

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS:

**Caracterización morfológica y molecular de *Alternaria* spp.
como agente causal de la mancha dorada en *Opuntia
ficus-indica* (L.) Mill. en Ayacucho - 2025**

**Para optar el título profesional de:
INGENIERA AGRÓNOMA**

PRESENTADO POR:

Bach. Joice Maryori Azuncion ALAGON QUISPE

ASESORA:

M.Sc. Angela Juana REQUIS QUINTANILLA

AYACUCHO - PERÚ

2025

DEDICATORIA

Primeramente, agradecer a Dios por guiarme en el camino correcto y darme salud, y fortalecer mis decisiones.

Dedico de manera especial a mi familia, por ser mi fortaleza en este proceso, brindándome apoyo incondicional.

A mis compañeros y amigos que contribuyeron en la realización del trabajo de investigación.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mi alma máter, por permitirme formar parte de su comunidad y abrirme las puertas de su ámbito académico, brindándome la oportunidad de adquirir los conocimientos necesarios para alcanzar mis metas.

A la Facultad de Ciencias Agrarias en especial a la Escuela Profesional de Agronomía igualmente a todos los docentes, por brindarme sus enseñanzas y ayudarme a consolidar mi preparación profesional y académica.

A mi asesora M.Sc. Angela Requis Quintanilla por su asesoramiento durante la conducción del presente trabajo de investigación.

A mis compañeras y amigos del laboratorio de Fitopatología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por haberme brindado un valioso apoyo en desarrollo de la investigación.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	11
CAPITULO I.....	13
MARCO TEORICO	13
1.1 Antecedentes	13
1.2.1. Origen y distribución	13
1.2.2. Taxonomía.....	14
1.2.3. Importancia del cultivo de tuna	14
1.1.4. Requerimiento edafoclimáticos.....	15
1.1.5. Cosecha	16
1.1.6. Composición química y nutricional	16
1.1.7. Usos y conservación.....	17
1.3. <i>Alternaria</i> sp.	18
1.3.1. Taxonomía.....	18
1.3.2. Importancia	18
1.3.3. Sintomatología	18
1.4. Mancha dorada en tuna	19
1.5. Identificación morfológica.....	19
1.6. Identificación molecular	20
1.6.1. Extracción de ADN.....	21
1.6.2. Electroforesis	21
1.6.3. Reacción de la cadena de la Polimerasa (PCR).....	22
1.6.4. Primers o cebadores.....	23
CAPÍTULO II.....	24
METODOLOGÍA.....	24
2.1. Ubicación	24
2.1.1. Fase de campo.....	24
2.1.2. Fase de laboratorio.....	25
2.2. Materiales y equipos	26
2.2.1. Material biológico.....	26
2.2.2. Materiales de campo	26
2.2.3. Materiales de laboratorio	27
2.2.4. Equipos.....	27

2.3.	Colección de muestras	27
2.3.1.	<i>Colección de cladodios con síntomas</i>	27
2.4.	Aislamiento	28
2.4.1.	<i>Aislamiento de los hongos fitopatógenos</i>	28
2.5.	Conservación	29
2.6.	Activación de las cepas	30
2.7.	Caracterización morfológica de aislamiento.....	30
2.8.	Caracterización molecular de aislamiento	30
2.8.1.	<i>Extracción de ADN</i>	30
2.8.2.	<i>Pre PCR</i>	31
2.8.3.	<i>PCR (Reacción en cadena de polimerasa)</i>	31
2.8.4.	<i>Electroforesis en gel</i>	32
2.8.5.	<i>Secuenciamiento de ADN</i>	32
2.9.	Prueba de patogenicidad	33
CAPÍTULO III		34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		34
3.1.	Aislamiento de las cepas	34
3.1.1.	<i>Aislamiento del agente causal de la mancha dorada</i>	34
3.2.	Caracterización morfológica	37
3.2.1.	<i>Características morfológicas de Alternaria spp.</i>	37
3.3.	Identificación molecular de las cepas aisladas.....	46
3.2.1.	<i>Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)</i>	46
3.3.	Prueba de patogenicidad	47
CONCLUSIONES.....		50
RECOMENDACIONES		51
REFERENCIA BIBLIOGRAFICA.....		52
ANEXOS		59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. 1. Taxonomía de la tuna	14
Tabla 1. 2. Composición química y nutricional de la tuna	17
Tabla 2. 1. Preparación de mezcla maestra para amplificación.....	31
Tabla 2. 2. Secuencias del cebador ITS en dirección 5'-3'	32
Tabla 3. 1. Aislamientos obtenidos del germoplasma del Instituto Nacional de Innovación Agraria.....	35
Tabla 3. 2. Aislamientos obtenidos de la comunidad de Quinrapa-Huanta.....	35
Tabla 3. 3. Aislamientos obtenidos del distrito de San Miguel.....	36
Tabla 3. 4. Características morfológicas de las 50 cepas de <i>Alternaria</i> spp.	44
Tabla 3. 5. Identificación a nivel especie de <i>Alternaria</i> spp.	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. 1. Síntomas de la mancha dorada en tuna	19
Figura 1. 2. Observación macroscópica al tercer día de incubación	20
Figura 1. 3. Cadenas de conidios de <i>Alternaria</i> sp.....	20
Figura 2. 1. Mapa del distrito de Huamanga, Huanta y San Miguel.....	24
Figura 2. 2. Mapa de la ubicación del laboratorio de Fitopatología.....	25
Figura 2. 3. Colección de muestras con síntomas característicos la mancha dorada.	28
Figura 3. 1. Caracterización macroscópica del aislamiento H-M6.....	38
Figura 3. 2. Caracterización microscópica del aislamiento H-M6	38
Figura 3. 3. Caracterización macroscópica del aislamiento I-M11	39
Figura 3. 4. Caracterización microscópica del aislamiento I-M11.....	40
Figura 3. 5. Caracterización macroscópica del aislamiento H-M13	40
Figura 3. 6. Caracterización microscópica del aislamiento H-M13	41
Figura 3. 7. Caracterización macroscópica del aislamiento SM-M4	42
Figura 3. 8. Caracterización microscópica del aislamiento SM-M4	42
Figura 3. 9. Cepas aisladas de <i>Alternaria</i> spp. en cultivo de tuna.....	43
Figura 3. 10. Productos de PCR amplificados para región ITS	46
Figura 3. 11. Prueba de patogenicidad en cladodios de tuna	48
Figura 3. 12. Presencia de costras en la superficie de las manchas cloróticas	49

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Colección de muestras con síntomas característicos en los 3 lugares indicados.....	60
Anexo 2. Colección de muestras con síntomas característicos de <i>Alternaria</i> spp.....	61
Anexo 3. Procedimiento de aislamiento del patógeno	62
Anexo 4. Procedimiento para realizar la prueba de patogenicidad	63
Anexo 5. Procedimiento de purificación e identificación del patógeno.....	63
Anexo 6. Procedimiento para realizar la extracción de ADN	64
Anexo 7. Procedimiento para realizar el PCR.....	65
Anexo 8. Características macroscópicas de 50 muestras de <i>Alternaria</i> spp.	66
Anexo 9. Cepas aisladas de <i>Alternaria</i> spp. en cultivo de tuna	68
Anexo 10. Características microscópicas de 50 muestras de <i>Alternaria</i> spp.....	69
Anexo 11. Mediciones de conidios de <i>Alternaria destruens</i>	76
Anexo 12. Mediciones de conidios de <i>Alternaria alstroemeriae</i>	79
Anexo 13. Mediciones de conidios de <i>Alternaria doliconidium</i>	81
Anexo 14. Ruta de identificación para <i>Alternaria</i>	84
Anexo 15. Equipo de trabajo del laboratorio Umbrella	84

RESUMEN

El trabajo de investigación tuvo como objetivo; caracterizar morfológica y molecularmente a *Alternaria* spp. como agente causal de la mancha dorada en el cultivo de tuna (*Opuntia ficus-indica*). Las muestras fueron obtenidas de tres lugares: Huamanga (germoplasma de tuna del Instituto Nacional de Innovación Agraria), Huanta y San Miguel. A partir de las muestras recolectadas se realizó el aislamiento, la caracterización macroscópica, microscópica, molecular y la prueba de patogenicidad. Se obtuvo 50 aislamientos pertenecientes al género *Alternaria* spp., en la caracterización morfológica se evidenció diferencia, macroscópica y microscópica clasificándolos en 4 grupos. Macroscópicamente las colonias del grupo I, II, III, IV obtuvieron tonalidades grises claro, gris oscuro, verde olivo y crema, respectivamente, con textura algodonosa, en lo microscópico, el tamaño de las conidias varía entre 17.5-45.6 x 8.7-12.4 μ m, forma obclavada a ovoide, presencia de septos transversales (2-5) y longitudinales (4-5), hifas septadas. En base a las características morfológicas observadas y utilizando claves taxonómicas, se determinó que el agente causal de la mancha dorada en el cultivo de tuna corresponde a hongos del género *Alternaria* spp. Para la identificación molecular, se amplificó y secuenció la región ITS para hongos. Mediante pruebas moleculares, las especies identificadas fueron *Alternaria alstroemeriae* (I-M11), *Alternaria destruens* (H-M13), *Alternaria doliconidium* (SM-M4), con un porcentaje de identidad de 100%, 99.5%, 99.81% , pertenecientes al grupo II, III, IV respectivamente. De acuerdo a la prueba de patogenicidad se determinó que todos los aislamientos son patógenicos.

Palabras clave: Mancha dorada, *Alternaria alstroemeriae*, *Alternaria destruens*, *Alternaria doliconidium*.

ABSTRACT

The objective of this research was to characterize *Alternaria* spp. morphologically and molecularly as the causal agent of "golden spot" disease in prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) crops. Samples were obtained from three locations: Huamanga (prickly pear germplasm from the National Institute of Agricultural Innovation), Huanta, and San Miguel. Isolation, macroscopic and microscopic characterization, molecular analysis, and pathogenicity testing were performed on the collected samples. Fifty isolates belonging to the genus *Alternaria* were obtained; morphological characterization revealed macroscopic and microscopic differences, allowing them to be classified into four groups. Macroscopically, colonies from groups I, II, III, and IV exhibited light gray, dark gray, olive green, and cream hues, respectively, with a cottony texture. Microscopically, conidia sizes ranged from 17.5–45.6 x 8.7–12.4 µm, with shapes varying from obclavate to ovoid, the presence of transverse (2–5) and longitudinal (4–5) septa, and septate hyphae. Based on the observed morphological characteristics and taxonomic keys, it was determined that the causal agent of golden spot disease in prickly pear crops is a fungus of the genus *Alternaria*. For molecular identification, the fungal ITS region was amplified and sequenced. Molecular testing identified the species *Alternaria alstroemeriae* (I-M11), *Alternaria destruens* (H-M13), and *Alternaria doliconidium* (SM-M4)—belonging to groups II, III, and IV, respectively—with identity percentages of 100%, 99.5%, and 99.81%. Pathogenicity testing indicated that all isolates are pathogenic.

Keywords: Golden spot, *Alternaria alstroemeriae*, *Alternaria destruens*, *Alternaria doliconidium*.

INTRODUCCIÓN

Según Castro (2009), la tuna es una especie de cactácea muy extendida en los valles interandinos del Perú, ya que estas zonas ofrecen condiciones ideales para su crecimiento; sus frutos forman parte de la alimentación local y también se venden en los mercados principales del país.

La tuna es un cultivo importante por su significativo contenido de fibra y compuestos antioxidantes, como el ácido ascórbico y por ser el hospedero de la cochinilla, el Perú es uno de los productores de carmín, satisfaciendo entre el 85% y el 90% de la demanda internacional (Savino et al., 2019).

Según Galati et al. (2003), investigaciones recientes confirman que la tuna presenta elevados niveles de sustancias antioxidantes —entre ellas ácido ascórbico, compuestos fenólicos y betalainas—, además de concentraciones importantes de calcio, magnesio, prolina y taurina. Esta composición le otorga las cualidades propias de un alimento funcional.

MIDAGRI (2021), indica que las zonas de cultivo de tuna son Huanta, Huamanga, San Miguel y Cangallo. La región de Ayacucho cuenta con áreas potenciales de producción donde existe alta variabilidad genética y calidad de fruta, que se ven afectadas por enfermedades causadas por hongos.

La antracnosis es una patología causada por el hongo *Colletotrichum* sp., mientras que la denominada “mancha dorada” se origina por la interacción de los hongos *Alternaria* sp. y *Capnodium* sp., presentándose con mayor frecuencia en plantas de tuna que superan los cinco años de edad. Estas enfermedades pueden afectar de manera integral a la planta, comprometiendo órganos como el sistema radicular, el tallo, los cladodios y los frutos. A medida que la severidad de los síntomas aumenta, suele evidenciarse una reducción tanto en el rendimiento como en la calidad de la producción frutal (Espinoza et al., 2023).

La mancha dorada producida por *Alternaria* spp. se manifiesta inicialmente en las areolas, donde se observa manchas amarillas irregulares en los cladodios reduciendo el área fotosintética de la planta. Esta alteración compromete la integridad del cladodio y puede influir negativamente en el desarrollo y productividad de la planta (Montiel et al., 2021).

La presente investigación, tiene como objetivo caracterizar morfológica y molecularmente al agente causal de la mancha dorada en tuna, porque no hay trabajos de investigación sobre esta enfermedad.

Objetivo general

Caracterizar morfológica y molecularmente a *Alternaria* spp. como agente causal de la mancha dorada en tuna *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

Objetivos específicos

1. Aislar el agente causal de la mancha dorada en tuna.
2. Caracterizar morfológicamente al agente causal de la mancha dorada en tuna.
3. Caracterizar molecularmente el género y especie del agente causal de la mancha dorada en tuna.
4. Realizar la prueba de patogenicidad.

CAPITULO I

MARCO TEORICO

1.1 Antecedentes

Existe poca información sobre estudio de *Alternaria* spp. en el cultivo de tuna. Montiel et al. (2021) reportan la presencia de síntomas de manchas doradas en la tuna, que baja el rendimiento del cultivo al reducir el área fotosintética.

Según Cumbicus (2022), en la tuna actúan varios hongos patógenos: *Fusarium oxysporum* produce pudrición basal en frutos, *Colletotrichum* sp. es responsable de la *antracnosis* y *Alternaria* sp. genera sarna en las pencas, frenando el crecimiento de brotes y provocando pérdidas de hasta el 44 % en la producción.

Según Acevedo (2018), el cultivo de zanahoria se ve afectado por el hongo fitopatógeno *Alternaria dauci*, el cual provoca la llamada quemadura foliar y lesiones de tono marrón verdoso que suelen aparecer en los bordes de los foliolos. Estos daños disminuyen de forma notable la capacidad fotosintética de la planta, y las pérdidas de producción derivadas de esta dolencia pueden llegar a representar hasta el 90 % del rendimiento total.

Zhu y Xiao (2015) señalan que las principales causas de pudrición en arándanos después de la cosecha son los hongos *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea* y *Colletotrichum acutatum*, los cuales disminuyen la calidad y el tiempo de conservación del fruto.

Según Alvarado y Satín (2017), *Alternaria* sp. y *Capnodium* sp. son los agentes causantes de la enfermedad conocida como “mancha plateada”, que afecta principalmente a plantas mayores de 5 años. Esta patología puede dañar la raíz, tallo, pencas y frutos, reduciendo la producción en función de su gravedad.

2.1 . Cultivo de Tuna

1.2.1. Origen y distribución

Según Ruero (2006), los nopales pertenecen a la familia Cactaceae, aunque su taxonomía es compleja: depende de la variación fenotípica ambiental, la presencia de

poliploides, su reproducción tanto sexual como asexual y la existencia de numerosos híbridos, por lo que diversos autores presentan clasificaciones distintas. Se trata de especies nativas de las regiones tropicales y subtropicales de América, que crecen en condiciones muy variadas — silvestres o cultivadas— en todo el continente; además, se han dispersado y se cultivan actualmente en África, Asia, Europa y Oceanía.

1.2.2. Taxonomía

Tabla 1. 1.

Taxonomía de la tuna

Reino	Plantae
División:	Tracheophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Caryophyllales
Familia:	Cactaceae Juss.
Género:	<i>Opuntia</i>
Especie:	<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.

Fuente: (ITIS, 2023)

1.2.3. Importancia del cultivo de tuna

La *Opuntia ficus-indica* representa un recurso valioso para la economía rural y las regiones áridas, debido a los altos rendimientos que ofrece en la producción de altos y otros usos. Es útil especialmente en extensas áreas donde la precipitación pluvial es insuficiente para el cultivo de especies más exigentes en cuanto a agua y calidad del suelo. Esta planta destaca por su notable capacidad de adaptación y crecimiento en entornos donde confluyen múltiples factores limitantes que resultan adversos para la mayoría de las especies vegetales (MIDAGRI, 2009).

Dubeux et al. (2018) indican que además de su tolerancia a la sequía, la tuna brinda beneficios ecológicos adicionales, como la disminución de la erosión del suelo y la absorción parcial del aumento de CO₂ y su uso forrajero puede contribuir a reducir la presión sobre pastizales naturales.

Descripción botánica

a) Tallo

(Castro, 2009) explica que, a diferencia de otras cactáceas, estas plantas cuentan con un tronco y ramas aplanadas formadas por pencas o cladodios de aspecto ovoide y plano, conectados entre sí. En condiciones favorables pueden alcanzar hasta 5 m de altura y 4 m de diámetro, aunque las variedades más frecuentes en Perú solo llegan a unos 1,5 m. Su recubrimiento consiste en una cutícula verde y gruesa, que además de proteger el tejido, realiza la fotosíntesis y almacena reservas hídricas.

b) Hojas

Espinoza et al. (2023) señalan que las hojas de la tuna son caducas y solo aparecen en los brotes nuevos, durante la formación de las pencas. En su base se ubican las areolas, estructuras de donde surgen espinas de 4 a 5 mm de largo. Una vez que la penca termina de crecer, las hojas se desprenden y son sustituidas por las propias pencas como órgano funcional.

c) Frutos

El fruto de la tuna es una baya carnosa, de forma ovoide o esférica, con dimensiones que van de 5,5 a 7 cm de diámetro, 5 a 11 cm de largo y un peso de 43 a 220 g en estado maduro. Posee una cáscara gruesa cubierta de espinas finas de 2 a 3 mm, pasa de color verde a tonos más intensos al madurar, y contiene una pulpa gelatinosa, dulce y llena de semillas (Espinoza et al. , 2023).

d) Flores

Las flores de la tuna nacen de forma aislada en la parte alta de las pencas, alcanzando de 6 a 7 cm de largo. Cada areola suele generar una flor, pero la floración no es simultánea: puede ocurrir desde el primer año hasta el tercero tras el desarrollo de la penca. Se abren entre 35 y 45 días después de brotar y presentan pétalos de tonos amarillos, naranjas, rojos o rosados (Espinoza et al. , 2023).

e) Frutos

Según MIDAGRI (2009), el fruto de la tuna es una baya con múltiples semillas, de forma ovoide o redondeada. Empieza siendo verde y cambia de tono al madurar; tiene sabor dulce, pulpa blanda con muchas semillas y espinas finas de 2 a 3 mm, con tamaño y color variables según la variedad.

1.1.4. Requerimiento edafoclimáticos

Villagómez (2000) indica que la tuna se desarrolla de manera óptima en los valles interandinos, a altitudes que oscilan entre 1.200 y 2.800 metros. Su cultivo se realiza tanto en

la costa como en la sierra, predominando el riego en la costa, mientras que en la sierra la mayor parte se encuentra en condiciones de seco.

1.1.5. Cosecha

La calidad es un aspecto clave en la producción frutícola, puesto que los compradores buscan ejemplares con buena apariencia, sabor agradable y un valor nutricional elevado. Por lo general, estas características se encuentran en su mejor nivel justo en el momento de la recolección; sin embargo, se van deteriorando por causas como el tipo de variedad, los cuidados antes de la cosecha, el clima y el entorno de cultivo, el estado de madurez al cortar el fruto, las técnicas de recolección, el manejo posterior, así como los procedimientos de conservación y las condiciones durante su almacenamiento y traslado (Inglese et al., 2018)

Crisosto & Valero (2008) indican que, conforme maduran los frutos, mejoran su sabor y contenido de nutrientes, pero pierden resistencia ante microorganismos causantes de enfermedades, así como ante trastornos internos y reducen su vida comercial. Por ello, para la tuna y otras frutas, lo ideal es cosecharlas en su punto óptimo de consumo si se destinarán a mercados cercanos. Si el objetivo es enviarlas a zonas alejadas, resulta preferible recolectarlas con antelación, ya que esto ayuda a prolongar su conservación postcosecha.

Inglese et al. (2018) señalan que, para determinar el punto óptimo de recolección de la tuna, se han elaborado índices de madurez de dos tipos: aquellos que se cuantifican y los que se evalúan mediante observación. Su aplicación depende de elementos como la variedad, la región productora, el mercado al que se dirige la fruta y su finalidad de uso.

1.1.6. Composición química y nutricional

Diversas partes de la planta poseen un alto valor nutricional y están cargadas de compuestos con valor agregado. Los cladodios destacan por su considerable contenido de fibra dietética y compuestos bioactivos, como kaempferol, quercetina e isorhamnetina. Los frutos se distinguen por ser una fuente abundante de ácidos fenólicos y vitamina C, mientras que las semillas contienen ácidos grasos insaturados y vitamina E. Además, las flores son ricas en compuestos fenólicos y distintas fracciones de la planta se encuentran aplicaciones en la industria alimentaria (Rodrigues et al., 2023).

Barba et al. (2020) mencionan que en la pulpa, cáscara y las semillas del fruto, como en los cladodios, contiene antioxidantes y que la harina de los cladodios aporta fibra, minerales y polifenoles.

Tabla 1. 2.

Composición química y nutricional de la tuna

Componente	Contenido	Unidades	Nivel Bajo	Nivel Medio	Nivel Alto
Vitamina A	20 – 40	ug/100g	Blanco	Rojo	Naranja
Carbohidratos	9 – 13	%	Blanco	Naranja	Rojo
Proteína	0.5 – 1.0	%	Naranja	Rojo	Blanco
Grasa	0.1 – 0.3	%	Blanco	Rojo	Naranja
Fibra	1.0 – 2.5	%	Naranja	Blanco	Rojo
Calcio	20 – 90	mg/100g	Blanco	Rojo	Naranja
Fosforo	7 – 25	mg/100g	Blanco	Naranja	Rojo
Valor Energético	30 – 50	kcal/100g	Blanco	Naranja	Rojo
Humedad	83 – 90	%	Rojo	Naranja	Blanco
°Brix	10 – 15	°Brix	Rojo	Blanco	Naranja
Cenizas	0.3 – 0.5	%	Blanco	Naranja	Rojo
Vitamina C	10 – 30	mg/100g	Rojo	Blanco	Naranja

Fuente: (Condori, 2021)

1.1.7. Usos y conservación

Valor nutritivo

Morales et al. (2015) indican que las semillas de tuna son ricas en fibra, fenoles, flavonoides, ácidos grasos esenciales y tocoferoles —especialmente el γ -tocoferol—, lo que explica su elevada actividad antioxidante. A su vez, el fruto completo se caracteriza por su contenido destacado de fibra y vitamina C, además de contar con principios activos que facilitan la elaboración de alimentos funcionales.

Hospedero de la cochinilla

Este insecto representa una fuente de ácido carmínico, un pigmento extraído mayoritariamente de la especie *Dactylopius coccus*, que se utiliza como colorante en la industria alimentaria, cosmética, textil y en muchos otros sectores productivos (Inglese et al., 2018).

Moselhy et al. (2011) indican que hoy en día se investiga su capacidad antioxidante y antimicrobiana, buscando nuevas aplicaciones en inmunología, el tratamiento de aguas contaminadas y la elaboración de paneles solares.

Mejoramiento de pastizales

Houérou (2002), afirma que el cultivo de nopal es viable en una amplia variedad de entornos, especialmente en aquellos donde las condiciones resultan demasiado restrictivas o desafiantes para los cultivos agrícolas convencionales o cuando se requiere la rehabilitación de la tierra. Se siembra en suelos extremadamente superficiales, pedregosos, empinados o arenosos, así como en climas excesivamente secos que dificultan la práctica de la agricultura tradicional.

Reducción de la erosión del suelo

Vásquez et al. (2011) menciona que para el control de la erosión la tuna es muy efectiva por su rápido crecimiento y la formación de raíces pequeñas que se regeneran anualmente a partir de la raíz principal durante las temporadas de lluvia contribuyen significativamente. En épocas de sequía, estas raíces pequeñas se secan y mueren, incorporando materia orgánica al suelo.

1.3. *Alternaria* sp.

1.3.1. Taxonomía

Según Da Cruz (2018), las especies de *Alternaria* forman parte de la familia Pleosporaceae (orden Pleosporales, clase Dothideomycetes, división Ascomycota). Son microorganismos ubicuos que pueden aparecer e infectar semillas, plantas, suelos e incluso animales.

1.3.2. Importancia

Según Wright et al. (2005), la mancha foliar es una de las afecciones postcosecha de mayor difusión en las áreas productoras del país. Junto a ella se presentan otras dolencias: el tizón de tallos y hojas, provocado por *Pestalotiopsis guepini*, *Glomerella cingulata* y *Phomopsis* sp.; la necrosis de esquejes asociada a *Fusarium* sp.; y el decaimiento de plantas causado por *Phytophthora* sp.

Logrieco et al. (2009) mencionan que especies de *Alternaria* generan alteraciones en numerosos cultivos, incluidos cereales, hortalizas y frutales, sean estos leñosos o herbáceos.

1.3.3. Sintomatología

Nira et al. (2022) indica que la mancha foliar es provocada por *Alternaria* spp. y se manifiesta inicialmente como pequeñas manchas amarillas en las hojas y tallos maduros. Esta enfermedad es considerada una de las más relevantes debido a la gravedad de su impacto ya su amplia distribución.

1.4. Mancha dorada en tuna

Según Montiel et al. (2021), el hongo *Alternaria alternata* provoca la llamada mancha dorada —una necrosis de cladodios—, que se cuenta entre los trastornos más frecuentes de las plantas de *Opuntia*. La sintomatología inicia en las areolas, en las cercanías del punto de ingreso del patógeno, con la aparición de una ligera hinchazón. El tejido evoluciona de su coloración oscura original a un verde claro, para terminar, tornándose dorado.

En lesiones de mayor tamaño, se observa que un extremo del escudo se levanta, mientras que el centro toma un tono café oscuro o muestra una depresión rodeada por un borde carnososo. La enfermedad se identifica fácilmente por las manchas cubiertas de un polvo gris o marrón que, al fusionarse, crean una mancha marrón capaz de cubrir completamente las pencas (Alvarado & Santín, 2017).

Asimismo Montiel et al. (2021) menciona que la infección se inicia en los cladodios como pequeños puntos amarillos o manchas cloróticas, generalmente cerca de las areolas. Posteriormente, las manchas se fusionaron y toman la apariencia de quemaduras, provocando el levantamiento de la cutícula.

Figura 1. 1.

Síntomas de la mancha dorada en tuna



Nota: Síntoma inicial (A) y sintoma avanzado en cladodios tuna (B).

1.5. Identificación morfológica

Macróscopica

Según Rivas (2014), la incubación se lleva a cabo a 25 °C durante 7 días; en este periodo se observan colonias planas y algodonosas, que inicialmente son de tono blanco grisáceo y

luego cambian a café o verde oliva oscuro en su superficie, mientras que su parte inferior presenta tonos café oscuro hasta negro.

Figura 1. 2.

Observación macroscópica al tercer día de incubación

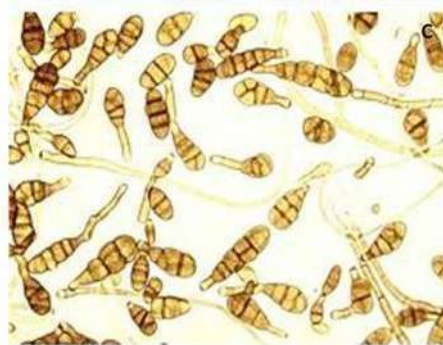


Micróscopica

Los conidióforos tienen un grosor de 3 a 6 μm y un largo promedio de 50 μm . Los conidios son cortos y, en su mayoría, forman cadenas de entre 3 y 5 conidios (Montiel-Salero et al., 2021).

Figura 1. 3.

Cadenas de conidios de Alternaria sp.



Fuente:Montiel et al. (2021).

1.6. Identificación molecular

Freeland et al. (2011) menciona que los marcadores moleculares se basan en el ADN (ácido desoxirribonucleico), una molécula presente en casi todos los organismos vivos del

planeta, que alberga la información genética y presenta una gran variabilidad entre individuos, poblaciones y especies.

Según Mercado (2014), estos marcadores facilitan la identificación de variantes alélicas, que surgen a partir de mutaciones en la información genética de las poblaciones a lo largo del tiempo evolutivo, conocidas también como polimorfismos. Nadeem et al. (2017) indica que los marcadores moleculares son fragmentos de ADN vinculados a una región específica del genoma, que pueden identificarse a través de un ensayo sencillo.

Según Hamouda (2019), indica que los marcadores se fundamentan en variaciones en la secuencia de ADN, lo que los hace independientes de la influencia ambiental. Además, están ampliamente distribuidos a lo largo del genoma y los ensayos pertinentes pueden llevarse a cabo en cualquier etapa del desarrollo de la planta.

1.6.1. Extracción de ADN

La información responsable de las características de los organismos se encuentra almacenada en sus genomas; por ello, es fundamental aislar el ADN para llevar a cabo análisis moleculares. Al realizar la extracción, es necesario considerar el tipo de tejido vegetal y su composición bioquímica, especialmente la presencia de fenoles y carbohidratos. Las plantas contienen ADN en el núcleo, las mitocondrias y los cloroplastos; aunque estos compartimentos presentan composiciones similares, difieren en la información biológica que codifican. Asimismo, uno de los propósitos centrales del proceso es obtener ADN con buena pureza y en cantidades suficientes (Rocha, 2002).

El ADN obtenido debe someterse a una cuantificación adecuada y a una evaluación de su pureza. Para ello existen diversos métodos, entre los cuales destaca el uso del espectrofotómetro, un equipo que mide la radiación absorbida por las bases nitrogenadas cuando son expuestas a luz con una longitud de onda de 260 nm (Rocha, 2002).

1.6.2. Electroforesis

Es un método que permite separar biomoléculas en función de su tamaño o peso molecular. Esta separación ocurre gracias a la acción de un campo eléctrico que impulsa su movimiento a través de una matriz porosa (Montalvo & Lugo, 2019).

El propósito de esta técnica es verificar la integridad del ADN extraído utilizando geles de agarosa de distintas concentraciones; también se puede emplear poliacrilamida. La

metodología se basa en la migración del ADN a través del gel, y una vez finalizado el proceso, la presencia de bandas estrechas cerca de los pocillos indica que el ADN es de buena calidad. Por el contrario, si las bandas aparecen muy anchas, esto señala que el ADN está fragmentado, lo que complica su posterior amplificación mediante PCR (Mosquera, 2005).

1.6.3. Reacción de la cadena de la Polimerasa (PCR)

Según Pérez (2011), la reacción de PCR requiere cebadores: fragmentos cortos de ADN monocatenario complementarios a los extremos de la secuencia objetivo. Estos permiten que la enzima ADN polimerasa añada los nucleótidos necesarios para copiar la cadena molde. Al concluir el proceso, el material genético amplificado se puede observar mediante técnicas de separación de fragmentos de ADN.

Desnaturalización

Tamay y colaboradores (2013) explican que en la etapa de desnaturalización el ADN se calienta a 95 °C durante 20 a 30 segundos para separar sus cadenas. La duración depende de la composición genética: una mayor cantidad de pares G-C requiere más tiempo, al tener tres enlaces de hidrógeno frente a los dos de los pares A-T. También influye la velocidad de calentamiento del termociclador. Al terminar, se obtienen cadenas independientes que funcionan como molde para la siguiente fase.

Hibridación

En esta etapa, los cebadores se unen al extremo 3' de cada cadena molde, estableciendo enlaces con su secuencia complementaria. Para lograr una unión eficaz, se requiere una temperatura óptima de hibridación —llamada temperatura de fusión (T_m)— que suele oscilar entre 50 °C y 60 °C. Un diseño adecuado de los cebadores y una temperatura correcta aseguran la estabilidad y especificidad del complejo formado (Tamay et al., 2013).

Extensión

En esta etapa, la enzima Taq polimerasa actúa sobre la estructura formada por la cadena molde y los cebadores, añadiendo de forma sucesiva los desoxinucleótidos trifosfato complementarios para formar nuevas hebras de ADN, siguiendo la orientación 5' hacia 3'. La temperatura más adecuada para este proceso es de 72 °C, ya que en ese rango la proteína

conserva su mayor eficiencia catalítica. Una vez concluido el ciclo, se obtienen los fragmentos amplificados, cuya longitud se expresa en pares de bases (pb) y debe ser un dato previamente definido por quien realiza el estudio (Tamay de Dios et al., 2013).

1.6.4. Primers o cebadores

Montiel et al. (2021) menciona es una secuencia breve de nucleótidos que es complementaria a una de las hebras del ADN molde, a partir de la cual la ADN polimerasa añadirá nuevos desoxirribonucleótidos para formar una nueva cadena de ADN.

Gutiérrez et al. (2009) indica que un cebador es una secuencia corta que actúa como punto de partida para la síntesis de ADN. Puede existir un par de cebadores (directo e inverso) cuya secuencia sea complementaria al ADN molde, estableciendo así el inicio del proceso de síntesis.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación

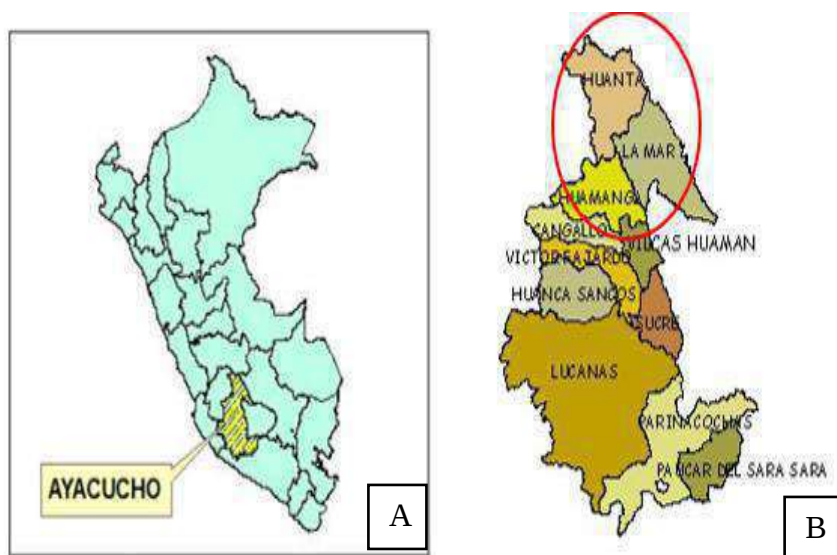
El presente trabajo de investigación se realizó en dos fases, la primera fase en el campo y la segunda fase en el laboratorio.

2.1.1. Fase de campo

Las 50 cepas aisladas se recolectaron de tres lugares: Del germoplasma de tuna del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), a una altitud de 2750 msnsn, con coordenadas UTM 586500 m Este y 854740 m Norte, de la comunidad de Quinrapa ubicado en la provincia de Huanta, a una altitud de 2735 msnsn, con coordenadas UTM 580499 m Este y 8570698 m Norte y en la comunidad de San Miguel, a una altitud de 2661 msnsn, con coordenadas UTM 610683 m Este y 8561203m Norte, en la provincia de La Mar.

Figura 2. 1.

Mapa del distrito de Huamanga, Huanta y San Miguel



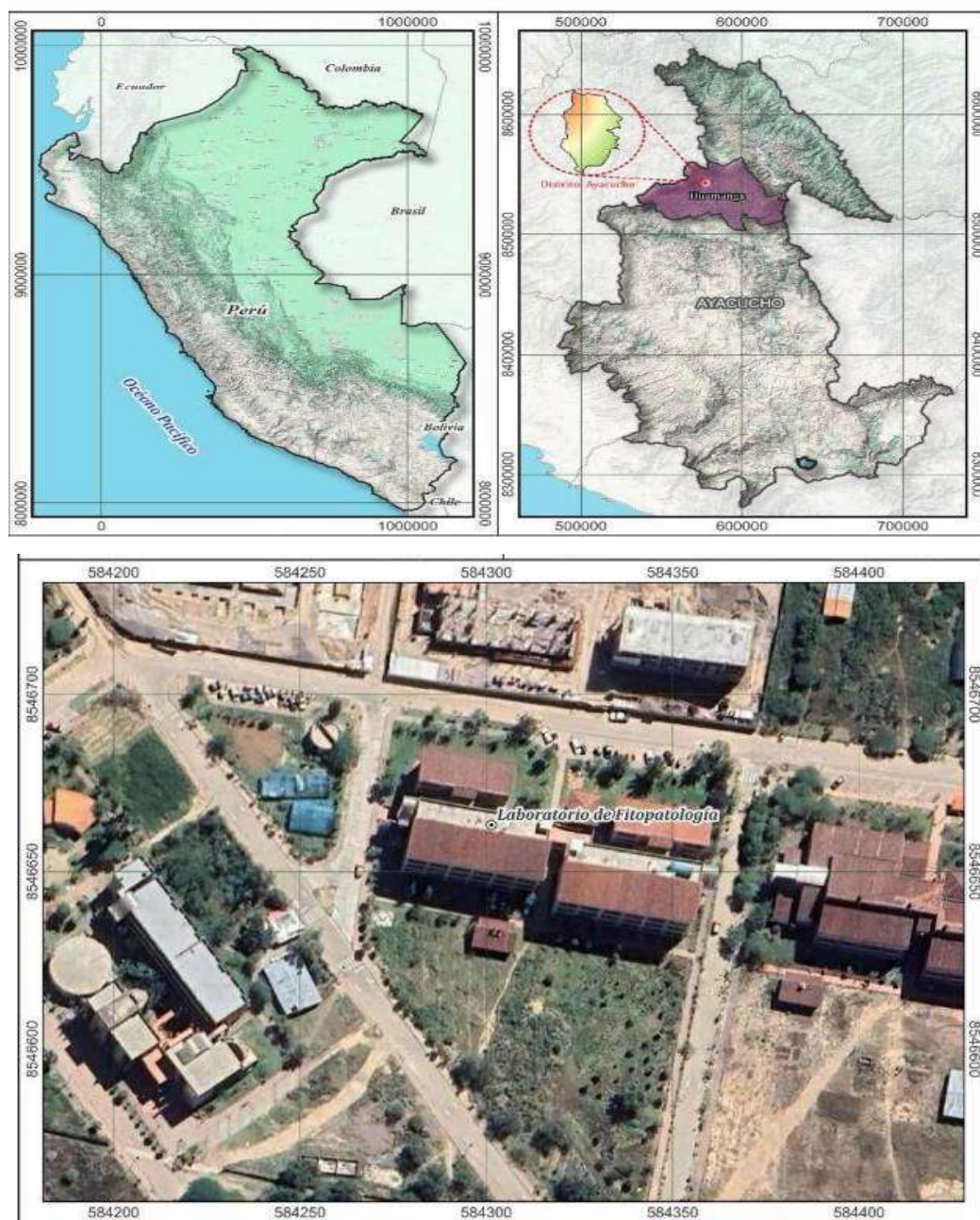
Nota: A: Mapa del Perú, B: Distritos del departamento de Ayacucho.

2.1.2. Fase de laboratorio

Se realizó en el laboratorio de Fitopatología Agrícola de la Escuela Profesional de Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias- UNSCH, ubicado a una altitud de 2790 msnm., con coordenadas UTM 584296.85 m E y 8546654.85 m S, del distrito de Ayacucho, provincia Huamanga y la prueba molecular en el laboratorio de la empresa Umbrella Genomics Company, ubicada en el distrito Lince, Lima, Perú.

Figura 2. 2.

Mapa de la ubicación del laboratorio de Fitopatología



Laboratorio de Fitopatología

Ubicación política

Región: Ayacucho

Provincia: Huamanga

Distrito: Ayacucho

Laboratorio de Fitopatología

Coordenadas geográficas

Latitud: 13° 08' 43"

Longitud: 74° 13' 20"

Altitud: 2788 msnm

Laboratorio de Umbrella

Ubicación política

Región: Lima

Provincia: Lima

Distrito: San Miguel

Coordenadas geográficas

Latitud: 12° 04' 55"

Longitud: 77° 02' 11"

Altitud: 161 msnm

2.2. Materiales y equipos

2.2.1. Material biológico

- 15 cladodios de INIA
- 20 cladodios de Huanta
- 15 cladodios de San Miguel

2.2.2. Materiales de campo

- Bolsas de papel
- Bolsas plásticas
- Cuchillo
- Guantes

- Cámara fotográfica con GPS
- Cuaderno de campo

2.2.3. Materiales de laboratorio

- | | |
|-----------------------------------|---------------------------|
| • Placa Petri | • Estilete |
| • Medios de cultivo PDA | • Pinzas |
| • Mechero de alcohol | • Microscopio |
| • Alcohol de 96°C y 70°C | • Plumón indeleble |
| • Tubos de 1.5 a 2 ml (Eppendorf) | • Botellas de vidrio |
| • Micropipetas Eppendorf | • Centrifugador |
| • Espectrofotómetro | • Lactofenol sin color |
| • Mini vórtex | • Tetraciclina |
| • Tapers | • Cinta Parafilm |
| • Cubre objetos | • Porta objeto |
| • Vaso precipitado | • Puntas para micropipeta |
| • Papel toalla | • Sacabocados |

2.2.4. Equipos

- | | |
|---------------------------|----------------------------|
| • Estufa | • Conservadora |
| • Autoclave | • Microscopio con pantalla |
| • Cámara de flujo laminar | • Estereoscopio |
| • Refrigerador | • Balanza de precisión |
| • Cocina eléctrica | • Horno microondas |

2.3. Colección de muestras

2.3.1. Colección de cladodios con síntomas

La colección de muestras se realizó en tres lugares: Huanta, San Miguel y en el germoplasma de tuna del INIA, se recolectaron 50 cladodios en total. Se desinfectó el cuchillo con alcohol de 70° y se cortó las pencas que presentaban síntomas de la enfermedad de la mancha dorada, después se envolvió con papel periódico y se introdujo en bolsas de plástico sin sellar. Luego se llevó al laboratorio de Fitopatología.

Figura 2. 3.

Colección de muestras con síntomas característicos la mancha dorada.



Nota. Síntomas de la mancha dorada en cladodios de tuna muestreadas en el campo.

2.4. Aislamiento

2.4.1. Aislamiento de *Alternaria* spp.

El aislamiento de *Alternaria* spp. se llevó a cabo siguiendo la secuencia de pasos que se describe a continuación.

- **Preparación de la cámara húmeda:** Se lavó los cladodios con agua a chorro continuo y después con agua destilada y se secó con papel toalla, luego se desinfectaron con alcohol de 70°, posteriormente se puso en la base de un taper de plástico con tapa un papel toalla húmedo, para favorecer al desarrollo del patógeno, encima del papel toalla se colocó dos placas Petri que servirán de apoyo, para colocar el cladodio, para evitar la pudrición del cladodio, finalmente se cerró la tapa y se incubó a temperatura ambiente, posteriormente se evaluó la presencia de síntomas y signos del patógeno en el cladodio.

- **Siembra:** Se realizó el aislamiento cuando se obtuvo los signos del patógeno en la cámara húmeda, se extrajo el micelio de las areolas del cladodio, el micelio se extrajo con mucho cuidado en dos puntos a los extremos de la placa Petri, con medio de cultivo, este procedimiento es importante porque se le da condiciones para que el patógeno se desarrolle. Finalmente, se rotularon las placas con un plumón indeleble donde se anotó la fecha, el nombre del patógeno y lugar de procedencia, se colocaron en bolsa de polipropileno y se incubaron en la estufa a 25 °C, durante 5 días.
- **Purificación:** Después de los 5 días de incubación, se observó el crecimiento micelial del patógeno, con un sacabocado se sacó un disco 5mm de diámetro y colocó en el centro de la placa Petri con medio PDA, luego se rotularon, cubiertas con papel y bolsa de polipropileno y luego se incubaron en la estufa a 25 °C, donde estuvo 10 días.
- **Reconocimiento del patógeno:** Una vez obtenidas las cepas puras, se procedió a su caracterización mediante observación microscópica a 40x para la clasificación a nivel de género se usó las claves descritas por Barnett & Hunter (1972) y por Ellis (1971), se evaluó el color, textura, forma de la colonia, ratio de crecimiento de la colonia. Para la identificación a nivel de especie se aplicaron la clave taxonómica de Simmons (2007).

2.5. Conservación

Tras confirmar que las cepas aisladas correspondían al género *Alternaria*, se procedió a su conservación. Para ello, de las placas purificadas se obtuvieron discos de medio de cultivo con micelio de aproximadamente 5 mm de diámetro utilizando un sacabocados estéril. Posteriormente, estos discos se depositaron en tubos con medio de cultivo PDA esterilizado, aplicando la técnica de tubo inclinado.

Seguidamente, se sellaron los tubos con cinta Parafilm para impedir la entrada de agentes contaminantes y evitar que el medio de cultivo se secase. Luego se introdujeron en una estufa de incubación, manteniendo una temperatura regulada de 25 ± 2 °C durante dos o tres días, condición que favoreció el inicio del desarrollo de los microorganismos. Transcurrido ese tiempo, las muestras se conservaron a una temperatura de 5 ± 1 °C.

Esta forma de almacenamiento aseguró que las cepas se mantuvieran vivas por periodos prolongados y permitió contar con una colección bien conservada para realizar la caracterización morfológica y molecular.

2.6. Activación de las cepas

Con el fin de efectuar la caracterización morfológica, se inició reactivando las cepas de *Alternaria* spp. que se mantenían en conservación. Para ello, se extrajeron fragmentos de micelio desde los tubos de almacenamiento usando material estéril, y se depositaron en el centro de placas de Petri que contenían medio de cultivo PDA. Una vez sembradas, las placas se rotularon para su identificación, se sellaron con cinta Parafilm y se introdujeron en estufa de incubación a una temperatura constante de 25 ± 2 °C, condiciones que permitieron el desarrollo del hongo hasta su evaluación posterior.

2.7. Caracterización morfológica de aislamiento

Con las cepas ya purificadas, se ejecutó el reconocimiento taxonómico mediante observación morfológica a un aumento de 40x para la clasificación a nivel de género se usó las claves descritas por Barnett & Hunter (1972) y por Ellis (1971) para la clasificación a nivel de género y para la identificación a nivel de especie se aplicaron la clave taxonómica de Simmons (2007). Para la caracterización macroscópica se evaluó el color, textura, ratio de crecimiento, forma de la colonia.

Para la caracterización microscópica, se realizó con colonias de 10 a 11 días de incubación, se preparó montajes, para la forma y tamaño de conidios, número de septos trasversales-longitudinales y presencia de hifas septadas, utilizando un microscopio acoplado a una pantalla digital a 40x de aumento.

2.8. Caracterización molecular de aislamiento

Para el análisis molecular se seleccionó un aislamiento por cada grupo. Todo el procedimiento de análisis molecular se llevó a cabo en las instalaciones de Umbrella Genomics Company.

2.8.1. Extracción de ADN

La extracción del material genético se realizó mediante el kit comercial NucleoSpin® Microbial DNA (Macherey-Nagel), respetando estrictamente el protocolo del fabricante. El proceso partió de una cantidad de biomasa fúngica inferior a 40 mg, a la que se añadieron 100 µL de tampón de elución BE. Seguidamente, la muestra se transfirió a tubos con perlas de ruptura tipo B; se agregaron 40 µL de tampón MG y

10 µL de proteinasa K para la digestión de proteínas. Se sometió a agitación mecánica durante 4 a 12 minutos y luego se centrifugó a $11\,000 \times g$ durante 30 segundos.

A continuación, se añadieron 600 µL de buffer MG para favorecer la unión del ADN, se homogenizó y se centrifugó en las mismas condiciones. La mezcla se cargó en la columna de filtración y se centrifugó para que el ADN se fijara a la membrana de sílice. Se realizaron dos etapas de lavado: primero con 500 µL de buffer BW y luego con igual volumen de buffer B5, centrifugando en cada caso. Para eliminar restos de solución, se centrifugó nuevamente la columna. Finalmente, el ADN purificado se recuperó añadiendo 100 µL de buffer BE, dejando reposar un minuto y centrifugando para obtener el eluido final.

2.8.2. Pre PCR

a. Homogenización de la concentración de ADN

Las concentraciones de ADN obtenido se ajustaron hasta alcanzar una concentración de trabajo uniforme. Para ello, se tomó un volumen final de 2 µL de ADN molde y se completó con agua libre de nucleasas (NFW) como solvente.

b. Preparación de la mezcla Master Mix

Se preparó la mezcla de reacción para la amplificación de la región ITS 1-4. La composición detallada de esta mezcla se presenta en la Tabla 2.2.

Tabla 2. 1.

Preparación de mezcla maestra para amplificación

Componente	Volumen por reacción (uL)
AccuStart II PCR Super Mix	12.5
Primer Forward (10 uM)	0.5
Primer Reverse (10 uM)	0.5
ADN plantilla	2
Agua libre de nucleasas	9.5
Total	25

2.8.3. PCR (Reacción en cadena de polimerasa)

La amplificación mediante PCR se realizó utilizando los cebadores ITS1-4, cuyas características y longitud en pares de bases se detallan en la Tabla 2.3. El programa térmico

aplicado constó de 35 ciclos, organizados en tres etapas: desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos, hibridación a 56 °C por 30 segundos y extensión a 70 °C durante 60 segundos. Estos iniciadores fueron seleccionados específicamente para amplificar la región del Espacio Transcrito Interno (ITS) del material genético analizado.

Tabla 2. 2.

Secuencias del cebador ITS en dirección 5'-3'

Región	Nombre del primer	Secuencia (5' a 3')
ITS	ITS 1	CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A
	ITS 4	CAG GAG ACT TGT ACA CGG TCC AG

2.8.4. Electroforesis en gel

Para separar y visualizar los fragmentos de ADN amplificados, se empleó la técnica de electroforesis en gel de agarrosa al 1,5 %, utilizando tampón TAE como solución de corrida.

- Se elaboró el gel con agarrosa al 1,5 % y el reactivo de tinción Segreen.
- En cada pozo se cargaron 5 µL del producto de PCR, junto con 5 µL de marcador molecular de referencia.
- La separación se realizó aplicando una tensión constante de 100 V durante 30 minutos.
- Al finalizar el proceso, los fragmentos se observaron y registraron bajo luz azul en el equipo Gelato.

2.8.5. Secuenciamiento de ADN

El secuenciamiento de ADN se realizó por Psomagen empresa estadounidense de biociencias y secuenciación genómica con sede en New York, EE.UU.

El análisis de secuencias de los aislamientos se realizó según el método de Sanger. Los archivos de salida con extensión. ab1 se evaluaron mediante el software Geneious Prime 2024.0.5., donde se eliminaron las regiones con baja calidad presentes en los extremos de las lecturas. Posteriormente, las secuencias del primer directo y reverso fueron ensambladas y alineadas mediante la herramienta Pairwise Align empleando la configuración predeterminada del programa. La secuencia consenso generada fue exportada en formato FASTA para los análisis posteriores

2.9. Prueba de patogenicidad

Para esta evaluación se emplearon 50 aislamientos previamente caracterizados, los cuales se mantuvieron en medio de cultivo PDA durante 10 días. Por su parte, los cladodios seleccionados se lavaron primero con agua corriente, seguidamente se desinfectaron mediante inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 2 % durante 5 minutos. Finalmente, se enjuagaron con agua estéril y se secaron con papel absorbente también estéril.

La inoculación se ejecutó mediante la técnica de punción en un total de 50 cladodios sanos de tuna. Para ello se empleó un estilete que se desinfectó previamente con alcohol al 70 % y llama del mechero. Posteriormente, se tomó una muestra reducida de micelio proveniente de cultivos puros del patógeno, la cual se introdujo en las punciones realizadas en los cladodios, en las áreas que habían sido marcadas previamente con plumón permanente. Los cladodios ya inoculados se dispusieron en cámaras húmedas y se conservaron a temperatura ambiente hasta que se manifestaron los síntomas y signos propios de la enfermedad.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Aislamiento de las cepas

3.1.1. Aislamiento del agente causal de la mancha dorada

Del total de 50 muestras analizadas que presentaron síntomas característicos de la mancha dorada, se lograron obtener 15 aislamientos del germoplasma del Instituto Nacional de Innovación Agraria (Tabla 3.1), 20 aislamientos de Huanta (Tabla 3.2) y 15 aislamientos de San Miguel (Tabla 3.3), obteniendo un total de 50 aislamientos identificados como el género *Alternaria*. Este hallazgo confirma la presencia de este hongo en los cladodios afectados y demuestra su relación con la aparición de los signos de deterioro observados en las pencas de tuna.

Los resultados obtenidos concuerdan con estudios anteriores que reportan la presencia y amplia distribución de especies del género *Alternaria* en distintos cultivos agrícolas. Montiel et al. (2021) reportó el primer reporte de *Alternaria* en el cultivo de tuna, mientras que Acevedo (2018) identificó 50 cepas de *Alternaria* en el cultivo de zanahoria que presentaron micelios de aspecto algodonoso, pigmentación rojo claro a marrón, conidios ovalados con septos transversales y longitudinales. Asimismo Nira et al. (2022) llegaron a aislar *Alternaria alternata* en brócoli observando manchas marrones circulares con anillos concéntricos rodeadas de halos amarillos. De manera concordante, Gómez et al. (2019) registraron cinco cepas de *Alternaria* spp. colectadas de plantaciones de camote, mango y tomate indicando que las colonias observadas son de textura algodonosa y de coloración verde olivo.

Por su parte, Park (2004) evaluó síntomas típicos de mancha marrón en áreas de cultivo comercial de papa, aislaron un total de 68 muestras identificando así la especie *Alternaria alternata*.

Tabla 3. 1.*Aislamientos obtenidos del germoplasma del Instituto Nacional de Innovación Agraria*

Muestras	Código	Región	Provincia	Distrito
M1	I-M1	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M2	I-M2	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M3	I-M3	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M4	I-M4	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M5	I-M5	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M6	I-M6	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M7	I-M7	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M8	I-M8	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M9	I-M9	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M10	I-M10	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M11	I-M11	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M12	I-M12	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M13	I-M13	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M14	I-M14	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista
M15	I-M15	Ayacucho	Huamanga	San Juan Bautista

Tabla 3. 2.*Aislamientos obtenidos de la comunidad de Quinrapa-Huanta*

Muestras	Código	Departamento	Provincia	Distrito
M1	H-M1	Ayacucho	Huanta	Huanta
M2	H-M2	Ayacucho	Huanta	Huanta

M3	H-M3	Ayacucho	Huanta	Huanta
M4	H-M4	Ayacucho	Huanta	Huanta
M5	H-M5	Ayacucho	Huanta	Huanta
M6	H-M6	Ayacucho	Huanta	Huanta
M7	H-M7	Ayacucho	Huanta	Huanta
M8	H-M8	Ayacucho	Huanta	Huanta
M9	H-M9	Ayacucho	Huanta	Huanta
M10	H-M10	Ayacucho	Huanta	Huanta
M11	H-M11	Ayacucho	Huanta	Huanta
M12	H-M12	Ayacucho	Huanta	Huanta
M13	H-M13	Ayacucho	Huanta	Huanta
M14	H-M14	Ayacucho	Huanta	Huanta
M15	H-M15	Ayacucho	Huanta	Huanta
M16	H-M16	Ayacucho	Huanta	Huanta
M17	H-M17	Ayacucho	Huanta	Huanta
M18	H-M18	Ayacucho	Huanta	Huanta
M19	H-M19	Ayacucho	Huanta	Huanta
M20	H-M20	Ayacucho	Huanta	Huanta

Tabla 3. 3.

Aislamientos obtenidos del distrito de San Miguel

Muestras	Código	Región	Provincia	Distrito
M1	SM-1	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M2	SM-2	Ayacucho	La Mar	San Miguel

M3	SM-3	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M4	SM-4	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M5	SM-5	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M6	SM-6	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M7	SM-7	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M8	SM-8	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M9	SM-9	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M10	SM-10	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M11	SM-11	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M12	SM-12	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M13	SM-13	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M14	SM-14	Ayacucho	La Mar	San Miguel
M15	SM-15	Ayacucho	La Mar	San Miguel

3.2. Caracterización morfológica

3.2.1. Caracterización morfológica de *Alternaria* spp.

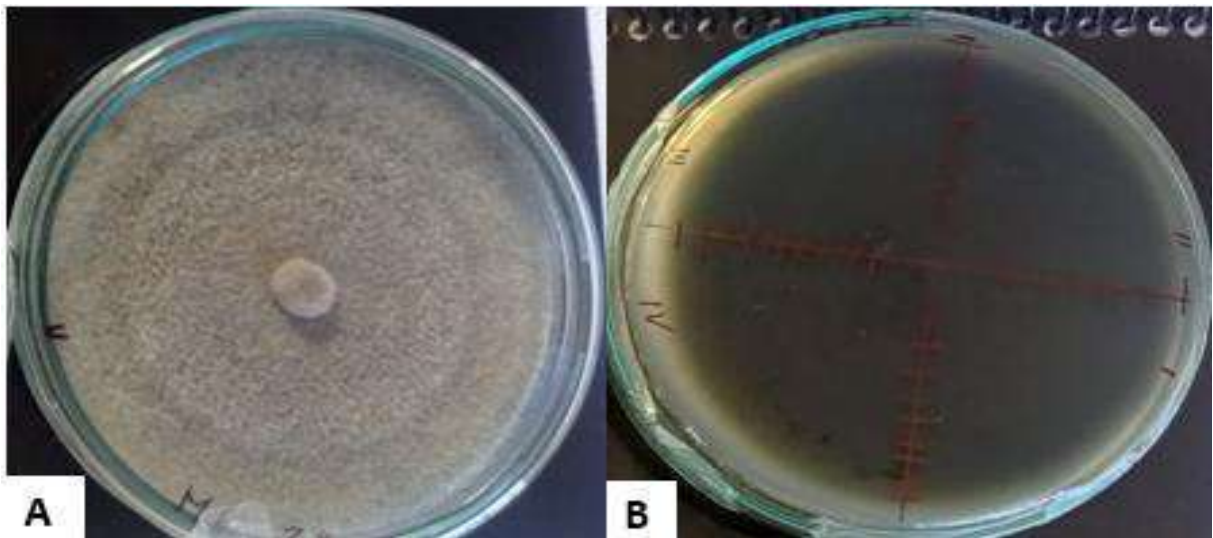
Teniendo en cuenta las características morfológicas se formaron cuatro grupos.

Grupo I

Los aislamientos del grupo I son: I-M4, H-M3, H-M4, H-M6, H-M9, H-M14, H-M19; estos aislamientos presentaron colonias de color gris claro y textura algodonosa como se observa en la figura 3.1. Los resultados obtenidos coinciden con lo descrito por Woudenberg et al. (2015) indica que las colonias de *Alternaria* sp. presentan una coloración gris claro y textura algodonosa. Asimismo, Yessimseitova et al. (2025), quienes señalan que las colonias muestran inicialmente un micelio algodonoso o velloso, claro o grisáceo, que con el tiempo cambia a tonos oscuros a gris-verdoso, oliva, marrón o negro verdoso, conforme se produce la esporulación.

Figura 3. 1.

Caracterización macroscópica del aislamiento H-M6

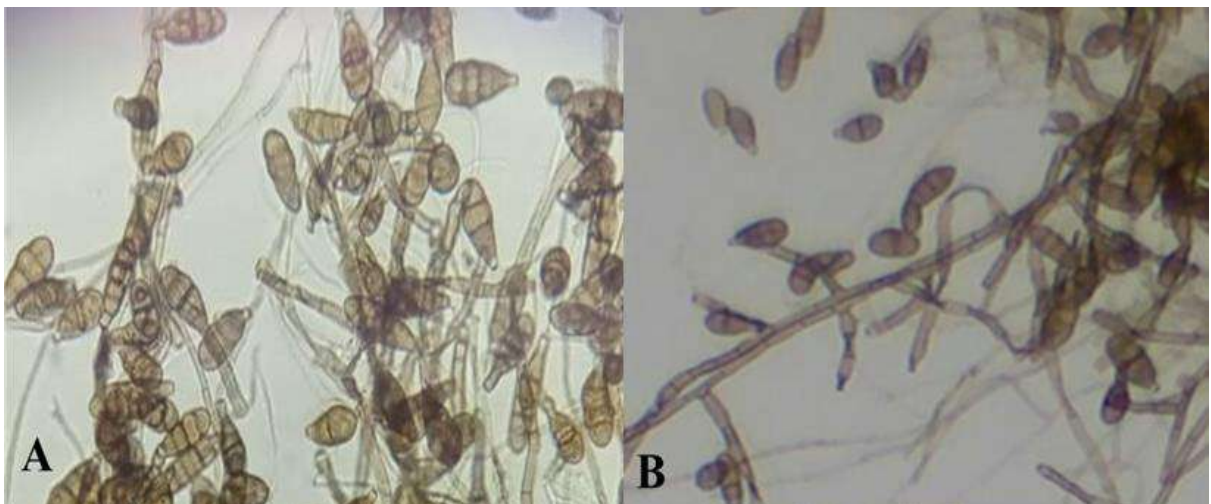


Nota. A. Colonia de color gris claro. B. Reverso color oscuro. Observación de conidias. Observación en microscopio a un aumento de 40X.

Microscópicamente los aislamientos del grupo I tienen conidios en forma obclavada con un tamaño de 22.1-25.35 x 10.20-12.2 μm . (Figura 3.2) con presencia de septos transversales (2-5) y longitudinales (4-5), hifas septadas. Tal como mencionan Chang et al. (2022), Valdés et al. (2014), Saleem et al. (2022), Barnett y Hunter (1972).

Figura 3. 2.

Caracterización microscópica del aislamiento H-M6



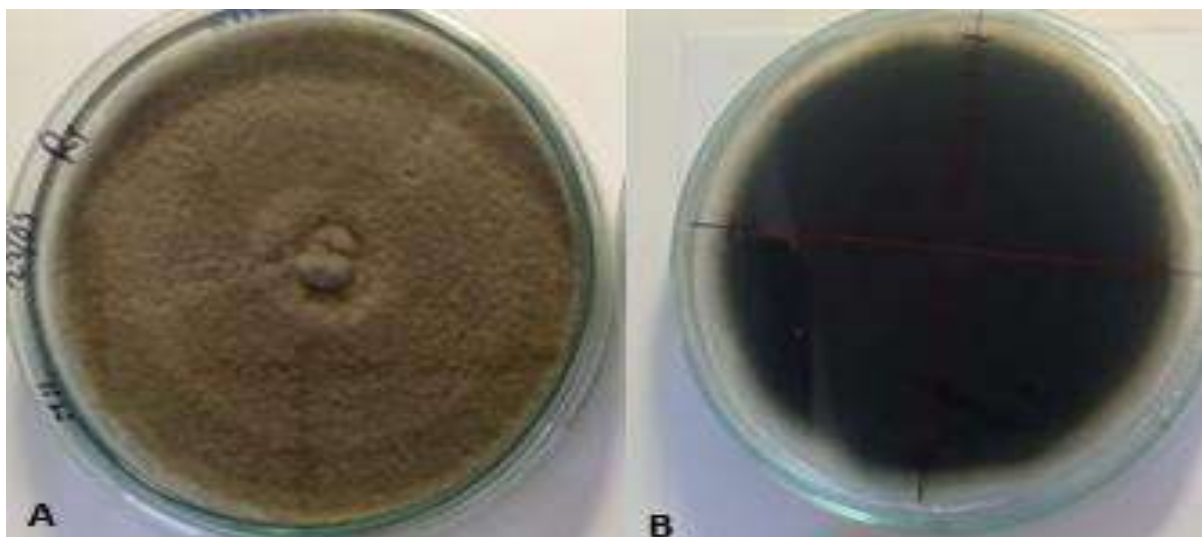
Nota. A. Conidias maduras con septación longitudinales y transversal de *Alternaria* spp. B. Hifas septadas. Observación en microscopio a un aumento de 40X.

Grupo II

Los aislamientos que conforman en el grupo II son: I-M3, I-M7, I-M8, I-M9, I-M11, I-M12, I-M14 I-M15, H-M1, H-M2, H-M5, H-M8, H-M11, H-M12, H-M15, H-M20, SM-1, SM-M3, SM-M5, SM-M6, SM7, SM-12, SM-13, los aislamientos de este grupo presentaron una coloración verde olivo de textura algodonosa (Figura 3.3) . Este resultado es similar a lo reportado Sha et al. (2026) quienes aislaron cepas de *Alternaria* en ciruelos, donde las colonias inicialmente fueron blanco a verde oliva pálido y posteriormente se tornan verde oscuro a marrón. Asimismo Castro (2025) reportó en el cultivo de albahaca colonias con crecimiento circular de color verde olivo a gris y textura algodonosa.

Figura 3. 3.

Caracterización macroscópica del aislamiento I-M11



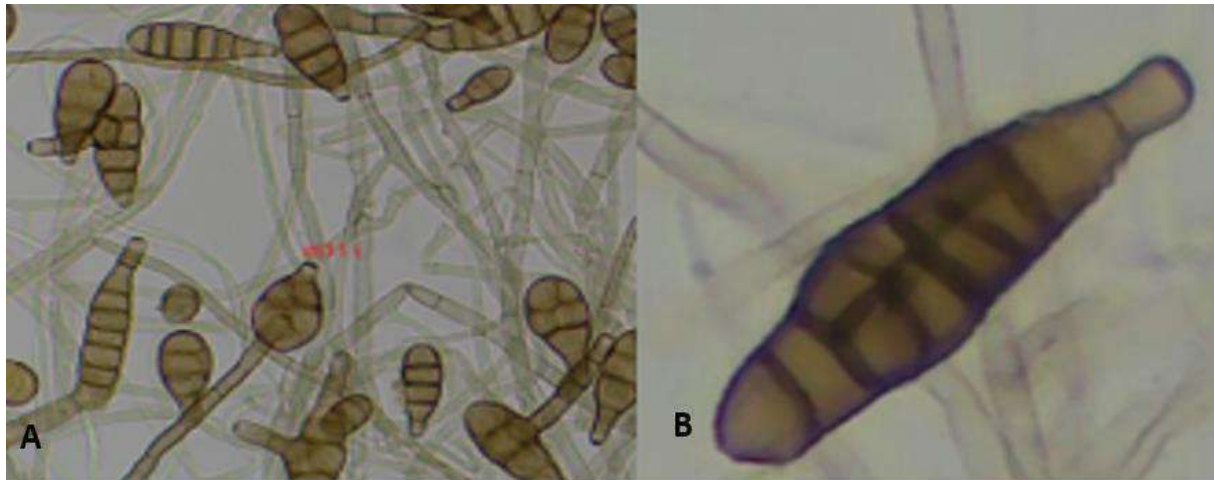
Nota. A. Colonia de color verde olivo. B. Reverso color oscuro. Observación en microscopio a un aumento de 40X.

El tamaño de los conidios fue de 22.3-45.6x 9.5-12.2 μm de color verde olivo, obclavada con septos transversales (3-5) y de septos longitudinales (1-3) (Figura 3.4) tal como lo mencionan Yang et al. (2019), Kaur et al. (2019), Rahimloo & Ghosta (2015).

Asimismo, Peláez et al. (2014) identificaron *Alternaria* en plantas de lirio, cuyas medidas de conidios fueron: 23–36 $\times$ 9–12 μm septos transversales (2–6) y longitudinales (0–2) determinando así la especie *Alternaria alstroemeriae*.

Figura 3. 4.

Caracterización microscópica del aislamiento I-M11



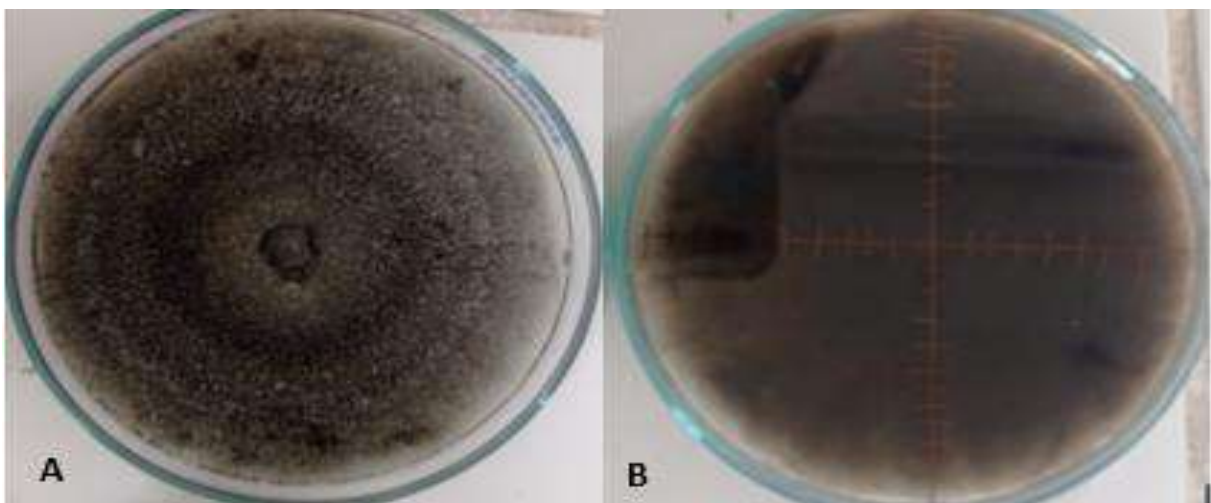
Nota. A. Conidios maduros e hifas septadas. B. Conidio maduro. C-D. Observación de conidias. Observación en microscopio a un aumento de 40X.

Grupo III

Los aislamientos que conforman en el grupo III (I-M1, I-M2, IM5, I-M6, I-M10, I-M13, H-M7, H-M10, H-M13, H-M16, H-M17, H-M18 y SM-M2, SM-M8, SM-M9, SM-M10, SM-M11, SM-M14, SM-M15) presentaron una coloración gris oscuro y textura algodonosa (Figura 3.5). Fabrega et al. (2012) menciona que las colonias de *Alternaria* presentaban una coloración gris o de color humo a menudo cubiertas ligeramente por hifas aéreas coloreadas.

Figura 3. 5.

Caracterización macroscópica del aislamiento H-M13

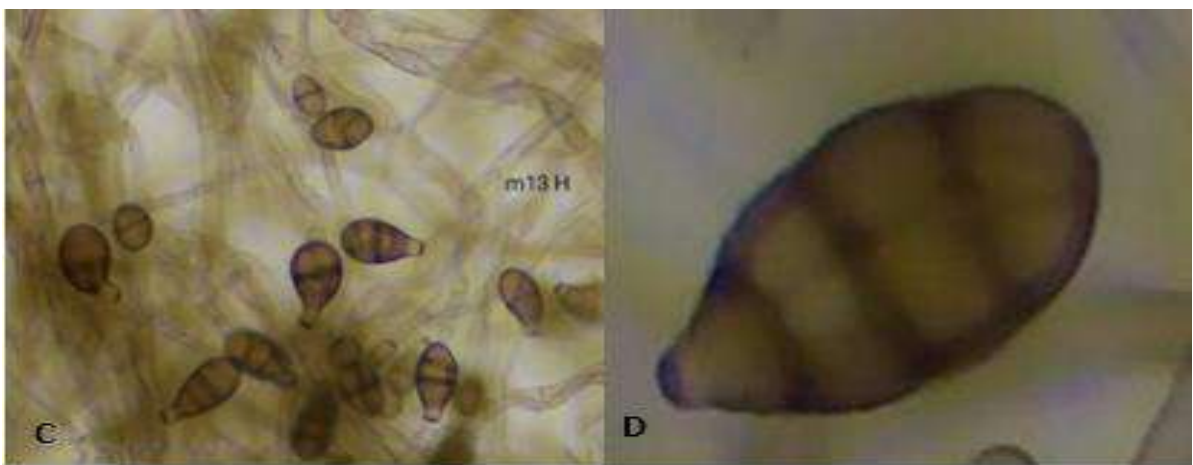


Nota. A. Colonia de color gris oscuro. Reverso color oscuro. Observación en microscopio a un aumento de 40X.

Microscópicamente los conidios con medidas de 18.2-22.4x 8.74-10.2 um de color gris oscuro, ovoide con septos transversales (2-4) y septos longitudinales (2-5)(Figura 3.6) tal como lo mencionan Condori (2021), Montiel-Salero et al. (2021). Además, Li et al. (2023) menciona que la morfología microscópica de *Alternaria* tiene hifas septadas oscuras y conidios multicelulares, con septaciones transversales y longitudinales, de color marrón claro a oscuro.

Figura 3. 6.

Caracterización microscópica del aislamiento H-M13



Nota. A-B: Colonia de color gris oscuro. C-D: Observación de conidias. Observación en microscopio a un aumento de 40X.

Grupo IV

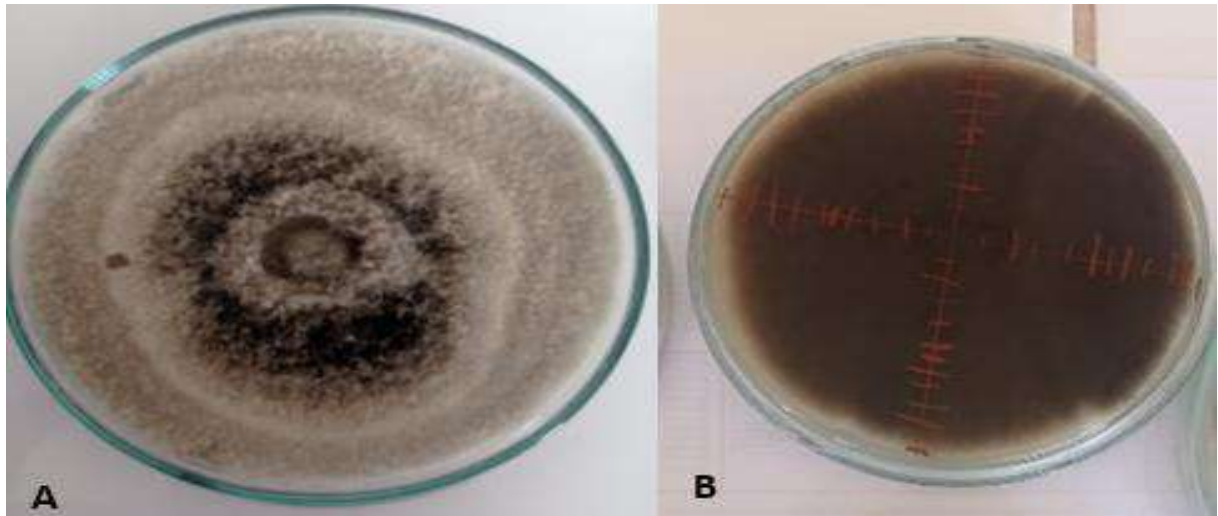
El grupo IV conformado por un aislamiento SM-M4 macroscópicamente, mostró una coloración inicial crema, que posteriormente desarrolló tonalidades verde olivo en la superficie debido a la producción de estructuras reproductivas y pigmentación del micelio. La textura fue algodonosa a aterciopelada, con micelio aéreo moderado y bordes regulares. El reverso de la colonia presentó pigmentación marrón claro (Figura 3.7).

“Las colonias de *Alternaria sp.* presentaron crecimiento circular con tonalidades crema y verde olivo, textura aterciopelada a algodonosa y bordes regulares, características similares a las descritas por Simmons (2007) y Andersen et al. (2001).”

Asimismo, Fonseca et al. (2023) caracterizaron aislamientos de *Alternaria* indicando textura algodonosa y crecimiento micelial oscuro con pigmentación olivácea típica del género.

Figura 3. 7.

Caracterización macroscópica del aislamiento SM-M4

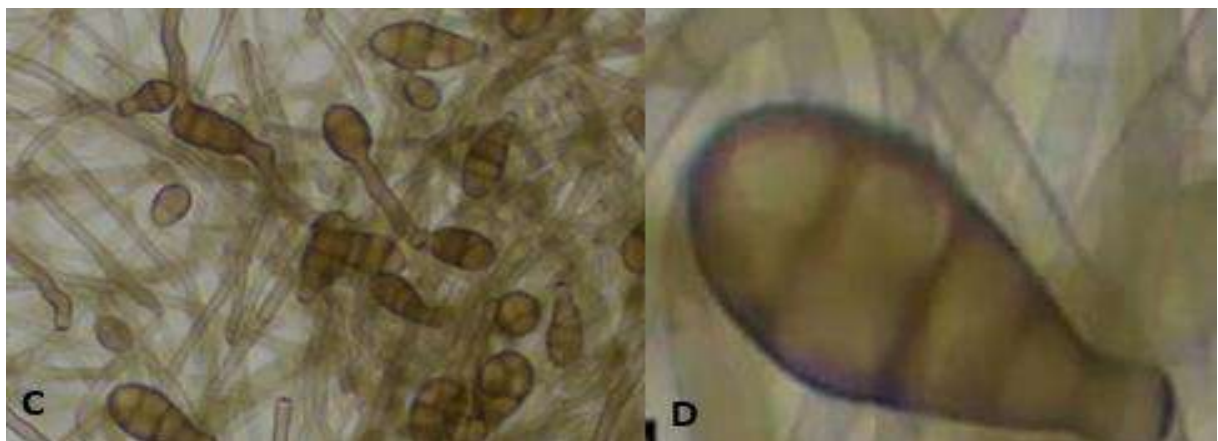


Nota. A. Colonia de color crema con verde olivo. B. Reverso color marrón claro. Observación en microscopio a un aumento de 40X.

Microscópicamente, los conidios fueron de forma ovoide de medida 30.4-37.1x 9.74-12.4 μm , con coloración crema olivácea, multicelulares y con septos transversales (2-4) y longitudinales (2-3) (Figura 3.8). Las características microscópicas observadas coincidieron con las descripciones realizadas por Simmons (2007), Zhang et al. (2025), Barnett y Hunter (1972), Sha et al. (2026) quienes reportan conidios muriformes, pigmentados y con septaciones longitudinales y transversales en *Alternaria*.

Figura 3. 8.

Caracterización microscópica del aislamiento SM-M4



Nota. C: Conidias maduras e inmaduras. D. Conidia madura. Observación en microscopio a un aumento de 40X.

Figura 3. 9.

Cepas asiladas de *Alternaria* spp. en cultivo de tuna.



Nota: I: Inia, H: Huanta, SM: San Miguel

Tabla 3. 4.*Características morfológicas de las 50 cepas de Alternaria spp.*

Codificación	Forma	Conidios Color	N° de septos Transv.	N° de septos Long.	Micelio	Textura	Color	Forma	TC
I-M1	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.42
I-M2	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.55
I-M3	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.64
I-M4	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	C.L	2.57
I-M5	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.71
I-M6	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.35
I-M7	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.37
I-M8	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.54
I-M9	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.36
I-M10	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.36
I-M11	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.39
I-M12	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.36
I-M13	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.56
I-M14	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.48
I-M15	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.39
H-M1	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde oscuro	R	2.49
H-M2	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.52
H-M3	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.24
H-M4	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.74
H-M5	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.67
H-M6	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.63
H-M7	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.65
H-M8	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.40
H-M9	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.37

H-M10	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.26
H-M11	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde oscuro	R	2.60
H-M12	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.47
H-M13	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.58
H-M14	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.42
H-M15	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.71
H-M16	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.60
H-M17	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.70
H-M18	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.65
H-M19	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.42
H-M20	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.60
SM-M1	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.47
SM-M2	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Lanoso	Gris oscuro	R	2.83
SM-M3	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.75
SM-M4	Ovoide	Crema y verde	2-4	2-3	Septado	Algodonoso	Crema y verde	R	2.88
SM-M5	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.73
SM-M6	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde oscuro	R	2.69
SM-M7	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde oscuro	R	2.76
SM-M8	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.83
SM-M9	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.66
SM-M10	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.88
SM-M11	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.52
SM-M12	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.76
SM-M13	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.61
SM-M14	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.74
SM-M15	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.69

Nota: C.L: Circular ligeramente elevada, R: regular, L: lano

3.3. Identificación molecular de las cepas aisladas

3.2.1. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La Figura 3.10 presenta los resultados de la amplificación por PCR utilizando los cebadores ITS1/ITS4. En ella se observan fragmentos de ADN con tamaños aproximados de 600 y 700 pares de bases, obtenidos a partir del material genético extraído del micelio de los hongos analizados. Por su parte, en la Figura 3.9 se confirma que todas las muestras evaluadas con estos mismos iniciadores generan bandas de amplificación dentro de dicho rango de tamaño.

Figura 3. 10.

Productos de PCR amplificados para región ITS



Saleem et al. (2022) utilizaron los primers universales ITS1 e ITS4 para amplificar la región ITS de varias especies de *Alternaria* aisladas de frutos de tomate. Los tamaños de los fragmentos obtenidos fueron de 547 pb para *A. alternata*, 547 pb para *A. brassicicola*, 542 pb para *A. citri*, 554 pb para *A. radicina* y 547 pb para *A.*

Johnson et al. (2000) describieron el desarrollo de un método de PCR para la detección rápida de *Alternaria mali* en manzanas. En la sección de resultados, mencionan que el fragmento de ADN amplificado por PCR tenía un tamaño de 620 pb, lo cual fue confirmado mediante electroforesis en gel de agarosa.

Tabla 3. 5.

Identificación a nivel especie de Alternaria spp.

Nombre científico	Total Score	%Identidad	Código	Grupo
<i>Alternaria alstroemeriae</i>	804	100.00%	I-M11	II
<i>Alternaria destruens</i>	763	99.50%	H-M13	III
<i>Alternaria doliconidium</i>	976	99.81 %	SM-M4	IV

Mediante la caracterización molecular, se logró identificar tres especies de *Alternaria* (Tabla 3.5). La muestra I-M11 (grupo II) fue determinada como *Alternaria alstroemeriae*, mostrando un 100% de similitud con secuencias de referencia. La muestra H-M13 (grupo III) se identificó como *Alternaria destruens*, con un 99,5% de coincidencia. Por su parte, La muestra SM-M4 correspondió a *Alternaria doliconidium* (grupo IV) con un 99.8 % de similitud, con las secuencias disponibles en bases de datos genéticas.

3.3. Prueba de patogenicidad

Diez días después de la inoculación con *Alternaria spp.* en cladodios de tuna, inoculados con los 50 aislamientos de *Alternaria spp.* se observaron los primeros síntomas en todas las muestras evaluadas, los cuales se manifestaron como clorosis alrededor del punto de inoculación (Figura 3.11) las lesiones presentaron un contorno irregular, aumentando progresivamente de tamaño con el transcurso del tiempo, luego se observaron las manchas cloróticas en el cladodio (Figura 3.12).

Posteriormente, los cladodios mostraron una intensificación del daño, evidenciándose pérdida de la coloración verde natural del tejido epidérmico y el crecimiento de la mancha clorótica irregular. Los síntomas observados en los 50 cladodios inoculados reprodujeron de manera consistente aquellos registrados en las muestras colectadas en campo, confirmando el carácter patogénico de *Alternaria spp.* sobre *Opuntia ficus-indica*. Determinó una incidencia del 100% (Tabla 3.6).

Estos resultados coinciden con lo reportado por Vázquez (2017), Orólaza et al. (2022) y Rodríguez et al. (2019), quienes mencionan que *Alternaria* produce lesiones necróticas y clorosis en diferentes hospedantes, especialmente en cultivos de solanáceas.

Figura 3. 11.

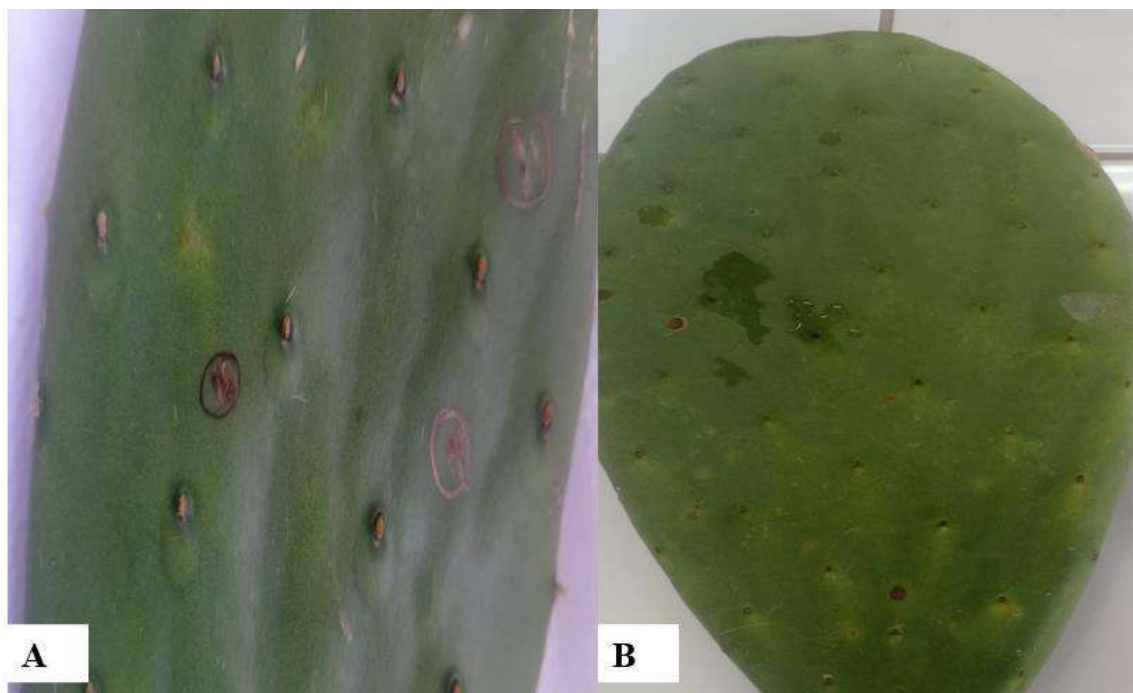
Prueba de patogenicidad en cladodios de tuna



Nota. (*). Prueba de patogenicidad en cladodios de tuna que muestran manchas cloróticas a los diez días después de la inoculación.

Figura 3. 12.

Presencia de costras en la superficie de las manchas cloróticas



Nota: A. Costras en la superficie de las manchas cloróticas, B. Cladodio con presencia de manchas cloróticas.

Tabla 3.6.

Incidencia de Alternaria spp. en cladodios de tuna inoculados con las 50 cepas aisladas.

Aislamientos	Cladodios inoculados	Puntos de inoculación	Puntos con síntomas	Incidencia (%)
Grupo I	1	5	5	100
Grupo II	1	5	5	100
Grupo III	1	5	5	100
Grupo IV	1	5	5	100

CONCLUSIONES

1. Se aisló un total de 50 cepas del agente causal de la mancha dorada en tuna, del germoplasma del instituto nacional de innovación agraria, Huanta y San Miguel.
2. Con base en las características morfológicas observadas en los 50 aislamientos, las colonias fueron de gris a verde olivo con textura algodonosa, con septos transversales (2-5) y longitudinales (2-5), hifas septadas y el tamaño de conidias fue de 17.2-45.6 x 8.7-12.2 μm , se determinó que el agente causal de la mancha dorada en el cultivo de tuna corresponde a hongos del género *Alternaria* spp.
3. Mediante pruebas moleculares se identificó el género y especie del agente causal de la mancha dorada, las especies identificadas fueron *Alternaria alstroemeriae* (I-M11), *Alternaria destruens* (H-M13), *Alternaria doliconidium* (SM-M4), con un porcentaje de identidad de 100%,99.5%,99.81%, pertenecientes al grupo II, III, IV respectivamente.
4. En la prueba de patogenicidad el porcentaje de incidencia fue 100%, lo que confirma que *Alternaria* es el agente causal de la mancha dorada.

RECOMENDACIONES

1. Realizar análisis integrales que incluyan métodos de control químico, biológico, genético y cultural, así como aplicar técnicas tanto en condiciones in vitro como en cultivos en producción, con el fin de diseñar y ejecutar planes efectivos de manejo fitosanitario.
2. Se recomienda realizar un análisis filogenético que permita establecer con mayor precisión las relaciones evolutivas entre las poblaciones o aislamientos evaluados. Esta herramienta contribuirá a identificar niveles de variabilidad genética, confirmar la identidad taxonómica y respaldar futuras estrategias de manejo y control, asegurando la validez científica de los resultados obtenidos.
3. Identificar mediante prueba molecular a todas cepas de *Alternaria* spp.
4. Vincular los resultados con estrategias de manejo integrado, de modo que la identificación precisa de la especie contribuya al diseño de planes de control fitosanitario más eficaces y sostenibles.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- Acevedo Cruz, A. (2018). 2. Identificación morfológica y molecular de cepas del hongo (*Alternaria dauci*) patógeno de la zanahoria (*Daucus carota* L.). *Aporte santiaguino*, 11(1), 21. <https://doi.org/10.32911/as.2018.v11.n1.453>
- Alvarado, V., & Santín, J. (2017). Plagas y enfermedades de la tuna *Opuntia ficus indica* L. en las condiciones ecológicas de la provincia de Loja. *Bosques Latitud Cero*, 7(1), 1-15.
- Alvarado, V., & Satín, J. (2017). *Plagas y enfermedades de la tuna Opuntia ficus indica* L. en las condiciones ecológicas de la provincia de Loja.
- Barba, F., Garcia, C., Fessard, A., Muneke, P., & Lorenzo, J. (2020). *Opuntia ficus indica* edible parts: A Food and Nutritional Security Perspective. *Food Reviews International*, 38(5), 930-952.
- Castro, D. (2025). *Evaluación del agente causal de la mancha foliar en albahaca e identificación morfológica de Alternaria alternata* [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California Sur]. Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Castro, J. (2009). *Cultivo de Tuna* (Gerencia Regional Agraria La Libertad).
- Chang, C.-H., Lee, Y.-C., Hsiao, G., Chang, L.-K., Chi, W.-C., Cheng, Y.-C., Huang, S.-J., Wang, T.-C., Lu, Y.-S., & Lee, T.-H. (2022). Anti-Epstein–Barr Viral Agents from the Medicinal Herb-Derived Fungus *Alternaria alstroemeriae* Km2286. *Journal of Natural Products*, 85(11), 2667-2674. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00783>
- Condori, C. M. P. (2021). Caracterización física y química de la tuna (*Opuntia ficus indica*) en el municipio de Luribay, La Paz – Bolivia. *Agro-Vet*, 5(1), 5-13. https://doi.org/http://revistasbolivianas.umsa.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2523-20372021000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es

- Crisosto, C., & Valero, D. (2008). Harvesting and postharvest handling of peaches for the fresh market. In Layne and Bass. *The peach: Botany, production and uses*, 575-596.
- Cumbicus, J. I. J. (2022). *Evaluación In Vitro de Aislados de Trichoderma Spp. sobre el crecimiento Dealternaria sp., en Selenicereus sp. (Pitahaya), en La Joya de Los Sachas* [Proyecto de investigación]. Escuela superior politécnica de Chimborazo.
- da Cruz Cabral, L. (2018). *Caracterización de poblaciones de Alternaria en productos de interés agroalimentarios en Argentina mediante un enfoque polifásico para el desarrollo de estrategias alternativas de prevención y control del patógeno* [Facultad de Ciencias Exactas y Naturales]. Universidad de Buenos Aires.
- Dubeux, J., Salem, H., & Nefzaoui, A. (2018). *Producción y utilización de nopal forrajero en la nutrición animal* (En P. Inglese, C. Mondragon, y A. Nefzaoui). Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal.
- Espinoza Castro, M. F., Rivera Casignia, Á. M., Rivas Figueroa, F. J., & Leiva Mora, M. (2023a). Identificación y caracterización morfológica de hongos asociados a daños en tuna (*Opuntia ficus-indica*), en la provincia de Chimborazo, Ecuador. *Bionatura*, 8(3), 1-10. <https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.03.14>
- Espinoza Castro, M. F., Rivera Casignia, Á. M., Rivas Figueroa, F. J., & Leiva Mora, M. (2023b). Identificación y caracterización morfológica de hongos asociados a daños en tuna (*Opuntia ficus-indica*), en la provincia de Chimborazo, Ecuador. *Bionatura*, 8(3), 1-10. <https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.03.14>
- Fabrega, A., Calvo, Y., & Agut, M. (2012). El género *Alternaria*: características morfológicas y capacidad de producción de micotoxinas. *Real Academia de Doctores*, 6, 357-367.
- Freeland, J., Kirk, H., & Petersen, S. (2011). Molecular ecology. *WileyBlackwell UK*, 447p.
- Gutiérrez-Ibáñez, A. T., Rojas-Martínez, R. I., González-Garza, R., Salgado-Siclán, M. L., Aguilar-Ortigoza, C., & González-Esquivel, C. (2009). Molecular Association of

- Xylella Fastidiosa in Potato Plants (solanum Tuberosum L.) with Purple Top Symptoms. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, XV(3), 275-279.
<https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2009.15.038>
- Hamouda, M. (2019). Molecular analysis of genetic diversity in population of Silybum marianum (L.) Gaertn in Egypt. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 17(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s43141-019-0011-6>
- Inglese, P., Candelario, J., Nefzaoui, A., & Sáenz, C. (2018). *Ecología del Cultivo, Manejo y Usos del Nopal* (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura).
- Johnson, R. D., Johnson, L., Kohmoto, K., Otani, H., Lane, C. R., & Kodama, M. (2000). A Polymerase Chain Reaction-Based Method to Specifically Detect *Alternaria alternata* Apple Pathotype (*A. mali*), the Causal Agent of Alternaria Blotch of Apple. *Phytopathology*®, 90(9), 973-976. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.9.973>
- Kaur, J., Sharma, A., Sharma, M., Kumari Manhas, R., Kaur, S., & Kaur, A. (2019). Effect of α -glycosidase inhibitors from endophytic fungus *Alternaria destruens* on survival and development of insect pest *Spodoptera litura* Fab. And fungal phytopathogens. *Scientific Reports*, 9(1), 11400. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47838-6>
- Le Houérou, H. (2002). Cacti (*Opuntia* spp.) as a fodder crop for marginal lands in the Mediterranean Basin. *Acta Hortic.*, 581, 21-46.
- Li, J.-F., Jiang, H.-B., Jeewon, R., Hongsanan, S., Bhat, D. J., Tang, S.-M., Lumyong, S., Mortimer, P. E., Xu, J.-C., Camporesi, E., Bulgakov, T. S., Zhao, G.-J., Suwannarach, N., & Phookamsak, R. (2023). *Alternaria*: Update on species limits, evolution, multi-locus phylogeny, and classification. *Studies in Fungi*, 8(1), 1-61.
<https://doi.org/10.48130/SIF-2023-0001>

- Logrieco, A., Moretti, A., & Solfrizzo, M. (2009). Alternaria toxins and plant diseases: An overview of origin, occurrence and risks. *World Mycotoxin Journal*, 2, 129-140.
- Mercado, M. (2014). *Molecular Markers in the Management and Conservation of Wild Fauna*. Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Zacatecas.
- Montalvo, C. A., & Lugo, M. A. (2019). Electroforésis: fundamentos, avances y aplicaciones. *Epistemus*, 13(26), 48-54. <https://doi.org/10.36790/epistemus.v13i26.96>
- Montiel-Salero, D., Jiménez-Aguilar, A., Ramírez-Sánchez, S. E., Ruiz-Juárez, D., Guerrero-Andrade, O., Segundo-Pedraza, E., Olivares-Orozco, J. L., Ramos-López, M. Á., & Flores-Macías, A. (2021). First report of *Alternaria alternata* causing the golden spot in xoconostle (*Opuntia matudae*) in Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 40(1). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2107-3>
- Morales, P., Barros, L., Ramírez, M., Santos, B., & Ferreira, I. (2015). Xoconostle fruit (*Opuntia matudae* Scheinvar cv. Rosa) by-products as potential functional ingredients. *Food Chemistry*, 185, 289-297.
- Moselhy, M., Sengupta, A., & Smith, R. (2011). Carminic acid modified anion exchanger for the removal and preconcentration of Mo(VI) from wastewater. *Mater*, (185), 442-446.
- Mosquera, R. V. (2005). Marcadores moleculares y la extracción de adn molecular markers and the dna extraction. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 3(1), 5.
- Nadeem, M., Nawaz, M., Shahid, M., Doğan, Y., Comertpay, G., & Yıldız, M. (2017). Marcadores moleculares de ADN en el fitomejoramiento: Estado actual y avances recientes en selección genómica y edición genómica. *Biotecnología y Equipos Biotecnológicos*, 32(2), 261-285.
- Nira, S., Hossain, M., Hassan, N., & Islam, T. (2022). Alternaria leaf spot of broccoli caused by *Alternaria alternata* in Bangladesh. *Plant Protection Science*, 58(1), 49-56.

- Park, Y. (2004). Evaluation of AFLPs for germplasm fingerprinting and assessment of genetic diversity in cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Genome*, (47), 510-518.
- Pérez de Castro, A. (2011). *Reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction, PCR)*. Universidad Politecnica de Valencia.
- Rahimloo, T., & Ghosta, Y. (2015). The occurrence of *Alternaria* species on cabbage in Iran. *Zemdirbyste-Agriculture*, 102(3), 343-350. <https://doi.org/10.13080/z-a.2015.102.044>
- Rocha, P. (2002). Teoría y práctica para la extracción y purificación del ADN de palma de aceite. *Palmas*, 23(3), 9-17.
- Rodrigues, C., Paula, C. D. D., Lahbouki, S., Meddich, A., Outzourhit, A., Rashad, M., Pari, L., Coelho, I., Fernando, A. L., & Souza, V. G. L. (2023). *Opuntia* spp.: An Overview of the Bioactive Profile and Food Applications of This Versatile Crop Adapted to Arid Lands. *Foods*, 12(7), 1465. <https://doi.org/10.3390/foods12071465>
- Saenz, C. (2006). *Utilización agroindustrial del nopal* [Boletín de servicios agrícolas de la FAO N° 162].
- Saleem, A., & El-Shahir, A. A. (2022). Morphological and Molecular Characterization of Some *Alternaria* Species Isolated from Tomato Fruits Concerning Mycotoxin Production and Polyketide Synthase Genes. *Plants*, 11(9), 1168. <https://doi.org/10.3390/plants11091168>
- Savino, C. D., Zerda, H. R., & Diodato, L. (2019). Áreas aptas para producción sustentable de *Dactylopius coccus* costa y *Opuntia ficus-indica* en Santiago del Estero, Argentina. *Anales Científicos*, 80(1), 122. <https://doi.org/10.21704/ac.v80i1.1364>
- Sha, S., Han, Q., Li, H., Gao, W., Ma, J., Xu, L., Fu, C., & Xie, P. (2026). Identification and Multigene Phylogenetic Analysis Reveal *Alternaria* as the Primary Pathogen Causing European Plum (*Prunus domestica*) Brown Spot in Xinjiang, China. *Journal of Fungi*, 12(1), 69. <https://doi.org/10.3390/jof12010069>

- Tamay de Dios, L., Ibarra, C., & Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Tecnología en salud*, 2(2), pp 70-78.
- Valdés, I., Rodríguez, J., Portela, A., & Jiménez, P. (2014). First report of *Alternaria alstroemeriae* on *Alstroemeria* sp. In Colombia. *New Disease Reports*, 29(1), 21-21. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.029.021>
- Vásquez, R., Ventura, E., Oleschko, K., & Hernández, L. (2011). Soil erosion processes in semiarid areas: The importance of native vegetation. *In Soil erosion studies. InTech*, 322.
- Villagomez, M. (2000). *Cultive tunas y tendra buenos ingresos*. Instituto Nacional de Investigación Agraria.
- Wright, E., Beatriz, P., Fernández, R., Ascitutto, K., Rivera, M., Murillo, F., & Vasquez, P. (2005). *Conocimiento actual sobre enfermedades de arándano*. <http://agro.faua.info/files/u1/wright.pdf>.
- Yang, X., Ma, Y., & Cheng, T. (2019). Primer informe de *Alternaria destruens* como causante de manchas foliares en *Ligustrum sinense* en China. *Facultad de Sanidad Vegetal y Medicina, Laboratorio Clave de Manejo Integrado de Plagas de Cultivos de la Provincia de Shandong, Universidad Agrícola de Qingdao, Qingdao*.
- Yessimseitova, A., Abdrakhmanova, A., Tokbergenova, Z., Abdullaeva, B., Muranets, A., Nurtaza, A., & Kakimzhanova, A. (2025). Identification and Characterization of *Alternaria* Species Causing Early Blight on Tomato in Kazakhstan. *Agronomy*, 15(5), 1251. <https://doi.org/10.3390/agronomy15051251>
- Zhang, L., Zhang, B., Shao, L., Yang, M., Zhao, X., Wang, Z., Zhang, Y., Li, Y., Wang, Y., Hu, Y., & Li, P. (2025). Genome Analysis of *Alternaria alstroemeriae* L6 Associated

with Black Spot of Strawberry: Secondary Metabolite Biosynthesis and Virulence.
Journal of Fungi, 11(10), 710. <https://doi.org/10.3390/jof11100710>

Zhu, X. Q., & Xiao, C. L. (2015). Phylogenetic, Morphological, and Pathogenic Characterization of *Alternaria* Species Associated with Fruit Rot of Blueberry in California. *Phytopathology*®, 105(12), 1555-1567. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-15-0122-R>

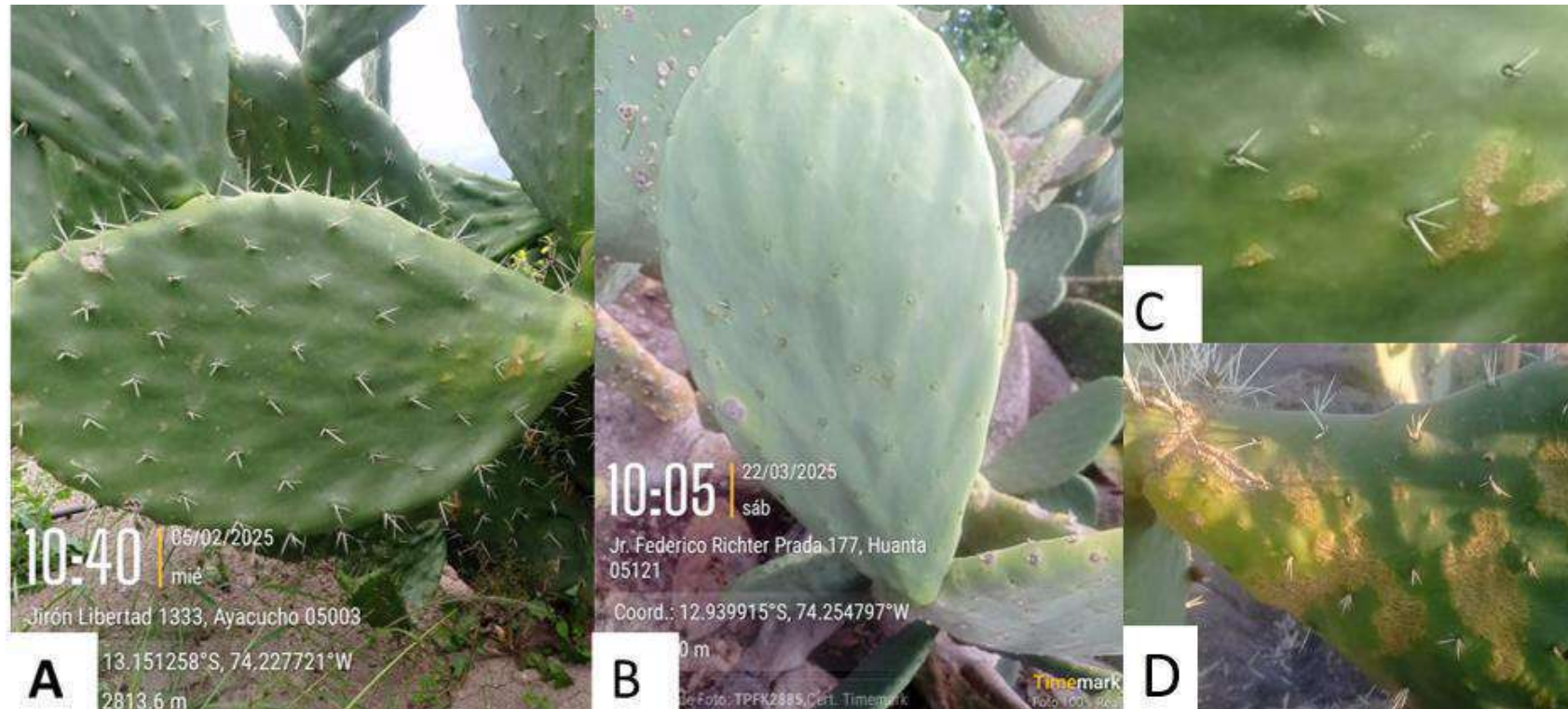
ANEXOS

Anexo 1. Colección de muestras con síntomas característicos en los 3 lugares indicados.



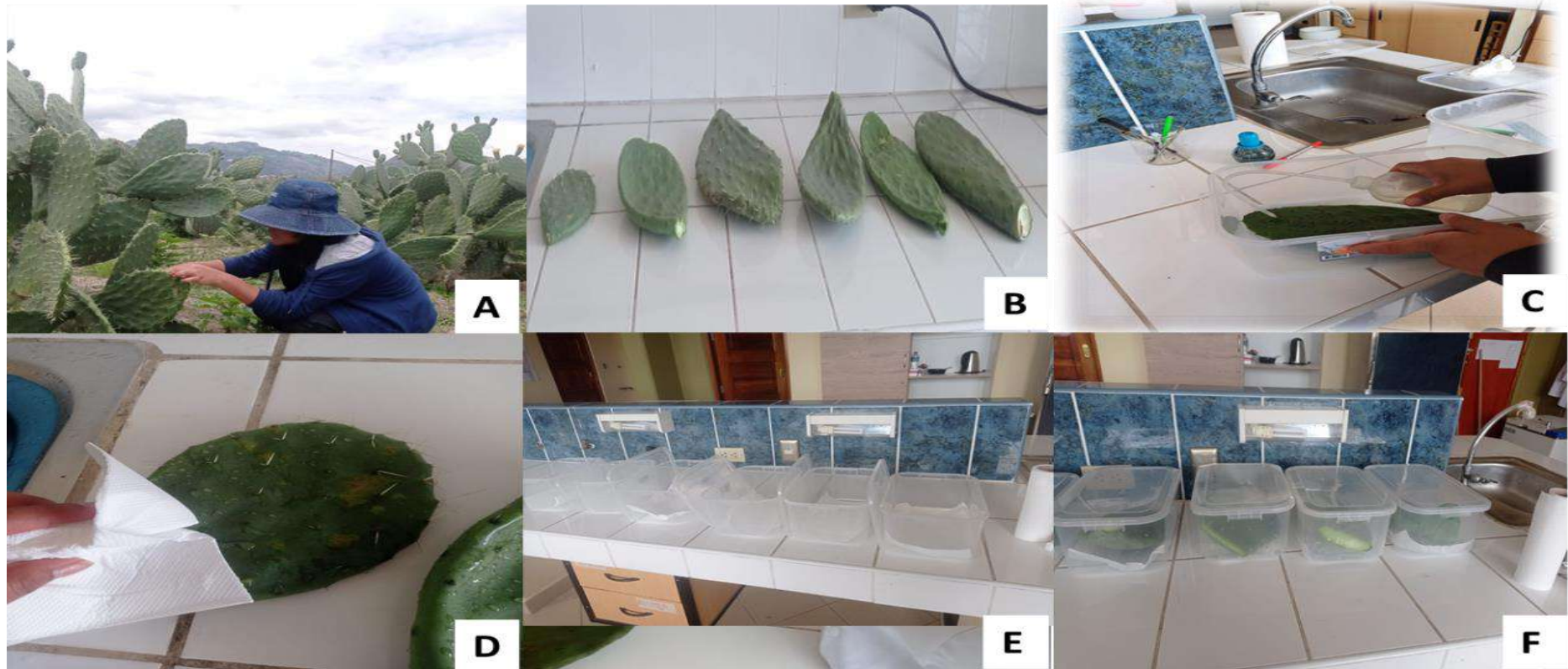
Nota. (*) Expresión de mancha dorada en cladodios de tuna muestreadas en el campo.

Anexo 2. Colección de muestras con síntomas característicos de *Alternaria* spp.



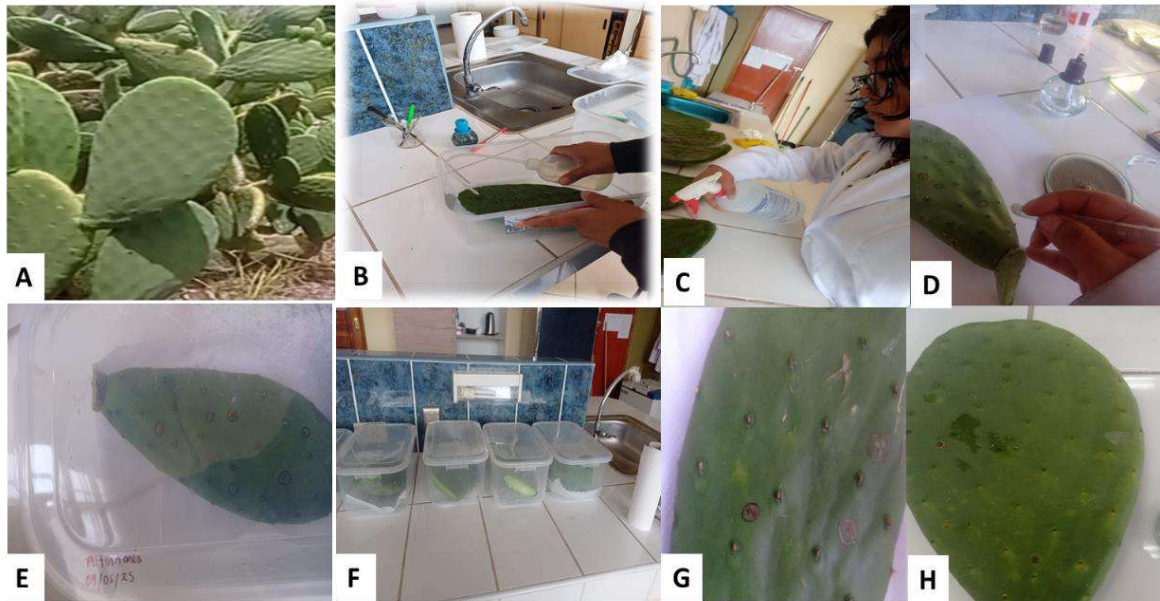
Nota. (*) Expresión de mancha dorada en tuna. La sintomatología por lo general se presentaba en la orilla superior e inferior del cladodio (A y B); y las manchas cloróticas cerca de las areolas (C) , (D) síntomas avanzados en el cladodio de tuna..

Anexo 3. Procedimiento de aislamiento del patógeno



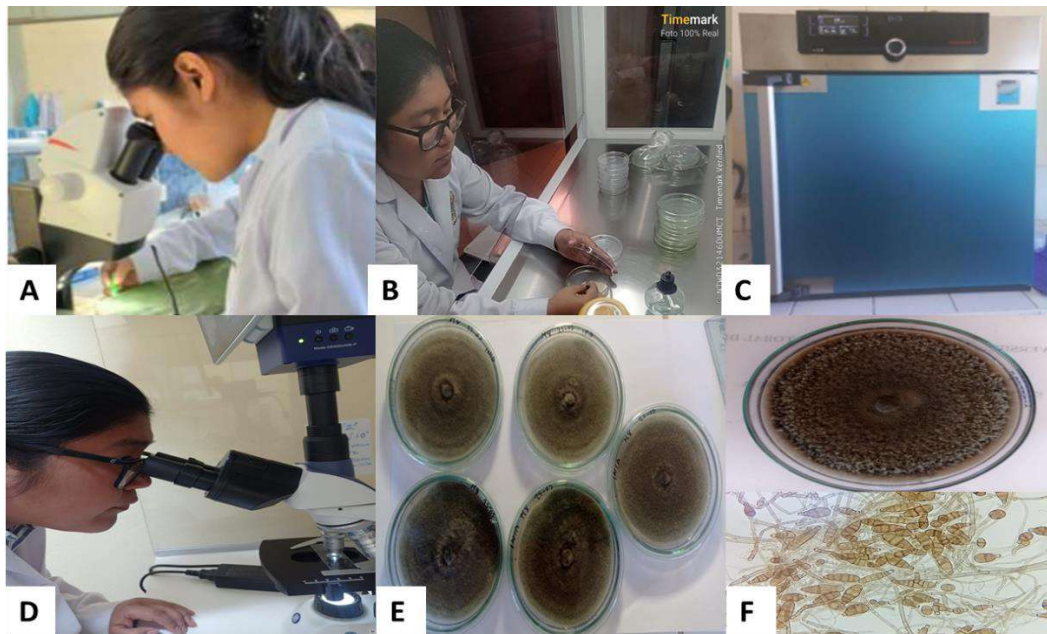
Nota. (*) Recolección de muestras con síntomas (A). Lavado de cladodios de tuna con síntomas de la mancha dorada (B-C); secado del cladodio con papel toalla esterilizado (D); cámara húmeda (E-F).

Anexo 4. Procedimiento para realizar la prueba de patogenicidad



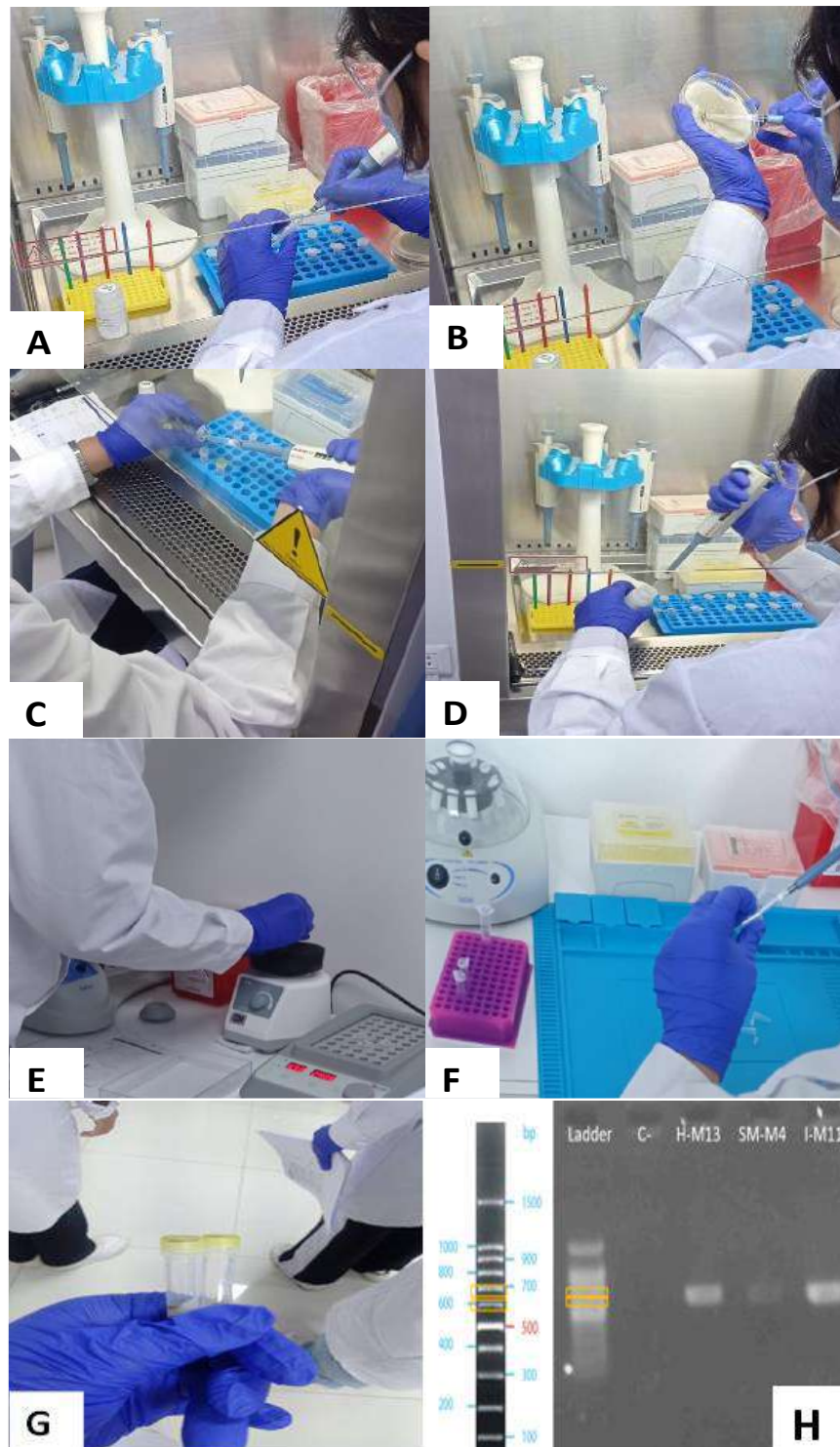
Nota. (*). Recolección de cladodios de tuna sin síntomas (A), lavado y desinfección de cladodios (B-C). Inoculación del *Alternaria* spp., cámara húmeda y rotulado de muestras (E-F), expresión de síntomas a los 9 días de la inoculación (G-H).

Anexo 5. Procedimiento de purificación e identificación del patógeno



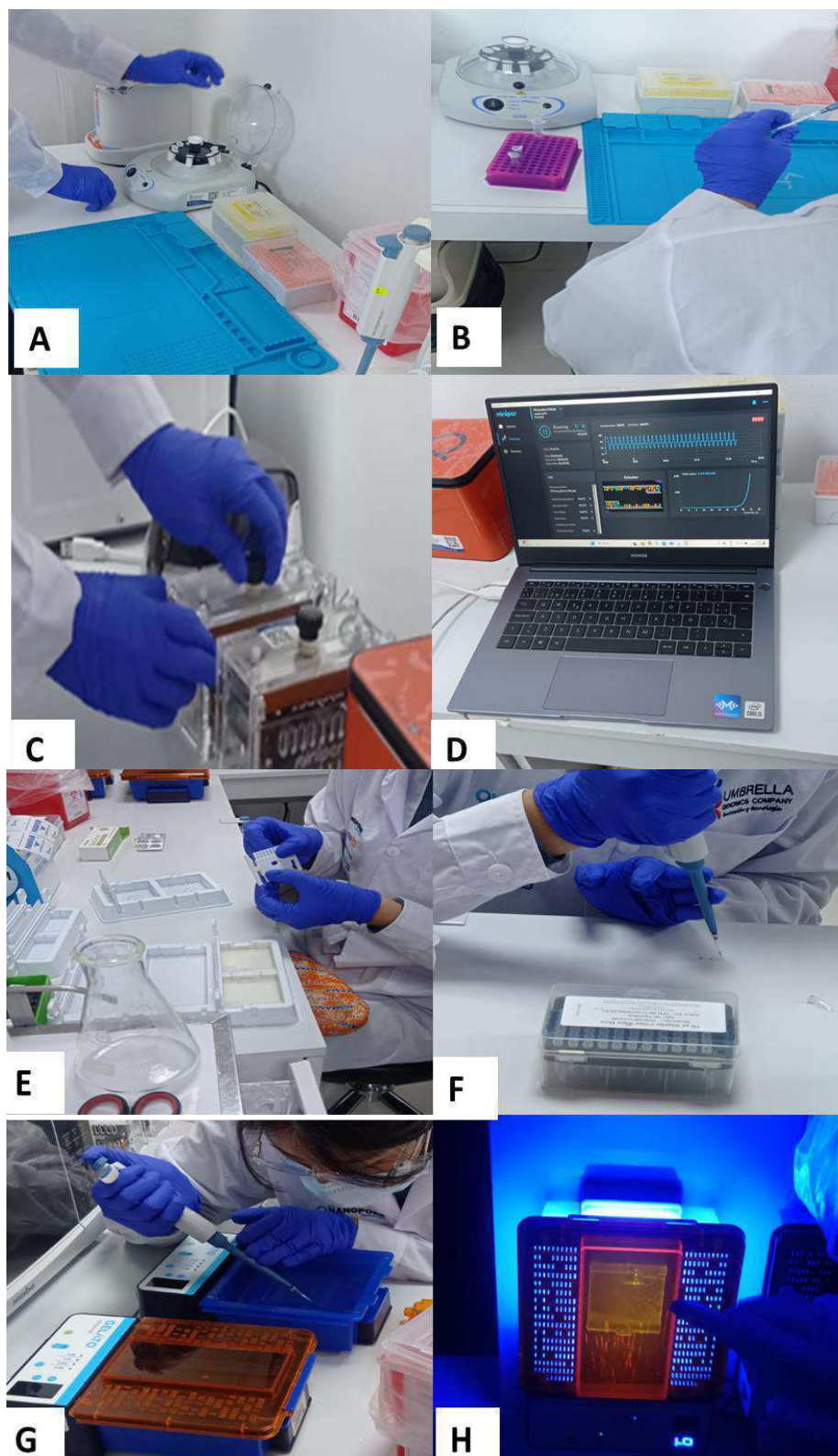
Nota. (*) Identificación de micelio del hongo (A); siembra del patógeno en PDA (B); se colocó las muestras en estufa a 25°C (C). Mediciones del largo y ancho de los conidios en Microscopio AccuScope (D). Colonias puras y conidios de *Alternaria* spp. (E-F).

Anexo 6. Procedimiento para realizar la extracción de ADN



Nota. (*) Codificación de las muestras (A); raspado de micelio del hongo (B); se colocó el micelio de las muestras (C), se añadió los reactivos del kit en los tubos Eppendor (D), centrifugación de las muestras y uso del vórtex (E), se extrajo el sobrenadante (F), ADN extraído de las muestras (G). Foto del gel y observación de bandas ADN (H).

Anexo 7. Procedimiento para realizar el PCR



Nota. (*). Realización del PCR (A-B); ADN extraído con el kit en el termociclador (C), Perfil térmico para realizar el PCR, preparación del gel de agarosa (E), servido del mix de PCR (F-G), observación de bandas ADN (H).

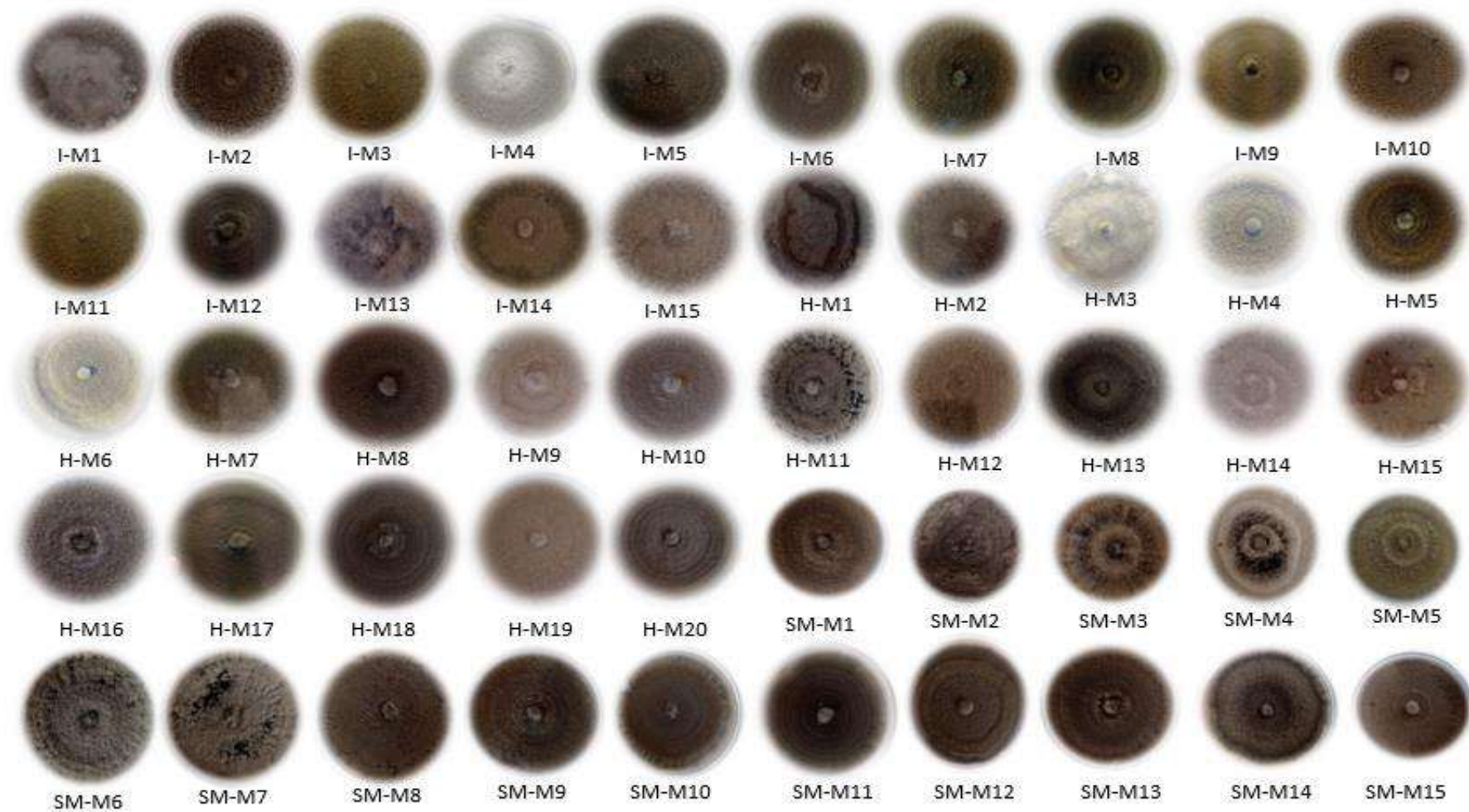
Anexo 8. *Características macroscópicas de 50 muestras de Alternaria spp.*

Codificación	Forma	Conidios Color	Nº de septos Transv.	Nº de septos Long.	Micelio	Consistencia	Color	Forma	TC
I-M1	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.42
I-M2	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.55
I-M3	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.64
I-M4	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	C.L	2.57
I-M5	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.71
I-M6	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.35
I-M7	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.37
I-M8	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.54
I-M9	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.36
I-M10	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.36
I-M11	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.39
I-M12	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.36
I-M13	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.56
I-M14	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.48
I-M15	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.39
H-M1	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde oscuro	R	2.49
H-M2	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.52
H-M3	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.24
H-M4	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.74
H-M5	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.67
H-M6	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.63
H-M7	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.65
H-M8	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.40
H-M9	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.37

H-M10	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.26
H-M11	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde oscuro	R	2.60
H-M12	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.47
H-M13	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.58
H-M14	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.42
H-M15	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.71
H-M16	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.60
H-M17	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.70
H-M18	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.65
H-M19	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.42
H-M20	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.60
SM-M1	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.47
SM-M2	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Lanoso	Gris oscuro	R	2.83
SM-M3	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.75
SM-M4	Ovoide	Crema y verde	2-4	2-3	Septado	Algodonoso	Crema y verde	R	2.88
SM-M5	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.73
SM-M6	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde oscuro	R	2.69
SM-M7	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde oscuro	R	2.76
SM-M8	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.83
SM-M9	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.66
SM-M10	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.88
SM-M11	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.52
SM-M12	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.76
SM-M13	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.61
SM-M14	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.74
SM-M15	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.69

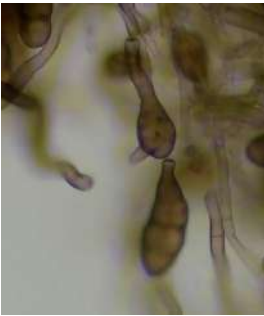
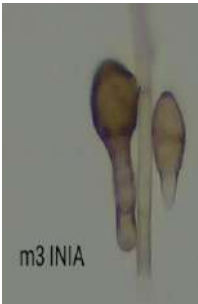
Nota: C.L: Circular ligeramente elevada, R: regular, L: lanoso

Anexo 9. *Cepas asiladas de Alternaria spp. en cultivo de tuna*



Nota: I: Inia, H: Huanta, SM: San Miguel

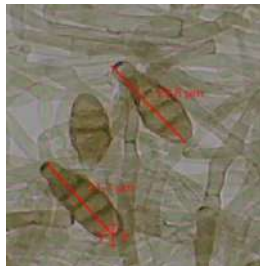
Anexo 10. Características microscópicas de 50 muestras de *Alternaria* spp.

Codificación	Conidias	Conidióforo	Micelio
I-M1			
I-M2			
I-M3			
I-M4			
I-M5			

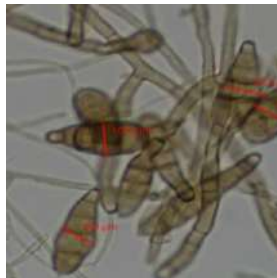
I-M6



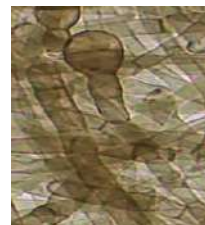
I-M7



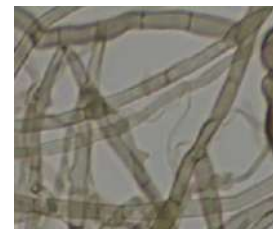
I-M8



I-M9



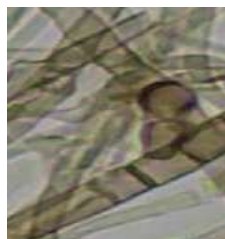
I-M10



I-M11



I-M12



I-M13



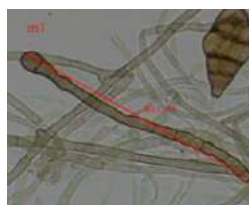
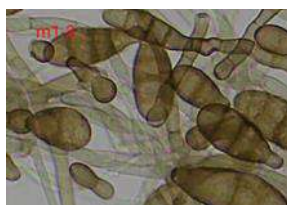
I-M14



I-M15



H-M1



H-M2



H-M3



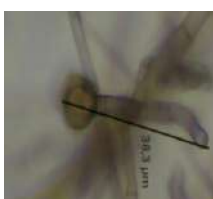
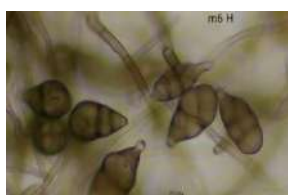
H-M4



H-M5



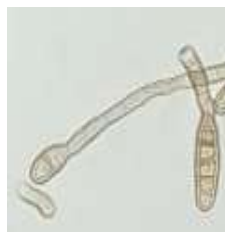
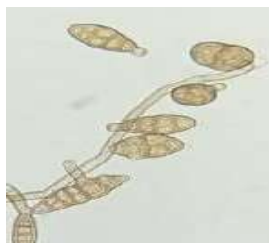
H-M6



H-M7



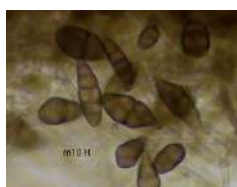
H-M8

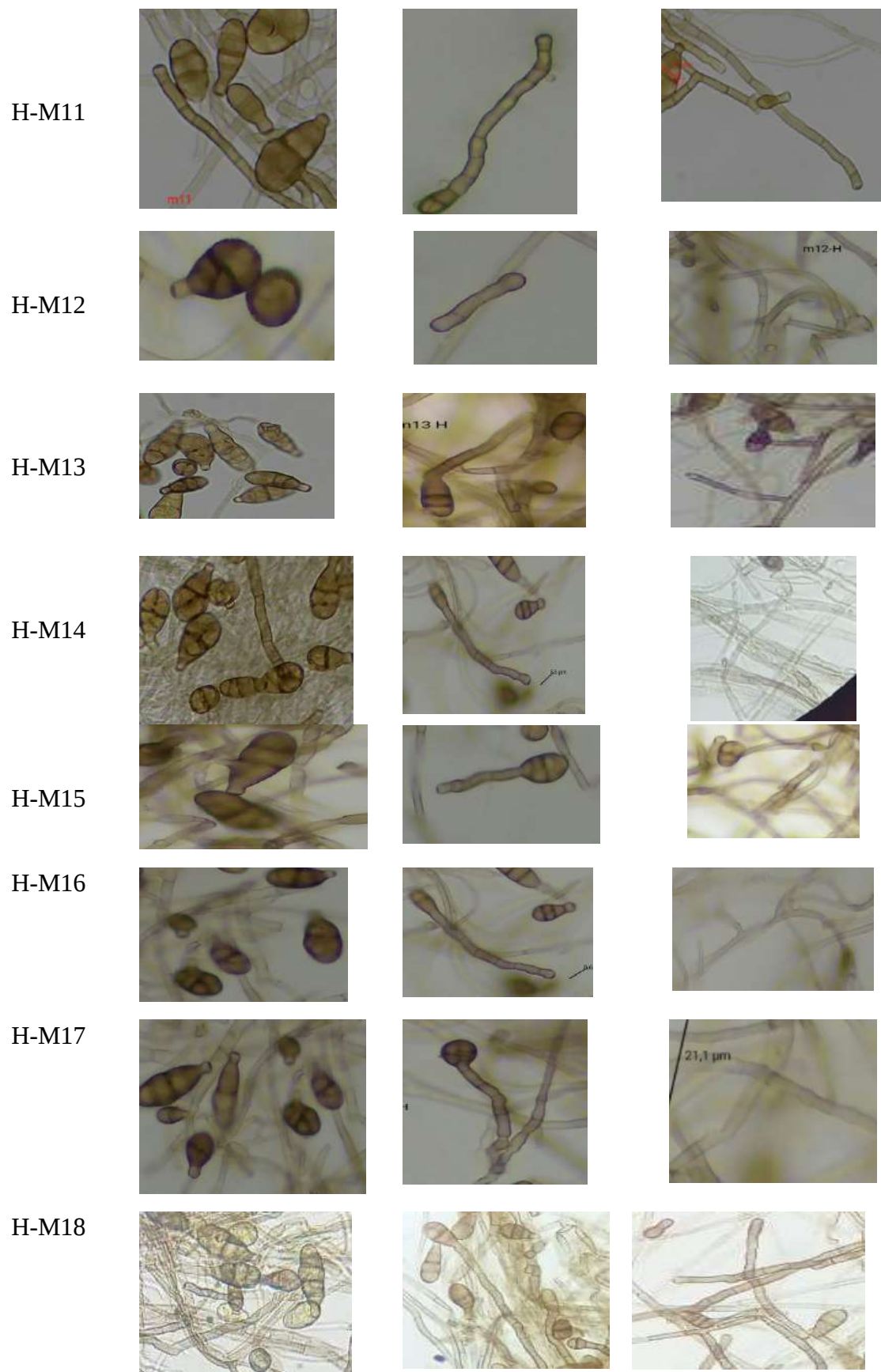


H-M9



H-M10

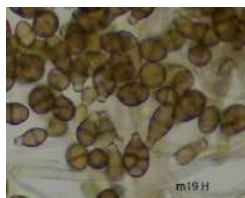




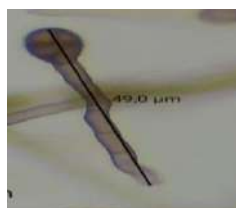
H-M19



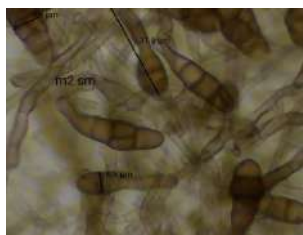
H-M20



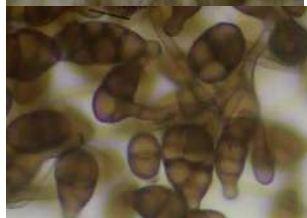
SM-M1



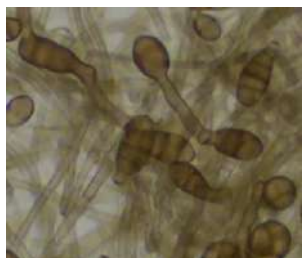
SM-M2



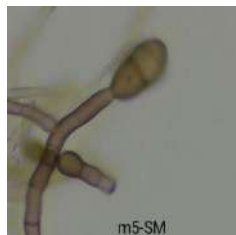
SM-M3



SM-M4



SM-M5



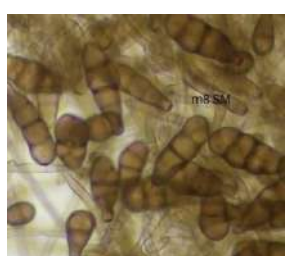
SM-M6



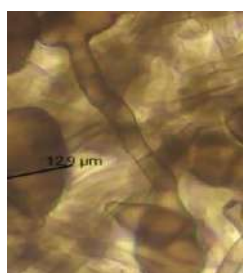
SM-M7



SM-M8



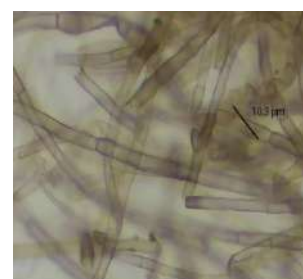
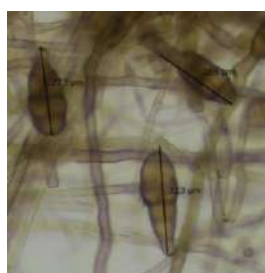
SM-M9

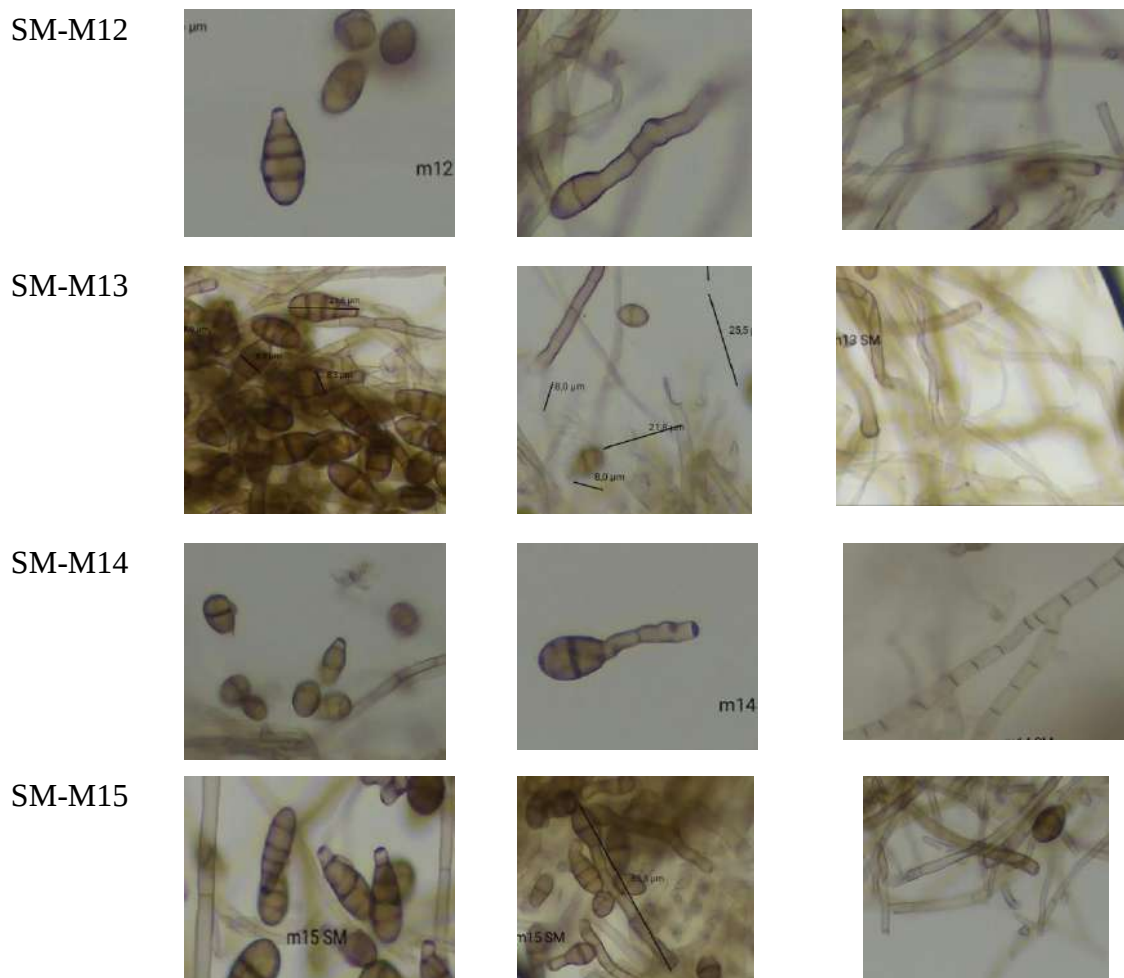


SM-M10



SM-M11





Anexo 11. Mediciones de conidios de *Alternaria destruens*

Muestras				N° de septas	
N°	Largo (µm)	Ancho (µm)	Pigmentación del conidio	Transversal	Longitudinal
1	17.7	8.5	Gris oscuro	2-4	2-5
2	17.8	9.7	Gris oscuro	2-4	2-5
3	17.9	9.1	Gris oscuro	2-4	2-5
4	18.1	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
5	17.3	8.6	Gris oscuro	2-4	2-5
6	17.1	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
7	17.4	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
8	17.6	8.8	Gris oscuro	2-4	2-5
9	17.8	8.5	Gris oscuro	2-4	2-5
10	17.1	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
11	17.9	8.9	Gris oscuro	2-4	2-5
12	17.6	8.2	Gris oscuro	2-4	2-5
13	17.5	8.5	Gris oscuro	2-4	2-5
14	17.2	9.7	Gris oscuro	2-4	2-5
15	17.7	9.1	Gris oscuro	2-4	2-5

16	17.7	9.3	Gris oscuro	2-4	2-5
17	17.8	8.6	Gris oscuro	2-4	2-5
18	17.9	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
19	18.1	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
20	17.3	8.8	Gris oscuro	2-4	2-5
21	17.1	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
22	17.4	9.3	Gris oscuro	2-4	2-5
23	17.6	9.9	Gris oscuro	2-4	2-5
24	17.8	9.2	Gris oscuro	2-4	2-5
25	17.1	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
26	17.9	9.7	Gris oscuro	2-4	2-5
27	17.6	9.1	Gris oscuro	2-4	2-5
28	17.5	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
29	17.2	9.6	Gris oscuro	2-4	2-5
30	17.7	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
31	17.8	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
32	17.9	9.8	Gris oscuro	2-4	2-5
33	18.1	8.5	Gris oscuro	2-4	2-5
34	17.3	9.3	Gris oscuro	2-4	2-5
35	17.1	9.9	Gris oscuro	2-4	2-5
36	17.4	9.2	Gris oscuro	2-4	2-5
37	17.6	8.5	Gris oscuro	2-4	2-5
38	17.8	9.7	Gris oscuro	2-4	2-5
39	17.1	9.1	Gris oscuro	2-4	2-5
40	17.9	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
41	17.6	8.6	Gris oscuro	2-4	2-5
42	17.5	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
43	17.2	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
44	17.7	8.5	Gris oscuro	2-4	2-5
45	17.7	9.7	Gris oscuro	2-4	2-5
46	17.8	9.1	Gris oscuro	2-4	2-5
47	17.9	9.3	Gris oscuro	2-4	2-5
48	18.1	8.6	Gris oscuro	2-4	2-5
49	17.3	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
50	17.1	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
51	17.4	8.8	Gris oscuro	2-4	2-5
52	17.6	8.5	Gris oscuro	2-4	2-5
53	17.8	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
54	17.1	8.9	Gris oscuro	2-4	2-5
55	17.9	8.2	Gris oscuro	2-4	2-5
56	17.6	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
57	17.5	9.7	Gris oscuro	2-4	2-5
58	17.2	9.1	Gris oscuro	2-4	2-5
59	17.7	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
60	17.6	8.6	Gris oscuro	2-4	2-5

61	17.7	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
62	17.8	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
63	17.9	8.8	Gris oscuro	2-4	2-5
64	18.1	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
65	17.3	9.3	Gris oscuro	2-4	2-5
66	17.1	8.9	Gris oscuro	2-4	2-5
67	17.4	9.2	Gris oscuro	2-4	2-5
68	17.6	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
69	17.8	9.7	Gris oscuro	2-4	2-5
70	17.1	9.1	Gris oscuro	2-4	2-5
71	17.9	9.3	Gris oscuro	2-4	2-5
72	17.6	9.6	Gris oscuro	2-4	2-5
73	17.5	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
74	17.2	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
75	17.7	9.8	Gris oscuro	2-4	2-5
76	17.6	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
77	17.7	9.3	Gris oscuro	2-4	2-5
78	17.8	8.9	Gris oscuro	2-4	2-5
79	17.9	9.2	Gris oscuro	2-4	2-5
80	18.1	8.5	Gris oscuro	2-4	2-5
81	17.3	9.7	Gris oscuro	2-4	2-5
82	17.1	9.1	Gris oscuro	2-4	2-5
83	17.4	9.3	Gris oscuro	2-4	2-5
84	17.6	8.6	Gris oscuro	2-4	2-5
85	17.8	9.5	Gris oscuro	2-4	2-5
86	17.1	8.3	Gris oscuro	2-4	2-5
87	17.9	9.7	Gris oscuro	2-4	2-5
88	17.6	8.1	Gris oscuro	2-4	2-5
89	17.5	8.8	Gris oscuro	2-4	2-5
90	17.2	8.9	Gris oscuro	2-4	2-5
91	17.7	8.6	Gris oscuro	2-4	2-5
92	17.6	8.8	Gris oscuro	2-4	2-5
93	17.1	9.9	Gris oscuro	2-4	2-5
94	17.4	9.6	Gris oscuro	2-4	2-5
95	17.6	8.1	Gris oscuro	2-4	2-5
96	17.8	9.7	Gris oscuro	2-4	2-5
97	17.1	8.9	Gris oscuro	2-4	2-5
98	17.3	9.6	Gris oscuro	2-4	2-5
99	17.5	8.1	Gris oscuro	2-4	2-5
100	17.6	8.7	Gris oscuro	2-4	2-5
$\bar{x}$	17.5	9.1	Gris oscuro	2-4	2-5

Anexo 12. *Mediciones de conidios de Alternaria alstroemeriae*

Muestras			Pigmentación del conidio	N° de septas	
N°	Largo	Ancho		Transversal	Longitudinal
1	24.1	9.5	Verde olivo	3-5	1-3
2	23.6	9.7	Verde olivo	3-5	1-3
3	23.6	9.7	Verde olivo	3-5	1-3
4	28.4	10.9	Verde olivo	3-5	1-3
5	24.8	9.8	Verde olivo	3-5	1-3
6	23.3	9.5	Verde olivo	3-5	1-3
7	28.1	10.8	Verde olivo	3-5	1-3
8	26.4	10.3	Verde olivo	3-5	1-3
9	24.2	9.6	Verde olivo	3-5	1-3
10	25.4	10.1	Verde olivo	3-5	1-3
11	26.1	10.3	Verde olivo	3-5	1-3
12	26.3	10.4	Verde olivo	3-5	1-3
13	26.4	10.4	Verde olivo	3-5	1-3
14	26.6	10.5	Verde olivo	3-5	1-3
15	26.8	10.6	Verde olivo	3-5	1-3
16	26.9	10.6	Verde olivo	3-5	1-3
17	27.1	10.7	Verde olivo	3-5	1-3
18	27.3	10.7	Verde olivo	3-5	1-3
19	27.4	10.8	Verde olivo	3-5	1-3
20	27.6	10.8	Verde olivo	3-5	1-3
21	27.8	10.9	Verde olivo	3-5	1-3
22	27.9	10.9	Verde olivo	3-5	1-3
23	28.1	11.0	Verde olivo	3-5	1-3
24	28.3	11.0	Verde olivo	3-5	1-3
25	28.4	11.0	Verde olivo	3-5	1-3
26	28.6	11.1	Verde olivo	3-5	1-3
27	28.8	11.1	Verde olivo	3-5	1-3
28	28.9	11.2	Verde olivo	3-5	1-3
29	29.1	11.2	Verde olivo	3-5	1-3
30	29.3	11.3	Verde olivo	3-5	1-3
31	29.4	11.3	Verde olivo	3-5	1-3
32	29.6	11.4	Verde olivo	3-5	1-3
33	29.8	11.4	Verde olivo	3-5	1-3
34	29.9	11.5	Verde olivo	3-5	1-3
35	30.1	11.5	Verde olivo	3-5	1-3
36	29.3	11.3	Verde olivo	3-5	1-3
37	30.4	11.6	Verde olivo	3-5	1-3
38	29.6	11.4	Verde olivo	3-5	1-3
39	30.8	11.7	Verde olivo	3-5	1-3
40	24.1	9.5	Verde olivo	3-5	1-3
41	23.6	9.7	Verde olivo	3-5	1-3

42	23.6	9.7	Verde olivo	3-5	1-3
43	28.4	10.9	Verde olivo	3-5	1-3
44	24.8	9.8	Verde olivo	3-5	1-3
45	23.3	9.5	Verde olivo	3-5	1-3
46	28.1	10.8	Verde olivo	3-5	1-3
47	26.4	10.3	Verde olivo	3-5	1-3
48	24.2	9.6	Verde olivo	3-5	1-3
49	25.4	10.1	Verde olivo	3-5	1-3
50	26.1	10.3	Verde olivo	3-5	1-3
51	26.3	10.4	Verde olivo	3-5	1-3
52	26.4	10.4	Verde olivo	3-5	1-3
53	26.6	10.5	Verde olivo	3-5	1-3
54	26.8	10.6	Verde olivo	3-5	1-3
55	26.9	10.6	Verde olivo	3-5	1-3
56	27.1	10.7	Verde olivo	3-5	1-3
57	27.3	10.7	Verde olivo	3-5	1-3
58	27.4	10.8	Verde olivo	3-5	1-3
59	28.6	11.1	Verde olivo	3-5	1-3
60	27.8	10.9	Verde olivo	3-5	1-3
61	25.9	10.0	Verde olivo	3-5	1-3
62	28.1	11.0	Verde olivo	3-5	1-3
63	28.3	11.0	Verde olivo	3-5	1-3
64	28.4	11.0	Verde olivo	3-5	1-3
65	28.6	11.1	Verde olivo	3-5	1-3
66	28.8	11.1	Verde olivo	3-5	1-3
67	28.9	11.2	Verde olivo	3-5	1-3
68	29.1	11.2	Verde olivo	3-5	1-3
69	29.3	11.3	Verde olivo	3-5	1-3
70	28.4	11.0	Verde olivo	3-5	1-3
71	29.6	11.4	Verde olivo	3-5	1-3
72	27.8	10.9	Verde olivo	3-5	1-3
73	29.9	11.5	Verde olivo	3-5	1-3
74	30.1	11.5	Verde olivo	3-5	1-3
75	30.3	11.6	Verde olivo	3-5	1-3
76	27.4	10.8	Verde olivo	3-5	1-3
77	30.6	11.6	Verde olivo	3-5	1-3
78	31.8	12.2	Verde olivo	3-5	1-3
79	29.9	11.5	Verde olivo	3-5	1-3
80	30.1	11.5	Verde olivo	3-5	1-3
81	30.3	11.6	Verde olivo	3-5	1-3
82	29.4	11.3	Verde olivo	3-5	1-3
83	30.6	11.7	Verde olivo	3-5	1-3
84	29.8	11.4	Verde olivo	3-5	1-3
85	27.4	10.8	Verde olivo	3-5	1-3
86	27.6	10.8	Verde olivo	3-5	1-3

87	27.8	10.9	Verde olivo	3-5	1-3
88	27.9	10.9	Verde olivo	3-5	1-3
89	28.1	11.0	Verde olivo	3-5	1-3
90	23.3	9.5	Verde olivo	3-5	1-3
91	28.4	11.0	Verde olivo	3-5	1-3
92	25.6	10.2	Verde olivo	3-5	1-3
93	27.4	10.8	Verde olivo	3-5	1-3
94	26.6	10.5	Verde olivo	3-5	1-3
95	27.8	10.9	Verde olivo	3-5	1-3
96	25.9	10.0	Verde olivo	3-5	1-3
97	28.1	11.0	Verde olivo	3-5	1-3
98	27.3	10.7	Verde olivo	3-5	1-3
99	28.4	11.0	Verde olivo	3-5	1-3
100	30.6	11.7	Verde olivo	3-5	1-3
$\bar{x}$	27.5	10.9	Verde olivo	3-5	1-3

Anexo 13. *Mediciones de conidios de Alternaria doliconidium.*

Muestras				N° de septas	
N°	Largo	Ancho	Pigmentación del conidio	Transversal	Longitudinal
1	30.4	9.7	Crema y verde	2-4	2-3
2	30.6	9.9	Crema y verde	2-4	2-3
3	30.6	9.9	Crema y verde	2-4	2-3
4	32.8	11.1	Crema y verde	2-4	2-3
5	31.0	10.1	Crema y verde	2-4	2-3
6	30.4	9.7	Crema y verde	2-4	2-3
7	32.6	11.0	Crema y verde	2-4	2-3
8	31.8	10.5	Crema y verde	2-4	2-3
9	30.7	9.8	Crema y verde	2-4	2-3
10	31.4	10.3	Crema y verde	2-4	2-3
11	31.7	10.5	Crema y verde	2-4	2-3
12	31.8	10.5	Crema y verde	2-4	2-3
13	31.8	10.5	Crema y verde	2-4	2-3
14	32.0	10.6	Crema y verde	2-4	2-3
15	32.2	10.7	Crema y verde	2-4	2-3
16	32.2	10.7	Crema y verde	2-4	2-3
17	32.3	10.8	Crema y verde	2-4	2-3
18	32.4	10.9	Crema y verde	2-4	2-3
19	32.5	10.9	Crema y verde	2-4	2-3
20	32.6	11.0	Crema y verde	2-4	2-3
21	32.7	11.1	Crema y verde	2-4	2-3
22	32.8	11.1	Crema y verde	2-4	2-3
23	32.9	11.2	Crema y verde	2-4	2-3
24	33.0	11.3	Crema y verde	2-4	2-3
25	33.0	11.3	Crema y verde	2-4	2-3

26	33.1	11.4	Crema y verde	2-4	2-3
27	33.2	11.4	Crema y verde	2-4	2-3
28	33.3	11.5	Crema y verde	2-4	2-3
29	33.4	11.5	Crema y verde	2-4	2-3
30	33.5	11.6	Crema y verde	2-4	2-3
31	33.6	11.7	Crema y verde	2-4	2-3
32	33.7	11.8	Crema y verde	2-4	2-3
33	33.8	11.8	Crema y verde	2-4	2-3
34	33.9	11.9	Crema y verde	2-4	2-3
35	34.0	11.9	Crema y verde	2-4	2-3
36	33.5	11.6	Crema y verde	2-4	2-3
37	34.1	12.0	Crema y verde	2-4	2-3
38	33.7	11.8	Crema y verde	2-4	2-3
39	34.3	12.2	Crema y verde	2-4	2-3
40	30.4	9.7	Crema y verde	2-4	2-3
41	30.6	9.9	Crema y verde	2-4	2-3
42	30.6	9.9	Crema y verde	2-4	2-3
43	32.8	11.1	Crema y verde	2-4	2-3
44	31.0	10.1	Crema y verde	2-4	2-3
45	30.4	9.7	Crema y verde	2-4	2-3
46	32.6	11.0	Crema y verde	2-4	2-3
47	31.8	10.5	Crema y verde	2-4	2-3
48	30.7	9.8	Crema y verde	2-4	2-3
49	31.4	10.3	Crema y verde	2-4	2-3
50	31.7	10.5	Crema y verde	2-4	2-3
51	31.8	10.5	Crema y verde	2-4	2-3
52	31.8	10.5	Crema y verde	2-4	2-3
53	32.0	10.6	Crema y verde	2-4	2-3
54	32.2	10.7	Crema y verde	2-4	2-3
55	32.2	10.7	Crema y verde	2-4	2-3
56	32.3	10.8	Crema y verde	2-4	2-3
57	32.4	10.9	Crema y verde	2-4	2-3
58	32.5	10.9	Crema y verde	2-4	2-3
59	33.1	11.4	Crema y verde	2-4	2-3
60	32.7	11.1	Crema y verde	2-4	2-3
61	31.3	10.2	Crema y verde	2-4	2-3
62	32.9	11.2	Crema y verde	2-4	2-3
63	33.0	11.3	Crema y verde	2-4	2-3
64	33.0	11.3	Crema y verde	2-4	2-3
65	33.1	11.4	Crema y verde	2-4	2-3
66	33.2	11.4	Crema y verde	2-4	2-3
67	33.3	11.5	Crema y verde	2-4	2-3
68	33.4	11.5	Crema y verde	2-4	2-3
69	33.5	11.6	Crema y verde	2-4	2-3
70	33.0	11.3	Crema y verde	2-4	2-3

71	33.7	11.8	Crema y verde	2-4	2-3
72	32.7	11.1	Crema y verde	2-4	2-3
73	33.9	11.9	Crema y verde	2-4	2-3
74	34.0	11.9	Crema y verde	2-4	2-3
75	34.1	12.0	Crema y verde	2-4	2-3
76	32.5	10.9	Crema y verde	2-4	2-3
77	34.2	12.1	Crema y verde	2-4	2-3
78	35.0	12.4	Crema y verde	2-4	2-3
79	33.9	11.9	Crema y verde	2-4	2-3
80	34.0	11.9	Crema y verde	2-4	2-3
81	34.1	12.0	Crema y verde	2-4	2-3
82	33.6	11.7	Crema y verde	2-4	2-3
83	34.2	12.1	Crema y verde	2-4	2-3
84	33.8	11.8	Crema y verde	2-4	2-3
85	32.5	10.9	Crema y verde	2-4	2-3
86	32.6	11.0	Crema y verde	2-4	2-3
87	32.7	11.1	Crema y verde	2-4	2-3
88	32.8	11.1	Crema y verde	2-4	2-3
89	32.9	11.2	Crema y verde	2-4	2-3
90	30.4	9.7	Crema y verde	2-4	2-3
91	33.0	11.3	Crema y verde	2-4	2-3
92	31.6	10.4	Crema y verde	2-4	2-3
93	32.5	10.9	Crema y verde	2-4	2-3
94	32.0	10.6	Crema y verde	2-4	2-3
95	32.7	11.1	Crema y verde	2-4	2-3
96	31.3	10.2	Crema y verde	2-4	2-3
97	32.9	11.2	Crema y verde	2-4	2-3
98	32.4	10.9	Crema y verde	2-4	2-3
99	33.0	11.3	Crema y verde	2-4	2-3
100	34.2	12.1	Crema y verde	2-4	2-3
$\bar{x}$	32.2	11.02	Crema y verde	2-4	2.3

Anexo 14.*Ruta de identificación para Alternaria.*

1g. Conidios (porosporos): suelen presentar paredes engrosadas; se forman a través de poros situados en el ápice o los laterales del conidióforo. Pueden ser simples o, en ciertos géneros, generarse de forma sucesiva en nuevos puntos de crecimiento del conidióforo, mediante proliferación apical o extensión simpodial desde la base del conidio anterior (ejemplos: *Helminthosporium*, *Stemphylium*).

Serie POROSPORAEE 91

91a Conidios con septos transversales, longitudinales y oblicuos (dictyosporados) 92

92a Conidios de forma obclavada a elíptica-ovoide, con un rostro alargado Alternaria

Anexo 15.*Equipo de trabajo del laboratorio Umbrella*



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Bach. JOICE MARYORI AZUNCION ALAGON QUISPE
R.D. N° 267-2026-UNSCH-FCA-D

En la ciudad de Ayacucho, a los veinticinco días del mes de junio del año dos mil veintiséis, siendo las dieciocho horas, se reunieron en el auditorio de la Facultad de Ciencias Agrarias, bajo la presidencia del Dr. Felipe Escobar Ramírez Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias; los miembros del jurado conformado por el Ph.D. Nery Luz Santillana Villanueva, M.Sc. Angela Juana Requis Quintanilla como asesora y el Ing. Guillermo Carrasco Aquino; actuando como secretario de actas el Mtro. Rodolfo Alca Mendoza, para recibir la sustentación de la Tesis titulado: **Caracterización morfológica y molecular de *Alternaria* spp. como agente causal de la mancha dorada en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en Ayacucho -2025**, para obtener el Título Profesional de Ingeniera Agrónoma, presentado por la Bachiller **JOICE MARYORI AZUNCION ALAGON QUISPE**.

El señor Decano previa verificación de los documentos exigidos solicitó se proceda con la sustentación y posterior defensa de la tesis en un periodo de cuarenta y cinco minutos de acuerdo al reglamento de grados y títulos vigente. Terminado la exposición, los miembros del Jurado, formularon sus preguntas, aclaraciones y/o observaciones correspondientes. Luego se invito a los miembros del jurado pasar a otra aula para la deliberación y calificación del trabajo de tesis, teniendo el siguiente resultado:

Jurado evaluador	Exposición	Respuestas a las preguntas	Generación de conocimiento	Promedio
Ph.D. Nery Luz Santillana Villanueva	16	16	16	16
M.Sc. Angela Juana Requis Quintanilla	16	16	18	17
Ing. Guillermo Carrasco Aquino	16	15	16	16
PROMEDIO GENERAL				16

Acto seguido se invita a la sustentante y público en general para dar a conocer el resultado final. Firman el acta.


.....
Ph.D. Nery Luz Santillana Villanueva
Presidente


.....
M.Sc. Angela Juana Requis Quintanilla
Asesora


.....
Ing. Guillermo Carrasco Aquino
Jurado


.....
Mtro. Rodolfo Alca Mendoza
Secretario Docente

CONSTANCIA DE CONTROL DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

El que suscribe, miembro de la comisión de docentes instructores responsables de operativizar, verificar, garantizar y controlar la originalidad de los trabajos de **TESIS** de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, autorizado por R.D N° 213-2025-UNSCH-FCA-D; hace constar que el trabajo titulado;

Caracterización morfológica y molecular de *Alternaria* spp. como agente causal de la mancha dorada en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en Ayacucho – 2025

Autor : Joice Maryori Azuncion ALAGON QUISPE
Asesor : Angela Juana REQUIS QUINTANILLA

Ha sido sometido al control de originalidad mediante el software TURNITIN UNSCH, acorde al Reglamento de originalidad de trabajos de tesis, aprobando mediante de RCU 039-2021-UNSCH-CU, arrojando un resultado de once por ciento **(11%)** de índice de similitud, realizado con **depósito de trabajo estándar**.

En consecuencia, se otorga la presente Constancia de Originalidad para los fines pertinentes.

Nota: Se adjunta el resultado con identificador de la entrega: 3001102351

Ayacucho, 20 de julio de 2026



.....
Angela J. Requis Quintanilla

M.Sc. en Fitopatología

E.P. Agronomía

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga

Caracterización morfológica y molecular de Alternaria spp. como agente causal de la mancha dorada en Opuntia ficus-indica (L.) Mill. en Ayacucho -2025

por Joice Maryori Azuncion Alagon Quispe

Fecha de entrega: 20-jul-2026 09:59p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 3001102351

Nombre del archivo: Caracterización_morfológica_y_molecular_de_Alternaria_spp._como_agente_causal_de_la_mancha_dorada_en_Opuntia_ficus-indica_L._Mill._en_Ayacucho_2025_ (3.63M)

Total de palabras: 16984

Total de caracteres: 86672

Caracterización morfológica y molecular de *Alternaria* spp. como agente causal de la mancha dorada en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en Ayacucho -2025

INFORME DE ORIGINALIDAD

11%

INDICE DE SIMILITUD

10%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	4%
	Trabajo del estudiante	
2	repositorio.unsch.edu.pe	2%
	Fuente de Internet	
3	www.nobullproject.com	1%
	Fuente de Internet	
4	repository.charlotte.edu	1%
	Fuente de Internet	
5	Submitted to Universidad Nacional de Colombia	1%
	Trabajo del estudiante	
6	bibliotecadigital.exactas.uba.ar	1%
	Fuente de Internet	
7	www.lentiamo.es	<1%
	Fuente de Internet	
8	www.rmfmf.org.mx	<1%
	Fuente de Internet	
9	pdfcoffee.com	<1%
	Fuente de Internet	
10	repositorio.umsa.bo	<1%
	Fuente de Internet	
11	www.trucoteca.com	<1%
	Fuente de Internet	
12	www.dutkins.com	<1%
	Fuente de Internet	
13	domainwhoisdb.appspot.com	<1%
	Fuente de Internet	
14	hdl.handle.net	<1%
	Fuente de Internet	

Submitted to Ecole de Management de Normandie

15

Trabajo del estudiante

<1%

16

sedici.unlp.edu.ar

Fuente de Internet

<1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 30 words

Excluir bibliografía

Activo

Caracterización morfológica y molecular de *Alternaria* spp. como agente causal de la mancha dorada en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en Ayacucho –2025

Caracterización morfológica y molecular de *Alternaria* spp. como agente causal de la mancha dorada en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en Ayacucho –2025

Joice Maryori Azuncion Alagon Quispe ¹
joice.alagon.01@unsch.edu.pe

Angela Juana Requis Quintanilla ²
angela.requis@unsch.edu.pe

Área de investigación: Fitopatología agrícola

Lineal de investigación: Conservación y valoración de la biodiversidad

RESUMEN

El trabajo de investigación tuvo como objetivo; caracterizar morfológica y molecularmente a *Alternaria* spp. como agente causal de la mancha dorada en el cultivo de tuna (*Opuntia ficus-indica*). Las muestras fueron obtenidas de tres lugares: Huamanga (germoplasma de tuna del Instituto Nacional de Innovación Agraria), Huanta y San Miguel. A partir de las muestras recolectadas se realizó el aislamiento, la caracterización macroscópica, microscópica, molecular y la prueba de patogenicidad. Se obtuvo 50 aislamientos pertenecientes al género *Alternaria* spp., en la caracterización morfológica se evidenció diferencia, macroscópica y microscópica clasificándolos en 4 grupos. Macroscópicamente las colonias del grupo I, II, III, IV obtuvieron tonalidades grises claro, gris oscuro, verde olivo y crema, respectivamente, con textura algodonosa, en lo microscópico, el tamaño de las conidias varía entre 17.5-45.6 x 8.7-12.4 µm, forma obclavada a ovoide, presencia de septos transversales (2-5) y longitudinales (4-5), hifas septadas. En base a las características morfológicas observadas y utilizando claves taxonómicas, se determinó que el agente causal de la mancha dorada en el cultivo de tuna corresponde a hongos del género *Alternaria* spp. Para la identificación molecular, se amplificó y secuenció la región ITS para hongos. Mediante pruebas moleculares, las especies identificadas fueron *Alternaria alstroemeriae* (I-M11), *Alternaria destruens* (H-M13), *Alternaria doliconidium* (SM-M4), con un porcentaje de identidad de 100%, 99.5%, 99.81% , pertenecientes al grupo II, III, IV respectivamente. De acuerdo a la prueba de patogenicidad se determinó que todos los aislamientos son patogénicos.

Palabras clave: Mancha dorada, *Alternaria alstroemeriae*, *Alternaria destruens*, *Alternaria doliconidium* .

ABSTRACT

The objective of this research was to characterize *Alternaria* spp. morphologically and molecularly as the causal agent of "golden spot" disease in prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) crops. Samples were obtained from three locations: Huamanga (prickly pear germplasm from the National Institute of Agricultural Innovation), Huanta, and San Miguel. Isolation, macroscopic and microscopic characterization, molecular analysis, and pathogenicity testing were performed on the collected samples. Fifty isolates belonging to the genus *Alternaria* were obtained; morphological characterization revealed macroscopic and microscopic differences, allowing them to be classified into four groups. Macroscopically, colonies from groups I, II, III, and IV exhibited light gray, dark gray, olive green, and cream hues, respectively, with a cottony texture. Microscopically, conidia sizes ranged from 17.5–45.6 x 8.7–12.4 µm, with shapes varying from obclavate to ovoid, the presence of transverse (2–5) and longitudinal (4–5) septa, and septate hyphae. Based on the observed morphological characteristics and taxonomic keys, it was determined that the causal agent of golden spot disease in prickly pear crops is a fungus of the genus *Alternaria*. For molecular identification, the fungal ITS region was amplified and sequenced. Molecular testing identified the species *Alternaria alstroemeriae* (I-M11), *Alternaria destruens* (H-M13), and *Alternaria doliconidium* (SM-M4)—belonging to groups II, III, and IV, respectively—with identity percentages of 100%, 99.5%, and 99.81%. Pathogenicity testing indicated that all isolates are pathogenic.

Keywords: Golden spot, *Alternaria alstroemeriae*, *Alternaria destruens*, *Alternaria doliconidium*.

INTRODUCCIÓN

La tuna (*Opuntia ficus-indica* L.), perteneciente a la familia Cactaceae, es una planta de alto valor nutricional y económico, debido a su contenido de vitaminas, minerales, fibra y compuestos antioxidantes, ampliamente aprovechada tanto para consumo fresco, uso forrajero, como en la elaboración de productos derivados (Espinoza et al., 2023; Ruero, 2006). En el Perú, su cultivo y aprovechamiento tienen gran relevancia en zonas áridas y semiáridas, constituyendo un recurso estratégico para la seguridad alimentaria y el ingreso económico de muchas familias rurales. Sin embargo, su producción enfrenta desafíos asociados a condiciones climáticas extremas y limitaciones en el manejo fitosanitario, que

favorecen la aparición de plagas y enfermedades fúngicas (Fabrega et al., 2012; Montiel-Salero et al., 2021; Yessimseitova et al., 2025). Entre las principales patologías que afectan al cultivo de la tuna, destacan la antracnosis, la cercospora y la mancha dorada, que comprometen la calidad de los cladodios y frutos, así como el rendimiento final de la cosecha.

La mancha dorada se manifiesta inicialmente en las areolas de los cladodios, donde aparecen pequeñas protuberancias que luego evolucionan en manchas de forma irregular. El tejido afectado pasa de su color verde oscuro natural a tonos más claros, hasta adquirir la tonalidad dorada característica de la enfermedad. Esta alteración reduce el área fotosintética, compromete la integridad del tejido y afecta negativamente el desarrollo y la productividad de la planta (Chang et al., 2022; Li et al., 2023; Morales et al., 2015; Odilbekov et al., 2019).

A pesar de su impacto productivo, en muchas zonas del país no se cuenta con una identificación confirmada y detallada del agente causal, lo que limita el diseño de medidas de control eficientes. En la región de Ayacucho, donde el cultivo tiene una presencia importante, las condiciones ambientales favorecen la incidencia de esta enfermedad, pero existe poca información científica sobre los hongos involucrados. Por ello, esta investigación tiene como objetivo identificar y caracterizar al hongo responsable de la mancha dorada, mediante análisis morfológicos y moleculares, con el fin de generar información confiable que sirva de base para el manejo sanitario del cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

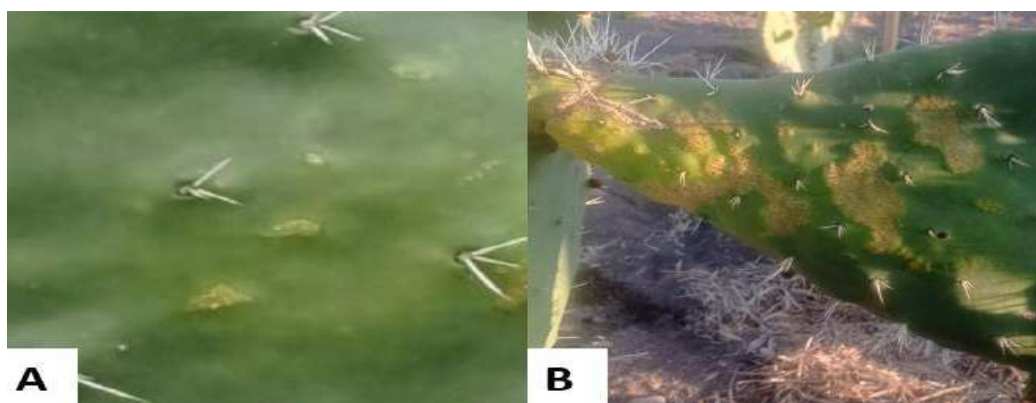
Se desarrolló en dos fases. La primera fase correspondió a la colección de muestras, de Huamanga, Huanta y San Miguel. La segunda fase se llevó a cabo en el laboratorio de Fitopatología de la Escuela Profesional de Agronomía de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, donde se efectuó el aislamiento, identificación morfológica y la prueba de patogenicidad, la identificación molecular se realizó en el laboratorio de la empresa Umbrella Genomics Company, Lima-Perú.

Colección de muestras

La colección de muestras se realizó en tres lugares: Huanta, San Miguel y en el germoplasma de tuna del INIA, se recolectaron 50 cladodios en total. Se desinfectó el cuchillo con alcohol de 70° y se cortó las pencas que presentaban síntomas de la enfermedad de la mancha dorada, después se envolvió con papel periódico y se introdujo en bolsas de plástico sin sellar. Luego se llevó al laboratorio de Fitopatología.

Figura 1. 1.

Síntomas de la mancha dorada en tuna



Nota: Síntoma inicial (A) y sintoma avanzado en cladodios tuna (B).

Instalación de cámara húmeda

Se utilizaron tapers de plástico previamente desinfectados con alcohol al 70%, en cuyo interior se colocó papel toalla estéril humedecido junto con una placa de Petri en la base. Las muestras con síntomas fueron sometidas a un proceso de desinfección que incluyó lavado con agua corriente, posterior enjuague con agua estéril y secado con papel toalla estéril. Las muestras se colocaron sobre una placa de Petri para evitar el contacto con el papel húmedo; posteriormente, los recipientes fueron cerrados, rotulados y mantenidos a temperatura ambiente hasta la aparición de síntomas y signos del patógeno.

Aislamiento y purificación

Para el aislamiento del patógeno, se utilizaron las muestras de la cámara húmeda. Los micelios desarrollados fueron sembrados en placas de Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA) más antibiótico (tetraciclina), en la cámara de flujo laminar para evitar contaminación. Las placas fueron incubadas a 25 °C para favorecer el crecimiento fúngico. La purificación se realizó cinco días después, mediante la selección de colonias con característica macroscópicas propias del género *Alternaria*, las cuales fueron

resembradas en medio PDA e incubadas a la misma temperatura hasta obtener cultivos puros

Identificación morfológica

Una vez obtenidas las cepas purificadas, se procedió a su reconocimiento mediante observación microscópica a un aumento de 40x se utilizó para la clasificación a nivel de género se usó las claves descritas por Barnett & Hunter (1972) y por Ellis (1971). Para la identificación a nivel de especie se aplicaron la clave taxonómica de Simmons (2007). Para la caracterización se evaluó el color, textura superficial, forma de la colonia, el ratio de la colonia.

Para la caracterización microscópica se prepararon montajes para evaluar el color, así como la presencia, disposición y número de septos en las conidias, características esenciales para la identificación taxonómica. Además, mediante un microscopio acoplado a una pantalla digital, se realizaron mediciones de las conidias (largo y ancho).

Identificación molecular

Para el análisis molecular se seleccionó un aislamiento por cada grupo. La prueba molecular se realizó en el laboratorio Umbrella Genomics Company.

1. Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó utilizando el kit NucleoSpin® Microbial DNA (Macherey-Nagel), siguiendo el protocolo del fabricante. La fase de lisis se realizó con NucleoSpin® Bead Tube Type B. Luego, el lisado se añadió en las columnas denominadas 31 NucleoSpin® Microbial DNA Column y se continuó con los respectivos lavados indicados por el kit NucleoSpin® Microbial DNA.

2. Pre PCR

Se llevó a cabo mediante la amplificación de la región ITS, empleando los iniciadores universales ITS1(5' CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A 3') e ITS2 (3' CAG GAG ACT TGT ACA CGG TCC AG 5'). El programa térmico aplicado constó de 35 ciclos, organizados en tres etapas: desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos, hibridación a 56 °C por 30 segundos y extensión a 70 °C durante 60 segundos.

3. Electroforesis en gel.

La confirmación de los productos de amplificación se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5 %, cargando 5 µL de cada producto de PCR junto con el marcador molecular, seguida de una migración a 100 V durante 30 minutos y posterior visualización de las bandas de ADN bajo luz azul utilizando el sistema Gelato.

4. Secuenciamiento de ADN.

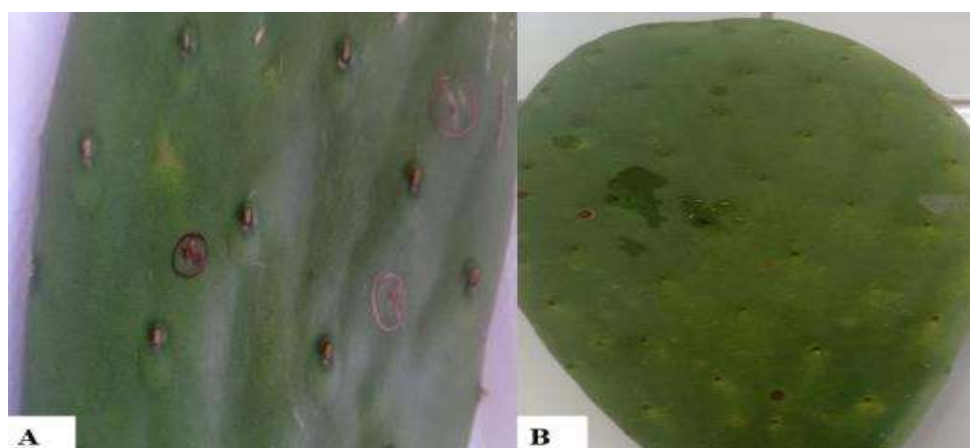
El secuenciamiento de los aislamientos se realizó mediante el método de Sanger. Los archivos generados (ab1) fueron procesados en Geneious Prime® 2024.0.5, donde se depuraron y alinearon las lecturas Forward y Reverse para obtener una secuencia consenso, la cual fue exportada en formato FASTA. Posteriormente, esta secuencia se comparó mediante BLAST+ (blastn) en la base de datos del NCBI, utilizando parámetros optimizados para secuencias altamente similares, con el fin de realizar la aproximación taxonómica.

Prueba de patogenicidad

Los cladodios fueron lavados con agua corriente y luego se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2% por inmersión, durante 5 minutos, luego se enjuagaron con agua estéril y se secaron con papel toalla estéril. Se marcó circunferencias con plumón indeleble en los cladodio. En las circunferencias marcadas se realizó heridas con un estilete esterilizado, para posteriormente inocular con las estructuras del patógeno. Los cladodios inoculados fueron colocados en cámaras húmedas a temperatura ambiente. Las observaciones se hicieron diariamente hasta la aparición de síntomas.

Figura 3. 12.

Presencia de costras en la superficie de las manchas cloróticas



Nota: A. Costras en la superficie de las manchas cloróticas, B. Cladodio con presencia de manchas cloróticas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento

De los 50 cladodios se obtuvo 50 aislamientos (Figura 3.9) pertenecientes al género *Alternaria*. Con el resultado obtenido podemos deducir que hay una alta presencia de este hongo en los cladodios extraídos. Este resultado se asemeja con lo reportado por Montiel et al. (2021), quienes aislaron cepas de *Alternaria* de muestras que presentaban síntomas del agente causal de la mancha dorada en el cultivo de tuna.

Figura 3.9.

Cepas aisladas de Alternaria spp. en cultivo de tuna



Nota: I: Inia, H: Huanta, SM: San Miguel.

Caracterización morfológica

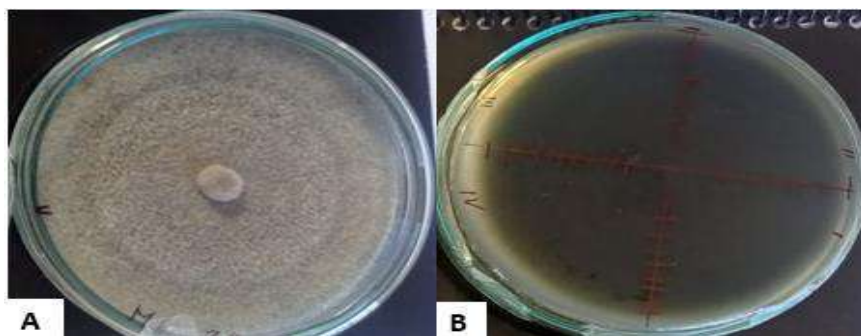
Teniendo en cuenta las características morfológicas se formaron cuatro grupos.

Grupo I

Los aislamientos del grupo I son: I-M4, H-M3, H-M4, H-M6, H-M9, H-M14, H-M19; estos aislamientos presentaron colonias de color gris claro y textura algodonosa. Los resultados obtenidos coinciden con lo descrito por Yessimseitova et al. (2025) quienes indican que las colonias de *Alternaria* sp. presentan una coloración gris claro y textura algodonosa.

Figura 3. 1.

Caracterización macroscópica del aislamiento H-M6

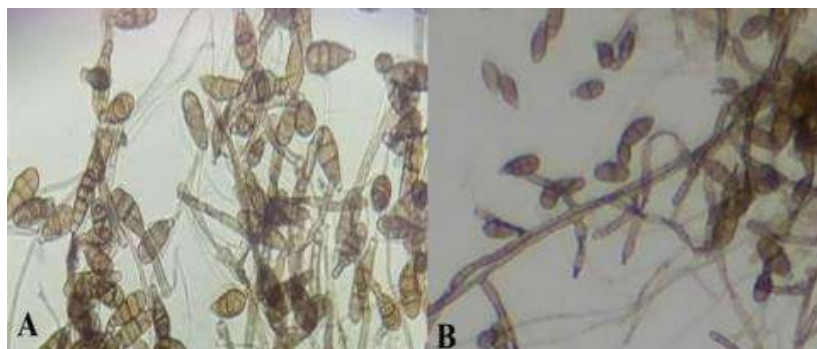


Nota. A. Colonia de color gris claro. B. Reverso color oscuro.

Microscópicamente los aislamientos del grupo I tienen conidios en forma obclavada con un tamaño de 22.1-25.35 x 10.20-12.2 μm . (Figura 3.2) con presencia de septos transversales (2-5) y longitudinales (4-5) con hifas septadas. Tal como mencionan Chang et al. (2022), Valdés et al. (2014), Saleem et al. (2022), Barnett & Hunter (1972).

Figura 3. 2.

Caracterización microscópica del aislamiento H-M6



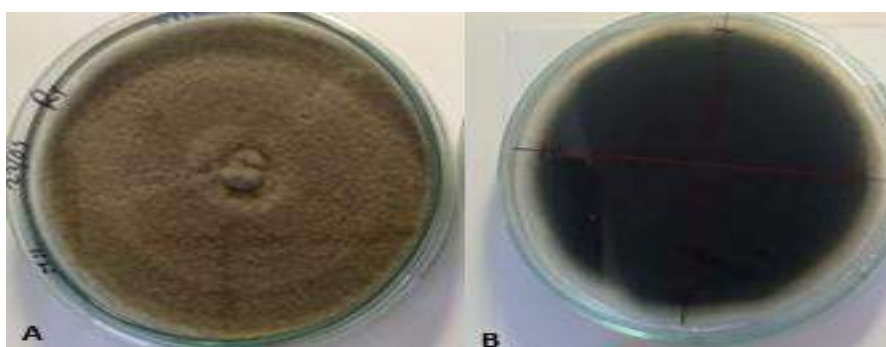
Nota. A. Conidias maduras de *Alternaria* spp. B. Hifas septadas.

Grupo II

Los aislamientos que conforman en el grupo II son: I-M3, I-M7, I-M8, I-M9, I-M11, I-M12, I-M14 I-M15, H-M1, H-M2, H-M5, H-M8, H-M11, H-M12, H-M15, H-M20, SM-1, SM-M3, SM-M5, SM-M6, SM7, SM-12, SM-13, los aislamientos de este grupo presentaron una coloración verde olivo de textura algodonosa (Figura 3.3). Este resultado es similar a lo reportado Sha et al. (2026) quienes aislaron cepas de *Alternaria* en ciruelos, donde las colonias inicialmente fueron blanco a verde olivo pálido y posteriormente se tornan verde oscuro a marrón.

Figura 3. 3.

Caracterización macroscópica del aislamiento I-M11

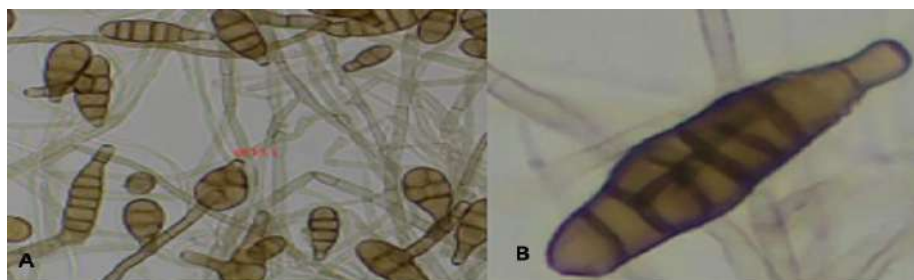


Nota. A. Colonia de color verde olivo. B. Reverso color oscuro.

El tamaño de los conidios fueron de $22.3\text{--}45.6 \times 9.5\text{--}12.2$ μm de color verde olivo, obclavada con septos transversales (3-5) y septos longitudinales (1-3) (Figura 3.4) tal como lo mencionan Yang et al. (2019), Kaur et al. (2019), Rahimloo & Ghosta (2015). Asimismo, Peláez et al. (2014) identificaron cepas de *Alternaria* en plantas de lirio, cuyas medidas de los conidios fue: $23\text{--}36 \times 9\text{--}12$ μm septos transversales (2-6) y longitudinales (0-2) determinando así la especie *Alternaria alstroemeriae*.

Figura 3. 4.

Caracterización microscópica del aislamiento I-M11



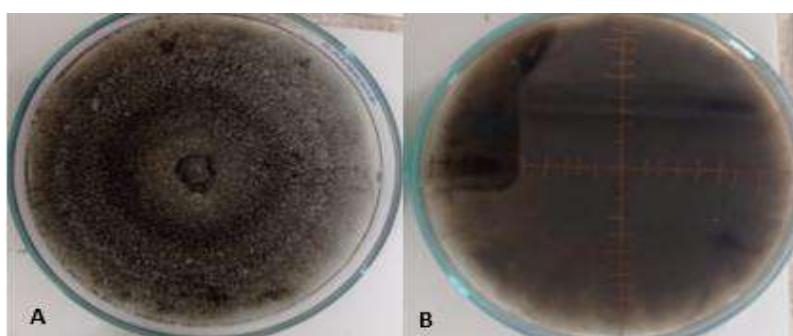
Nota. A. Conidios maduros e hifas septadas. B. Observación de conidias a 40x de aumento.

Grupo III

Los aislamientos que conforman en el grupo III (I-M1, I-M2, IM5, I-M6, I-M10, I-M13, H-M7, H-M10, H-M13, H-M16, H-M17, H-M18 y SM-M2, SM-M8, SM-M9, SM-M10, SM-M11, SM-M14, SM-M15) presentaron una coloración gris oscuro y textura algodonosa (Figura 3.5). Fabrega et al. (2012) menciona que las colonias de *Alternaria* presentaban una coloración gris o de color humo a menudo cubiertas ligeramente por hifas aéreas coloreadas.

Figura 3. 5.

Caracterización macroscópica del aislamiento H-M13



Nota. A. Colonia de color gris oscuro. B.Reverso color oscuro.

Microscópicamente conidios con medidas de 18.2-22.4x 8.74-10.2 um de color gris oscuro, ovoide con septos transversales (2-4) y de septos longitudinales (2-5) (Figura 3.6) tal como lo mencionan Condori (2021), Montiel-Salero et al. (2021). Además, Li et al. (2023) menciona que la morfología microscópica de *Alternaria* tiene hifas septadas oscuras y conidios multicelulares, con septaciones transversales y longitudinales, de color marrón claro a oscuro.

Figura 3. 6.

Caracterización microscópica del aislamiento H-M13



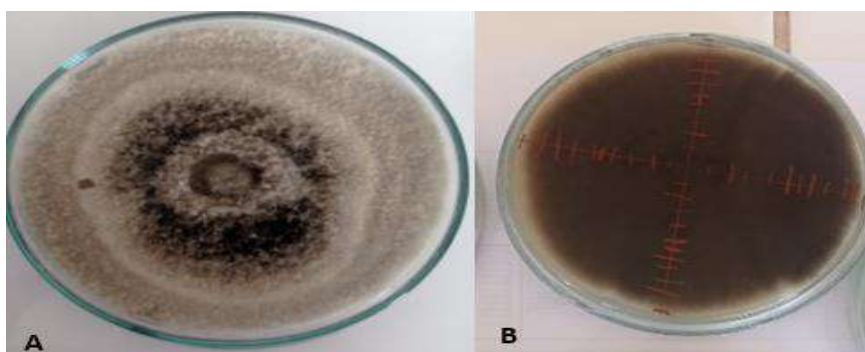
Nota. C. Conidias madura e inmaduras. D: Observación de conidia madura.

Grupo IV

El grupo IV conformado por un aislamiento SM-M4 macroscópicamente, mostró una coloración inicial crema, que posteriormente desarrolló tonalidades verde olivo en la superficie debido a la producción de estructuras reproductivas y pigmentación del micelio (Figura 3.7). Asimismo, Fonseca et al. (2023) caracterizaron aislamientos de *Alternaria* indicando textura algodonosa y crecimiento micelial oscuro con pigmentación olivácea típica del género.

Figura 3. 7.

Caracterización macroscópica del aislamiento SM-M4

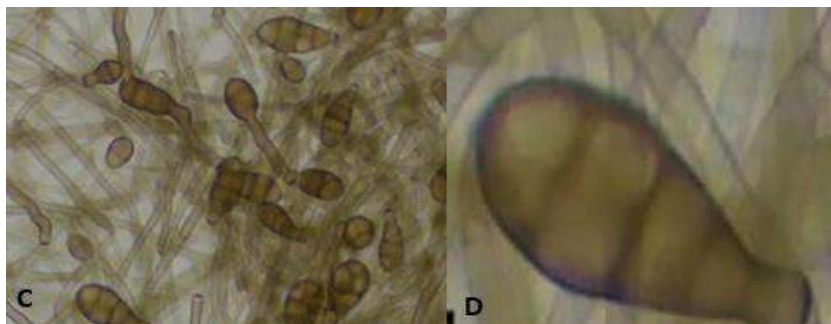


Nota. A. Colonia de color crema con verde olivo. B. Reverso color marrón claro.

Microscópicamente, los conidios fueron de forma ovoide de medida 30.4-37.1x 9.74-12.4 um, con coloración crema olivácea, multicelulares y con septos transversales (2-4) y longitudinales (2-3) (Figura 3.8). Las características microscópicas observadas coincidieron con las descripciones realizadas por Simmons (2007), Simmons (2007), Zhang et al. (2025), Barnett y Hunter (1972), Sha et al. (2026) quienes reportan conidios muriformes, pigmentados y con septaciones longitudinales y transversales en *Alternaria*.

Figura 3. 8.

Caracterización microscópica del aislamiento SM-M4



Nota. C: Conidias maduras e inmaduras. D: Conidia madura.

Tabla 3. 1.*Características morfológicas de las 50 cepas de Alternaria spp.*

Código	Forma	Conidios Color	N° de septos Transv.	N° de septos Long.	Micelio	Textura	Colonia Color	Forma	TC
I-M1	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.42
I-M2	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.55
I-M3	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.64
I-M4	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	C.L	2.57
I-M5	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.71
I-M6	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.35
I-M7	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.37
I-M8	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.54
I-M9	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.36
I-M10	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.36
I-M11	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.39
I-M12	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.36
I-M13	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	C.L	2.56
I-M14	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.48
I-M15	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	C.L	2.39
H-M1	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde oscuro	R	2.49
H-M2	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.52
H-M3	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.24
H-M4	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.74
H-M5	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.67
H-M6	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.63
H-M7	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.65
H-M8	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.40

H-M9	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.37
H-M10	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.26
H-M11	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde oscuro	R	2.60
H-M12	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.47
H-M13	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.58
H-M14	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.42
H-M15	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.71
H-M16	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.60
H-M17	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.70
H-M18	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.65
H-M19	Obclavada	Gris claro	2-5	4-5	Septado	Algodonoso	Gris claro	R	2.42
H-M20	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.60
SM-M1	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.47
SM-M2	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Lanoso	Gris oscuro	R	2.83
SM-M3	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.75
SM-M4	Ovoide	Crema y verde	2-4	2-3	Septado	Algodonoso	Crema y verde	R	2.88
SM-M5	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.73
SM-M6	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde oscuro	R	2.69
SM-M7	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde oscuro	R	2.76
SM-M8	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.83
SM-M9	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.66
SM-M10	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.88
SM-M11	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.52
SM-M12	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.76
SM-M13	Obclavada	Verde olivo	3-5	1-3	Septado	Algodonoso	Verde olivo	R	2.61
SM-M14	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.74
SM-M15	Ovoide	Gris oscuro	2-4	2-5	Septado	Algodonoso	Gris oscuro	R	2.69

Identificación molecular de las cepas aisladas

1. Visualización del gel de electroforesis correspondiente al gen ITS

La figura 3.10 muestra los productos de PCR empleando los cebadores ITS1/ ITS4 se puede observar la amplificación de fragmentos de ADN de 600 pb y 700 pb, obtenido a partir de ADN extraído de los micelios fúngicos de las muestras.

Figura 3. 9.

Productos de PCR amplificados para región ITS



2. Secuenciamiento

Tabla 3. 2.

Identificación a nivel especie de *Alternaria* spp.

Nombre científico	Total Score	%Identidad	Código	Grupo
<i>Alternaria alstroemeriae</i>	804	100.00%	I-M11	II
<i>Alternaria destruens</i>	763	99.50%	H-M13	III
<i>Alternaria doliconidium</i>	976	99.81 %	SM-M4	IV

Mediante la caracterización molecular, se logró identificar tres especies de *Alternaria* (Tabla 3.5). La muestra I-M11 (grupo II) fue determinada como *Alternaria alstroemeriae*, mostrando un 100% de similitud con secuencias de referencia. La muestra H-M13 (grupo III) se identificó como *Alternaria destruens*, con un 99,5% de coincidencia. Por su parte, la muestra SM-M4 correspondió a *Alternaria doliconidium* (grupo IV) con un 99.8 % de similitud, con las secuencias disponibles en bases de datos genéticas.

Prueba de patogenicidad

Diez días después de la inoculación con *Alternaria* spp. en cladodios de tuna, inoculados con los 50 aislamientos de *Alternaria* spp. se observaron los primeros síntomas en todas las muestras evaluadas, los cuales se manifestaron como clorosis alrededor del punto de inoculación (Figura 3.11). Las lesiones presentaron un contorno irregular, aumentando progresivamente de tamaño con el transcurso del tiempo, luego se observaron las manchas cloróticas en el cladodio (Figura 3.12). Determinó una incidencia del 100% (Tabla 3.6). Estos resultados coinciden con lo reportado por Vázquez (2017), Orólaza et al. (2022) y Rodríguez et al. (2019), quienes mencionan que *Alternaria* produce lesiones necróticas y clorosis en diferentes hospedantes, especialmente en cultivos de solanáceas.

Figura 3. 10.

Presencia de costras en la superficie de las manchas cloróticas



Nota: A. Costras en la superficie de las manchas cloróticas, B. Cladodio con presencia de manchas cloróticas.

Tabla 3.6.

Incidencia de Alternaria spp. en cladodios de tuna inoculados con las 50 cepas aisladas.

Aislamientos	Cladodios inoculados	Puntos de inoculación	Puntos con síntomas	Incidencia (%)
Grupo I	1	5	5	100
Grupo II	1	5	5	100
Grupo III	1	5	5	100
Grupo IV	1	5	5	100

Figura 3. 11.

Prueba de patogenicidad en cladodios de tuna



Nota. (*). Prueba de patogenicidad en cladodios de tuna que muestran manchas cloróticas a los diez días después de la inoculación.

CONCLUSIONES

1. Se aisló un total de 50 cepas del agente causal de la mancha dorada en tuna, del germoplasma del instituto nacional de innovación agraria, Huanta y San Miguel.
2. Con base en las características morfológicas observadas en los 50 aislamientos, las colonias fueron de gris a verde olivo con textura algodonosa, con septos transversales (2-5) y longitudinales (2-5), hifas septadas y el tamaño de conidias fue de 17.2-45.6 x 8.7-12.2 um, se determinó que el agente causal de la mancha dorada en el cultivo de tuna corresponde a hongos del género *Alternaria* spp.
3. Mediante pruebas moleculares se identificó el género y especie del agente causal de la mancha dorada, las especies identificadas fueron *Alternaria alstroemeriae* (I-M11), *Alternaria destruens* (H-M13), *Alternaria doliconidium* (SM-M4), con un porcentaje de identidad de 100%,99.5%,99.81%, pertenecientes al grupo II, III, IV respectivamente.
4. En la prueba de patogenicidad el porcentaje de incidencia fue 100%, lo que confirma que *Alternaria* es el agente causal de la mancha dorada.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- Barnett, H., & Hunter, B. (1972). *Géneros ilustrados de hongos imperfectos*. Burgess Publishing Company.
- Chang, C., Lee, Y., Hsiao, G., Chang, L., Chi, W., Cheng, Y., Huang, S., Wang, T., Lu, Y., & Lee, T. (2022). Anti-Epstein–Barr Viral Agents from the Medicinal Herb-Derived Fungus *Alternaria alstroemeriae* Km2286. *Journal of Natural Products*, 85(11), 2667-2674. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00783>
- Condori, C. M. P. (2021). Caracterización física y química de la tuna (*Opuntia ficus indica*) en el municipio de Luribay, La Paz – Bolivia. *Agro-Vet*, 5(1), 5-13. https://doi.org/http://revistasbolivianas.umsa.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2523-20372021000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Espinoza, M., Rivera , Á., Rivas, F., & Leiva, M. (2023). Identificación y caracterización morfológica de hongos asociados a daños en tuna (*Opuntia ficus-indica*), en la provincia de Chimborazo, Ecuador. *Bionatura*, 8(3), 1-10. <https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.03.14>

- Fabrega, A., Calvo, Y., & Agut, M. (2012). El género *Alternaria*: características morfológicas y capacidad de producción de micotoxinas. *Real Academia de Doctores*, 6, 357-367.
- Kaur, J., Sharma, A., Sharma, M., Kumari Manhas, R., Kaur, S., & Kaur, A. (2019). Effect of α -glycosidase inhibitors from endophytic fungus *Alternaria destruens* on survival and development of insect pest *Spodoptera litura* Fab. And fungal phytopathogens. *Scientific Reports*, 9(1), 11400. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47838-6>
- Li, J.-F., Jiang, H.-B., Jeewon, R., Hongsan, S., Bhat, D. J., Tang, S.-M., Lumyong, S., Mortimer, P. E., Xu, J.-C., Camporesi, E., Bulgakov, T. S., Zhao, G.-J., Suwannarach, N., & Phookamsak, R. (2023). *Alternaria*: Update on species limits, evolution, multi-locus phylogeny, and classification. *Studies in Fungi*, 8(1), 1-61. <https://doi.org/10.48130/SIF-2023-0001>
- Montiel-Salero, D., Jiménez-Aguilar, A., Ramírez-Sánchez, S. E., Ruiz-Juárez, D., Guerrero-Andrade, O., Segundo-Pedraza, E., Olivares-Orozco, J. L., Ramos-López, M. Á., & Flores-Macías, A. (2021). First report of *Alternaria alternata* causing the golden spot in xoconostle (*Opuntia matudae*) in Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 40(1). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2107-3>
- Morales, P., Barros, L., Ramírez, M., Santos, B., & Ferreira, I. (2015). Xoconostle fruit (*Opuntia matudae* Scheinvar cv. Rosa) by-products as potential functional ingredients. *Food Chemistry*, 185, 289-297.
- Odilbekov, F., Edin, E., Mostafanezhad, H., Coolman, H., Grenville-Briggs, L. J., & Liljeroth, E. (2019). Within-season changes in *Alternaria solani* populations in potato in response to fungicide application strategies. *European Journal of Plant Pathology*, 155(3), 953-965. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01826-8>
- Rahimloo, T., & Ghosta, Y. (2015). The occurrence of *Alternaria* species on cabbage in Iran. *Zemdirbyste-Agriculture*, 102(3), 343-350. <https://doi.org/10.13080/z-a.2015.102.044>
- Ruero, H. (2006). *Agentes microbianos asociados a enfermedades en Opuntia spp. «tuna». Ayacucho 2001-2002*. UNSCH.
- Sha, S., Han, Q., Li, H., Gao, W., Ma, J., Xu, L., Fu, C., & Xie, P. (2026). Identification and Multigene Phylogenetic Analysis Reveal *Alternaria* as the Primary Pathogen Causing European Plum (*Prunus domestica*) Brown Spot in Xinjiang, China. *Journal of Fungi*, 12(1), 69. <https://doi.org/10.3390/jof12010069>

- Valdés, I., Rodríguez, J., Portela, A., & Jiménez, P. (2014). First report of *Alternaria alstroemeriae* on *Alstroemeria* sp. In Colombia. *New Disease Reports*, 29(1), 21-21. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.029.021>
- Yang, X., Ma, Y., & Cheng, T. (2019). Primer informe de *Alternaria destruens* como causante de manchas foliares en *Ligustrum sinense* en China. *Facultad de Sanidad Vegetal y Medicina, Laboratorio Clave de Manejo Integrado de Plagas de Cultivos de la Provincia de Shandong, Universidad Agrícola de Qingdao, Qingdao*.
- Yessimseitova, A., Abdrakhmanova, A., Tokbergenova, Z., Abdullaeva, B., Muranets, A., Nurtaza, A., & Kakimzhanova, A. (2025). Identification and Characterization of *Alternaria* Species Causing Early Blight on Tomato in Kazakhstan. *Agronomy*, 15(5), 1251. <https://doi.org/10.3390/agronomy15051251>
- Zhang, L., Zhang, B., Shao, L., Yang, M., Zhao, X., Wang, Z., Zhang, Y., Li, Y., Wang, Y., Hu, Y., & Li, P. (2025). Genome Analysis of *Alternaria alstroemeriae* L6 Associated with Black Spot of Strawberry: Secondary Metabolite Biosynthesis and Virulence. *Journal of Fungi*, 11(10), 710. <https://doi.org/10.3390/jof11100710>