



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

**“EVALUACIÓN DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp., SOBRE
Alternaria sp., EN EL CULTIVO DE PITAHAYA (*Selenicereus* sp).,
EN CONDICIONES DE INVERNADERO”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGRÓNOMA

AUTORA: MYRKA PALMIRA TAPUY AGUINDA

DIRECTOR: Ing. RODRIGO ERNESTO SALAZAR LOPEZ MSc.

El Coca-Ecuador

2022

©2022, Myrka Palmira Tapuy Aguinda

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, MYRKA PALMIRA TAPUY AGUINDA 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 Integración Curricular. El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

El Coca, 10 de junio del 2022

A handwritten signature in blue ink, enclosed in a hand-drawn oval. The signature is stylized and appears to read 'Myrka Palmira Tapuy Aguinda'.

Myrka Palmira Tapuy Aguinda

Cedula: 150115694-5

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 DE AISLADOS DE *Trichoderma spp.*, SOBRE *Alternaria sp.*, EN EL CULTIVO DE PITAHAYA (*Selenicereus sp.*), EN CONDICIONES DE INVERNADERO**”, realizado por la señorita: **MYRKA PALMIRA TAPUY AGUINDA**, 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. Pedro Javier Cornejo Reyes, MSc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



2022-06-10

Ing. Rodrigo Ernesto Salazar Lopez Msc
**DIRECTOR DEL TRABAJO DE
INTEGRACIÓN CURRICULAR**



2022-06-10

Ing. Daniel Arturo Román Robalino, MSc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



2022-06-10

DEDICATORIA

Este Trabajo de Integración Curricular se la dedico a Dios porque ha sido mi guía y mi fortaleza durante todo este transcurso académico. A mi padre: Nilo Llori; a mi madrastra: Mónica Barsallo; hermanas: Hipatia Tapuy y Nina Tapuy; a mi pareja sentimental Edgar Domínguez, quienes han sido el pilar fundamental al brindarme apoyo incondicional y comprensión en todo momento, siendo ellos los que me inspiran para seguir adelante y lograr cumplir todas mis metas propuestas, del mismo modo agradecer a toda mi familia quienes me han dado su apoyo incondicional en todo momento.

Myrka

AGRADECIMIENTO

Principalmente a Dios por haber hecho posible llegar hasta este ciclo de mi vida profesional. A mis padres, hermanos y familiares por ese apoyo incondicional que me brindan constantemente y por la confianza depositada en mí. A la prestigiosa Escuela Superior Politécnica Chimborazo - Sede Orellana, por haberme brindado una profesión y permitirme llegar a ser una persona profesional capaz y competente. Le expreso un profundo agradecimiento a la prestigiosa institución: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Central de la Amazonia (INIAP-ECCA), por confiar en mí y haber permitido realizar mi investigación en el Departamento de Protección Vegetal; al Ing. Jimmy Pico, Sr. Víctor Merizalde, y Sr. Jefferson Pérez, quienes con sus conocimientos, paciencia, palabras de aliento y motivación supieron guiarme de la mejor manera, para la culminación de mi trabajo de investigación. Al Ing. Diego Masaquiza, Ing. Rodrigo Salazar e Ing. Daniel Román por haber brindado todos sus conocimientos, por la disponibilidad y paciencia, el apoyo durante el desarrollo de la investigación y por haberme brindado todo su apoyo en momentos indispensables.

Myrka

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	x
ÍNDICE DE ANEXO	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	3
1.1. Cultivo de pitahaya.....	3
1.1.1. <i>A nivel mundial.....</i>	3
1.1.2. <i>En Ecuador</i>	4
1.1.3. <i>En la Amazonía</i>	4
1.1.4. <i>Taxonomía del cultivo</i>	4
1.1.5. <i>Morfología de la pitahaya</i>	5
1.2. Plagas y enfermedades	5
1.2.1. <i>Plagas</i>	5
1.2.2. <i>Enfermedades</i>	6
1.3. Alternaria sp.....	6
1.3.1. <i>Taxonomía</i>	6
1.3.2. <i>Generalidades</i>	6
1.3.3. <i>Características microscópicas</i>	7
1.3.4. <i>Ciclo de la enfermedad</i>	7
1.3.5. <i>Condiciones para el desarrollo de Alternaria sp.</i>	7
1.3.6. <i>Lesiones que ocasiona en la pitahaya</i>	8
1.3.7. <i>Manejo integrado del patógeno</i>	8
1.4. Control biológico	9
1.5. Trichoderma spp.....	9
1.5.1. <i>Taxonomía</i>	9
1.5.2. <i>Generalidades</i>	10
1.5.3. <i>Características microscópicas</i>	10
1.5.4. <i>Condiciones de crecimiento</i>	11

1.5.5.	<i>Modo de acción en bajo invernadero en el cultivo de pitahaya</i>	11
--------	---	----

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	14
2.1.	Características del lugar	14
2.1.1.	<i>Localización</i>	14
2.1.2.	<i>Ubicación geográfica</i>	14
2.1.3.	<i>Características climáticas</i>	15
2.2.	Materiales y métodos	15
2.3.	Metodología	15
2.3.2.	<i>Unidad experimental</i>	16
2.3.3.	<i>Tratamientos</i>	16
2.4.	Métodos de evaluación	17
2.5.	Manejo del experimento	17
2.6.	Diseño experimental	18
2.7.	Análisis estadísticos	18
2.8.	Análisis funcional	19

CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
----	-------------------------------------	----

	CONCLUSIONES	25
--	---------------------------	----

	RECOMENDACIONES	26
--	------------------------------	----

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2: Tratamientos de aislados de <i>Trichoderma</i> spp.	16
Tabla 2-2: Tratamientos en invernadero	17

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-2: Mapa de ubicación de la Estación Experimental Central de la Amazonía (EECA) 14

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3:	Competencia de aislados de <i>Trichoderma</i> spp.	20
Gráfico 2-3:	Competencia entre los aislados de <i>Trichoderma</i> spp.....	21
Gráfico 3-3:	Número de lesiones activas de <i>Alternaria</i> sp.....	22
Gráfico 4-3:	Número de lesiones activas de <i>Alternaria</i> spp.....	23
Gráfico 5-3:	Número de lesiones de <i>Alternaria</i> sp. biocontroladas	23
Gráfico 6-3:	Número de sarnas de <i>Alternaria</i> sp.....	24

ÍNDICE DE ANEXO

- ANEXO A:** PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO
- ANEXO B:** DISPENSACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS
- ANEXO C:** SIEMBRA DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp. EN LOS MEDIOS DE CULTIVO
- ANEXO D:** CRECIMIENTO DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp. EN MEDIOS DE CULTIVO
- ANEXO E:** ZARANDERO DEL SUELO ANTES DE ESTERILIZAR
- ANEXO F:** ESTERILIZACIÓN DE SUELO
- ANEXO G:** LIMPIEZA PARA LA INSTALACIÓN DE LA CÁMARA HUMEDA CONTROLADA
- ANEXO H:** INSTALACIÓN DE LA CÁMARA DE HUMEDA CONTROLADA Y DE LAS MACETAS BAJO INVERNADERO
- ANEXO I:** APLICACIÓN DE *Alternaria* sp. EN LAS PENCAS DEL PITAHAYA
- ANEXO J:** LESIONES DE *Alternaria* sp.
- ANEXO K:** APLICACIÓN DE *Trichoderma* spp.
- ANEXO L:** LESIONES CONTROLADAS CON *Trichoderma* spp.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar aislados de *Trichoderma* spp., sobre *Alternaria* sp., para determinar aislados con capacidad de controlar *Alternaria* sp., a través de pruebas en condiciones de invernadero. Se realizó la evaluación de 4 aislados del género *Trichoderma*, se contó el número de esporas del género *Alternaria* sp. y *Trichoderma* spp., para aplicar en los brotes de pitahaya (*Selenicereus* sp) bajo invernadero. Se empleó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento. En los ensayos se evaluó las variables competencia y la capacidad de biocontrol que presentan los aislados de *Trichoderma* spp. Para el análisis estadístico se utilizó modelos lineales generales y mixtos. En base a los resultados obtenidos el Tratamiento seis (consorcio) presentó mayor distancia entre aislados del género *Trichoderma* de 0,199 mm, el cual difiere de los demás tratamientos. En el nivel antagónico de aislados de *Trichoderma* spp. sobre *Alternaria* sp. los Tratamientos uno y dos presentan un nivel de 41 y 35; la cantidad de sarnas de *Alternaria* spp. en los brotes de pitahaya el Tratamiento cuatro (aislado 26) presentó menor incidencia de sarnas con una cantidad de 1; concluyendo que al menos dos aislados del género *Trichoderma* si presentan capacidad antagónica sobre *Alternaria* sp. en condiciones de invernadero. Se recomienda realizar las pruebas de biocontrol en condiciones de campo.

Palabras clave: <PITAHAYA (*Selenicereus* sp)>, <PATÓGENO>, <PARASITISMO>, <CONTROLADORES BIOLÓGICOS>, <ANTAGONISMO>.

LEONARDO MEDINA
21-07-2022



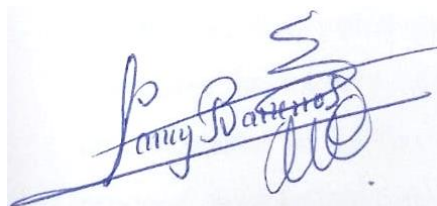
1554-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate isolates of *Trichoderma* spp., on *Alternaria* sp., to determine isolates with capacity to control *Alternaria* sp., through tests in greenhouse conditions. The evaluation 4 isolates of the genus *Trichoderma* were carried out. *Trichoderma*, the genus spores' number *Alternaria* sp. and *Trichoderma* spp. was counted, to apply in the pitahaya sprouts (Selva spp. spores of the genus *Alternaria* sp. and *Trichoderma* spp. were counted. A completely randomized design with three replicates design with three replicates per treatment was used. In the trials, the competition variables and the biocontrol the biocontrol capacity of *Trichoderma* spp. isolates were evaluated. The statistical analysis was performed using general linear and mixed models. Based on the results obtained, the Treatment six (consortium) presented greater distance between isolates of the genus *Trichoderma* of 0.199 mm, which differs from the other treatments. In the antagonistic level of the isolates of *Trichoderma* spp. on *Alternaria* sp. the treatments one and two presented a level 41 and 35; the amount of *Alternaria* spp. scab on pitahaya shoots, Treatment four (isolate 26) presented a lower incidence of *Alternaria* spp. scab on pitahaya shoots. 26) presented less incidence of scab with a quantity of 1; concluding that at least two isolates of the genus *Trichoderma* spp. isolates of the genus *Trichoderma* do present antagonistic capacity on *Alternaria* sp. in greenhouse conditions. under greenhouse conditions. It is recommended to carry out the biocontrol tests in field conditions. field conditions.

Key words: <PITAHAYA (*Selenicereus* sp)>, <PATHOGEN>, <PARASITISM>,

<BIOLOGICAL CONTROLLERS>, <ANTAGONISM>, <ANTAGONISM>.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Nancy Barreno Silva', is written over a horizontal line. The signature is stylized and includes a large, decorative flourish at the end.

Lcda. Nancy Barreno Silva. Mgs.
DOCENTE SEDE-ORELLANA

INTRODUCCIÓN

La pitahaya *Selenicereus* sp., es una fruta con gran aceptación en el mercado mundial, su producción se incrementó de manera considerable en los últimos años, las producciones más altas se reflejan en países asiáticos como Vietnam y Tailandia y en países de Latinoamérica: Colombia, Ecuador, México y Nicaragua con un promedio estimado de 10 345 hectáreas (Muñoz. 2014, p. 8; FAO. 2012, p. 3); en América Latina los países con mayor exportación son Colombia, Ecuador y México (Muñoz. 2018, p. 7).

Ecuador realiza las mayores exportaciones a países europeos y asiáticos, de manera que este cultivo es de gran importancia por su alto potencial agroecológico, especialmente en la región amazónica y subtropical; por lo que estas áreas son ideales para el desarrollo del cultivo de pitahaya en base a su tamaño, sabor y color (Vargas et al. 2020, p. 6). Las provincias con mayor producción en el país son: Loja, Los Ríos, Pastaza, Pichincha y Morona Santiago con una producción de 344 toneladas métricas (PRO ECUADOR. 2016, p. 5).

Para la producción de pitahaya el sector agrícola emplea dosis altas de fungicidas e insecticidas, con el fin de disminuir y evitar pérdidas, causadas por una de las principales enfermedades como es el hongo patógeno *Alternaria* sp, afectando el cultivo a nivel mundial con grandes pérdidas; su modo de acción es por medio de la alteración de la morfología de la planta (Chauca. 2018, p. 1).

Cuando el hongo está presente en el cultivo se manifiesta por medio de manchas con coloración café rojizo, posteriormente se transforman en sarnas en los frutos y pencas, debido a que bloquean el crecimiento de aureolas y aristas; la incidencia de *Alternaria* sp., causa pérdidas de la producción, perjudicando la exportación de pitahaya (Suárez, Pico y Delgado. 2019, p. 53).

El control químico empleado para disminuir la incidencia del hongo *Alternaria* sp., en pitahaya causa alteraciones en los ecosistemas y el medio ambiente, a la vez la salud del ser humano se ve comprometida debido a la residualidad en los frutos. En los últimos años a nivel internacional se busca reducir la utilización de productos químicos; una alternativa es la utilización de agentes biológicos, que son amigables con el ecosistema y actúan de manera eficaz en el control de la enfermedad.

El antagonista mayormente empleado en el control biológico es el hongo del género *Trichoderma*, el mismo que inhibe y biocontrola a un gran número de patógenos; siendo uno de ellos en el caso de *Alternaria* sp. El *Trichoderma* a más de la actividad por medio de las conidias y micelios produce metabolitos que ejercen un control de choque sobre el patógeno, además *Trichoderma* es un hongo con gran capacidad de adaptación en diferentes medios de cultivo y entornos (Martínez et al. 2014, p. 2; Chauca. 2018, p. 1).

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar aislados de *Trichoderma* spp., sobre la incidencia y severidad de *Alternaria* sp., en el cultivo de pitahaya (*Selenicereus* sp.), en condiciones de invernadero.

Objetivo específico

- Medir la competencia de aislados de *Trichoderma* spp. en condiciones de laboratorio
- Evaluar la capacidad de biocontrol de aislados de *Trichoderma* spp., sobre los niveles de incidencia y severidad de *Alternaria* sp., en el cultivo de pitahaya (*Selenicereus* sp.), en condiciones de invernadero.

HIPÓTESIS

Hipótesis nula-Ho

- El aislado de *Trichoderma* spp., no tiene la capacidad de biocontrol sobre los daños de *Alternaria* sp., en el cultivo de pitahaya, en condiciones de invernadero.

Hipótesis alternativa

- Al menos un aislado de *Trichoderma* spp., tiene la capacidad de biocontrol sobre los daños en *Alternaria* sp., en el cultivo de Pitahaya, en condiciones de invernadero.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Cultivo de pitahaya

(Huachi et al. 2015, p. 51-52), la familia Cactácea de la pitahaya se encuentra constituida por 2000 especies; entre estas se destacan los géneros *Stenocereus* sp., *Selenicereus* sp., *Hylocereus* sp., *Cereus* sp. La pitahaya o conocida también como fruta del dragón, es originaria de la selva peruana y Centroamérica, presentando su fruta un alto valor nutricional, contiene ácido ascórbico dependiendo su especie, antioxidantes, compuestos bioactivos favorables para la salud del ser humano; apreciándose un alimento funcional por presentar excelentes particulares organolépticas y valor comercial.

Es una planta trepadora, arbustiva, perenne epífita que puede medir 2 metros, presenta aureolas, cladodios, su propagación es por semillas o pencas, su fruto se relaciona con el de una baya (elipsoidal), tallo de forma triangular; la pitahaya amarilla posee una corteza de color amarillo con espinas y pulpa blanca con pequeñas semillas negras. (Verona-Ruiz, Urcia-Cerna y Paucar-Menacho. 2020, p. 439; Wu. 2005, p. 8).

1.1.1. A nivel mundial

(Huachi et al. 2015, p. 55) indican que a nivel mundial la pitahaya se caracteriza principalmente por promocionarse en ferias internacionales que se realizan en países con alta demanda de la fruta, tales como Malasia, China, Argentina, París y Brasil, además de constituirse por una cantidad cercana a 2000 especies distribuidas en los continentes americano y asiático.

La pitahaya dispone de una amplia diversidad y endemismo, adicionalmente la distribución del germoplasma por acción humana y animal (aves) permitió su adaptación en varios países como: Ecuador, Colombia, Guatemala, Honduras, Costa Rica y Brasil (Huachi et al. 2015, p. 51).

(Muñoz. 2018, p. 7) Establece que en América el país que domina la producción es Colombia, al mismo tiempo que es uno de los principales exportadores de la fruta, de la misma manera en Ecuador la producción de pitahaya se ve incrementado con un fruto de mayor calidad.

Por consiguiente, se puede decir que la pitahaya en América es un recurso genético vegetal nativo, que posee gran potencial para el crecimiento del sector agrícola, acción que fortalece la economía, esto se debe a que es una fruta de fácil adaptación a diversas condiciones ambientales; su uso tiene múltiples fines, puede ser procesada e industrializada, y su oferta y demanda tanto a nivel nacional como internacional está en constante crecimiento (Ortega, León y Rosas. 2019, p. 80).

1.1.2. En Ecuador

A nivel nacional se cultiva dos variedades de pitahaya la roja y amarilla, sin embargo, existen dos ecotipos de pitahaya amarilla, una es la “Pichincha” o “Nacional” que se cultiva en la parte Sierra, y el ecotipo “Palora”, que se cultiva mayoritariamente en Morona Santiago, este ecotipo tiene la denominación de origen de pitahaya Amazónica de Palora, lo que le otorga acepción exclusiva de identidad y pertenencia (Vargas et al. 2020, p. 6).

La pitahaya en Ecuador es promocionada debido a sus propiedades nutricionales, y es considerada una fruta de gran potencial comercial, ya sea como fruto en sí o industrializado, dando paso a que las diferentes entidades gubernamentales generen proyectos que viabilicen el comercio internacional y la exportación. (Huachi et al. 2015, p. 55).

1.1.3. En la Amazonía

(Espinoza y Díaz. 2010, p. 6) menciona que Morona Santiago es la provincia amazónica que representa el mayor índice de producción de pitahaya, con una superficie de alrededor de 290 hectáreas de terreno cultivado, específicamente en el cantón Palora, es dónde representa el símbolo de desarrollo económico, productivo y social, adicional (Vargas et al. 2020, p. 9) establecen que el cultivo de pitahaya se viene ampliando al centro norte de la región Amazónica, principalmente a las provincias de Sucumbíos y Orellana, esto debido a la calidad de frutas que se producen para exportación.

1.1.4. Taxonomía del cultivo

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

- **Reino:** Plantae
- **División:** Magnoliophyta
- **Clase:** Equisetopsida
- **Suborden:** Caryophyllanae
- **Orden:** Caryophyllales
- **Familia:** Cactaceae
- **Género:** Selenicereus
- **Especie:** *Selinicereus* sp.

1.1.5. Morfología de la pitahaya

Raíz: se caracteriza por poseer un sistema de raíz fibroso, generalmente posee más de dos raíces gruesas de las cuales desprenden las raíces secundarias, suelen ser densas, esto varía de acuerdo al material en el que esté sembrada la planta, usualmente se desarrolla entre el suelo y la capa orgánica, puede llegar a extenderse del tallo más de cuatro metros (Kondo et al. 2013, p. 15).

Tallo: es de forma triangular o arista, rodea al tallo leñoso, de textura suculenta y carnosa, en tanto que su tamaño varía de acuerdo a la variedad de pitahaya. (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria. 2018, p. 8).

Flor: las flores son actinomorfas y hermafroditas, se ubican en los tallos, su forma es tubular, son grandes y llegan a medir de 20 a 40 cm de largo y hasta 25 cm de ancho, suelen ser muy vistosas lo cual atrae a los polinizadores (Cruz et al. 2015, p. 69).

Fruto: Es una baya, que al inicio de su llenado es color verde, cambia de acuerdo a su variedad y conforme va madurando, posee protuberancias que se denominan mamilas, al extremo de la fruta se ubica una bráctea, dentro de la fruta se encuentra un sinnúmero de semillas pequeñas de color negro, la pulpa de la fruta también varía de acuerdo a la variedad (Kondo et al. 2013, p. 18-19).

1.2. Plagas y enfermedades

Tanto las enfermedades y plagas existentes en diversos cultivos pueden diseminarse con facilidad en diversas zonas del país, ocasionando pérdidas relevantes en el sector agrícola, amenazando así a la seguridad alimentaria del país. Sin embargo, la difusión de enemigos naturales y entomopatógenos en los últimos años ha aumentado enormemente. Encontrándose como plagas a los ácaros, insectos, nemátodos, bacterias, hongos y los artrópodos; ciertos insectos se alimentan de la raíz, semillas germinadas y se interponen en la nutrición de las plantas. Presentando cierta sintomatología que permiten identificar el tipo de plaga presente en el cultivo (Jiménez. 2009, p. 13-14; Martínez. 2016, p. 3).

1.2.1. Plagas

(Suárez, Pico y Delgado. 2019, p. 53; Vargas et al. 2020, p. 16-30) menciona las plagas de mayor relevancia en el cultivo de pitahaya a: Zompopas (*Atta* sp), Trips (*Frankliniella occidentalis*), Hormigas (*Solenopsis* sp) y Chinche pata de hoja (*Leptoglossus zonatus*)

1.2.2. Enfermedades

(Suárez, Pico y Delgado. 2019, p. 53; Vargas et al. 2020, p. 16-30) las enfermedades en la pitahaya son: Bacteriosis (*Pectobacterium carotovora*), Sarna del tallo y fruta (*Alternaria* sp), Pudrición basal (*Fusarium oxysporum*) y Antracnosis (*Colletotrichum* sp).

1.3. *Alternaria* sp.

1.3.1. Taxonomía

(Walker. 1965, p. 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* spp

1.3.2. Generalidades

Alternaria sp., es un hongo fitopatógeno, el cual generalmente se encuentra en el suelo en la materia orgánica en estado de descomposición, se caracteriza principalmente por ser perjudicial para una variedad de cultivos agrícolas en etapa de desarrollo o luego de la cosecha, las partes más afectadas de la planta por el hongo son: frutos, semillas, tallos, hojas y flores. Las condiciones idóneas para el desarrollo de la enfermedad es una temperatura que oscila entre los 22 y 30°C y la humedad relativa mayor a 70 %, estas condiciones inducen la presencia de conidios, mismos que se dispersan por acción del viento. La incidencia de *Alternaria* sp., es mayor cuando la planta carece de nutrientes o está en condiciones de estrés, no obstante sus esporas resisten condiciones extremas, aumentando de manera abrupta en la humedad, sin embargo en zonas con temperaturas que excede a los 40 °C el hongo no se desarrolla; adicional se establece que *Alternaria* sp., se caracteriza por su coloración oscura y por microscópicamente observarse conidióforos simples con forma ovoide o alargada, además de ser un hongo saprofito filamentoso (Roncal. 2004, p. 218).

1.3.3. Características microscópicas

La temperatura idónea en condiciones de laboratorio (in vitro), para el desarrollo del micelio de *Alternaria* sp., es 27 °C, mientras que para el desarrollo de conidióforos y conidios oscila de 19 a 23 °C, en etapa de aislamiento el hongo tiene una coloración café o verde pálida su tamaño varía entre 4 a 8 μ de diámetro, mientras que los conidióforos pueden llegar a medir 10 μ de ancho y 110 μ de largo, hay que tener presente que los conidios tienen una coloración oscura y forma cilíndrica dividida en cadenas septadas de manera transversal, son pluricelulares y sus esporas miden 17 μ de ancho y 70 de largo. En medios de cultivos artificiales el desarrollo del conidióforo crea únicamente un conidio solo (Ellis. 1965, p. 465).

1.3.4. Ciclo de la enfermedad

Alternaria sp., es un hongo que mora en tejidos infectados y en material hospederado. Principalmente los conidios del agente patógeno germinan y se incluyen por medio del tejido epidérmico en los tallos y pencas, y por medio del exocarpo en el fruto, la infección tiene inicio en condiciones óptimas de humedad y temperatura, se presenta con manchas en la zona baja de la planta 2 o 3 días posterior a sembrar, las esporas aparecen a los 4 días, las esporas y conidios se dispersan cuando la mancha ha crecido hasta 3 mm, en campo se puede observar que las manchas se unen formando manchas más grandes en el tallo, penca y frutos, dónde causa severos daños si se mantiene almacenado a 8 °C a condiciones de frío (Jin et al. 2020, p. 35).

1.3.5. Condiciones para el desarrollo de Alternaria sp.

Alternaria sp., tiene preferencia temperaturas cálidas, cerca de los 27 °C, en tanto que el índice de infección disminuye a temperaturas por debajo de los 12°C, cuando existan condiciones favorables el hongo germina en un lapso de 1 a 3 horas. El hongo se caracteriza por esparcir sus esporas por medio del viento o por medio del salpique de agua en la superficie de las plantas, que es dónde inicia la infección. Las esporas requieren humedad para germinar, en el caso de plantas con poca fertilización, débil crecimiento, con tejido dañado o que se encuentran a situaciones de estrés hay mayor susceptibilidad a infección del hongo *Alternaria* sp (Thomma. 2003, p. 225-227; Barnett y Hunter. 1998, p. 132-135).

1.3.6. Lesiones que ocasiona en la pitahaya

Los daños de *Alternaria* sp., en cultivos de alto interés económico se presentan en la parte foliar, con manchas en forma de círculo, de color pardo oscuras, es forma anillar, con resplandor amarillento, el diámetro de los círculos es de 1 a 2 mm en las hojas viejas, estos signos reducen la capacidad de realizar el proceso fotosintético, los frutos en estado verde o maduro son afectados en la parte extrema del pedúnculo, dónde se observa manchas secas y oscuras, mismas que llegan a cubrir todo el fruto, los tallos generalmente muestran manchas de 0,5 cm a 1,5 cm con aspecto necrótico (Torres. 2002, p. 53).

La principal afectación del hongo *Alternaria* sp., en pitahaya es en los frutos y pencas, dónde presenta sarnas (manchas de color café rojizo), aparte provoca abultamiento en la epidermis de la zona infectada, por medio del bloqueo para el desarrollo de estructuras de aureolas y aristas, la fruta presenta un cobertura de color marrón con grietas, y posterior a la cosecha hay la incidencia de un hongo negro (Suárez, Pico y Delgado. 2019, p. 53).

1.3.7. Manejo integrado del patógeno

La acción de emplear manejo integrado de plagas y enfermedades se da con el fin de disminuir los daños causados por plaguicidas y fungicidas ya sea al ser humano o animales, además de mitigar las causas negativas para el medio ambiente, al mismo tiempo que se disminuye costos de la etapa productiva y se mantiene a los agentes patógenos o plagas en niveles reducidos que sean fáciles de controlar esto con diversos controles, ya sean genético, etológico, físico, químico, biológico o cultural (Cisneros. 1995, p. 78).

Según (Torres. 2002, p. 55-56; Vargas et al. 2020, p. 27) se explican los diferentes tipos de control realizados en cultivo de pitahaya:

Control cultural: consiste en eliminar o quemar desechos de material infectado posterior a la cosecha, también se da por medio del control de humedad y el emplear pencas libres de la presencia del hongo, también el emplear sistemas agroforestales y asociar cultivos.

Control genético: se debe emplear material vegetativo mejorado, que sea resistente al patógeno.

Control químico: consiste en controlar la presencia del patógeno con la aplicación de productos químicos como el mancozeb o específicamente fungicidas sistémicos.

Control biológico: se emplea hongos con capacidad antagónica o con capacidad de micoparasitismo, principalmente del género *Trichoderma* spp., esto a fin de reducir el uso de productos químicos que causen efectos negativos en el medio ambiente y a su vez ayuden en la producción de frutos poco orgánicos con residuos químicos.

1.4. Control biológico

El control biológico según (Pérez. 2004, p. 127-212) se trata de emplear microorganismos naturales capaces de aplicar biocontrol, para disminuir los daños a causa de agentes patógenos en las plantas. El control biológico (Garrido. 2016, p. 6-15) también se define cómo la disminución de la acción del patógeno causante de la enfermedad, esto de manera natural con ayuda de microorganismos o también por medio del tratamiento del microorganismo antagonista. El control biológico tiene múltiples ventajas a diferencia de otros tipos de controles entre las que constan; el no poseer toxicidad, no causan efectos dañinos en el equilibrio ecológico y actúan por mucho más tiempo (Roselló. 2003, p. 30).

Últimamente la agricultura con prácticas de control biológico para plagas y enfermedades ha venido adquiriendo importancia mayoritaria en relación a diversos problemas fitosanitarios causados por el uso desmedido de plaguicidas y fungicidas químicos en el campo agrícola, mismos que han causado severos problemas por medio de la contaminación, a parte han sido los principales causantes de la resistencia de plagas y enfermedades, así como el incremento de virulencia de agentes fitopatógenos por la incidencia de especies nuevas (Bravo et al. 2006, p. 116).

Cómo agente con capacidad antagónica de biocontrol existe *Trichoderma* spp., género que actúa en una infinita variedad de microorganismos, siendo así las especies del género antes mencionado las más investigadas y empleadas para controlar un sin fin de enfermedades de los cultivos agrícolas (Martínez et al. 2014, p. 107).

1.5. *Trichoderma* spp.

1.5.1. Taxonomía

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

División: Eumycota

Clase: Hypomicetes

Orden: Hyphales

Familia: Monilaceae

Género: *Trichoderma*

Especies: *Harzianum*, *hamatum*, *viride*, *longibranchiatum*.

1.5.2. Generalidades

El hongo *Trichoderma* spp., es un microorganismo que posee capacidad antagónica, además de ser un hongo que presenta múltiples características como; la efectividad sinérgica en su acción de control se desarrolla en diferentes sustratos, materia orgánica y suelos como hábitats, tiene alta capacidad de adaptación y colonización y se aísla fácilmente en diferentes ambientes (López y González. 2004, p. 119).

Dentro del género *Trichoderma* spp., sus especies son hongos saprofitos, los cuales requieren de un suelo con pH de 5,5 a 6,5, es decir ligeramente ácido, aunque se suelen encontrar en pH de 5,5 a 8,5, para que el hongo se active y desarrolle debe existir una humedad de 60 %, en tanto que en el caso de haber poca disposición de oxígeno por saturación del suelo disminuye su nivel de colonización y sobrevivencia (Infante et al. 2009, p. 3).

En el mercado *Trichoderma* spp., se ha empleado como agente de biocontrol, como cerca del 50 % son base de *Trichoderma* spp., ya sea de *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. atroviride*, *T. asperellum* entre otras especies, esto debido a que presentan acelerado crecimiento, competencia y adaptación, colaboran para degradar la materia orgánica, compiten en la rizosfera de diferentes especies vegetales y tienen niveles elevados de esporulación (Garrido. 2016, p. 6-15).

1.5.3. Características microscópicas

En el género *Trichoderma* spp., sus especies se caracterizan por poseer núcleo definido, orgánulos citosol y sus células protegidas por una pared celular rígida, además de presentar conidios, conidióforos, filiales e hifas hialinas septadas (Yumbay. 2011, p. 13).

- *Conidios*: son unicelulares, se componen de esporas, subglobosas, su apariencia es lisa, con una coloración verde, suelen medir de 2,8 por 2,7 μm , sobreviven en los ápices de las filiales (Barnett y Hunter. 1998, p. 241-242; Yumbay. 2011, p. 13).
- *Conidióforos*: tienen forma erecta, son hialinos, se los encuentra en grupo o solitarios, poseen un color verde y su tamaño es de 66 por 3,7 μm , además forman anillos concéntricos (Barnett y Hunter. 1998, p. 241-242; Yumbay. 2011, p. 13).
- *Clamidosporas*: estas estructuras poseen la función de supervivencia del género *Trichoderma* spp., usualmente es de 12,5 a 10 μm su tamaño (Yumbay. 2011, p. 13).
- *Hifas*: son hialinas septadas, generalmente se las puede apreciar de forma flexible o recta y ancha (Barnett y Hunter. 1998, p. 241-242).
- *Fiales*: Se caracterizan por poseer un tamaño de 10 por 3,1 μm , se hallan en grupo o solas, los conidióforos son asimétricos y su tamaño es de 10 por 3,1 μm , tienen forma de botella alargada y delgada (Barnett y Hunter. 1998, p. 241-242; Yumbay. 2011, p. 13).

1.5.4. Condiciones de crecimiento

Las condiciones para el desarrollo de los hongos del género *Trichoderma* spp., la humedad oscila entre 20 y 80 %, cuando hay niveles altos de humedad la oxidación es limitada, la temperatura para su crecimiento es de 15 a 30 ° C, mientras que el rango óptimo es de 25 °C, en cuanto al pH debe estar en un rango de 6 a 6.5, sin embargo, el hongo también sobrevive a mayores rangos, por lo que es capaz de crear acidez en el medio en el que se encuentra ya que secreta ácidos orgánicos, *Trichoderma* spp., es bueno asimilando glucosa, ya que este monosacárido es la principal fuente de carbono. La esporulación se lleva a cabo en el proceso rotativo de luz y oscuridad, en medios con fermentación, en suelos ya sean esterilizados o modificados, o inclusive en restos de productos vegetales, para que germine los conidios se debe tener presente el pH, ya es el principal factor influyente, y ayuda a originar conidios, no obstante existen una serie de combinados químicos que ayudan a la inhibición de conidios (Kurioka, Martirena y Mulvany. 2013, p. 23-27; Sánchez. 2009, p. 11-17).

1.5.5. Modo de acción bajo invernadero en el cultivo de pitahaya

Mecanismos de regulación biológica

El hongo *Trichoderma* spp., se dirige de acuerdo a la idoneidad del organismo que regula, del medio y patógeno, empleando principalmente para disminuir o erradicar los problemas fitosanitarios en cultivos de agentes que poseen capacidad de biocontroladores, que es dónde participan los diferentes mecanismos ya sea de forma directa o indirecta sobre el agente patógeno, se caracteriza directamente a la correlación física con el hospedante e indirectamente en la transformación de las poblaciones y de acuerdo a las modificaciones en el entorno (Carvajal. 2011, p. 11).

Adicional según (Benítez. 2004, p. 250) se establece que el mecanismo de control biológico empleado depende de la especie de *Trichoderma* y de sus condiciones ambientales, no obstante, al activarse los mecanismos biocontroladores se incluye la producción de antibióticos, metabolitos y enzimas hidrolíticas.

Mecanismos directos

- *Competencia:* los hongos pertenecientes al género *Trichoderma*, tienen buena capacidad para exceder los resultados fungistáticos que provienen de diferentes especies y plantas, esto mediante la incidencia de metabolitos (Benítez, 2004, p. 251-254).

No obstante, la capacidad de control ya sea de nutrientes y espacio, es un mecanismo fundamental de este género, debido a que es un hongo heterótrofo de rápido crecimiento, así mismo el género *Trichoderma* spp., para su viabilidad emplea como nutriente el hierro, lo adquiere mediante moléculas sideróforas, para de esta forma detener el desarrollo del agente patógeno (Intagri. 2018, p. 1-2). Pese a que según menciona (Chet y Baker. 1981, p. 286-287), las cepas de *Trichoderma* spp., cuando se inoculan en el suelo tienen un crecimiento óptimo, resultando de esta forma resistentes a fungicidas, herbicidas e insecticidas u otros productos químicos empleados en el sector agrícola.

- *Antibiosis*: (Intagri. 2018, p. 1-2) menciona que se basa netamente en la interacción de antibióticos producidos por el hongo *Trichoderma* spp., lo cual inhibe el crecimiento de microorganismos, a la vez que excretan metabolitos tóxicos que detienen la colonización del patógeno; además elaboran tricholinas, harzianico, alameticinas y ácidos peptaibólicos.
- *Micoparasitismo*: se conoce como micoparasitismo al enfrentamiento de dos hongos como por ejemplo *Trichoderma* spp. versus patógeno (Chet y Baker. 1981, p. 286-287). también según (Martínez, Infante y Reyes. 2013, p. 2-5) aquí se involucra la acción de reconocimiento, infección, ataque y muerte del huésped, actuando *Trichoderma* spp., como un hongo capaz de realizar un control directo.

El micoparasitismo tiene su división en necrotrofos y biotrofos; los necrotrofos se caracterizan por tener rápido crecimiento, por ser agresivos y por tener la capacidad de vivir indefinidamente como saprófitos, además matan a la célula del patógeno, previo y posterior a la invasión producen sustancias tóxicas y usan sus nutrientes; por consiguiente los biotrofos son antagonistas que producen estructuras especiales durante el proceso de la absorción de nutrientes de diferentes organismos vivos, a este grupo pertenece una parte mínima (Benítez, 2004, p. 251-254). Según lo establecido por (Sánchez. 2009, p. 11-17; Garrido. 2016, p. 29-36), el micoparasitismo es un proceso que se desarrolla en 4 etapas:

Crecimiento quimiotrófico: el hongo *Trichoderma* spp., es detectado incluso a distancias considerables y es atraído por los exudados del patógeno.

Reconocimiento: hay ciertas especies de *Trichoderma* que demuestran efectividad únicamente en el caso de patógenos específicos, según su comportamiento.

Adición y enrollamiento: el hongo *Trichoderma* spp., se adhiere al patógeno mediante sus hifas envolviéndolo en sí mismo.

Activación lítica: al patógeno se le degrada la pared celular por la acción de enzimas líticas como: proteasas, glucanasas y quitinasas, las cuales proceden del microorganismo antagonista y a su vez al agente con capacidad de biocontrol le facilitan el ingreso.

Mecanismos indirectos

- *Promoción del crecimiento vegetal:* *Trichoderma* spp., actúa colonizando las raíces en el desarrollo de las plantas, a la vez que desintegra metabolitos en el proceso de descomposición de materia orgánica, produce ácidos orgánicos que reducen el pH, fitohormonas, el fosforo 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, p. 23-27; Garrido. 2016, p. 29-36).

- *Inducción de resistencia:* En este mecanismo *Trichoderma* spp., reprograma el funcionamiento de otros genes y activa rutas enzimáticas y; mientras va produciendo tres tipos de compuestos, los cuales estimulan la resistencia en las plantas, he ahí donde se encuentran compuestos con bajo peso molecular, oligosacáridos, y una serie de proteínas con funciones enzimáticas, además de proteínas codificadas para genes de avirulencia (Sánchez. 2009, p. 11-17; Garrido. 2016, p. 29-36).

Un ejemplo es en lo que concierne a las investigaciones de la inducción de resistencia por *Trichoderma* spp., es en tomate, dónde el hongo incita la estimulación de genes encargados de la producción de elicitores al mismo tiempo que otros genes son inactivados (Sánchez. 2009, p. 11-17).

- *Degradación de agrotóxicos:* *Trichoderma* spp., expulsa enzimas como la hemicelulosa, lignilasa y celulosa debido a que presenta resistencia a los agroquímicos, con este mecanismo se desintegran los clorofenoles, hidrocarburos, polisacáridos, xenobióticos, plaguicidas, que poseen moléculas de mayor complejidad (Garrido. 2016, p. 29-36).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Características del lugar

2.1.1. Localización

El estudio se efectuó en la Estación Experimental Central de la Amazonía (EECA-INIAP), situada en la parroquia San Carlos, Cantón Joya de los Sachas, Provincia de Orellana, La investigación se ejecutó en dos etapas: la primera en el laboratorio de Protección Vegetal y la segunda en el invernadero de la estación.



Figura 1-2: Mapa de ubicación de la Estación Experimental Central de la Amazonía (EECA)

Fuente: (GADPO 2015, Google Maps, 2021)

2.1.2. Ubicación geográfica

Latitud: 0291649

Longitud: 09962311

Altitud: 280 m.s.n.m.

2.1.3. Características climáticas

La región experimental tiene un clima tropical cálido y húmedo, con una pluviosidad anual de 3500 mm, una temperatura media anual de 25 °C, una temperatura máxima media de 22 °C, una temperatura mínima media de 40 °C y humedad relativa media del 90 %, a nivel de invernadero la humedad relativa promedio es del 70 % y la temperatura promedio de 35 °C.

2.2. Materiales y métodos

Para la investigación se utilizó los siguientes materiales distribuidos en: equipos, reactivos y materiales:

- *Equipos:* Microscopio, cámara de flujo laminar, autoclave, estufa de calor, destilador, balanza analítica, micropipetas, Computador portátil
- *Reactivos:* Papa dextrosa agar (PDA), alcohol potable, ácido láctico, clorofenicol, agar, frejol
- *Materiales de laboratorio:* Cajas Petri de 90 mm de diámetro, sacabocados de 5 mm, pinzas, espátula, tubos de ensayo, matraces, porta y cubre objeto, mechero de alcohol, algodón hidrófilo, papel aluminio, guantes de nitrilo y mascarillas, cámara de Neubauer, microscopio, jeringuillas, micropipeta, balanza analítica, papel, tijeras, lápices, borradores, esferos, regla.
- *Materiales de Campo:* Macetas, atomizador balanza tipo reloj, tijeras de podar.

2.3. Metodología

El estudio consistió en una fase en laboratorio que consistió en medir la competencia entre ellos de cuatro aislados de *Trichoderma* que ha sido seleccionados como organismos con capacidad biocontroladora sobre *Alternaria* sp.; lo cual se lo realizó en cajas Petri provistas con medio de cultivo Potato – dextrosa – agar. En una segunda fase se realizó la evaluación de cuatro aislados y su combinación en métodos de consorcios asperjados sobre lesiones iniciales de *Alternaria* en pencas jóvenes de pitahaya amarilla en condiciones de invernadero.

2.3.1. Factores en estudio

ETAPA I Y II: El factor de estudio estuvo conformado por los aislados de *Trichoderma* spp.

2.3.2. Unidad experimental

ETAPA I: Estuvo conformada por una caja Petri de 90 mm.

Número de repeticiones: 3

Número de tratamientos: 7

Número de unidades experimentales: 21

Número total de cajas petri: 21

ETAPA II: Estuvo conformado de la siguiente manera: bajo invernadero.

Número de macetas por unidad experimental: 2

Número de repeticiones: 3

Número de tratamientos: 7

Número de unidades experimentales: 21

Número total de macetas: 42

2.3.3. Tratamientos

ETAPA I.- Los Tratamiento se conformaron por dos aislados de *Trichoderma* spp., excepto por un tratamiento que estuvo integrado por los cuatro aislados en estudio, mostrándose en la Tabla 1-2:

Tabla 1-2: Tratamientos de aislados de *Trichoderma* spp.

TRATAMIENTO	DESCRIPCIÓN
T1	Aislados: 15 -14
T2	Aislados: 15 - 21
T3	Aislados: 15 - 26
T4	Aislados: 14 - 21
T5	Aislados: 14 - 26
T6	Aislados: 21 - 26
T7	Aislados: 15-14- 21-26

Realizado por: Tapuy, Myrka. 2022.

ETAPA 2.- En condiciones de invernadero se evaluó cuatro aislados de *Trichoderma* spp., los cuales presentaron biocontrol sobre *Alternaria* sp., en condiciones in vitro; en base a los resultados obtenidos por la investigación de (Jimenez,2021). Detallándose los tratamientos en la Tabla 2-2.

Tabla 2-2: Tratamientos en invernadero

TRATAMIENTO	DESCRIPCIÓN
MSP-15	Aislados 15
MSP-14	Aislados 14
MSP-21	Aislados 21
MSP-26	Aislados 26
MSP-C	Consorcio (Aislados: 15, 14, 21, 26)
TA	Testigo <i>Alternaria</i>

Realizado por: Tapuy, Myrka. 2022.

2.4. Métodos de evaluación

ETAPA I

Competencia de Aislados de Trichoderma spp. -Se midió el crecimiento diario, estimando el diámetro en milímetros (mm) de cada colonia de los aislados de *Trichoderma spp.* también se evaluó la distancia de separación entre cada aislado para lo cual, se empleó 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.

ETAPA II

Periodo de inoculación. - Mediante observaciones con el uso de una lupa sobre las pencas nuevas, se observó y se contó la presencia de lesiones iniciales que caracterizan a *Alternaria sp.*, se evaluó cada 12 horas hasta que aparezcan las lesiones.

Numero de lesiones activas y muertas. - Mediante observación visual empleando una lupa compuesta por un lente convexo, en toda el área de los brotes nuevos inoculados con los aislados de *Trichoderma spp.*, se contabilizo el número de lesiones de *Alternaria sp.* activas en crecimiento (café rojizo) y el número de lesiones muerta (color pajizo). Las evaluaciones se las realizó cada 24 horas por un periodo de 13 días.

2.5. Manejo del experimento

ETAPA I

Competencia entre aislados de Trichoderma spp. - Se instaló el ensayo en las cajas Petri, las cuales estuvieron marcados en 2 sitios alejados a 4 cm, con medio de cultivo seleccionado y los aislados

de *Trichoderma* con capacidad antagónica in vitro, en base a la investigación realizada por (Jimenez, 2022); se tomó discos de 5 mm de diámetro del micelio de uno de los aislados de *Trichoderma* sp., se colocó en el interior de las cajas Petri, luego en el extremo opuesto se colocó otro disco de 5 mm de micelio de un aislado de *Trichoderma* spp (Howell, 2003, p. 4-6).

ETAPA II

Inoculación de Alternaria sp. y Trichoderma spp., en invernadero. -En el invernadero y empleando metodología para mantener el ambiente propuesta por Prado Patiño (2016) se instaló el experimento. Dentro de cada cámara se colocó bandejas maceteros de polietileno con suelo previamente esterilizado a 121 °C y 15 Psi.

Se inoculó en brotes jóvenes (mayor a ocho cm) con el patógeno *Alternaria* sp., con una suspensión conidial de 1×10^6 conidios /ml, mediante el uso de un atomizador. Después de tres días se aplicaron los aislados de *Trichoderma* spp. previamente seleccionada en laboratorio por su alta capacidad antagónica sobre *Alternaria* sp., se empleó una concentración de 1×10^9 conidios /ml, lo cual se ajustaron empleando un hemocitómetro.

Conteo de esporas en la cámara de Neubauer. - Para la concentración de conidios tanto para los aislados de *Trichoderma* spp. y el patógeno *Alternaria* sp., se basó en la metodología propuesta por (Báez, 2019), donde se realizó diluciones seriadas de 10^{-2} , se tomó 1 ml de la dilución para el conteo en la cámara de Neubauer; posterior a eso se contó en los cuadrantes correspondientes, basándose al tamaño de conidios que presenta el género *Alternaria* y *Trichoderma*. Se Utilizó la fórmula para la concentración de conidios, la cual consiste en:

$$\text{Concentración de conidios (Conidios/ml)} = x * 10000 * 16 * \text{FD}$$

x = Promedio de las 20 lecturas por áreas de conteo

FD = Factor de dilución

16 y 10 000 = Constante para cuadrantes laterales.

2.6. Diseño experimental

ETAPA I y II: Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), en la cual se ejecutaron 3 repeticiones por tratamiento.

2.7. Análisis estadísticos

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:

$$\text{ETAPA I y II: } Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : Variable de respuesta

μ : Media general

A_i : Efecto del tratamiento (Aislados de Trichoderma)

B_j : El efecto de bloque

e_{ij} : El término de error aleatorio

2.8. Análisis funcional

Para establecer diferencias estadísticas se utilizó la prueba LSD Fisher $\alpha= 0,05$; también se evaluó los supuestos de los modelos mediante gráficos qq-plot (normalidad) y gráficos de los residuos en función de los predichos para la igualdad de varianza (Di Rienzo et al., 2005).

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Competencia entre aislados de *Trichoderma* spp.

Al analizar el desarrollo entre aislados en las cajas Petri, para medir la competencia de tratamientos de *Trichoderma* spp; se observó que no hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los aislados estudiados. De la misma manera se observó que el grupo conformado por cuatro aislados de *Trichoderma* spp. (T7) presento un mayor distanciamiento de 0,17 mm, siendo igual estadísticamente al grupo constituido por dos aislados (T1, T2, T3, T4, T5, T6) con una distancia entre ellos de 0,14 mm (Grafica 1-3)

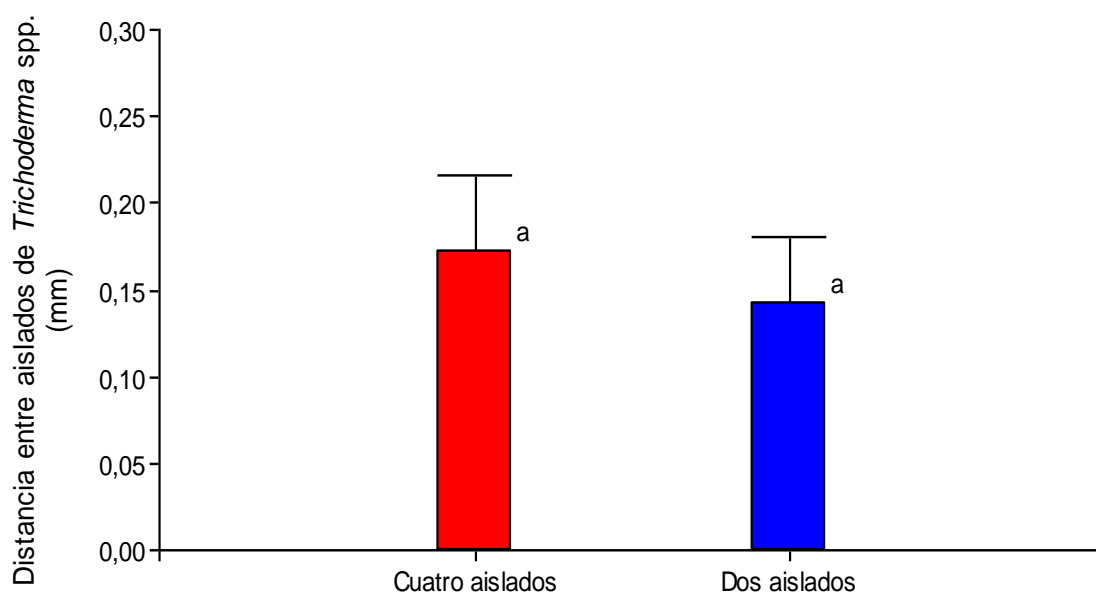


Gráfico 1-3: Competencia de aislados de *Trichoderma* spp.

Realizado por: Tapuy, Myrka. 2022.

Al analizar la variable competencia entre los aislados de *Trichoderma* spp., se observó diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos evaluados. De la misma manera se observó la mayor de distancia entre aislados la obtuvo el Tratamiento 6 con un diámetro de 0,19 mm, seguido de los Tratamientos 7, T2 y T5 con una distancia entre aislados de 0,18; 0,15 y 0,15 mm respectivamente y la menor distancia la obtuvo el Tratamiento (T4) con 0,06 mm (Grafica 2-3).

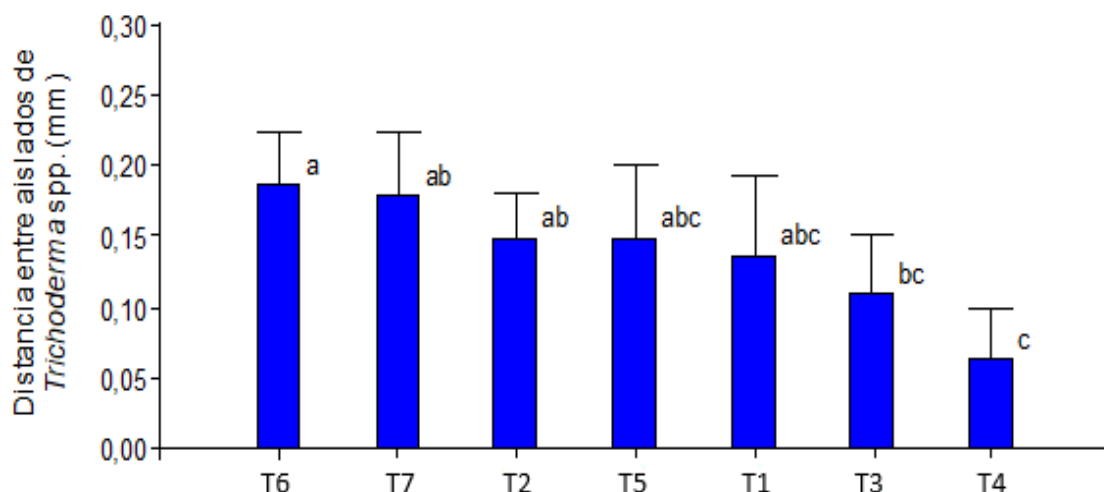


Gráfico 2-3: Competencia entre los aislados de *Trichoderma* spp.

Realizado por: Tapuy, Myrka. 2022.

Lo expresado por Sánchez, Espinoza, Villordo y Mora, las confrontaciones que tuvieron interacción ocurrieron rápido (3 a 4 días después del primer contacto). En cuanto a los aislados de *Trichoderma* invadieron a las de los patógenos seleccionados. Teniendo en cuenta que, a la investigación realizado por Sánchez, Espinoza, Villordo y Mora los resultados dictados son similares a los observados por Ezziyyani (2004), quien encontró que la zona de intersección de *T. harzianum* frente a *P. capsici* aumentó con el tiempo, y dicho evento lo acompañó la destrucción de micelio de *P. capsici*.

Mediante la investigación por parte de Kexyang (2002) indicaron que la zona de intersección por los antagonistas (*T. harzianum* y *T. atroviride*) y la inhibición de crecimiento micelio del patógeno (*Botryosphaeria berengeriana* f. sp. *pirinola*) aumentó con el tiempo, y el crecimiento del micelio del patógeno se suprimió por micoparasitismo.

En este estudio se pudo destacar que los aislado de *Trichoderma* spp. No realizaron una competencia entre ellos por ende no existe micoparacitismo entre las cepas de *Trichoderma*.. En cambio cuando se confrontan *Trichoderma* con *Fusarium* los resultados adquiridos por Arbito (2017) sustentan lo señalado, los enfrentamientos presentaron un crecimiento rápido en las cajas Petri las cepas en confrontación se pudieron observar al quinto o sexto día, donde se observó que los conidios de *Trichoderma* se sobrepone a las de *Fusarium*. Demostrando que los estudios realizados por Villamil, Viteri y Villegas (2015) donde manifiestan que varias cepas de *Trichoderma* desarrollan metabolitos que hace que presente un efecto antagónico inhibiendo su crecimiento.

3.2. Número de lesiones activas de *Alternaria* sp.

Al analizar la variable número de lesiones activas de *Alternaria* sp. en pencas de pitahaya en condiciones de invernadero, se pudo constatar diferencias significativas ($p > 0,05$) en los tratamientos (aislados de *Trichoderma* spp.); observando el mayor número de lesiones activas en el Tratamiento A (testigo absoluto) con 65 lesiones, el cual difiere de los demás tratamientos, seguido de los tratamientos MSP-14 y MSP-15 con una cantidad de 49 y 48 lesiones respectivamente, siendo iguales estadísticamente entre sí; por otro lado, el Tratamiento MSP-C con 29, siendo diferentes de los demás tratamiento. También se observa que los tratamientos con menor números de lesiones activas de *Alternaria* sp., se presenta en los tratamientos MSP-21 Y MSP-26 presentando ambos 18 lesiones, siendo estos iguales estadísticamente (Grafica 3-3)..

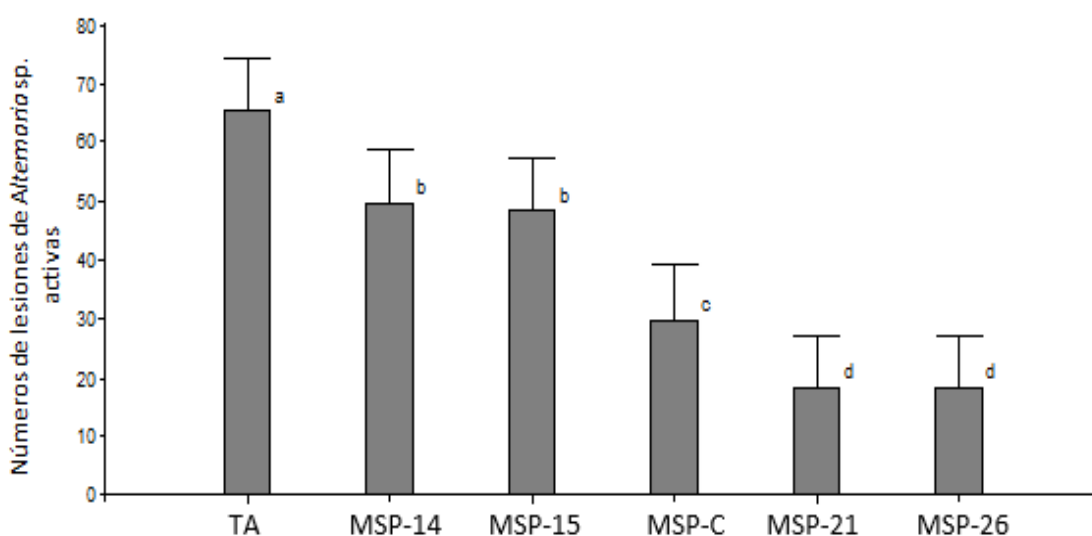


Gráfico 3-3: Número de lesiones activas de *Alternaria* sp.

Realizado por: Tapuy, Myrka. 2022.

Nguyen y Pham (2011) mencionan referente a su investigación sobre pencas de pitahaya con lesiones de *Alternaria* las lesiones aparecen en 72 horas su formación es de color oliváceo oscuro a negro, verrugosos la *Alternaria* presenta más lesiones en vainas jóvenes de pitajaya. Lo expresado por Patel y Zhang (2017) en Florida hay unas 320 hectáreas de producción de pitahaya. En la primavera de 2016, se observaron lesiones redondas de color rojizo a anaranjado con centros de color rojo oscuro y sin halo en el 60% de los tallos de pitahaya, con una estimación de pérdidas de entre el 10 y el 20% en una finca de Homestead, en el condado de Miami-Dade, Florida. Las lesiones se unieron y formaron áreas enfermas más grandes.

Al analizar la variable número de lesiones activas de *Alternaria* sp. a través del tiempo, baja invernadero, se pudo observar diferencias significativas ($p > 0,05$) en los aislados de *Trichoderma* spp., al día tres presento una incidencia de lesiones con una cantidad de 50, decreciendo al pasar los días. Hasta el día 13 se reduce el 50% de las lesiones de *Alternaria* sp. (Grafica 4-3).

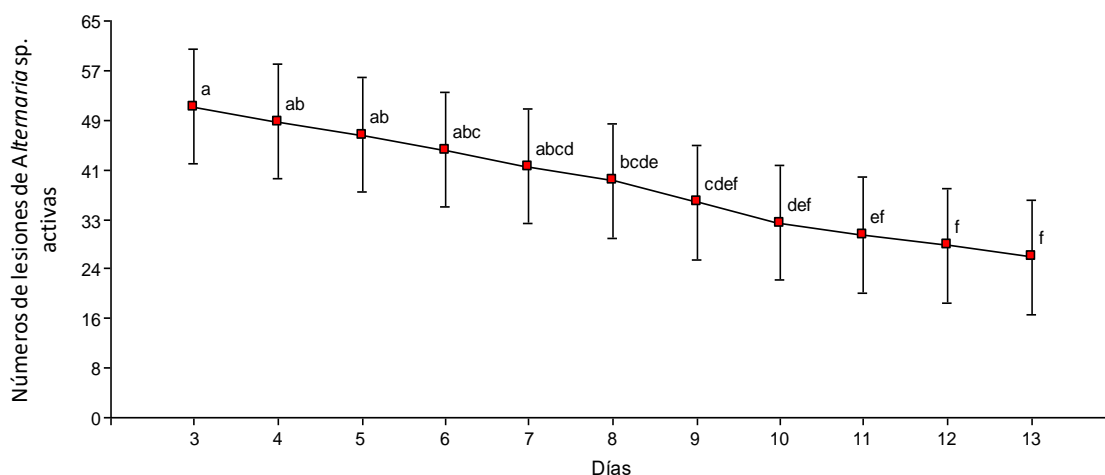


Gráfico 4-3: Número de lesiones activas de *Alternaria* spp.

Realizado por: Tapuy, Myrka. 2022.

3.5 Número de lesiones de *Alternaria* sp. biocontroladas

En la variable lesiones de *Alternaria* sp. biocontroladas por aislados de *Trichoderma* spp. se pudo observar diferencias significativas ($p > 0,05$) en los aislados del género *Trichoderma*; se visualizó mayor número de lesiones controladas. en los tratamientos MSP-15 y MSP-14 con 41 y 35 lesiones respectivamente siendo iguales estadísticamente entre sí, pero diferentes entre los demás; seguido por el tratamiento MSP-C con 22, el cual difiere estadísticamente de los demás tratamientos; a estos seguidos por los tratamientos MSP-26 Y MSP-21 con 15 y 14 lesiones respectivamente. El menor número de lesiones biocontroladas lo obtuvo el tratamiento TA (testigo absoluto) con 3 lesiones (Grafica 5-3)..

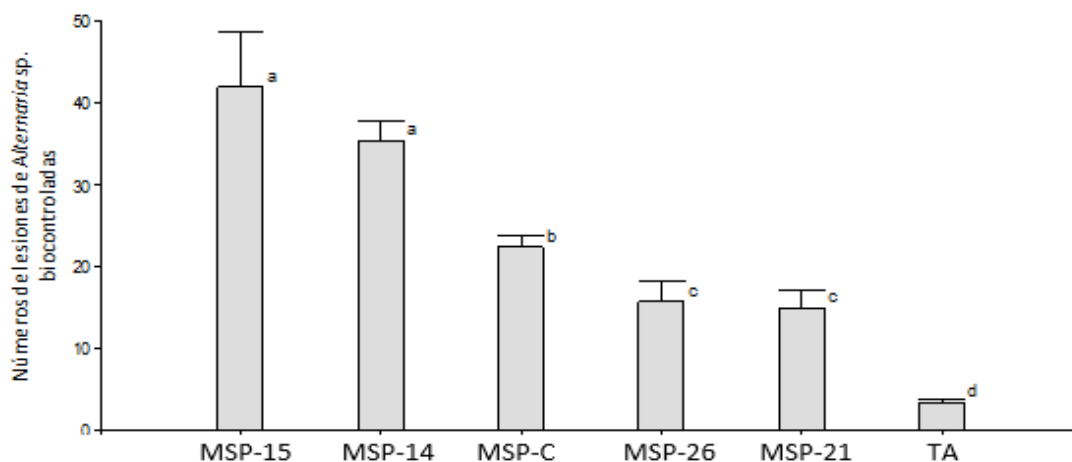


Gráfico 5-3: Número de lesiones de *Alternaria* sp. biocontroladas

Realizado por: Tapuy, Myrka. 2022.

Estudios realizados por Feli (2021) demostró que después de 15 días después de la primera, segunda y tercera pulverización, se registró una incidencia mínima de la enfermedad (%) en T7- *Trichoderma viride* (75,53%), seguido de T1-Neem (82. 17%), T4- Tulsi (88,87%), T5Cinnamomum verum (95,53%), T2-Cámara de Lantana (97,73%), T3-Ajo (99,97%), en comparación con T6- Mancozeb (control tratado) (62,17%) y control no tratado - T0 (106,63%). Mediante la investigación de Metz (2021) muestra el potencial general de *Trichoderma* spp. como BCA contra *A. solani* en la patata. Los resultados sirven como base para una mayor mejora, que es necesaria para desarrollar *Trichoderma* spp. en BCAs eficaces y fiables contra el tizón temprano de la patata.

3.6 Número de sarnas de *Alternaria* sp.

Al analizar la variable número de sarna de *Alternaria* sp. en brotes de pitahaya, se pudo constatar diferencias significativas ($p > 0,05$) en los tratamientos (aislados de *Trichoderma* spp.), se observó mayor número de sarnas (*Alternaria* sp) en el tratamiento TA (testigo absoluto) y MSP-15 con 38 y 37 sarnas respectivamente, siendo iguales estadísticamente entre sí. Seguido del tratamiento MSP-14 con 29 lesiones. El menor números de sarnas lo presentó el tratamiento MSP-26 con 1 lesión, el cual difiere estadísticamente de los demás tratamientos.

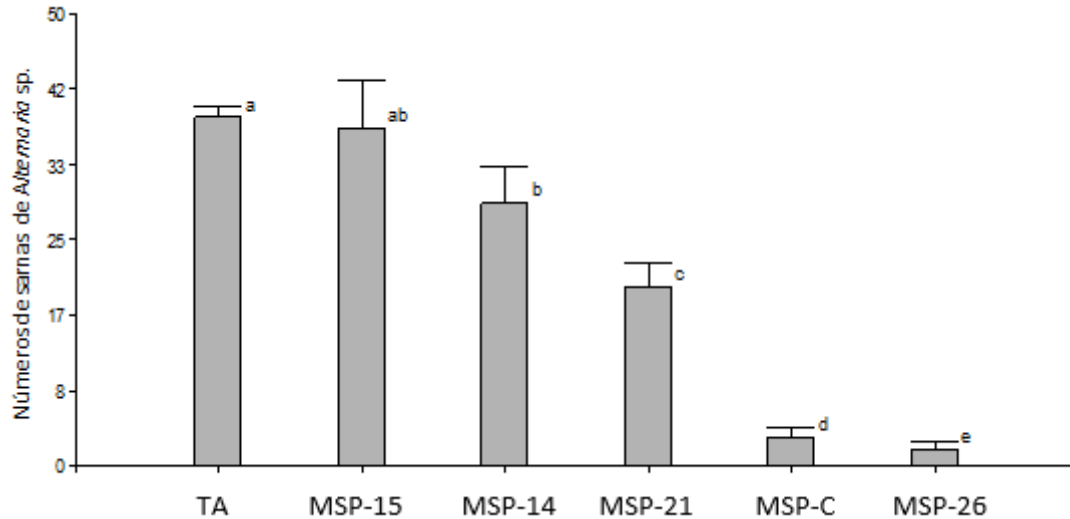


Gráfico 6-3: Número de sarnas de *Alternaria* sp.

Realizado por: Tapuy, Myrka. 2022.

De los cuatro aislados de *Trichoderma* se observó que el aislado 26 tiene mayor control de sarnas en vainas nuevas (brote de pitahaya), demostrando que éste aislado a más de las condiciones de laboratorio en esta fase de invernadero ejerce efecto para que el patógeno *Alternaria* genere más sarnas sobre los tejidos de pitahaya. Pico (2019) en su evaluación el causante de la sarna es *Alternaria* ocasionando la muerte en vainas jóvenes de pitahaya impidiendo su crecimiento.

CONCLUSIONES

Se demuestra que los aislados de *Trichoderma* spp. seleccionados en condiciones in vitro como capaces de biocontrolar sobre el patógeno *Alternaria* sp. no presentan competencia entre los cuatro aislados de *Trichoderma* spp.; prueba que dio paso a los estudios en condiciones de invernadero.

Se determina que los aislados de *Trichoderma* spp si tienen capacidad de biocontrol sobre *Alternaria* en condiciones de invernadero, lo cual permite seguir con los estudios en condiciones de campo.

RECOMENDACIONES

Realizar la caracterización molecular de los aislados de *Trichoderma* con capacidad antagónica sobre de *Alternaria* sp.

Ejecutar las pruebas para medir la capacidad biocontroladora de los mejores aislados de *Trichoderma* spp. en condiciones de campo.

BIBLIOGRAFÍA

ALEXOPOULOS, C., MIMS, C. y BLACKWELL, M. *Introductory Mycology*. Cuarta. Nueva York: s.n.1996. ISBN 978-0-471-52229-4

BARNETT, H.L. y HUNTER, B.B. *Illustrated genera of imperfect fungi* [en línea]. Cuarta. S.l.: s.n.1998. Disponible en: https://www.academia.edu/35499449/Illustrated_genera_of_imperfect_fungi_fourth_edition._Barnett_y_Hunter._pdf.pdf.

BENÍTEZ, T. Mecanismos de biocontrol de cepas de *Trichoderma*. *Scielo* [en línea], 2004. . [Consulta: 9 junio 2021]. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-67092004000400003.

BRAVO, A., et al. Los microorganismos en el control de insectos y fitopatógenos. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. [en línea], vol. 48, no. 2, 2006. , pp. 116. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2006/mi062k.pdf>.

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

CHAUCA, E. *Evaluación de la capacidad antagónica de Trichoderma spp. frente al hongo Rhizoctonia solani en Allium cepa L (Cebolla roja)*. S.l.: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ESPOCH2018.

CHET, I. y 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]. 2. Perú: s.n.1995. ISBN 9789972901706 Disponible en: http://www.avocadosource.com/books/CisnerosFausto1995/CPA_TOC.htm.

CRUZ, J., LARRAMENDI, L., ORTIZ, R., FONSECA, M. y RUÍZ, G. Revisión bibliográfica *Pitahaya (Hylocereus spp.)* un recurso fitogenético con historia y futuro para el trópico seco

mexicano. *Cultivos tropicales* [en línea], vol. 36, 2015. , pp. 67-76. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v36s1/ctr07s115.pdf>.

ELLIS, M. *Dematiaceous Hyphomycetes. VI* [en línea]. Primera. England: s.n.1965. Disponible en: http://www.ascofrance.com/uploads/forum_file/1965-n103-Ellis-0001.pdf.

ESPINOZA, D.E.Y. y DÍAZ, C., Perspectivas socioeconómicas e incidencia de la política pública en pequeños productores de pitahaya de la comunidad shuar Paquisha, Morona Santiago (2013-2018). [en línea], 2010. , pp. 6. Universidad Central del Ecuador. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/7412/3/T-UCE-0003-AE019-2015.pdf>.

FAO. Perspectivas a plazo medio de los productos básicos agrícolas. *Depósito de documentos de la FAO* [en línea]. , F. and A.O., 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]. S.l.: Universidad Nacional de Trujillo2016. . 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_LOPEZ%2C%20Cynthia%20rubi.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

HUACHI, L., YUGSI, E., PAREDES, M., CORONEL, D., VERDUGO, K. y 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. , pp. 52. [Consulta: 9 junio 2021]. ISSN 1390-8596. 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. y 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.

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

JIMÉNEZ, E. “ Métodos de Control de Plagas ”. *Universidad Nacional Agraria* [en línea], 2009. , pp. 145. Disponible en:

<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:?+M?todos+de+Control+de+Plagas+?#2>.

JIN, X., KO, Y.-Z., MOHD, M.H., CHIANG, Y.-C. y 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.

KONDO, T., MARTINEZ, M., MEDINA, J., REBOLLEDO, A. y CARDOZO, C. *Tecnología para el manejo de pitaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran en Colombia*. Primera. Palmira, Valle del Cauca: s.n.2013. . 2013. . 2013. ISBN 9789587401479

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

LÓPEZ, C. y 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.

MARTÍNEZ, B., INFANTE, D. y 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. y 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. , pp. 107. ISSN 2224-4697. Disponible en: file:///C:/Users/HP/Downloads/2014_Martnezetal.AntagonismoinvitrodecepasdeTrichodermasp

p.frenteSarocladium.pdf.

MARTÍNEZ, E. *Plagas de cultivo* [en línea]. S.l.: s.n.2016. ISBN 9789587401905 Disponible en: <https://panoramaagrario.com/2016/05/manual-plagas-enfermedades-sorgo/>.

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]. S.l.: Universidad Estatal Península de Santa Elena 2018. . 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/>.

ORGANISMO INTERNACIONAL REGIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA. Manual técnico: Buenas prácticas de cultivo en pitahaya. *Oirsa* [en línea], 2018. , pp. 54. Disponible en: <http://www.cultivopapaya.org/wp-content/uploads/manualpithaya.pdf>.

ORTEGA, A.H., LEÓN, M.A. y ROSAS, R.V. Producción De Pitahaya Para Promover El Desarrollo Regional y sustentable. *I* [en línea], vol. 1, no. 1, 2019. , pp. 79-92. Disponible en: <http://ru.iiec.unam.mx/4299/>.

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

PRO ECUADOR. Análisis sectorial pitahaya. [en línea], 2016. , pp. 5-7. Disponible en: <https://xdoc.mx/preview/analisis-sectorial-609760a1264a6>

RONCAL, M. *Principios de Fitopatología Andina* [en línea]. Primera. Cajamarca, Perú: s.n.2004. . 2004. . 2004. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Manuel-Roncal-Ordonez/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], no. January 2008, 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]. S.l.: Instituto politécnico nacional Tamaulipas, Mexico2009. . Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/8464>.

SUÁREZ, C., PICO, J. y DELGADO, A. Evaluación de la Dispersión de Esporas de *Alternaria* sp. en el Cultivo de Pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) en Palora.ora. *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%20del%20artículo-6106-1-10-20200210%20(2).pdf).

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, H. *Manual de las enfermedades más importantes de la Papa en el Perú*. Primera. Lima, Peú: Centro Internacional de la Papa (CIP)2002. ISBN 9290602120

VARGAS, Y., PICO, J., DÍAZ, A., SOTOMAYOR, D., BURBANO, A., CAICEDO, C., PAREDES, N., CONGO, C., TINOCO, L., BASTIDAS, S., CHUQUIMARCA, J., MACAS, J. y VIERA, W. *Manual del cultivo de Pitahaya para la amazonia Ecuatoriana* [en línea]. Manual N°. Joya de los Sachas, Ecuador: s.n.2020. ISBN 9789942224897Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/343224125_Manual_del_Cultivo_de_Pitahaya_para_la_Amazonia_Ecuatoriana.

VERONA-RUIZ, A., URCIA-CERNA, J. y PAUCAR-MENACHO, L.M. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Cultivo, características fisicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos. *Scientia Agropecuaria* [en línea], vol. 11, no. 3, 2020. , pp. 439-453. ISSN 23066741. DOI 10.17268/sci.agropecu.2020.03.16. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v11n3/2077-9917-agro-11-03-439.pdf>.

WALKER, C.J. *Patología Vegetal*. Tercera Ed. Barcelona: s.n.1965.

WU, J. *Manual del cultivo de la Pitaya* [en línea]. . S.l.: s.n.2005. Disponible en: [https://www.icta.gob.gt/publicaciones/Pitaya/Manual del cultivo de la Pitaya.pdf](https://www.icta.gob.gt/publicaciones/Pitaya/Manual%20del%20cultivo%20de%20la%20Pitaya.pdf).

YUMBAY, R. *Evaluación de cepas de Trichoderma spp., en el control de Botrytis cinerea en el cultivo de rosas* [en línea]. S.l.: Escuela politécnica del ejército2011. . Disponible en: [repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4724/1/T-ESPE-IASA I-004569.pdf](http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4724/1/T-ESPE-IASA%20I-004569.pdf).

ANEXO

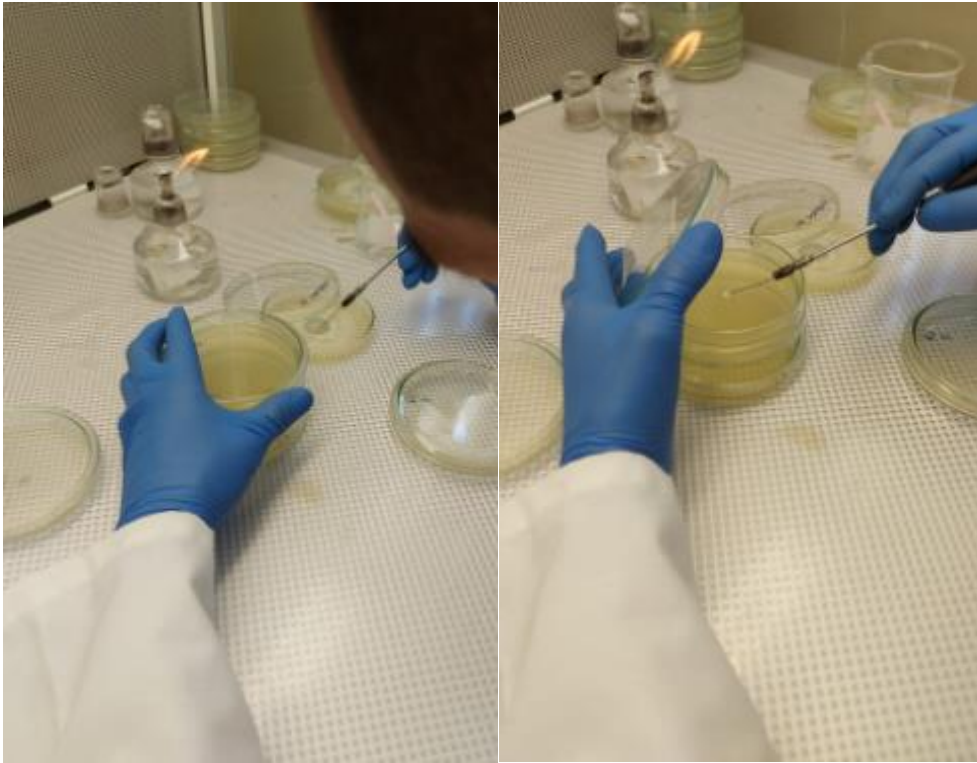
ANEXO A: PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO



ANEXO B: DISPENSACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS

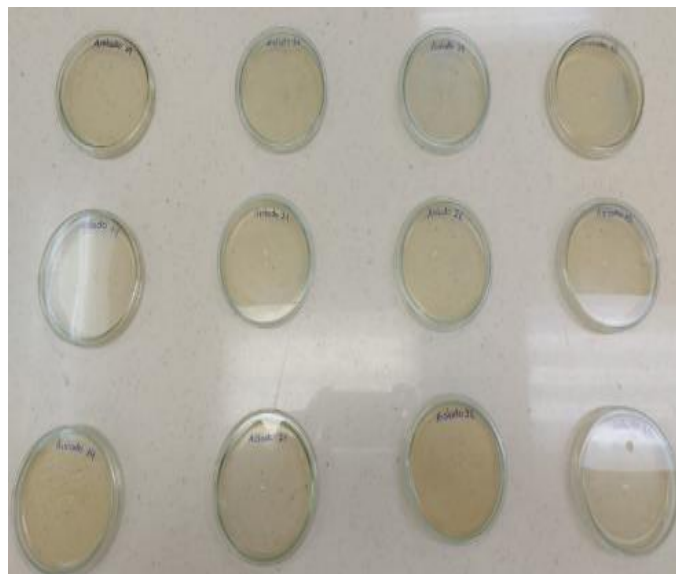


ANEXO C: SIEMBRA DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp. EN LOS MEDIOS DE CULTIVO



ANEXO D: CRECIMIENTO DE AISLADOS DE *Trichoderma* spp. EN MEDIOS DE CULTIVO

Día 1



Día 3



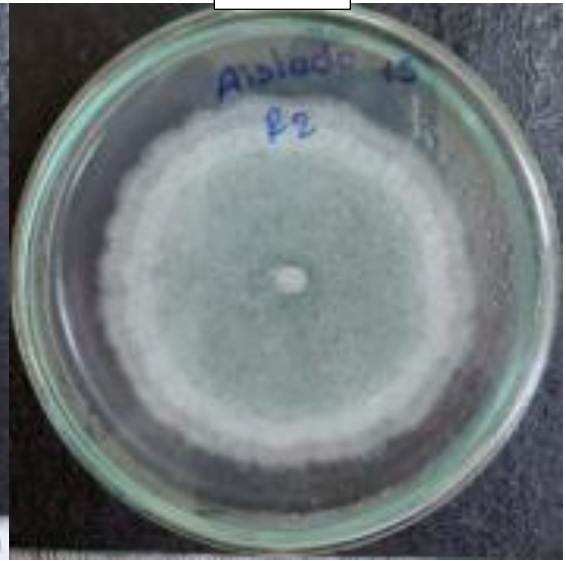
Día 5



Día 3



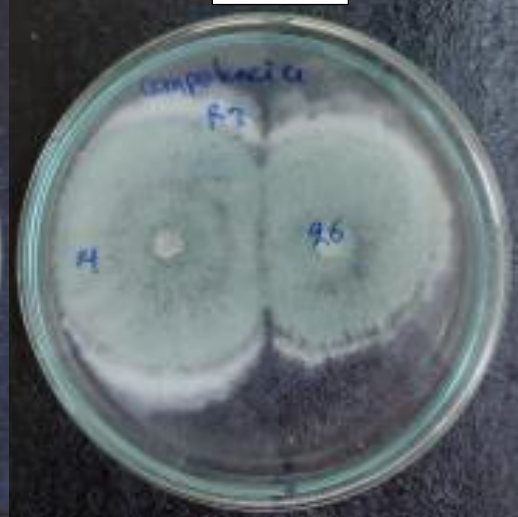
Día 5



Día 3



Día 5



ANEXO E: ZARANDERO DEL SUELO ANTES DE ESTERILIZAR



ANEXO F: ESTERILIZACIÓN DE SUELO



ANEXO G: LIMPIEZA PARA LA INSTALACIÓN DE LA CÁMARA HUMEDA CONTROLADA



ANEXO H: INSTALACIÓN DE LA CÁMARA DE HUMEDA CONTROLADA Y DE LAS MACETAS BAJO INVERNADERO



ANEXO I: APLICACIÓN DE *Alternaria* sp. EN LAS PENCAS DEL PITAHAYA



ANEXO J: LESIONES DE *Alternaria* sp.



ANEXO K: APLICACIÓN DE *Trichoderma* spp.



ANEXO L: LESIONES CONTROLADAS CON *Trichoderma* spp.

