



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
SEDE ORELLANA
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

**EVALUACIÓN IN VITRO DE AISLADOS DE *Trichoderma*
spp. SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Alternaria sp.*, EN
Selenicereus sp. (PITAHAYA), EN LA JOYA DE LOS
SACHAS.**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de investigación

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERA AGRÓNOMA

AUTORA: JESSENIA ISAMAR JIMÉNEZ CUMBICUS

DIRECTORA: Ing. AMANDA ELIZABETH BONILLA BONILLA MSc.

El Coca-Ecuador

2022

©2022, Jessenia Isamar Jiménez Cumbicus

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, JESSENIA ISAMAR JIMÉNEZ CUMBICUS declaro que el presente trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados. Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

El Coca, 18 de enero del 2022



Jessenia Isamar Jiménez Cumbicus

C.I: 220035793-3

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación. “**EVALUACIÓN IN VITRO DE AISLADOS DE *Trichoderma spp.* SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Alternaria sp.*, EN *Selenicereus sp.* (PITAHAYA), EN LA JOYA DE LOS SACHAS.**”, realizado por la señorita: **JESSENIA ISAMAR JIMÉNEZ CUMBICUS**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Daniel Adrián Vistin Guamantaqui PhD. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	 DANIEL ADRIAN VISTIN GUAMANTAQUI	2022-01-18
Ing. Amanda Elizabeth Bonilla Bonilla MSc. DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	 Firmado electrónicamente por: AMANDA ELIZABETH BONILLA BONILLA	2022-01-18
Ing. Daniel Arturo Román Robalino MSc. MIEMBRO DEL TRIBUNAL	 Firmado electrónicamente por: DANIEL ARTURO ROMAN ROBALINO	2022-01-18

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a mis padres: Álvaro Jiménez y Amalia Cumbicus; hermanas: Cindy Jiménez y Daniela Jiménez, quienes han sido el ente moral más importante para que yo haya tomado la iniciativa de superarme, por su confianza, amor y apoyo en todo momento, siendo ellos los que me inspiran para seguir adelante y lograr cumplir todas mis metas propuestas, así mismo a todos mis familiares quienes me han dado su apoyo incondicional en todo momento.

Jessenia

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios primeramente por haberme dado la vida y permitirme llegar hasta este ciclo de mi vida profesional. A mis queridos padres, por ese apoyo incondicional que me brindan día a día y por la confianza depositada en mí.

Le expreso un profundo agradecimiento a la noble Institución: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuaria, Estación Experimental Central de la Amazonía (INIAP-EECA), por haberme permitido realizar mi investigación en el Departamento de Protección Vegetal; al Ing. Jimmy Pico, Sr. Víctor Merizalde, quienes, con sus valiosos consejos, paciencia, palabras de motivación, disponibilidad y conocimiento supieron guiarme de la mejor manera, para la culminación del trabajo investigativo.

A la Ing. Amanda Bonilla e Ing. Daniel Román por haberme compartido todos sus conocimientos, por su paciencia, el apoyo durante el desarrollo de la investigación y haberme guiado en los momentos más indispensables.

A la Prestigiosa Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por haberme brindado una profesión y permitirme llegar a ser una profesional capaz y competente.

Jessenia

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	5
1.1. Antecedentes de la investigación.....	5
1.2. Pitahaya (<i>Selenicereus</i> sp.).....	6
1.2.1. Distribución y origen de la pitahaya.....	6
1.2.2. Situación nacional (Ecuador).....	7
1.2.3. Taxonomía.....	7
1.2.4. Morfología de la planta.....	8
1.2.5. Plagas y enfermedades.....	9
1.3. Hongo <i>Alternaria</i> sp.....	10
1.3.1. Taxonomía del patógeno.....	10
1.3.2. Huésped de <i>Alternaria</i> sp.....	11
1.3.3. Sintomatología.....	11
1.3.4. Morfología.....	12
1.3.5. Características microscópicas.....	12
1.3.6. Ciclo de la enfermedad.....	13
1.4. Manejo integrado del patógeno.....	14
1.5. Control biológico.....	14
1.6. Hongo <i>Trichoderma</i> spp.....	15
1.6.1. Taxonomía de <i>Trichoderma</i> spp.....	15
1.6.2. Morfología.....	16
1.6.3. Características microscópicas.....	16
1.6.4. Ciclo de <i>Trichoderma</i> spp.....	17
1.6.5. Condiciones de crecimiento.....	17
1.6.6. Mecanismos de regulación biológica.....	18

1.7.	Medios de cultivo en microorganismos.....	20
1.7.1.	<i>Clasificación de medios de cultivo</i>	20
1.7.2.	<i>Requerimientos nutricionales para la germinación de hongos.</i>	21
1.7.3.	<i>Requerimientos nutricionales para la esporulación del hongo.</i>	21
1.8.	Medios de cultivo para <i>Alternaria</i> sp.	21
1.8.1.	<i>Medios de cultivo utilizados para Alternaria sp.</i>	22

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	25
2.1.	Características del lugar	25
2.1.1.	<i>Localización del estudio</i>	25
2.1.2.	<i>Ubicación geográfica</i>	25
2.1.3.	<i>Características climatológicas</i>	25
2.2.	Materiales y equipos.....	25
2.3.	Metodología.....	26
2.3.1.	<i>Factores en estudio</i>	26
2.3.2.	<i>Unidad experimental</i>	26
2.3.3.	<i>Tratamientos</i>	26
2.4.	Métodos de evaluación	28
2.5.	Manejo específico del experimento	29
2.6.	Diseño experimental	30
2.7.	Análisis estadístico	30
2.8.	Análisis funcional.....	31

CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
3.1.	Crecimiento de colonia de <i>Alternaria</i> sp. en medios de cultivos	32
3.2.	Número de conidios de <i>Alternaria</i> sp. en medios de cultivo.....	34
3.3.	Crecimiento de aislados de <i>Trichoderma</i> spp.....	35
3.4.	Porcentaje de inhibición.....	37
3.5.	Micoparasitismo de <i>Trichoderma</i> spp. sobre <i>Alternaria</i> sp.....	38

CONCLUSIONES	40
RECOMENDACIONES	41
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Hospederos de <i>Alternaria</i> sp.	11
Tabla 2-1:	Fórmula del medio papa dextrosa agar (PDA)	22
Tabla 3-1:	Composición de Agar Sabouraud	23
Tabla 4-1:	Composición de medio extracto de malta.....	23
Tabla 5-1:	Formulación del medio de cultivo harina de maíz	23
Tabla 6-1:	Composición del extracto de pencas de pitahaya	24
Tabla 7-2:	Descripción de los tratamientos de estudio	27
Tabla 8-2:	Descripción de tratamientos de estudio	27
Tabla 9-3:	Efecto de los aislados de <i>Trichoderma</i> spp. sobre <i>Alternaria</i> sp. en condiciones controladas	37
Tabla 10-3:	Micoparasitismo de aislados de <i>Trichoderma</i> spp. sobre <i>Alternaria</i> sp. en condiciones controladas	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Estructura microscópica de <i>Alternaria</i> sp.	13
Figura 2-1: Estructura microscópica de <i>Trichoderma</i> spp.	17

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: Crecimiento de colonia de <i>Alternaria</i> sp. en diferentes medios de cultivos	32
Gráfico 2-3: Evaluación del crecimiento de colonia del aislado de <i>Alternaria</i> sp. a través del tiempo	33
Gráfico 3-3: Número de conidios de <i>Alternaria</i> sp. en los diferentes medios de cultivo	34
Gráfico 4-3: Número de conidios producidos por el aislado <i>Alternaria</i> sp. evaluado a través del tiempo	35
Gráfico 5-3: Crecimiento de los aislados de <i>Trichoderma</i> spp. en el medio de cultivo agar más frijol	36

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVOS

ANEXO B: DISPENSADO DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS

ANEXO C: IDENTIFICACIÓN MICROSCÓPICA DE ESTRUCTURAS DE *Alternaria* sp.

ANEXO D: SIEMBRA DE *Alternaria* sp. EN LOS MEDIOS DE CULTIVO A EVALUAR

ANEXO E: CRECIMIENTO DE *Alternaria* sp. EN EL MEDIO AGAR MÁS FRIJOL

ANEXO F: CRECIMIENTO DE *Alternaria* sp. EN EL MEDIO PDA MÁS EXTRACTO DE
PITAHAYA

ANEXO G: CRECIMIENTO DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp. AL TERCER DÍA

ANEXO H: INHIBICIÓN DE *Alternaria* sp. A *Trichoderma* spp.

ANEXO I: MICOPARASITISMO DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp. HACIA *Alternaria* sp.

ANEXO J: REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

INIAP	Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias
FAO	La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
ha	Hectárea
PRO-ECUADOR	Instituto de promoción de exportaciones e inversiones
Tm	Tonelada
t	Tonelada
cm	Centímetro
m²	Metro cuadrado
kg	Kilogramo
mm	Milímetro
°C	Grado Celsius
μ	Micro
pH	Potencial de Hidrógeno
μm	Micrómetro
g	Gramos
MAG	Ministerio de Agricultura y Ganadería
OIRSA	Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria

RESUMEN

El presente estudio trata sobre la evaluación de aislados de *Trichoderma* spp., sobre el crecimiento de colonias de *Alternaria* sp., para seleccionar aislados con capacidad de biocontrol a *Alternaria* sp., mediante pruebas de confrontación en condiciones in vitro. Se realizó la evaluación de 30 aislados del género *Trichoderma* y seis medios de cultivo, así mismo se aisló *Alternaria* sp. de pencas de pitahaya, que mostraron síntomas de la enfermedad. Se empleó un diseño completamente al azar con tres repeticiones en la variable capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. y cinco repeticiones en la evaluación de los medios de cultivo. En los ensayos se evaluaron las variables crecimiento, medios de cultivos y número de conidios de *Alternaria* sp.; porcentaje de inhibición y capacidad antagónica que presentan los aislados de *Trichoderma* spp. Para el análisis estadístico se utilizaron modelos lineales generales y mixtos. Con base en los resultados obtenidos el medio de cultivo agar más frijol (T1), presentó un crecimiento de colonia de *Alternaria* de 3,02cm y número de conidios de 284, evaluados en los días 5, 7, 10 y 13; el cual difiere del resto de tratamientos. En la variable capacidad antagónica los aislados de *Trichoderma* spp. evaluados al quinto día, presentaron micoparasitismo los aislados T14, T21 y T26 con el 100% de colonización del patógeno in vitro; concluyendo que al menos tres aislados de *Trichoderma* spp. tienen capacidad de biocontrol sobre la colonia de *Alternaria* sp. Se recomienda evaluar las pruebas de inhibición y parasitismo en invernadero y campo.

Palabras clave: <HONGO (*Trichoderma* sp.)>, <HONGO (*Alternaria* sp.)>, <CONIDIOS>, <CAPACIDAD ANTAGÓNICA>, <PATÓGENO>, <PITAHAYA (*Selenicereus* sp.)>, <MEDIOS DE CULTIVO>.

LEONARDO
FABIO
MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por
LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN):
c=EC, o=BANCO CENTRAL DEL
ECUADOR, ou=ENTIDAD DE
CERTIFICACION DE
INFORMACION-ECIBCE, l=QUITO,
serialNumber=0000621485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA
NUSTE
Fecha: 2021.09.09 14:04:47 -05'00'



1770-DBRA-UTP-2021

ABSTRACT

The present study deals with the evaluation of *Trichoderma* isolates spp. on the growth of *Alternaria* sp. colonies, to select isolates with biocontrol capacity against *Alternaria* sp. of *Alternaria* sp. colonies, to select isolates with biocontrol capacity to *Alternaria* sp. sp., by means of confrontation tests under in vitro conditions. The evaluation of 30 isolates of the genus *Trichoderma* spp. isolates of the genus *Trichoderma* and six culture media were evaluated. *Alternaria* sp. was isolated from pitahaya stalks, which showed symptoms of the disease. A completely randomized design with three was used a completely randomized design with three replicates in the variable antagonistic capacity of *Trichoderma* spp. and five replicates in the evaluation of the culture media. In the trials, the following variables were evaluated the variables growth, culture media and number of *Alternaria* sp. conidia; percentage of inhibition and antagonistic of inhibition and antagonistic capacity presented by the isolates of *Trichoderma* spp. were evaluated. general linear and mixed models were used for the statistical analysis. Based on the results obtained the medium of culture agar plus bean (T1), presented a growth of colony of *Alternaria* of 3.02cm and of 3.02 cm and number of conidia of 284, evaluated on days 5, 7, 10 and 13, which differed from the rest of the treatments. differed from the rest of the treatments. In the variable antagonistic capacity, the isolates of *Trichoderma* spp. evaluated on the fifth day of the treatment. spp. evaluated at the fifth day, presented mycoparasitism the isolates T14, T21 and T26 with 100% of colonization of the pathogen. 100% of colonization of the pathogen in vitro; concluding that at least three isolates of *Trichoderma* spp. *Trichoderma* spp. have biocontrol capacity on the *Alternaria* sp. colony. to evaluate the inhibition and parasitism tests in greenhouse and field.

Key words: <FUNGI (*Trichoderma* sp.)>, <FUNGI (*Alternaria* sp.)>, <CONIDIA>, <ANTAGONIC CAPACITY>, <PATHOGEN>, <PITAHAYA (*Selenicereus* sp.)>, <CULTURE MEDIA>.



Firmado electrónicamente por:

**NANCY DE LAS
MERCEDES BARRENO
SILVA**

INTRODUCCIÓN

La producción de pitahaya a nivel mundial, aumentado en los últimos años, con un estimado de 10 345 ha, reflejándose en los países asiáticos (Tailandia y Vietnam) y América Latina (Ecuador, México, Nicaragua y Colombia) (Muñoz, 2014, p. 8; FAO, 2012, p. 2). En Latinoamérica, Colombia es uno de los países pionero en la exportación y producción de pitahaya, seguido de Ecuador y México (Muñoz, 2018, p. 7). Las provincias productoras en Ecuador son: Pastaza, Pichincha, Loja, Los Ríos y Morona Santiago; con una producción de 344 Tm, siendo el cantón Palora la principal zona de cultivo (Huachi et al., 2015, p. 52; PRO ECUADOR, 2016, p. 5).

En el Cantón Palora la pitahaya es exportada a la Unión Europea, Asia y Estados Unidos, referente a la información obtenida por el Ministerio de Agricultura y ganadería (MAG, 2018, párr. 2), en dicho año se exporto una cantidad de 7 499 t de fruta, lo que ha permitido el desarrollo social y económico de este sector. La alta demanda de pitahaya a nivel mundial y el aumento de enfermedades causadas por diversos hongos; siendo uno de estos el patógeno *Alternaria* sp. que altera la morfología de varios cultivos, ha ocasionado que el sector agrícola aplique cantidades exageradas de insecticidas y funguicidas, con el propósito de evadir perdidas y obtener mayor producción.

Entre los fitopatógenos existentes en el cultivo de pitahaya que ocasionan perdidas en su producción, se encuentra el hongo *Alternaria* sp, responsable de la presencia de manchas de color café rojizo que se convierte en sarna, tanto en pencas y frutos, por medio del bloqueo en el crecimiento de estructuras de aristas y aureolas, en cuanto al fruto se presenta con un aspecto de cubierta por toda la corteza de la fruta, perjudicando a su exportación (Suárez, Pico y Delgado, 2019, p. 53).

La alteración de ecosistemas y el impacto ambiental originario por el control químico, ha generado la residualidad en frutas y hortalizas, perjudicando la salud del ser humano a largo plazo. Dicha problemática ha llevado el uso de alternativas biológicas existentes en la naturaleza, teniendo como función controlar la enfermedad, esté control es amigable con el ambiente; encontrándose el género *Trichoderma* que posee capacidad de ejercer micoparasitismos en una gran variedad de hongos patógenos, como lo es *Alternaria* sp., así mismo, tiene gran adaptabilidad en diversos ambientes, medios de cultivo y produce metabolitos, que le permiten ejercer biocontrol (Martínez, Infante y Reyes, 2013, p. 2; Chauca, 2018, p. 1).

Con el propósito de dotar información referente al uso de control biológico, el Departamento de Protección Vegetal, de la Estación Central de la Amazonía (INIAP), aisló hongos del género *Trichoderma* in vitro, procedentes de plantaciones de pitahaya del cantón Palora, con posible capacidad antagónica de *Alternaria* spp (sarna en pencas y frutos). A partir de estos aislados, el objetivo del presente estudio es evaluar aislados de *Trichoderma* spp., con capacidad de

biocontrol para inhibir y controlar colonias de *Alternaria* sp., mediante pruebas de confrontación en condiciones in vitro.

Problema

Menciona Esquivel and Quesada (2012, p. 114), que a nivel mundial el cultivo de pitahaya ha logrado alcanzar gran importancia económica por el valor nutricional que posee su fruta. Pavón *et al.* (2012, p. 1773), sostienen que el género *Alternaria* produce fitotoxinas que perjudican dicho cultivo durante su ciclo vegetativo, afectando el rendimiento en su cosecha y causando enormes pérdidas económicas. En Latino América dicha enfermedad *Alternaria* ha afectado en las exportaciones. En Ecuador el cultivo de pitahaya se ha convertido en un producto, que ha aumentado en la última década su producción y exportación en los mercados internacionales, sin embargo, no está libre de la agresividad del hongo *Alternaria* sp. en pencas y frutos que ha ocasionado la presencia de 10^5 conidias con un daño de 4.44 cm en la fruta perjudicando la comercialización de este producto (Valencia *et al.*, 2016, p. 813).

En el Cantón Palora se calcula que en un área de 10 000 m² de cultivo de pitahaya se obtiene por año 30 000 kg de producción. En dicha zona el cultivo presenta una alta incidencia de la enfermedad sarna cuyo agente causal es *Alternaria* sp., originando la obstrucción en el crecimiento de nuevas vainas; no obstante en un bajo manejo el patógeno puede ocasionar un 80% de daños en el cultivo (Pico *et al.*, 2019, p. 66; Vargas, Pico y Caicedo, 2019, p. 40). Así mismo, la falta de información sobre la enfermedad de sarna por *Alternaria* sp., ha ocasionado la utilización a gran escala de agroquímicos en el sector agrícola, contribuyendo el aumento de problemas fitosanitarios en el cultivo de pitahaya, provocando la adaptación del patógeno y el deterioro de enemigos naturales, los cuales cumplen con la función de contrarrestar el ataque del agente patógeno (Suárez, Pico y Delgado, 2019, p. 53).

En la región Amazónica existen pocos estudios sobre el uso de *Trichoderma* spp. como control biológico para ciertos patógenos y características morfométricas de las diferentes cepas existentes de *Trichoderma* spp. en pitahaya.

Los medios de cultivos son el ingrediente principal para la reproducción de *Alternaria* sp., in vitro, ya que estos compuestos deben poseer nutrientes. Estos nutrientes permiten el crecimiento de este patógeno, siendo *Alternaria* sp, un microorganismo que no se desarrolla en cualquier medio de cultivo, teniendo un periodo de crecimiento de 15 a 30 días (Vargas, Pico y Caicedo, 2019, p. 40). Por ello, el presente trabajo pretende buscar el medio de cultivo idóneo para *Alternaria* sp, para así acelerar el crecimiento y evaluar el nivel antagónico de asilados de *Trichoderma* spp. frente *Alternaria* sp. para su control.

Justificación

El cultivo de pitahaya en Ecuador en el Cantón Palora es un producto rentable debido a sus exportaciones hacia la Unión Europea y Asia. Este rubro es afectado por varios patógenos que perjudican la producción y calidad de su fruta, ocasionando a nivel local pérdidas significativas para los productores. Siendo dicha enfermedad la más desfavorable para este cultivo, la sarna cuyo agente causal es *Alternaria* sp., que afecta a pencas y frutos. La escasa información de los agentes con capacidad antagonista procedentes del cultivo de pitahaya en la Amazonía, es aquel limitante que ha ocasionado el uso indiscriminado de plaguicidas y funguicidas sistémicos cada 8 días; por lo que, se ha determinado residuos de ciertos productos en la fruta afectando directamente la exportación.

En la actualidad el sector agrícola enfocado al cultivo de pitahaya debe contar con controles biológico, para que no perjudiquen sus exportaciones, de tal manera que sea viable alcanzar el objetivo de mitigar o contrarrestar la incidencia de dicha enfermedad y buscar un manejo integrado en el cultivo de pitahaya.

La investigación se enfoca en el sector agrícola mediante la identificación de cepas de *Trichoderma* spp., que poseen capacidad de biocontrol sobre el crecimiento del patógeno *Alternaria* sp., a través de pruebas de confrontación in vitro, en el cantón Joya de los Sachas, que trata de atenuar la presencia de la enfermedad en el cultivo de pitahaya, con el fin de dotar información al agricultor para mejorar sus exportaciones.

En vista que no existen suficientes estudios a nivel nacional referente al control biológico de *Alternaria* sp. y el medio específico para el crecimiento de dicha enfermedad, la presente investigación es útil para proporcionar conocimiento sobre la forma que actúa en laboratorio la enfermedad, su estructura y el crecimiento en diferentes medios de cultivo.

Además, el presente trabajo favorece a aumentar datos referentes al estudio del nivel antagonista de *Trichoderma* spp. sobre *Alternaria* sp., para verificarlos y constatarlos con otras investigaciones.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar aislados de *Trichoderma* spp., con capacidad de biocontrol para inhibir el crecimiento de colonias de *Alternaria* sp., mediante pruebas de confrontación en condiciones in vitro.

Objetivo específico

- Analizar diferentes medios de cultivos en condiciones in vitro, para acelerar el crecimiento y cantidad de conidios en colonias de *Alternaria* sp.
- Valorar la capacidad antagónica de aislados de *Trichoderma* spp., sobre colonias de *Alternaria* sp., mediante pruebas de confrontación in vitro.

HIPÓTESIS

Ho: Los aislados de *Trichoderma* spp. no ejercen capacidad antagónica sobre *Alternaria* sp. en ningún medio de cultivo.

Hi: Los aislados de *Trichoderma* spp. ejercen capacidad antagónica sobre *Alternaria* sp. en al menos un medio de cultivo.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes de la investigación

Según (Caetano, Otálvaro y Muñoz 2010, pp. 102–103; Cañar, Caetano y Bonilla 2014, pp. 77–78) el cultivo de pitahaya a nivel mundial es de gran importancia económica. La fruta es demandada por su aroma, sabor y propiedades nutricionales. En el cantón Palora de la Provincia de Morona Santiago, existen cerca de 1528 hectáreas de cultivo de pitahaya con una producción de 7.6 t/ha (Vargas *et al.*, 2018, p. 4; MAG, 2019, párr. 4). Encontrándose estas hectáreas en manos de 672 agricultores, de las cuales solo 664 ha se encuentran en producción; llegando a su máximo nivel de producción en los meses de enero, marzo, abril, noviembre y diciembre, aunque a nivel nacional, el 5% de la producción se presenta en junio, el 15% entre septiembre e inicios de octubre, 20% mediado de noviembre e inicios de diciembre y el 60% de la producción ocurre entre febrero y marzo (INIAP, 2018); sin embargo, está se ve afectada por el ataque de plagas y enfermedades que afectan el rendimiento y calidad de la fruta (Botín *et al.*, 2004, p. 140-142).

En Palora, la escasa información para el manejo de patógenos en el cultivo de pitahaya ha ocasionado un excesivo uso de agroquímicos, lo cual genera incrementos en los costos de producción. El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) en el año 2019 en el cantón Palora realizó un diagnóstico en plantaciones de pitahaya y determinó que las enfermedades que estaban limitando la producción de la fruta son; pudrición basal del fruto causada por el hongo *Fusarium oxysporum*, antracnosis cuyo agente causal es *Colletotrichum* sp. y sarna causada por *Alternaria* sp. que provoca daño a las pencas ocasionando el bloqueo del desarrollo de brotes nuevos (Murcia *et al.*, 2013, p. 78; INIAP, 2019, p. 48; Suárez, Pico y Delgado, 2019, p. 53). Menciona Botín *et al.* (2004, pp. 140–142) que dichas enfermedades causan pérdidas significativas en el cultivo en un 44 %. El INIAP (2019), realizó la recolección de muestras de suelo para la identificación de microorganismos con capacidad antagonica del género *Trichoderma* con un posible potencial antagonico. Por esta razón, una alternativa sostenible para este cultivo de pitahaya sería el uso de controladores biológicos que comprende la acción de enemigos entomopatogenos y entomófagos sobre plagas y enfermedades (Van Driesche, Hoddle y Center, 2007, p. 3; Bahena, 2008, p. 21). Debido, que para el control biológico de *Alternaria* sp.; se emplean hongos con capacidad antagonica del género *Trichoderma* y *Gliocladium*.

De acuerdo con (Botín *et al.*, 2004, p. 140-142), *Trichoderma* controla diversas enfermedades ocasionadas por hongos, a través de varios mecanismos como: competencia de espacio, nutrientes, producción de compuestos inhibidores e inactivación de enzimas del agente patógeno.

Según Coca, Gakenge y Cabrera (2020, p. 7) las cepas de *Trichoderma asperellium* expuestas sobre *Alternaria solani*, lograron efectos significativos en la disminución de las colonias de *A solani* posterior al contacto.

Alternaria sp., posee un crecimiento tardío en el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), por lo que expresa Hernández y Rosón (2005, pp. 61–63), sobre la importancia de la composición de los medios de cultivos, lo cual ayuda a la esporulación y desarrollo de los hongos, ya que estos demandan de nutrientes como azufre, hierro, nitrógeno, potasio, sodio y carbono para su metabolismo, con la finalidad de construir el protoplasma celular de los microorganismos. Es por ello en el presente trabajo se plantea el evaluar diferentes medios de cultivos para el crecimiento de *Alternaria* sp.

Este análisis previo y debido a que el Laboratorio de Protección Vegetal de la Estación Experimental Central de la Amazonía (EECA), cuenta con una colección de 108 aislados del género *Trichoderma*. Se plantea el presente estudio donde se evaluará la capacidad antagonista de 30 aislados del género *Trichoderma*, lo cual permitirá seleccionar aislados que ejerzan control sobre *Alternaria* sp.

1.2. Pitahaya (*Selenicereus* sp.)

Es una planta perenne con particularidades propias de su especie, forma externa e interna del fruto con cascara amarilla con espinas y pulpa blanca llena de semillas de coloración negra; demanda de sostén por ser epífita, puesto a que no logra mantenerse por sí sola a causa de su arquitectura, propagación asexual y sexual, la fructificación de la pitahaya consta de dos ciclos respecto a las condiciones climáticas de la zona a la que se encuentre el cultivo, tallo triangular de color verde y flores hermafroditas (Perea et al., 2010, p. 106; Vargas et al., 2020, p. 10).

El cultivo de pitahaya es de importancia medicinal, alimentaria y económica, por la existencia del consumo a gran escala a nivel mundial. El Banco Central del Ecuador (2012) por medio de la información impartida de manera virtual, menciona que en Ecuador las exportaciones del cultivo de pitahaya en el año 2009 hasta 2012, se realizaron a los países de Asia (Singapur, Hong Kong, China, Indonesia), Europa (Francia, Países Bajos, España, Alemania, Suecia, Suiza) y América del norte (Canadá).

1.2.1. Distribución y origen de la pitahaya

Plantea Jiménez (2011, pp. 3–4) la pitahaya está conformada por 2000 variedades a nivel mundial, distribuidas hacia los países de Asia y América. En el continente asiático dicho cultivo se encuentra en Taiwán, Tailandia, Vietnam y Malaysia, la familia Cactácea es procedente de

Latinoamérica, en dicho continente se encuentra en Honduras, Guatemala, Brasil, Costa Rica, Ecuador, Colombia y México. En México el rendimiento de la fruta es de gran importancia económica y se han encontrado 850 especies y 55 géneros, sin embargo estudios han demostrado la baja viabilidad entre especies (Mandujano y Reyes, 2002, pp. 4–5).

1.2.2. Situación nacional (Ecuador)

El cultivo de pitahaya no posee mucha relevancia en Ecuador, ocasionando la carencia de información en base a su origen, comportamiento y manejo agronómico, sin embargo se han plantado diversas especies procedentes de Colombia, identificándose por el Banco Central del Ecuador (2012), la pitahaya amarilla cuya especie es *Cereus* sp. nativa del Cantón Palora; siendo una variedad que posee similares particularidades de la pitahaya amarilla de la especie *Hylocereus* sp. en las provincias de Morona Santiago, Pichincha y Loja. Por lo que (Huachi et al., 2015, p. 52) menciona que el cultivo de pitahaya en Ecuador tiene gran acogida en el mercado internacional.

1.2.3. Taxonomía

Según Kondo et al. (2013, p. 11) clasifica la pitahaya amarilla en:

- **Reino:** Plantae
- **Subreino:** Tracheobionta
- **Super división:** Spermatophyta
- **División:** Magnoliophyta
- **Clase:** Equisetopsida
- **Subclase:** Magnoliidae
- **Suborden:** Caryophyllanae
- **Orden:** Caryophyllales
- **Familia:** Cactaceae
- **Género:** *Selenicereus*
- **Especie:** *Selinicereus* sp.

1.2.4. *Morfología de la planta*

- Raíces

Menciona Kondo et al. (2013, pp. 14–18) las raíces de la pitahaya en suelos no compactados ocupan una área de 5.49 a 6.32 centímetros cuadrados al contorno del tallo a una profundidad de 30 cm. Por otro lado (OIRSA, 2000, p. 3-6; Cáliz et al., 2001, p. 8-11) sostienen que el sistema radicular de la pitahaya está formada por raíces primarias y superficiales con la finalidad de captar fluidos, donde las raíces principales tienen como función dar soporte a la planta encontrándose en la superficie del suelo, en cuanto a las raíces adventicias son las que se adhieren al tutor vivo o muerto y se localizan fuera de la superficie del suelo.

- Tallo o vainas

Según Kondo et al. (2013, pp. 14–18), los tallos botánicamente son cladodios por lo que remplazan a las hojas y cumplen la función de realizar la fotosíntesis, el espesor de las vainas varía a partir de los 4 a 10 cm dependiendo de la fenología del cultivo, presencia de luz y condiciones climáticas.

Presenta el tallo tres lados o aristas encontrándose las areolas características de la familia Cactaceae, no presentan hojas, tallo ramificado, triangular, carnoso y con coloración verde distintivo de la especie; las areolas son yemas especializadas donde se localizan los tricomas, espinas y se encuentran lateralmente, ya que de estas aparecen los tallos vegetativos (OIRSA, 2000, pp. 3–6; Cáliz *et al.*, 2001, pp. 8–11; Kiesling y Ferrari, 2005, pp. 9–14).

- Espinas

Expresa Kiesling y Ferrari (2005, pp. 9–14), que las espinas se suscitan en las areolas, estas son un tejido impregnado, muerto y se cree que son hojas modificadas, sin embargo, en ciertas especies el agua ingresa por las espinas y se transporta hacia la parte interna de la planta.

- Flores

Presentan flores hermafroditas, sésiles, forma de trompeta, la fecundación puede ser por autofecundación o cruzada, su anthesis la efectúan en la noche y se obstruyen en la mañana, el receptáculo es de manera de un tubo, con una distancia que varía de 30 y 40 cm, en los extremos de la flor aparecen los sépalos con una coloración amarilla y pétalos de color blanco; los estambres

se colocan en la circunferencia en el asiento de la flor con una suma de 300; estigma de varias divisiones y ovario ínfero (Kiesling y Ferrari, 2005, pp. 9–14; Kondo *et al.*, 2013, pp. 14–18).

- Fruto

Tanto OIRSA (2000, pp. 3-6), como Cáliz et al. (2001, pp. 8-11) y Kiesling y Ferrari (2005, pp. 9–14), los frutos presentan espinas en la corteza, indehiscente, ovoide, en forma de baya, pulpa de tonalidad blanca, sabor dulce, alargada y estabilidad carnosas; posee una bráctea y tiene una gran cantidad de semillas de coloración negra.

- Semillas

Según OIRSA (2000, pp. 3–6), Kiesling y Ferrari (2005, pp. 9–14), posee semillas de tamaño pequeño entre 2 a 4 mm, estas se encuentran esparcidas en toda la pulpa de la fruta.

1.2.5. Plagas y enfermedades

Todo cultivo está expuesto a la incidencia de enfermedades, las cuales son producidas por patógenos que afectan a las plantas en sus funciones vitales, encontrándose los hongos, bacterias, nemátodos, fitoplasmas y virus, aquellos que disminuyen el rendimiento de las plantas e incluso inducen su muerte (Lastres y Soza, 2009, p. 30).

El cultivo de pitahaya es afectado por plagas y enfermedades, destacándose los patógenos *Alternaria*, Antracnosis, pudrición basal, bacteriosis, nematodos fitoparásitos y la plaga denominada chinche pata de hoja; perjudicando estos problemas fitosanitarios al agricultor una pérdida económica del 44% (Botín et al., 2004, p. 140-142).

- Plagas

Según Suárez, Pico y Delgado (2019, p. 53) y Vargas et al. (2020, pp. 26–30), los insectos plagas de mayor relevancia son:

- Chinche pata de hoja (*Leptoglossus zonatus*)
- Zompopas (*Atta* sp.)
- Hormigas (*Solenopsis* sp.)
- Trips (*Frankliniella occidentalis*)

- Enfermedades

Según Suárez, Pico y Delgado (2019, p. 53) y Vargas et al. (2020, pp. 26–30), las enfermedades que ocasionan mayores pérdidas en el cultivo de pitahaya son:

- Sarna del tallo y fruta (*Alternaria* sp)
- Antracnosis (*Colletotrichum* sp)
- Pudrición basal (*Fusarium oxysporum*)
- Bacteriosis (*Pectobacterium carotovora*)
- Nematodos fitoparásitos (*Helicotylenchus* y *Meloidogyne*)

1.3. Hongo *Alternaria* sp.

Alternaria sp., es un hongo fitopatógeno distribuido en materia orgánica en proceso de descomposición y el suelo; perjudicando a ciertos cultivos agrícolas en su desarrollo fisiológico e inclusive pos-cosecha, afectando tallos, hojas, flores, frutos y semillas de una planta, Dicha enfermedad se desarrolla en una humedad relativa mayor al 70 %, temperatura de 22-30 °C induciendo a la presencia de conidios, los cuales pueden trasladarse a través del viento, así mismo, la presencia de *Alternaria* sp. se observa cuando la planta presenta condiciones de estrés y carencia de nutrientes; sin embargo, las esporas del hongo presentan resistencia a condiciones extremas, multiplicándose de forma elevada en condiciones húmedas interrumpidas, pero en zonas con una temperatura máxima habitual que excede los 40 °C no existe la presencia de *Alternaria* sp. (Roncal, 2004, p. 218).

1.3.1. Taxonomía del patógeno

Según Walker (1965, pp. 321–323), clasifica taxonómicamente a *Alternaria* sp. de la siguiente manera:

- **Reino:** Fungi
- **División:** Ascomycota
- **Subdivisión:** Pezizomycotina
- **Clase:** Dothideomycetes
- **Orden:** Pleosporales
- **Familia:** Pleosporaceae
- **Género:** *Alternaria*

- **Especie:** *Alternaria* sp.

1.3.2. *Huésped de Alternaria sp.*

Menciona Castellanos (2005, p. 16), *Alternaria* sp. es un hongo que se presenta en una gran cantidad de hospederos, como se muestra en la Tabla 1-1:

Tabla 1-1: Hospederos de *Alternaria* sp.

NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO
Cebolla	<i>Allium cepa.</i>
Ajo porro	<i>Allium porrum L.</i>
Acelga	<i>Beta vulgaris L.</i>
Colinabo	<i>Brassica caulorapa Pasq.</i>
Coliflor	<i>Brassica oleracea var. brotytis</i>
Col	<i>Brassica oleracea var. capitata</i>
Espinaca	<i>Brassica oleracea L.</i>
Col china	<i>Brassica pekinensis Rapre</i>
Pimiento	<i>Capsicum annum L.</i>
Pepino	<i>Cucumis sativum L.</i>
Lechuga	<i>Lactuca sativa L.</i>
Tabaco	<i>Nicotiana tabacum L.</i>
Habichuela	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>
Perejil	<i>Prestoselium crispum Nym.</i>
Berenjena	<i>Solanum melongena L.</i>
Rosas	<i>Rosa sp.</i>

Fuente: (Castellanos, 2005, p. 16).

1.3.3. *Sintomatología*

Alternaria sp. afecta a diversos cultivos de importancia económica; en la parte foliar se muestran manchas circulares de coloración pardo oscuras con un diámetro de 1 a 2 mm en las hojas más viejas, en forma de anillos rodeado de un resplandor amarillento, reduciendo la capacidad de realizar la fotosíntesis; los frutos son afectados en estado verde o maduro en el extremo del pedúnculo, visualizándose con manchas oscuras y secas, que pueden alcanzar a cubrir y extenderse en todo el fruto; en los tallos muestran manchas necróticas de 0,5 a 1,5 cm (Torres, 2002, p. 53; Walker, 1965, p. 321-323).

En el cultivo de pitahaya *Alternaria* sp., afecta a frutos y pencas con manchas café rojizo convirtiéndose en sarna, ocasionando un abultamiento en la epidermis del tejido infectado, mediante el bloqueo en el crecimiento de las estructuras de aristas y aureolas; en la fruta ocasiona

un aspecto de cubierta en todo el fruto, coloración marrón en forma de grietas y en la pos-cosecha presenta un moho negro (Suárez, Pico y Delgado, 2019, p. 53).

1.3.4. Morfología

El micelio de *Alternaria* sp. es septado presentando una tonalidad verde oscuro, conidios de color café pardo con cadenas cortas, ovalados y multicelulares, pueden observarse en cadena o solos, encontrándose el conidio más joven en el ápice de la cadena; conidióforos con tonalidad oscura, en su totalidad simples, pueden ser alargados o cortos, es decir su estructura está conformada por cadenas de conidios (esporas) y conidióforo, sin embargo en condiciones favorables el hongo germina en un periodo de 1-3 horas y las esporas pueden diseminarse a través del viento (Thomma, 2003, p. 225-227; Barnett y Hunter, 1998, p. 132-133; Philippi, 2010, p. 1-2).

1.3.5. Características microscópicas

En condiciones de laboratorio (in vitro) la temperatura ideal para el desarrollo de micelio de *Alternaria* sp., es de 27 °C, en cuanto a la presencia de conidios y conidióforos deben tener una temperatura de 19 a 23 °C, en el aislamiento de este hongo presenta comúnmente micelio color verde pálido o café de 4 a 8 μ de diámetro, los conidióforos son erectos que pueden llegar a medir 110 μ de largo y de ancho 10 μ , los conidios son pluricelulares, dematiáceos, presentan coloración oscura, forma cilíndrica en cadenas cortas o individuales y septados transversalmente, en cuanto a las esporas miden 70 μ de largo y 17 μ de ancho, presentando de 5 a 17 septos transversales. sin embargo, el desarrollo del conidióforo en medio de cultivo artificial produce un conidio solitario (Ellis, 1965, p. 465; Fabrega, Agut y Calvo, 2002, p. 357).

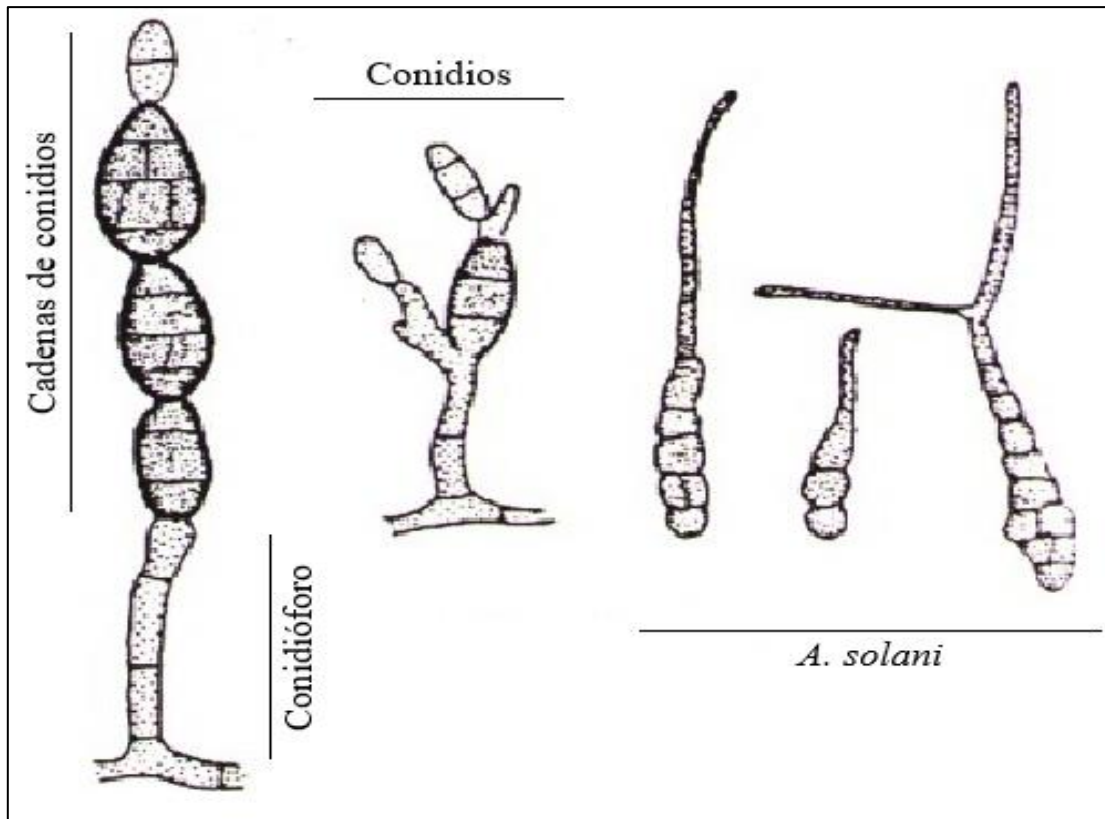


Figura 1-1: Estructura microscópica de *Alternaria* sp.

Fuente: (Barnett y Hunter, 1998, p. 132-133).

1.3.6. *Ciclo de la enfermedad*

El hongo *Alternaria* sp., habita en tejidos infectados como hojas que se hallan en el suelo, tubérculos y en plantas hospederas. Los conidios del patógeno germinan y se introducen en las pencas y tallos a través del tejido epidérmico, en el fruto por medio del exocarpo o flavedo; en condiciones propicias de humedad y temperatura inicia la infección (manchas) en la parte inferior de la planta a partir de 2 a 3 días después de la siembra, seguidamente la presencia de esporas a los cuatro días, cuando la mancha tiene un diámetro de 3 mm las esporas y conidios son dispersadas por el viento infectando plantas sañas; en campo se presenta en la etapa de senescencia de la planta; las lesiones producidas por la enfermedad se fusionan formando áreas más grandes en la superficie de las pencas, tallos y frutos, sin embargo está puede ocasionar pérdidas significativas en el fruto al mantenerse almacenado en frío a 8 °C (Torres, 2002, p. 54; Jin et al., 2020, p. 35).

1.4. Manejo integrado del patógeno

El manejo integrados de plagas y enfermedades, permiten mitigar los daños que ocasionan los plaguicidas y funguicidas al ser humano y animales, disminuir el efecto de contaminantes en el ambiente, reducir costos de producción, mantener al hongo e insecto en un nivel fácil de controlar, mediante la aplicación de control físico, cultural, biológico, químico, etológico y genético (Cisneros, 1995, p. 78).

A continuación se detallan los controles que se realizan en el cultivo de pitahaya mencionados por (Torres, 2002, p. 55-56; Vargas et al., 2020, p. 27):

- **Control cultural:** eliminación o quema de los residuos de plantas infectadas después de la cosecha, ya que, en las lesiones producidas por *Alternaria* sp., existe la presencia del inóculo, controlar el exceso de humedad, utilización de pencas sanas y la integración de cultivos asociados con los sistemas agroforestales.
- **Control genético:** involucra la producción de nuevas variedades tolerantes o resistentes al patógeno a través del mejoramiento genético.
- **Control químico:** aplicación de funguicidas sistémicos y de contacto como clorotalonil o mancozeb, con la finalidad de reducir las poblaciones del hongo desde la siembra hasta la cosecha.
- **Control biológico:** utilización de hongos con capacidad de micoparasitismo del género *Trichoderma* spp., permitiendo reducir el uso de funguicidas sistémicos, siendo estos químicos desfavorables para el ambiente y evitar la residualidad en la fruta de pitahaya.

1.5. Control biológico

Pérez (2004, p. 127-212), define el control biológico al uso de microorganismos naturales, con el fin de mitigar los efectos de agentes patógenos, beneficiando el desarrollo de microorganismos con capacidad de biocontrol para las plantas.

Según Baker y Cook (1977, citado por Garrido, 2016, p. 6-15), el control biológico lo define como el descenso de la acción del inóculo (patógeno) que produce una enfermedad, por medio de uno o más microorganismos de manera natural o a través de la manipulación del ambiente antagonista o huésped.

Las ventajas del control biológico difieren de otros controles utilizadas para enfermedades, por lo que no poseen toxicidad, permanecen por largo tiempo y ocasionan efectos mínimos en equilibrio ecológico (Roselló, 2003, p. 30).

En los últimos años la agricultura en base al control biológico de plagas y enfermedades ha alcanzado gran importancia en función a los problemas fitosanitarios ocasionados por la

utilización indiscriminada de fungicidas y plaguicidas químicos en el sector agrícola, los cuales han causado graves problemas de contaminación y han creado la resistencia tanto en plagas y enfermedades, también el alto grado de virulencia de microorganismos fitopatógenos a causa de la presencia de nuevas especies (Bravo et al., 2006, p. 116).

Un agente con capacidad de biocontrol es el género *Trichoderma* spp., que posee gran potencial antagonico en una gran variedad de microorganismos, siendo las especies de *Trichoderma* spp., las más estudiadas y usadas en el control de enfermedades en plantas (Martínez et al., 2014, p. 107).

1.6. Hongo *Trichoderma* spp.

Trichoderma spp., es un hongo con capacidad antagonica, presentando características como: el efecto sinérgico en su mecanismo de control, el hábitat de éste es encontrarse en diversos sustratos, materia orgánica y suelos, así mismo tiene gran capacidad para adaptarse y colonizar, permitiéndole ser un hongo fácil de aislar en ambientes sintéticos o naturales (López y González, 2004, p. 119).

Las especies del género *Trichoderma* spp., son hongos saprófitos que pueden encontrarse en un pH de 5,5 a 8,5, siendo el suelo ideal para la presencia de éste con un pH de 5,5 hasta 6,5 (ligeramente ácido), la activación del hongo para su desarrollo es la presencia de retención de humedad en el suelo del 60%, sin embargo, disminuye la sobrevivencia y colonización por la ausencia de disponibilidad de oxígeno a consecuencia del alto índice de saturación de suelo (Infante et al., 2009, p. 3).

Trichoderma spp., como agente con capacidad antagonica de una gran variedad de patógenos, se ha utilizado en el mercado como agentes de biocontrol que conciernen al género *Trichoderma* cerca del 50% de los productos, encontrándose las especies como: *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, por poseer un alto grado como biocontroladores, caracterizándose por presentar un crecimiento acelerado, adaptación, competencia en la rizosfera de las especies vegetales, altos niveles de esporulación y ayudan a la degradación de materia orgánica (Garrido, 2016, p. 6-15).

1.6.1. Taxonomía de *Trichoderma* spp.

Según Alexopoulos, Mims and Blackwell (1996), *Trichoderma* spp., está clasificada en:

- **División:** Eumycota
- **Subdivisión:** Deuteromycotina
- **Clase:** Hypomicetes

- **Orden:** Hyphales
- **Familia:** Monilaceae
- **Género:** *Trichoderma*
- **Especies:** *Harzianum, hamatum, viride, longibranchiatum*, entre otras

1.6.2. *Morfología*

Trichoderma spp., es aquel hongo amorfo, reproducción asexual y anaerobio, se caracteriza por la forma en la que se producen los conidios; su reproducción sexual es *Hypocrena*, la mayoría de especies de este género se desarrollan en cultivos artificiales produciendo un extenso número de conidios de color blanco o verde, ubicados al final de los conidióforos ampliamente ramificadas (Hermosa et al., 2000, p. 1890).

Macroscópicamente se puede identificar por las tonalidades blanco-verde y amarillo-verdoso, por presentar escaso micelio y un rápido crecimiento, la mayoría de las especies procrean enormes clamidosporas en diversos medios de cultivos (Barnett y Hunter, 1998, p. 241-242; Howell, 2003, p. 4-8).

1.6.3. *Características microscópicas*

Las estructuras del género *Trichoderma* spp., tiene orgánulos citosol, núcleo definido y sus células cubiertas por una pared celular rígida. Presentando conidióforos, filiales, hifas hialinas septadas y conidios (Yumbay, 2011, p. 13).

- **Conidióforos:** son hialinos, erectos, se los puede encontrar solitarios o en grupo, forman anillos concéntricos, presentan coloración verde y poseen un tamaño de 66 por 3,7 μm (Barnett y Hunter, 1998, p. 241-242; Yumbay, 2011, p. 13).
- **Hifas:** pueden presentarse de manera ancha, recta o flexibles y son hialinas septadas (Barnett y Hunter, 1998, p. 241-242).
- **Fiálides:** se encuentran en grupo o solas, se presenta como una botella delgada y alargada, se adhieren por el extremo del ángulo recto los conidióforos, asimétricos y tienen un tamaño de 10 por 3,1 μm (Barnett y Hunter, 1998, p. 241-242; Yumbay, 2011, p. 13).
- **Conidios:** poseen esporas, son unicelulares (una sola célula) subglobosas, lisas de color verde y sobreviven en los ápices de las fiálides, miden 2,8 por 2,7 μm (Barnett y Hunter, 1998, p. 241-242; Yumbay, 2011, p. 13).
- **Clamidosporas:** son aquellas estructuras que tienen como función la supervivencia de *Trichoderma* spp., presentan un tamaño entre 12,5 a 10 μm (Yumbay, 2011, p. 13).

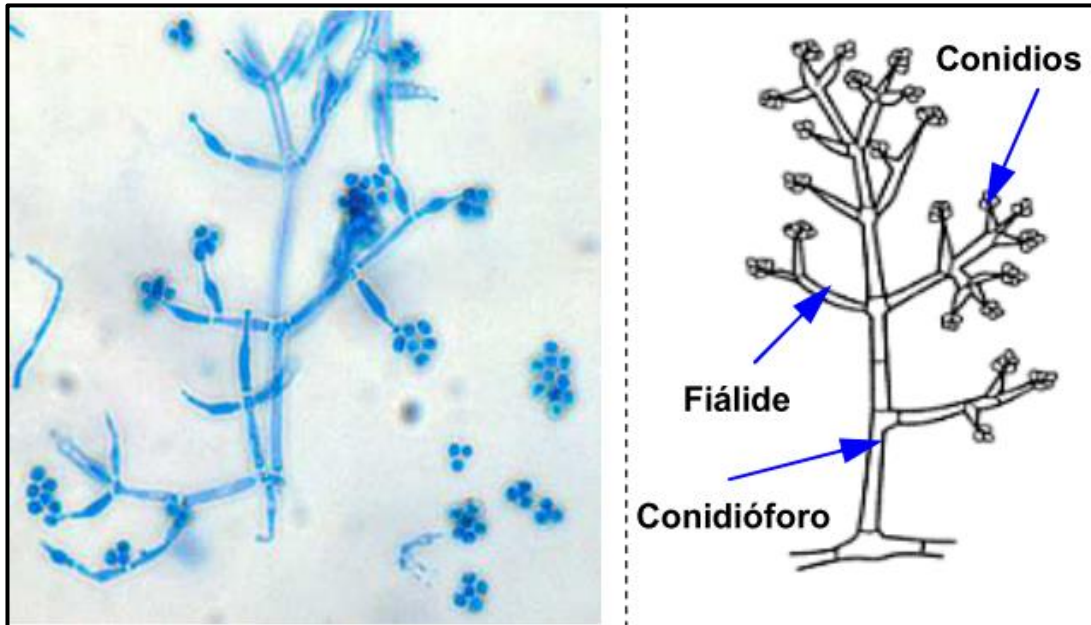


Figura 2-1: Estructura microscópica de *Trichoderma* spp.

Fuente: (Donati, 2011, p. 41).

1.6.4. *Ciclo de Trichoderma* spp.

La colonización de *Trichoderma* a los patógenos inicia cuando éste crece y se divide en hifas fúngicas típicas que llegan a medir un diámetro de 5 a 10 μ , degradando las hifas, estructuras reproductivas y pared celular del hongo que ha afectado a la planta, en cuanto a la reproducción asexual se da cuando el diámetro de las esporas es de 3-5 μ liberándose en grandes cantidades, así mismo produce este género clamidosporas individuales e intercaladas, que incluso éstas se pueden fusionar convirtiéndose en una sola (Romero et al., 2009, p. 147).

1.6.5. *Condiciones de crecimiento*

Trichoderma spp., posee la capacidad de desarrollarse en una humedad de 20 y 80%, se limita la oxidación cuando la humedad asciende a niveles altos; crece en un intervalo de temperatura de 15 a 35 °C, siendo su óptima temperatura de 25 °C; su pH debe estar en un rango de 6 a 6.5 para su desarrollo, no obstante este hongo puede sobrevivir en rangos elevados, por lo que tiene la capacidad de acidificar el medio en el que encuentra a través de la secreción de ácidos orgánicos; el monosacárido principal que *Trichoderma* spp. asimila es la glucosa, por ser la fuente principal de carbono, la esporulación se efectúa con la rotación de oscuridad y luz, en medios fermentados, restos de vegetales, suelos modificados y estériles, éste género forma clamidosporas; en la germinación de conidios influye los nutrientes y pH, originándose los conidios en el día; sin

embargo existen combinados químicas como: Cilcoheximida, Actinomycin, Flouroracil, entre otros que consiguen inhibir la presencia de conidios (Sánchez, 2009, pp. 11–17; Kurioka, Martirena y Mulvany, 2013, pp. 23–27; Garrido, 2016, pp. 29–36).

1.6.6. Mecanismos de regulación biológica

Las diferentes especies de *Trichoderma* se orienta en la correlación del organismo regulador, el patógeno y el medio, utilizándose para mitigar los problemas fitosanitarios en los cultivos agentes con capacidad de biocontrol (*Trichoderma* spp.), donde intervienen los mecanismos directos e indirectos sobre el patógeno; caracterizándose de forma directa a la interacción física con el hospedante e indirectos por transformar sus poblaciones a través de las modificaciones en el ambiente (Carvajal, 2011, p. 11).

El mecanismo de control biológico depende de la especie de *Trichoderma* y condiciones ambientales, sin embargo al ser activados los diferentes mecanismos de biocontrol involucra la producción de enzimas hidrolíticas, antibióticos y metabolitos (Benítez, 2004, p. 250).

Mecanismos directos

- **Competencia:** especies del género *Trichoderma*, poseen gran capacidad de exceder los efectos fungistáticos procedentes de otras especies y plantas, por medio de la presencia de metabolitos (Benítez, 2004, p. 251-254). Sin embargo, la capacidad de control por nutrientes y espacios, es un mecanismo indispensable de este género, por ser un hongo heterótrofo con crecimiento rápido, así mismo *Trichoderma* spp., para su viabilidad utiliza al hierro como nutriente, secuestra este elemento del medio a través de moléculas sideróforo, deteniendo el desarrollo y crecimiento del patógeno (Garrido, 2016, p. 29-36; Sánchez, 2009, p. 11-17; Intagri, 2018, p. 1-2). Menciona Chet and Baker (1981, pp. 286–287), las cepas de *Trichoderma* spp., al inocularse en el suelo poseen un buen crecimiento, siendo estas resistentes a compuestos químicos utilizados en el sector agrícola como: herbicidas, pesticidas y fungicidas.
- **Antibiosis:** se basa en la interacción de antibióticos que produce *Trichoderma* spp., inhibiendo el crecimiento de microorganismos, así mismo secretan metabolitos tóxicos que paralizan la colonización del patógeno; también producen ácidos peptaiboiles, tricholinas, harzianico y alameticinas (Benítez et al., 2004, p. 251-254; Garrido, 2016, p. 29-36; Intagri, 2018, p. 1-2).
- **Micoparasitismo:** se define al confrontamiento de dos hongos (*Trichoderma* spp. -patógeno) (Chet and Baker, 1981, p. 286-287). Involucra la acción de reconocimiento, penetración, ataque y muerte al huesped, siendo *Trichoderma* spp., aquel hongo que puede realizar un control directo

por el alto nivel de parasitismos, creciendo y detectando la existencia de otro hongo (Martínez, Infante y Reyes, 2013, p. 2-5).

El micoparasitismo se divide en necrotróficos y biotróficos; los biotróficos son aquellos antagonistas que producen estructuras específicas en la absorción de nutrientes de organismos vivos, siendo una mínima parte los que corresponden a este grupo; los necrotróficos sus principales características es el rápido crecimiento, pueden vivir indefinidamente como saprófitos y poseen agresividad, matando a la célula del patógeno antes y después de invadir, producen sustancias tóxicas y emplean sus nutrientes (Benítez, 2004, p. 251-254).

Según (Sánchez, 2009, p. 11-17; Garrido, 2016, p. 29-36), el proceso de micoparasitismo se desarrolla en 4 etapas:

- Crecimiento quimiotrófico: *Trichoderma* spp., es atraído por los exudados del patógeno, detectándoles a largas distancias.
- Reconocimiento: algunas especies de *Trichoderma* demuestran su efectividad solo a patógenos específicos, mediante el comportamiento del patógeno.
- Adición y enrollamiento: *Trichoderma* spp., por medio de sus hifas se adhiere al patógeno, enrollándolo por todo su alrededor.
- Activación lítica: la pared celular del patógeno es degradada por enzimas líticas como: proteasas, glucanasas y quitinasas procedentes del antagonista ayudan el ingreso del agente con capacidad de biocontrol.

Mecanismos indirectos

- **Promoción del crecimiento vegetal:** *Trichoderma* spp., en el desarrollo de las plantas actúa colonizando sus raíces, así mismo desintegra metabolitos en el proceso de descomposición de materia orgánica, produce ácidos orgánicos que reducen el pH, fitohormonas, el fósforo del medio lo solubilizan, promoviendo a través de dichas actividades el aumento de germinación de semillas, la masa foliar y radicular, la floración e incita al crecimiento en un 30% (Kurioka, Martirena y Mulvany, 2013, pp. 23–27; Garrido, 2016, pp. 29–36).
- **Inducción de resistencia:** *Trichoderma* spp., en la resistencia de plantas hospederas activa rutas enzimáticas y reprograma el funcionamiento de otros genes; produciendo tres tipos de compuestos que estimulan la resistencia en las plantas, encontrándose los oligosacáridos y compuestos de bajo peso molecular, proteínas con funciones enzimáticas y homólogo de proteínas codificadas para genes de avirulencia (Avr) (Sánchez, 2009, p. 11-17; Garrido, 2016, p. 29-36). Referente a las investigaciones en base a la inducción de resistencia por *Trichoderma* spp.,

en tomate el hongo incita la activación de genes concernientes a la producción de elicitores, inactivando otros genes (Sánchez, 2009, p. 11-17).

- **Degradación de agrotóxicos:** *Trichoderma* spp., muestra resistencia en agroquímicos, por lo que secreta enzimas (hemicelulasa, lignilasa, celulasa) que tienen como función desintegrar moléculas complejas (clorofenoles, hidrocarburos, polisacáridos, xenobióticos, plaguicidas) (Garrido, 2016, p. 29-36).

1.7. Medios de cultivo en microorganismos

Prescott, Harley y Klein (2004, p. 110-115), menciona que en las investigaciones microbianas influye la habilidad de cultivar y conservar macroorganismos in vitro (laboratorio) a través de la disponibilidad de los medios de cultivo apropiados, para el desarrollo de estos.

Gutiérrez (2001, p. 1-3), define los medios de cultivo como aquella solución de nutrientes (macro y micronutrientes) en cantidades adecuadas, permitiendo así el desarrollo de microorganismos en condiciones físicas óptimas.

En micología un medio de cultivo debe poseer nutrientes (nitrógeno, carbono, oligoelementos, vitaminas, entre otros) y un pH ligeramente ácido de 4 a 6, para la reproducción y desarrollo de una diversidad de hongos; siendo estos medios una preparación líquida o sólida utilizados para conservar, transportar y cultivar microorganismos, ya que los nutrientes dependen del hongo que se requiere multiplicar (Cañedo y Ames, 2004, pp. 18–23).

En medios de cultivo artificiales para que exista presencia y desarrollo de microorganismos, estos deben tener ciertas condiciones como: grado de acidez, temperatura, esterilidad del medio, humedad, pH, luz, presencia o ausencia de oxígeno y nutrientes, los cuales intervienen en la actividad microbiana y en su crecimiento (Casado, Torrico y Medina, 2012, pp. 4–7).

1.7.1. Clasificación de medios de cultivo

Según (Gutiérrez, 2001, p. 1-3) los medios de cultivo de acuerdo con la naturaleza, se clasifican en:

- **Medios naturales:** compuestos con sustancias complejas de procedencia vegetal o animal, mediante la integración de minerales y otras sustancias.
- **Medios definidos o sintéticos:** son aquellos medios que están formados por una composición química específica cuantitativa y cualitativa.

Según (Gutiérrez, 2001, pp. 1–3; Prescott, Harley y Klein, 2004, pp. 110–115) los medios de cultivo referente a su uso, se clasifican en:

- **Medios enriquecidos:** ayudan al crecimiento de un microorganismo específico, favorecen el aumento de especies originarios de este microorganismo; estos medios son líquido, que están constituidos por uno o más compuestos inhibidores en el desarrollo de otros hongos, bacterias, virus, entre otros, a excepción del se desea cultivar.
- **Medios selectivos:** medios sólidos, con la finalidad de aislar microorganismos específicos.
- **Medios diferenciales:** medios que tienen productos procedentes de la actividad microbiana de los microorganismos, permitiendo observar características fisiológicas de estos.

1.7.2. *Requerimientos nutricionales para la germinación de hongos*

Los elementos nutricionales necesarios en la germinación y crecimiento de hongos, que deben contener los medios de cultivo, se dividen en macronutrientes encontrándose el hidrogeno, fosforo, nitrógeno, potasio, carbono, sulfuro, magnesio y calcio, siendo el carbono el elemento que mayor proporción debe tener un medio, compuesto con el nitrógeno, oxígeno e hidrogeno (Moore, 1996, p. 574-593).

- **Nitrógeno:** es uno de los elementos que necesitan los hongos para la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos y aminoácidos, presentándose el nitrógeno en la célula del hongo en forma de proteína (Koolman y Rohm, 2004, pp. 160–172).
- **Carbono:** la fuente principal de carbono es la glucosa, que permite el soporte del crecimiento mediante la glucólisis formando el ácido pirúvico (Koolman y Rohm, 2004, pp. 160–172).

1.7.3. *Requerimientos nutricionales para la esporulación del hongo*

La esporulación en micología incluye la presencia de esporas asexuales y sexuales, dependiendo de las condiciones ambientales y la nutrición del medio de cultivo; siendo la temperatura es un factor imprescindible en la reproducción de esporas (Moore, 1996, p. 574-593).

- **Carbono:** los monosacáridos (fructosa o glucosa) ayudan a la reproducción de esporas (conidios) (Moore, 1996, p. 574-593).
- **Nitrógeno:** los compuestos que poseen una gran fuente de nitrógenos en el proceso de esporulación es la urea, aminoácidos y los nitratos (Moore, 1996, p. 574-593).

1.8. **Medios de cultivo para *Alternaria* sp.**

Hernández y Rosón (2005, pp. 61–63), menciona que “la textura de los medios de cultivo inciden en la esporulación y crecimiento de los distintos microorganismos, ya que demandan de elementos

para su metabolismo como: azufre, carbono, nitrógeno, sodio y potasio”. Siendo *Alternaria* sp. un microorganismo que muestra un rápido crecimiento en los medios de cultivo de harina de maíz, agar Sabouraud y papa dextrosa (Rivas, 2014, p. 606).

El estudio realizado por (Mew y Gonzales, 2002, p. 59), refleja la evaluación de tres medios de cultivo para *Alternaria padwickii*, con el fin de evaluar que medio permite el crecimiento del hongo , donde el autor obtuvo el mejor resultado en agar extracto de malta (AEM).

Echeverría y Gutiérrez (Echeverría y Gutiérrez, 2015, pp. 69–70), en el trabajo realizado en base al medio de cultivo idóneo de *A. padwickii*, en el crecimiento y esporulación fue el medio Agar frijol (AP) a diferencia de los otros tratamiento evaluados.

1.8.1. Medios de cultivo utilizados para *Alternaria* sp.

- **Agar-agar:** medio con carencia de nutrientes, donde el hongo presenta solo estructuras, polisacárido (galactosa) procedente de diferentes especies de algas rojas, tiene como función solidificar el medio de cultivo y un pH 6 a 7 (Cañedo y Ames, 2004, pp. 18–23).
- **Papa dextrosa agar (PDA):** Medio utilizado para aislar levaduras y hongos, posee un alto nivel de nutrientes, ayuda a la esporulación, crecimiento y está compuesto por extracto de papa deshidratada y dextrosa (glucosa) (Cañedo y Ames, 2004, pp. 18–23).

Tabla 2-1: Fórmula del medio papa dextrosa agar (PDA)

Fórmula	g/L
Dextrosa	20,0
Extracto de papa	4,0
Agar	15,0
pH: 5,6 ± 0.2	

Fuente: (Rodríguez y Zhurbenko, 2018, p. 99-101).

- **Agar Sabouraud:** medio que ayuda a la esporulación y crecimiento de los hongos, permitiendo visualizar la morfología de estos; compuesto por elementos como: la glucosa y peptonas, que ayudan en el crecimiento de micelio del hongo (Cañedo y Ames, 2004, pp. 18–23).

Tabla 3-1: Composición de Agar Sabouraud

Compuestos	g
Agar	15,0
Glucosa	40,0
Cloranfenicol	0,05
Peptona	5,0
Tripteína	5,0

pH: 5,6 ± 0,2

Fuente: (Puruncajas, 2013, p. 29).

- **Extracto de malta:** medio de cultivo que ayuda al crecimiento de hongos y levaduras, presenta gran cantidad de glúcidos y posee nutrientes que permiten el desarrollo de microorganismos (Rodríguez y Zhurbenko, 2018, pp. 99–101).

Tabla 4-1: Composición de medio extracto de malta

Composición	g
Dextrina	2,75
Extracto de malta	12,75
Peptona de gelatina	0,78
Glicerina	2,35

pH: 4,6 ± 0,2

Fuente: (Rodríguez y Zhurbenko, 2018, pp. 99–101).

- **Harina de maíz:** medio de cultivo con una composición simple de agar, agua y harina de maíz, posee escasos nutrientes para el crecimiento y esporulación de microorganismos y se enfoca en preservar hongos por un tiempo determinado (Cañedo y Ames, 2004, pp. 18–23).

Tabla 5-1: Formulación del medio de cultivo harina de maíz

Formula	g
Agar	20
Harina de maíz	40

pH: 6,0 ± 0,2

Fuente: (Cañedo y Ames, 2004, pp. 18–23).

- **Extracto de pencas de pitahaya:** el estudio realizado por (Vargas, Pico y Caicedo, 2019, p. 40), refleja mayor crecimiento de *Alternaria* spp en el extracto de pencas, a comparación con el medio (PDA), que está compuesta por pencas de pitahaya y agua destilada.

Tabla 6-1: Composición del extracto de pencas de pitahaya

Composición	(g)/L
Vainas de pitahaya	2500

Fuente: (Vargas, Pico y Caicedo, 2019, p. 40).

- **Frijol:** Hernández y Rosón (2005, p. 61-63), menciona que el medio de cultivo de frijol tiene el elemento de nitrógeno en un 20 %, encontrándose como proteína, ya que al tener este elemento como fuente de aminoácidos ayuda en la esporulación y desarrollo de microorganismos, así mismo es rico en nutrientes como: el hierro, magnesio, zinc, calcio, pectina, celulosa, lignina y hemicelulosa (Ulloa et al., 2011, p. 6).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Características del lugar

2.1.1. *Localización del estudio*

La presente investigación se realizó en la Estación Experimental Central de la Amazonía del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuaria (INIAP), en el laboratorio de Protección Vegetal, ubicada en la parroquia San Carlos, Cantón Joya de los Sachas, Provincia de Orellana, que se encuentra ubicada a 280 m.s.n.m.

2.1.2. *Ubicación geográfica*

- Latitud: 0°21'32" S
- Longitud: 76°52'40" W
- Altitud: 250 m

2.1.3. *Características climáticas*

- Precipitación media anual: 3100 mm
- Temperatura anual: 24 °C
- Humedad relativa media anual: 85 %

2.2. Materiales y equipos

Para la investigación se utilizó los siguientes materiales, los cuales están distribuidos por equipos, reactivos y materiales, detallados a continuación:

- **Equipos**

Microscopio, computadora, cámara de flujo laminar, autoclave, cámara de celular, estufa, balanza analítica, cocineta eléctrica, licuadora, colador, material bibliográfico, papel, tijeras, lápices, borradores, esferos, tablero de oficina, regla, cuaderno.

- **Reactivos**

Papa dextrosa agar (PDA), alcohol potable, ácido láctico, cloranfenicol, agar, extracto de malta, agar Sabouraud, harina de maíz, harina de frijol, azul lactofenol y glicerol.

- **Materiales de laboratorio**

Micropipeta, puntas para micropipetas, cajas Petri de 90 mm de diámetro, sacabocados de 5 mm, pinzas, espátula, matraces de 500 ml, porta objeto, cubre objeto, mechero de alcohol, algodón hidrófilo, papel aluminio, guantes de nitrilo, mascarillas, mandil, parafilm, vasos de precipitación 1000 ml.

2.3. Metodología

2.3.1. Factores en estudio

- FASE I: El factor en estudio está conformado por medios de cultivos, para lo cual se estudiaron cinco medios de cultivo para acelerar el crecimiento de *Alternaria* sp.
- FASE II: Está conformada por los aislados de *Trichoderma* spp.

2.3.2. Unidad experimental

La unidad experimental estará conformada por una caja Petri de 90 mm.

2.3.3. Tratamientos

- **Tratamientos de los medios de cultivo**

Se evaluaron cinco medios de cultivo, más un testigo (consistió el aislado de *Alternaria* sp. sobre medios PDA), los mismos que se detallan en la Tabla 7-2.

Tabla 7-2: Descripción de los tratamientos de estudio

TRATAMIENTOS	DESCRIPCIÓN
T1	Medio de cultivo 1: Agar (20 g) + frijol (30 g) + agua (1000 ml)
T2	Medio de cultivo 2: Agar (20 g) + extracto de malta (25 g) + agua (1000 ml)
T3	Medio de cultivo 3: Papa dextrosa agar (39 g/L) + 50 % de extracto de pencas de pitahaya + Agua (500 ml)
T4	Medio de cultivo 4: Agar (20 g) + harina de maíz (20 g) + extracto de malta (25 g) + Agua (1000 ml)
T5	Medio de cultivo 5: Agar Sabouraud (65 g) + papa dextrosa agar (39 g) y harina de maíz (20 g) + Agua (1000 ml)
T6	Testigo: Papa dextrosa agar (PDA) 39g/1000 ml de agua

Fuente: (Echeverría, Gutiérrez y Carmona, 2015, p. 70; Vargas, Pico y Caicedo, 2019, p. 40).

- **Tratamientos de los aislados de *Trichoderma* spp.**

Se evaluaron 30 aislados de *Trichoderma* spp., las mismas que se detallan en la Tabla.

Tabla 8-2: Descripción de tratamientos de estudio

TRATAMIENTO	DESCRIPCIÓN	TRATAMIENTO	DESCRIPCIÓN
T1	Aislado 1	T16	Aislado 16
T2	Aislado 2	T17	Aislado 17
T3	Aislado 3	T18	Aislado 18
T4	Aislado 4	T19	Aislado 19
T5	Aislado 5	T20	Aislado 20
T6	Aislado 6	T21	Aislado 21
T7	Aislado 7	T22	Aislado 22
T8	Aislado 8	T23	Aislado 23
T9	Aislado 9	T24	Aislado 24
T10	Aislado 10	T25	Aislado 25
T11	Aislado 11	T26	Aislado 26
T12	Aislado 12	T27	Aislado 27
T13	Aislado 13	T28	Aislado 28
T14	Aislado 14	T29	Aislado 29
T15	Aislado 15	T30	Aislado 30

Realizado por: Jiménez, J. 2021.

2.4. Métodos de evaluación

FASE I:

- Crecimiento de colonia

Se midió el crecimiento diario de la colonia de *Alternaria* sp. hasta los 15 días, se evaluó estimando el diámetro (cm) de cada aislado, mediante el programa Image Tool versión 3.0, desarrollado por Wilcox et al. (2002), con la universidad de Texas. El cual se ejecuta con Windows 7, a través del uso de fotografías.

- Número de conidios

Mediante la técnica de observación directa (impronta), se observó y se contó el número de estructuras de reproducción asexual presente en los bordes de la circunferencia de cada medio de cultivo. Las observaciones se realizaron al 5, 7, 10, 13 días haciendo uso del microscopio (Motic BA310) lente de 20 X, mediante montaje del material fúngico en azul de lactofenol.

FASE II:

- Crecimiento de colonia de *Trichoderma*

Se midió el diámetro en cm, tomando en cuenta el crecimiento diario de los aislados de *Trichoderma* spp. hasta que una de los aislados cubra toda la caja, se lo evaluó hasta el día 3, empleando el programa Image Tool versión 3.0, desarrollado por Wilcox et al. (2002), con la universidad de Texas., el mismo que usa fotografías para la determinación.

- Potencial inhibitorio

Se evaluó el potencial inhibitorio micelial al día 3, donde se calculó los valores para el porcentaje de inhibición del crecimiento de *Alternaria* sp. (PICA), según la fórmula (Suárez y Cabrales, 2008, p. 48).

$$PICA = \frac{(M_t - M_a)}{M_t} * 100$$

Dónde:

Ma: Micelio de *Alternaria* sp. inhibido.

Mt: Micelio del crecimiento de *Alternaria* sp. libre (testigo).

- Capacidad antagónica

Se midió el crecimiento del área total en cm² de la colonia de *Alternaria* sp, y el área colonizada por los aislados de *Trichoderma* spp.; para estimar el área se empleó el programa Image Tool versión 3.0, desarrollado por Wilcox et al. (2002), con la universidad de Texas, que procesa haciendo uso de fotografías. Las mediciones se realizaron cada 24 horas, donde se evaluó el día 5.

2.5. Manejo específico del experimento

FASE I:

- Aislamiento de *Alternaria* sp.

Para la realización del aislamiento de colonias de *Alternaria* sp., se colectó tejido de pitahaya infectada por la enfermedad denominada sarna, el tejido se cortó en fragmentos de unos 5 mm, con parte del tejido sano y parte de tejido con síntomas iniciales, los cuales fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 3% por dos minutos siendo lavados con tres pasos de agua destilada estéril y secados con papel estéril. Se colocó 3 secciones en cajas Petri con medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) acidificado y se incubaron a temperatura entre 25-27°C. Las cajas se revisaron al microscopio cada 24 horas según métodos de (Torres y Morton, 2005, p. 38-40), modificado. Las colonias emergidas fueron identificadas a nivel de género, según claves morfológicas (Barnett y Hunter, 1998, p. 132-133).

En la cámara de flujo laminar los medios de cultivos estudiados previamente esterilizados se dispensaron sobre cajas Petri de 90 mm, posteriormente se colocó en el centro de la caja un disco de 5 mm de la colonia de *Alternaria* sp., que ha sido sembrada hace ocho días atrás, para este fin se empleó un sacabocado estéril y mediante punta de hifa se movió la colonia.

FASE II:

- Activación de aislados de *Trichoderma* spp.

Los aislados de *Trichoderma* son originarios de las plantaciones de pitahaya, del Cantón Palora, donde el Departamento de Protección Vegetal en el 2019 conservo los aislados de este género. Para la activación de los aislados de *Trichoderma* spp. conservados en agua estéril bajo congelación se utilizó la técnica aplicada por Góral (1973, pp. 542–543), donde se descongeló y en la cámara de aislamiento se agitaron micro tubos que contengan al hongo, se tomó 0,3 ml con el uso de una micropipeta con las puntas previamente esterilizadas y se vertió en el centro de una caja petri que contenga medio PDA + ácido láctico, estos se incubaron a 27 °C durante el tiempo en el que se evidencie el crecimiento del hongo.

- Confrontación de *Alternaria* sp. y *Trichoderma* spp.

Para la instalación del ensayo las cajas Petri fueron marcadas en 2 puntos distantes a 4 cm, con medio de cultivo seleccionado en el primer ensayo; se tomó discos de 0,5 cm de diámetro micelio del patógeno (*Alternaria* sp.) y se colocó en el interior de las cajas Petri, se dejó crecer la colonia aproximadamente 3 cm, luego en el extremo opuesto se colocó otro disco de 0,5 cm con micelio de *Trichoderma* (Howell, 2003, p. 4-6).

2.6. Diseño experimental

FASE I: Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), en la cual se realizaron 5 repeticiones por tratamiento.

FASE II: Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), en la cual se realizaron 3 repeticiones por tratamiento.

2.7. Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el programa estadístico InfoStat versión 2015. Se empleó modelos lineales generales y mixtos (Di Rienzo et al., 2005), bajo el siguiente modelo:

- FASE I: $Y_{ijk} = \mu + M_i + B_j + e_{ij}$
- FASE II: $Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + e_{ij}$

Y_{ij} : Es la variable de respuesta

μ : Es la media general

M_i : Es el efecto del i-ésimo tratamiento (Medio de cultivo)

A_i : Es el efecto del i-ésimo tratamiento (Aislados)

B_j : Es el efecto del j-ésimo bloque

e_{ij} : Es el término de error aleatorio

2.8. Análisis funcional

El análisis de las variables número de conidios y crecimiento de *Alternaria* sp., se realizó mediante modelos lineales generales y mixtos. Los efectos fijos fueron el factor medio de cultivo, número de evaluaciones en el tiempo y la interacción resultó de ambos factores. Se declaró la repetición como aleatorios. Las variables velocidad de crecimiento, número de conidios de *Alternaria* sp. mostró efectos significativos.

Se evaluaron los supuestos de los modelos mediante gráficos qq-plot (normalidad) y gráficos de los residuos en función de los predichos para la homogeneidad de varianza. Como las variables de potencial inhibición de *Alternaria* sp., crecimiento de aislados y capacidad antagónica de *Trichoderma* spp., mostraron contrariedades de varianza, donde se ajustaron a modelos de heterocedasticidad, comparándolos con los modelos de homocedasticidad, empleando los criterios de información de Akaike (AIC), Bayesiano (BIC) (Di Rienzo *et al.* 2008) y mediante prueba de hipótesis de los resultados de verosimilitud.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Crecimiento de colonia de *Alternaria* sp. en medios de cultivos

Al analizar la variable crecimiento del diámetro de la colonia del aislado *Alternaria* sp. en cajas Petri en diferentes medios de cultivos, se observó diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre los tratamientos estudiados. En el Gráfico 1-3, se observó que el Tratamiento tres (PDA + extracto de pencas de pitahaya) presentó el mayor crecimiento con 3,84 cm, el mismo que difiere de los demás tratamientos; seguidamente por el Tratamiento uno (Agar + frijol) con 3,02 cm y con menor crecimiento se obtuvo el Tratamiento dos (Agar + extracto de malta) con 0,86 cm.

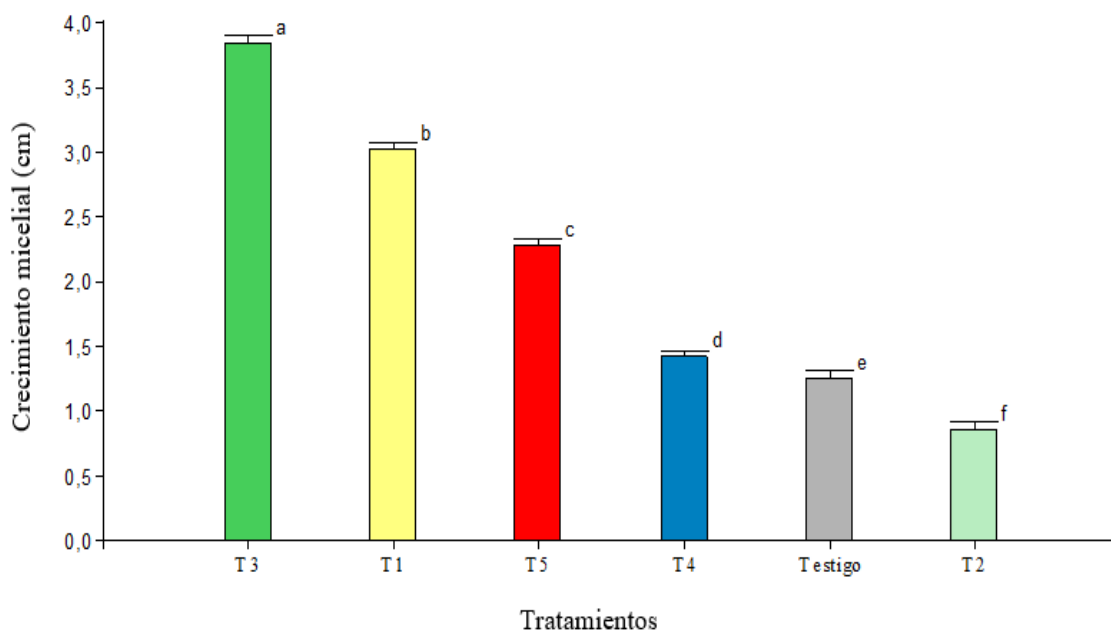


Gráfico 1-3: Crecimiento de colonia de *Alternaria* sp. (diámetro). en diferentes medios de cultivos

Realizado por: Jiménez, J. 2021.

El crecimiento micelial (diámetro) del aislado de *Alternaria* sp. presentado en los tratamientos evaluados es progresivo a través del tiempo a los 15 días; En la Gráfica 2-3, se observó que el Tratamiento 3 creció 8,2 cm, seguido del Tratamiento uno con 6,42 cm y con menor desarrollo el Tratamiento dos con 0,92 cm, a partir del último día de evaluación se observó un progreso de 0,9 a 1,98 cm, excepto por el T2 que presentó 0,1 cm.

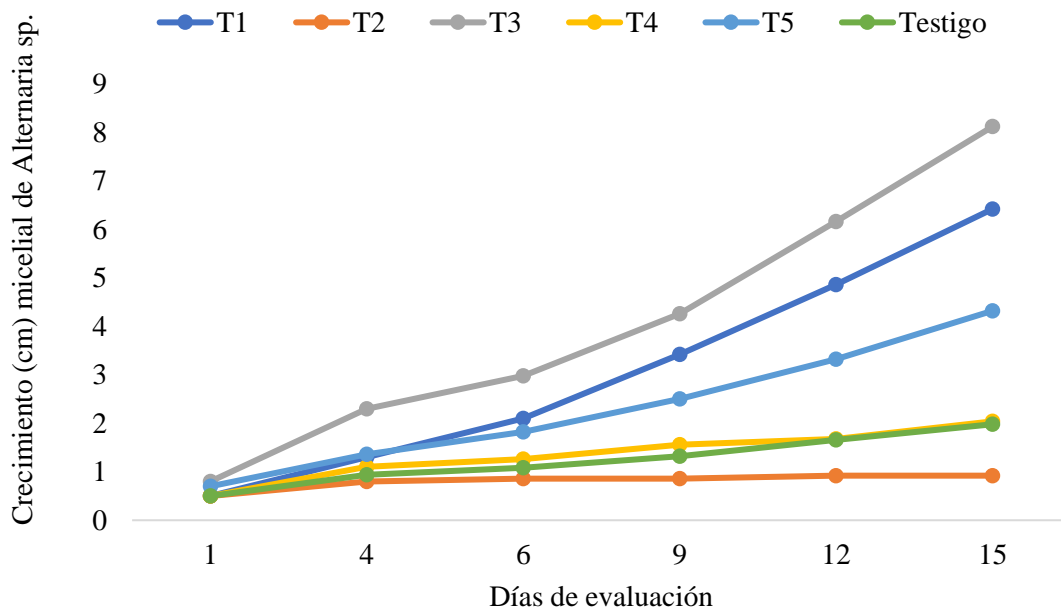


Gráfico 2-3: Evaluación del crecimiento de colonia (diámetro) del aislado de *Alternaria* sp. a través del tiempo

Realizado por: Jiménez, J. 2021.

Mew y Gonzales (2002, p. 59) a través de la evaluación de tres medios de cultivo, para el crecimiento de *Alternaria padwickii*, obtuvo como resultado el medio agar extracto de malta que presentó mayor crecimiento micelial de esta especie de *Alternaria*, en base a esta investigación el presente trabajo difiere con los resultados obtenidos, por lo que el Tratamiento Agar más extracto de malta presentó el menor crecimiento de los tratamientos evaluados y alcanzó mayor crecimiento el medio compuesto de PDA más extracto de pitahaya. No obstante, el estudio realizado por Vargas, Pico y Caicedo (2019, p. 40) coincide con los resultados obtenidos referente al medio de cultivo, con el uso de pencas de pitahaya, mencionando que al usar mayor concentración de extracto de pitahaya, se logra acelerar el crecimiento de *Alternaria* sp. Menciona Pavón et al. (2012, p. 1774) que para el desarrollo de dicho patógeno, los medios de cultivo que contengan extractos naturales combinados con PDA, benefician su crecimiento. Sin embargo, los resultados de Echeverría y Gutiérrez, (2015, p. 70) determinó al medio de cultivo agar frijol en favorecer el crecimiento micelial del género de *Alternaria*, además de permitir la esporulación, presenta similitud con los resultados obtenidos, ya que es el segundo medio (agar frijol) en presentar el mejor crecimiento después del medio PDA más extracto de pencas de pitahaya.

3.2. Número de conidios de *Alternaria* sp. en medios de cultivo

El análisis de la variable número de conidios, obtuvo diferencias significativas ($P < 0,0001$) entre los tratamientos estudiados, En la Gráfica 3-3, se observó que el Tratamiento uno obtuvo el mayor número de conidios (284), seguido del Tratamiento cinco (84 conidios), siendo estos diferentes estadísticamente entre sí y a su vez diferentes a los demás tratamientos, el Tratamiento cuatro, dos, tres y el testigo fueron iguales estadísticamente, el menor valor lo obtuvo el Tratamiento tres con 39 conidios.

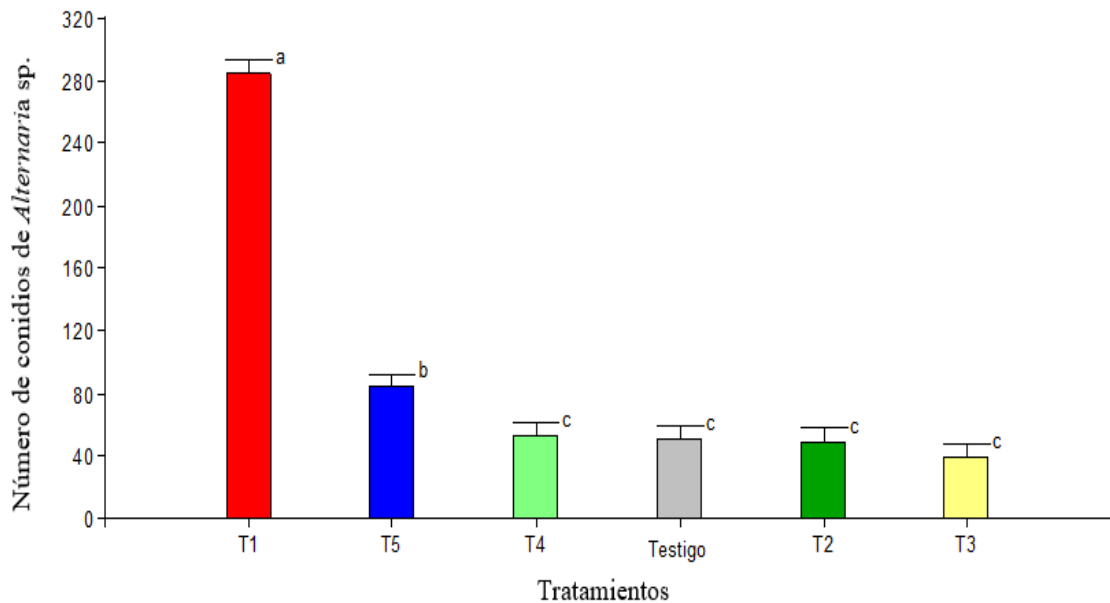


Gráfico 3-3: Número de conidios de *Alternaria* sp. en los diferentes medios de cultivo

Realizado por: Jiménez, J. 2021.

El número de conidios del aislado de *Alternaria* sp. en el tiempo, se lo realizó en el día 5, 7, 10 y 13. En el Gráfico 4-3, se observó que a partir del quinto día el T1 produjo 87 conidios y al día 13 produjo un incremento de 481, seguido del T5 con 141 conidios al día 13 que se ejecutó el conteo de esporas, sin embargo, el Tratamiento dos, tres, cuatro y el testigo, al día siete presentaron un decrecimiento de conidios.

Lo expresado por Hernández y Rosón (2005, p. 63) referente a la presencia de esporulación y crecimiento de hongos, depende de los componentes del medio de cultivo, por lo que estos hongos necesitan fuentes de potasio, carbono, calcio para su metabolismo, teniendo el frijol en su composición el 20 % de N. Moore (1996, p. 574) menciona que el porcentaje de nitrógeno ayuda en la esporulación, influyendo la disponibilidad de nutrientes, pH y temperatura. Concerniente a estas apreciaciones en el presente estudio se constató que el mejor medio de cultivo para la esporulación y crecimiento es el T1 (agar + frijol + agua), presentando mayor esporulación a

diferencia de los otros tratamientos, en cuanto al crecimiento son diferentes estadísticamente del T3. Echeverría y Gutiérrez, (2015, p. 70) en su evaluación de diferentes medios de cultivo para *Alternaria padwickii*, menciona que el medio agar extracto de malta, ayuda al crecimiento de este hongo, sin embargo, en base a sus resultados, concluye que el medio agar frijol, es el único medio que favorece la esporulación, crecimiento y permite identificar fácilmente la estructura de este patógeno, correlacionando con los resultados obtenidos en este estudio.

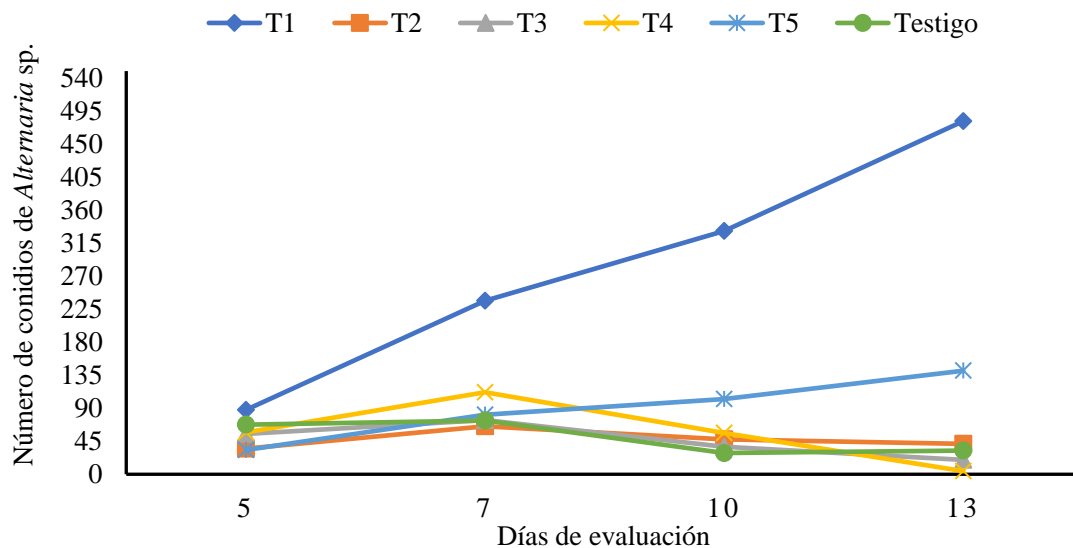


Gráfico 4-3: Número de conidios producidos por el aislado *Alternaria* sp. evaluado a través del tiempo

Realizado por: Jiménez, J. 2021.

3.3. Crecimiento de aislados de *Trichoderma* spp.

Al analizar la variable crecimiento micelial de los aislados de *Trichoderma* spp., se observó diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre los tratamientos.

En la Gráfica 5-3, se observó que al tercer día los aislados T13, T21, T29, T11, T1, T7, T8 con un crecimiento de 9 cm, siendo iguales estadísticamente, por otro lado, los aislados T5, T19, T9, T10, T25 fueron iguales entre sí, presentando valores de 8,92 a 8,97 cm, los T25 y T2 con un crecimiento de 8,75 a 8,8, seguidamente de los T16, T15, T18, T14, T20 presentaron similitud en su crecimiento de 8,67 a 8,45 cm, el T26 presentó diferencia estadística en los tratamientos con 8,18 cm, en cuanto a los tratamientos T3, T24, T23, T12, T30 alcanzaron un crecimiento entre 7,9 a 7,2 cm, los tratamientos T6, T28, T27, T22, presentaron similitudes con 6,82 a 6,22 cm. Además, los tratamientos con menor crecimiento fueron el T17 y T4 con 5,67 y 5,62 cm respectivamente.

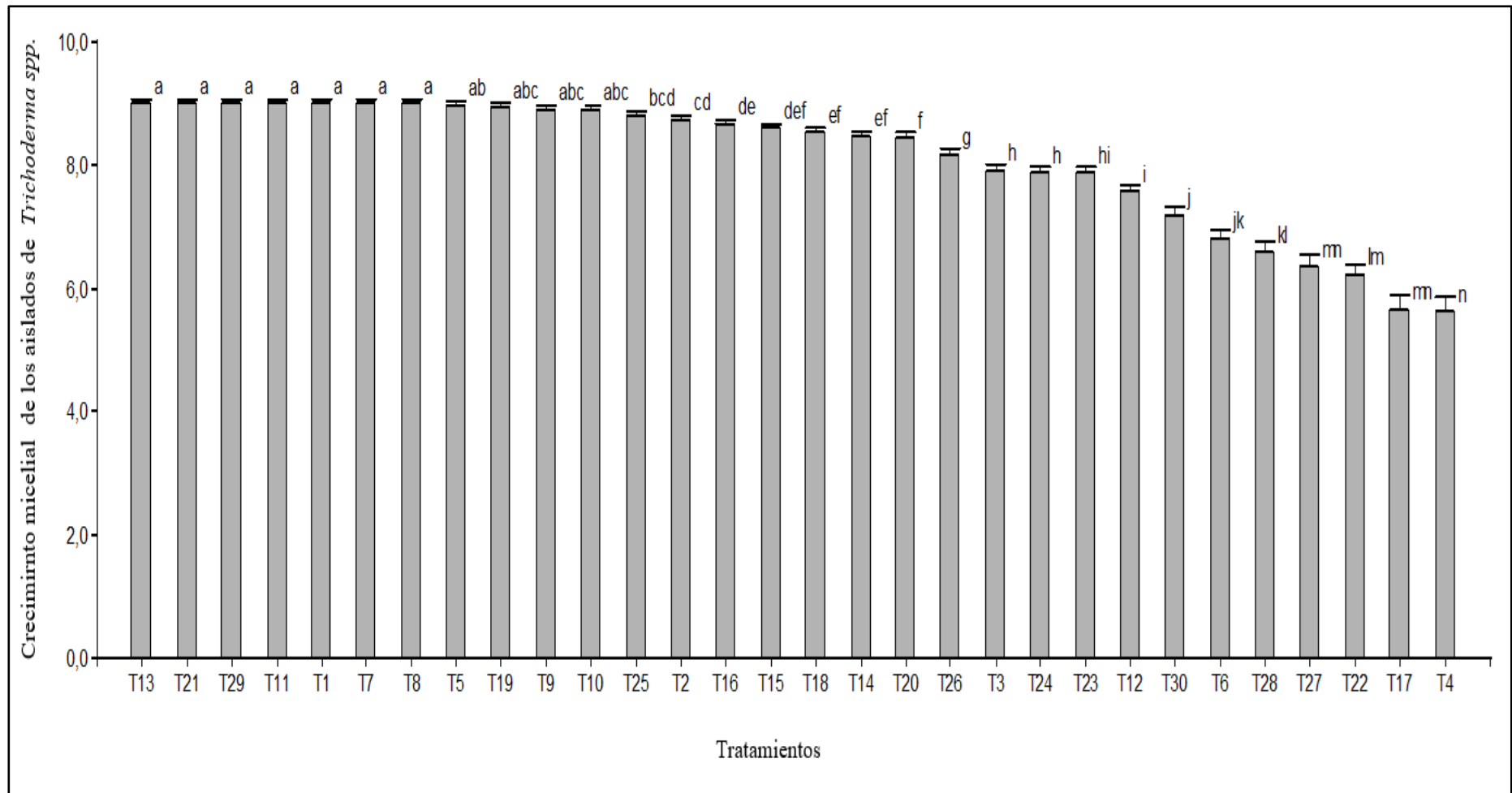


Gráfico 5-3: Crecimiento de los aislados de *Trichoderma* spp. en el medio de cultivo agar más frijol

Realizado por: Jiménez, J. 2021.

3.4. Porcentaje de inhibición

En la variable porcentaje de inhibición se observó diferencias significativas ($P < 0,0001$) en el efecto inhibitorio de los aislados de *Trichoderma* spp. sobre *Alternaria* sp.

En la Tabla 9-3, se pudo evidenciar que los aislados que presentan el mayor porcentaje de inhibición sobre *Alternaria* spp. se encuentra el T26 con 32,51%, seguido del T21 (30,25%) y T14 (29,94%), mientras que el T30, T25 y T20 inhibieron con 28,94, 28,45 y 28,15 % y con el más bajo efecto inhibitorio los aislados T27, T8 y T4 con 12,04, 11,41 y 10,87 %.

Tabla 9-3: Efecto de los aislados de *Trichoderma* spp. sobre *Alternaria* sp. en condiciones controladas

TRATAMIENTOS		INHIBICIÓN									
T26	32,51	a									
T21	30,25	a		b							
T14	29,94	a		b		c					
T30	28,94	b				c					
T25	28,45	b				c					
T20	28,15	b		c		d					
T16	25,14	c				d		e			
T13	24,56	d						e			
T29	24,25	d						e			
T19	23,26	d				e		f			
T3	22,70	d		e		f		g			
T12	22,44	e				f		g			
T10	21,07	e				f		g		h	
T1	20,57	f						g		h	
T11	20,19	f						g		h	
T24	19,96	f						g		h	
T22	19,66	f						g		h	
T15	19,43	g						h			
T5	19,28	g						h			
T9	18,32	g						h			
T18	18,07	g				h		i			
T6	17,05	h						i			
T2	16,86	h						i			
T7	16,77	h						i			
T17	16,35	h						i			
T23	16,07	h						i			
T28	15,99	h						i			
T27	12,04	i								j	
T8	11,41	j									
T4	10,87	j									

Elaborado por: Jiménez, J. 2021.

Estudios realizados por Suárez et al. (2008, p. 40) y Camarena (2012, p. 6), demostraron que *Trichoderma* ocasiono un porcentaje de inhibición del 50 % sobre patógenos del género *Fusarium* y *Alternaria*, el resultado de inhibición en estas investigaciones es mayor al obtenido en nuestro estudio, donde se alcanzó un 31 % de inhibición con los aislados T26, T21 y T14.

3.5. Micoparasitismo de *Trichoderma* spp. sobre *Alternaria* sp.

En la variable de micoparasitismo de *Trichoderma* spp. sobre *Alternaria* sp. se evidenció que hubo diferencias significativas ($P < 0,0001$) entre los aislados del hongo antagonista en relación al patógeno Tabla 10-3. Los aislados que obtuvieron el 100 % de micoparasitismo sobre *Alternaria* sp. fueron los aislados T21, T14 y T26 (100%), los cuales son diferentes estadísticamente a los demás aislados; seguido de los T15, T16, T22 Y T7, con un valor entre 90 a 97 %, mientras que los aislados T9, T2, T28, T3, T8, T10, T12, T24 Y T6 no ejercieron efectos de control sobre el patógeno.

Tabla 10-3: Micoparasitismo de aislados de *Trichoderma* spp. sobre *Alternaria* sp. en condiciones controladas

TRATAMIENTOS		MICOPARASITISMO			
T21	100	a			
T14	100	a			
T26	100	a			
T15	97,03	a	b		
T16	92,83	a	b	c	
T22	92,38	a	b	c	
T7	90,98		b	c	
T20	89,73		b	c	d
T19	88,21			c	d
T25	81,60				d
T30	67,97				e
T5	26,20				f
T11	21,23				f g
T29	21,06				f g h
T13	20,42				f g h
T18	17,89				f g h i
T4	14,39				g h i j
T17	12,52				h i j
T1	10,97				i j
T27	7,10				j k
T23	6,94				j k
T9	1,10				k
T2	1,10				k

T28	1,10	k
T3	1,10	k
T8	1,10	k
T10	1,10	k
T12	1,07	k
T24	1,07	k
T6	0,73	k

Elaborado por: Jiménez, J.2021.

Alcedo y Reyes (2018, p. 2) en su evaluación en el efecto de biocontrol de cinco agentes con capacidad antagonica entre dos aislados de *Alternaria alternata*, ejerciendo mayor capacidad el género *Trichoderma*, a comparación con los demás tratamientos, proporcionando una similitud referente al estudio por la capacidad que tiene *Trichoderma* como micoparasitismo de una gran variedad de hongos, donde se tuvo como resultado los aislados 26, 21 y 14, presentando capacidad de biocontrol sobre *Alternaria* sp.

CONCLUSIONES

- Se comprueba que los medios de cultivos estudiados si aceleran el crecimiento y cantidad de conidios en colonias de *Alternaria* sp., siendo el medio papa dextrosa agar (PDA) más extracto de pencas de pitahaya, el cual estimuló el mayor crecimiento de la colonia de *Alternaria* sp.; sin embargo, el medio agar más frijol a más de obtener un crecimiento similar, es aquel que logró la mayor producción de conidios de *Alternaria* sp.; y el medio agar más extracto de malta presentó el menor crecimiento.
- Al evaluar la capacidad antagónica de los aislados de *Trichoderma* spp., se comprueba que si hay un grupo de aislados del hongo del género *Trichoderma* que presenta una alta capacidad de inhibición y biocontrol sobre colonias de *Alternaria* sp.

RECOMENDACIONES

Se recomienda:

- Realizar la identificación molecular de los aislados de *Trichoderma* con poder inhibitorio de *Alternaria* sp.
- Efectuar la identificación morfológica y molecular de *Alternaria* sp, causante de la sarna de las pencas de pitahaya.
- Realizar las pruebas de inhibición y parasitismo en condiciones de invernadero y campo.
- Realizar la compatibilidad de los aislados con poder inhibitorio con patógenos de distintos cultivos.

BIBLIOGRAFÍA

ALCEDO, Y. & REYES, I. "Microorganismos promotores de crecimiento en el biocontrol de *Alternaria alternata* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.)". *Bioagro* [en línea], vol. 30, no. 1 (2018), pp. 1. [Consulta: 23 agosto 2021]. ISSN 1316-3361. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S131633612018000100006&lng=es&n=s&tlng=es.

ALEXOPOULOS, C., MIMS, C. & BLACKWELL, M. *Introductory Mycology*. Nueva York. 4ª ed. 1996. ISBN 978-0-471-52229-4, pp. 1-880.

BAHENA, F. *Enemigos naturales de las plagas agrícolas del maíz y otros cultivos*. 1ª ed. Michoacan, México: SAGARPA.. 2008, ISBN 9786074250138. p. 21.

BANCO CENTRAL DEL ECUADOR. El comercio exterior. *Portal bce*. [en línea]. 2012. Disponible en: http://www.portal.bce.fin.ec/vto_bueno/seguridad/ComercioExteriorEst.jspi.

BARNETT, H.L. & HUNTER, B.B. *Illustrated genera of imperfect fungi* [en línea]. 4ª ed. 1998. pp. 132-133. Disponible en: https://www.academia.edu/35499449/Illustrated_genera_of_imperfect_fungi_fourth_edition._Barnett_y_Hunter._pdf.pdf.

BENÍTEZ, T., RINCÓN, A., LIMÓN, C. & CODÓN, A. "Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains". *International Microbiology* [en línea], vol. 7, no. 4 (2004), pp. 250-254,. [Consulta: 9 junio 2021]. ISSN 1139-6709. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113967092004000400003&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

BOTÍN, V., JULIÁN, A., ISLAS, S., SERGIO, J., SORIANO, C. & SÁNCHEZ, R. "A New Stem Spot Disease of Pitahaya [*Hylocereus undatus*(Haw.) Britton and Rose] caused by Fusicoccum-like anamorphof *Botryosphaeria dothidea* (Moug.:Fr.) Ces. and De Not.in Mexico". vol. 22, no. 1 (2004) , pp. 140-142,. ISSN 0185-3309.

BRAVO, A., IBARRA, J.E., CRISTINA DEL RINCÓN CASTRO, M., GALINDO, E., PATIÑO, M., SERRANO, L., GARCÍA, R., CARRILLO, J.A., PEREYRA-ALFÉREZ, B., ALCÁZAR-PIZAÑA, A., LUNA-OLVERA, H., GALÁN-WONG, L., PARDO, L., MUÑOZ-GARAY, C., GÓMEZ, I. & SOBERÓN, M. "Los microorganismos en el control de

insectos y fitopatógenos". *Revista, Latinoamericana de Microbiología*. [en línea], vol. 48, no. 2 (2006), p. 116. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/lamico/mi-2006/mi062k.pdf>.

CAETANO, C., OTÁLVARO, L. & MUÑOZ, J. "Identificación de recursos genéticos y fitoquímicos de Pitahaya en Colombia". *Ministerio De Agricultura Y Desarrollo Rural*, no. 3(2010), pp. 102-103.

CÁLIX, H., CASTILLO, R., RODRIGUEZ, A. & CASTAÑEDA, R. "El cultivo de la pitahaya en el trópico". *Instituto para el desarrollo de sistemas de producción del trópico humedo de Tabasco* [en línea], no. 28 (2001), pp. 8-11. DOI 303611410. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/303611410%0AEI>.

CAMARENA, J. *Efecto de la actividad metabólica de cepas de hongos antagonistas sobre alternaria alternata (fr.) Causante de la mancha parda en cítricos* [en línea]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Ciencias biológicas, Lima, Perú. 2012. p. 6. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/1418>.

CAÑAR, D., CAETANO, C. & BONILLA, M. "Caracterización fisicoquímica y proximal del fruto de pitahaya amarilla [*Selenicereus megalanthus* (K. Shum. DEx Vaupel) Moran] cultivada en Colombia". *Agronomía*, vol. 22, no. 1 (2014), pp. 77-78.

CAÑEDO, V. & AMES, T. *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. [en línea]. 1ª ed. 2004 Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP). ISBN 92-9060-238-4. pp. 18-23. Disponible en: <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>.

CARVAJAL, L. *Enfermedades de plantas: control biológico* [en línea]. 1ª. 2011. Bogota, Colombia: ISBN 9789586486514, 9781449278489. p. 11. Disponible en: <https://ulatina.metabiblioteca.org/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=2256>.

CASADO, C., TORRICO, G. & MEDINA, M. "Medios de Cultivo en un Laboratorio de Microbiología". *Revista de Investigación* [en línea], vol. 2, no. 4 (2012), pp. 4-7. Disponible en: <https://libroslaboratorio.files.wordpress.com/2012/09/medios-de-cultivo-en-un-laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf>.

CASTELLANOS, L. "Determinación de especies hospedantes de *Alternaria solani* sor. en la empresa de cultivos varios de horquita, cienfuegos". *Fitosanidad, redalyc* [en línea], vol. 9, no. 1

(2005), DOI 1562-3009. pp. 15-17. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/2091/209116169003.pdf>.

CHAUCA, E. *Evaluación de la capacidad antagónica de Trichoderma spp. frente al hongo Rhizoctonia solani en Allium cepa L (Cebolla roja)*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ESPOCH. Ciencias. Escuela de ciencias químicas, Riobamba, Ecuador. 2018. p. 1.

CHET, I. & BAKER, R. "Isolation and Biocontrol Potential of Trichoderma Hamatum from Soil Naturally Suppressive to Rhizoctonia solani". *The American Phytopathological Society* [en línea], vol. 71, no. 3 (1981). pp. 286-287,. Disponible en:
https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1981Articles/Phyto71n03_286.PDF.

CISNEROS, F., *Control de plagas agrícolas* [en línea]. 2ª ed. 1995. Perú. ISBN 9789972901706. 1995, pp. 45-49. Disponible en:
http://www.avocadosource.com/books/CisnerosFausto1995/CPA_TOC.htm.

COCA, B.M., GAKENGE, E.R. & CABRERA, I.M., "Evaluación in vitro de cepas de Trichoderma asperellum Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg como promisorios agentes para el control de Alternaria solani Sorauer Sorauer". *Protección Vegetal*, vol. 35, no. 2 (2020) , pp. 7., DOI 2224-4697.

DI RIENZO, CASANOVES, F., GONZÁLEZ, L., TABLADA, E., DÍAZ, M., ROBLEDO, C. & BALZARINI, M., *Estadística para las ciencias agropecuarias* [en línea]. 6ª ed. 2005. Córdoba, Argentina: ISBN 978-987-591-112-3. pp. 1-329. Disponible en:
https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/2968/mod_resource/content/0/Estadistica_para_las_Ciencias_Agropecuarias_-_Di_Rienzo.pdf.

DONATI, S. *Efecto de Trichoderma harzianum cepa L1 sobre la calidad de plantines en Pinus taeda* [en línea]. Universidad de la república. Agronomía. Montevideo, Uruguay. 2011. p. 41. Disponible en:
<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/9715/1/3725don.pdf>.

ECHEVERRÍA, A., GUTIÉRREZ, S. & CARMONA, M. "Evaluación de medios de cultivos en el crecimiento de Alternaria padwickii Evaluation of culture media in the growth of Alternaria padwickii". *Fitosanidad* [en línea], vol. 19, no. 1 (2015), ISSN 1818-1686. pp. 69-70. DOI 1562-

3009. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209146971008.pdf>.

ELLIS, M. *Dematiaceous Hyphomycetes*. VI [en línea]. 1ª ed. 1965. England: p. 465. Disponible en: http://www.ascofrance.com/uploads/forum_file/1965-n103-Ellis-0001.pdf.

ESQUIVEL, P. & QUESADA, Y.A. "Características del fruto de la pitahaya (*Hylocereus* sp .) y su potencial de uso en la industria alimentaria". *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos* [en línea], no. 2218-4384 (2012), pp. 114.

FABREGA, A., AGUT, M. & CALVO, M. "El género «*Alternaria*»: características morfológicas y capacidad de producción de micotoxinas". *Anales de la Real Academia de Doctores* [en línea], vol. 6, no. 2 (2002), pp. 357-368. ISSN 1138-2414. Disponible en: <https://www.radoctores.es/doc/1V6N2-calvo-generoalternaria.pdf>.

FAO. Perspectivas a plazo medio de los productos básicos agrícolas. *Depósito de documentos de la FAO* [en línea]. 2012. Disponible en: <http://www.fao.org/3/y5143s/y5143s13.htm>.

GARRIDO, C. Evaluación de la actividad micoparasítica de 15 cepas de *Trichoderma* spp. frente a *Rhizoctonia solani*, utilizando frejol caupí (*Vigna unguiculata* en laboratorio). [en línea]. Universidad Nacional de Trujillo. Ciencias Agropecuarias. Trujillo, Purú. 2016. pp. 29-36: Disponible en: [https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3050/GARRIDO LOPEZ%2C Cynthia rubi.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3050/GARRIDO%20Cynthia%20rubi.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

GÓRAL, I. "Distribution of radioactive products of photosynthesis in Scots pine (*Pinus sihestris* L.) seedlings during the first vegetation season". *Laboratory of Physico-Chemical Analyses* [en línea], vol. 42, no. 4 (1973), pp. 542-543. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/241988128_Distribution_of_radioactive_products_of_photosynthesis_in_Scots_pine_Pinus_sihestris_L_seedlings_during_the_first_vegetation_season/fulltext/57c5ec4908ae6db2cc76a7b2/Distribution-of-radioactive-products-o.

GUTIÉRREZ, S. "Preparación De Medios De Cultivo". *Organización Panamericana de Salud* [en línea], vol. 1, no. 1 (2001), pp. 1-3. Disponible en: http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_Preparación_de_medios_de_cultivo.pdf.

HERMOSA, R., GRONDONA, I., ITURRIAGA, E., DIAZ-MINGUEZ, J., CASTRO, C., MONTE, E. & GARCIA-ACHA, I. "Molecular characterization and identification of biocontrol

isolates of *Trichoderma* spp). *Applied and Environmental Microbiology* [en línea], vol. 66, no. 5 (2000), ISSN 00992240. pp. 1890, DOI 10.1128/AEM.66.5.1890-1898.2000. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/12529713_Molecular_Characterization_and_Identification_of_Biocontrol_Isolates_of_Trichoderma_spp.

HERNÁNDEZ, A. & ROSÓN, C. "Evaluación preliminar del crecimiento y la esporulación de *Aschersonia Aleyrodinis* Webber en medios de cultivo convencionales". *Fitosanidad* [en línea], vol. 9, no. 3 (2005). ISSN 1562-3009, pp. 63.

HOWELL, C. "Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts". *Plant Disease* [en línea], vol. 87, no. 1 (2003). ISSN 01912917, pp. 4-6. DOI 10.1094/PDIS.2003.87.1.4. Disponible en: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS.2003.87.1.4>.

HUACHI, L., YUGSI, E., PAREDES, M., CORONEL, D., VERDUGO, K. & COBA SANTAMARÍA, P. "Desarrollo de la pitahaya (*Cereus* sp) en Ecuador". *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida* [en línea], vol. 22, no. 2 (2015), ISSN 1390-8596. pp. 52. [Consulta: 9 junio 2021]. DOI 10.17163/lgr.n22.2015.05. Disponible en: <https://lagranja.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/22.2015.05>.

INFANTE, D., MARTÍNEZ, B., GONZÁLEZ, N. & REYES, Y. "Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos". *Protección Vegetal* [en línea], no. 2224-4697 (2009). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002.

INIAP. Informe Anual del Programa Nacional de Fruticultura. 2018.

INIAP. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. [en línea]. 2019. [Consulta: 14 julio 2021]. Disponible en: <https://www.iniap.gob.ec/pruebav3/intitucion/>.

INTAGRI. *Trichoderma*. Control de Hongos Fitopatógenos. *Fitosanidad* [en línea], 2018. pp. 1-2. Disponible en: https://www.intagri.com/public_files/Trichoderma.pdf.

JIMÉNEZ, C. "Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan". [en línea], vol. 12, no. 1 (2011). pp. 3-4. [Consulta: 9 junio 2021]. ISSN 1067-6079. Disponible en: <https://www.revista.unam.mx/vol.12/num1/art04/art04.pdf>.

JIN, X., KO, Y.-Z., MOHD, M.H., CHIANG, Y.-C. & NORDAHLIAWATE, S. First report

of stem canker of dragon fruit caused by *Alternaria* spp. in Taiwan. *New Disease Reports* [en línea], 2020. pp. 35. DOI 2044-0588.2020.041.035. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/342321678_First_report_of_stem_canker_of_dragon_fruit_caused_by_Alternaria_spp_in_Taiwan.

KIESLING, R. & FERRARI, O. *100 Cactus*. 1ª ed. Buenos Aires, 2005. ISBN 955-24-1108-0. pp. 9-14.

KONDO, T., MARTINEZ, M., MEDINA, J., REBOLLEDO, A. & CARDOZO, C. *Tecnología para el manejo de pitaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran en Colombia*. 1ª ed. Palmira, Valle del Cauca. 2013. ISBN 9789587401479. pp. 11-18. 2013.

KOOLMAN, J. & ROHM, K. *Bioquímica texto y atlas* [en línea]. 31 ed. Madrid, España. 2004 pp. 160-172. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=f61Mvd-vl60C&printsec=copyright#v=onepage&q&f=false>.

KURIOKA, M., MARTIRENA, V. & MULVANY, J. *Evaluación de metabolitos inducidos en plantines de *Eucllyptus grandis* y *E. globulus* creciendo en vivero sobre sustrato inoculado con *Trichoderma Harzianum** [en línea]. Universidad de la República (Uruguay). Agronomía. 2013. pp. 23-27.. Disponible en: <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/1756/1/3855kur.pdf>.

LASTRES, L. & SOZA, F. *Sanidad Vegetal* [en línea]. Honduras. 2009 pp. 1-75. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1354/2/02.pdf>.

LÓPEZ, C. & GONZÁLEZ, P. "Selección de Cepas Nativas de *Trichoderma* spp. con Actividad Antagónica sobre *Phytophthora capsici* Leonian y Promotoras de Crecimiento en el Cultivo de Chile (*Capsicum annum* L.)". *Revista Mexicana de Fitopatología* [en línea], vol. 22, no. 1 (2004), pp. 119. ISSN 2007-8080. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/242615786_Seleccion_de_Cepas_Nativas_de_Trichoderma_spp_con_Actividad_Antagónica_sobre_Phytophthora_capsici_Leonian_y_Promotoras_de_Crecimiento_en_el_Cultivo_de_Chile_Capsicum_annuum_L.

MAG. En Palora, Morona Santiago, se realiza el primer censo de pitahaya. 2018. pp. 2.

MAG. Mesa Técnica de Pitahaya se reúne en Morona Santiago y fija compromisos. [en línea].

2019. párr. 4. [Consulta: 21 agosto 2021]. Disponible en: <https://www.agricultura.gob.ec/mesa-tecnica-de-pitahaya-se-reune-en-morona-santiago-y-fija-compromisos/>.

MANDUJANO, M. & REYES, J. Lo que usted siempre quiso saber sobre las Cactáceas y nunca se atrevió a preguntar. [en línea]. 2002. pp. 4-5 . [Consulta: 9 junio 2021]. Disponible en: http://www.conabio.gob.mx/institucion/conabio_espanol/doctos/biodiver40.pdf.

MARTÍNEZ, B., INFANTE, D. & REYES, Y. "Trichoderma spp. y su función en el control de plagas en los cultivos". *Protección Vegetal* [en línea], vol. 28, no. 1 (2013), pp. 2-5. Disponible en: https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1981Articles/Phyto71n03_286.PDF.

MARTÍNEZ, B., OBRET, Y., PÉREZ, S. & REYES, Y. "Antagonismo in vitro de cepas de Trichoderma spp. frente a Sarocladium oryzae (Sawada) W. Gams & D. Hawksworth". *Revista de Protección Vegetal* [en línea], vol. 29, no. 2 (2014), ISSN 2224-4697. pp. 107.

MEW, T.W. & GONZALES, P. *A Handbook of rice seedborne fungi* [en línea]. 1ª ed. Science Publishers, Inc. 2002 (Los Baños, Philippines). ISBN 9712201740. p. 59. Disponible en: http://books.irri.org/9712201740_content.pdf.

MOORE, E. *Fundamentals of the fungi*. 4ª ed. New Jersey. 1996. pp. 574-593.

MUÑOZ, N. *Estudio de factibilidad financiera para la producción de pitahaya (Hylocereus undatus) de exportación, en la comuna Julio Moreno, provincia de Santa Elena* [en línea]. Universidad Estatal Península de Santa Elena. Ciencias Agrarias. La libertad. 2018. p. 7:. Disponible en: <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/4489/1/UPSE-TAA-2018-0022.pdf>.

MUÑOZ, V. Pitahaya, plagas, enfermedades y producción. *CEZA* [en línea], 2014. , pp. 8. Disponible en: <http://www.ceza.uchile.cl/>.

MURCIA, N., ALBERTO, R., TRIVIÑO, R. & OROZCO, M. Enfermedades limitantes en el cultivo de pitaya amarilla. *Corporación colombiana de investigación agropecuaria - AGROSAVIA* [en línea], 2013. , pp. 78. Disponible en: <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/19684>.

OIRSA. *Buenas prácticas de cultivo de pitahaya*. 2000. Nicaragua. pp. 3-6. ISBN 9781413584578.

PAVÓN, M., GONZÁLEZ, A., SANTOS, M. & GARCÍA, L. "Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y agente causal de enfermedades humanas". *Nutrición Hospitalaria* [en línea], vol. 27, no. 6 (2012), pp. 1773-1774, [Consulta: 18 julio 2021]. ISSN 0212-1611. DOI 10.3305/NH.2012.27.6.6017. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S021216112012000600003&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

PEREA, M., TIRADO, A., MICÁN, Y., FISCHER, G. & RODRÍGUEZ, J. "Pitahaya *Selenicereus megalanthus*". *Biotecnología aplicada al mejoramiento de los cultivos de frutas tropicales* [en línea], 2010, pp. 106. DOI 257765612.

PÉREZ, N. *Manejo ecológico de plagas* [en línea]. La Habana, Cuba. 2004 pp. 127-212. ISBN 959-46-083-3. 2004. Disponible en: <https://docer.com.ar/doc/n0xnvsc>.

PHILIPPI, L. Aspectos generales y morfológicos de *Alternaria* sp. *Estudios en Enfermedades de las Plantas* [en línea], 2010, pp. 1-2. Disponible en: https://fitopatologia1.blogspot.com/2010/11/aspectos-gerais-e-morfologicos-de_1889.html.

PICO, J., DÍAZ, A., VARGAS, Y., VIERA, W. & CAICEDO, C. "Evaluación de la Dispersión de Esporas de *Alternaria* sp. en el Cultivo de Pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) en Palora". *IV Simposio en Fitopatología, Control biológico e interacción Planta-Patógeno USFQ*, vol. 23, no. 25287753 (2019), pp. 66.

PRESCOTT, L., HARLEY, J. & KLEIN, D. *Microbiología* [en línea]. 5ª ed. Pamplona, España: Mc. Graw-Hill Interamericana. 2004. pp. 110-115. Disponible en: file:///C:/Users/HP/Downloads/Libro_prescott.pdf.

PRO ECUADOR. Análisis sectorial pitahaya. [en línea], 2016. , pp. 5-7. Disponible en: <file:///C:/Users/HP/Downloads/xdoc.mx-analisis-sectorial.pdf>.

RIVAS, L.M. "*Alternaria* sp". *Rev Chilena Infectol* [en línea], vol. 31, no. 5 (2014), pp. 606,. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v31n5/art13.pdf>.

RODRÍGUEZ, C. & ZHURBENKO, R. *Manual de medios de cultivo* [en línea]. 4ª ed. Cuba. 2018. pp. 99-101. Disponible en: <https://www.biocen.cu/wp-content/uploads/2021/05/Manual-MC-2018.pdf>.

ROMERO, O., HUERTA, M., DAMIÁN, M.A., DOMÍNGUEZ, F. & ARELLANO, D.A. "Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles". *Revista Colombiana de Biotecnología* [en línea], vol. 11, no. 2 (2009), pp. 147. ISSN 0123-3475. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012334752009000200015&lang=es%0Ahttp://www.scielo.org.co/pdf/biote/v11n2/v11n2a15.pdf.

RONCAL, M. *Principios de Fitopatología Andina* [en línea]. 1ª ed. Cajamarca, 2004. Perú: p. 218. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Manuel-Roncal-Ordenez/publication/341832982_Principios_de_Fitopatologia_Andina/links/5ed6c72992851c9c5e748fdb/Principios-de-Fitopatologia-Andina.pdf.

ROSELLÓ, J. Capacidad antagonista de *Penicillium oxalicum* Currie & Thom y *Trichoderma harzianum* Rifai frente a diferentes agentes fitopatógenos . Estudios ecofisiológicos. *Universidad Politécnica de Valencia, Valencia* [en línea], 2003. , pp. 30. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/2905/tesisUPV1934.pdf>.

SÁNCHEZ, M. *Aislamiento y Caracterización Molecular y Agronómica de Trichoderma spp. Nativos del Norte de Tamaulipas* [en línea]. Instituto politécnico nacional Tamaulipas, Mexico 2009. pp. 11-17. Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/8464>.

SUÁREZ, C., FERNÁNDEZ, R., VALERO, O., GÁMEZ, R. y PÁEZ, A. "Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá". *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 10, no. 2 (2008), pp. 40,.

SUÁREZ, C., PICO, J. & DELGADO, A. "Evaluación de la Dispersión de Esporas de *Alternaria* sp. en el Cultivo de Pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) en Palora". *IV Simposio en fitopatología Control Biológico e Interacciones Planta-Patógeno* [en línea], vol. 23, no. 25287753 (2019), pp. 53,. Disponible en: [file:///C:/Users/HP/Downloads/1652-Texto del artículo-6106-1-10-20200210 \(2\).pdf](file:///C:/Users/HP/Downloads/1652-Texto del artículo-6106-1-10-20200210 (2).pdf).

SUÁREZ, L. & CABRALES, C. "Identificación de especies de cepas nativas de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. y evaluación de su potencial antagonista in vitro frente al hongo fitopatógeno nativo *Moniliophthora roreri* en el departamento de Norte de Santander". *Universidad Francisco de Paula Santander*, no. 1 (2008), pp. 48,. DOI 0122-820X.

THOMMA, B. "*Alternaria* spp. : from general saprophyte to specific parasite". *Molecular plant pathology* [en línea], vol. 4, 2003. pp. 225-227. DOI 10.1046/J.1364-3703.2003.00173.X. Disponible en: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1364-3703.2003.00173.x>.

TORRES, A. & MORTON, C.M. "Molecular and morphological phylogenetic analysis of *Brachiaria* and *Urochloa* (Poaceae)". *Molecular Phylogenetics and Evolution* [en línea], vol. 37, no. 1 (2005), pp. 38-40. ISSN 10557903. DOI 10.1016/j.ympev.2005.06.003. Disponible en: <file:///C:/Users/HP/Downloads/brachiaria.pdf>.

TORRES, H. *Manual de las enfermedades más importantes de la Papa en el Perú*. 1ª ed. Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP). 2002. pp. 53-55. ISBN 9290602120.

ULLOA, J., ULLOA, R., RAMÍREZ, J. & RANGEL, B. "El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos". *Revista Fuente* [en línea], vol. 3, no. 8 (2011), pp. 6. DOI 20070713. Disponible en: <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-08/1.pdf>.

VALENCIA, S., PÁEZ, D., GUEVARA, J. & VILAPLANA, R. "Aislamiento, identificación y evaluación de los hongos más agresivos aislados de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) en el periodo poscosecha". *Departamento de Ciencia de los Alimentos y Biotecnología* [en línea], vol. 23, no. 17012759 (2016), pp. 813. Disponible en: https://media.proquest.com/media/pq/classic/doc/4032206331/fmt/pi/rep/NONE?_s=5gv%2FAGsN%2F6Mng%2BkwO0sTPxVPo%2Fs%3D.

VAN DRIESCHE, R., HODDLE, M. & CENTER, T. *Control de plagas y malezas por enemigos naturales*. 3ª ed. 2007. USA: USDA Forest Service Forest Health Technology Enterprise Team. 2007. p. 3.

VARGAS, T., PICO, J. & CAICEDO, C. Poster Efecto de medios de cultivo enriquecidos con sustrato de pencas de pitahaya (*Hylocereus Megalanthus*) para acelerar el crecimiento de *alternaria* spp. *Simposio Internacional Producción Integrada de Frutas*, 2019. , pp. 40. DOI 9789942224750.

VARGAS, Y., ALCÍVAR, W., NICOLALDE, J., TINOCO, L., VIERA, W. & DÍAZ, A. "Efecto de Diferentes Sistemas Agroforestales con Pitahaya (*Hylocereus megalanthus* Haw.) sobre la Abundancia y Biomasa de Lombrices y Rendimiento del Cultivo, en el cantón Palora".

Primer Congreso Internacional Alternativas Tecnológicas para la Producción Agropecuaria Sostenible en la Amazonía Ecuatoriana, vol. 1 (2018), pp. 4. DOI 987-9942-35—604-8.

VARGAS, Y., PICO, J., DÍAZ, A., SOTOMAYOR, D., BURBANO, A., CAICEDO, C., PAREDES, N., CONGO, C., TINOCO, L., BASTIDAS, S., CHUQUIMARCA, J., MACAS, J. & VIERA, W. *Manual del cultivo de Pitahaya para la amazonia Ecuatoriana* [en línea]. Manual N°117. Joya de los Sachas, Ecuador. 2020. pp. 10-30. ISBN 9789942224897. 2020. Disponible

en:https://www.researchgate.net/publication/343224125_Manual_del_Cultivo_de_Pitahaya_para_la_Amazonia_Ecuatoriana.

WALKER, C.J. *Patología Vegetal*. 3ª ed. Barcelona. 1965. pp 321-323.

WILCOX, L., BALDERES, D., WHARTON, B., TINKELBERG, A., RAO, G. & STURLEY, S. Transcriptional profiling identifies two members of the ATP-binding cassette transporter superfamily required for sterol uptake in yeast. 2002.

YUMBAY, R. *Evaluación de cepas de Trichoderma spp., en el control de Botrytis cinerea en el cultivo de rosas* [en línea]. Escuela politécnica del ejército. Ciencias agropecuarias. Sangólqui, Ecuador. 2011. p. 13. Disponible en: positorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4724/1/T-ESPE-IASA-I-004569.pdf.

ANEXOS

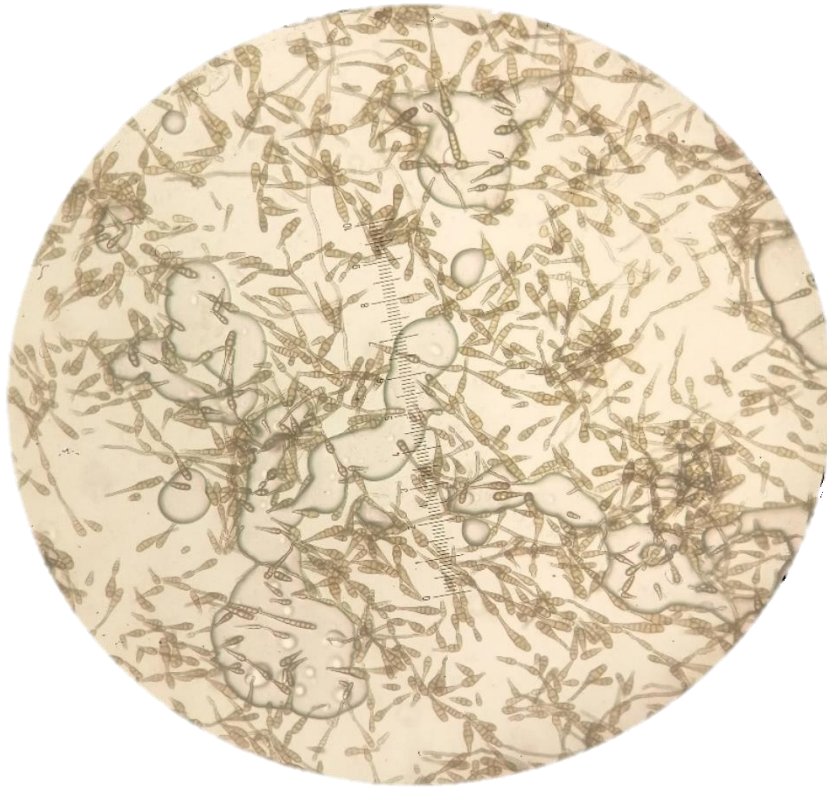
ANEXO A: PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVOS



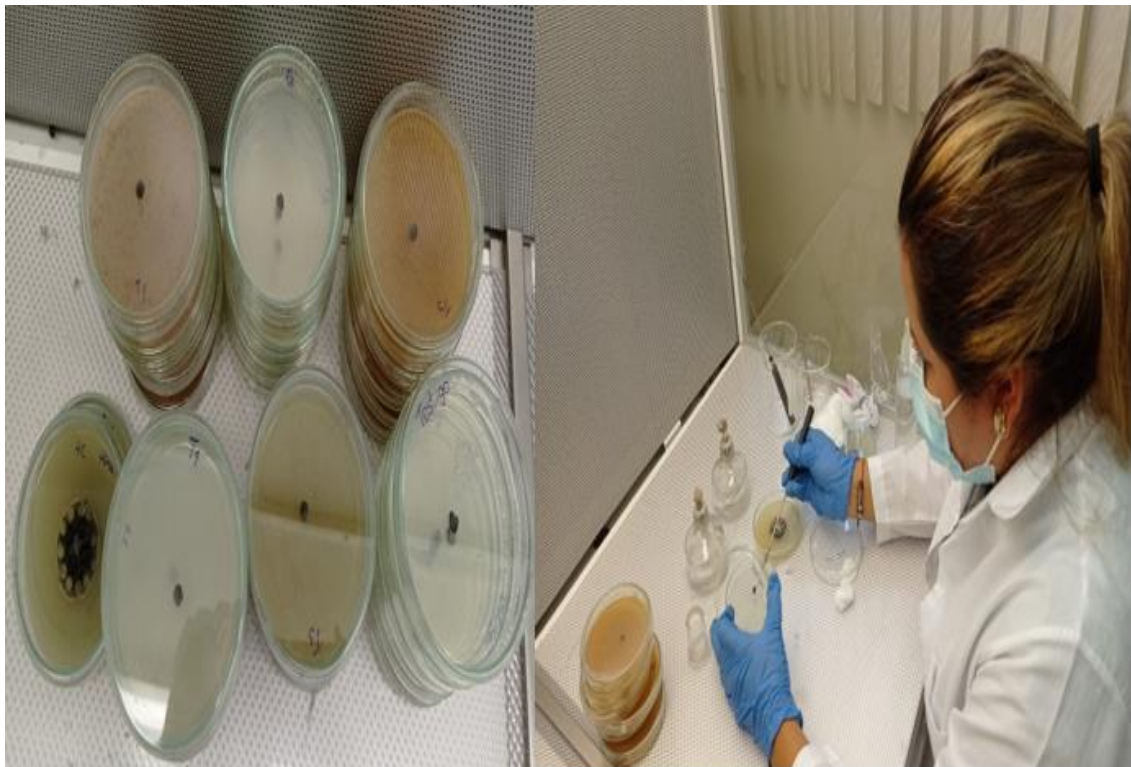
ANEXO B: DISPENSADO DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS



ANEXO C: IDENTIFICACIÓN MICROSCÓPICA DE ESTRUCTURAS DE *Alternaria* sp.

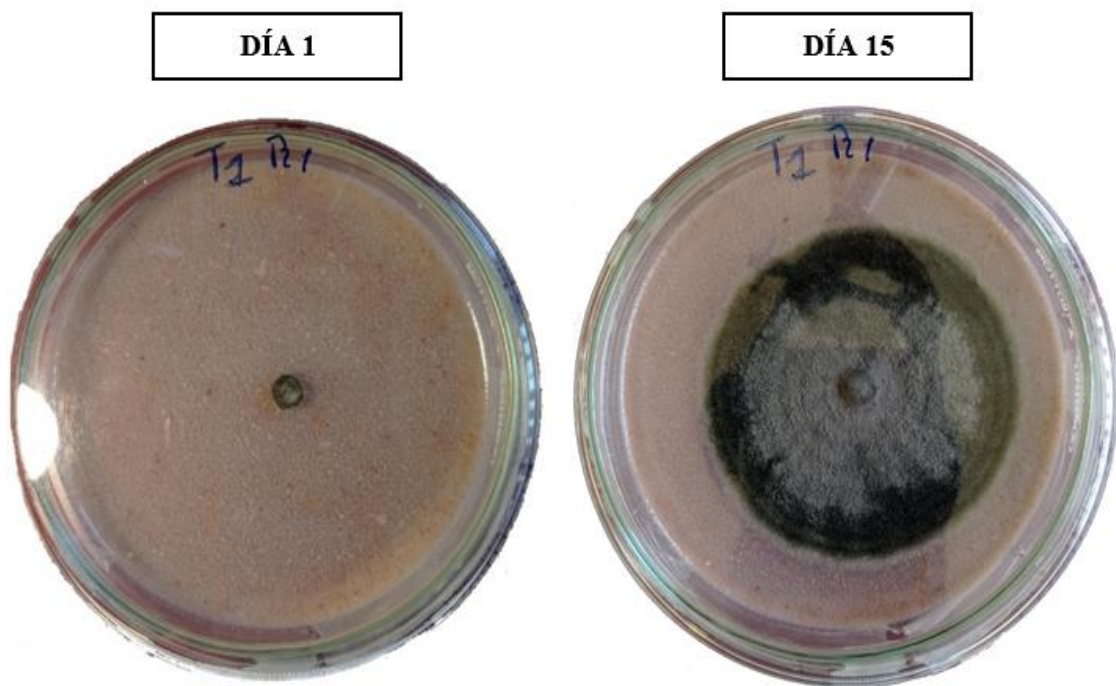


ANEXO D: SIEMBRA DE *Alternaria* sp. EN LOS MEDIOS DE CULTIVO A EVALUAR



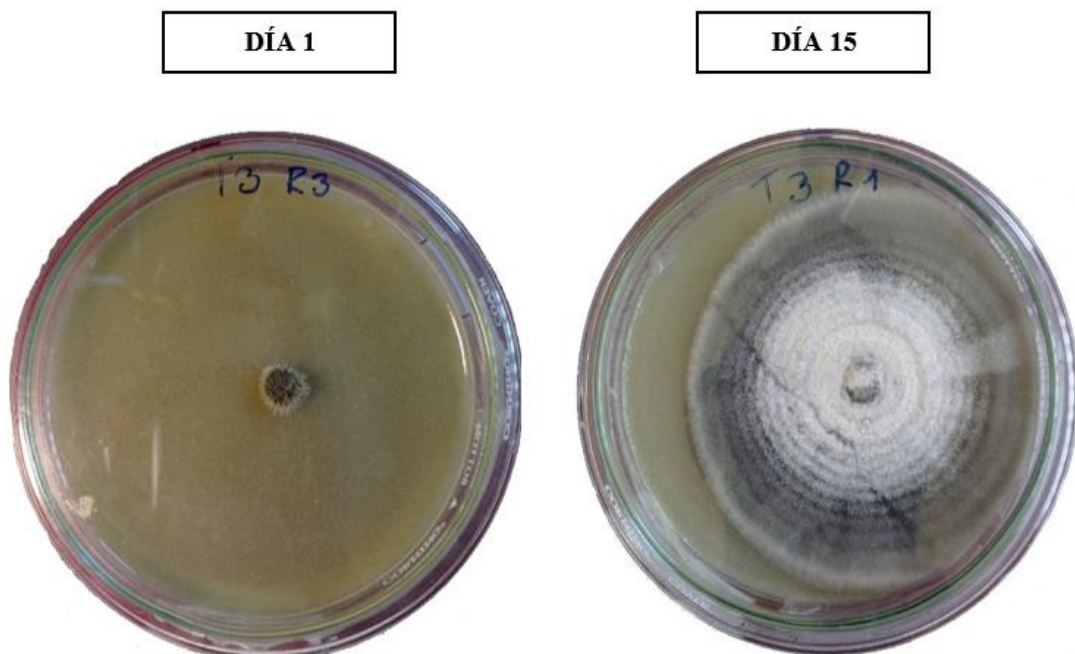
ANEXO E: CRECIMIENTO DE *Alternaria* sp. EN EL MEDIO AGAR MÁS FRIJOL

T1: Agar +Frijol



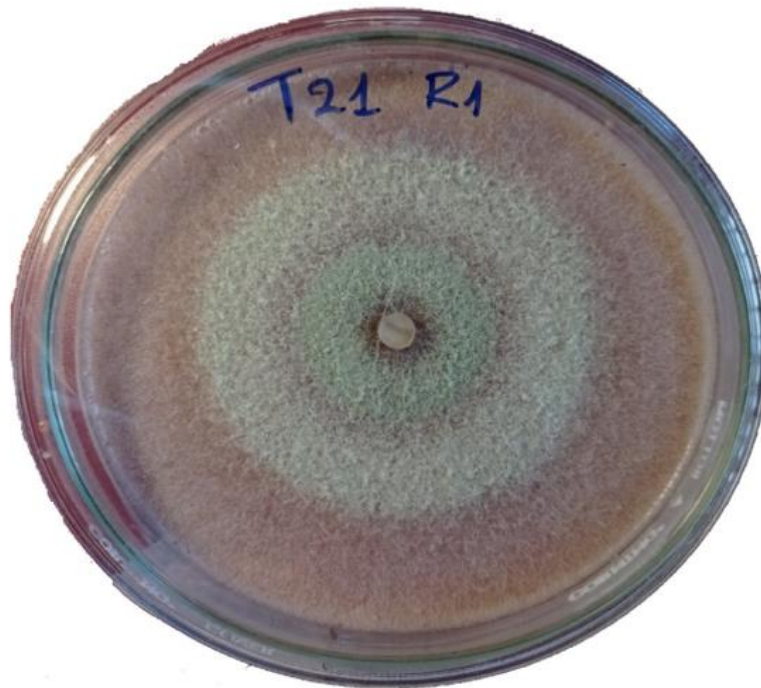
ANEXO F: CRECIMIENTO DE *Alternaria* sp. EN EL MEDIO PDA MÁS EXTRACTO DE PITAHAYA

T3: PDA + Extracto de pencas de pitahaya



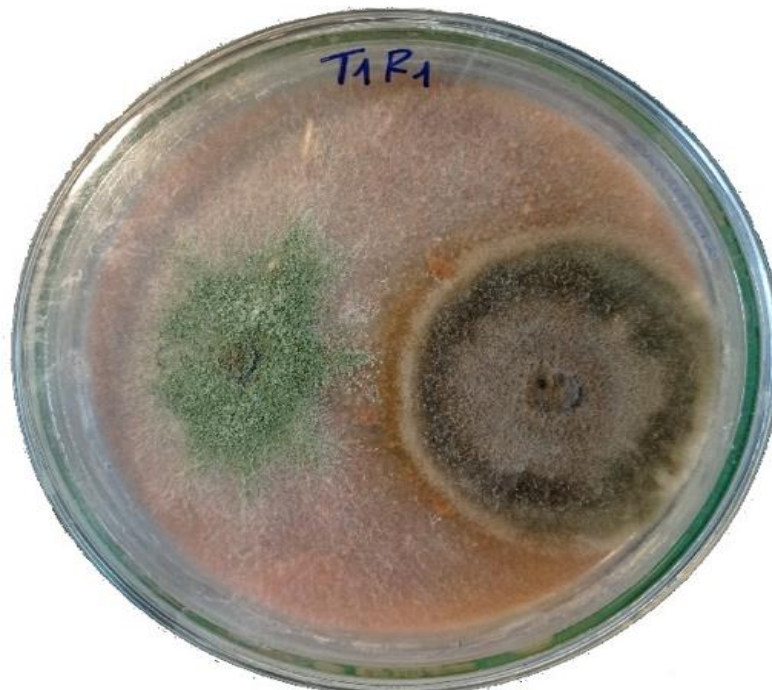
ANEXO G: CRECIMIENTO DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp. AL TERCER DÍA

DÍA 3



ANEXO H: INHIBICIÓN DE *Alternaria* sp. A *Trichoderma* spp.

DÍA 3

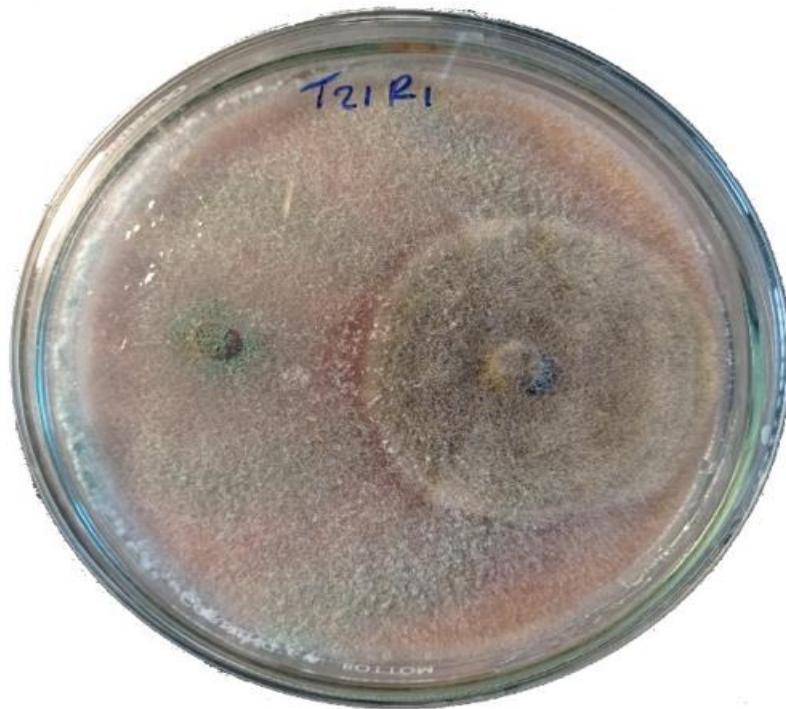


ANEXO I: MICOPARASITISMO DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp. HACIA *Alternaria* sp.

DÍA 5



DÍA 5



ANEXO J: REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL APRENDIZAJE
UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 09 / 09 / 2021

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: <i>Jessenia Isamar Jiménez Cumbicus</i>
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: <i>Recursos Naturales</i>
Carrera: <i>Ingeniería Agronómica</i>
Título a optar: <i>Ingeniera Agrónoma</i>
f. Analista de Biblioteca responsable: <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i>

**LEONARDO
FABIO MEDINA
NUSTE**

Firmado digitalmente por LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC,
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR,
ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE
INFORMACION-ECIBCE, l=QUITO,
serialNumber=0000621485, cn=LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2021.09.09 14:14:37 -05'00'



1770-DBRA-UTP-2021