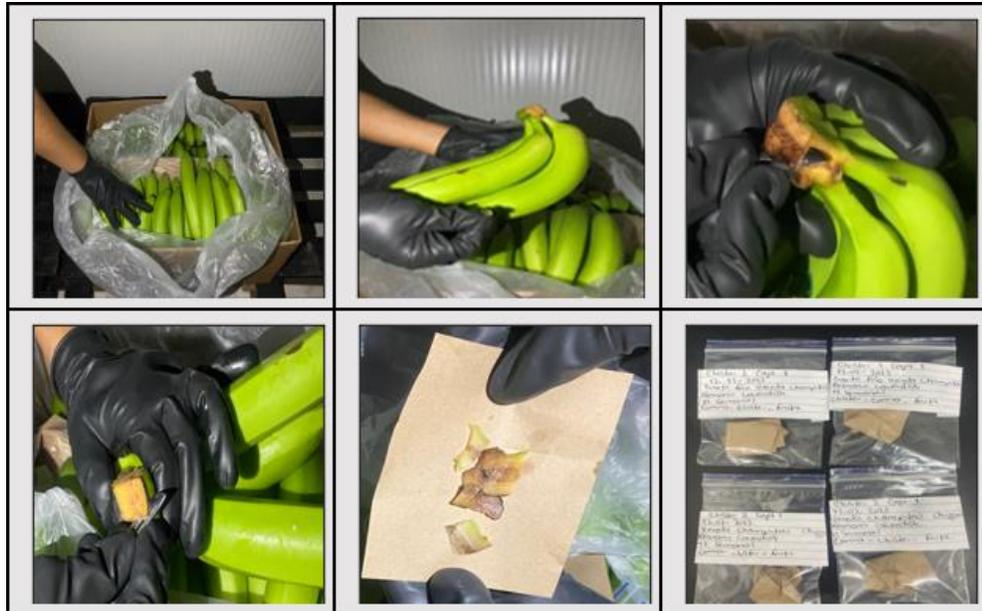


Fig. 10. Procedimiento toma de muestra

4.3. Procesamiento de las muestras en laboratorio

4.3.1. Preparación de muestras

Las muestras tomadas fueron cortadas en trozos pequeños de 2 a 8 mm y sumergidas en alcohol 70 % durante aproximadamente 30 s. Luego, se enjuagaron con agua destilada durante aproximadamente 10 s, se sumergieron nuevamente en alcohol al 70 % durante 30 s adicionales, nuevamente se enjuagaron con agua y se dejaron secar en toallas de papel absorbente durante 2 min. Los materiales utilizados se enumeran en la **TABLA VI**.

TABLA VI.
MATERIALES PARA LA PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Materiales	Reactivos
1. Bisturí quirúrgico hoja 10	5. Alcohol 70 %
2. Toallas de papel absorbente	6. Hipoclorito de sodio al 1 %
3. Pinza de disección metálica	7. Agua destilada
4. Mecheros	8. Muestras

4.3.2. Preparación de medios de cultivo

Se suspendieron 39 g de agar PDA de la marca Merck en 1000 mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer. Luego se colocó el matraz en una plancha de calentamiento con agitación suave hasta que el agar se disolviera por completo. A continuación, se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 15 min y se dejó enfriar a 45 °C. En condiciones de asepsia en una cabina de flujo laminar, se agregaron 200 mg de Amoxicilina de AG al medio, que se agitó suavemente hasta disolver el antibiótico por completo. Finalmente, se vertió en cajas Petri previamente esterilizadas. Los materiales utilizados se enumeran en la **TABLA VII**.

TABLA VII.
MATERIALES PARA LA PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

Materiales	Reactivos	Equipos
1. Erlenmeyer 2000 MI	8. Alcohol	13. Autoclave
2. Espátula	9. Hipoclorito	14. Balanza analítica
3. Agitador magnético	10. Agua destilada estéril	15. Cabina de flujo
4. Mecheros	11. Agar PDA de Merck	16. Cámara fotográfica
5. Beaker de vidrio 100 mL	12. Antibiótico Amoxicilina de AG	
6. Encendedor		
7. Cajas Petri de vidrio		

4.3.3. Inoculación

La inoculación se llevó a cabo en una cabina de flujo laminar bajo condiciones asépticas. Se utilizaron pinzas de disección metálica para tomar trozos de muestra de aproximadamente 1 cm² los cuales se colocaron en las cajas Petri con agar PDA, presionando suavemente y colocando aproximadamente cuatro trozos por caja. Las cajas inoculadas se rotularon y se incubaron en oscuridad sin control de temperatura durante 15 días. Los materiales utilizados se enumeran en la **TABLA VIII.**

TABLA VIII.
MATERIALES PARA NECESARIOS PARA LA INOCULACIÓN.

Materiales	Reactivos	Equipos
1. Bisturí quirúrgico hoja 10	6. Alcohol 70 %	10. Incubadora
2. Toallas de papel absorbente	7. Hipoclorito de sodio al 1 %	11. Cabina de flujo
3. Pinza de disección metálica	8. Agua destilada	12. Cámara fotográfica
4. Mecheros	9. Cajas Petri con Agar PDA	
5. Encendedor		

4.3.4. Aislamiento de hongos (resiembra)

Después de la inoculación de las muestras, se realizó un aislamiento de los hongos que crecieron. La resiembra se realizó en una cabina de flujo laminar de forma estéril, utilizando 1 hoja de bisturí estéril de tamaño 10 que se sumergió en alcohol, se flameó en un mechero y se dejó

enfriar, se utilizó para cortar pequeños segmentos del hongo que se pretendía aislar. Estos segmentos se colocaron en nuevas cajas Petri con agar PDA, se rotularon y se llevaron a incubación en oscuridad sin control de temperatura durante 15 días. Los materiales utilizados se enumeran en la **TABLA IX**.

TABLA IX.
MATERIALES NECESARIOS PARA LA RESIEMBRA.

Materiales	Reactivos	Equipos
1. Bisturí # 10	5. Alcohol	8. Cabina de flujo laminar
2. Mecheros	6. Agar PDA	9. Cámara fotográfica
3. Cinta papel	7. Agar PDA con colonias del hongo	10. Marcador
4. Toallas de papel		11. Encendedor

4.3.5. Estudio morfológico de los hongos

Antes de comenzar con las observaciones macroscópicas y microscópicas de los aislamientos obtenidos, se llevó a cabo una clasificación de las colonias basada en su lugar de origen (localidad) y su morfotipo o color. Es decir, se agruparon las colonias que presentaron similitudes en su aspecto visual para luego realizar la descripción de las características macroscópicas y microscópicas.

- Observación macroscópica

Luego de tener los hongos aislados, se realizó una observación de la morfología de las colonias, donde se anotó las características siguientes:

• Medio de cultivo utilizado

El medio de cultivo utilizado puede tener un impacto significativo en la morfología de los hongos, ya que pueden afectar el crecimiento, y sus características bioquímicas [62]. Por lo tanto, se consideró importante mencionar el medio de cultivo en cada caso.

- **Diámetro de la colonia respecto al tiempo de incubación**

Para medir el diámetro de las colonias se utilizó un pie de rey como instrumento de medida. Se realizó una medición en forma de cruz para obtener dos datos y así calcular un valor promedio del diámetro de la colonia (**Ec.1**) (**Fig.11**).

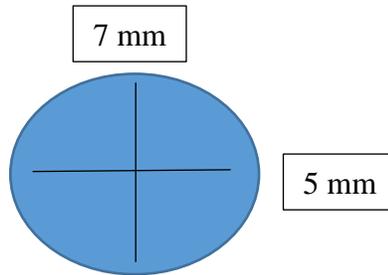


Fig. 11. Ejemplo de método de medición del diámetro de la colonia.

$$D = \frac{\text{Medición horizontal} + \text{medición vertical}}{2} = \frac{7 \text{ mm} + 5 \text{ mm}}{2} = 6 \text{ mm} \quad (\text{Ec.1})$$

- **Textura**

La textura fue medida de manera cualitativa mediante la observación, se utilizaron los siguientes términos para describir la textura de una colonia: Correosa, granulosa, pulverulenta, vellosa, aterciopelada, algodonosa.

- **Pigmentación difusible en el medio de cultivo**

Algunos hongos pueden producir pigmentos o metabolitos que cambian el color del medio de cultivo, estos pueden ser productos secundarios del metabolismo del hongo que se libran al medio y se hacen visibles mediante el cambio de color [63], esta es una característica importante para la identificación.

- **Color**

Se describió el color de la colonia en el anverso y reverso, utilizando la paleta de la **Figura 12**.



Fig. 12. Paleta de colores usada para describir las colonias

Nota: Imagen tomada de <https://www.freepng.es/png-ufey43/>

- **Observación microscópica**

Para la observación microscópica se utilizó una técnica de tinción simple con colorante azul de lactofenol y de un microscopio. En un portaobjetos limpio y seco se depositó una gota de colorante azul de lactofenol. Se cortó un trozo de cinta adhesiva con una pinza de disección metálica estéril, se pasó cuidadosamente el extremo de la cinta por el borde exterior de la colonia y posteriormente se colocó en el portaobjetos que contenía el colorante. Finalmente, se procedió a la observación en el microscopio con objetivos 4x, 10x, 40x y 100 x. Las características que se tomaron en cuenta fueron, las hifas, los conidióforos, la célula conidiógena y la presencia de conidios (macro y micro). Los materiales utilizados se listan en la **TABLA X**.

TABLA X.
MATERIALES PARA LA OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA

Materiales	Reactivos	Equipos
1. Portaobjeto	7. Alcohol al 70%	11. Microscopio
2. Cinta transparente	8. Colorante azul de lactofenol	12. Cámara fotográfica
3. Mecheros	9. Agua destilada estéril	13. Encendedor
4. Pinza de disección metálica	10. Colonia de hongos	
5. Pipeta Pasteur o gotero		
6. Frasco lavador		

4.4. Identificación

Después de realizar las observaciones macroscópicas y microscópicas de los aislamientos, se utilizó claves taxonómicas propuestas por Barnett y Hunter [40] para identificar el presunto género al que pertenecía cada hongo aislado. Posteriormente, se verificó la existencia del género, posibles modificaciones, semejanza morfológica con el aislado, y la presencia de reportes que comprobaran la asociación del patógeno con la pudrición de corona, utilizando libros, artículos y/o bases de datos. Por último, se realizó una descripción de las características morfológicas (macroscópicas y microscópicas) de cada género obtenido, de manera clara y detallada.

4.5. Manual de aislamiento e identificación de hongos asociados a la pudrición de corona en banano

Se elaboró un manual (**ver archivo anexo**) con los procedimientos, materiales y métodos para el aislamiento e identificación de hongos asociados a la pudrición de corona en banano, este está basado en la Norma Técnica Colombiana ISO/IEC 17025:2017 la cual establece los requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. El manual es ilustrativo en formato IEEE y comprende los procedimientos de toma y procesamiento de muestras, medios de cultivo y preparación, inoculación y resiembra, métodos de observación macroscópica y microscópica, claves taxonómicas con imágenes ilustrativas de los géneros, y la descripción de características morfológicas de los hongos asociados a la pudrición de corona en banano reportados en literatura. Su estructura consta de: Portada, índice, introducción, procedimientos, referencias y anexos.

V. RESULTADOS

5.1. Aislamientos fúngicos obtenidos

Se obtuvo un total de 114 aislamientos, pertenecientes a 8 géneros (TABLA XI). En la Fig. 13 se muestra la frecuencia de cada género aislado de las tres localidades.

TABLA XI.
HONGOS AISLADOS DE LA ZONA DE URABÁ

Género	Número de aislados	Porcentaje de ocurrencia
<i>Fusarium spp</i>	39	34,21%
<i>Curvularia spp</i>	26	22,81%
<i>Acremonium spp</i>	15	13,16%
<i>Nigrospora spp</i>	14	12,28%
<i>Verticillium sI</i>	8	7,02%
No identificados	7	6,14%
<i>Penicillium spp</i>	2	1,75%
<i>Cladosporium spp</i>	2	1,75%
<i>Clonostachys sp</i>	1	0,88%
Total	114	100%

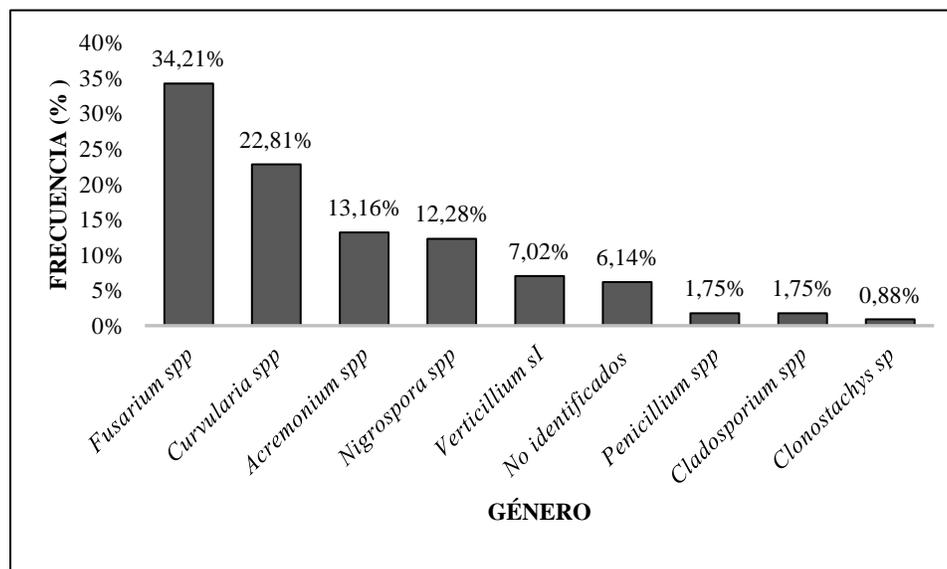


Fig. 13. Frecuencia de cada género aislado de las tres localidades

De la localidad Chigorodó se aislaron 54 cepas: 15 *Fusarium spp*, 11 *Acremonium sp*, 8 *Verticillium sI*, 7 *Curvularia spp*, 5 *Nigrospora spp*, 1 *Penicillium sp* y 7 no identificados (TABLA XII). En la Fig. 14 se muestra de manera gráfica la frecuencia de aparición de cada género obtenido en esta localidad.

TABLA XII.
HONGOS AISLADOS DE LA LOCALIDAD CHIGORODÓ

Géneros aislados	Cantidad (a los 16 días)	Cantidad (a los 24 días)	Total	Frecuencia
<i>Fusarium spp</i>	6	9	15	27,78%
<i>Acremonium spp</i>	4	7	11	20,37%
<i>Verticillium sI</i>	3	5	8	14,81%
<i>Curvularia spp</i>	4	3	7	12,96%
No identificados	2	5	7	12,96%
<i>Nigrospora spp</i>	1	4	5	9,26%
<i>Penicillium spp</i>	0	1	1	1,85%
Total	20	34	54	100%

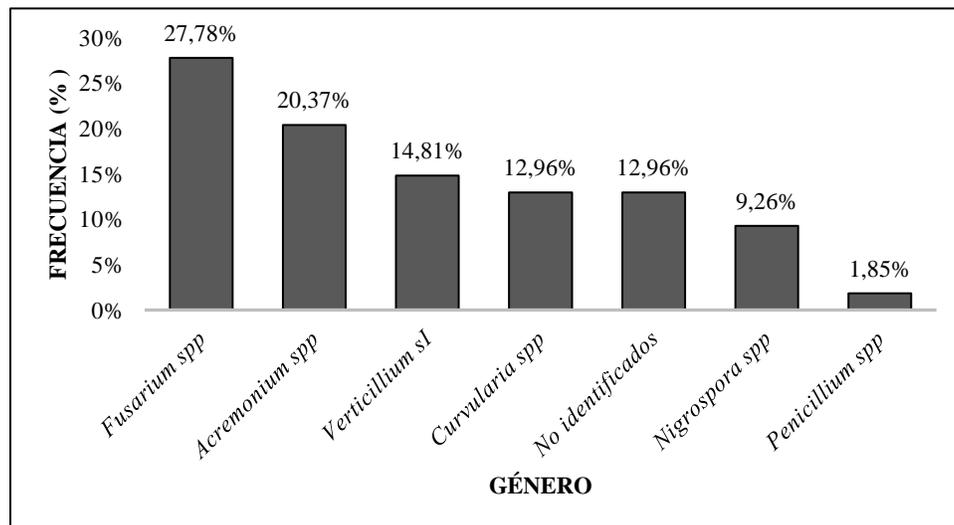


Fig. 14. Frecuencia de cada género aislado de Chigorodó

De la localidad Carepa se aislaron 38 cepas: 15 *Fusarium spp*, 13 *Curvularia sp*, 7 *Nigrospora spp*, 2 *Cladosporium sp*, y 1 *Penicillium sp* (TABLA XIII). La gráfica de la Fig. 15 muestran la frecuencia de cada genero obtenido en esta localidad.

TABLA XIII.
HONGOS AISLADOS LOCALIDAD CAREPA

Géneros aislados	Cantidad (a los 16 días)	Cantidad (a los 24 días)	Total	Frecuencia (%)
<i>Fusarium spp</i>	9	6	15	39,47 %
<i>Curvularia spp</i>	6	7	13	34,21 %
<i>Nigrospora spp</i>	3	4	7	18,42 %
<i>Cladosporium spp</i>	0	2	2	5,26 %
<i>Penicillium sp</i>	1	0	1	2,63 %
Total	19	19	38	100 %

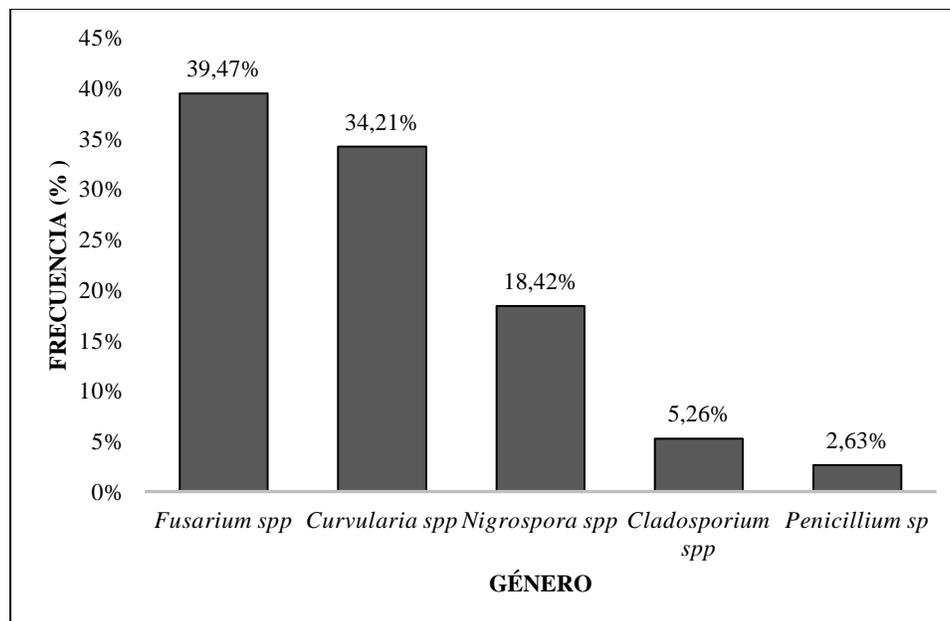


Fig. 15. Frecuencia de cada género aislado de Carepa

De la localidad Apartadó se aislaron 22 cepas: 8 *Fusarium spp*, 6 *Curvularia spp*, 4 *Acremonium spp*, 3 *Nigrospora spp*, y 1 *Clonostachys sp* (TABLA XIV). El porcentaje de ocurrencia de cada género en esta localidad se muestra en la Fig. 16.

TABLA XIV.
HONGOS AISLADOS LOCALIDAD APARTADÓ

Géneros aislados	Cantidad (a los 16 días)	Cantidad (a los 24 días)	Total	Frecuencia (%)
<i>Fusarium spp</i>	5	3	8	36,36 %
<i>Curvularia spp</i>	4	2	6	27,27 %
<i>Acremonium spp</i>	1	3	4	18,18 %
<i>Nigrospora spp</i>	1	2	3	13,64 %
<i>Clonostachys sp</i>	0	1	1	4,55 %
Total	11	11	22	100 %

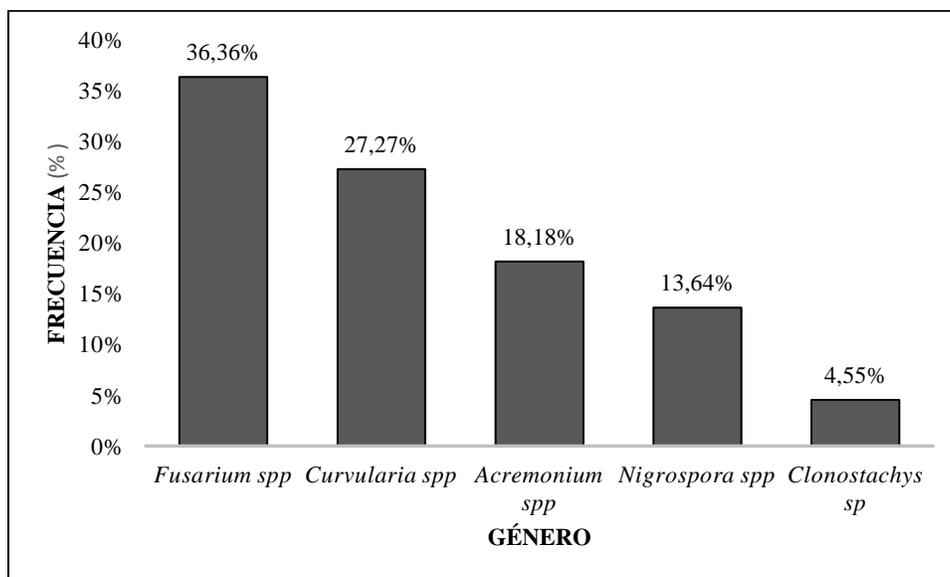


Fig. 16. Frecuencia de cada género aislado de Apartadó

5.2. Identificación de los géneros.

5.2.1. *Fusarium spp*

En el **ANEXO 2**, se muestra la tabla de datos soporte de la identificación de las 39 cepas del género *Fusarium spp*, a continuación, se da una descripción de las características observadas y en la **Fig. .17** se muestran las imágenes con mejor resolución obtenidas del género.

- **Características macroscópicas:** Las características macroscópicas de las colonias en agar PDA variaron en tonalidades y texturas. Se presentaron dos morfotipos, en el primer caso se obtuvieron colonias por el anverso con textura algodonosa, de color blanco a amarillo claro y algunas con tonalidades marrón claro en el centro. Por el reverso presentaron coloraciones ligeramente anaranjadas. El crecimiento fue rápido con diámetros entre 81 y 90 mm a los 8 días de incubación. En el segundo caso, la coloración de las colonias por el anverso y reverso presentaron colores rosa, fucsia y rojizos. Crecimiento de 60 a 85 mm a los 15 días de incubación, textura aterciopelada y bordes irregulares. En ambos casos no se observó cambio de color en el medio de cultivo.
- **Características microscópicas:** Microscópicamente se observaron hifas septadas, con apariencia relativamente delgada y ramificadas. Conidióforos largos dispuestos de manera recta sin septos. Célula conidiogénica pequeña, delgada de pared lisa, ancha en la base y forma un pequeño cuello estrecho en la parte superior. Microconidios (en algunos casos ausentes) fusiformes, ovoides y cilíndricos. Macroconidios hialinos de 1 a 5 septos, con curvatura distintiva, en forma de medialuna, ligeramente curvados o de forma tabicada y clamidosporas elipsoides de manera aislada o en pareja.

De acuerdo con las características macroscópicas y microscópicas observadas y en concordancia con las claves taxonómicas aplicadas, se identifica presuntivamente como pertenecientes al género *Fusarium spp*. Este resultado coincide con el de las características típicas de este género obtenidas por otros autores [64] [65] [66] [67] [68] [69] [70] [71] [72] [73]. En la **TABLA XV** se muestra la clasificación taxonómica del género.

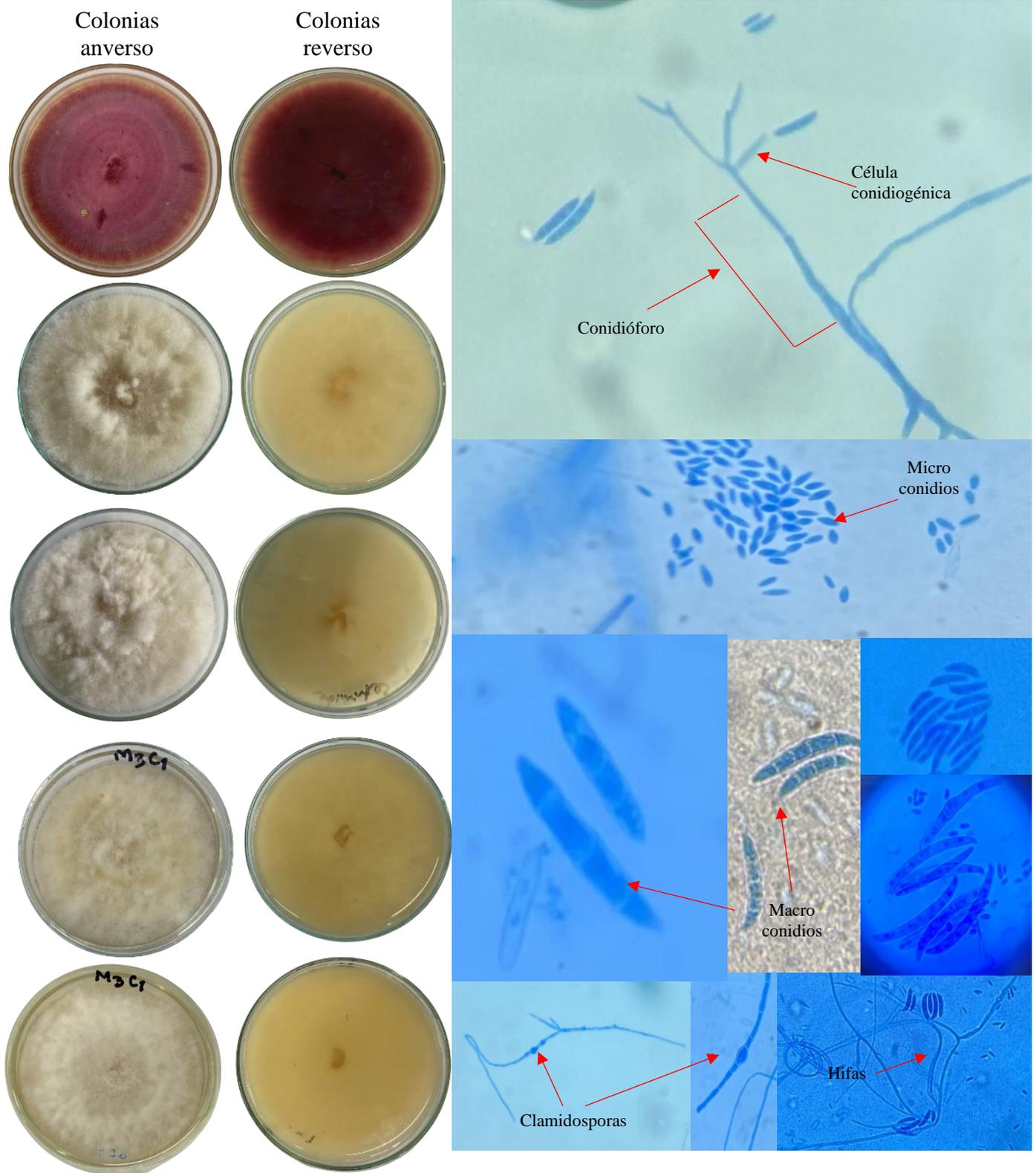


Fig. 17. Colonias y estructuras microscópicas de *Fusarium spp* en agar PDA.

TABLA XV.
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO *Fusarium spp*

Reino	Fungi
División	<i>Ascomycota</i>
Clase	<i>Sordariomycetes</i>
Subclase	<i>Hypocreomycetidae</i>
Orden	<i>Hypocreales</i>
Familia	<i>Nectriaceae</i>
Género	<i>Fusarium spp</i>

Nota: ID de taxonomía NCBI: txid5506

5.2.2. *Curvularia spp*

En el **ANEXO 3**, se muestra la tabla de datos soporte de la identificación de las 26 cepas del género *Curvularia spp*, a continuación, se da una descripción de las características observadas y en la **Fig. .18** se muestran las imágenes con mejor resolución obtenidas del género.

- **Características macroscópicas:** Colonias en agar PDA de textura aterciopelada, coloración verde oliva o verde militar por el anverso, algunas con presencia de un anillo distal de color más claro que la colonia o con un margen ondulado y difuso. Por el reverso se observan de color negro azul. El Crecimiento fue rápido en su mayoría las colonias ocuparon la caja de Petri a los 8 días de incubación.
- **Características microscópicas:** Hifas septadas, relativamente delgadas, ligeramente curvadas y ramificadas. Conidióforos erectos, septados de color marrón claro. Célula conidiógena unicelular de forma ovoide. Conidios color marrón con 3 a 4 septos, unicelulares, elipsoides, y algunos con forma de medialuna.

Las características anteriormente mencionadas son consistentes con la morfología del género *Curvularia spp* y concuerdan con las reportadas por otros autores [74] [75] [76] [77] [78] [79]. En la **TABLA XVI** se muestra la clasificación taxonómica del género [80].

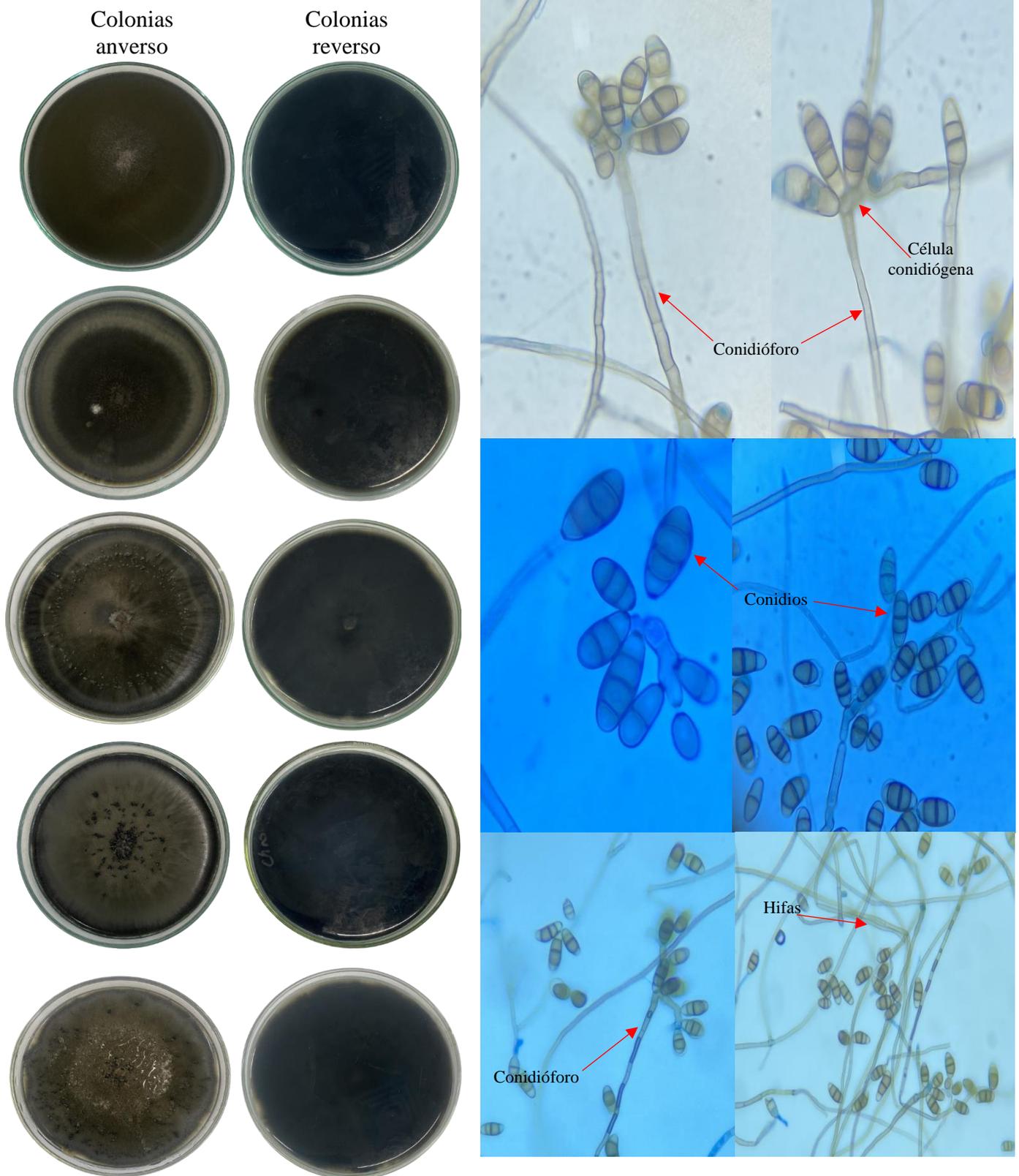


Fig. 18. Colonias y estructuras microscópicas de *Curvularia spp* en agar PDA

TABLA XVI.
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO *Curvularia spp*

Reino	Fungi
División	Ascomycota
Clase	Dothideomycetes
Orden	Pleosporales
Familia	Pleosporaceae
Género	<i>Curvularia spp</i>

Nota: ID de taxonomía NCBI: txid5502

5.2.3. *Acremonium spp*

En el **ANEXO 4**, se muestra la tabla de datos soporte de la identificación de las 15 cepas del género *Acremonium spp*, a continuación, se da una descripción de las características observadas y en la **Fig. 19** se muestran las imágenes con mejor resolución obtenidas del género.

- **Características macroscópicas:** Las colonias en agar PDA, presentaron colores rosado, naranjado pálido y rojizo, combinadas con un polvo blanco en la superficie, lo que les da una textura polvorienta o ligeramente algodonosa. Por el reverso se observan formas de venas o raíces de los mismos colores que el anverso. En su mayoría las colonias ocuparon la caja de Petri a los 17 días de incubación.
- **Características microscópicas:** Microscópicamente se observaron hifas delgadas, septadas y ramificadas. Conidióforos rectos, delgados, con ramificación simple o verticilada. Célula conidiógena cilíndrica o en forma de clavija, larga y delgada. Conidios sin septos, de forma elipsoide y agrupados formando falsas cabezas. Clamidosporas elipsoidales y globosas dispuestas de manera intercalada.

De acuerdo con las características mencionadas y las claves taxonómicas aplicadas, se llega a una identificación presuntiva del género *Acremonium spp*, la mayoría de estas características coinciden con las descritas en literatura y reportadas en otros estudios para este género [81] [82] [83] [84] [85] [86]. En la **TABLA XVII** se muestra la clasificación taxonómica del género.

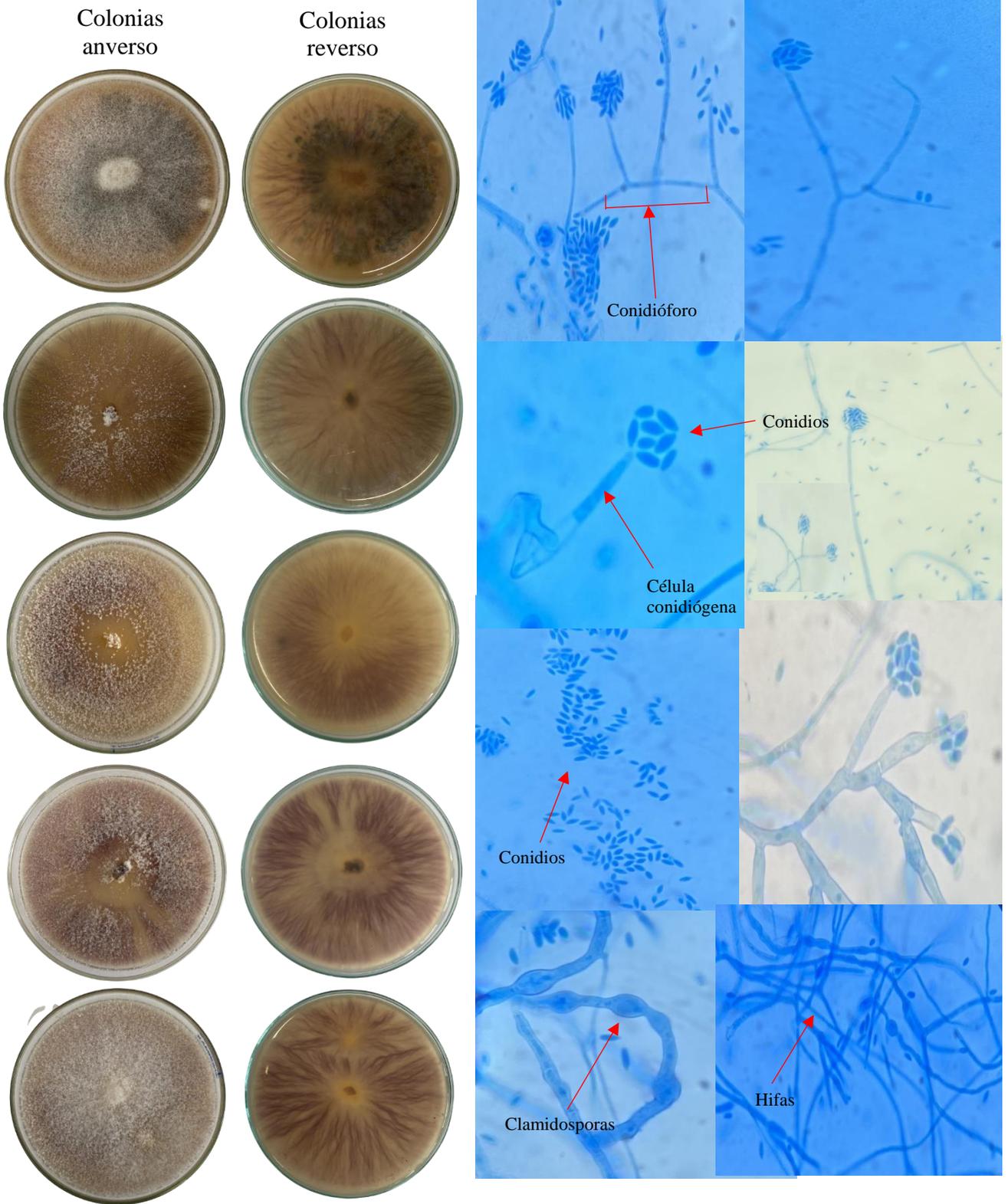


Fig. 19. Colonias y estructuras microscópicas de *Acremonium* spp en agar PDA

TABLA XVII.
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO *Acremonium spp*

Reino	Fungi
División	<i>Ascomycota</i>
Clase	<i>Sordariomycetes</i>
Orden	<i>Hypocreales</i>
Familia	<i>Hypocreaceae</i>
Género	<i>Acremonium</i>

Nota: ID de taxonomía NCBI: txid159075

5.2.4. *Nigrospora spp*

En el **ANEXO 5**, se muestra la tabla de datos soporte de la identificación de las 14 cepas del género *Nigrospora spp*, a continuación, se da una descripción de las características observadas y en la **Fig. 20** se muestran las imágenes con mejor resolución obtenidas del género.

- **Características macroscópicas:** Colonias densas en agar PDA con crecimiento rápido, ocupando la caja de Petri a los 7 días de incubación. Color grisáceo a negro con tonalidades de blanco, textura aterciopelada, o ligeramente algodonosa. Por el reverso se presentan de color humo o con pigmentaciones negras.
- **Características microscópicas:** Microscópicamente se observaron hifas marrones claro o hialinas, ramificadas y septadas. Conidióforos hialinos, ramificados y pequeños. Célula conidiógena solitaria de forma globosa o cilíndrica produciendo un solo conidio. Conidios solitarios de forma globosa y color marrón oscuro o negro, brillante.

Las características descritas son consistentes con el género *Nigrospora spp*, además, coinciden con las descritas en otros estudios [87] [88] [89] [90] [91] [92]. En la **TABLA XVIII** se muestra la clasificación taxonómica del género.

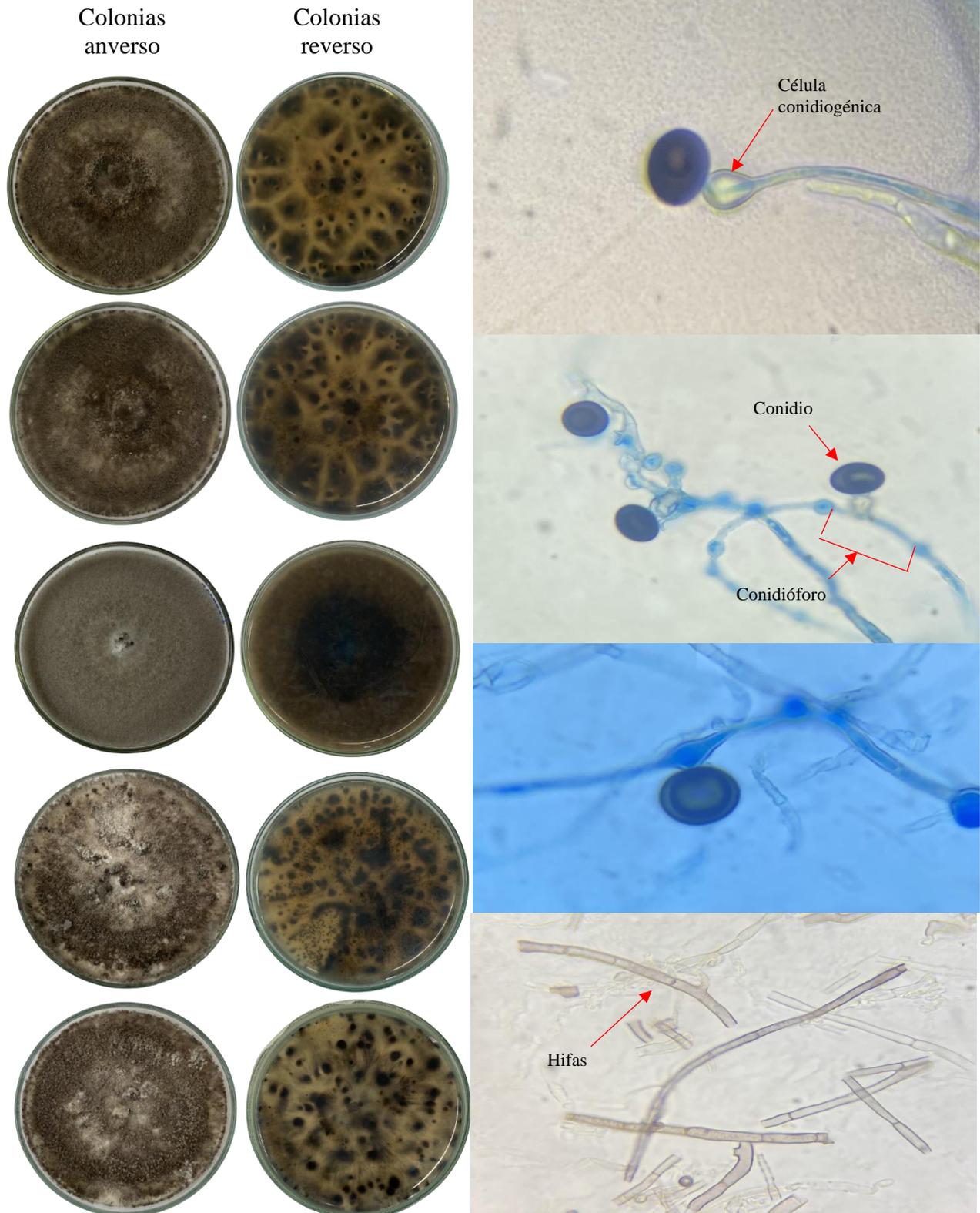


Fig. 20. Colonias y estructuras microscópicas de *Nigrospora spp* en agar PDA

TABLA XVIII.
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO *Nigrospora* spp

Reino	Fungi
División	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Xylariales
Familia	Apiosporaceae
Género	<i>Nigrospora</i>

Nota: ID de taxonomía NCBI: txid114230

5.2.5. *Verticillium* s.I.

En el **ANEXO 6**, se muestra la tabla de datos soporte de la identificación de las 8 cepas del género *Verticillium* s.I, a continuación, se da una descripción de las características observadas y en la **Fig. 21** se muestran las imágenes con mejor resolución obtenidas del género.

- **Características macroscópicas:** Colonias en agar PDA que presentaron dos morfotipos, en el primer caso se presentaron colonias de textura aterciopelada, color blanco con fondo marrón o rojizo, a veces con apariencia hialina, diámetro de aproximadamente entre 60 y 70 mm a los 15 días de incubación. Por el reverso de coloración rojizo, marrón o ligeramente anaranjado. El segundo morfotipo presentó colonias blancas con textura algodonosa, diámetros desde 80 y 90 mm a los 15 días de incubación. Por el reverso de color amarillo claro con formación de un halo distal de color rojizo o amarillo pálido.
- **Características microscópicas:** Microscópicamente se observan hifas delgadas, ramificadas. Conidióforos delgados y ramificados, generalmente, erectos. Fiálides agrupadas en vértices (salen del mismo punto). Conidios hialinos, ovoides o elipsoides, sin septos.

Aplicando las claves taxonómicas se llega a la identificación presuntiva de *Verticillium* spp. Sus características concuerdan con las reportadas en literatura para el género [93] [94] [95] [96] [97]. Sin embargo, se nombra a los aislados como *Verticillium* s.I, *sensu lato*, que significa “en sentido amplio”. Este género es críptico y presenta gran variabilidad morfológica, bioquímica y genética similar a otros géneros. Por tanto, para llegar a una identificación morfológica correcta se

deben evidenciar caracteres muy finos del género o mediante pruebas moleculares. En la **TABLA XIX** se muestra la clasificación taxonómica del género.

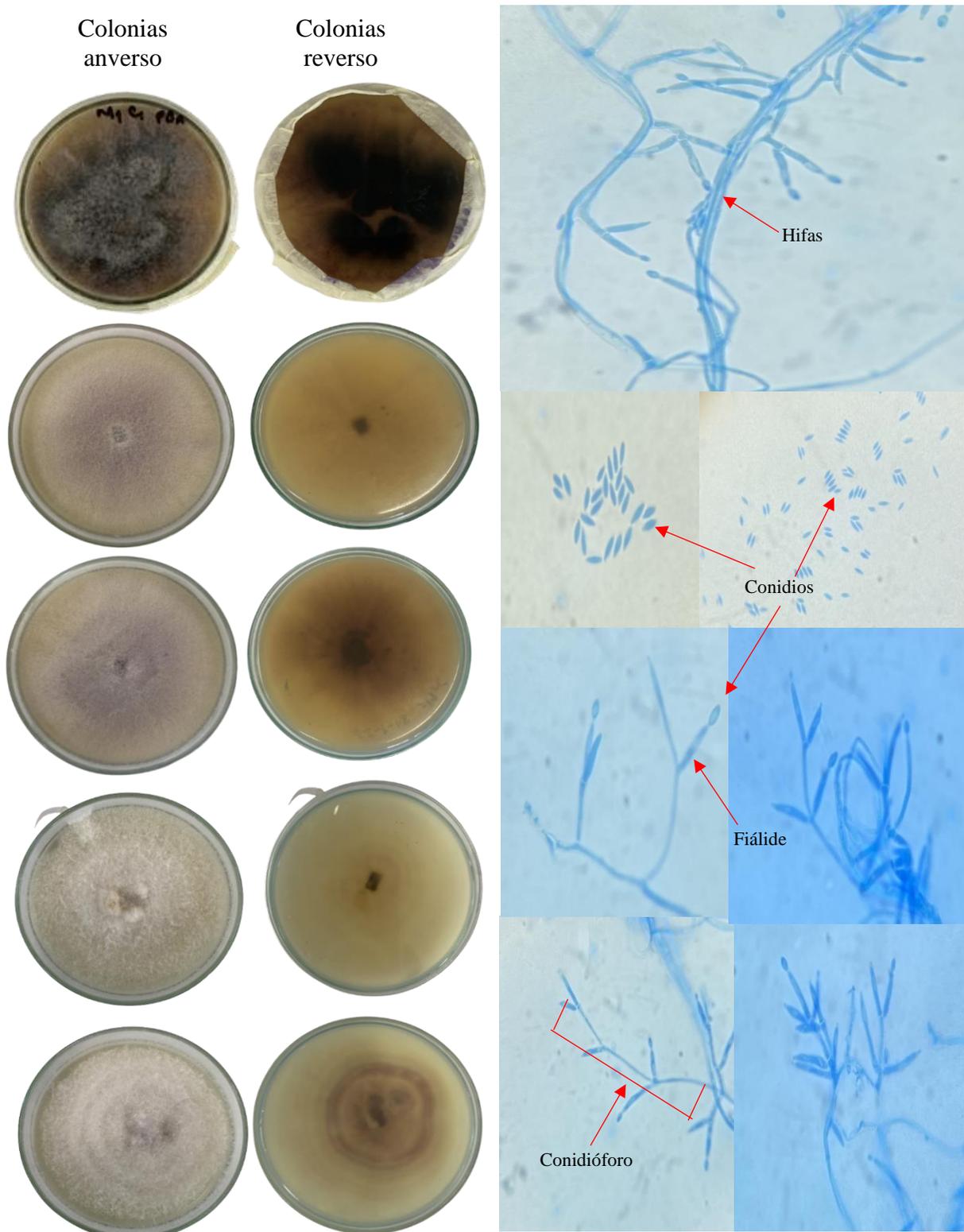


Fig. 21. Colonias y estructuras microscópicas de *Verticillium* s.l en agar PDA

TABLA XIX.
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO *Verticillium spp*

Reino	Fungi
División	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Glomerellales
Familia	Plectosphaerellaceae
Género	<i>Nigrospora</i>

Nota: ID de taxonomía NCBI: txid1036719

5.2.6. *Penicillium sp*

- **Características macroscópicas:** Colonias en agar PDA de crecimiento rápido. Se obtuvieron dos aislados, uno exhibió una colonia de textura aterciopelada, color verde grisáceo con bordes blancos, y color amarillento por el reverso. El medio de cultivo cambió su color a amarillo, lo que sugiere la excreción de metabolitos por parte de la cepa. La otra colonia presentó una textura polvorienta color verde oscuro con bordes grises y no presentó cambios en la coloración del medio de cultivo (**Fig. 22**).
- **Características microscópicas:** Microscópicamente se observaron hifas largas, delgadas y ramificadas. Conidióforo verticilado de tres o más métulas, largo y delgado. Fiálides de forma cilíndrica. Conidios pequeños, de forma esférica dispuestos en cadena arriba de la fiálide (**Fig. 22**).

De acuerdo con las claves taxonómicas y en concordancia con otros autores [98] [99] [100] [101], se llega a la identificación presuntiva del género *Penicillium sp*. En la **TABLA XX** se muestra la clasificación taxonómica del género.

TABLA XX.
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Penicillium spp*

Reino	Fungi
División	<i>Ascomycota</i>
Clase	<i>Eurotiomycetes</i>
Orden	<i>Eurotiales</i>
Familia	<i>Aspergillaceae</i>
Género	<i>Penicillium spp</i>

Nota: ID de taxonomía NCBI: txid5073

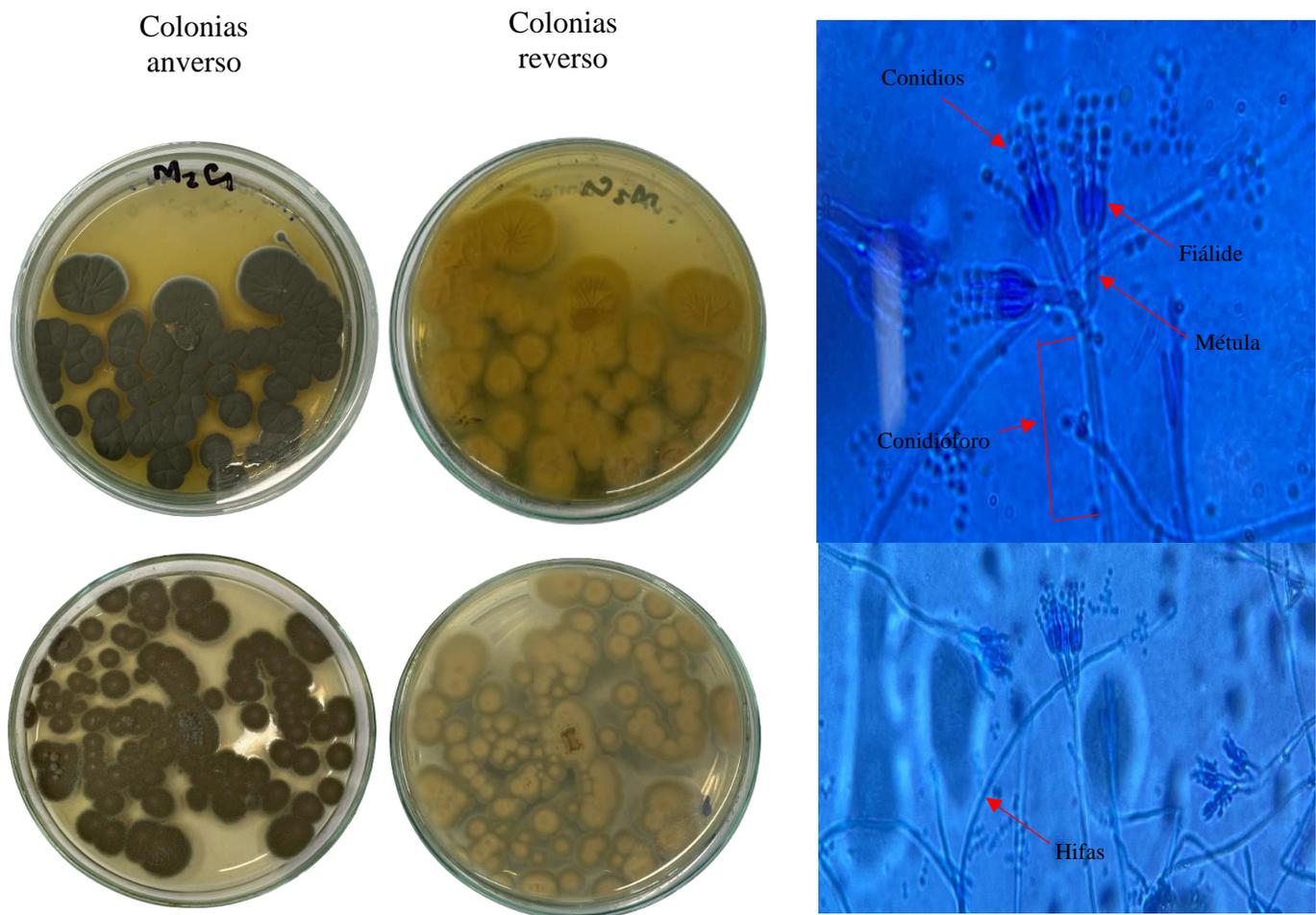


Fig. 22. Colonias y estructuras microscópicas de *Penicillium spp* en agar PDA

5.2.7. *Cladosporium spp*

- **Características macroscópicas:** Colonias en agar PDA color verde oliva o verde militar con bordes más oscuros, por el reverso se exhiben de color negro. Presentan textura aterciopelada. Los diámetros de las colonias fueron de 20 y 60 mm a los 10 días de incubación, no se presentó pigmentación difusible en el medio de cultivo (**Fig. 23**).
- **Características microscópicas:** Hifas color marrón claro, septadas y ramificadas. Conidióforo cilíndrico ramificado. Fiálides en grupos y ramificadas. Conidios de forma ovalada o redondeada (**Fig. 23**).

Estas características son consistentes con las del género *Cladosporium spp* y coinciden con las reportadas en otros estudios [102] [103] [104] [105]. En la **TABLA XXI** se muestra la clasificación taxonómica del género.

TABLA XXI.
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO *Cladosporium spp*

Reino	Fungi
División	<i>Ascomycota</i>
Clase	<i>Dothideomycetes</i>
Familia	<i>Cladosporiaceae</i>
Género	<i>Cladosporium</i>

Nota: ID de taxonomía NCBI: txid5498

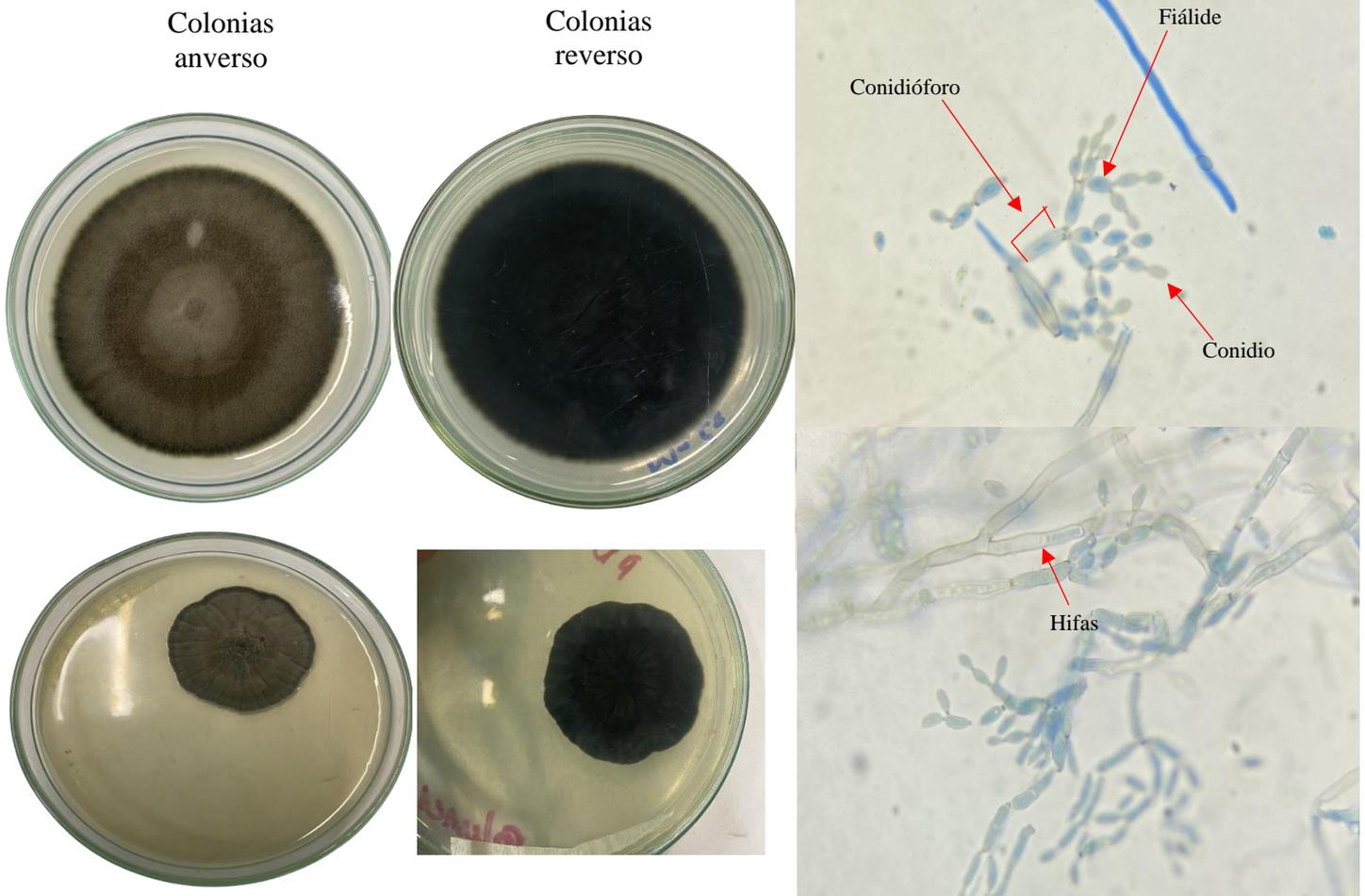


Fig. 23. Colonias y estructuras microscópicas de *Cladosporium spp* en agar PDA

5.2.8. *Clonostachys sp*

- **Características macroscópicas:** Colonia en agar PDA color blanco, textura algodonosa y aterciopelada, por el reverso se observa color amarillo claro. Diámetro de aproximadamente 70 mm a los 8 días de incubación, se observa pigmentación amarilla en el medio de cultivo (**Fig.24**).
- **Características microscópicas:** Hifas ramificadas y septadas de forma cilíndrica. Conidióforo recto de forma cilíndrica verticilado. Fiálides cilíndricas verticiladas. Conidios esféricos a elipsoidales. Se observan dos estructuras una parecida a la de *Penicillium* y otra parecida a la de *Acremonium* (**Fig.24**).

De acuerdo con las características mencionadas, las claves taxonómicas aplicadas y reportes en literatura se identifica presuntivamente al género *Clonostachys sp* [106] [107] [108]. En la **TABLA XXII** se muestra la clasificación taxonómica del género.

TABLA XXII.
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO *Clonostachys sp*

Reino	Fungi
División	<i>Ascomycota</i>
Clase	<i>Sordariomycetes</i>
Orden	<i>Hypocreales</i>
Familia	<i>Bionectriaceae</i>
Género	<i>Clonostachys</i>

Nota: ID de taxonomía NCBI: txid110564

Colonia en
PDA
anverso



Colonia en
PDA
reverso

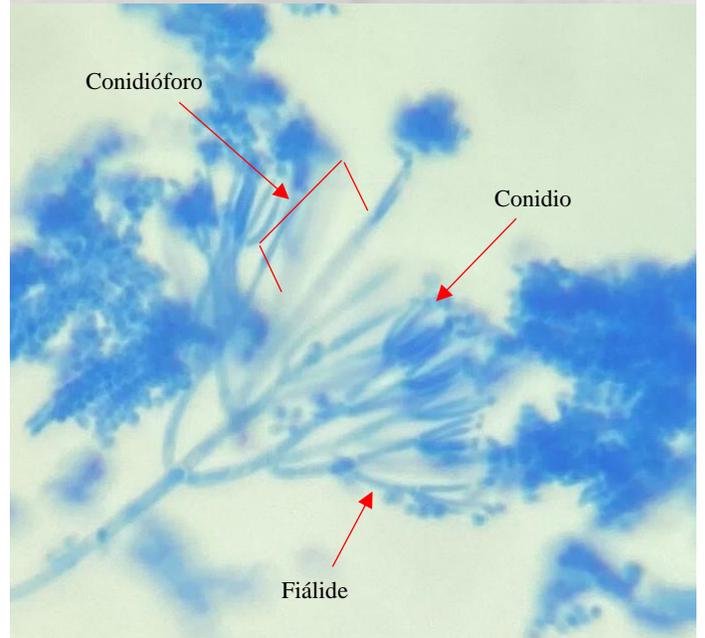
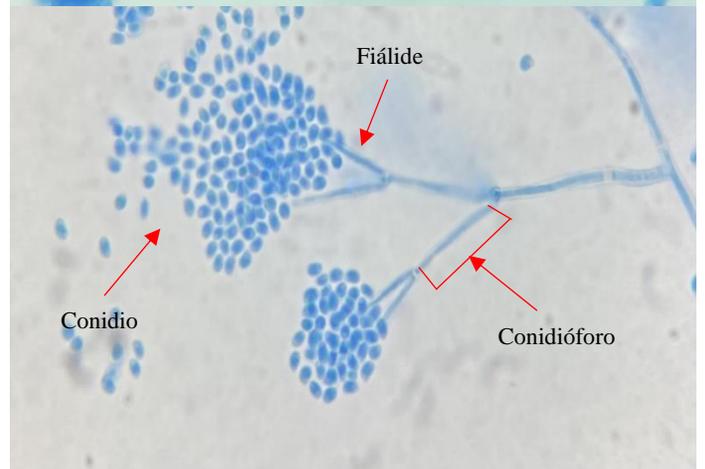


Fig. 24. Colonias y estructuras microscópicas de *Clonostachys sp* en agar PDA

5.2.9. No identificados

Durante el proceso de aislamiento, se obtuvieron siete cepas que no pudieron ser identificadas debido a la falta de estructuras observables al microscopio. Es posible que estos hongos necesitaran más tiempo para mostrar estructuras reproductivas que permitieran su identificación. En consecuencia, se consideran como hongos aislados no identificados hasta que se pueda determinar su especie mediante técnicas adicionales. A continuación, en las **Figuras 25 y 26** se muestran las fotografías de las colonias y lo que se logró ver al microscopio.

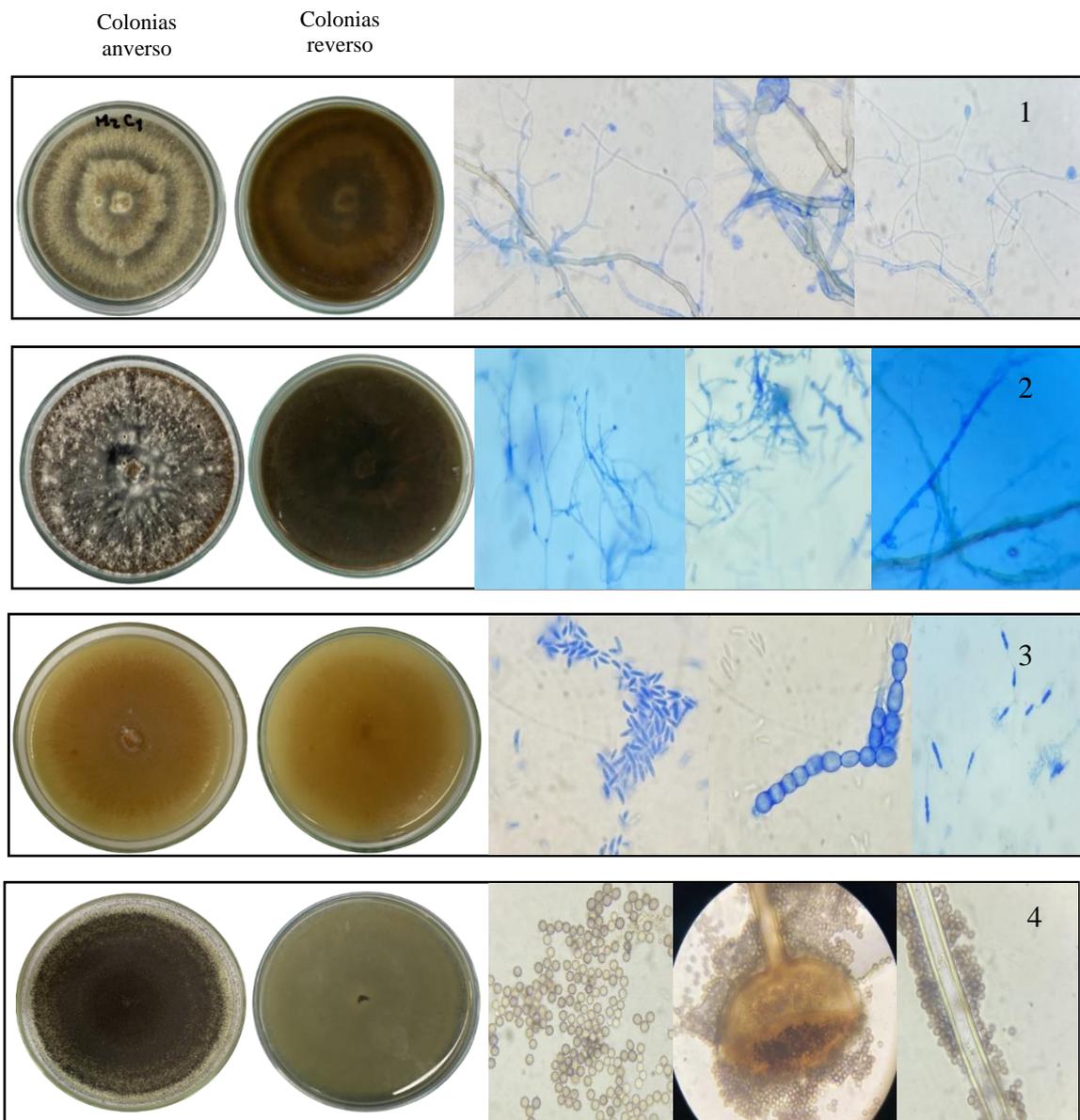


Fig. 25. Colonias y estructuras microscópicas de hongos no identificados en agar PDA.

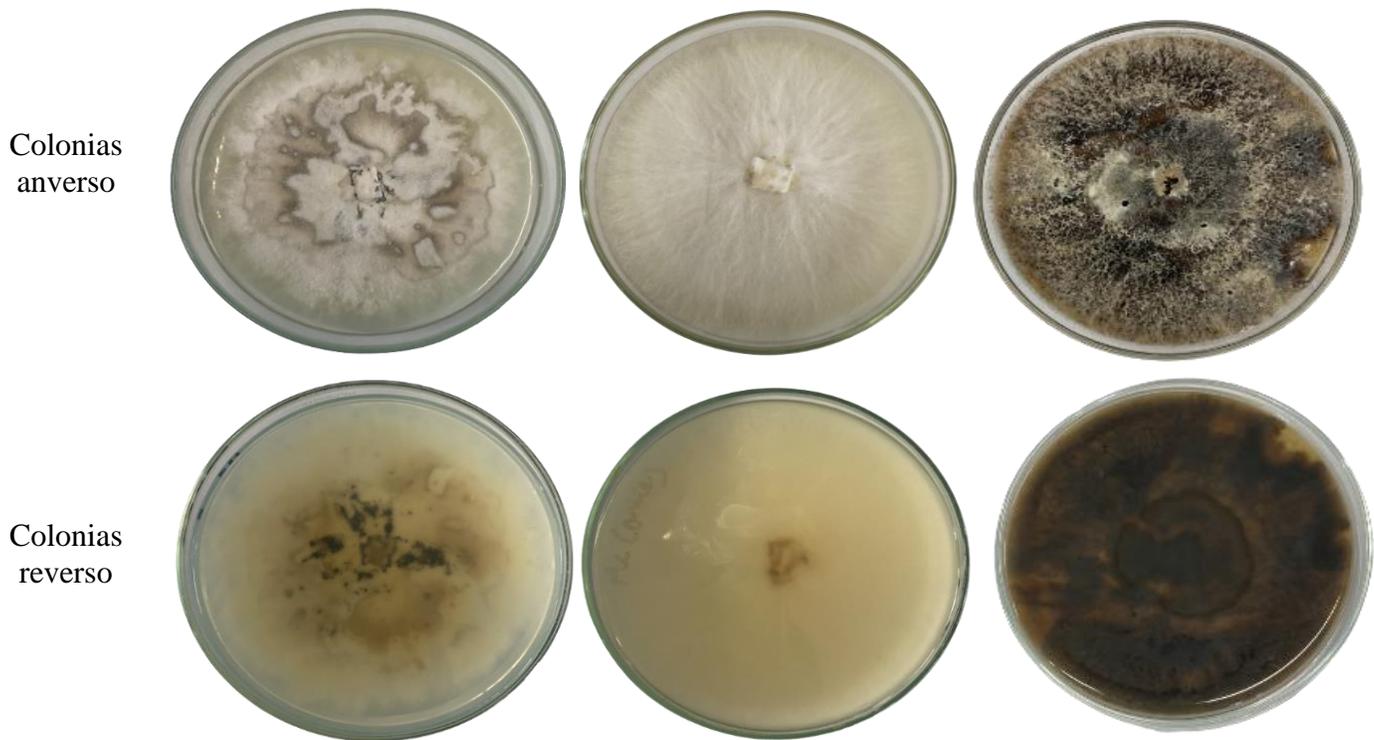


Fig. 26. Colonias de hongos no identificados en agar PDA

5.3. Manual de aislamiento e identificación de hongos asociados a la pudrición de corona en banano.

Con la información recolectada en este trabajo y las prácticas de laboratorio llevadas a cabo para obtener los aislamientos, se elaboró un manual con los procedimientos, materiales y métodos para el aislamiento e identificación de hongos asociados a la pudrición de corona en banano, que tiene como objetivo servirle a la empresa Fitoplant S.A.S como material de apoyo para la implementación del servicio llamado “identificación de fitopatógenos” Este manual se adjunta en un archivo aparte como anexo.

VI. ANÁLISIS

Los bananos Cavendish tipo exportación recolectados de tres localidades de la zona de Urabá que mostraron síntomas de pudrición de corona revelaron varios aislamientos fúngicos. El género más frecuente fue *Fusarium spp* (34,21 %), seguido por *Curvularia spp* (22,81 %), *Acremonium spp* (13,16 %), *Nigrospora spp* (12,28 %), *Verticillium sI* (7,02 %), *Penicillium spp* (1,75 %), *Cladosporium spp* (1,75 %), *Clonostachys spp* (0,88 %) y no identificados (6,14 %) (**Fig.13**). *Fusarium spp* y *Curvularia spp* se aislaron con mayor frecuencia en cada una de las localidades; de Chigorodó con un 27,78 %, y 12,96 %; de Carepa un 39,47 % y 34,21 %; de Apartadó un 36,36 % y 27,27 %, respectivamente. *Nigrospora spp* también estuvo presente en los aislamientos de las 3 localidades, aunque en menor proporción. *Acremonium spp* se presentó en los aislados de Chigorodó y Apartadó. *Penicillium spp* en los aislados de Carepa y Chigorodó. *Verticillium sI* y los aislamientos no identificados se obtuvieron de la localidad Chigorodó. *Cladosporium spp* solo se obtuvo de los aislados de Carepa. Y *Clonostachys spp* solo se obtuvo de los aislados de la localidad Apartadó (**Fig. 14**) (**Fig. 15**) (**Fig. 16**). Estos géneros de hongos son comunes en el entorno de cultivos de banano, presentándose en el suelo, en residuos vegetales y en otras fuentes de inóculo [109].

El género *Fusarium spp* ha sido ampliamente reportado como agente causal y asociado a la pudrición de corona en banano. Hay reportes de literatura en diferentes partes del mundo donde se ha comprobado su patogenicidad asociada a esta enfermedad. Especies como: *F. pallidoroseum*, *F. verticillioides* y *F. moniliforme* (cuyo nombre actual es *F. fujikuroi*) , *F. equiseti*, *F. chlamydosporum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. solani*, y *Fusarium sp.* han sido las más implicadas [110] [111] [112] [113] [114] [115] [116] [117] [118] [119] [120] [121] [122]. El género *Curvularia spp* también ha sido reportado como asociado a la enfermedad, los autores mencionaron que el síntoma presentado son manchas rosadas en los frutos maduros que se extienden al pericarpio; sin embargo, esto no afectan la pulpa [116]. En 2020 se realizó el primer reporte de *Curvularia lunata* causando pudrición de corona en banano; el estudio fue desarrollado en Pakistán. Este resultado se logró a través del aislamiento de afectaciones de corona de banano, pruebas de patogenicidad e identificación molecular [74]. Un estudio realizado en 2014 en Senegal demostró que *Curvularia sp* en asociación con *Fusarium sp* o *Colletotrichum musae* causan la enfermedad

en los frutos de banano [123]. En otro estudio se obtuvieron tres aislados, entre ellos *Verticillium sp* y *Penicillium sp*, los cuales demostraron su patogenicidad asociada a la afección [117]. También, se reportó la severidad de la pudrición de corona causadas por la inoculación de *Acremonium sp*, *Verticillium sp* y *Penicillium sp*; este último causando necrosis superficial. Con esto demostraron la patogenicidad asociada a la enfermedad de estos organismos [124]. *Acremonium sp* también fue reportado causando una pudrición de corona parduzca según los autores [125]. *Nigrospora sp*, y *Cladosporium sp* han sido reportados como aislados de coronas con síntomas de pudrición, sin embargo, aún no se ha demostrado su patogenicidad [118]. Autores señalan que estos hongos saprofitos o débilmente patógenos podrían tener un papel secundario facilitando la infección y el desarrollo de la enfermedad [126] [127] [128]. El género *Clonostachys spp* se aisló en Filipinas de la superficie de banano Cavendish enfermo en 2010 [129], en México la especie *Clonostachys rosea* fue reportada como asociada a la pudrición en el fruto de aguacate [107] y ha sido ampliamente reportada como agente bio-controlador contra algunas especies de *Fusarium spp* [130] [131] [132]. Un estudio en Urabá hecho por la Asociación de Bananeros de Colombia, AUGURA-Centro de Investigaciones del Banano CENIBANANO, Banacol y la universidad nacional de Colombia en 2015, sobre factores asociados a enfermedades postcosecha, reportó aislamientos de hongos asociados a la pudrición de corona en banano donde obtuvieron géneros como *Fusarium spp*, *Curvularia spp*, *Colletotrichum musae* y *Clonostachys sp* [133].

Los hongos hallados en este trabajo se ajustan a los reportados en literatura como agentes asociados a la pudrición de corona en banano. Otros hongos informados como causales de esta enfermedad como lo son *Lasiodiplodia theobromae* [72] [117] [134] [135] [110] [136] y *Colletotrichum musae* [72] [117] [118] [113] no fueron aislados en este estudio. La identificación a nivel de género de *Colletotrichum* puede resultar difícil debido a varias razones: Primero a sus características morfológicas variables, ya que presenta una amplia gama de formas en sus colonias y estructuras reproductivas que pueden variar según la especie y las condiciones de crecimiento. Segundo porque sus estructuras tanto microscópicamente como macroscópicamente pueden parecerse a la de otros géneros de hongos. Tercero porque este género es extremadamente diverso con muchas variantes genéticas que pueden ser similares entre las diferentes especies. Por lo que su identificación a nivel de género utilizando solamente claves taxonómicas y revisión bibliográfica no sería posible. Para una correcta identificación del género *Colletotrichum spp* se deben combinar

una serie de criterios que incluyen características morfológicas, pruebas de patogenicidad en plantas hospedantes, pruebas moleculares y análisis filogenéticos, lo que implica un enfoque más complejo y tiempo adicional [137] [138] [139] [140].

En cuanto a los hongos no identificados por falta de estructuras observables al microscopio podrían ser que necesitaran más tiempo para crecer o medios de cultivo que estimularan su esporulación. Estos quizás sean saprofitos y no estén asociados a la enfermedad, sin embargo, habría que probar otras técnicas de aislamiento que permitan su identificación y pruebas de patogenicidad que comprobaran su asociación o no con la enfermedad.

VII. CONCLUSIONES

El banano Cavendish es de gran importancia en la economía de Urabá, debido a que la mayoría de los bananos que se exportan pertenecen a este grupo. Sin embargo, es susceptible a la pudrición de corona. En este trabajo se logró el aislamiento de hongos de coronas con síntomas de pudrición obtenidas de tres localidades de la zona de Urabá.

Se obtuvieron un total de 114 aislamientos y se agruparon en 8 géneros, el género más frecuente fue *Fusarium spp* (34,21 %), seguido por *Curvularia spp* (22,81 %), *Acremonium spp* (13,16 %), *Nigrospora spp* (12,28 %), *Verticillium sI* (7,02 %), *Penicillium spp* (1,75 %), *Cladosporium spp* (1,75 %), *Clonostachys spp* (0,88 %) y no identificados (6,14 %)

Fusarium spp, *Curvularia spp* y *Nigrospora spp* estuvieron presentes en los aislamientos de las tres localidades. *Clonostachys spp* solo se aisló de la localidad Apartadó y *Cladosporium spp* de la localidad Carepa.

El hallazgo de estos hongos puede tener un impacto significativo en la economía, el medio ambiente y la investigación de la región, ya que conocer estos patógenos involucrados en la pudrición de corona puede llevar a la identificación de nuevas formas de control y prevención de esta enfermedad.

La experimentación permitió obtener información precisa sobre técnicas, materiales y métodos para hacer un aislamiento preliminar de hongos asociados a la pudrición de corona y con ello se elaboró un manual como aporte para la empresa Fitoplant S.A.S que le servirá de apoyo para su servicio de identificación de patógenos.

VIII. RECOMENDACIONES

En el presente estudio se realizó la identificación de los hongos a nivel de género, por lo tanto, para obtener información precisa, se recomienda en los futuros estudios que se realicen pruebas moleculares que permitan la identificación de cada una de las especies relacionadas.

Aunque los géneros obtenidos en este trabajo han sido reportados en literatura como asociados a la pudrición de corona en banano, se sugiere realizar pruebas de patogenicidad que respaldaran el estudio.

Se recomienda, además, que se realicen estudios con el hongo perteneciente al género *Clonostachys spp*, ya que este ha sido reportado como agente biocontrolador de *Fusarium spp*, *Lasiodiplodia theobromae* y *Colletotrichum musae*, abriendo camino al uso de estrategias de control amigables con el medio ambiente.

Una recomendación importante para la identificación de hongos fitopatógenos es el uso de medios de cultivo que estimulen la esporulación y la formación de estructuras que permitan una correcta identificación.

IX. REFERENCIAS

- [1] W. J. Alcivar VillamiL, «Evaluación del aprovechamiento del uso de subproductos del plátano (*Musa paradisiaca*) y del maíz (*Zea mays*) para la crianza del chame (*Dormitator latifrons*),» Escuela superior politécnica agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Calceta Ecuador, 2022.
- [2] UNAL, «Agencia,» 2022 Noviembre 02. [En línea]. Available: <http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/hallan-nuevas-especies-de-parasito-letal-que-ataca-el-platano-y-el-banano>. [Último acceso: 04 Noviembre 2022].
- [3] L. Larrotta Flórez y J. Flórez Méndez, «La Fiesta del Banano en el Urabá colombiano: cultura y tradición,» *Revista RIVAR*, vol. 8, n° 3, pp. 171 - 182, 2021.
- [4] G. Hurtado Perez, «Estudio del uso de tratamientos hidrotérmicos para el control de las podredumbres durante el periodo postcosecha de banano orgánico,» Escuela Politécnica Nacional , Quito, 2016.
- [5] D. I. Chiriboga Espinosa, «Uso del aloevera para el control de pudrición de corona en la fruta de banano,» Universidad técnica de Machala, Machala, 2018.
- [6] Redagícola, «Redagícola Urabá,» 26 Mayo 2020. [En línea]. Available: <https://www.redagricola.com/co/principales-plagas-y-enfermedades-del-banano/>. [Último acceso: 10 Mayo 2023].
- [7] C. Estrada, «LR más,» 10 Agosto 2022. [En línea]. Available: <https://www.larepublica.co/economia/continua-la-guerra-por-precios-del-banano-colombiano-en-supermercados-extranjeros-3421891>. [Último acceso: 10 Mayo 2023].

- [8] C. Ewané, P. Lepoivre, L. d. L. Bellaire y L. Lassois, «Involvement of phenolic compounds in the susceptibility of bananas to crown rot. A review,» *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, vol. 16, nº 3, pp. 393-404, 2012.
- [9] R. S. Vera Mera, «Fungicida Comercial Imazil para el control de la pudrición de corona en la post cosecha del cultivo de banano (*Musa spp*)»,» Universidad técnica estatal de Quevedo , Quevedo los ríos Ecuador, 2013.
- [10] L. Perez, M. Sáenz, M. Milanés, María, O. Lopez y F. Mauri, «Pudrición de la corona de los bananos en Cuba. Etiología y dinámica de las especies de hongos asociadas,» *Fitosanidad* , vol. IV, nº 5 , pp. 15 - 20 , 2001.
- [11] R. A. Ancota, R. B. G. Raymundo, J. A. D. Bejarano y E. A. M. Duque, «Hongos asociados a la pudrición de la corona en frutos de banano orgánico (*Musa spp. L.*) en Piura, Perú,» *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* , vol. IV, nº 1, pp. 81 - 88, 2013.
- [12] K. Y. Chero Zapata, «Control de *Thielaviopsis paradoxa* Y *Colletotrichum musae* asociado a la pudrición de corona del banano y detección de sus fuentes de inóculo,» Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú, 2020.
- [13] A. M. Herrera Arizaga, «Control de la pudrición de corona de la fruta de banano a diferentes dosis de extracto etanólico de canela,» Universidad técnica de Machala, Machala, 2021.
- [14] M. A. Fernando, «Efecto de fungicidas en el estado de postcosecha en el cultivo de banano (*musa paradisiaca*) en el recinto la toquilla ubicada en el cantón jujan, provincia del guayas,» Universidad agraria del Ecuador, Milagros, Ecuador, 2020.

- [15] Augura, «Uso del Imazalil en el proceso de la poscosecha,» Asociación de bananeros de Colombia , Medellín , 2020.
- [16] Colpaca, «Evaluación de la eficacia de productos autorizados en poscosecha para el control de la pudrición de corona del plátano,» Canarias , 2020.
- [17] D. Leroy, «Riesgos relacionados con el uso de pesticidas: prácticas, percepciones y consecuencias sanitarias en los páramos colombianos y venezolanos,» Universidad Toulouse Jean Jaurès, Francia, 2020.
- [18] D. P. Castro Jara, «El almidón modificado de plátano (*Musa paradisiaca*) como una alternativa en la industria cárnica,» Universidad del Azuay , Cuenca, Ecuador, 2008.
- [19] C. IZA, «Pruebas de sensibilidad utilizando dos desinfectantes para tres cepas de *Fusarium oxysporum* aisladas del cultivo de banano (*Musa paradisiaca*),» Universidad central del ecuador, Quito, 2016.
- [20] F. García Bastidas, S. Pachacama Gualotuña, D. Jarrín Escudero, M. Iza Arteaga, M. Ayala Vásquez, H. L. O. Ortiz, J. EcheGARAY BUEZO, D. Mendez, I. Martinez, C. Beltrán y G. Zeballos, «Guía Andina para el diagnostico de *Fusarium Raza 4 Tropical* (R4T) agente causal de la marchitez por *Fusarium* en musáceas,» Comunidad Andina, con el apoyo del ICA, 2020.
- [21] L. Marcelino, V. González y D. Ríos, «El cultivo de plátano (*Musa paradisiaca* L.) en Panamá,» Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá. Departamento de Ediciones y Publicaciones, Panamá, 2012.

- [22] L. A. M. Mozombite Tello, «Caracterización botánica y evaluación preliminar del rendimiento en tres ecotipos de *Musa paradisiaca* L.,» Universidad Nacional de San Martín Tarapoto facultad de ciencias agrarias, Tarapoto-Perú, 2019.
- [23] L. Muñoz Ñañez y Y. L. Sánchez Murcia, «Evaluación físico – química de frutos de Banano (*musa paradisiaca*), Variedad Banana Gros Michel (*Musa acuminata*, AAA group) con Fertilización Orgánica vs Química en la Finca Australia Vereda la Honda Municipio de Pitalito – Huila,» Universidad Nacional Abierta y a Distancia , Pitalito, Colombia, 2021.
- [24] S. Moisés, «Banano Técnicas de Producción, Manejo, Post cosecha y Comercialización,» Litografía e Imprenta LIL, Costa Rica , 2008.
- [25] C. Vázquez, J. Romero y A. Viera, «Paquete tecnológico para el cultivo del plátano" del Paquetes tecnológicos para cultivos agrícolas, en el Estado de Colima - México,» Colima, México, 2005.
- [26] J. F. Escobedo Alburqueque, «Efecto del número de hijos sobre el rendimiento y calidad del banano orgánico (*Musa paradisiaca*) variedad William para exportación,» Universidad Nacionaln de Piura, Piura - Perú , 2018.
- [27] M. Leal, «Manual sobre elaboración de fertilizantes orgánicos en plátano (*Musa paradisiaca*),» Universidad de Costa Rica, Costa Rica, 2021.
- [28] «DANE,» Septiembre 2016. [En línea]. Available: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos_sep_2016.pdf. [Último acceso: 27 Septiembre 2022].

- [29] J. C. Rojas, «Manejo integrado de plagas y enfermedades en banano orgánico y convencional,» Agrobanco , Piura Perú, 2013.
- [30] J. J. Alarcón Restrepo y Y. J. Jimenez Neira, «Manejo fitosanitario del cultivo del plátano (*Musa spp.*) Medidas para la temporada invernal,» Línea agrícola, Bogotá, 2012.
- [31] G. Manzo Sánchez, M. Orozco Santos, L. Martínez Bolaños, E. Garrido Ramírez y B. Canto Canche, «Enfermedades de importancia cuarentenaria y económica del cultivo de banano (*Musa sp.*) en México,» *Revista Mexicana de fitopatología*, vol. 32, n° 2, pp. 89 - 107, 2014.
- [32] J. F. Zavala Estrella, «Evaluación de biofungicidas para el control pos-cosecha de la pudrición de la corona en clusters de banano (*Musa acuminata*) de exportación.,» Universidad san Fransisco de Quito, Quito, 2021.
- [33] S. Scribano y V. Garcete, «Eficiencia de fungicidas de síntesis y orgánicos sobre la pudrición de corona del fruto de banano *Musa acuminata* Colla en la provincia de Formosa, Argentina,» *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias*, vol. 42, n° 2, 2016.
- [34] A. M. Herrera Arizaga, «Control de la pudrición de corona de la fruta de banano a diferentes dosis de extracto etanólico de canela,» Universidad técnica de Machala , Machala , 2021.
- [35] C. L. Antonio, «Efecto antifúngico del aceite esencial de arbol de té y gel de aloe vera sobre la pudrición de corona en banano,» Universidad técnica de Machala , Machala , 2018.

- [36] J. F. Castro, «Conformación de colecciones de cultivos microbianos,» Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA, Chile, 2020.
- [37] L. N. d. D. Fitosanitario, «Instituto Colombiano Agropecuario,» 2020. [En línea]. Available: <https://www.ica.gov.co/areas/laboratorios/lab-nacional-de-diagnostico-fitosanitario/lab-nal-diagn-fitosanitario-y-analisis-molecular/toma-adeuada-de-muestras-lndf2021pdf.aspx>. [Último acceso: 11 Enero 2023].
- [38] G. I. Estrada Salazar y M. C. Ramírez Galeano, «Martha Cecilia,» Universidad Católica de Manizales, Manizales, Caldas, Colombia, 2019.
- [39] V. Cañedo, «Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos,» Centro Internacional de la Papa, Lima Perú, 2004.
- [40] L. Becerro Cuevas, «Microbiología clínica,» Editorial síntesis, España, 2018.
- [41] L. Curvelo Gutierrez y J. a. Rojas Barreto, «Revisión preliminar de medios de cultivo empleados en estudios de microorganismos de los *phylums ascomycetes deuteromycetes* y *oomycetes* como agentes causantes de enfermedades en plantas,» Pontificia universidad javeriana, Bogotá, 2010.
- [42] E. O. M. Santambrosio y P. Garibaldi, «Catedra de biotecnología,» Universidad tecnológica nacional, Buenos Aires, Argentina., 2009.
- [43] M. Bonilla Salinas, S. Pajares Moreno, J. G. Viguera Ramírez y J. C. Sigala Alanís, «Manual de microbiología,» 12 Diciembre 2016. [En línea]. Available: https://www.cua.uam.mx/pdfs/conoce/libroselec/23Manual%20de%20microbiologia_09diciembre2016.pdf. [Último acceso: 29 Enero 2023].

- [44] R. Gaitán Hernández, D. Salmenes, R. Pérez Merlo y G. Mata, «Manual práctico del cultivo de setas. Aislamiento, siembra y producción,» Instituto de Ecología A.C, Xalapa, Veracruz, México, 2006.
- [45] L. C. Corrales Ramirez y L. Caycedo Lozano, «Principios físicoquímicos de los colorantes utilizados en microbiología,» *Nova* , vol. 18, n° 33, pp. 73 - 100, 2019.
- [46] M. Cayetano Catarino y A. Mujica Policarpo, «Tinción para observar estructuras de los hongos en el microscopio,» Universidad autónoma de guerrero, México, 2022.
- [47] L. E. Lopez Jacome, M. Hernaqndez Duran, C. A. Colín Castro, S. Ortega Peña, C. G. Guillermo y F. C. Rafael, «Las Tinciones básicas en el laboratorio de microbiología,» *Investigación en discapacidad*, vol. 3, n° 1, pp. 10 -18, 2014.
- [48] F. Khuar y F. Sequeira, «Los hongos al microscopio,» *Revista Boletín Biológica* , n° 4, pp. 26 - 30, 2018.
- [49] Z. Carranza Díaz, «Selección e identificación de especies de hongos ectomicorrizógenos del estado de hidalgo más competentes en medio de cultivo sólido.,» Universidad Autónoma del estado de Hidalgo Instituto de ciencias Agropecuarias , Pachuca, México, 2006.
- [50] L. A. Hernández y M. X. Mogrovejo, «Reconocimiento de enfermedades causadas por hongos en una población de Zingiberales ubicada en la vereda San Pedrito del Municipio de Timbo,» Universidad del Cauca , Cauca , 2008.
- [51] M. Piepenbring, «Wikimedia Commons,» 20 Mayo 2015. [En línea]. Available: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:04_03_21a_conidi%C3%B3foros,_Aspergil

- lus,_Penicillium,_Eurotiales,_Ascomycota_%28M._Piepenbring%29.png . [Último acceso: 29 Marzo 2023].
- [52] E. Cabral y S. Sobrado, «Hongos diversidad vegetal,» Universidad Nacional del Nordeste , Corrientes, Argentina , 2013.
- [53] J. Webster, Introduction to Fungi, Cambridge, Inglaterra: Cambridge University Press, 2007.
- [54] L. Izarra Granada, «Herbario Universidad del bosque,» 2005. [En línea]. Available: <https://repositorio.unbosque.edu.co/bitstream/handle/20.500.12495/7905/Manual%20para%20la%20recolecta%20e%20identificaci%C3%B3n%20de%20hongos.pdf?sequence=3&isAllowed=y>. [Último acceso: 29 Marzo 2023].
- [55] Barnnet y Hunter, Illustrated Genera Of Imperfect Fungy, 1998: Fourth Edition .
- [56] V. Gallego Albiach, «Universdiad Politécnicade Valencia,» [En línea]. Available: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/170189/Gallego%20-%20Determinacion%20de%20moluscos%20gasteropodos%20mediante%20el%20uso%20de%20clave%20dicotomica.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Las%20claves%20dicot%C3%B3micas%20est%C3%A1n%20constituidas,o>. [Último acceso: 11 Febrero 2023].
- [57] R. R. Peña Sánchez y J. E. Paez Mendieta, «Guía de laboratorio para la identificación de una enfermedad desconocida mediante los postulados de Koch,» Universidad pedagógica y tecnológica de Colombia , Quetame, Cundinamarca , 2011.
- [58] N. Llanos Castro, «Manual de procesos y procedimientos,» 2017.

- [59] A. Gaviria Uribe, J. Muñoz, F. Ruiz Gomez, G. Brugos Bernal, M. Ospina y M. M. Muñoz Ramirez, «Manual de procedimientos,» Comisión Nacional Intersectorial para la red nacional de laboratorios , Bogotá, Colombia , 2014.
- [60] R. Zambrano Banchón, «Diseño de un manual de procedimientos para el departamento de operaciones y logística en la compañía Circolo S.A. y su incidencia en el 2011,» Universidad Politécnica Salesiana , Guayaquil , 2011.
- [61] Y. Paredes Morato, «Superintendencia de Puertos y Transporte,» Superintendencia de puertos y transporte, Bogotá, 2010.
- [62] D. González- Peña, D. Costales Menéndez y A. Falcón- Rodríguez, «Efecto de diferentes medios de cultivo sobre el desarrollo de *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan,» *Protección Veg*, vol. 29, nº 1, pp. 33 - 41, 2014.
- [63] J. Tulio Rodríguez y D. Prado Cohrs, «Microbiología: lo esencial y lo práctico,» Universidad Francisco Marroquín, Guatemala, 2015.
- [64] V. Vujanovic, C. Hamel, S. Jabaji-Hare y M. St-Arnaud, «Development of a selective myclobutanil agar (MBA) medium for the isolation of *Fusarium* species from asparagus fields,» *Can. J. Microbiol*, vol. 48, p. 841–847, 2002.
- [65] A. Abrar, S. Sarwar, M. Sarwar, H. Chaudhry, N. Ghan, A. Fatima y A. Fatima, «Identification of locally isolated entomopathogenic *Fusarium* species from the soil of Changa Manga Forest, Pakistan and evaluation of their larvicidal efficacy against *Aedes aegypt*,» *Brazilian Journal of Biology*, vol. 83, pp. 1 - 7, 2023.
- [66] Z. Rong, J. Weitao, L. Xin, D. Yanan, X. Li, W. Yanfang, J. Yuanmao, J. Yuanmao, J. Yuanmao, Y. Jiang, Y. Chengmiao y M. Zhiquan, «ITRAQ-based quantitative

- proteomic analysis of *Fusarium moniliforme* (*Fusarium verticillioides*) in response to Phloridzin inducers,» *Zhang et al. Proteome Science*, vol. 19, n° 2, pp. 1- 13, 21 .
- [67] N. Naznin, H. Saowar y S. Shamim, «Prevalence of fungi associated with seeds of three cotton varieties (*Gossypium arboreum* L.) in storage,» *Bioresearch Communications*, vol. 5, n° 1, pp. 642 - 648, 2019.
- [68] Y. Leticia Robles, L. M. Santos Gerardo, A. Cruz Gómez, M. Camacho Tapia, D. Nieto Ángel y J. M. Tovar Pedraza, «*Fusarium oxysporum* Schltdl. y *Fusarium solani* (Mart.) Sacc causantes de la marchitez de plántulas de *Pinus* spp. en vivero,» *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, vol. 7, n° 36, pp. 25 - 36, 2016.
- [69] A. Tagne, O. Kongsdal, Z. Ngoko y S. Mathur, «*Fusarium pallidoroseum* in maize samples of three agro-ecological zones of Cameroon,» *Journal of Stored Products Research*, vol. 39, p. 367–374, 2003.
- [70] C. A. Hernández Medina, «Especies de *Fusarium* y *Penicillium* asociadas a frutales en los departamentos del Cauca y Valle de Cauca, Colombia,» Universidad Nacional de Colombia, Valle del Cauca, 2016.
- [71] N. Maryani, M. Sandoval-Denis, L. . Lombard, P. Crous y G. Kema, «New endemic *Fusarium* species hitch-hiking with pathogenic *Fusarium* strains causing Panama disease in small-holder banana plots in Indonesia,» *Persoonia*, vol. 43, n° 2, p. 48 – 69 , 2019.
- [72] X. Kaifei, S. Liuying, Y. Yini, Z. Guoqing, Z. Jun y G. Wei, «Species Diversity and Chemotypes of *Fusarium* Species Associated With Maize Stalk Rot in Yunnan Province of Southwest,» *Frontiers in Microbiology*, vol. 12, pp. 1 - 11, 2021.

- [73] S. Olal, K. Atuhaire, S. Ochwo, L. Kiiza, A. Kangire, P. Musoli, W. Olaho-Mukani, G. Lubega y G. Hakiza, «Immunodiagnostic potential of a 27 kDa protein of *Fusarium xylarioides*, the cause of coffee wilt disease in Robusta coffee in Uganda,» *African Journal of Biotechnology*, vol. 13, n° 29, pp. 2922-2929, 2014.
- [74] I. H. Khan y A. Javaid, «First Report of *Curvularia lunata* Causing Postharvest Fruit Rot of Banana in Pakistan,» *International journal of agriculture & biology*, vol. 24, n° 6, pp. 1621 - 1624, 2020.
- [75] N. Kiss, M. Homa, P. Manikandan, A. Mythili, K. Krizsán, R. Revathi, M. Varga, P. Tamás, C. K. L. Vágvölgyi y S. Kocsubé, «New Species of the Genus *Curvularia*: *C. tamilnaduensis* and *C. coimbatorensis* from Fungal Keratitis Cases in South India,» *Pathogens*, vol. 9, n° 9, pp. 1 - 14, 2020.
- [76] F. Monteiro, B. Vieira y R. Barreto, «*Curvularia lunata* and *Phyllachora* sp.: two fungal pathogens of the grassy weed *Hymenachne amplexicaulis* from Brazil,» *Australasian Plant Pathology*, vol. 32, p. 449–453, 2003.
- [77] A. Deepu, D. Li, R. Calderone y S. Peters, «Identification of *Curvularia lunata* by polymerase chain reaction in a case of fungal endophthalmitis,» *Medical Mycology Case Reports*, vol. 2, pp. 137 - 140 , 2013.
- [78] C. Jia ying, L. Shu sen, S. Jie, G. Ning, Z. Hai jian y C. Jie, «A new *Curvularia lunata* variety discovered in Huanghuaihai Region in China,» *Journal of Integrative Agriculture*, vol. 19, n° 2, p. 551–560, 2020.

- [79] E. Piontelli Laforet, «Especies oportunistas de importancia clínica de los géneros *Bipolaris* Shoemaker y *Curvularia* Boedijn: su caracterización bajo los nuevos criterios taxonómicos,» *Bol. Micol*, vol. 30, n° 2, pp. 40 - 63, 2015.
- [80] A. Garcia, «Dirección general de sanidad vegetal dirección del centro nacional de referencia fitosanitaria,» 2018. [En línea]. Available: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600866/Curvularia_lunata.pdf. [Último acceso: 17 Abril 2023].
- [81] T. Novicki, K. LaFe, L. Bui, U. Bui, R. Geise, K. Marr y B. Cookson, «Genetic diversity among clinical isolates of *Acremonium strictum* determined during an investigation of a fatal mycosis,» *J. Clin Microbiol.*, vol. 41, n° 6, 2003.
- [82] H. Perdomo, D. Sutton, D. García, A. Fothergill, J. Cano, J. Gené, R. Summerbell, M. Rinaldi y J. Guarro, «Spectrum of clinically relevant *Acremonium* species in the United States.,» *J Clin Microbiol.*, vol. 49, n° 1, pp. 243-256, 2011.
- [83] K. D. Tomohiko Kiyuna, C. S. Rika Kigawa, S. Miura y J. Sugiyama, «Molecular assessment of fungi in “black spots” that deface murals in the Takamatsuzuka and Kitora Tumuli in Japan: *Acremonium* sect. *Gliomastix* including *Acremonium tumulicola* sp nov. and *Acremonium felinum* comb. nov,» *Mycoscience*, vol. 52, pp. 1 - 17, 2011.
- [84] P. Se Won, N. Thuong y B. L. Hyang, «Characterization of Two Species of *Acremonium* Characterization of Two Species of *Acremonium varicolor* and *A. persicinum*,» *Mycobiology*, vol. 45, n° 4, pp. 353-361, 2017.

- [85] M. R. Sarookhani y N. Moazzami, «Isolation of *Acremonium* species producing cephalosporine C (CPC) from forest soil in Gilan province, Iran,» *African Journal of Biotechnology*, vol. 6, n° 22, pp. 2506-2510, 2007.
- [86] E. Molina, R. Morales, E. Valenzuela y I. Vives, «(Morphological characterization of *Acremonium*-like asociated with *Neonectria fuckeliana* in *Pinus radiata* in Chile,» *Bol. Micol*, vol. 27, n° 2, pp. 32 - 38, 2012.
- [87] M. Hamza Abass y H. M. Najlaa, «Morphological, molecular and pathological study on *Nigrospora oryzae* and *Nigrospora sphaerica*, the leaf spot fungi of date palm,» *Najlaa H Mohammed*, vol. 13, n° 1- 2, pp. 26 -37, 2014.
- [88] J. Yuanyuan Hao, K. T. Aluthmuhandiram, I. S. Chethana, X. L. Manawasinghe, K. D. Mei Liu, A. J. P. Hyde y Z. Wei, «*Nigrospora* Species Associated with Various Hosts from Shandong Peninsula, China,» *Mycobiology*, vol. 48, n° 3, pp. 169-183, 2020.
- [89] M. Wang, F. Liu y C. L. Crous P, «Phylogenetic reassessment of *Nigrospora*: Ubiquitous endophytes, plant and human pathogens.,» *Persoonia*, vol. 39, n° 6, p. 118–142, 2017.
- [90] T. Pintino De Almeida, I. Lima Coelho, L. Salvador Bezerra Vasconcelos, E. De Moura Silva, L. De Araújo Barros, M. Pontes, T. Silva Dos Santos, W. Dos Santos Vieira y M. Paz Sarai, «First report of *Nigrospora vesicularifera* causing foot rot on sweet potato in Brazil,» *Crop Protection*, vol. 166, 2023.
- [91] L. Yu, Y. Qiuyu, L. Shuang, L. Cheng, C. Xiangsheng y L. Zhong, «Identification of the Pathogen Causing Leaf Spot in *Zinnia* Identification of the Pathogen Causing Leaf Spot in *Zinnia*,» *Pathogens*, vol. 11, n° 1454, pp. 1 - 9, 2022.

- [92] D. Dos Santos, M. Ferreira da Silva, P. Aguilera, G. Alves da Silva, J. Luiz Bezerra y J. Vilela de Oliveira, «First occurrence of *Nigrospora lacticolonia* Mei Wang & L. Cai (*Xylariales, Ascomycota*) in the Neotropical Region,» *Check List*, vol. 17, n° 5, p. 1243–1248, 2021.
- [93] Z. Y. Z. D. Z. Y. W. D. S. J. Liu L, J. Zhang, R. Li, Z. Kong, S. Klosterman, X. Dai, K. Subbarao, J. Zhao y Chen, «JY. Biological Characteristics of *Verticillium dahliae* MAT1-1 and MAT1-2 Strains,» *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, n° 13, pp. 1 - 18, 2021.
- [94] R. Zare, W. Gams, M. Starink Willemse y R. Summerbell, «*Gibellulopsis*, a suitable genus for *Verticillium nigrescens* and *Musicillium*, a new genus for *V. theobromae*,» *Nova Hedwigia*, vol. 85, n° 3 - 4, pp. 463 - 489 , 2007.
- [95] Y. Wen xue, S. Yan Xia, C. A li, X. Xue wen, G. Men yan y L. Bao ju, «*Verticillium* Wilt of Okra Caused by *Verticillium* *Verticillium* Wilt of Okra Caused by *Verticillium*,» *Micobiology*, pp. 1 - 6, 2018.
- [96] Q. Qing Ming, G. Vallad y K. Subbarao, «Characterization of *Verticillium dahliae* and *V. tricorpus* Isolates from Lettuce and Artichoke,» *Plant Disease*, vol. 92, pp. 69 - 77, 2008.
- [97] J. Yu, I. Cafarov, H. Ibrahim y M. Babadoost, «Morphology, Molecular Identity, and Pathogenicity of *Verticillium dahliae* and *V. longisporum* Associated with Internally Discolored Horseradish Roots,» *Plant Dis* , vol. 100, pp. 749 - 757, 2016.

- [98] C. Visagie, J. Houbraken, J. Frisvad, S. Hong, C. Klaassen, G. Perrone, K. Seifert, J. Varga, T. Yaguchi y R. Samson, «Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*.», *Stud Mycol.*, vol. 78, pp. 343-371, 2014.
- [99] A. Kwang Deuk, K. Tomohiko, K. Rika, S. Chie, M. Sadatoshi y S. Junta, «The identity of *Penicillium sp.* 1, a major contaminant of the stone chambers in the Takamatsuzuka and Kitora Tumuli in Japan, is *Penicillium paneum*.», *Antonie van Leeuwenhoek* (, vol. 96, p. 579–592, 2009.
- [100] F. Saif, S. Yaseen, A. Alameen, M. S y P. Undre, «Identification of *Penicillium* Species of Fruits Using Morphology and Spectroscopic Methods», *Conference Series*, vol. 49, pp. 569 -575, 2019.
- [101] T. Espinoza Hernández, R. Rodríguez Herrera, C. Aguilar Aguilar, V. Lara, M. Reyes Valdés y F. Castillo Reyes, «Characterization of three novel pigment-producing *Penicillium* strains isolated from the Mexican semi desert», *African Journal of Biotechnology*, vol. 12, n° 22, pp. 3405-3413, 2013.
- [102] E. M. EmanGamalAbd, G. Youssuf Ahmed y H. Mohamed Ahmed, «Morphological, molecular characterization, plant pathogenicity and biocontrol of *Cladosporium* complex groups associated with faba beans», *Scientific Reports* , n° 11, pp. 1 -12, 2021.
- [103] Z. Gangming, T. Yuan, W. Fuping, C. Xianming, G. Jun, J. Min y H. Lili, «A Novel Fungal Hyperparasite of *Puccinia striiformis* f.sp. tritici, the Causal Agent of Wheat Stripe Rust», *Plos One*, vol. 9, n° 11, pp. 1 - 8, 2014.
- [104] P. Zalar, G. Hoog, H. Schroers, J. Crous, J. Groenewald y C. Gunde, «Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe *Cladosporium sphaerospermum* with descriptions of

- seven new species from hypersaline environments,» *Studies in Mycology*, vol. 58, p. 157–183, 2007.
- [105] H. Oliul, L. Yang Sook y C. Taehyun, «Phylogenetic and Morphological Characterization of *Cladosporium perangustum* Associated with Flyspeck on Shine Muscat Grapes in South Korea,» *Mycobiology*, pp. 1 - 5, 2021.
- [106] A. Afshari y R. Hemmati, «First report of the occurrence and pathogenicity of *Clonostachys rosea* on faba bean,» *Australasian Plant Pathology Society Inc.*, 2017.
- [107] W. Coyotl Pérez, O. Romero, C. Mosso González, J. A. Rivera Tapia y N. Villa Ruano, «First report of *Clonostachys rosea* associated with avocado fruit rot in Puebla, Mexico,» *Revista Mexicana de Fitopatología*, pp. 298 - 307, 2022.
- [108] A. Waheed, A. K. N. Sajid, I. Sehrish, J. Muhammad Asim, A. A. Abeer Hashem, E. Alqarawi, A. Fathi Abd y A. Adnan, «Entomopathogenic fungus *Clonostachys rosea* as a biocontrol agent against whitefly (*Bemisia tabaci*),» *Biocontrol Science and Technology*, vol. 28, n° 8, p. 750–760, 2018.
- [109] F. Scribano y V. Garcete, «Eficiencia de fungicidas de síntesis y orgánicos sobre la pudrición de corona del fruto de banano *Musa acuminata Colla* en la provincia de Formosa, Argentina,» *RIA*, vol. 42, n° 2, pp. 201 - 206, 2016.
- [110] M. Talha Azeem, S. Shahzad y N. Sultana, «Prevalence and detection of fungi associated with post- harvest,» *International journal of biology and biotechnology*, vol. 13, n° 4, pp. 587-592, 2016.

- [111] O. Molinar, T. Bartók y A. Szécsi, «Occurrence of *fusarium verticillioides* and *fusarium musae* on banana fruits marketed in hungary,» *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, vol. 62, n° 2, p. 109–119, 2015.
- [112] K. Nath, K. Solanky y B. Madhu, «Management of Banana (*Musa Paradisiaca* 1 L) Fruit Rot Diseases using Fungicides,» *Plant Pathology & Microbiology*, vol. 6, n° 8, pp. 1- 7, 2015.
- [113] P. Trevorrow, «The cause and management of crown rot of banana BA13011,» Hort Innovation – Final Report, Sydney, 2000.
- [114] F. C. Yixin Du, S. Niuniu y R. Hongchun, «First report of *Fusarium chlamydosporum* causing banana crown rot in Fujian Province, China,» *Plant Disease "First Look" paper*, vol. 11, n° 16, pp. 2- 4, 2017.
- [115] J. Divya, Y. Hegde y L. Rajasekhar, «*Fusarium semitectum*' - a postharvest pathogen of banana- preliminary investigations,» *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences Available online at www.ijpaes.com*, vol. 7, n° 2, pp. 83-88, 2017.
- [116] N. Kedar, K. Solanky, B. madu y G. Kumawat, «Post-harvest deterioration of banana fruits and its control using fungicides,» *International journal of plant protection*, vol. 7, n° 2, pp. 345-348, 2014.
- [117] C. Deepa y T. Susha, «Etiology of fungi causing postharvest crown rot of Robusta variety Etiology of fungi causing postharvest crown rot of Robusta variety,» *Journal of Tropical Agriculture*, vol. 59, n° 1, pp. 124-133, 2021.

- [118] A. Mohamed y K. Mohamed, «Etiology of Crown Rot of Organic Bananas,» Universidad de Milán , Milán , 2015.
- [119] L. Zakaria, «Fusarium Species Associated with Diseases of Major Tropical Fruit Crops,» *Horticulturae*, vol. 9, n° 322, pp. 2 - 32, 2023.
- [120] M. C. Henao Vaquez, «Factores asociados a enfermedades Postcosecha,» Congreso técnico bananero de Colombia , Urabá, Antioquia, 2015.
- [121] M. K. Mohamed Abdalla, C. Paolo y S. Marco, «Etiological agents of crown rot of organic bananas in Dominican Republic,» *Postharvest Biology and Technology*, vol. 120, p. 112–120, 2016.
- [122] E. R. Z. Hassan Abd, E. Z. Hassan Mohamed, H. Z. El Sayed y M. Hanafy Farouk, «Etiology and ecology of fungi causing postharvest diseases of banana fruits in Egypt,» *Plant Archives*, vol. 17, n° 2, pp. 1463-1468, 2017.
- [123] P. Diedhiou, A. Zakari, N. Mbaye, F. Rokhaya y P. Samb, «Control methods for post-harvest diseases of banana (*musa sinensis*) produced in Senegal,» *International Journal of Science, Environment*, vol. 3, n° 5, p. 1648 – 1656, 2014.
- [124] D. Jones, «Chemical control of crown rot in Queensland bananas,» *Australian Journal of Experimental Agriculture*, vol. 31, pp. 693 - 698, 1991.
- [125] N. Kedar, K. Solanky, B. Madu y G. Kumawat, «Post-harvest deterioration of banana fruits and its control using fungicides,» *International journal of plant protection*, vol. 7, n° 2, pp. 345-348, 2014.

- [126] L. Ludivine, J. Haïssam, C. Marc y B. Luc de Lapeyre, «Crown Rot Of Bananas Preharvest factors Involved in postharvest disease developmeent and integrated control methods,» *Plant Disease*, vol. 94, n° 6, pp. 648 - 658, 2010.
- [127] D. Alwindia, T. Kobayash, Y. Yaguch y N. Keiko, «Symptoms and the Associated Fungi of Postharvest Diseases on Non-Chemical Bananas Imported from the Philippines,» *Jpn. J. Trop. Agr.*, vol. 44, n° 2, pp. 87 - 93, 2000.
- [128] M. Kamel, P. Cortesi y M. Saracchia, «Source and spread of fungal pathogens causing crown rot disease in organic bananas,» Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione el’Ambiente, Università degli Studi di Milano, Via Celoria , Italy, 2013.
- [129] A. Dionisio y Y. Hirooka, «Identification of *Clonostachys* and *Trichoderma* spp. Identification of *Clonostachys* and *Trichoderma* spp. morphological and molecular methods,» *Mycology*, vol. 2, n° 2, p. 109–115, 2011.
- [130] E. Galíndez-Chicaíza, L. Lagos Mora, G. Castillo Belalcázar, C. Salazar González y C. Betancourth García, «Hongos detectados en la entomofauna asociada a *Espeletia pycnophylla.*,» *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, vol. 23, n° 2, pp. 1 - 10, 2020.
- [131] V. Tongsri, K. Sanosomneng, S. Umrung y S. Umrung, «Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica crown rot disease of ‘Hom Thong’ Banana (*Musa acuminata*, AAA group),» *International Journal of Agricultural Technology*, vol. 18, n° 4, pp. 1847-1868, 2022.

- [132] G. Martijn ten Hoopen, A. George, T. Stirrup, J. Flood y U. Krauss, «Compatibility between *Clonostachys* isolates with a view to mixed inocula for biocontrol,» *Mycologia*, vol. 102, n° 5, pp. 1204 - 1215, 2010.
- [133] S. Zapata Henao, M. C. Henao Vásquez, L. F. Patiño Hoyos, J. D. Sánchez Torres y L. M. Hoyos Carvajal, «Factores asociados a enfermedades postcosecha,» Congreso técnico bananero de Colombia , Carepa, Antioquia, 2015.
- [134] W. Niroshini Gunasinghe y K. Anjani, «Interactions of *Colletotrichum musae* and *Lasiodiplodia theobromae* and their biocontrol by *Pantoea agglomerans* and *Flavobacterium* sp. in expression of crown rot of “Embul” banana,» *International Organization for Biological Control*, vol. 54, p. 587–596, 2009.
- [135] D. Kra Kouamé, N. Y. Toualy Marie y H. Diallo, «Control of fungal isolates responsible for postharvest crown rot of banana (*musa sp.* cavendish sub group, cv. grande naine) by three fungicides in côte d’ivoire,» *International Journal of Current Research*, vol. 10, n° 4, pp. 68404-68408, 2018.
- [136] P. Renganathan, R. Karan, S. Dhaarani, R. Saravanan y R. Premkumar, «Morphological and Molecular Characterization of *Lasiodiplodia theobromae* Causing Crown Rot
Morphological and Molecular Characterization of *Lasiodiplodia theobromae* Causing Crown Rot,» *Journal of Qualitative Inquiry*, vol. 11, n° 1, pp. 266-278, 2020.
- [137] E. Salazar, R. Hernández, A. Tapia y L. Gómez, «Identificación molecular del hongo *Colletotrichum spp* aislado del banano (*Musa spp*) de altura en la zona de Turrialba y

- determinación de su sensibilidad a fungicidas postcosecha,» *Agronomía Costarricense*, vol. 36, n° 1, pp. 53-68, 2012.
- [138] E. Trinidad, F. Ascencio, J. Ulloa, C. Ramírez, J. Ragazzo, M. Calderón y P. Bautista, «Identificación y caracterización de *Colletotrichum spp.* causante de antracnosis en aguacate Nayarit, México,» *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, n° 19, pp. 3953-3964, 2017.
- [139] L. Gañán, E. Álvarez y J. Castaño, «Identificación genética de aislamientos de *Colletotrichum spp.* causantes de antracnosis en frutos de aguacate, banano, mango y tomate de árbol,» *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.*, vol. 39, n° 152, pp. 339-347, 2015.
- [140] G. Granados y Y. Guevara, «Caracterización biológica y molecular de aislamientos de *colletotrichum spp.* obtenidos de frutales de clima frío moderado con síntomas de antracnosis,» Pontificia universidad javeriana de Colombia, Bogotá, 2010.
- [141] Z. Navarrete Mapen, E. Herrera Parra, M. Mis Mut, J. Tun Suárez, E. Ruiz Sánchez y A. Cristóbal, «Hifomicetos asociados a plantas tropicales del estado de Yucatán, México Identificación genérica y evaluación de fungicidas para su control,» *Rev. Protección Veg.*, vol. 28, n° 2, pp. 138 - 144, 2013.
- [142] R. Gonzales Melendez, B. Elizalde Cuevas, M. E. Cortéz Cruz y M. Orduña Sanchez, «Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología un enfoque gráfico,» Universidad Nacional Autónoma de México, México, 2020.

- [143] ICA, «Instituto Colombiano Agropecuario,» 19 Abril 2021. [En línea]. Available: <https://www.ica.gov.co/noticias/ica-augura-convenio-proteger-produccion-bananeras>. [Último acceso: 4 Noviembre 2022].
- [144] E. Redactores, «Legis, Equipo Redactores,» 06 Febrero 2022. [En línea]. Available: <https://blog.legis.com.co/comercio-externo/exportacion-de-banano-en-colombia>. [Último acceso: 04 Noviembre 2022].

X. ANEXOS**ANEXO 1. Registros fotográficos durante la experimentación.**

Fig. 27. Algunas coronas de banano con síntomas de pudrición usadas en el experimento.



Fig. 28. Muestras en laboratorio

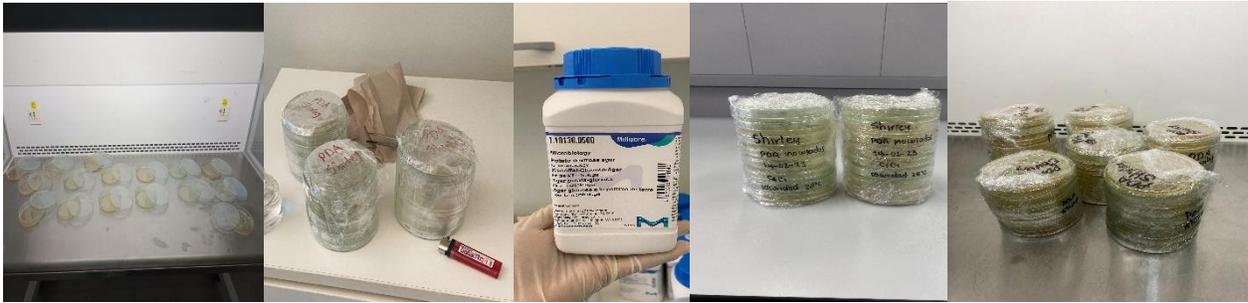


Fig. 29. Medios de cultivo.

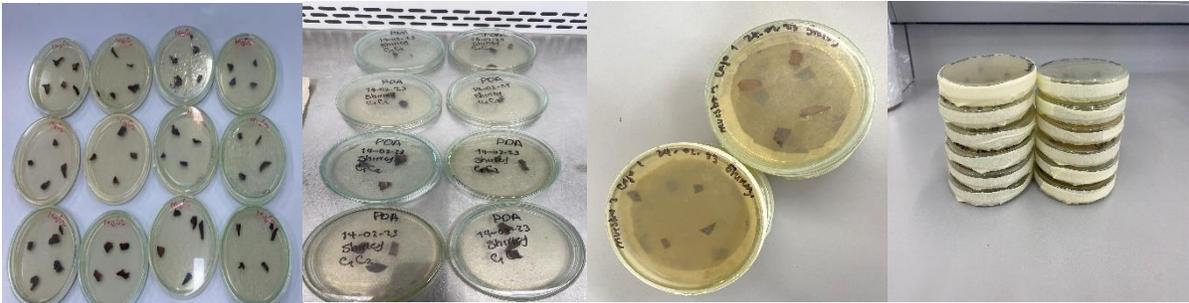


Fig. 30. Muestras inoculadas en agar PDA

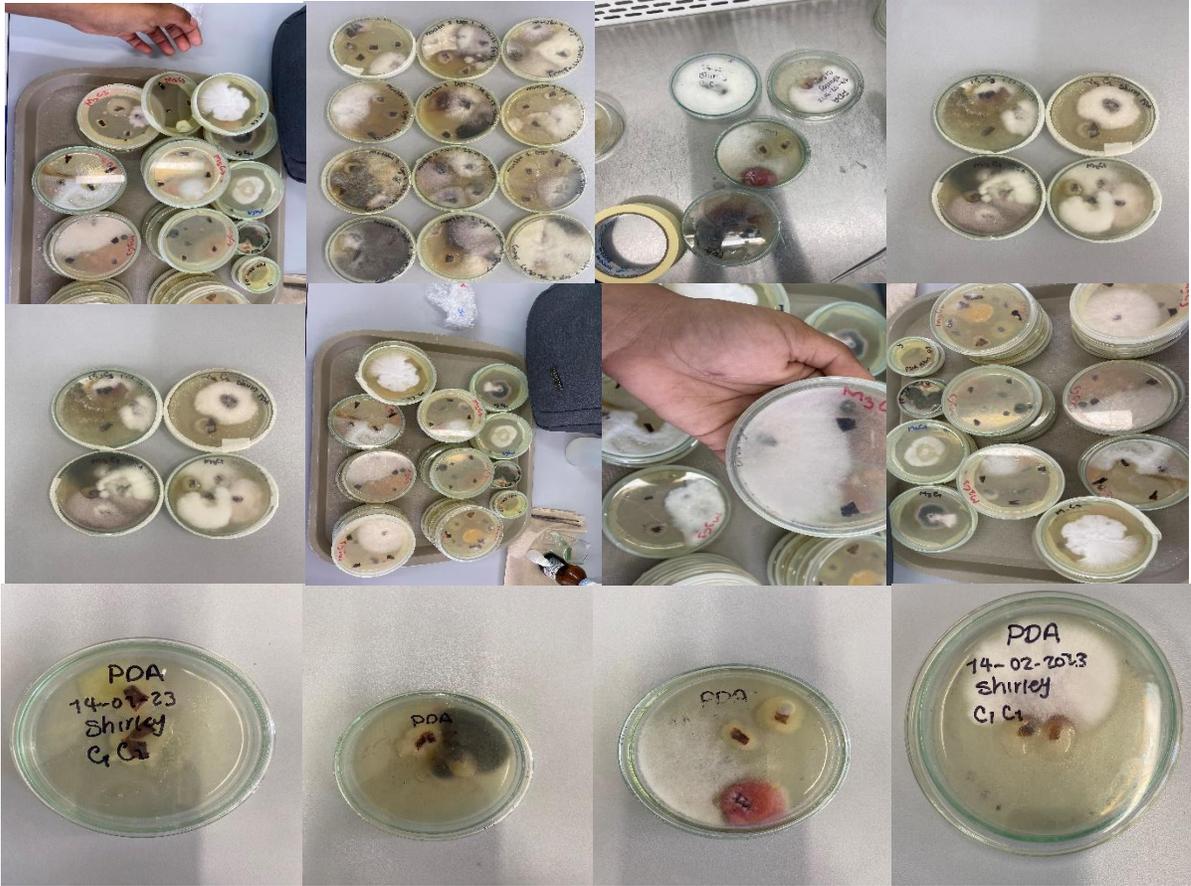


Fig. 31. Consorcio de hongos creciendo a partir de las muestras inoculadas.

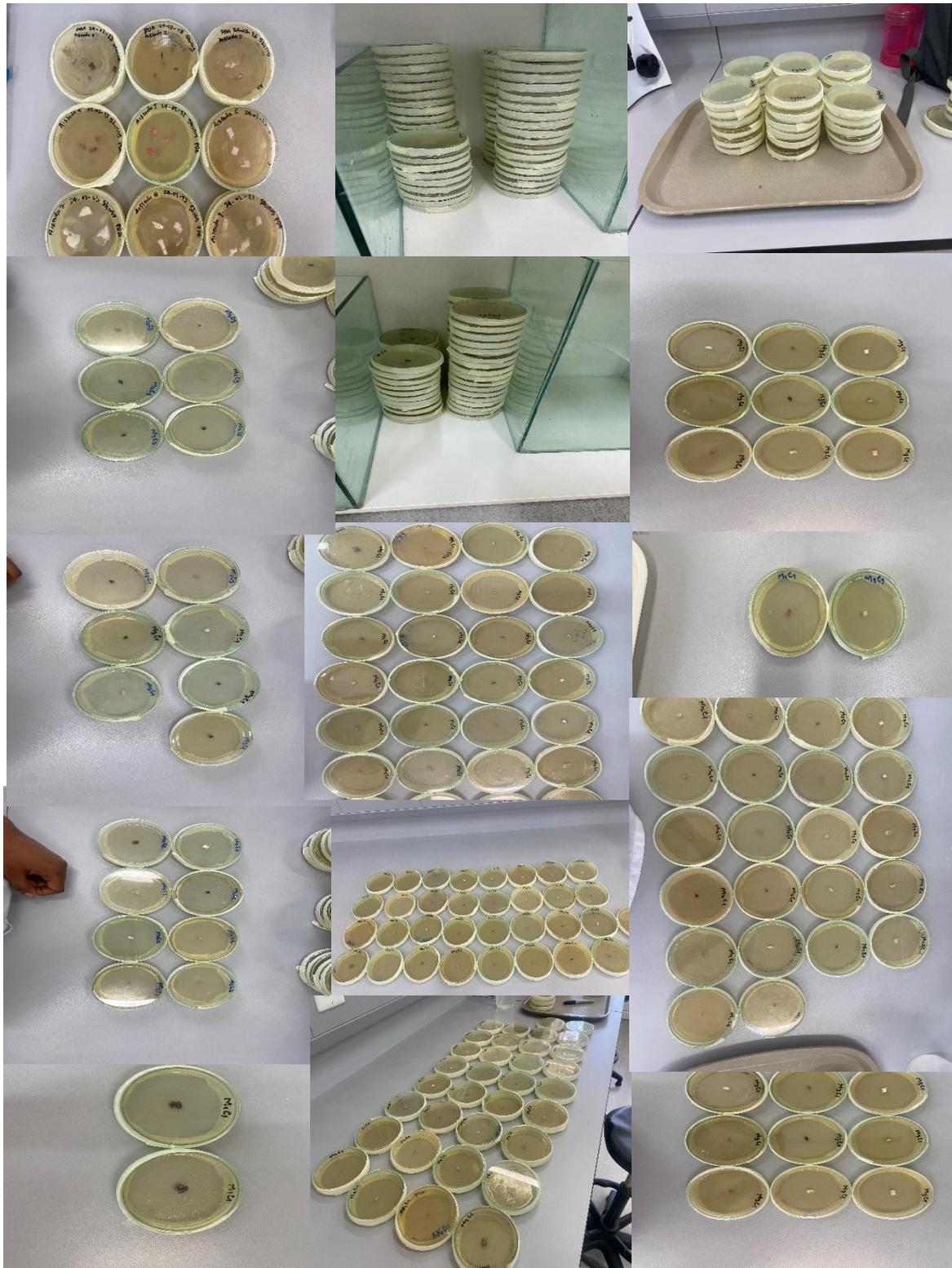
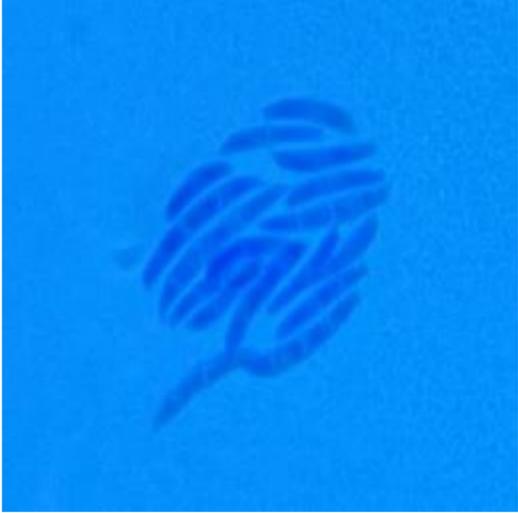
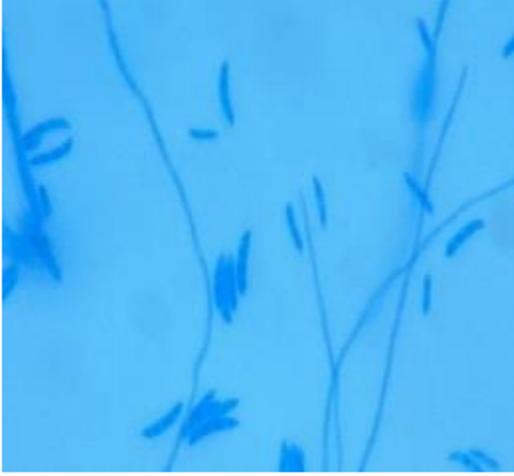
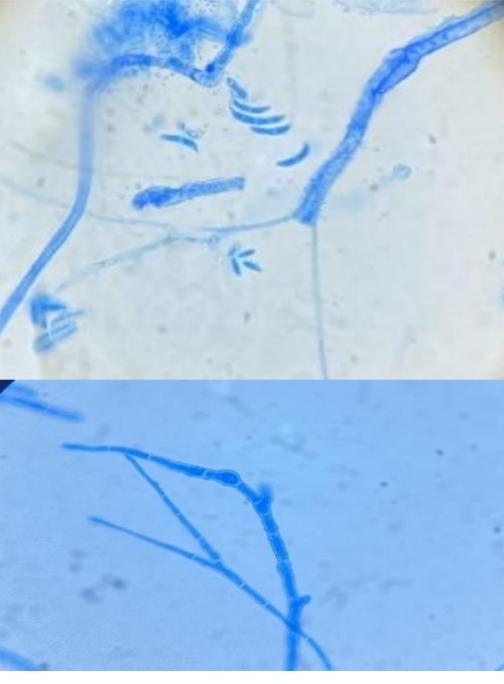
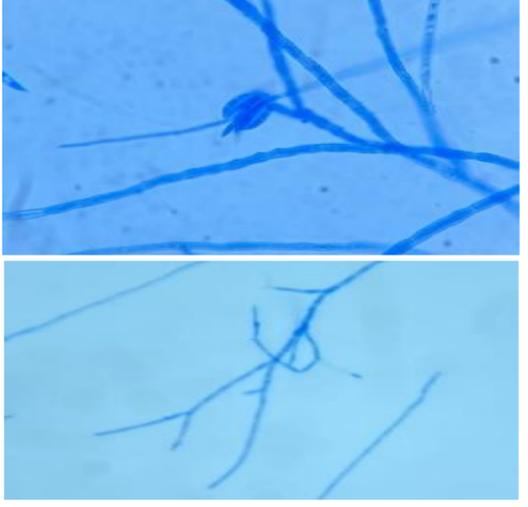
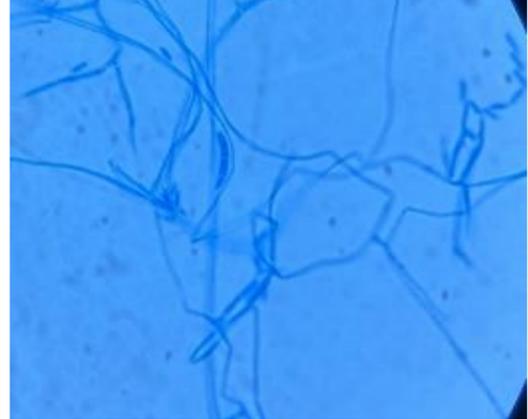
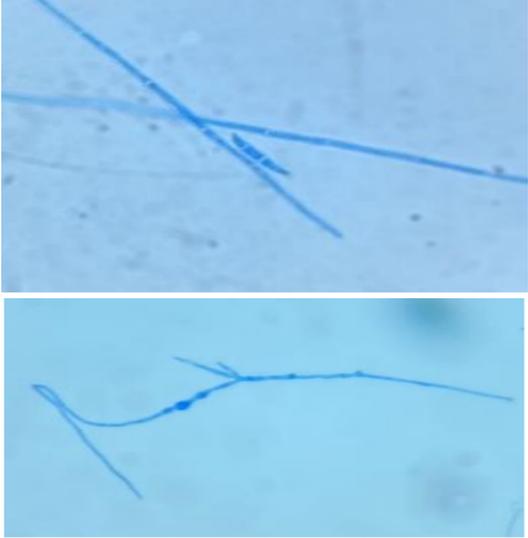


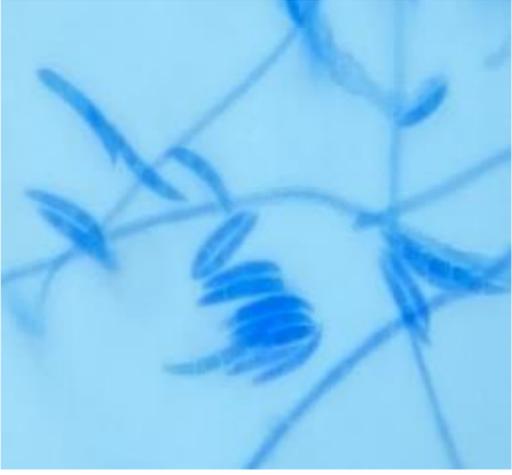
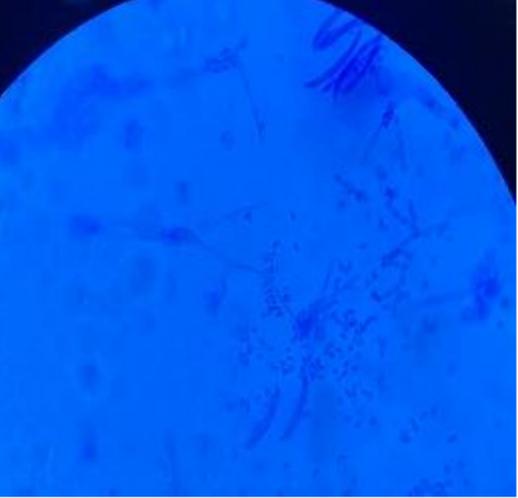
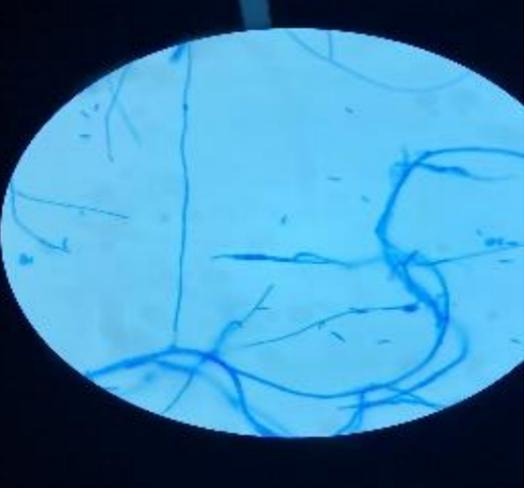
Fig. 32. Repiques o aislamientos.

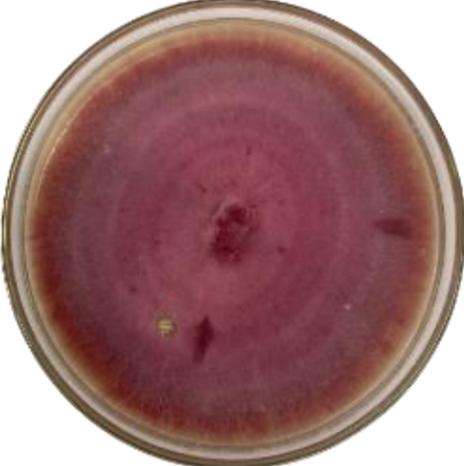
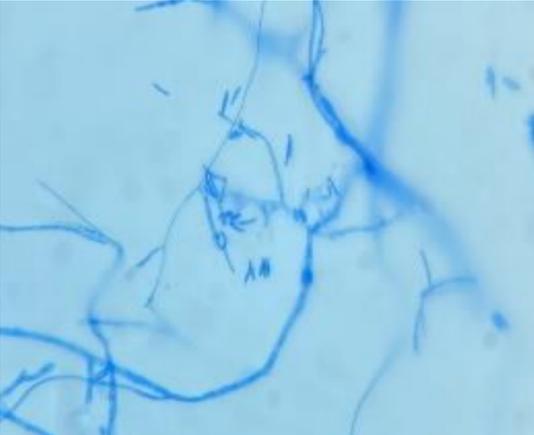
Anexo 2. Tabla de datos soporte de la identificación del género *Fusarium spp*

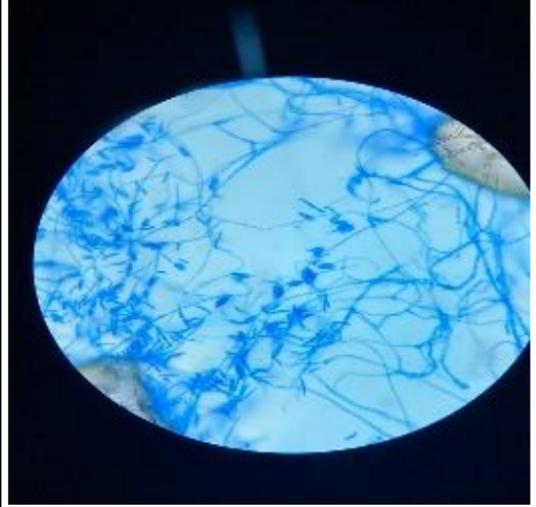
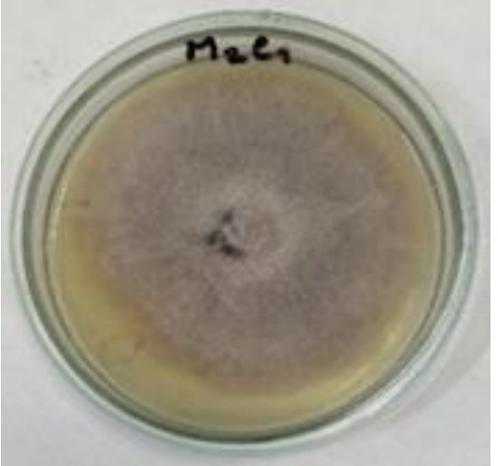
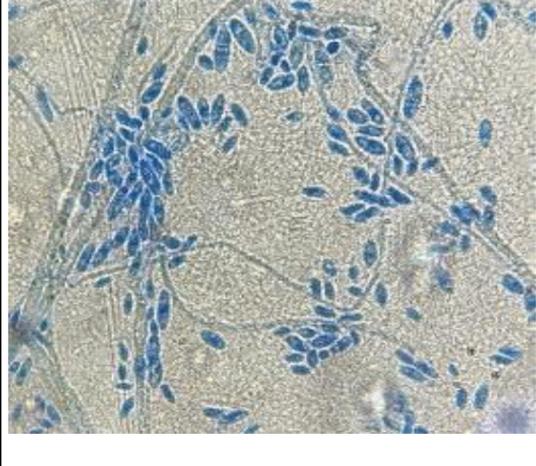
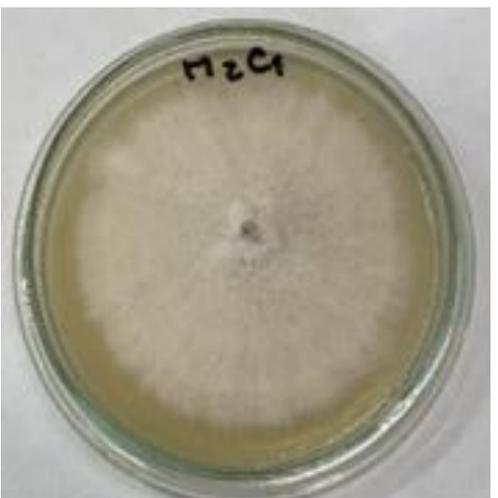
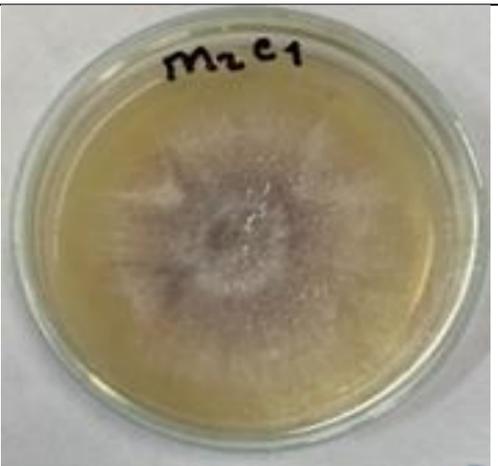
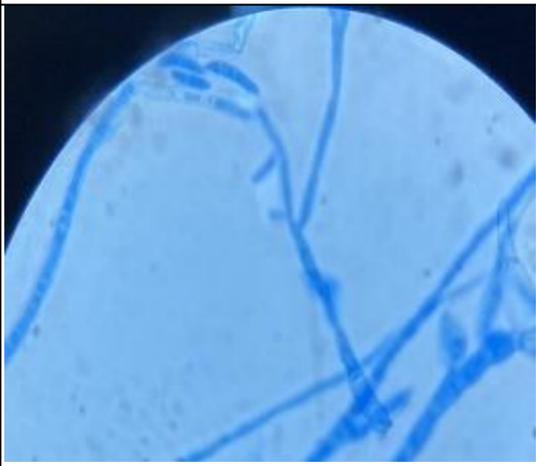
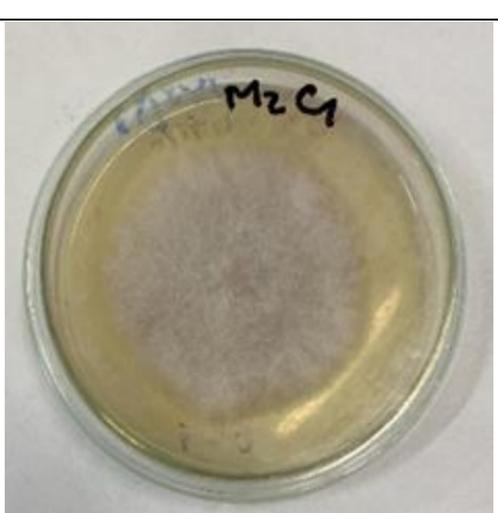
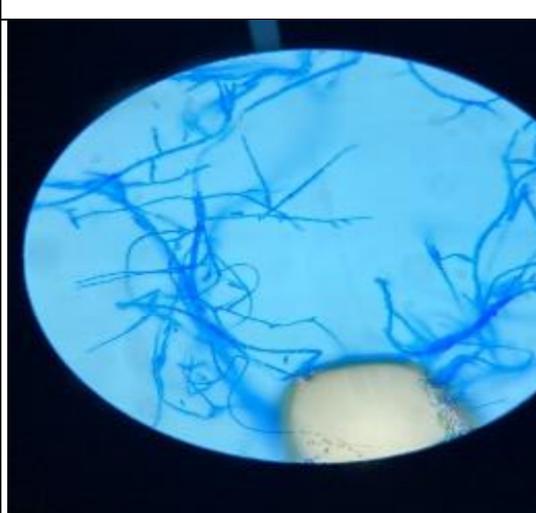
#	Registro fotográfico		Características observadas	
	Colonia en PDA por el anverso	Microscopía	Macroscópicas	Microscópicas
1			Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación, textura algodonosa, color blanco hueso	Se observaron hifas relativamente delgadas, septadas y ramificadas Microconidios con un septo y Macroconidios con 4 septos, alargados fusiformes, clamidospora elipsoide aislada
2			Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación, textura algodonosa, color marrón en el centro y blanco hueso en los bordes	Se observaron hifas septadas y ramificadas Microconidios con un septo ovalados y Macroconidios con 2 septos, alargados de forma tabicada.
3			Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 8 días de incubación, textura algodonosa, color blanco.	Se observaron hifas septadas, ramificadas y delgadas, conidióforo alargado, erecto, célula conidio génica ancha en la base y estrecha en la parte superior, Microconidios con un septo de forma ovalada y Macroconidios con tres septos fusiformes.
4			Colonia en agar PDA, aproximadamente 90 mm a los 8 días de incubación, textura algodonosa, color marrón claro, con formación de un halo distal	Se observaron Microconidios con un septo de forma tabicada y Macroconidios con tres septos, alargados fusiformes

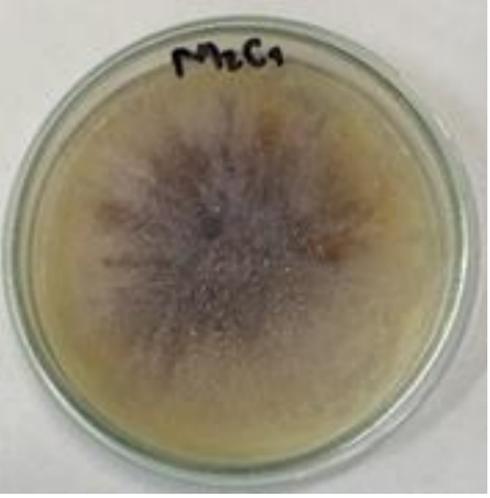
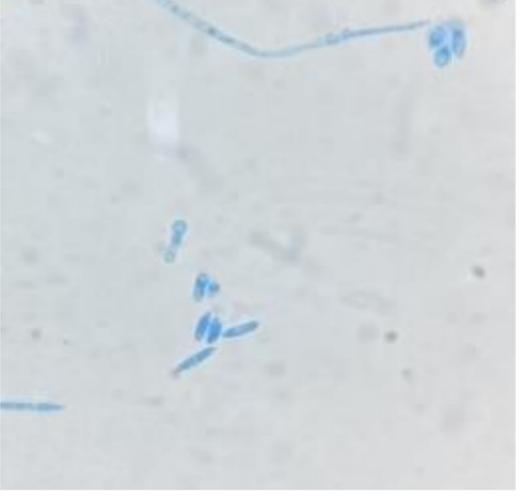
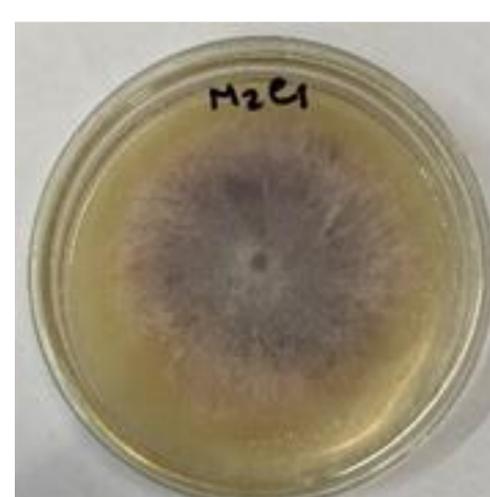
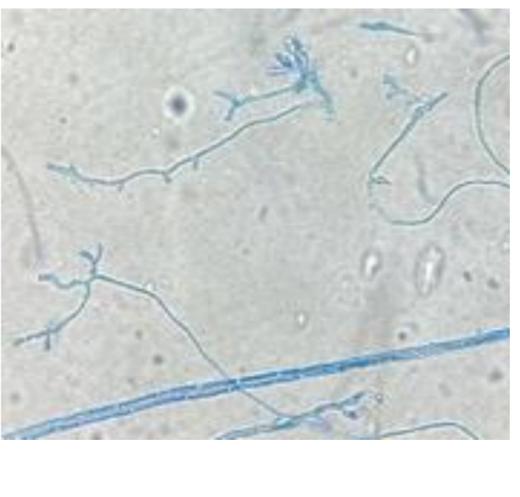
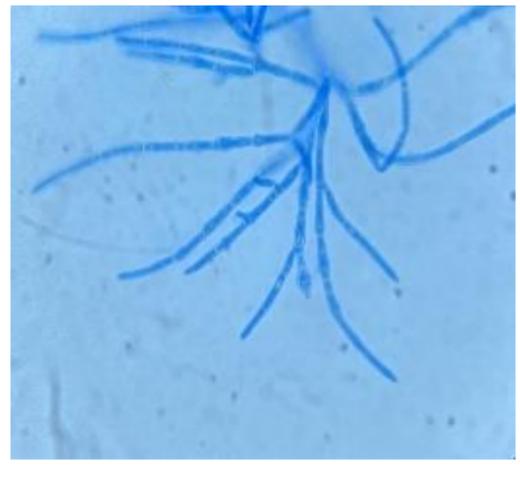
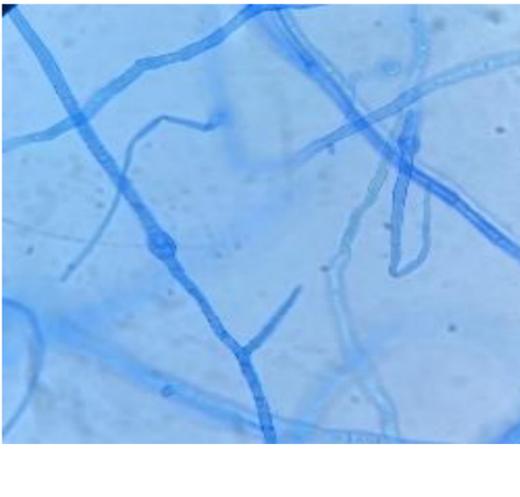
5			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 87 mm de diámetro a los 8 días de incubación, textura algodonosa, color blanco</p>	<p>Se observan hifas relativamente delgadas, ramificadas, Microconidios de forma ovoide y Macroconidios fusiformes con 3 septos</p>
6			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación, color marrón claro o amarilloso en el centro y blanco hueso en los bordes</p>	<p>Se observan hifas ramificadas, delgadas, Microconidios alargados cilíndricos, Macroconidios tabicados con 3 septos</p>
7			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm a los 8 días de incubación, color blanco, textura algodonosa</p>	<p>Se observan Microconidios fusiformes, con 3 septos, Macroconidios de forma tabicada con 5 septos</p>
8			<p>Colonia en agar PDA, con 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación, textura algodonosa, color blanco amarillento</p>	<p>Se observan hifas delgadas ramificadas, Microconidios ovoides, Macroconidios de forma tabicada con 1 y 3 septos, clamidospora aislada, elipsoide.</p>

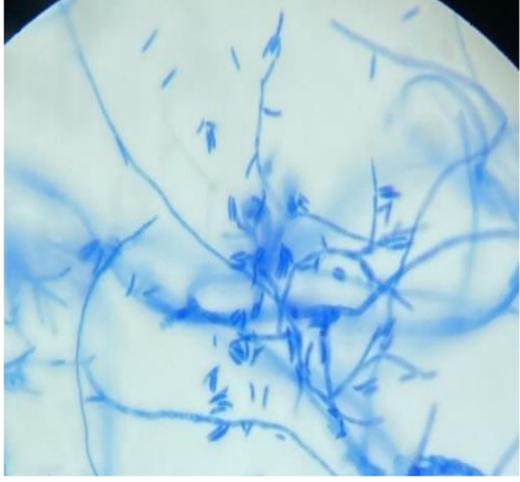
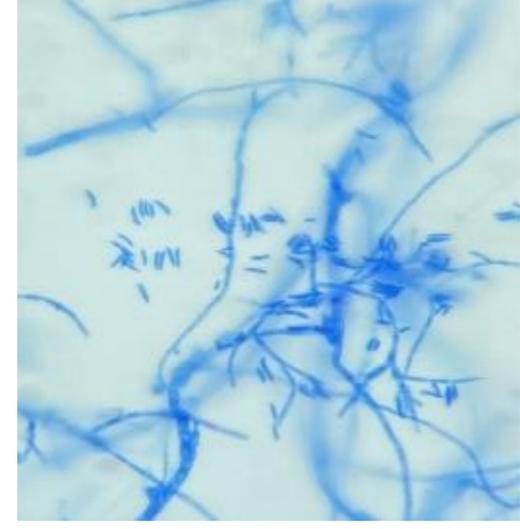
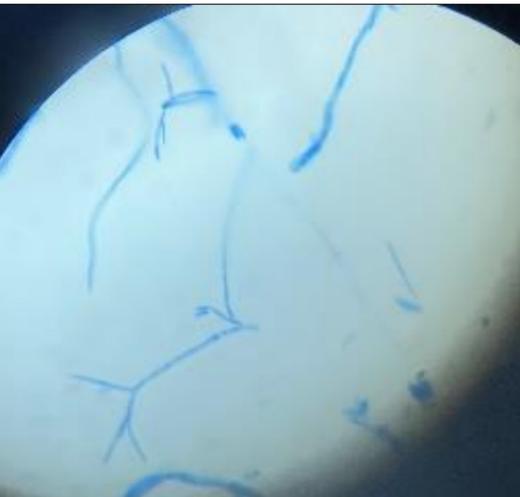
9			<p>Colonia en agar PDA con 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación, textura algodonosa, color blanco.</p>	<p>Hifas delgadas y ramificadas, Microconidios cilíndricos, Macroconidios fusiformes con 3 septos.</p>
10			<p>Colonia en agar PDA, 90 mm de diámetro 8 días de incubación, color marrón claro, textura algodonosa.</p>	<p>Hifas delgadas ramificadas, Microconidios ovoides, Macroconidios de forma tabicada con dos septos.</p>
11			<p>Colonia en agar PDA, 90mm de diámetro, 8 días de incubación, textura algodonosa, color blanco amarillento.</p>	<p>Hifas delgadas, ramificadas, Microconidios ovoides, Macroconidios de forma tabicada con 3 septos.</p>
12			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 83 mm de diámetro a los 8 días de incubación, color blanco hueso con el centro color marrón claro, textura algodonosa.</p>	<p>Hifas delgadas, septadas y ramificadas, Microconidios ovoides, Macroconidios fusiformes con 3 septos, clamidosporas elipsoides en parejas.</p>

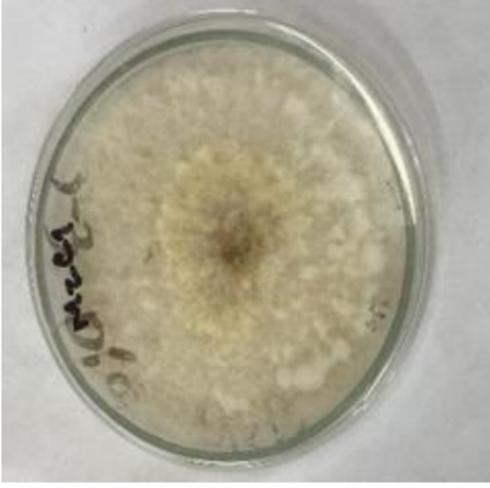
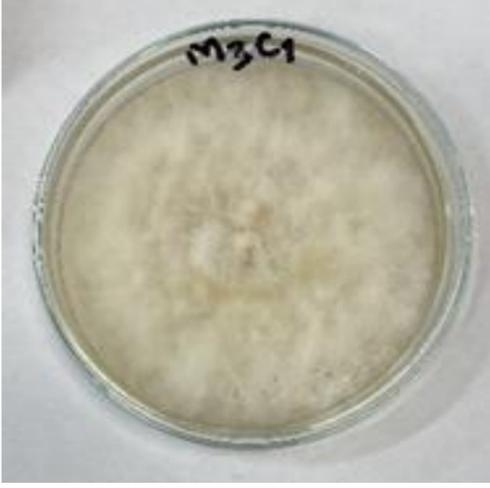
13			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 85 mm de diámetro a los 8 días de incubación, textura algodonosa, color blanco.</p>	<p>Hifas delgadas ramificadas, Microconidios fusiformes con 1 septo, Macroconidios de forma tabicada con 4 septos</p>
14			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 81 mm de diámetro a los 8 días de incubación, textura algodonosa, color blanco</p>	<p>Hifas ramificadas, Microconidios ovoides, Macroconidios fusiformes con 1 septo</p>
15			<p>Colonia en agar PDA, ocupando completamente la caja de Petri a los 8 días de incubación, textura algodonosa, marrón claro con bordes blancos</p>	<p>Hifas delgadas, ramificadas. Microconidios ovoides. Macroconidios de forma tabicada alargados con 3 septos.</p>
16			<p>Colonia en agar PDA, con aproximadamente 83 mm de diámetro a los 8 días de incubación, textura algodonosa, color blanco.</p>	<p>Hifas delgadas, ramificadas. Microconidios fusiformes. Macroconidios de forma tabicada con 3 septos.</p>
17			<p>Colonia en agar PDA, con aproximadamente 80 mm de diámetro, 15 días de incubación. Textura aterciopelada, color blanco, con fondo rojizo.</p>	<p>Hifas delgadas, ramificadas, Microconidios cilíndricos, Macroconidios fusiformes con 2 septos.</p>

18			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 89 mm de diámetro a los 15 días de incubación. Color rojizo a fucsia, textura aterciopelada.</p>	<p>Hifas delgadas. Microconidios fusiformes. Macroconidios tabicados con 3 septos.</p>
19			<p>Colonia en agar PDA, 90 mm de diámetro, 15 días de incubación. Color rosado a fucsia, textura aterciopelada.</p>	<p>Microconidios ovoides. Macroconidios en forma de medialuna con 4 septos.</p>
20			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 60 mm de diámetro 10 días de incubación, color fucsia, textura aterciopelada.</p>	<p>Hifas delgadas, ramificadas. Microconidios ovoides. Macroconidios en forma de medialuna con 3 septos.</p>
21			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 88 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color blanco, textura algodonosa.</p>	<p>Hifas delgadas, ramificadas. Microconidios ovoides, Macroconidios fusiformes con dos septos.</p>
22			<p>Colonia en agar PDA, 81 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco</p>	<p>Hifas delgadas ramificadas. Microconidios ovoides. Macroconidios fusiformes con dos septos.</p>

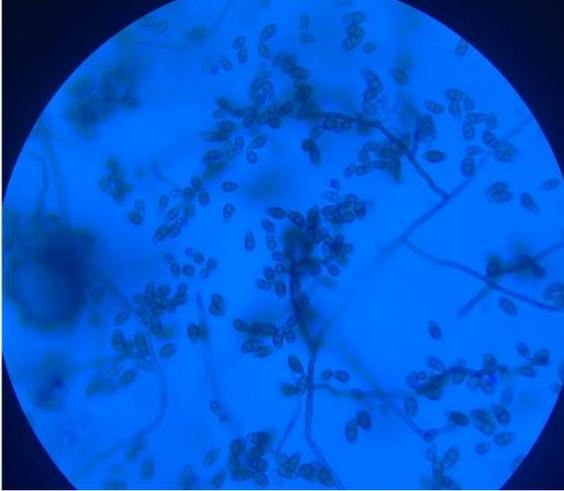
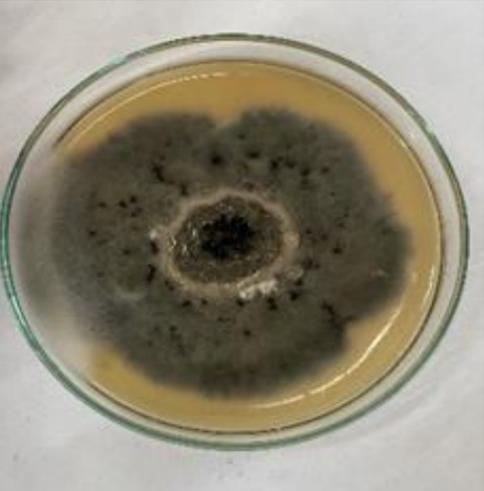
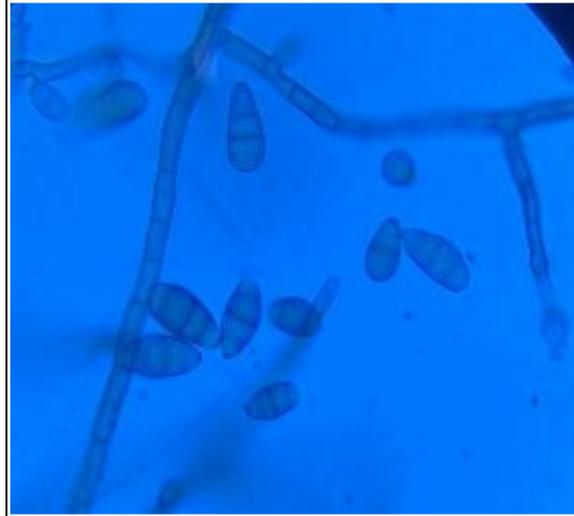
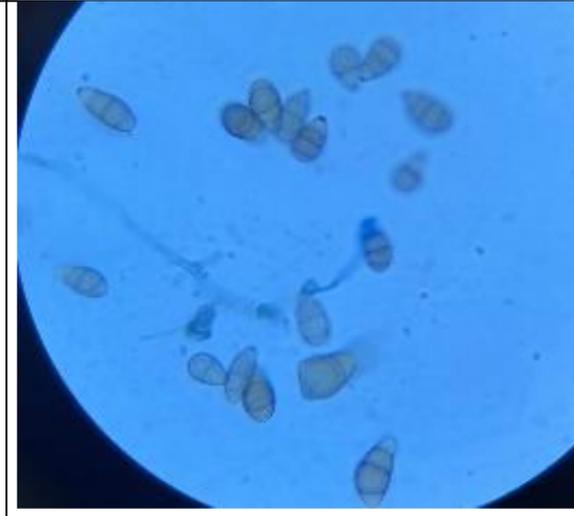
23			<p>Colonia en agar PDA 90 mm de diámetro 15 días de incubación. Color blanco con fondo rojizo, textura aterciopelada.</p>	<p>Hifas delgadas ramificada. Microconidios ovoides. Macroconidios fusiformes con 3 septos.</p>
24			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 70 mm de diámetro a los 15 días de incubación. Textura aterciopelada, color rojizo.</p>	<p>Hifas delgadas ramificadas. Microconidios ovoides con un septo.</p>
25			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 77 mm de diámetro a los 8 días de incubación, textura aterciopelada, color blanco.</p>	<p>Hifas delgadas ramificadas. Microconidios ovoides con 1 septo. Macroconidios fusiformes con 3 septos.</p>
26			<p>Colonia en agar PDA, con aproximadamente 60 mm de diámetro a los 10 días de incubación. Color blanco con fondo rojizo, textura aterciopelada.</p>	<p>Hifas delgadas ramificadas. Microconidios con 1 septo de forma ovoide. Macroconidios fusiformes con 2 septos.</p>
27			<p>Colonia en agar PDA, con aproximadamente 60 mm de diámetro a los 10 días de incubación. Color blanco con fondo rojizo. Textura aterciopelada.</p>	<p>Hifas delgadas ramificadas. Microconidios ovoides. Macroconidios fusiformes.</p>

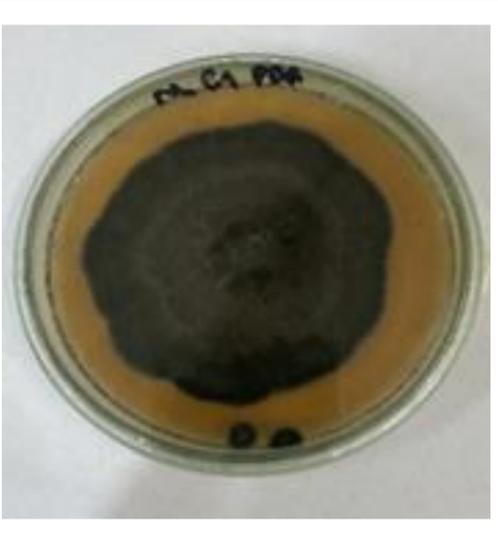
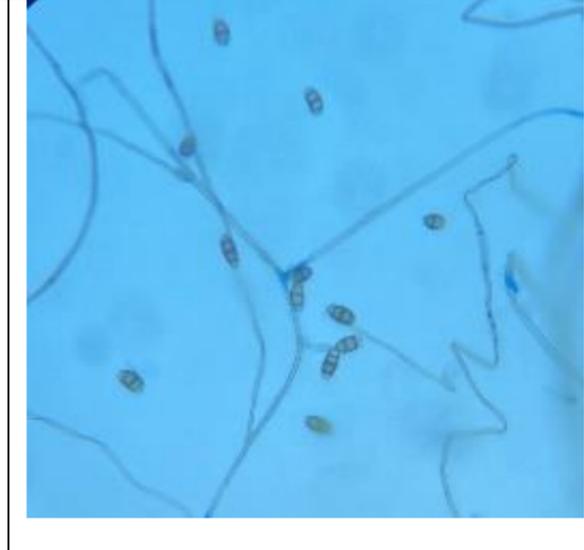
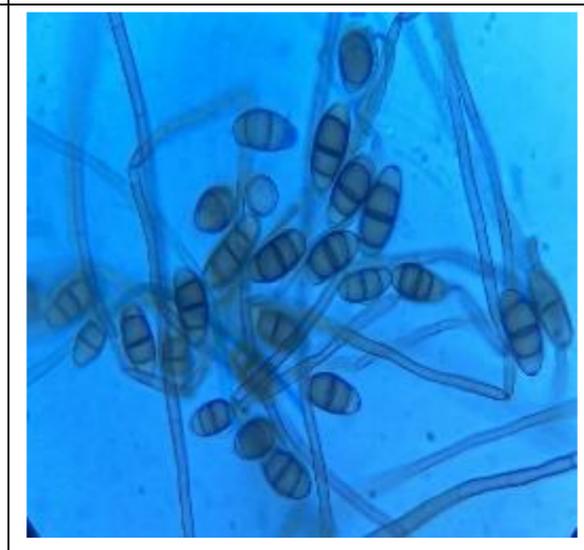
28			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 70 mm de diámetro a los 15 días de incubación. Textura aterciopelada, color blanco con rojizo.</p>	<p>Hifas delgadas. Microconidios ovoides. Macroconidios fusiformes con 1 septo.</p>
29			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 75 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color blanco textura ligeramente algodonosa.</p>	<p>Hifas delgadas, ramificadas y septadas. Microconidios ovoides. Macroconidios fusiformes con 1 septo.</p>
30			<p>Colonia en agar PDA, con aproximadamente 60 mm de diámetro a los 10 días de incubación. Textura aterciopelada, color blanco con fondo rojizo.</p>	<p>Hifas septadas, delgadas y ramificadas. Microconidios ovoides.</p>
31			<p>Colonia en agar PDA, con aproximadamente 83 mm de diámetro a los 15 días de incubación. Textura terciopelada, color blanco con fondo rojo.</p>	<p>Hifas septadas ramificadas y delgadas. Microconidios ovoides.</p>
32			<p>Colonia en agar PDA, con aproximadamente 60 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Textura ligeramente algodonosa, color blanco.</p>	<p>Hifas septadas, delgadas y ramificadas. Microconidios redondeados. Clamidospora elipsoide.</p>

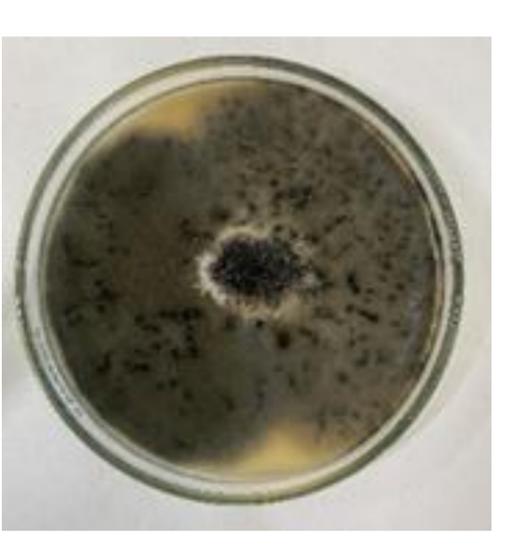
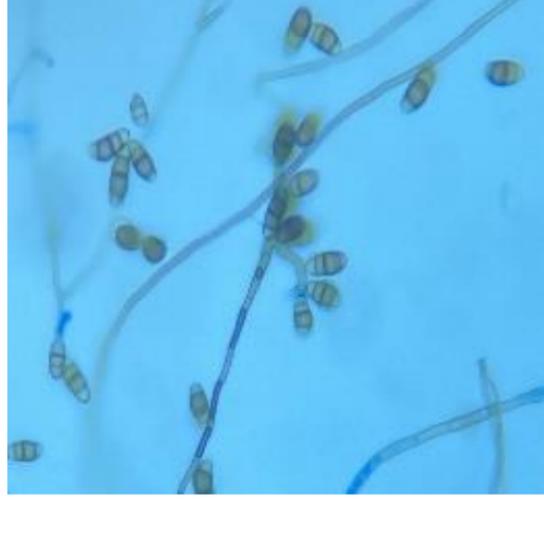
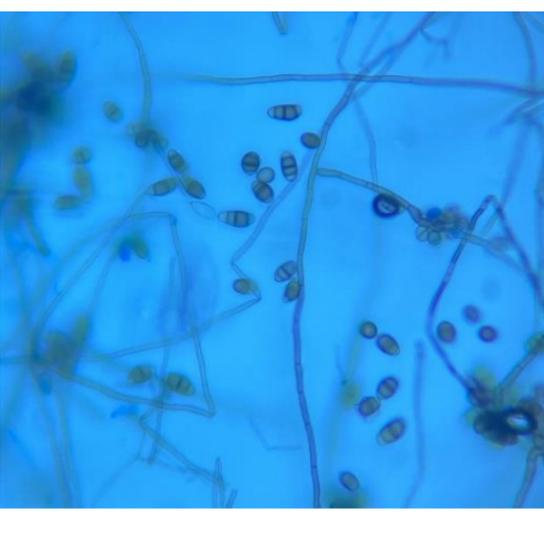
33			<p>Colonia en agar PDA, con aproximadamente 80 mm de diámetro a los 15 días de incubación. Color blanco con fondo rojizo, textura aterciopelada.</p>	<p>Hifas delgadas, ramificadas. Microconidios ovoides. Macroconidios fusiformes con 2 septos.</p>
34			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 80 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color blanco con fondo rojizo. Textura ligeramente algodonosa.</p>	<p>Hifas delgadas y ramificadas. Microconidios ovoides. Macroconidios fusiformes con 1 septo.</p>
35			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 89 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color blanco, textura algodonosa.</p>	<p>Hifas delgadas y ramificadas. Microconidios fusiformes. Macroconidios de forma tabicada con 3 septos.</p>
36			<p>Colonia en agar PDA con 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco hueso.</p>	<p>Hifas delgadas y ramificadas. Microconidios ovoides. Macroconidios fusiformes con dos septos.</p>
37			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri. Color blanco amarillento, textura algodonosa.</p>	<p>Hifas delgadas, septadas y ramificadas. Microconidios ovoides. Macroconidios fusiformes.</p>

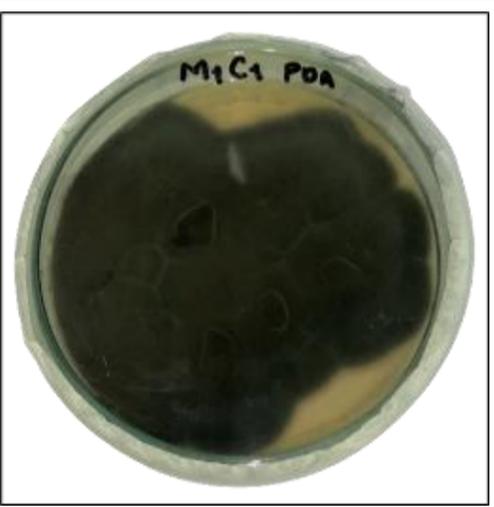
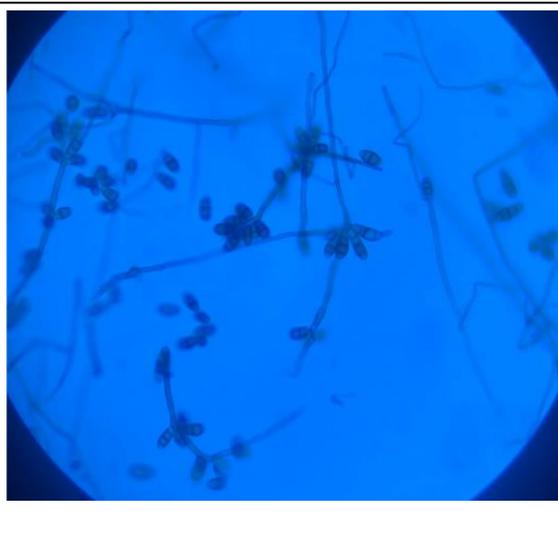
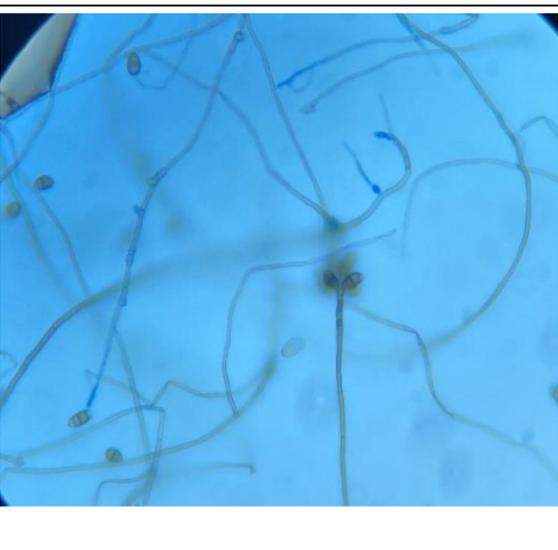
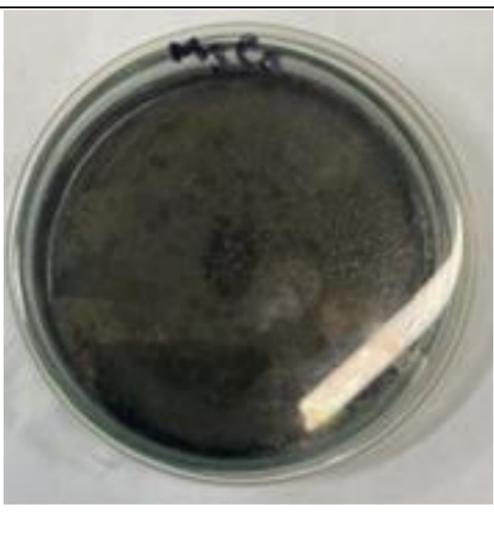
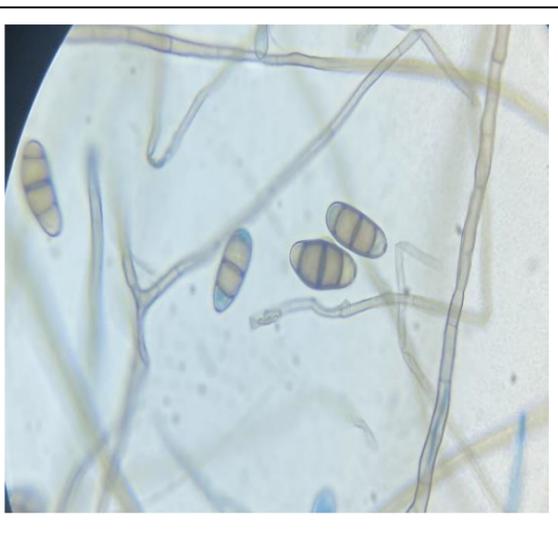
38			<p>Colonia en agar PDA con 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color blanco hueso, textura algodonosa.</p>	<p>Hifas delgadas. Microconidios ovoides.</p>
39			<p>Colonia en agar PDA, 90 mm de diámetro, 8 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco.</p>	<p>Hifas delgadas, ramificadas. Microconidios ovoides.</p>

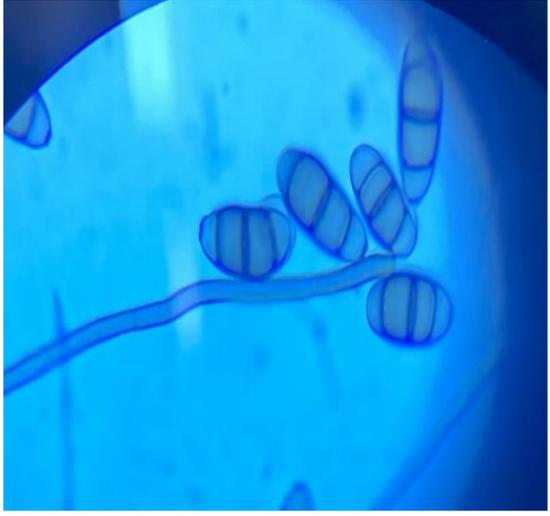
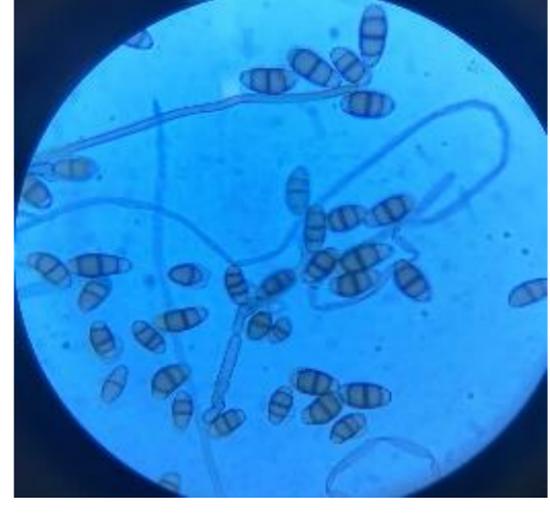
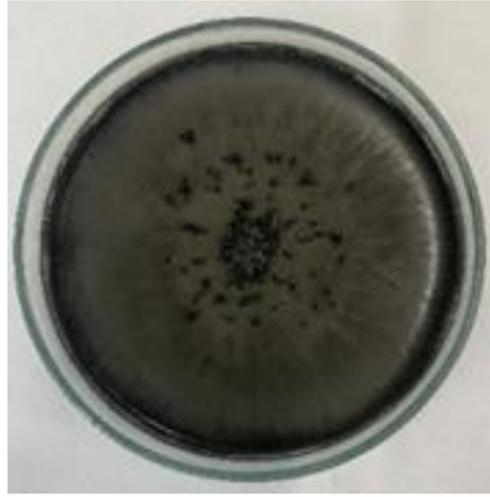
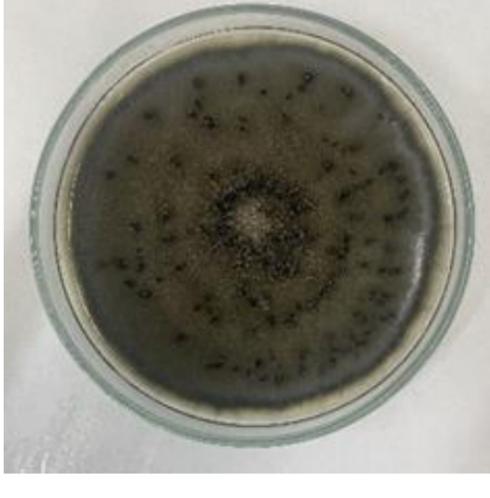
Anexo 3 Tabla de datos soporte de la identificación del género *Curvularia* spp

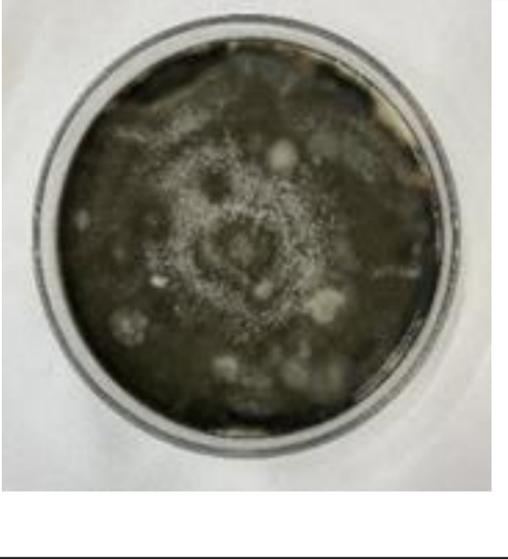
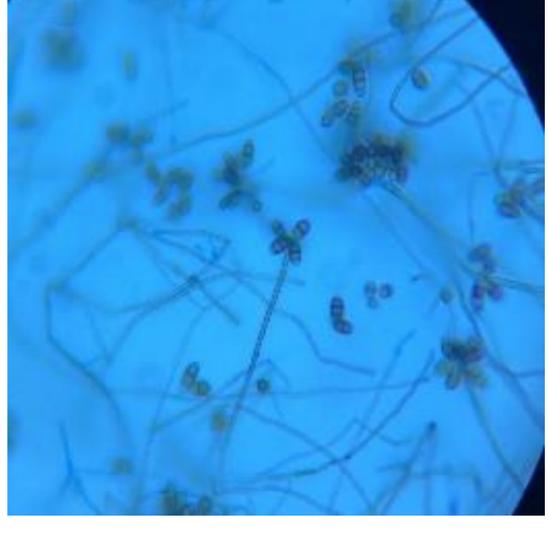
#	Registro fotográfico		Características observadas	
	Colonia en PDA por el anverso	Microscopía	Macroscópicas	Microscópicas
1			<p>Colonia en agar PDA, ocupando completamente la caja de Petri a los 8 días de incubación. Color verde militar por el anverso, textura aterciopelada.</p>	<p>Hifas septadas, relativamente delgadas, ligeramente curvadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Conidios ovoides, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
2			<p>Colonia en agar PDA, con aproximadamente 70 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde oliva con la presencia de un anillo distal. Textura ligeramente algodonosa. Presencia de pequeñas estructuras negras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas, relativamente delgadas, ligeramente curvadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Conidios ovoides, color marrón, con 2 y 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
3			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 60 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde militar, textura aterciopelada. Presencia de estructuras negras que sobresalen</p>	<p>Hifas septadas, relativamente delgadas, y ramificadas. Conidios ovoides, color marrón, con 2 y 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
4			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 80 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde oliva, textura aterciopelada.</p>	<p>Conidios ovoides, color marrón, con 3 y 4 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>

5			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 63 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde oliva, textura aterciopelada. Con formación de un anillo distal de color grisáceo.</p>	<p>Hifas septadas, relativamente delgadas, y ramificadas. Conidios ovoides, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
6			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 45 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde oliva, textura aterciopelada. Bordes más oscuros.</p>	<p>Hifas septadas. Conidios ovoides, color marrón, con 1 y 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
7			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 40 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde oliva, textura aterciopelada. Bordes blancos.</p>	<p>Conidios color marrón, formas ovoides con 3 septos, el septo medio más grueso.</p>
8			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde oliva, textura aterciopelada. Bordes irregulares y más oscuros. Presencia de estructuras negras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidios color marrón, de forma ovoide, con 1 y 3 septos. El septo de la mitad más grueso.</p>
9			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde oliva, textura aterciopelada. Bordes irregulares y más oscuros. Presencia de estructuras negras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidios color marrón, de forma ovoide, con 1 y 3 septos. El septo de la mitad más grueso.</p>

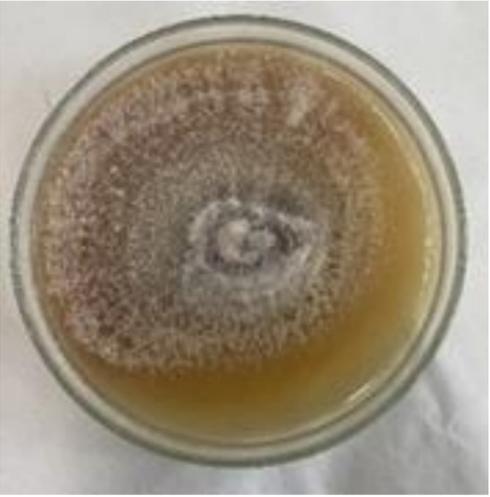
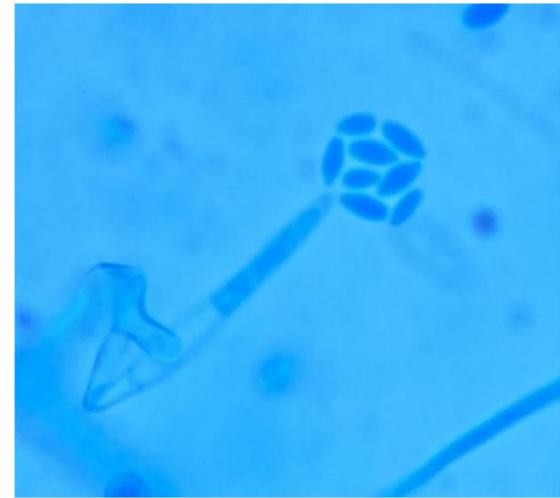
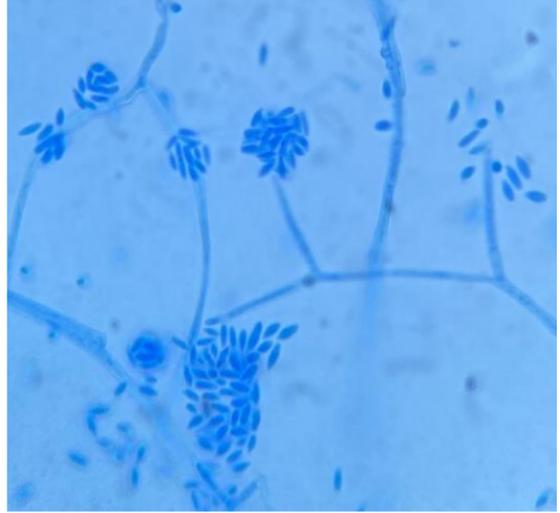
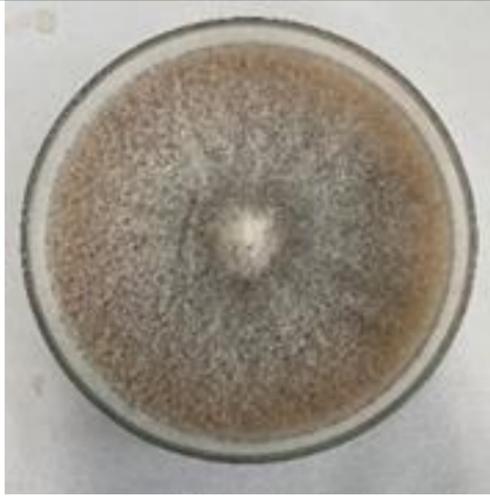
10			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde oliva, con tonalidades gises, textura aterciopelada.</p>	<p>Hifas septadas, relativamente delgadas, y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Conidios ovoides, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
11			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde oliva, con tonalidades gises, textura aterciopelada.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidios ovoides, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
12			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde oliva, y grisácea, textura ligeramente algodonosa.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Conidios ovoides, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
13			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde oliva, con tonalidades gises, textura aterciopelada. Presencia de estructuras negras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Conidios ovoides, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
14			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde militar, textura aterciopelada. Presencia de estructuras negras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Conidios ovoides, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>

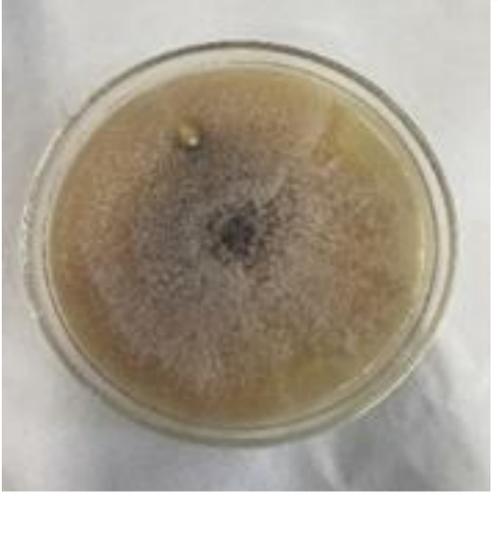
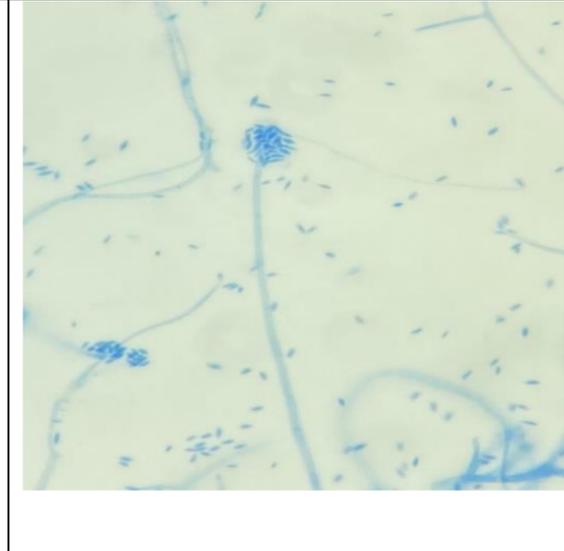
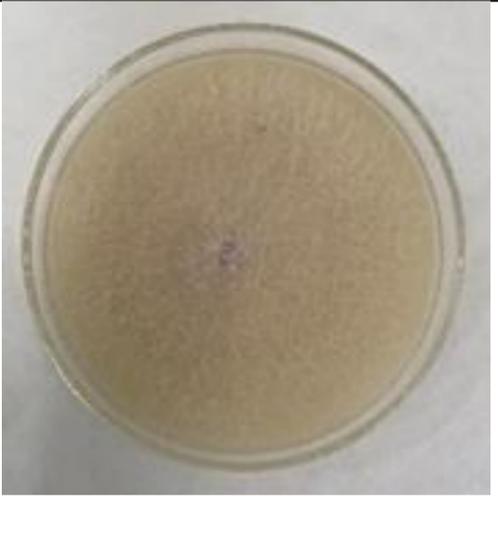
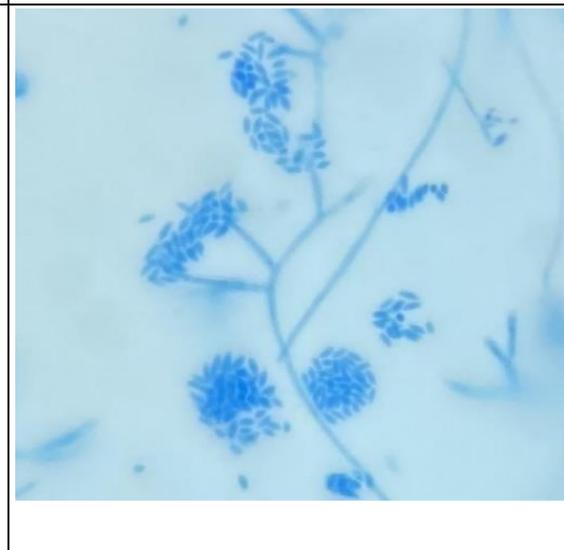
15			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 85 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde militar, textura aterciopelada</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidios ovoides curvados, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
16			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color verde militar, textura aterciopelada. Presencia de estructuras negras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidios ovoides curvados, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
17			<p>Colonia en agar PDA ocupando la caja de Petri a los 8 días de incubación. Color verde militar, textura aterciopelada.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Conidios ovoides, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
18			<p>Colonia en agar PDA ocupando la caja de Petri a los 8 días de incubación. Color verde militar, textura aterciopelada. Presencia de estructuras negras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Conidios ovoides, color marrón con 1 y 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso</p>
19			<p>Colonia en agar PDA ocupando la caja de Petri a los 8 días de incubación. Color verde militar, textura aterciopelada. Presencia de estructuras negras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidios, ovoides curvados, color marrón con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>

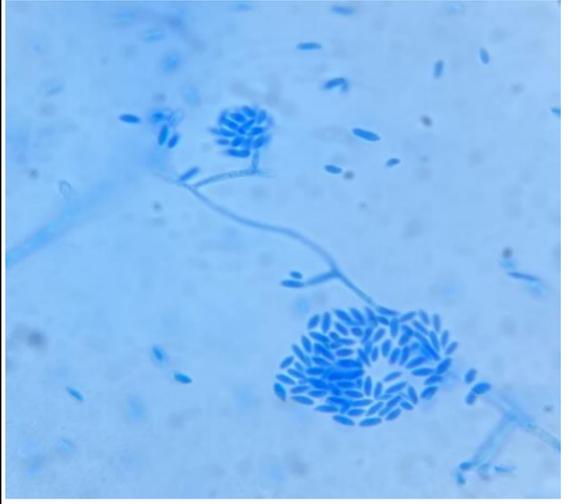
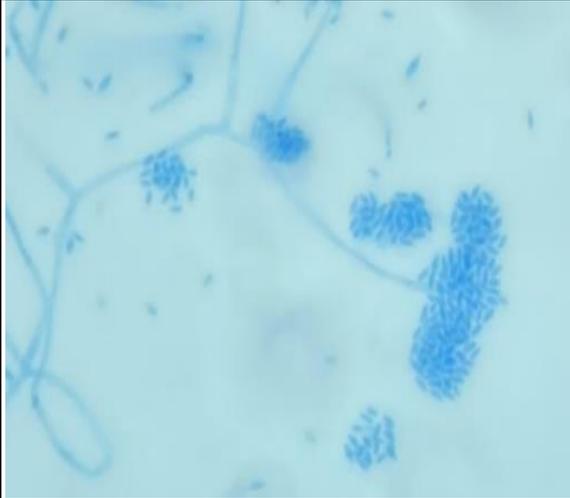
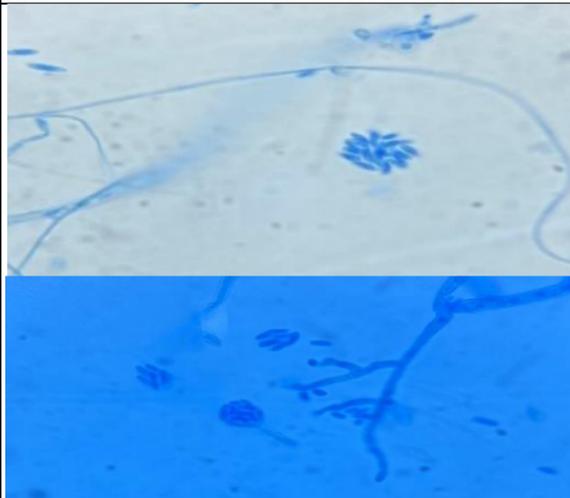
20			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Textura aterciopelada, color verde oliva, se evidencia la formación de un anillo distal color gris.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidios, ovoides curvados, color marrón con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
21			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Textura aterciopelada, bordes irregulares, color verde oliva, se evidencia la formación de un anillo distal color gris. Presencia de estructuras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Conidios ovoides curvados, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
22			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Textura aterciopelada, bordes oscuros, color verde militar. Presencia de estructuras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Conidios ovoides curvados, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
23			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Textura ligeramente algodonosa, bordes irregulares, color verde grisáceo. Presencia de estructuras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Célula conidiogénica elipsoide. Conidios ovoides curvados, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
24			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Textura aterciopelada, bordes irregulares y más oscuros, color verde grisáceo. Presencia de estructuras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Célula conidiogénica elipsoide. Conidios ovoides curvados, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>

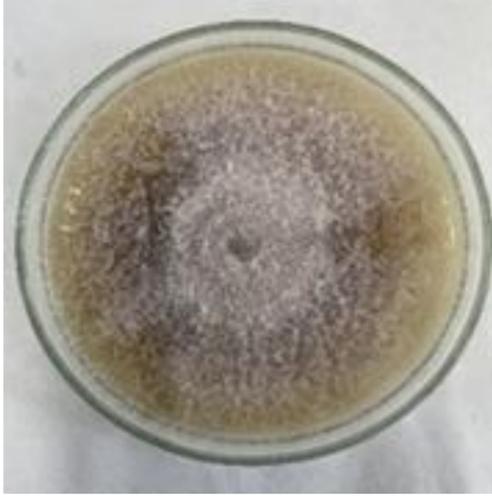
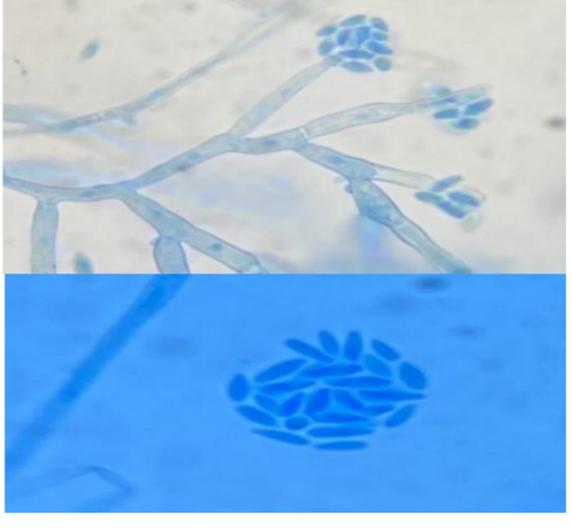
25			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Textura aterciopelada, bordes irregulares y más oscuros, color verde con tonalidades blancas.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Célula conidiogénica elipsoide. Conidios ovoides curvados, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>
26			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Textura aterciopelada, bordes irregulares y más oscuros, color verde grisáceo. Presencia de estructuras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidióforo erecto, septado color marrón claro. Conidios ovoides curvados, color marrón, con 3 septos, el septo de la mitad se evidencia más grueso.</p>

Anexo 4. Tabla de datos soporte de la identificación del género *Acremonium spp*

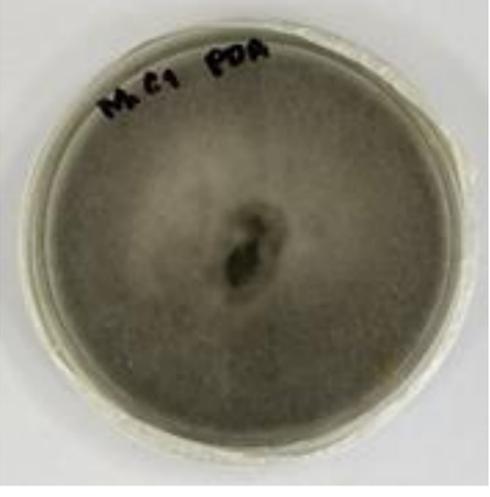
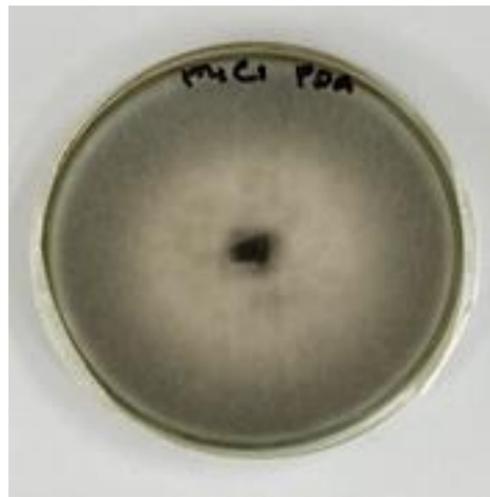
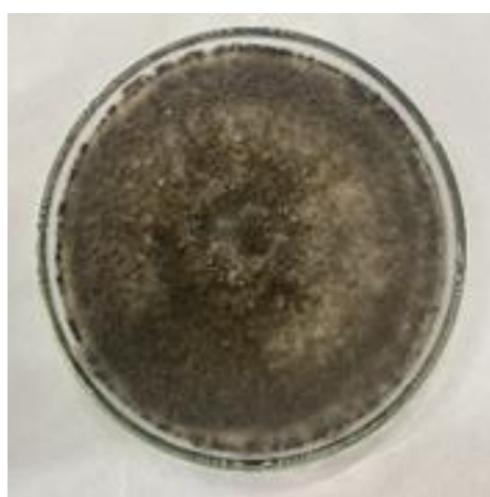
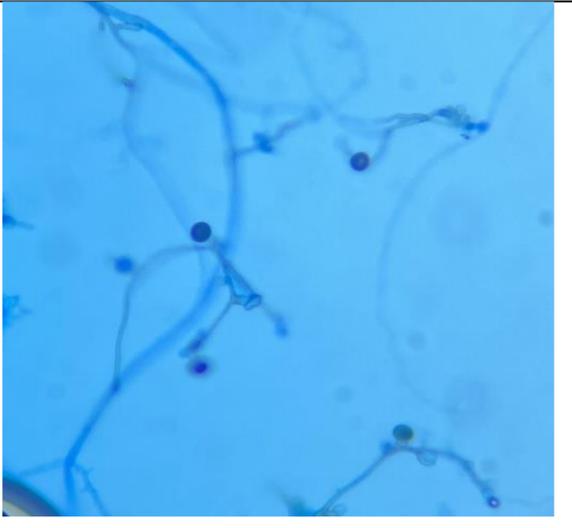
#	Registro fotográfico		Características observadas	
	Colonia en PDA por el anverso	Microscopía	Macroscópicas	Microscópicas
1			Colonia en agar PDA con aproximadamente 80 mm de diámetro a los 10 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco en la superficie, con fondo marrón claro. Se observa cambio de color en el medio de cultivo.	Hifas delgadas y septadas. Conidióforos rectos delgados con ramificaciones verticiladas. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.
2			Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 17 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco en la superficie y rojizo en el fondo. Se observa cambio de color en el medio de cultivo.	Hifas delgadas y septadas. Conidióforo recto delgado. Conidios sin septos de forma ovoide o elipsoide agrupados formando una falsa cabeza.
3			Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 17 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco en la superficie y rojizo en el fondo. Se observa cambio de color en el medio de cultivo.	Hifas delgadas y septadas. Conidióforos rectos delgados con ramificaciones verticiladas. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.
4			Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 17 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco en la superficie y rojizo en el fondo. Se observa cambio de color en el medio de cultivo.	Hifas delgadas y septadas. Conidióforos rectos delgados con ramificaciones. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.

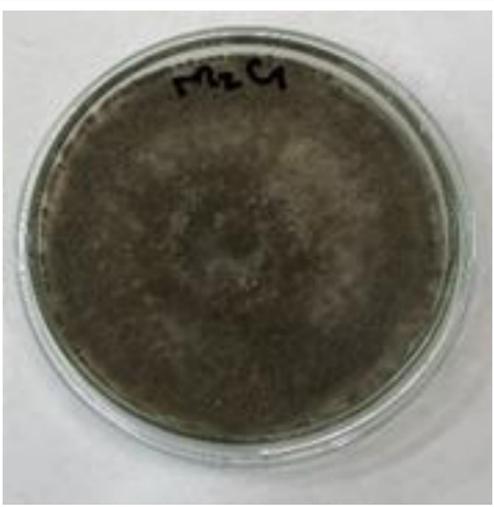
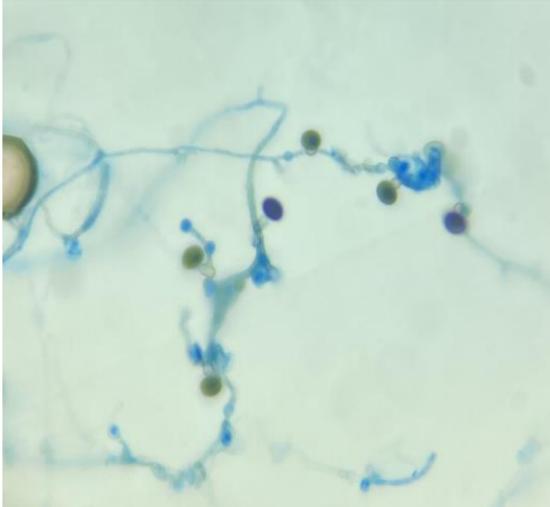
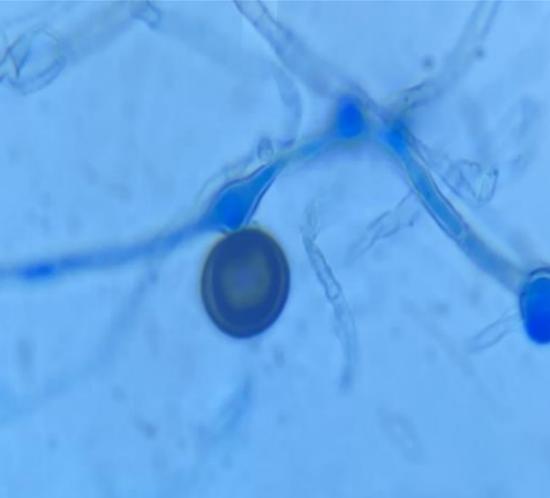
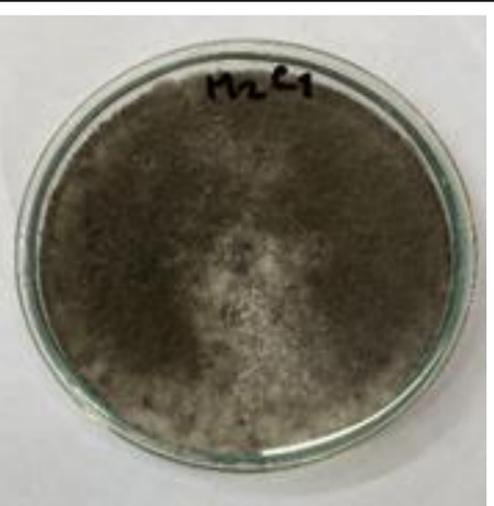
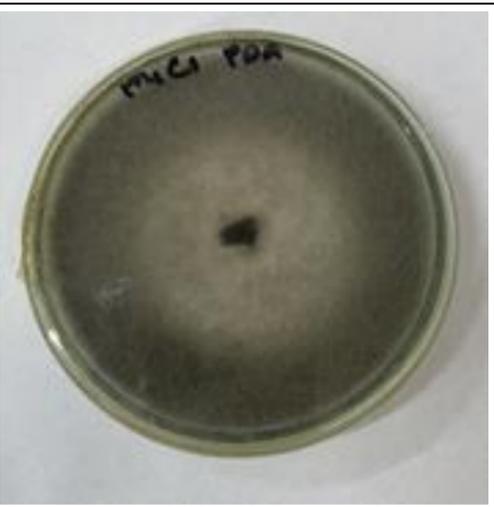
5			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 80 mm de diámetro a los 10 días de incubación. Textura polvorienta, color blanco en la superficie y marrón en el fondo. Se observa cambio de color en el medio de cultivo.</p>	<p>Hifas delgadas y septadas. Conidióforos rectos delgados con ramificaciones. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.</p>
6			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 17 días de incubación. Textura polvorienta, color blanco en la superficie y rojizo en el fondo. Se observa una forma estrellada y se presenta cambio de color en el medio de cultivo.</p>	<p>Conidióforos rectos delgados. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.</p>
7			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 17 días de incubación. Textura ligeramente algodonosa color blanco translucido. No se observa cambio de color en el medio.</p>	<p>Hifas delgadas y septadas. Conidióforos rectos delgados con ramificaciones. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.</p>
8			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 17 días de incubación. Textura ligeramente algodonosa, color rojizo en el fondo y blanco en la superficie. Se observa cambio de color en el medio de cultivo.</p>	<p>Hifas delgadas. Conidióforos rectos delgados con ramificaciones. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.</p>
9			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 17 días de incubación. Color marrón oscuro en el fondo y blanco en la superficie, textura algodonosa. Se observa cambio de color en el medio de cultivo.</p>	<p>Hifas delgadas. Conidióforos rectos delgados con ramificaciones verticiladas. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.</p>

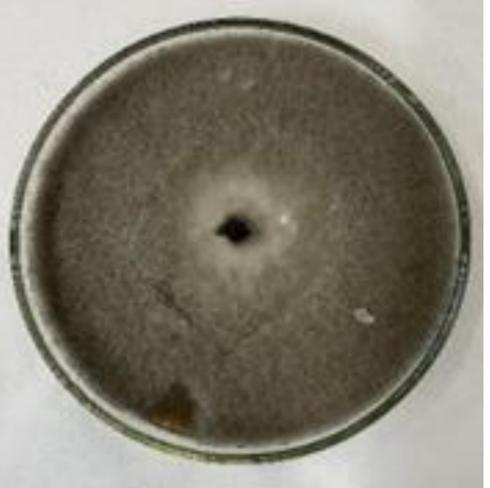
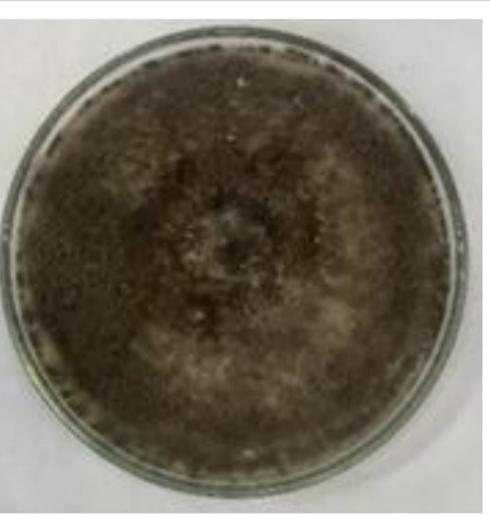
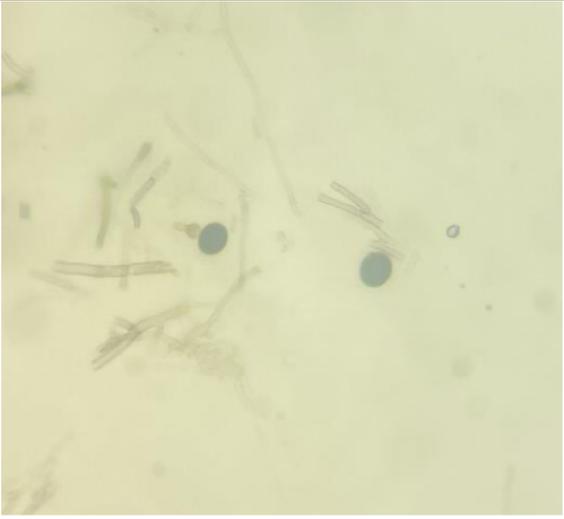
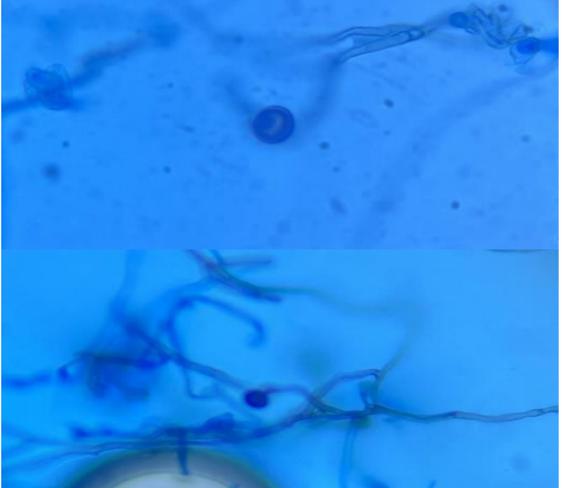
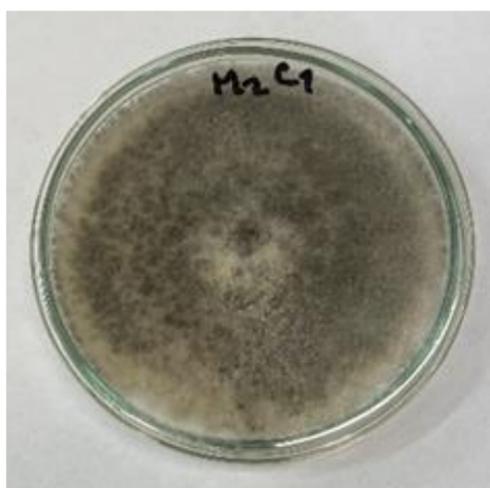
10			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 17 días de incubación. Color naranjado oscuro en el fondo y blanco en la superficie, textura algodonosa. Se observa cambio de color en el medio de cultivo.</p>	<p>Hifas delgadas. Conidióforos rectos delgados con ramificaciones. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.</p>
11			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 17 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco en la superficie y rojizo en el fondo. Se observa cambio de color en el medio de cultivo</p>	<p>Hifas delgadas. Conidióforos rectos delgados con ramificaciones. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.</p>
12			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 17 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco. Se observa cambio de color en el medio de cultivo.</p>	<p>Hifas delgadas. Conidióforos rectos delgados con ramificaciones. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.</p>
13			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 17 días de incubación. Textura polvorienta, color blanco en la superficie y rojizo en el fondo. Se observa cambio de color en el medio de cultivo.</p>	<p>Hifas delgadas. Conidióforos rectos delgados con ramificaciones. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.</p>
14			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 17 días de incubación, textura algodonosa, color blanco en la superficie y marrón claro en el fondo. Se evidencia cambio de color en el medio de cultivo.</p>	<p>Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas. Clamidosporas elipsoidales y globosas dispuestas de manera intercalada</p>

15			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 87 mm de diámetro a los 17 días de incubación. Textura algodonosa, color rosado oscuro en el fondo y blanco en la superficie. Se evidencia cambio de color en el medio de cultivo.</p>	<p>Hifas delgadas y septadas. Conidióforos rectos delgados con ramificaciones verticiladas. Conidios sin septos de forma ovoide agrupados formando falsas cabezas.</p>
----	---	--	---	--

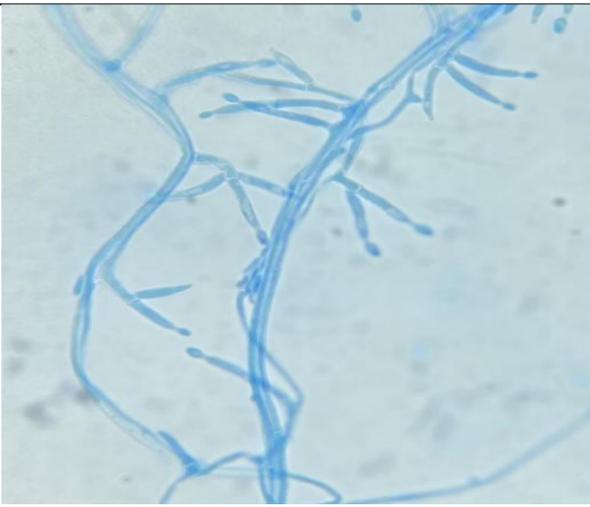
Anexo 5. Tabla de datos soporte de la identificación del género *Nigrospora* spp

#	Registro fotográfico		Características observadas	
	Colonia en PDA por el anverso	Microscopía	Macroscópicas	Microscópicas
1			Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Textura aterciopelada, color gris con tonalidades más claras en el centro.	Hifas ramificadas y septadas. conidióforos pequeños, hialinos. Célula conidiogénica produciendo un solo conidio. Conidios solitarios de forma globosa, color marrón oscuro brillante.
2			Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Textura ligeramente algodonosa, color gris claro.	Hifas ramificadas y septadas. Conidios solitarios de forma globosa, color marrón oscuro brillante.
3			Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Textura aterciopelada, color gris claro y blanco en el centro.	Hifas ramificadas y septadas. Conidios solitarios de forma globosa, color marrón oscuro brillante.
4			Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Textura algodonosa, color gris oscuro con tonalidades verde oliva y gris claro.	Hifas ramificadas y septadas. Conidios solitarios de forma globosa, color marrón oscuro brillante.

5			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Color verde militar, textura algodonosa.</p>	<p>Hifas ramificadas. Conidióforos pequeños, hialinos. Célula conidiogénica produciendo un solo conidio. Conidios solitarios de forma globosa, color marrón oscuro brillante.</p>
6			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Textura aterciopelada. Color gris con tonalidades blancas y estructuras negras que sobresalen.</p>	<p>Hifas ramificadas y septadas. Conidióforos pequeños, hialinos. Célula conidiogénica elipsoide produciendo un solo conidio. Conidios solitarios de forma globosa, color marrón oscuro brillante.</p>
7			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Color verde oliva con tonalidades blancas, textura algodonosa.</p>	<p>Hifas ramificadas y septadas. Conidióforos pequeños, hialinos. Conidios solitarios de forma globosa, color marrón oscuro brillante.</p>
8			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Textura aterciopelada. Color blanco en el centro y gris en el borde.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas, conidióforo hialino, pequeño. Conidios solitarios de forma globosa, color marrón oscuro brillante.</p>
9			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Textura aterciopelada. Color blanco y en el centro negro.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas, conidióforo hialino, pequeño elipsoide. Conidio solitario de forma globosa, color marrón oscuro.</p>

10			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Textura algodonosa. Color blanco en la superficie y verde oliva en el fondo.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas, conidióforo hialino, pequeño elipsoide. Conidio solitario de forma globosa, color marrón oscuro.</p>
11			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Textura algodonosa. Color marrón oscuro.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas, conidióforo hialino, pequeño elipsoide. Conidio solitario de forma globosa, color marrón oscuro.</p>
12			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Textura ligeramente algodonosa. Color gris oscuro.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas, conidióforo hialino, pequeño elipsoide. Célula conidiogénica globosa produciendo un solo conidio. Conidio solitario de forma globosa, color marrón oscuro brillante.</p>
13			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Textura algodonosa. Color marrón oscuro con tonalidades blancas. Se evidencian estructuras negras que sobresalen.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas, conidióforo hialino, pequeño elipsoide. Célula conidiogénica globosa produciendo un solo conidio. Conidio solitario de forma globosa, color marrón oscuro brillante.</p>
14			<p>Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 7 días de incubación. Textura algodonosa. Color gris oscuro con tonalidades blancas.</p>	<p>Hifas septadas y ramificadas. Conidio solitario de forma globosa, color marrón oscuro brillante.</p>

Anexo 6 Tabla de datos soporte de la identificación del género *Verticillium* spp

#	Registro fotográfico		Características observadas	
	Colonia en PDA por el anverso	Microscopía	Macroscópicas	Microscópicas
1			Colonia en agar PDA con aproximadamente 83 mm de diámetro a los 15 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco, con presencia de una coloración rojiza o marrón en el fondo.	Hifas delgadas y ramificadas. Conidióforo delgado, ramificado. Fiálides agrupadas en vertices (es decir que salen de un mismo punto). Conidios hialinos, ovoides sin septos.
2			Colonia en agar PDA con aproximadamente 88 mm de diámetro a los 8 días de incubación. Color marrón pardo con tonalidades blancas en la superficie, textura algodonosa.	Hifas delgadas y ramificadas. Conidióforo delgado. Fiálides agrupadas en verticilos. Conidios hialinos, ovoides sin septos.
3			Colonia en agar PDA ocupando completamente la caja de Petri a los 15 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco.	Hifas delgadas, ramificadas. Conidióforo delgado, ramificado. Fiálides agrupadas formando vértices. Conidios ovoides hialinos.
4			Colonia en agar PDA con aproximadamente 88 mm de diámetro a los 15 días de incubación. Textura algodonosa, con una coloración pardusca en el fondo del centro.	Hifas delgadas, ramificadas. Conidióforo delgado, ramificado. Fiálides agrupadas formando vértices. Conidios ovoides hialinos.

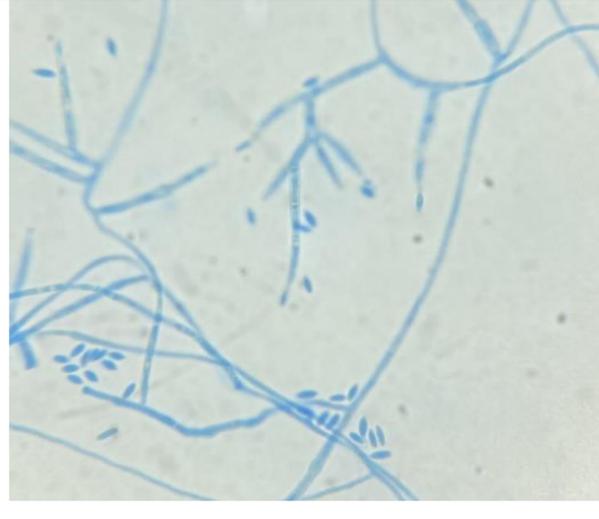
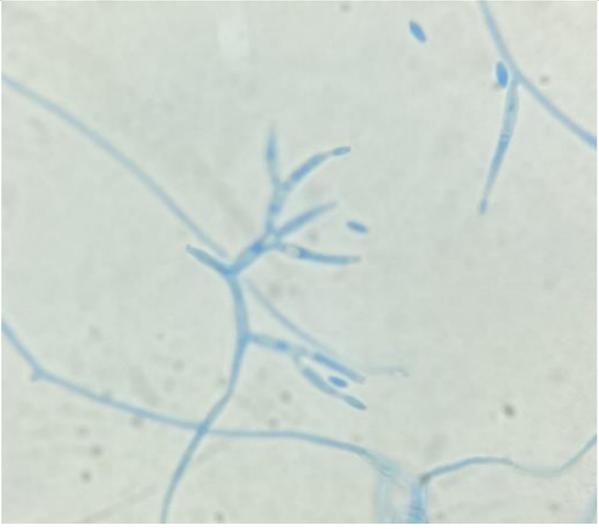
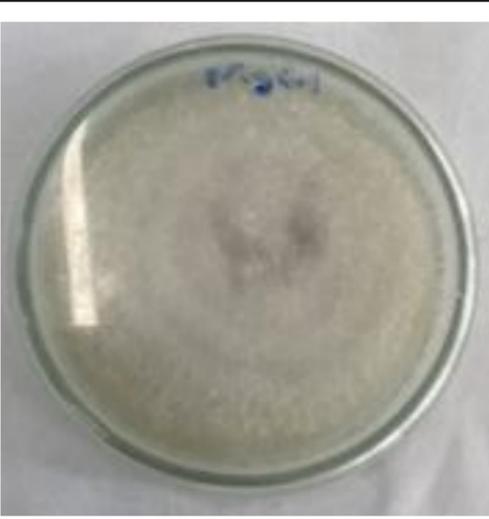
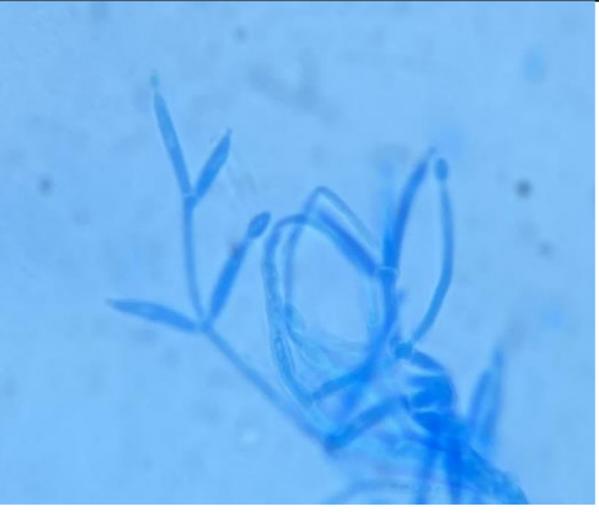
5			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 68 mm de diámetro a los 10 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco, con una coloración rosada en el fondo.</p>	<p>Hifas delgadas, ramificadas. Conidióforo delgado, ramificado. Fiálides agrupadas formando vértices. Conidios ovoides hialinos.</p>
6			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 55 mm de diámetro a los 10 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco.</p>	<p>Hifas delgadas, ramificadas. Conidióforo delgado, ramificado. Fiálides agrupadas formando vértices. Conidios ovoides hialinos.</p>
7			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 90 mm de diámetro a los 15 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco.</p>	<p>Hifas delgadas, ramificadas. Conidióforo delgado. Fiálides agrupadas formando vértices. Conidios elipsoides, hialinos.</p>
8			<p>Colonia en agar PDA con aproximadamente 85 mm de diámetro a los 15 días de incubación. Textura algodonosa, color blanco, con una coloración rosada a morada en el fondo.</p>	<p>Hifas delgadas. Conidióforo delgado. Fiálides agrupadas formando vértices. Conidios elipsoides, hialinos.</p>



Fig. 33. Cámara de refrigeración de la empresa Fitoplant S.A.S



Fig. 34. Cabina de flujo laminar usada en el trabajo.



Fig. 35. Cajón donde se llevó a cabo la incubación en oscuridad a temperatura ambiente de los hongos