



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA INGENIERIA FORESTAL

**“EVALUACIÓN DEL ANTAGONISMO Y DEL POTENCIAL DE
CONTROL BIOLÓGICO DE *Trichoderma* spp. FRENTE A *Fusarium*
sp. ASOCIADO CON PINO (*Pinus* sp.)”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO FORESTAL

AUTOR:

GUILLERMO GABRIEL MORETA LARA

Riobamba - Ecuador

2022



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA INGENIERIA FORESTAL

“EVALUACIÓN DEL ANTAGONISMO Y DEL POTENCIAL DE CONTROL BIOLÓGICO DE *Trichoderma* spp. FRENTE A *Fusarium* sp. ASOCIADO CON PINO (*Pinus* sp.).”

Trabajo de Integración Curricular
Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:
INGENIERO FORESTAL

AUTOR: GUILLERMO GABRIEL MORETA LARA
DIRECTOR: ING. PABLO ISRAEL ÁLVAREZ ROMERO Ph.D

Riobamba - Ecuador
2022

©2022, Guillermo Gabriel Moreta Lara

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

Yo Guillermo Gabriel Moreta Lara, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoridad y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor 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.

Riobamba, 11 de abril de 2022



Guillermo Gabriel Moreta Lara

120545208-7

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA INGENIERIA FORESTAL

El tribunal del Trabajo De Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular: Tipo: Proyecto De Investigación, **EVALUACIÓN DEL ANTAGONISMO Y DEL POTENCIAL DE CONTROL BIOLÓGICO DE *Trichoderma* spp. FRENTE A *Fusarium* sp. ASOCIADO CON PINO (*Pinus* sp.)**, realizado por el señor: **GUILLERMO GABRIEL MORETA LARA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legal, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

FIRMA

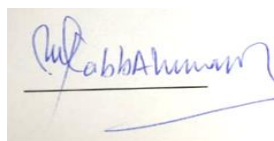
FECHA

Ing. Miguel Ángel Guallpa Calva MSc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



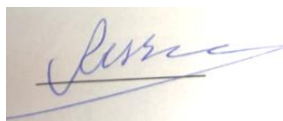
2022-04-11

Ing. Pablo Israel Álvarez Romero Ph.D.
DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACION CURRICULAR



2022-04-11

Ing. Rosa Del Pilar Castro Gómez Ph.D.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



2022-04-11

DEDICATORIA

Para mi ejemplo, mi madre y amiga compañera de vida, Pilar Del Consuelo Lara Lara, a la mujer que a pesar de mis tropiezos siempre ha estado ahí a mi lado apoyándome para lograr culminar mi etapa universitaria. A mi hermana Maoly Moreta por sus consejos y confiar en mí para lograr ser una persona de bien. A toda mi familia, por su apoyo ya sea emocional y económico, a mi abuelita que siempre estuvo ahí aconsejándome que no me rinda, a mi tío Carlos Moreira por siempre darme la mano cuando más necesitaba, a toda mi familia y a mi querida esposa Kattia. R un Dios se lo pague de todo corazón.

Guillermo

AGRADECIMIENTOS

El más sincero agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por darme la oportunidad de obtener una profesión y ser una ayuda para la sociedad. A mi familia por su apoyo para poder lograr mi objetivo de ser un profesional. Agradecimientos al Dr. Pablo Álvarez, por brindarme su apoyo como director de tesis y los aportes en la elaboración de la misma, a los ingenieros que aportaron con un granito de arena para poder culminar mi sueño, aquellos que estuvieron caminando junta a mí en todo momento y siempre fueron un apoyo fundamental.

Mi gratitud, también para la empresa Aglomerados Cotopaxi, por haberme ayudado con el aporte de plantas necesarias para realizar el proyecto.

Guillermo

TABLA DE CONTENIDOS

INDICE DE TABLAS.....	ix
INDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
TABLA DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	¡Error! Marcador no definido.
INTRODUCCIÓN	1

CAPITULO I

1.	MARCO TEORICO REFERENCIAL	3
1.1.	<i>Pino (Pinus sp.)</i>	3
1.1.1	<i>Taxonomía</i>	3
1.1.2.	<i>Descripción</i>	3
1.2.	<i>Fusarium circinatum</i>	4
1.1.1.	<i>Taxonomía</i>	4
1.1.2.	<i>Descripción</i>	4
1.1.3.	<i>Síntomas</i>	4
1.1.4.	<i>Métodos de Control</i>	5
1.1.5.	<i>Control biológico.</i>	5
1.1.6.	<i>Control Biológico usando Trichodermaspp.</i>	5
1.2.	Mecanismos de acción de Trichoderma spp.	6
1.2.1.	<i>Micoparasitismo</i>	6
1.2.2.	<i>Crecimiento quimiotrófico</i>	6
1.2.3.	<i>Adhesión y enrollamiento</i>	7
1.2.4.	<i>Actividad lítica</i>	7
1.2.5.	<i>Competencia</i>	7
1.2.6.	<i>Antibiosis</i>	8
1.2.7.	<i>Hiperparasitismo.</i>	9
1.2.8.	<i>Inducción de resistencia.</i>	9
1.3.	<i>Trichoderma spp.</i>	10
1.3.1.	<i>Taxonomía</i>	10

1.3.2.	<i>Descripción</i>	11
1.3.3.	<i>Producción de metabolitos de Trichoderma spp.</i>	11
1.3.3.1.	<i>Metabolitos secundarios</i>	11
1.3.3.2.	<i>Actividad antibacterial de metabolitos de Trichodermaspp.</i>	11
1.3.3.3.	<i>Trichoderma spp. en el control biológico.</i>	12
1.3.3.4.	<i>Beneficios de la aplicación de Trichoderma spp.</i>	12

CAPITULO II

2.	MARCO METODOLÒGICO	14
2.1.	Materiales y métodos	14
2.1.1.	<i>Características del lugar</i>	14
2.1.1.1.	<i>Localización</i>	14
2.1.1.2.	<i>Ubicación geográfica</i>	14
2.1.2.	<i>Materiales y equipos</i>	15
2.1.2.5.	<i>Materiales y equipos de oficina</i>	17
2.2.	Metodología	17
2.2.1.	<i>Fase de laboratorio (Reactivación de cepas)</i>	17
2.2.2.	<i>Cultivo dual.</i>	17
2.2.3.	<i>Preparación de inóculo para el experimento en vivero.</i>	17
2.2.4.	<i>Calculo de volumen y concentración</i>	18
2.2.5.	<i>Fase de vivero</i>	19
2.2.5.1.	<i>Especificación de campo experimental</i>	19
2.2.5.2.	<i>Descripción de los tratamientos de P. radiata</i>	21
2.2.5.3.	<i>Descripción de los tratamiento P. patula</i>	21
2.2.5.4.	<i>Riego</i>	21
2.2.5.5.	<i>Inoculación de los hongos antagonistas</i>	21
2.2.5.6.	<i>Inoculación de plantas de Pino con F. circinatum</i>	22
2.2.6.	Variables evaluadas	22
2.2.6.1.	<i>Altura de las plantas a los 15,30 y 45 días</i>	22
2.2.6.2.	<i>Incidencia de F. circinatum en vivero.</i>	22
2.2.6.3.	<i>Peso seco y fresco de las plantas</i>	22
2.2.6.4.	<i>Tamaño de la raíz</i>	22
2.2.6.5.	<i>Peso seco de la raíz</i>	23
2.2.6.6.	<i>Peso seco del tallo</i>	23
2.2.6.7.	<i>Aislamiento del hongo patógeno inoculado</i>	23

CAPITULO III

2.	MARCO DE RESULTADO Y DISCUSIÓN.....	24
3.1.	Antagonismo in vitro de <i>Trichoderma</i> spp. frente a <i>Fusarium</i> sp.	24
3.1.1.	<i>Crecimiento micelial de las confrontaciones o enfrentamientos entre patógeno y antagonistas</i>	24
3.2.	Alturas a los 15, 30, 45 días.	26
3.3.	Longitud de raíces.....	29
3.4.	Peso fresco de las plantas.	31
3.5.	Peso seco de la raíz.	33
3.6.	Peso seco tallo.....	35
3.7.	Porcentaje de Incidencia.	37
	CONCLUSIONES.....	43
	RECOMENDACIONES.....	44
	BIBLIOGRAFIA	
	ANEXOS	

INDICE DE TABLAS

Tabla 1-2:	Detalle de los aislados de <i>Trichoderma</i> y <i>Fusarium circinatum</i>	16
Tabla 2-2:	Concentración de los hongos patógenos.....	18
Tabla 3-2:	Concentración inicial de hongos antagonistas.....	18
Tabla 4-2:	Concentración inicial de hongos antagonistas.....	19
Tabla 5-2:	Volumen inicial de hongos antagonistas y hongo patógeno.....	19
Tabla 6-2:	Descripción de cada uno de los tratamientos aplicados en la especie de <i>Pinus radiata</i>	21
Tabla 7-2:	Descripción de cada uno de los tratamientos aplicados en la especie de <i>Pinus patula</i>	21
Tabla 8-3:	Prueba de Tukey al 5% de la tasa de crecimiento micelial en <i>P. radiata</i>	25
Tabla 9-3:	Prueba de Tukey al 5% de la tasa de crecimiento micelial en <i>P. patula</i>	25
Tabla 10-3:	Prueba Tukey al 5% para la altura depara la altura de <i>Pinus patulainoculados</i> con <i>Fusarium</i> sp y <i>Thichoderma</i> spp.....	27
Tabla 11-3:	Prueba Tukey al 5% para la alturapara la altura de <i>Pinus radiatainoculados</i> con <i>Fusarium</i> sp y <i>Thichoderma</i> spp.....	28
Tabla 12-3:	Prueba Tuckey al 5% de las longitudesde las raíces de <i>P. patula</i>	30
Tabla 13-3:	Prueba Tukey al 5% de las longitudesde las raíces de <i>P. radiata</i>	30
Tabla 14-3:	Prueba Tukey al 5% del peso fresco de las raíces de <i>P. patula</i>	32
Tabla 15-3:	Prueba Tukey al 5% del peso fresco de las plantas <i>P. radiata</i>	32
Tabla 16-3:	Prueba Tukey al 5% del peso seco de raíz de <i>P. patula</i>	34
Tabla 17-3:	Prueba Tukey al 5% del peso seco de raíz de <i>P. radiata</i>	34
Tabla 18-3:	Prueba Tukey al 5% del peso seco del tallo de <i>P. patula</i>	36
Tabla 19-3:	Prueba Tukey al 5% del peso seco del tallo de <i>P. radiata</i>	36
Tabla 20-3:	Prueba Tukey al 5 % del porcentajede incidencia en <i>P. patula</i>	38
Tabla 21-3:	Prueba Tukey al 5 % del porcentaje de incidencia en <i>P. radiata</i>	39

INDICE DE FIGURAS

Figura 1-2:	Ubicación de vivero de la ESPOCH	14
Figura 2-2:	Distribución de los tratamientos en <i>Pinus radiata</i>	20
Figura 3-2:	Distribución de los tratamientos en <i>Pinus patula</i>	20

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico 1-3:	Diagrama de caja y bigote (boxplot) del crecimiento micelial de los enfrentamientos entre patógeno y antagonistas. <i>AP. radiata</i> y <i>BP. patula</i>	24
Grafico 2-3:	Diagrama de caja y bigote (boxplot) de la altura a los 15,30,45 de plántulas de. <i>AP. patula</i> y <i>BP. radiata</i>	26
Gráfico 3-3:	Diagrama de caja y bigote (boxplot) del tamaño de la raíz en y <i>AP. patula</i> . <i>BP. radiata</i>	29
Grafico 4-3:	Diagrama de caja y bigote (boxplot) de los valores obtenidos del peso fresco de cada tratamiento. <i>A P. patula</i> y <i>BP. radiata</i>	31
Grafico 5-3:	Diagrama de caja y bigote (boxplot) del peso seco de la raíz después de 48 horas, <i>A P. patula</i> y <i>BP. radiata</i>	33
Grafico 6-3:	Diagrama de caja y bigote (boxplot) del peso seco del tallo en <i>AP. patula</i> y <i>BP. radiata</i>	35
Grafico 7-3:	Incidencia a los 45 días de inoculación	37

INDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** PREPARACIÓN DE MATERIALES Y MEDIOS.
- ANEXO B:** REACTIVACIÓN DE CEPAS.
- ANEXO C:** CEPAS REACTIVADAS DE *thichoderma* spp Y *fusarium* sp.
- ANEXO D:** SIEMBRA DE CONFRONTACIONES.
- ANEXO E:** MEDICIÓN MICELIAL DE LA SIEMBRA DUAL.
- ANEXO F:** RESULTADO DE LAS SIEMBRAS DUALES CON SU TESTIGO.
- ANEXO G:** REPIQUE DE LOS MEJOR INHIBIDORES A NIVEL DE LABORATORIO.
- ANEXO H:** AISLADOS REPICADOS Y CONSERVADOS PAREA SER APLICADOS EN
LA FASE DE CAMPO
- ANEXO I:** PREPARACIÓN DE INÓCULOS.
- ANEXO J:** SUSPENSIÓN Y CONTEO DE ESPORAS.
- ANEXO K:** APLICACIÓN DE INÓCULOS.
- ANEXO L:** TOMA DE DATOS Y OBSERVACIONES DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN.
- ANEXO M:** OBSERVACIONES DEL ESTRÉS.
- ANEXO N:** TOMA DE DATOS.
- ANEXO O:** REACTIVACIÓN.
- ANEXO P:** ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA TASA DE CRECIMIENTO MICELIAL EN
PINUS radiata.
- ANEXO Q:** ANALISIS DE VARIANZA DE LA TASA DE CRECIMIENTO MICELIAL EN
P. patula.
- ANEXO R:** ANÁLISIS DE VARIANZA DE ALTURA EN *P. patula*.
- ANEXO S:** ANÁLISIS DE VARIANZA DE ALTURA EN *P. radiata*.
- ANEXO T:** ANÁLISIS DE VARIANZA DEL TAMAÑO DE RAÍZ EN *P. patula*.
- ANEXO U:** ANÁLISIS DE VARIANZA DEL TAMAÑO DE RAÍZ EN *P. radiata*.
- ANEXO V:** ANÁLISIS DE VARIANZA DE PESO FRESCO EN *P. patula*.
- ANEXO W:** ANÁLISIS DE VARIANZA DE PESO FRESCO EN *P. radiata*.
- ANEXO X:** ANÁLISIS DE VARIANZA DE PESO SECO DE RAÍZ EN *P. patula*.
- ANEXO Y:** ANÁLISIS DE VARIANZA DE PESO SECO DE RAÍZ EN *P. radiata*.
- ANEXO Z:** ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PESO SECO DE TALLO EN *P. patula*.
- ANEXO AA:** ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PESO SECO DE TALLO EN *P. radiata*.
- ANEXO AB:** ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INCIDENCIA EN *P.*
patula.
- ANEXO AC:** ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INCIDENCIA EN *P.*
radiata.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue la evaluación del antagonismo y del potencial de control biológico de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* sp. asociado con pino (*Pinus* sp.), a nivel de laboratorio y vivero, se utilizaron cepas de *Trichoderma* spp., el estudio tuvo dos fases, la primera fue a nivel de laboratorio la que consistió en la reactivación de los hongos patógenos y antagonistas, para realizar confrontaciones se utilizaron dos cepas de *Fusarium* sp. y ocho cepas de hongos antagonistas del género *Thichoderma* spp. para luego realizar medidas del crecimiento micelial cada 24 h, la información obtenida del crecimiento micelial fue recopilada y se escogieron los hongos según los resultados de la tasa de crecimiento micelial. En la etapa de vivero se utilizó plantas de *P. radiata* de 2 meses y *P. patula* de 1 mes, para realizar el ensayo de control con las cepas seleccionadas se utilizó 576 plantas con las cepas de *Trichoderma* G1, TL, TH, se realizaron observaciones diarias para establecer los tratamientos con afectación hacia el hongo patógeno dando como resultado que el tratamiento con mayor incidencia en *P. patula* fue *Fusarium circinatum* (T5) y el de menor incidencia fue de Control 2 sin tratamiento (T7), el tratamiento con mayor incidencia en plantas de *P. radiata* fue en donde se inocularon *T.harzianum*+ *F.circinatum* cepa 2 (T2), y el de menor incidencia fue el Control 2 sin tratamiento (T7). Ninguno de los aislados de *Trichoderma* sp. tuvieron una eficacia a nivel de campo del 100% frente a los aislados de *Fusarium* sp. inoculados y la especie de pino más susceptible al *Fusarium* sp. inoculado fue *Pinus patula*, con una incidencia del 100%. Futuras investigaciones son necesarias para ver el potencial que tienen los hongos del género *Trichoderma* en el control de enfermedades forestales.

Palabras clave: <*Thichoderma* spp.>, <*Fusarium* sp.>, <CONTROL BIOLÓGICO>, <FITOPATÓGENO>, <CONÍFERAS>.

D.B.R.A.I.
Prof. Cristian Castillo



1125-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The aim of this study was the evaluation of the antagonism and biological control potential of *Trichoderma spp.* against *Fusarium sp.* associated with pine (*Pinus sp.*), at laboratory and nursery level, strains of *Trichoderma spp.* were used, the study had two phases, the first was at laboratory level which consisted in the reactivation of pathogenic and antagonistic fungi, to carry out confrontations were used two strains of *Fusarium sp.* and eight strains of antagonistic fungi of the genus *Thichoderma spp.* to then carry out measurements of mycelial growth every 24 h, the information obtained from the mycelial growth was compiled and the fungi were chosen according to the results of the mycelial growth rate. In the nursery stage were used plants of *P. radiata* of 2 months and *P. patula* of 1 month, to carry out the control test with the selected strains were used 576 plants with the strains of Trichoderma G1, TL, TH, daily observations were made to establish the treatments with affectation towards the pathogenic fungus giving as a result that the treatment with greater incidence in *P. patula* was *Fusarium circinatum* (T5) and the lowest incidence was Control 2 without treatment (T7), the treatment with the highest incidence in *P. radiata* plants was where *T. harzianum* + *F. circinatum* strain 2 was inoculated (T2), and the lowest incidence was Control 2 without treatment (T7). None of the *Trichoderma sp.* isolates had 100% field level efficacy against inoculated *Fusarium sp.* isolates and the pine species most susceptible to inoculated *Fusarium sp.* was *Pinus patula*, with 100% incidence. Future research is needed to see the potential of *Trichoderma fungi* in the control of forest diseases.

Keywords:<*Thichodermaspp.*>,<*Fusariumsp.*>,<BIOLOGICALCONTROL>,
<PHYTOPATHOGENIC>,<CONIFEROUS>.



Lcda. Elsa Amalia Basantes Arias. Mgs.
C.I: 0603594409

INTRODUCCIÓN

En el territorio ecuatoriano utilizar microorganismos benéficos en sistemas agrícolas y de especies forestales, se muestra como una forma sustentable y económica para combatir las enfermedades producidas por patógenos, reduciendo la utilización de agroquímicos, que tienen efectos negativos con el ecosistema, además de ofrecer otros efectos benéficos para las plantas (Carmona, 2017, p.27). Los hongos son microorganismos que ayudan en un alto porcentaje a la biomasa de los suelos, intervienen en el ciclo de varios elementos, minerales y ayudan a la nutrición de plantas (Soil y Es, 2012, p.125). Uno de los mayores problemas que enfrentan los cultivos es la susceptibilidad a hongos, bacterias, virus y nematodos, pero principalmente a enfermedades causadas por hongos patógenos (Sañudo barajas *et al.*, 2017, p.18).

PROBLEMA

En Ecuador son pocas las investigaciones relacionadas sobre *Trichoderma* spp. en especies forestales, este microorganismo es un hongo benéfico y se encuentra de forma natural en el suelo o endófitamente en los tejidos vegetales (raíces, tallos y hojas). Actualmente se carece de información sobre los efectos benéficos de especies de *Trichoderma* spp. para combatir el hongo de *Fusarium* sp. en particular de *F. circinatum* el cual afecta el normal crecimiento del pino (*Pinus radiata* o *P. patula*) a nivel del vivero y a nivel de campo.

JUSTIFICACIÓN

Fusarium circinatum es un patógeno altamente destructivo de pino, tanto a nivel de vivero como en campo. Actualmente no existen estudios sobre alternativas de manejo de este patógeno en nuestro país. Considerando, la importancia de *Trichoderma* spp. en los sistemas agroforestales, el potencial patogénico de *Fusarium circinatum* y de la carencia de información sobre microorganismos benéficos en especies forestales en nuestro país, el presente trabajo propone el estudio de *Trichoderma* spp. como alternativa para el manejo del hongo *Fusarium circinatum* en pino (*Pinus* sp.) *in vitro* e *in vivo*.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar el antagonismo y el potencial de control biológico de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* sp. en pino (*Pinus* sp.).

Objetivos específicos

- Seleccionar las cepas de *Trichoderma* spp. que presenten mejor potencial antagonista frente a *Fusarium* sp.
- Estudiar el antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* sp.

HIPÓTESIS

NULA

Ninguna de las cepas de *Trichoderma* spp. presentan antagonismo frente a *Fusarium* sp.

ALTERNA

Al menos una de las cepas de *Trichoderma* spp. presenta antagonismo frente a *Fusarium* sp.

CAPITULO I

1. MARCO TEORICO REFERENCIAL

1.1. Pino (*Pinus* sp.).

1.1.1 Taxonomía

Reino: Plantae

División: Pinophyta

Clase: Pinopsida

Orden: Pinales

Familia: Pinaceae

Género: *Pinus*

Especie: *Pinus radiata* y *Pinus patula*

Nombre Común: Pino

Nombres comunes relacionados: Pino insigne, Pino candelabro.

Fuente: D. Don, 1836

1.1.2 Descripción

El pino es un árbol de hasta 60 m de altura y 100 cm de diámetro a la altura del pecho (DAP), con tronco cónico y recto, corteza café interna crema - rosácea, segrega resina. Las hojas de forma acicular en fascículos de tres, 12 flores masculinas con estambres peltados, las femeninas se encuentran en conos o estróbilos (Ecuador forestal, 2010, p.1)

Los frutos del pino se muestran en forma de piñas que nacen en grupos de hasta 4 ó 5 con aspecto de corona, no tienen un pedúnculo apreciable y parecen pegadas a la rama. La base es muy asimétrica, porque son más abultadas las escamas del lado contrario a la rama. Pueden permanecer varios años en el árbol sin abrirse (Galán, 2007, p.1).

Las semillas de pino son ortodoxas se pueden almacenar por varios años con un contenido de humedad del 8 % y a 4 ° C. Para mejorar la germinación se deja la semilla en remojo durante 24 horas. Un kilogramo tiene aproximadamente 22 000 semillas, cuya germinación inicia a los 9 días y culmina a los 20 (MAE, 2009, p.3).

El pino es maderable, usado para construcción pesada; madera estructural para edificaciones, carpintería arquitectónica. Construcción liviana, construcción de botes, carpintería de interior. Ebanistería; paneles, pasamanos, barandas, molduras, postes, mangos para herramientas (Trujillo, 2002, p.16).

Los principales usos que se le da a la madera del pino (*Pinus* sp.) según Martínez (2004, p.2.) es: muebles, pulpa de madera, papel, tableros, aglomerados, tableros contrachapados y de fibras, ebanistería y tapicería.

1.2. *Fusarium circinatum*

1.1.1. Taxonomía

Reino: Fungi

Sub-reino: Dikarya

Filo: Ascomycota

Sub-filo: Pezizomycotina

Clase: Sordarioomycetes

Sub-clase: Hypocreomycetidae

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium* sp.

(Britz et al., 1991).

1.1.2. Descripción

El hongo *Fusarium circinatum*, es una de las enfermedades más agresivas en las coníferas, ya que es capaz de infectarlas por vías directas (heridas e insectos vectores) y/o indirectas (viento y agua). Se caracteriza por provocar coloraciones en las acículas que son desde un color amarillo hasta rojizo, hasta provocar su caída (puntiseado); en el eje central del árbol se generan chancros exudantes de resina, de ahí su nombre común, estos síntomas también se ven reflejados en las ramas primarias y secundarias, con menor incidencia en las terciarias (Aegerter, et al. 2003, p. 13; D. Bezos et al., 2017, p. 282). Se sabe que tanto semillas y las piñas pueden ser afectadas por el patógeno siendo una manera de dispersión (Flores, 2017, p.23).

1.1.3. Síntomas

Los síntomas son más fácilmente identificables se dan en las acículas jóvenes pudiendo ser vistas también en acículas maduras. Se evidencia por coloraciones inicialmente amarillas tornándose a grisáceas o marrones, inclusive una combinación de ambas. La especie que muestra una sintomatología más clara es *Pinus radiata* (Dvorak, 2007, p.128). Cada uno de los hospedantes de este hongo patógeno presenta particularidades en la expresión de los síntomas

de la infección. Sin embargo, se pueden describir algunas generalidades que facilitan su identificación visual (Gordon, & Wingfield, 2015, p.32). La infección se inicia en una rama que tiende a morir generando un estrangulamiento y chanco (cáncer) en esa zona. El crecimiento del chancro es tanto distal como proximal, creciendo mayoritariamente crece hacia arriba del árbol generando la muerte de ramas de la copa, pero también se ha registrado afectación hacia la zona baja del tronco (Flores, 2017, p.23).

1.1.4. Métodos de Control

Dentro de las opciones de manejo y/o control preventivo de la enfermedad del chancro resinoso del pino en viveros figura la desinfección de semillas de hospedantes susceptibles con agua caliente. Estudios preliminares han demostrado la utilidad de tratamientos con agua caliente, con 51° C - 52° C por 30 minutos, son una posibilidad para la desinfección de semillas de *Pinus radiata* contaminadas con *Fusarium circinatum* (Agustí-Brisach et al., 2009; Bernal-Vicente, Ros, & Pascual, 2009). Sin embargo, otros estudios han encontrado que la temperatura letal para el micelio y las esporas de *Fusarium circinatum* es de 55° C y 52° C, respectivamente (Flores, 2017, p.21).

En contraste, Gordon et al., 1998; Storer et al., 1998, encontraron que el hipoclorito de sodio era ineficaz en la reducción de la contaminación por *Fusarium circinatum* de la semilla de *Pinus radiata* debido a los altos niveles de contaminación interna de las semillas por el patógeno. Desafortunadamente, estos métodos no impiden la llegada de semillas infectadas a los viveros forestales y las plántulas al bosques (Flores, 2017, p.30).

1.1.5. Control biológico.

Es la utilización de los enemigos naturales de las plagas y enfermedades en las plantas y suelos para reducir su impacto, lo que implica usar tres veces menos de sustancias químicas, con el mismo rendimiento y un costo menor. Ventajas y debilidades de una alternativa clave para garantizar la sustentabilidad de los sistemas productivos a largo plazo (Pérez, 2018, p.1).

1.1.6. Control Biológico usando *Trichoderma* spp.

Uno de los hongos más estudiados por su potencial como Agente de Control Biológico (ACB) en las enfermedades de las plantas es el género *Trichoderma* spp. (Howell, 2003, p. 6). Una de las características más destacadas que presenta este grupo, es su habilidad para parasitar otros

hongos (Weindling, 1932, p.840),pero además son capaces de producir sustancias antibióticas que son inhibitoras de muchos patógenos. Sin embargo, el principal mecanismo de control biológico de *Trichoderma* spp. Es la competencia por el espacio y los nutrientes de la rizosfera (Howell, 2003).El crecimiento de este hongo no está limitado al suelo o la las raíces, sino que es capaz de colonizar el floema e incluso medula de los árboles (Jankowiak, 2006, p.806).Existen muchos ejemplos de *Trichoderma* spp. y otros endófitos como controladores de enfermedades en plantas siendo en algunos casos enfermedades causadas por el género *Fusarium* (Basak&Basak, 2011, p.463; Bernal, et al., 2009, p830),y otros de interés forestal y agrícola.

1.2. Mecanismos de acción de *Trichoderma*spp.

1.2.1. Micoparasitismo

El micoparasitismo es definido como una simbiosis antagónica entre organismos, en el que generalmente están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulosas, y que se corresponden con la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados.

Las especies de *Trichoderma* spp. durante el proceso de micoparasitismo crecen quimiotrópicamente hacia el hospedante, se adhieren a las hifas del mismo, se enrollan en ellas frecuentemente y las penetran en ocasiones. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en los estados tardíos del proceso parasítico, que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno. (Infante, 2009, pp.14-21).

El micoparasitismo como mecanismo de acción antagónica en *Trichoderma* spp. ha sido ampliamente estudiado. No obstante, existen aspectos en el mismo que no están totalmente esclarecidos. Este es un proceso complejo que para su estudio se ha separado en cuatro etapas. El desarrollo de cada etapa depende de los hongos involucrados, de la acción biotrófica o necrotrofica del antagonista y de las condiciones ambientales (Infante, 2009, pp.14-21).

1.2.2. Crecimiento quimiotrófico

El quimiotropismo positivo es el crecimiento directo hacia un estímulo químico. En la etapa de localización del hospedante, se ha demostrado que *Trichoderma* spp. Puede detectarlo a distancia y sus hifas crecen en dirección al patógeno como respuesta a un estímulo químico (Pérez, 2020, p.2).

1.2.3. Adhesión y enrollamiento

Cuando la respuesta de reconocimiento es positiva, las hifas de *Trichoderma* se adhieren a las del hospedante mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos y apresorios, se enrollan alrededor de estas, todo esto está mediado por procesos enzimáticos, la adherencia de las hifas de *Trichoderma* spp. ocurre gracias a la asociación de un azúcar de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno. (Perez, N, 2004, p.296)

1.2.4. Actividad lítica

En esta etapa ocurre la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del hospedante y posibilitan la penetración de las hifas del antagonista. Por los puntos de contacto donde se produce la lisis y aparecen los orificios, penetra la hifa del micoparásito en las del hongo hospedante. La actividad enzimática en *Trichoderma* spp ha sido estudiada extensamente, así como las posibles funciones que desenvuelven en el micoparasitismo. Las especies de *Trichoderma* spp. posee un alto potencial parasítico, con una acción metabólica bastante específica, que les permite parasitar de manera eficiente las estructuras y composiciones de los hongos (Sandoval, 2002, p.71).

Trichoderma spp. produce bastantes metabolitos como las enzimas (celulosas, glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas) que forman parte en la lisis de la pared celular de las hifas del hospedante, facilitando la introducción de estructuras especialistas y de hifas de *Trichoderma*spp., que atraen nutrientes de adentro del hongo fitopatógeno. Misaghi y Adams, plantearon que el micoparasitismo al final termina con el malogro del contenido citoplasmático de la célula del hospedante. El citoplasma sobrante está primordialmente envolviendo las hifas invasoras, descubriendo síntomas de disgregación, lo que reduce la acción patogénica del hongo (Díaz, 1994, p.14).

1.2.5. Competencia

La competencia forma un elemento de antagonismo muy significativo. Se determina como el comportamiento disímil de dos o más organismos frente a un igual requerimiento (sustrato, nutrientes), siempre y cuando el uso de este por uno de los organismos disminuya la cantidad o espacio aprovechable para los otros. Este ideal de antagonismo se ve beneficiado por las particularidades del agente control biológico como plasticidad ecológica, ligereza de crecimiento y desarrollo, y por otra parte por factores exteriores como tipo de suelo, pH,

temperatura, humedad, y más. La presencia de manera natural del genero *Trichoderma* spp. en distintos suelos es considerado una muestra de la docilidad ecológica de este hongo y de su capacidad como excelente competidor por espacio y recursos nutricionales, sin embargo la competencia depende de la especie, (Samuel, 1996, pp.923-935). *Trichoderma* spp se encuentra biológicamente adecuado para una colonización agresiva de los suelo y en situaciones hostiles para sobrevivir, especialmente, en la manera de clamidosporas. La alta ligereza de crecimiento, cuantiosa esporulación y la extensa gama de suelos sobre los que puede desarrollarse, por la la abundancia de enzimas que posee, hacen que sea eficaz como saprófito y aún más como agente de control biológico (Pérez, 2004, p. 96).

La competencia por nutrientes puede ser por nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina, y pectinas, entre otros) y microelementos. Esta forma de competencia en los suelos o sustratos ricos en nutrientes no tiene importancia desde el punto de vista práctico. Por ello, cuando se emplea fertilización completa o existe exceso de algunos de los componentes de los fertilizantes e inclusive en suelos con alto contenido de materia orgánica, este tipo de antagonismo es poco eficaz (Stefanova, 1999, p.512)

La competitividad por suelo y espacio se basa en que el mismo esté libre de patógenos (sustrato estéril) o si tiene una micobiota natural. En el primer caso, la ligereza de crecimiento del antagonista no establece la colonización segura de los nichos, sino la aplicación similar del mismo en todo el suelo. Sin embargo, en el segundo caso la prontitud de crecimiento, en conjunto con otros de los mecanismos de acción del antagonista, es concluyente en el biocontrol del patógeno y colonización del sustrato (Durman, 2003, p.15)

1.2.6. Antibiosis

La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos venenosos causados por un microorganismo sobre otro sensible a estos. Algunos autores consideran que la antibiosis no debe ser elprimordial componente de acción de un antagonista, ya que hay el peligro de aparición de cepas del patógeno invulnerable al antibiótico. En la práctica uno de los antecedentes fue el caso de la manifestación de cepas de *Agrobacterium tumesfaciens* Smith y Townsend capaces de resistir al Agrosin 84, un antibiótico que se produce en na cepa de *Agrobacterium radiobacter* Beijerinck y van Del- den. Muchas cepas de *Trichoderma* spp. fabrican metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de ellos privan el crecimiento de otros microorganismos con los que no tienen relación física. Estas sustancias inhibitoras se describen como “antibióticos” (Infante, 2009, p.3).

Al inicio se determinó que la acción inhibidora de aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre otros hongos se correspondía únicamente a compuestos no volátiles. Dennis y Webster, fueron los primeros en este tópico, con el desarrollo de los trabajos más amplios acerca de la función de los antibióticos derivados de hongos del género *Trichoderma* sobre patógenos de las plantas. Ellos establecieron relación de la actividad antibiótica de *Trichoderma* spp. con componentes no volátiles, entre los que se encontraban uno reconocido como trichodermina y otros metabolitos peptídicos. En indagaciones posteriores Webster y Lomas (1964), determinaron que *Trichoderma* spp. Produce dos antibióticos más: gliotoxina y viridina (Infante, 2009, p.3).

1.2.7. Hiperparasitismo.

El hiperparasitismo es frecuentemente necesario, significa que se desarrollan obligatoriamente a partir de un parasitoide. Pero, logran ser facultativos, cuando su desarrollo es tanto sobre una especie parasitoide o sobre una especie libre. Esos insectos pueden jugar un papel negativo en las operaciones de control biológico llevadas adelante por medio de liberaciones de parasitoides. Cuando se trata de la introducción de parasitoides exóticos, a menudo contra una plaga también exótica, es necesario evitar introducir hiperparasitoides simultáneamente, y una etapa de cuidado en un periodo de cuarentena es obligatorio. Sea el caso de liberación de un parasitoide local, bajo una manera inoculativa o inundativa, se sugiere elegir una especie que no sea o sea menos atacada por hiperparasitoides, lo cual una investigación faunística podrá establecer (Basso, 2009, p.4)

1.2.8. Inducción de resistencia.

Trichoderma spp. incita de manera sistémica las defensas de las plantas frente a la agresión de patógenos, situaciones de suelo y ambientales hostiles, sin la obligación de mantener relación directa con el invasor o estar sumiso a un estrés antepuesto. Los patógenos agresores normalmente controlados sistémicamente por el efecto *Trichoderma* spp. son hongos filamentosos, micetos y bacilos (Shoresh et al. 2010), a pesar que todavía se ven activadas las protecciones frente a nematodos (De Medeiros et al., 2017, p.13), insectos y virus. Por lo tanto, las plantas no perciben *Trichoderma* spp como un contrario (B,M, 1994, p.54)

Para alcanzar la condición de “amigo” de las plantas *Trichoderma* spp. necesitó desarrollar sus capacidades oportunas, emplear los exudados de la raíz y superar las respuestas iniciales de la defensa de las plantas (Eugenia et al. 2009). Las plantas son capaces de presentar respuestas inmunológicas altamente específicas y mantener una memoria duradera frente al ataque de

patógenos. La primera línea de defensa activa se conoce como respuesta inmune innata, que entra en funcionamiento cuando las moléculas de los atacantes, conocidas como modelos moleculares relacionados con microorganismos (microbe-associated molecular patterns - MAMP), que son evolutivamente muy preservados (beta-glucanos y quitina de la pared celular de los hongos, flagelina y péptido-glucano de las bacterias, etc.), son detectados por receptores denominados beneficiado de reconocimiento de patrones (pattern recognition receptors - PRR), que están localizados en la membrana celular de cada célula vegetal. Igualmente, los PRR también responden a moléculas liberadas por la acción hidrolítica de los agresores sobre los tejidos de la planta (ejemplos: oligómeros de la pared celular y restos cuticulares), que son llamados modelos moleculares relacionados al deterioro (damage-associated molecular patterns - DAMP). Cuando se estimula un PRR se genera una cascada de transducción de señales que dan lugar a una respuesta inmune conocida como inmunidad disparada por MAMPs (MAMP-triggered immunity - MTI). Como resultado, se presenta mayor fuerza de las paredes celulares de la planta con la deposición de calosa y de lignina; la creación de metabolitos secundarios con acción antimicrobiana (B, M., 1994, P.54)

1.3. *Trichoderma* spp.

1.3.1. *Taxonomía*

Reino: *Fungi*

Filo: *Ascomycota*

División: *Ascomycota*

Subdivisión: *Pezizomycota*

Clase: *Sordariomycetes*

Orden: *Hypocreales*

Familia: *Hypocreaceae*

Género: *Trichoderma*

Espécies: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma viride*,
Trichoderma longibrachiatum.

Fuente: Persoon, 1794.

Trichoderma spp. es uno de los microorganismos más sobresalientes por su extenso metabolismo y viable reproducción, este microorganismo fabrica compuestos antimicrobianos los cuales permiten a la motivación de los mecanismos de defensa de la planta, además, promueve el crecimiento y desarrollo de parte aérea y de la raíz de las plantas. Tiene varias aplicaciones biotecnológicas, las más significativas, la germinación de hongos patógenos lo que

produce que estas técnicas sean más seguras en un largo rango de situaciones ambientales. Este microorganismo también se nutre de los materiales orgánicos degradados, y de esa forma permite la incorporación de estos en los sustratos (Benhamou, 1998, p.130).

1.3.2. Descripción

Se puede hallar en diferentes materiales orgánicos y sustratos, estos microorganismos son considerablemente conocidos por su elaboración de toxinas y antibióticos, el color del micelio es blanco y casualmente desarrolla un color verde oscuro luego de la esporulación (Martínez, Infante y Peteira, 2015). La aplicación de *Trichoderma* spp., en los estados de la planta permite en el aumento del sistema de la raíz y la parte más alta mostrando más vigorosidad y protección a la hora del trasplante es bastante usado para controlar hongos fitopatógenos y enfermedades del suelo (Benhamou, 1998, p.132).

1.3.3. Producción de metabolitos de *Trichoderma* spp.

1.3.3.1. Metabolitos secundarios

Las características básicas de la producción de energía y el desarrollo celular en todos los organismos son básicamente iguales y las moléculas participes en las reacciones fundamentales del crecimiento y la reproducción son iguales. Estas biomoléculas ubicuas y esenciales son aminoácidos, carbohidratos, ácidos grasos y ácidos nucleicos; se organizan como metabolitos primarios (MP) y son parte como factores de crecimiento en plantas o como enzimas líticas, sideróforos, antibióticos, permeasas de carbono y nitrógeno (Gupta, 2014, p.26).

Dado que estos hongos son poblaciones frecuentes del suelo y de la raíz de las plantas, muchos MS se han retirado, caracterizado y han sido extensamente estudiados por su acción como antimicrobianos. La activación de cada uno de los mecanismos bioquímicos participes en la producción y diversidad de los MS son la base de estudio en la variedad de especies en el género *Trichoderma*. (Gupta, 2014, p.26).

1.3.3.2. Actividad antibacterial de metabolitos de *Trichoderma* spp.

Un extracto de *Trichoderma* spp contiene una mezcla de compuestos que puede ser utilizada para control biológico y otros fines industriales. Por otra parte, dos cepas de *Trichoderma* fueron empleadas en cultivos de *Vitisvinifera* presentando efectos de inducción de resistencia a

enfermedades, promoción del crecimiento de las plantas y aumento de polifenoles o actividad antioxidante en las uvas (Gómez, 2015, p. 25)

1.3.3.3. *Trichoderma* spp. en el control biológico.

Trichoderma spp. tiene muchas ventajas como agente de control biológico, ya que tiene un apresurado crecimiento y desarrollo. Aparte de esto produce una gran cantidad de enzimas, inducibles con la presencia de hongos fitopatógenos. Tiene la capacidad de crecer en una gran gama de suelos, lo cual permite su producción a gran nivel para uso en el sector agronómico. Su enorme tolerancia a situaciones ecosistemitas extremas y a hábitats donde los hongos provocan múltiples enfermedades, le permiten ser un eficiente bio-agente de control. De igual manera, puede subsistir en medios con contenidos significativos de agro defensivos y otros químicos. Aparte, su gran variabilidad se constituye en un reservorio de posibilidades de control biológico, bajo desiguales sistemas de producción y cultivo(Gómez, 2015, p. 27).

Se ha comprobado que el género *Trichoderma* spp. Actúa contra un gran rango de hongos fitopatógenos transmitidos por sustrato y aire. Ha sido utilizado contra pudriciones en un extenso rango de especies, provocadas por *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*; y patógenos creadores de esclerocios como *Sclerotinia* y *Sclerotium*(Gómez, 2015, p. 27)

1.3.3.4. Beneficios de la aplicación de *Trichoderma* spp.

La aplicación de *Trichoderma* spp. al suelo tiene varias ventajas, pero hay que tener en cuenta que un solo método de control no basta para erradicar una enfermedad de forma eficaz y duradera. Es necesario integrar varias prácticas, para obtener cultivos sanos y económicamente rentables. Entre los principales beneficios de *Trichoderma* spp. Se encuentran los siguientes:

- Ofrece un control eficaz de enfermedades de las plantas.
- Posee un amplio rango de acción.
- Se propaga en el suelo, aumentando su población y ejerciendo control duradero en el tiempo, sobre hongos fitopatógenos.
- Con el uso de microorganismos en los cultivos, las plagas no generar resistencia como sucede cuando utiliza agroquímicos.
- Ayuda a descomponer la materia orgánica, haciendo que los nutrientes se conviertan en formas disponibles para la planta, por lo tanto, tiene un efecto indirecto en la nutrición del cultivo.

- Estimula el crecimiento de los cultivos, porque posee metabolitos que promueven los procesos de desarrollo en las plantas.
- Puede ser aplicado en compostaje o materia orgánica en descomposición, para acelerar el proceso de maduración de estos materiales, los cuales a su vez contendrán el hongo cumpliendo también función de biofungicida.
- Favorece la proliferación de organismos benéficos en el suelo, como otros hongos antagónicos.
- Preserva el ambiente al disminuir el uso de funguicidas.
- Al reemplazar agroquímicos sintéticos por microorganismos benéficos, el productor ahorra en sus costos de producción.
- Ataca patógenos de la raíz *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* y del follaje *Botrytis* y Mildius antes que puedan ser los detectados; y evita el ataque de *Phytophthora*.
- Previene enfermedades dando protección a la raíz y al follaje de las plantas.
- Promueve el crecimiento de pelos absorbentes y raíces alimenticias, mejorando la nutrición y la absorción de agua.
- No se ha registrado ningún efecto fitotóxico, a consecuencia de su aplicación.

CAPITULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Materiales y métodos

2.1.1. Características del lugar

2.1.1.1. Localización

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología y en el vivero de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicado en el cantón Riobamba, provincia de Chimborazo.

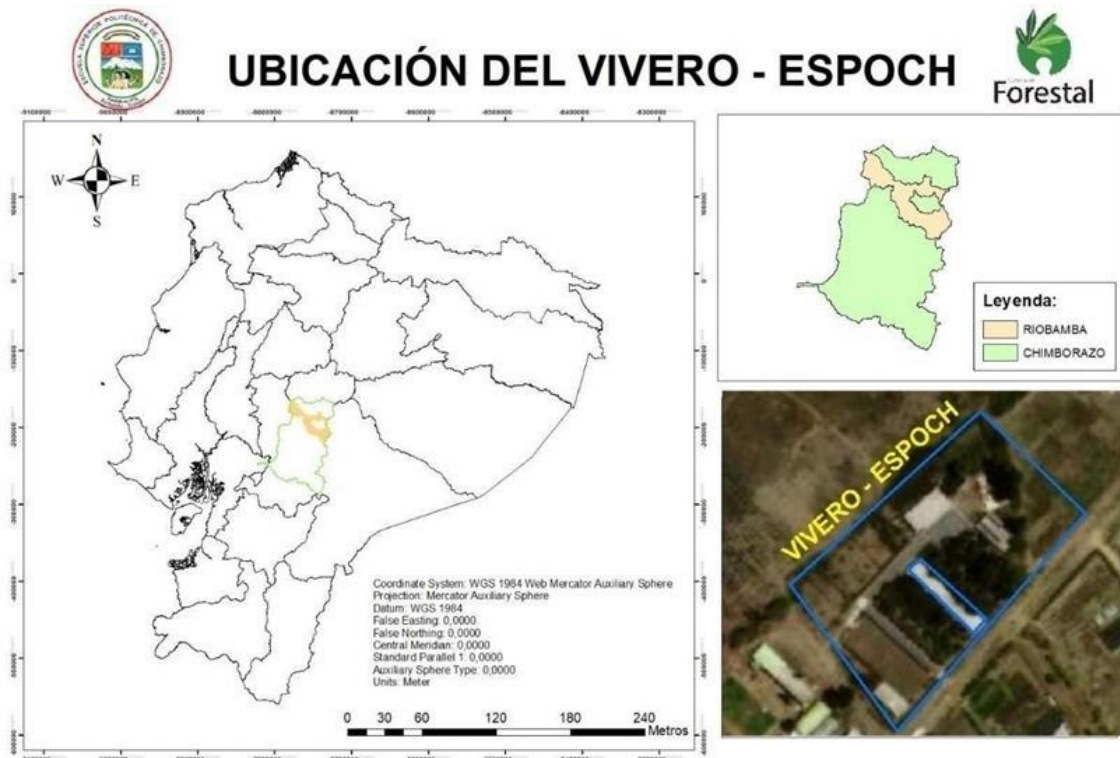


Figura 1-2. Ubicación de vivero de la ESPOCH

Fuente: Wallancañay, T. 2022

2.1.1.2. Ubicación geográfica

Altitud: 2622 msnm

Latitud: -1,65

Longitud: -78,65

2.1.1.3. *Características climatológicas.*

Temperatura media anual: 13,8 °C

Precipitación media anual: 571,8 mm

Humedad relativa: 48,80 % (Estación Meteorológica de la ESPOCH)

2.1.2. *Materiales y equipos*

2.1.2.1. *Materiales de laboratorio*

- Envases plásticos
- Cajas Petri
- Parafilm
- Papel aluminio
- Jeringas 10 mL
- Jeringas de insulina
- Pipetas
- Puntas de pipetas
- Probeta
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación
- Porta y cubre objetos
- Erlenmeyer
- Frascos de vidrio
- Cepillos
- Sorbetes y palillos

2.1.2.2. *Equipos de laboratorio*

- Autoclave (Biobase)
- Cámara de flujo laminar (Biobase)
- Microscopio óptico Amscope
- Incubadora (Biobase)
- Mechero de bunsen
- Cámara de Neubauer
- Adaptador de cámara fotográfica a microscopio

- Cámara (Canon)

2.1.2.3. Reactivos e insumos

- Papa dextrosa agar (PDA)
- Cloranfenicol
- Alcohol 70%
- Agua destilada

2.1.2.4. Material biológico

- Plantas de *P. patulay P. radiata*
- Aislados fúngicos de *Fusarium circinatum*
- Aislados de hongos endófitos de plantas nativas forestales

Tabla 1-2: Detalle de los aislados de *Trichoderma* y *Fusarium circinatum*

Código	Especie	Recolector	Fecha	Tipo de muestra	Método de aislamiento	Método de conservación
TH	<i>Trichoderma harzianum</i>	María Toaquiza	3/12/2019	Suelo	Dilución seriada	Castellani
TL	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	María Toaquiza	3/12/2019	Suelo	Dilución seriada	Castellani
P3b	<i>Trichoderma harzianum</i>	Juan Guerra	9/1/2019	Fracción radicular	Cámara húmeda	Castellani
MC8	<i>Trichoderma harzianum</i>	Juan Guerra	8/1/2019	Fracción radicular	Cámara húmeda	Castellani
MST03 1B	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Bexy Quintero	31/10/2019	Suelo	Dilución seriada	Castellani
MT11	<i>Trichoderma harzianum</i>	Juan Guerra	4/6/2020	Suelo	Dilución seriada	Castellani
MT04	<i>Trichoderma</i> sp	Juan Guerra	5/5/2020	Suelo	Dilución seriada	Castellani
G1	<i>Trichoderma</i> sp	Juan Guerra	21/8/2020	Suelo	Dilución seriada	Castellani
Cepa 2 <i>P. radiata</i>	<i>Fusarium circinatum</i>	Pablo Álvarez	2020	Raíz	Aislamiento indirecto	Castellani
Cepa 2 <i>P. patula</i>	<i>Fusarium circinatum</i>	Pablo Álvarez	2020	Raíz	Aislamiento indirecto	Castellani

Realizado por: Moreta. G.2022

2.1.2.5. *Materiales y equipos de oficina*

- Computadora
- Impresora
- Hojas
- Libreta
- Lápiz
- Borrador
- Marcadores
- Cinta masking
- Papel absorbente

2.2. *Metodología*

2.2.1. *Fase de laboratorio (Reactivación de cepas)*

Los hongos patógenos y antagonistas se encontraban conservados por el método de Castellani, para su reactivación se obtuvo un disco de micelio con un diámetro de 5 mm y mediante un palillo estéril se transfirió a una caja Petri con medio PDA. Posteriormente se incubaron a 24 ± 2 °C en condiciones de oscuridad durante 8 días los hongos de *Trichodermaspp.*

2.2.2. *Cultivo dual.*

Se utilizó la metodología de cultivo dual para las confrontaciones descrita por Montealegre et al. (2003) y Ramírez et al. (2006) con algunas modificaciones: al hongo patógeno se lo cultivó en PDA, una vez reactivados los hongos (patógenos y antagonistas) se procedió a colocar discos de micelio de 5mm de diámetro de los dos hongos en cada extremo a 1 cm del borde de la caja Petri, posteriormente se incubaron las cajas Petri a 24 ± 2 °C en condiciones de oscuridad. Se evaluó el crecimiento micelial de cada uno de los hongos midiendo el diámetro vertical y horizontal cada 24 h con un parquímetro digital.

2.2.3. *Preparación de inóculo para el experimento en vivero.*

Para esto se partió de un cultivo puro de los hongos antagonistas y patógenos, luego de una semana de crecimiento se procedió a la preparación del inóculo, en cada caja Petri se colocaron 10 mL de agua destilada estéril y luego con un cepillo dental o un palillo estéril se raspó la superficie del medio de cultivo para la liberación de las esporas. La suspensión obtenida se

colocó en un vaso de precipitación estéril, posteriormente el inóculo se ajustó a una concentración final de 1×10^6 propágulos por mL para *Trichoderma*.

2.2.4. Cálculo de volumen y concentración

La concentración inicial para el hongo antagonista se obtiene de la siguiente manera.

$$C_i = x * 2,5 \times 10^5$$

La concentración inicial para el hongo patógeno se obtiene de la siguiente fórmula.

$$C_i = x * 1,6 \times 10^6$$

Para calcular el volumen inicial del antagonista se utilizó la siguiente fórmula

$$V_i = (c_f * v_f) / c_i$$

Tabla 2-2: Concentración de los hongos patógenos.

Tratamiento	Desarrollo fórmula	Concentración inicial (Ci)
FC2R	$19,76 * 1,6 \times 10^5$	$50,6 \times 10^5$
FC2P	$21,45 * 1,6 \times 10^5$	$43,84 \times 10^6$

Realizado por: Moreta, G.2022

Tabla 3-2: Concentración inicial de hongos antagonistas.

Tratamientos	Desarrollo fórmula	Concentración inicial (Ci)
TH	$10,10 * 2,5 \times 10^6$	$49,65 \times 10^6$
TL	$22,18 * 2,5 \times 10^6$	$33,8 \times 10^6$
G1	$96,15 * 2,5 \times 10^6$	$7,8 \times 10^5$

Realizado por: Moreta, G.2022

Tabla 4-2: Concentración inicial de hongos antagonistas.

Tratamientos	Concentración inicial	Concentración final
TH	$49,65 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$
TL	$33,8 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$
G1	$7,8 \times 10^5$	$1,6 \times 10^6$

Realizado por: Moreta, G.2022

Tabla 5-2: Volumen inicial de hongos antagonistas y hongo patógeno

Tratamientos	Desarrollo formula	Volumen inicial (Vi)
TH	$\frac{1 \times 10^6 * 500}{49650000}$	10,10 mL
TL	$\frac{1 \times 10^6 * 750}{33800000}$	22,18 mL
G1	$\frac{1 \times 10^6 * 750}{7800000}$	96,15 mL
FC2R	$\frac{1 \times 10^6 * 100}{15200000}$	19,76 mL
FC2P	$\frac{1 \times 10^6 * 100}{11520000}$	21,45 mL

Realizado por: Moreta, G.2022

2.2.5. Fase de vivero

Se realizó la limpieza de las camas dentro del umbráculo del vivero de la facultad de Recursos Naturales, se recibieron 720 plantas de Aglomerados Cotopaxi

2.2.5.1. Especificación de campo experimental

Campo experimental *P. radiata*

- Numero de tratamientos: 7 tratamientos
- Numero de repeticiones: 3 repeticiones
- Número total de unidades experimentales: 21
- Número de plantas utilizadas en el estudio: 288

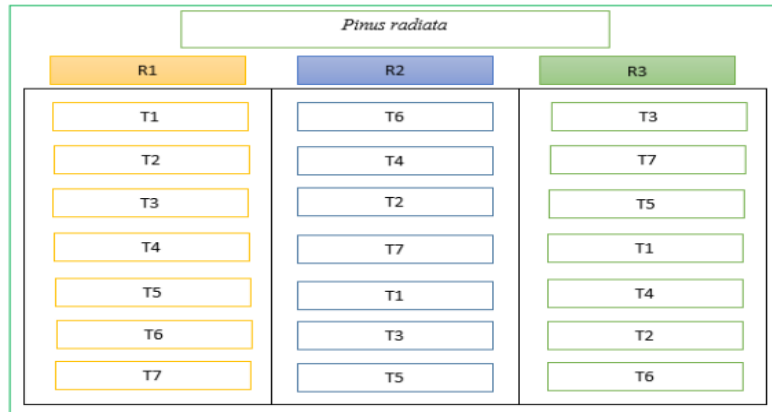


Figura 2-2. Distribución de los tratamientos en *Pinus radiata*

Realizado por: Moreta, G. 2022

Campo experimental *P. patula*

- Numero de tratamientos: 7 tratamientos
- Numero de repeticiones: 3 repeticiones
- Número total de unidades experimentales: 21
- Número de plantas utilizadas en el estudio: 288

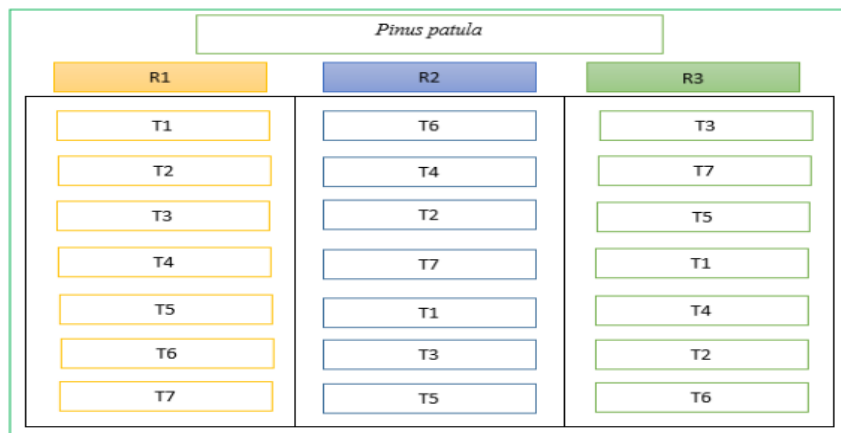


Figura 3-2. Distribución de los tratamientos en *Pinus patula*

Realizado por: Moreta, G. 2022

2.2.5.2. Descripción de los tratamientos de *P. radiata*

Tabla 6-2: Descripción de cada uno de los tratamientos aplicados en la especie de *Pinusradiata*

T1	TL	<i>Trichoderma longibrachiatum</i> + <i>Fusarium circinatum</i> cepa 2 de <i>Pinusradiata</i>
T2	TH	<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Fusarium circinatum</i> cepa 2 de <i>Pinus radiata</i>
T3	G1	<i>Trichoderma</i> sp+ <i>Fusarium circinatum</i> cepa 2 de <i>Pinu radiata</i>
T4	TL (+)	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>
T5	FC1R	<i>Fusarium circinatum</i>
T6	Control 1	Agua destilada
T7	Control 2	Sin tratamiento

Realizado por: Moreta, G.2022

2.2.5.3. Descripción de los tratamiento *P. patula*

Tabla 7-2: Descripción de cada uno de los tratamientos aplicados en la especie de *PinusPatula*

T1	TL	<i>Trichodermalongibrachiatum</i> + <i>Fusariumcircinatum</i> cepa 2 de <i>Pinuspatula</i>
T2	TH	<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Fusarium circinatum</i> cepa 2 de <i>Pinus patula</i>
T3	G1	<i>Trichoderma</i> sp + <i>Fusarium circinatum</i> cepa 2 de <i>Pinus patula</i>
T4	G1 (+)	<i>Trichoderma</i> sp
T5	FC1R	<i>Fusarium circinatum</i>
T6	Control 1	Agua destilada
T7	Control 2	Sin tratamientos

Realizado por: Moreta, G.2022

2.2.5.4. Riego

Los riegos se realizaron según las condiciones climáticas y los requerimientos de las plantas dos hasta tres veces en semanas muy calurosas,

2.2.5.5. Inoculación de los hongos antagonistas

Se inoculó un volumen de 5 mL de la suspensión de esporas de los distintos antagonistas directamente al sustrato de las plantas de pino (*P. radiata* y *P. patula*) con ayuda de una jeringa. Se realizaron dos inoculaciones la primera aplicación se realizó una semana antes de realizar la

inoculación de *F. circinatum* en las plantas de pino y la segunda aplicación una semana después de la inoculación del patógeno

2.2.5.6. Inoculación de plantas de Pino con *F. circinatum*

Plantas de *P. patula* y *P. radiata* fueron inoculadas mediante inyección en el tallo a una altura de 1 cm con un volumen de 0,05mL suspensión usando una jeringa de insulina estéril. En las plántulas de *P. patulala* cepa de *F. circinatum* usada correspondió a un aislado obtenido de plántulas de *P. patula*

2.2.6. Variables evaluadas

2.2.6.1. Altura de las plantas a los 15,30 y 45 días

La recolección de los datos de altura de las plantas de pino en el vivero (umbráculo) se comenzó quince días después de la inoculación de *F. circinatum*. Los datos de altura fueron recogidos de seis plantas de cada unidad experimental, cada 15 días con ayuda de una regla.

2.2.6.2. Incidencia de *F. circinatum* en vivero.

La cuantificación de la incidencia de *Fusarium* en las plantas de *P. patula* y *P. radiata* se determinó cada 15 días y la incidencia fue calculada mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ incidencia} = \frac{\# \text{ de plantas con síntomas de } F.\text{circinatum}}{\# \text{ de plantas totales / tratamiento}} \times 100$$

2.2.6.3. Peso seco y fresco de las plantas

De cada unidad experimental fueron escogidas tres plantas las cuales fueron llevadas a laboratorio y para la obtención del peso fresco fueron colocadas en una balanza digital marca RADWAG. Para obtener el peso seco las mismas plantas se colocaron por 48 h en una estufa (J.P.Selecta) a 50 °C. luego se pesaron las plantas.

2.2.6.4. Tamaño de la raíz

Se escogió tres plantas de cada unidad experimental se retiró el sustrato y se llevaron a laboratorio para medir el tamaño de la raíz con una regla.

2.2.6.5. Peso seco de la raíz

Para el peso seco de las raíces se separó la parte superior (foliar) de las raíces de las plantas puestas en la estufa anteriormente y se pesó solamente las raíces.

2.2.6.6. Peso seco del tallo

Para el peso seco del tallo se separó la parte superior (foliar) del tallo de las plantas puestas en la estufa anteriormente y se pesó solamente los tallos.

2.2.6.7. Aislamiento del hongo patógeno inoculado

Para el aislamiento del patógeno primero se separó la raíz del tallo con una tijera previamente desinfectada, luego se lavó la raíz con abundante agua, en un recipiente con hipoclorito de sodio se colocaron por un minuto las raíces, posteriormente se pasaron en agua destilada por un minuto. Una vez desinfectadas las raíces se llevaron a la cámara de flujo laminar para colocar las raíces en cajas Petri con medio PDA estéril, finalmente se incubaron a 25 ± 2 °C, durante siete días. Las colonias recuperadas fueron purificadas posteriormente mediante repicados sucesivos.

CAPITULO III

3. MARCO DE RESULTADO Y DISCUSIÓN

3.1 ANTAGONISMO *IN VITRO* DE *Trichoderma* spp. FRENTE A *Fusarium* sp.

3.1.1. Crecimiento micelial de las confrontaciones o enfrentamientos entre patógeno y antagonistas

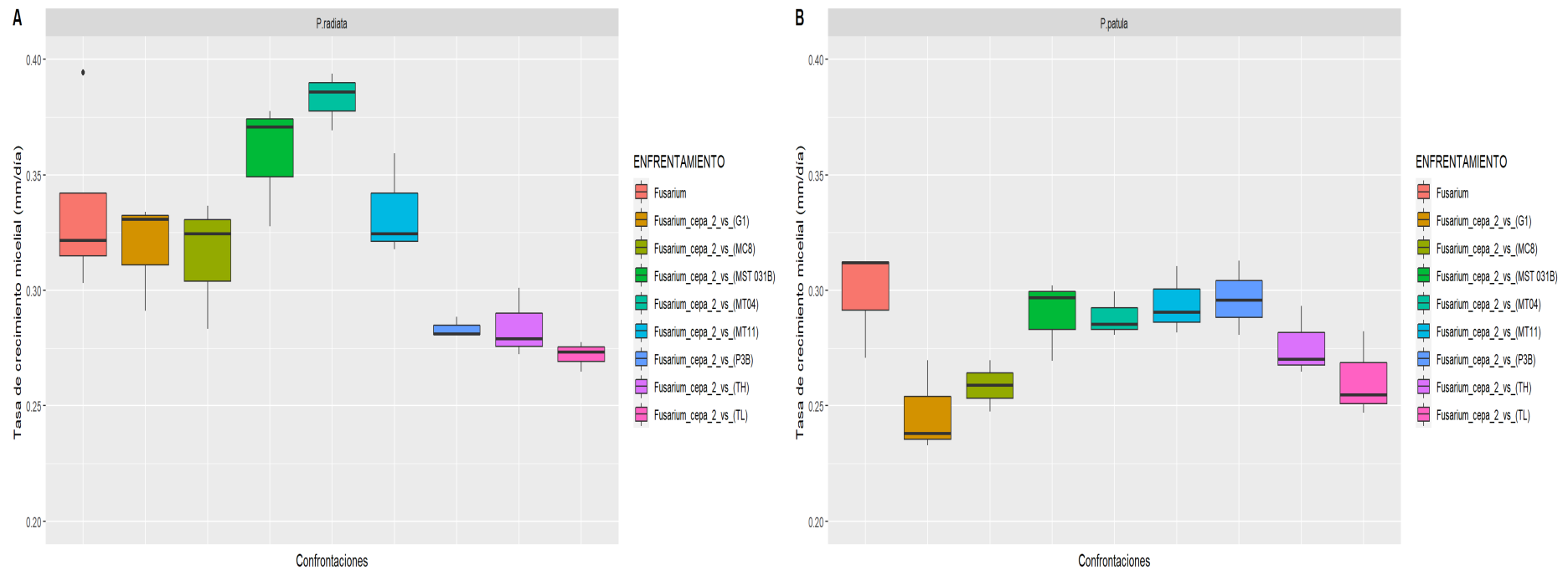


Gráfico1-3.Diagrama de caja y bigote (boxplot) del crecimiento micelial de los enfrentamientos entre patógeno y antagonistas. **A** *P. radiata* y **B** *P. patula*.

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza de la tasa del crecimiento micelial en *P. radiata* mostró que existió efecto entre los tratamientos (Anexo P). La prueba de Tukey al 5% mostro cinco grupos comprendidos por nueve tratamientos (Tabla 8-3). Se observó que las cepas de tratamientos con mayor tasa de crecimiento micelial en *P. radiata* fue *Fusarium_cep_2_vs_(MT04)* con un promedio de 0,35 mm/día y la de menor tasa de crecimiento micelial fue el tratamiento *Fusarium_cep_2_vs_(TL)* con un promedio de 0,27 mm/día(Grafico 1-3 A).

Tabla 8-3: Prueba de Tukey al 5% de la tasa de crecimiento micelial en *P. radiata*.

Tratamientos	Media	Grupos
<i>Fusarium_cep_2_vs_(MT04)</i>	0,35	A
<i>Fusarium_cep_2_vs_(MST 031B)</i>	0,35	Ab
<i>Fusarium_circinatum</i>	0,33	Ab
<i>Fusarium_cep_2_vs_(MT11)</i>	0,31	abc
<i>Fusarium_cep_2_vs_(G1)</i>	0,31	abc
<i>Fusarium_cep_2_vs_(MC8)</i>	0,28	abc
<i>Fusarium_cep_2_vs_(TH)</i>	0,28	Bc
<i>Fusarium_cep_2_vs_(P3B)</i>	0,28	Bc
<i>Fusarium_cep_2_vs_(TL)</i>	0,27	B

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza de la tasa del crecimiento micelial en *P. patula* mostró que no existió efecto de los tratamientos (anexo Q). La prueba de Tukey al 5% mostro un solo grupo comprendidos por seis tratamientos (Tabla 9-3). Se observó que las cepas del tratamiento con mayor tasa de crecimiento micelial en *P. patula* fue *Fusarium_cep_2_vs_(P3B)* con un promedio de 0,296 mm/día y en la de menor tasa de crecimiento micelial fue el tratamiento *F. circinatum* con un promedio de 0,246mm/día (Gráfico 1-3 B).

Tabla 9-3: Prueba de Tukey al 5% de la tasa de crecimiento en *P. patula*.

Tratamientos	Media	Grupos
<i>Fusarium_cep_2_vs_(P3B)</i>	0,296	a
<i>Fusarium_cep_2_vs_(MT11)</i>	0,294	a
<i>Fusarium_cep_2_vs_(MT04)</i>	0,289	a
<i>Fusarium_cep_2_vs_(TH)</i>	0,288	a
<i>Fusarium_cep_2_vs_(TL)</i>	0,276	a
<i>Fusarium_cep_2_vs_(MC8)</i>	0,261	a
<i>Fusarium_cep_2_vs_(G1)</i>	0,258	a
<i>Fusarium_circinatum</i>	0,246	a

Realizado por: Moreta, G. 2022

3.2. Alturas a los 15, 30, 45 días.

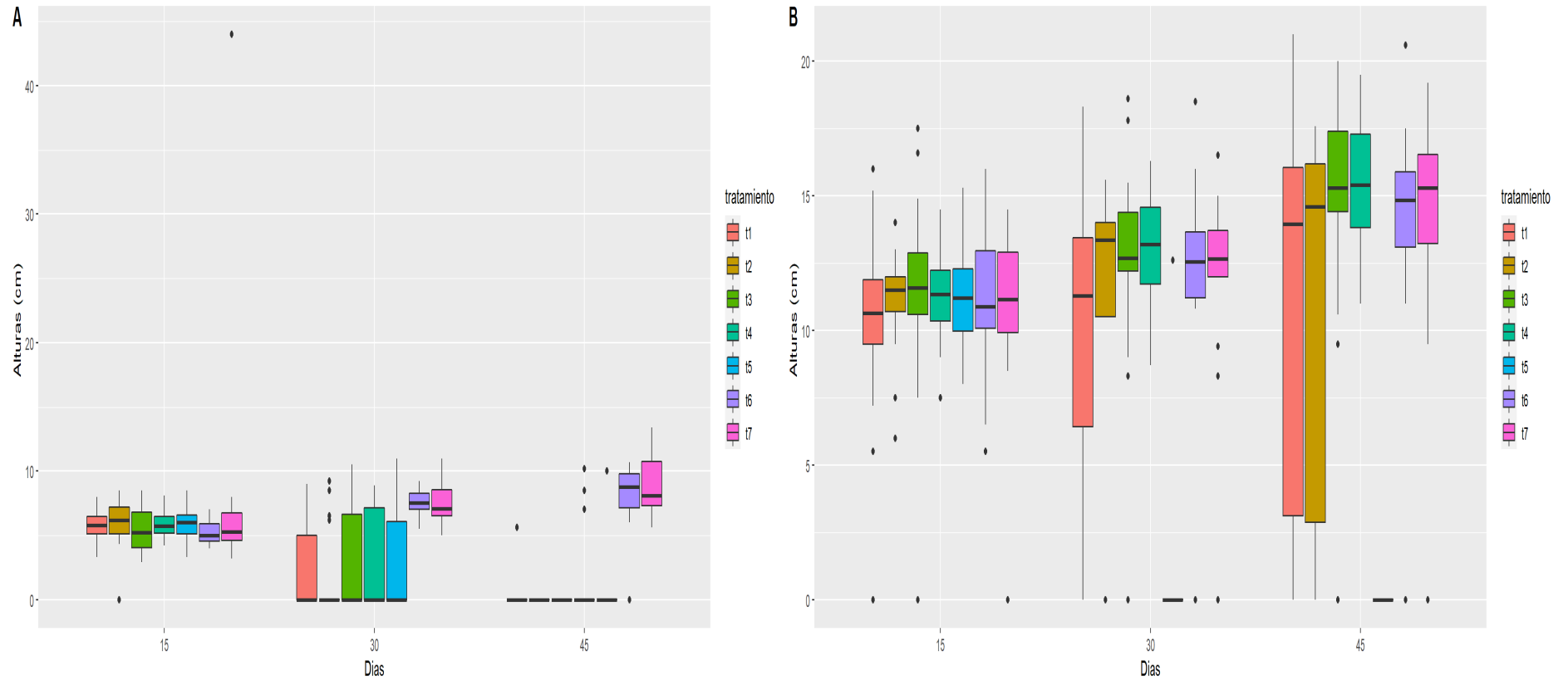


Gráfico 2-3. Diagrama de caja y bigote (boxplot) de la altura a los 15, 30, 45 días de plántulas de *AP. patulay B P. radiata*

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza de la altura en *P. patula* (Anexo R) mostró que hubo efecto en los tratamientos. La prueba de Tukey al 5% mostró seis grupos comprendido por ocho tratamientos (Tabla 10-3). Se pudo observar que en *P. patula*, el tratamiento con mayor altura a los quince días fue el T7 con un promedio de 7,6 cm y el de menor altura fue T4 con un promedio de 5,2, a los 30 días el mejor tratamiento fue T7 con promedio de 7,42 cm y el menor tratamiento fue el de T2 con un promedio de 1,68 cm, a los 45 días el mejor tratamiento fue el T7 con un promedio de 8,78cm (Grafico 2-3 A).

Tabla 10-3: Prueba Tukey al 5% para la altura de *Pinus patula* inoculados con *Fusarium* sp y *Thichoderma* spp.

Tratamientos	Media	Grupos
t7:45	8,78	a
t6:45	8,1	a
t7:15	7,6	a
t7:30	7,42	a
t2:15	7,41	a
t5:15	5,99	ab
t4:15	5,92	ab
t1:15	5,76	ab
t3:15	5,68	abc
t6:15	5,39	abc
t4:30	5,22	abc
t4:30	2,93	bcd
t3:30	2,62	bcd
t5:30	2,56	bcd
t1:30	2,17	bcd
t2:30	1,68	bcd
t4:45	1,42	cd
t5:45	0,55	d
t1:45	0,31	d
t2:45	0	d
t3:45	0	d

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza de la altura en *P. radiata* (Anexo S) mostró que hubo efecto en los tratamientos y la interacción tratamiento: tiempo. La prueba de Tukey al 5% mostró dos grupos comprendidos por ocho tratamientos (Tabla 11-3). Se pudo observar que en *P. radiata*, el tratamiento con mayor altura a los quince días fue el T5 con un promedio de 11,5 cm y el de menor altura fue T1 con un promedio de 10,22 cm a los 30 días el mejor tratamiento fue T4 con promedio 13,2 cm y el menor tratamiento fue el de T5 con un promedio de 0,7 cm, a los 45 días el mejor tratamiento fue el T4 con un promedio de 15,56 (Grafico2-3 B).

Tabla 11-3: Prueba Tukey al 5% para la altura de *P. radiata* inoculados con *Fusarium* sp y *Thichoderma* spp

Tratamientos	Media	Grupos
T4:45	15,56	a
T3:45	14,63	a
T7:45	13,61	a
T6:45	13,57	a
T4:30	13,2	a
T3:30	12,51	a
T5:15	11,5	a
T7:30	11,39	a
T3:15	11,38	a
T4:15	11,23	a
T6:30	11,21	a
T1:45	11,19	a
T2:15	11,13	a
T2:45	11,06	a
T6:45	10,95	a
T2:30	10,4	a
T7:15	10,35	a
T1:15	10,22	a
T1:30	9,68	a
T5:30	0,7	b
T5:45	0	b

Realizado por: Moreta, G. 2022

3.3. Longitud de raíces

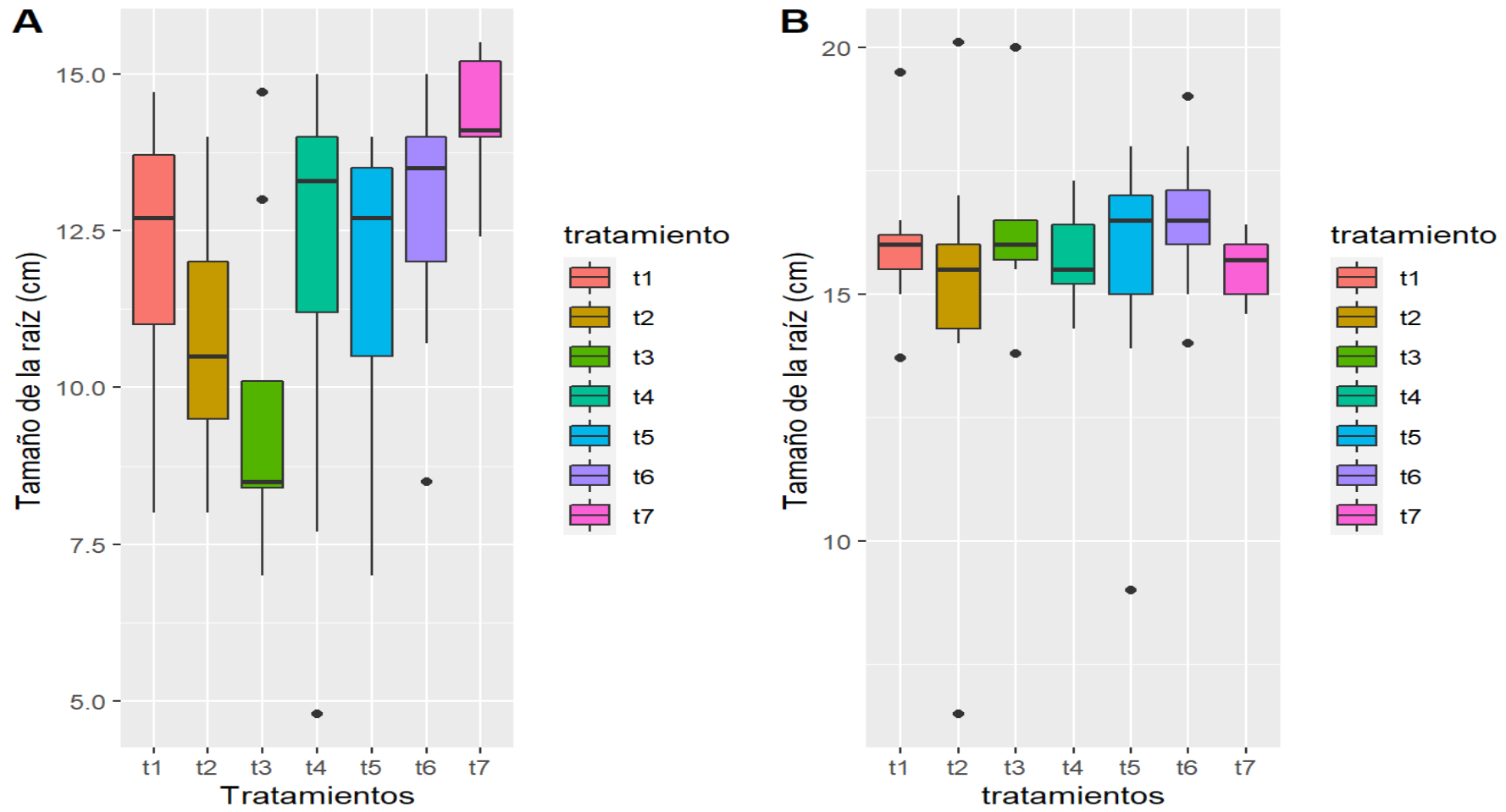


Gráfico3-3. Diagrama de caja y bigote (boxplot) del tamaño de la raíz en y *A P. patula*. **B** *P. radiata*

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza del tamaño de la raíz en *P. patula*(Anexo T) indicó que hubo efecto en los tratamientos. La prueba de Tukey al 5% mostró tres grupos comprendidos de siete tratamientos. (Tabla 12-3). Se observó que el tratamiento con mayor tamaño de la raíz fue T7 con un promedio de 14,3 cm y el promedio menor fue del tratamiento T3 con un promedio de 9,50 cm (Grafico 3-3 A)

Tabla 12-3: Prueba Tuckey al 5% de las longitudes de las raíces de *P. patula*.

Tratamientos	Media	Grupos
T7	14,3	a
T6	12,76	ab
T1	12,17	ab
T4	11,76	ab
T5	11,72	ab
T2	10,63	b
T3	9,58	b

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza del tamaño de la raíz en *P. radiata*(Anexo U) indicó que no hubo efecto en los tratamientos. La prueba de Tukey al 5% mostró un solo grupo comprendido de siete tratamientos. (Tabla 13-3). Se observó que el tratamiento con mayor tamaño de la raíz fue T6 con un promedio de 16,51 cm y el promedio menor fue del tratamiento T2 con un promedio de 14,9 cm (Grafico 3-3 B)

Tabla 13-3: Prueba Tukey al 5% de las longitudes de las raíces de *P. radiata*.

Tratamientos	Media	Grupos
T6	16,51	a
T3	16,25	a
T1	16,02	a
T4	15,72	a
T7	15,51	a
T5	15,46	a
T2	14,9	a

Realizado por: Moreta, G. 2022

3.4. Peso fresco de las plantas.

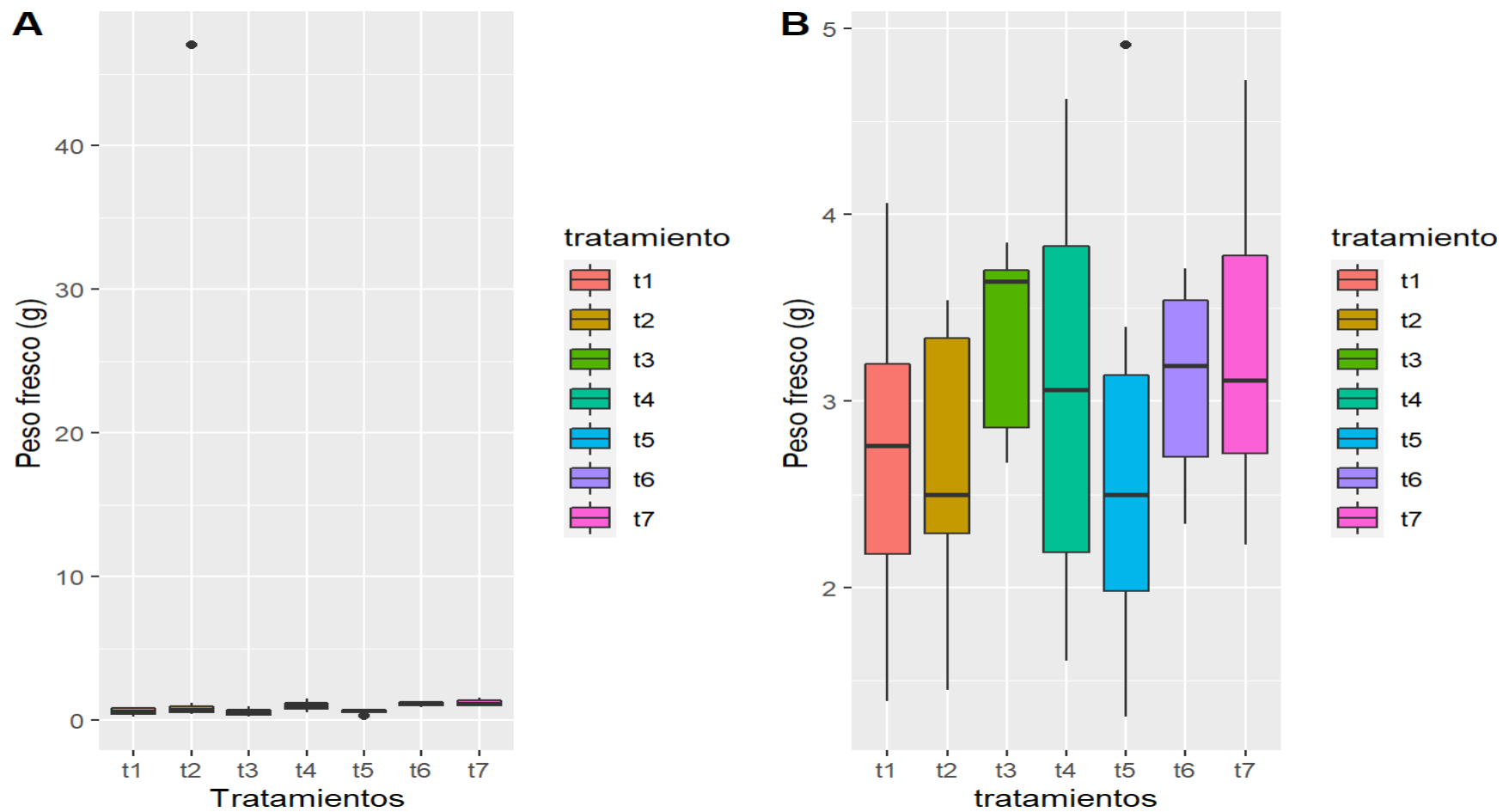


Gráfico4-3. Diagrama de caja y bigote (boxplot) de los valores obtenidos del peso fresco de cada tratamiento. **A** *P. patula* y **B** *P. radiata*.

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza del peso fresco de las plantas en *P. patula* (Anexo V) indicó que no hubo efecto en los tratamientos. La prueba de Tukey al 5% mostró un solo grupo comprendido de siete tratamientos. (Tabla 14-3). Se observó que el tratamiento con mayor promedio de peso fresco fue T2 con un promedio de 5,87 g y el promedio menor fue del tratamiento T3 con un promedio de 0,56 (Grafico 4-3 A).

Tabla 14-3: Prueba Tukey al 5% del peso fresco de las plantas *P. patula*

Tratamientos	Media	Grupos
T2	5,87	a
T7	1,22	a
T6	1,17	a
T4	1	a
T5	0,63	a
T1	0,61	a
T3	0,56	a

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza del peso fresco de las plantas en *P. radiata* (Anexo W) indicó que no hubo efecto en los tratamientos. La prueba de Tukey al 5% mostró un solo grupo comprendido de siete tratamientos. (Tabla 15-3). Se observó que el tratamiento con mayor promedio de peso fresco fue T3 con un promedio de 3,35 g y el promedio menor fue del tratamiento T2 con un promedio de 2,61 g (Grafico 4-3 B).

Tabla 15-3. Prueba Tukey al 5% del peso fresco de las plantas *P. radiata*

Tratamientos	Media	Grupos
T3	3,35	a
T7	3,2	a
T6	3,06	a
T4	3,02	a
T5	2,7	a
T1	2,69	a
T2	2,61	a

Realizado por: Moreta, G. 2022

3.5. Peso seco de la raíz.

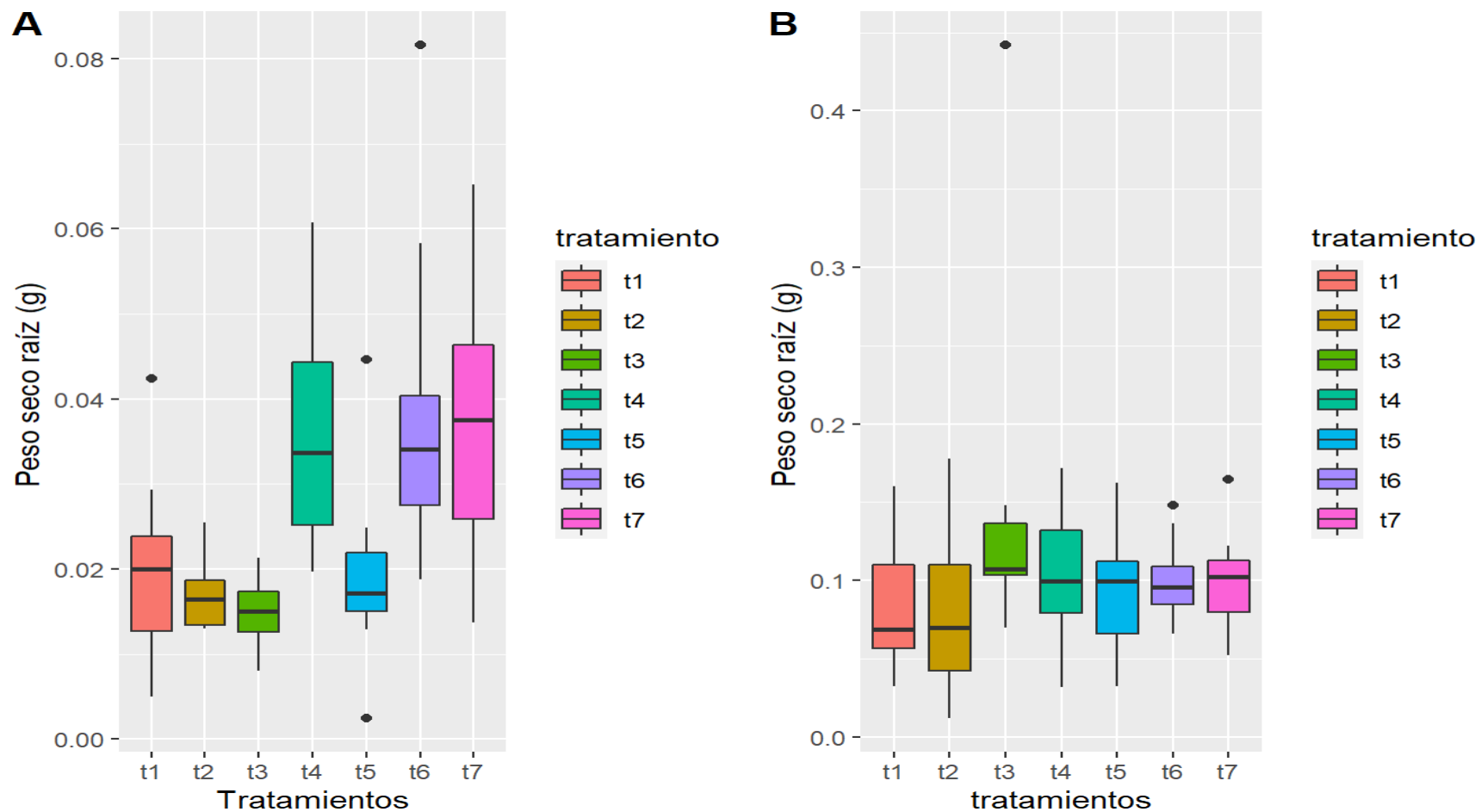


Gráfico5-3. Diagrama de caja y bigote (boxplot) del peso seco de la raíz después de 48 horas, *AP. Patula* y *B P. radiata*.

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza del peso seco de la raíz en *P. patula* (Anexo X) indicó que no hubo efecto de los tratamientos. La prueba de Tukey al 5% mostró un solo grupo comprendido de siete tratamientos. (Tabla 16-3). Se observó que el tratamiento con mayor promedio de peso seco de la raíz fue T7 con un promedio de 0,03 g y el promedio menor fue del tratamiento T3 con un promedio de 0,01 g (Gráfico 5-3 A).

Tabla 16-3: Prueba Tukey al 5% del peso seco de raíz de *P. patula*

Tratamientos	Media	Grupos
T7	0,03	a
T6	0,03	a
T4	0,03	a
T1	0,01	a
T5	0,01	a
T2	0,01	a
T3	0,01	a

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza del peso seco de la raíz en *P. radiata* (Anexo Y) indicó que hubo efecto en los tratamientos. La prueba de Tukey al 5% mostró tres grupos comprendido de siete tratamientos. (Tabla 17-3). Se observó que el tratamiento con mayor promedio de peso seco de la raíz fue T3 con un promedio de 0,014 g y el promedio menor fue del tratamiento T2 con un promedio de 0,07 g (Gráfico 5-3 B).

Tabla 17-3: Prueba Tukey al 5% del peso seco de raíz de *P. radiata*.

Tratamientos	Media	Grupos
T3	0,14	a
T4	0,1	ab
T7	0,1	ab
T6	0,09	ab
T5	0,08	ab
T1	0,08	ab
T2	0,07	b

Realizado por: Moreta, G. 2022

3.6. Peso seco tallo.

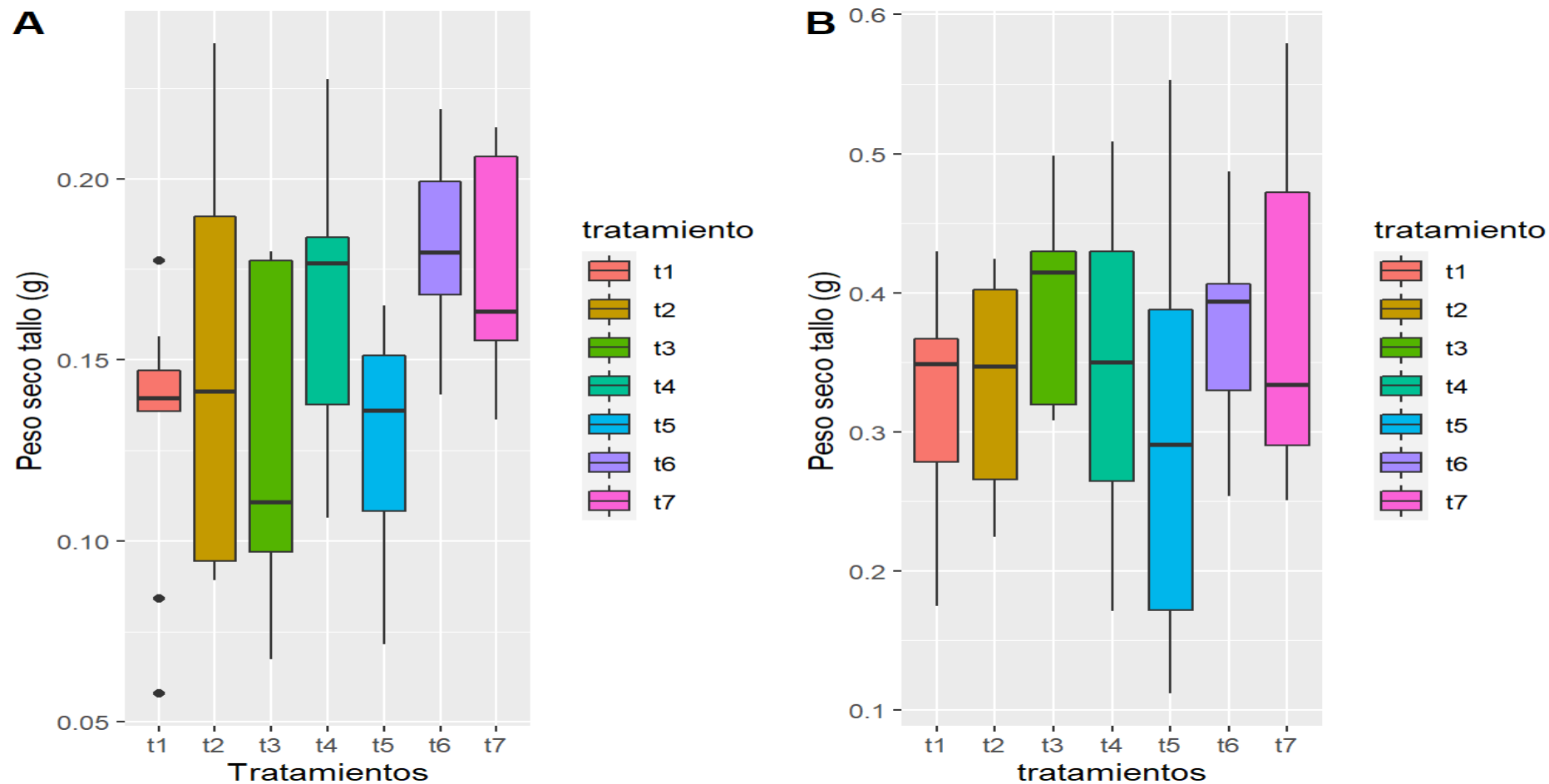


Gráfico6-3. Diagrama de caja y bigote (boxplot) del peso seco del tallo en *AP. patula* y *B P. radiata*

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza del peso seco del tallo en *P. patula* (Anexo Z) indicó que no hubo efecto en los tratamientos. La prueba de Tukey al 5% mostró un solo grupo comprendido de siete tratamientos. (Tabla 18-3). Se observó que el tratamiento con mayor promedio de peso seco del tallo fue T6 con un promedio de 0,18 g y el promedio menor fue del tratamiento T3 con un promedio de 0,12 g (Grafico 6-3 A).

Tabla 18-3: Prueba Tukey al 5% del peso seco del tallo de *P. patula*

Tratamientos	Media	Grupos
T6	0,18	a
T7	0,17	a
T4	0,16	a
T2	0,14	a
T1	0,13	a
T5	0,12	a
T3	0,12	a

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza del peso seco del tallo en *P. radiata* (Anexo AA) indicó que no hubo efecto en los tratamientos. La prueba de Tukey al 5% mostró un solo grupo comprendido de siete tratamientos. (Tabla 19-3). Se observó que el tratamiento con mayor promedio de peso seco del tallo fue T3 con un promedio de 0,39 g y el promedio menor fue del tratamiento T5 con un promedio de 0,29 g (Grafico 6-3 B).

Tabla 19-3: Prueba Tukey al 5% del peso seco del tallo de *P. radiata*.

Tratamientos	Media	Grupos
T3	0,39	a
T6	0,37	a
T7	0,37	a
T4	0,35	a
T2	0,33	a
T1	0,31	a
T5	0,29	a

Realizado por: Moreta, G. 2022

3.7. Porcentaje de Incidencia.

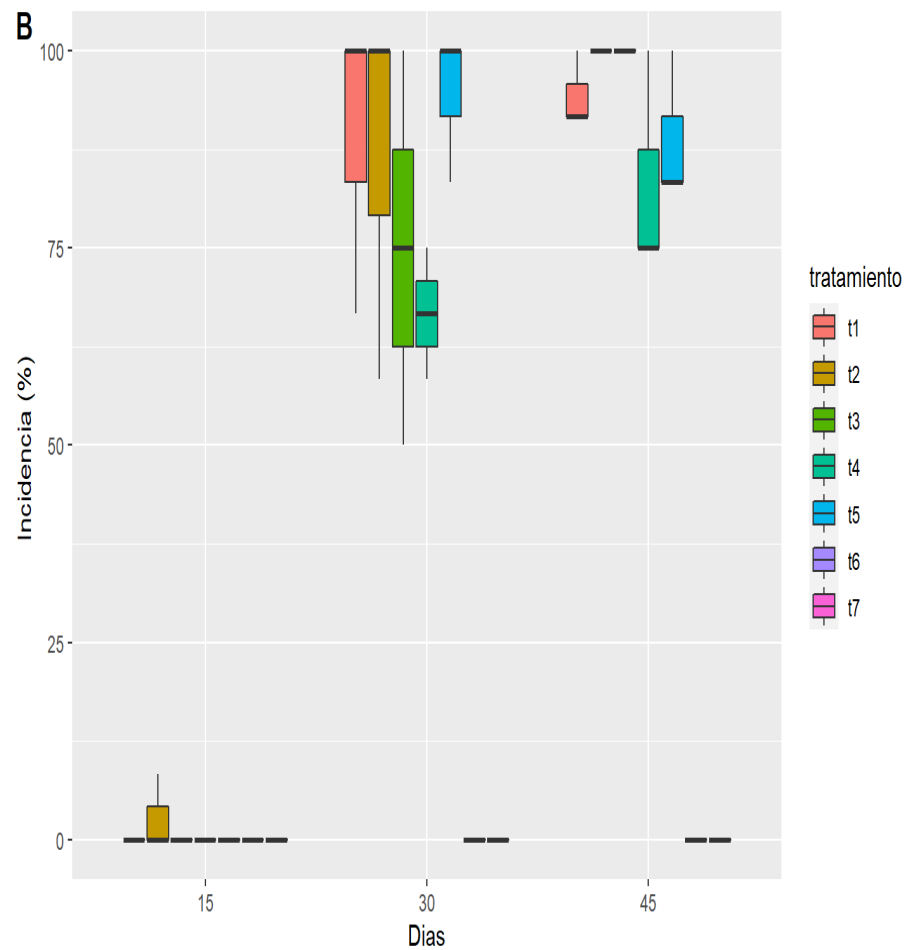
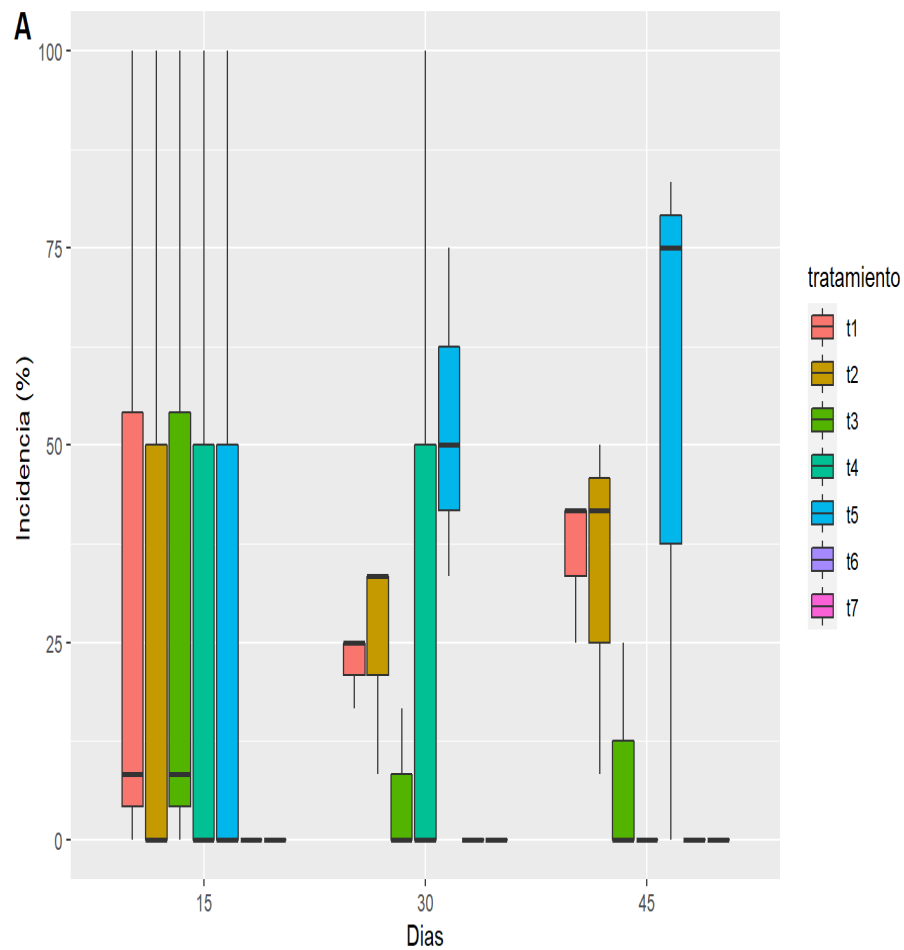


Gráfico7-3. Incidencia a los 45 días de inoculación

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza del porcentaje de incidencia de *Fusariumen P. patula*(Anexo AB) indicó que no hubo efecto de los tratamientos. La prueba de Tukey al 5% mostró un solo grupo comprendido de siete tratamientos. (Tabla 20-3). Se observó que el tratamiento con mayor porcentaje de incidencia a los quince días T1 con 36,1%el menor porcentaje de incidencia fue del tratamiento T7 con0%. A los treinta y cuarenta y cinco días el mayor porcentaje de incidencia fue del tratamiento T5 con 52,7% y el menor porcentaje fue del tratamiento T7 con 0% de incidencia (Grafico 7-3 A).

Tabla 20-3: Prueba Tukey al 5 % del porcentaje de incidencia en *P. patula*

Tratamientos	Media	Grupos
t5:30	52,7	a
t5:45	52,7	a
t1:15	36,1	a
t1:45	36,1	a
t3:15	36,1	a
t2:15	33,3	a
t2:45	33,3	a
t4:15	33,3	a
t4:30	33,3	a
t5:15	33,3	a
t2:30	25	a
t1:30	22,2	a
t3:45	8,3	a
t3:30	5,5	a
t4:45	0	a
t6:15	0	a
t6:30	0	a
t6:45	0	a
t7:15	0	a
t7:30	0	a
t7:45	0	a

Realizado por: Moreta, G. 2022

El análisis de varianza del porcentaje de incidencia de *Fusariumen P. radiata*(Anexo AC) indicó que hubo efecto de los tratamientos. La prueba de Tukey al 5% mostró dos grupos comprendido de siete tratamientos. (Tabla 21-3). Se observó que el tratamiento con mayor porcentaje de incidencia a los quince días T2 con 2,7% el menor porcentaje de incidencia fue del tratamiento T7 con0%. A los treinta y cuarenta y cinco días el mayor porcentaje de incidencia fue del tratamiento T5 y T1 con 94,4% y el menor porcentaje fue del tratamiento T7 con 0% de incidencia (Grafico 7-3 B).

Tabla 21-3: Prueba de Tukey al 5 % del porcentaje de incidencia en *P. radiata*.

Tratamientos	Media	Grupos
t2:45	100	a
t3:45	100	a
t1:45	94,4	a
t5:30	94,4	a
t5:45	88,8	a
t1:30	88,8	a
t2:30	8,1	a
t4:45	83,3	a
t3:30	75	a
t4:30	66,6	a
t2:15	2,7	b
t1:15	0	b
t3:15	0	b
t4:15	0	b
t5:15	0	b
t6:15	0	b
t6:30	0	b
t6:45	0	b
t7:15	0	b
t7:30	0	b
t7:45	0	b

Realizado por: Moreta, G. 2022

En *Pinus radiata* se observó que el porcentaje de incidencia a los 15 días en el T2 fue de 2,77% a los 30 días la curva empezó a tener un comportamiento ascendente el tratamiento con mayor incidencia fue T5 con 94,44%, y la menor incidencia de T7 con 0% a los 45 días los tratamientos T2 y T3 tuvieron una incidencia del 100%.

En *Pinus patula* el porcentaje de incidencia a los 15 días se colocó en T1 con 36,11% como el porcentaje mayor y T7 con 0% con el menor porcentaje, a los 30 días la curva de los tratamientos T1 con 25%, T2 con 22% y T3 con 5,55% descendió para volver a subir a los 45 días T1 con 36,11%, T2 con 33% y el tratamiento con mayor incidencia fue T5 con 52,77%.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para Carsolio, et al (1999, p.167) las investigaciones ejecutadas a lo largo de los años con un porcentaje enorme de cepas de *Trichoderma* y de especies de hongos patógenos han justificado que estas son eficaces sólo contra patógenos determinados. El entendimiento de esta especificación llevó a la idea de que el reconocimiento molecular entre *Trichoderma* y el hospedante es el suceso esencial que precede al desarrollo antagónico. Esto es un mecanismo que se debe tener en cuenta para la inducción práctica de este hongo, y para la averiguación de desconocidos aislamientos más adecuados y eficaces como un desarrollo continuo.

Moraga-Suazo et al. (2011, p.156) realizaron un estudio en el que encontraron efectos antagónicos al crecimiento de *Fusarium circinatum* con cepas de *Trichoderma* sp. *Trichoderma* spp. mostró un antagonismo por competencia sobre el medio de cultivo en placa. De igual manera se pudo observar en los tratamientos TH, TL, G1 donde el crecimiento de *Trichoderma* fue más rápido logrando detener el crecimiento del hongo patógeno, Además, se observó que varias cepas de este género esporulaban abundantemente cuando crecían sobre el patógeno. En el ensayo se logró determinar la competencia por espacio y nutrientes, en la que se observó, la tasa de crecimiento micelial de hongo patógeno en plantas de *Pinus patula* con menor crecimiento fue *Fusarium_cepa_2_vs_(G1)* con un promedio de 0,24 mm/día.

Cueva et al (2006, p.23) demostró que la inoculación con *Trichoderma* spp. aumentó los rendimientos y calidad en cultivos, con este postulado podemos demostrar que, hubo control de *Fusarium* ya que las plantas inoculadas con este patógeno no murieron, sino que presentaron una recuperación luego de los 30 días de inoculadas.

Al determinar el peso fresco de las plantas se pudo notar que los tratamientos con mayor peso fueron *Trichoderma*G1 (T3), con un promedio de 3,35 g y el tratamiento de control 2 sin tratamiento (T7), con un promedio del 3,20 g respectivamente, demostrando que el patógeno no intervino en el proceso de crecimiento de la planta.

Según Solano y Brenes (2012, p.67) en su estudio de evaluación de sustratos, observaron clorosis del follaje o marchitez del ápice del tallo; estos también son síntomas de la pudrición del sistema radicular, algo parecido se pudo observar en las plantas que fueron inoculados con *Fusarium* sp., ya que presentaron una coloración negruzca en sus raíces a pesar de ser inoculadas en el tallo.

Según Sharman, (2011, p.87), un criterio importante es la acción rápida del antagonista en superar la inhibición del patógeno, esto se pudo determinar en los resultados al momento de medir la

longitud de la raíz ya que no se observaron las coloraciones negruzcas en *Trichoderma* G1 (T3), inoculado con *Fusarium* sp, con crecimiento del 3,35cm y en tratamiento del género Control 2 Sin tratamiento (T7), con un crecimiento del 3,20 cm respectivamente, en las plantas de *Pinus Patula*.

Según Pérez, et al, 2004, la enfermedad de *Fusarium* afecta con más virulencia a la especie *Pinus radiata* que es la conífera más aprovechada por su rentabilidad en todo el mundo, pero en este ensayo se determinó como la que más resistió mejor al patógeno siendo *Pinus patula* la más afectada.

CONCLUSIONES

- En *Fusarium* obtenido de *P. patula* la menor tasa de crecimiento micelial fue la confrontación de *F. circinatum_vs_Trichoderma* sp P3b con una tasa de crecimiento de 0,29 mm/día y para *Fusarium* obtenido de *P. radiata* el enfrentamiento que presentó menor tasa de crecimiento micelial fue *F. circinatum_vs_Trichoderma* sp MT04 con una tasa de crecimiento de 0,35 mm/día.
- Al ser seleccionadas e inoculadas las cepas de *Trichoderma* sp. (TH, TL, G1), a nivel de campo como resultado se obtuvo que las plantas de *Pinus radiata* que alcanzaron mayores valores de incidencia de *Fusarium* a los 45 días fueron T3 (100%), T2 (100%), T1 (94,4%). Por otro lado las plantas de *Pinus radiata* que alcanzaron el menor porcentaje de incidencia fueron T7, T4, con un porcentaje de 0%.
- Al ser seleccionadas e inoculadas las cepas de *Trichoderma* sp. (TL, G1), a nivel de campo como resultado se obtuvo que las plantas de *Pinus patula* que alcanzaron mayores valores de incidencia de *Fusarium* a los 45 días fueron T5 (52,7%), T1 (36,1%), T2(33,3%). Por otro lado las plantas de *Pinus patula* que alcanzaron el menor porcentaje de incidencia fueron T7, T6, T4, con un porcentaje de 0%.
- Ninguno de los aislados de *Trichoderma* sp. tuvieron una eficacia a nivel de campo del 100% frente a los aislados de *Fusarium* sp. inoculados.
- La especie de pino más susceptible al *Fusarium* sp. inoculado fue *Pinus patula*, con una incidencia final del 100%.

RECOMENDACIONES

- Realizar los ensayos *in vivo* de antagonistas y *Fusarium* en pino con un tiempo de evaluación mayor, ya que en algunos tratamientos en donde se aplicaron los antagonistas, se notó una recuperación gradual de las plantas afectadas.
- Evaluar el efecto de *Trichoderma* spp. utilizados en esta investigación con otros patógenos de especies forestales y de otras especies agrícolas.

GLOSARIO

Hongos patógenos: Los hongos patógenos son organismos que provocan enfermedades a su hospedero, que puede ser animal o vegetal, y pueden ocasionarle una muerte prematura. (Sánchez, 2015, p.3)

Control biológico: hace referencia al uso de diferentes organismos (o los compuestos o extractos obtenidos de ellos) que solos o en combinación son capaces de disminuir los efectos deletéreos que causa una población patógena sobre el crecimiento y/o productividad de un cultivo (Pal & Gardener, 2006, p.5).

Microorganismos antagonistas: Los microorganismos antagonistas (bacterias, levaduras y hongos) tienen la capacidad de ejercer un efecto de control biológico sobre diferentes patógenos de interés y se han empleado para controlar diversas enfermedades en frutos y vegetales (Hernández-Lauzardo, 2007, p.1)

Micelio: es el que define el aspecto y morfología de la colonia: puede ser algodonoso, plumoso, lanudo, vellosos, sedoso, brillante, mate, arrugado, plegado, plano, acuminado, extendido, desparramado, circunscrito, membranoso, coleriforme, pigmentado o no, etcétera. (Sánchez, 2017, p.2)

Esterilización: es el proceso mediante el cual se alcanza la muerte de todas las formas de vida microbianas, incluyendo bacterias y sus formas esporuladas altamente resistentes, hongos y sus esporos, y virus (Vignoli, S/F, p.1)

Clamidoesporas: son esporas muy resistentes. Se producen en respuesta a condiciones adversas para la supervivencia del hongo. (Ganash, 2018, p.3)

Sideróforos: son moléculas de bajo peso molecular de 0.5 a 1.0 kDa, solubles en soluciones acuosas a pH neutro (Dybas et al., 1995) que son sintetizados por bacterias, principalmente Gram negativas, hongos, levaduras y algunas plantas (fitosideróforos). (Hernández-Lauzardo, 2007, p.1)

BIBLIOGRAFIA

AEGERTER, B. & WOOD, D. L. Pitch Canker. A Technical Review. University of California. *Agriculture and Natural Resources*, 2003. P. 13.

B, M. Antagonismo de cepas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos de la caña de azúcar, tomate y tabaco. *Cultivos Tropicales*(994, p 54.

BASAK, A. C., & BASAK, S. R. Biological control of *Fusarium solanisp. dalbergiae*, the wilt pathogen of *dalbergia sissoo*, by *Trichoderma viride* and *T. harzianum*. *Journal of Tropical Forest Science*, 23(4), 2011. Pp. 460–466.

BASSO, C. *Relaciones entre organismos en los sistemas hospederos-parasitoides simbiotes*. Montevideo: Rusconi. 2009.

BENHAMOU, S.H. Mycoparasitism and lectin enzymes. In: *Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. Harman GE, Kubice CP. (Eds.). Taylor & Francis Ltd., London. Vol. 2, 1998 p. 153

BERNAL- VICENTE, et al. Increased effectiveness of the *Trichoderma harzianum* isolate T-78 against *Fusarium* wilt on melon plants under nursery conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(5), 2009, pp.827–833. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3520>

BEZOS, D., et al. Epidemiology and management of Pine Pitch Canker disease in Europe -A Review. *Baltic Forestry -International Scientific Journal*, 23 (1)(34), 2017. pp. 279–293.

CARMONA, S.U. *Ingeniería Ecológica : efecto del uso de microorganismos de montaña sobre el suelo con base en dos cultivos agrícolas*. [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Costa Rica 2017 pp. 26-30.

DVORAK, W., ET AL . Genetic variation in survival, growth, and stem form of *Pinus leiophyllain* Brazil and South Africa and provenance resistance to pitch canker. *Southern Hemisphere Forestry Journal*, 69(3), 2007. Pp 125–135.

DURMAN S. Evaluación de *Trichoderma* spp. como antagonista de *Rhizoctonia solani* "in vitro" y como biocontrolador del damping off de plantas de tomate en invernadero. Revista Argentina de Microbiología.;31(1) 2003 pp. 13-18

ECUADOR FORESTAL. Ficha técnica nº 13 de Pino radiata. Ecuador foresta. [En línea] 2010, pp. 1-2 [consulta: 22 de julio de 20021] Disponible en:<http://ecuadorforestal.org/wp-content/uploads/2010/08/PINO.pdf>

INFANTE, B. Mecanismos de acción de *Trichoderma* spp. FRENTE A HONGOS. *Proteccion Vegetal*, 2009p 14-21.

DÍAZ J. Algunos aspectos biológicos de *Trichoderma* y su posible uso como biocontrol. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria de La Habana. 1994.

DEYANIRA, R. Identificación y control *in vitro* de *Trichoderma*. *Rev Protección*, 2008, p 67.

DYBAS M, et al. Localization of carbon tetrachloride transformation activity of *Pseudomonas* sp strain KC. *Appl. Env. Microbiol.* 61,1995, p 758–762.

FLORES-PACHECO. chancro resinoso del pino (*fusarium circinatum*). en flores-pacheco, chancro resinoso del pino (*Fusarium circinatum*)Barcelona- España, 2017, p. 23.

GALAN, P. Pinus radiata D. Don. *Arboles ibéricos*. [En línea] 2007. [consulta: 22 de julio de 2021] Disponible en: <https://www.arbolesibericos.es/genre/pinus/species/pinusradiata>

GANASH, et al., Morphological and biomolecules dynamics of phytopathogenic fungi under stress of silver nanoparticles. *BioNanoScience*, 8(2), 2018, p 566-573.

GÓMEZ, I. A. *Trichoderma* spp. para el control biológicos de enfermedades. Asuncion: Ricor Gafic S.A. 2015.

GORDON, T. & WINGFIELD. "Management of Fusarium diseases affecting conifers". *Crop Protection*, [en línea], 2015, (United State of America), 73, pp. 28–39. [consulta: 10 de agosto 2021] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.018>

GUPTA VG, S. M. "Biotechnology and biology of *Trichoderma*". Obtenido de Biotechnology and biology of *Trichoderma* [en línea], 2014, pp. 1-34 [consulta: 5 de julio del 2021] disponible en: <https://doi.org/10.1016/C2012-0-00434-6>

HOWELL, C. R. "A case in point is that of *T. virens*—treated root segments taken from soil heavily infested with propagules of *Macrophomina phaseolina*, the pathogen that causes charcoal rot in a wide range of crops Biological Control of Plant Diseases". The history and . Plant Disease, [en línea], (2003), 87(1), pp 4–10. [consulta el 5 de agosto 2021] Disponible en: <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.1.4>

JANKOWIAK, R. "Fungi associated with *Tomicus piniperd* in Poland and assessment of their virulence using Scots pine seedlings". *Annals of Forest Science*, [en línea], (2006), 63(7). pp 801–808. [Consulta: 14 agosto 2021] Disponible en: <https://doi.org/10.1051/fores:2006063>

JIMENEZ, F. "Viveros Forestales Para Produccion De Plantas En Pie". En F. Jimenez, *Viveros Forestales Para Produccion De Plantas En Pie* [en línea], (S/F), (Madrid), 6(93) pp. 1-36. [consulta: 5 de julio del 2021] disponible en: https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1993_06.pdf

MORAGA, S, et al. "Evaluation of *Trichoderma* spp. and *Clonostachys* spp. strains to control *Fusarium circinatum* in *Pinus radiata* seedlings". *Chilean Journal of Agricultural Research*, n° 71, (2011), (Chile) pp. 412–417.

NAVALL, M. "Guía para el diseño y producción. En M. Navall", *Vivero forestal*, (1997), (Madrid) pp. 1-267

NAVARRETE, T. "Viveros y Plantación Inicial. En T. Navarrete", *Manejo de Semillas*, [en línea], 1992, (Bogota), pp. 1-152, [Consulta: 20 de junio del 2021], Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/278679789_GUIA_PARA_EL_ESTABLECIMIENTO_Y_MANEJO_DE_VIVEROS_AGROFORESTALES.

PAL, K; & GARDENER, B. "Biological control of plant pathogens". *Plant Health Instructor*. [en línea], 2006, (India), n° 2, pp. 1117-1142. [Consulta: 20 de junio del 2021], Disponible en: <https://www.apsnet.org/edcenter/disimpactmngmnt/topc/Documents/PHI-BiologicalControl.pdf>

SOLANO, B. ; & BRENES. C. "Evaluación de métodos de curación de sustratos para la prevención del mal de talluelo". Rev. For. Mesoam. Kurú 9 [En línea], 2012, (Costa Rica) vol 9(22), pp. 63-65. [Consulta: 25 agosto 2021] Disponible en:<https://revistas.tec.ac.cr/index.php/kuru/article/view/365>.

PÉREZ P."Definición de quimiotropismo". Definicion [En línea] 2020.[Consulta: 15 agosto 2021] Disponible en:(<https://definicion.de/quimiotropismo/>)

PEREZ, L."Control biológico". Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA), [en línea], 2018, (Argentina), 44(2), p.1.[Consulta: 28 agosto 2021] Disponible en:<http://ria.inta.gob.ar/contenido/control-biologico-una-estrategia-tan-sostenible-como-rentable?l=en#:~:text=Utiliza%20a%20los%20enemigos%20naturales,rendimiento%20y%20un%20costo%20menor.>

PÉREZ N."Manejo Ecológico de plagas". Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural. CEDAR [en línea], 2004, (La Habana. Cuba), pp. 1-296,[Consulta: 30 agosto 2021], ISBN: 959-246-083-3Disponible en:<https://www.fcnym.unlp.edu.ar/catedras/ecoplagas/Bibliografia.pdf>

SAMUELS GJ. "Trichoderma: a review of biology and systematic of the genus". Mycological Research.[en línea], 1996, (United State of America) 100(8), pp.923- 935 [Consulta: 29 agosto 2021] Disponible en:<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0953756296800438>.

SANDOVAL M. "Antagonismo de *Trichoderma harzianum* A-34 hacia *Macrophomina phaceoli* y otros patógenos fúngicos del fríjol". Fitosanidad. [en línea], 2002, (Cuba), 4 (3-4), pp. 69-72.[Consulta: 30 agosto 2021], ISSN: 1562-3009Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209118243014>.

SH, B."Trichoderma&Gliocladium", Mycoparasitism and lectin.[en línea], 1998, (London), pp. 153-152), [Consulta: 30 agosto 2021] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30856979/>.

STEFANOVA M, et al. "Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo". Revista Facultad de Agronomía. [en línea],1999, (Venezuela), 16(5), pp. 509-516. [Consulta: 30 agosto 2021] Disponible en:<https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/26280>.

YUSIMY, R. "Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp". Protección Vegetal. [en línea], 2008, (Cuba), 23(2), pp. 25-27, [Consulta: 2 de septiembre del 2021] Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v23n2/rpv09208.pdf>.

WEINDLING, R. "Trichoderma lignorum as a parasite of other soil fungi". American Journal of Plant Sciences. [en línea], 1932, (United State of America), 22(8), pp. 837–845, [Consulta: 2 de septiembre del 2021] Disponible en: [https://www.scirp.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrgjt55\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1958940](https://www.scirp.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrgjt55))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1958940).


DBRA
Prof. Cristian Castillo



ANEXOS

ANEXO A: PREPARACIÓN DE MATERIALES Y MEDIOS.



Pesaje de 20 g de Papa Dextrosa Agar (PDA), con la ayuda de una balanza digital de cuatro dígitos, y colocarlos en una botella de vidrio de 1000 mL con 500 mL de agua

Esterilización de materiales y medio para la reactivación de las cepas de los patógenos y antagonistas.

ANEXO B: REACTIVACIÓN DE CEPAS.

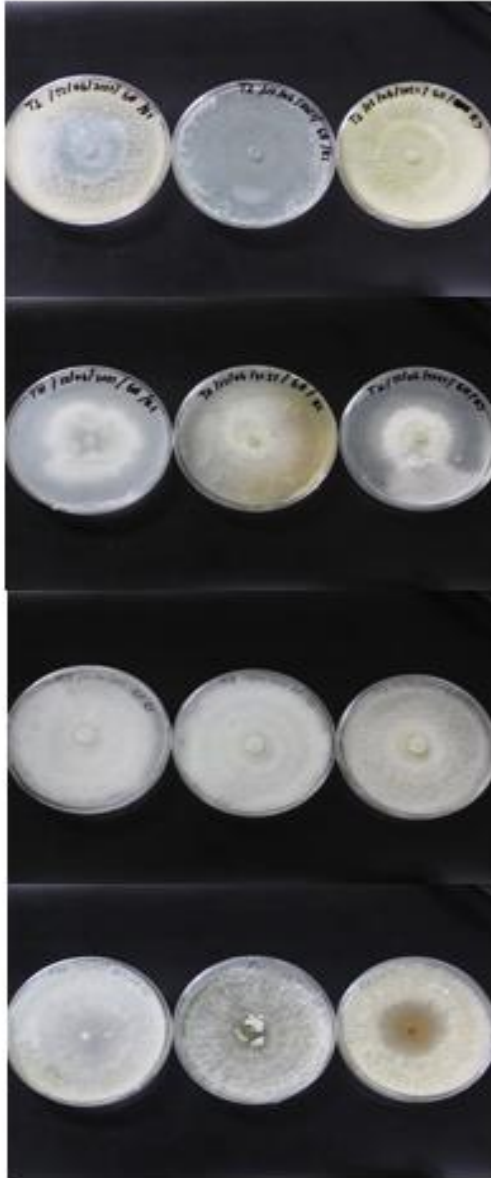


Dispensación del medio líquido esterilizado en las cajas Petri para su solidificación, dentro de la cámara de flujo laminar.

Reactivación de cepas conservadas en el Laboratorio de la Facultad

ANEXO C: CEPAS REACTIVADAS DE *Trichoderma* spp. Y *Fusarium* spp.

Reactivación de las cepas de *Trichoderma* spp., que fueron recolectadas en la Provincia de Chimborazo y preservadas en el laboratorio de Fitopatología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.



Trichoderma longibrachiatum

Trichoderma harzianum

Trichoderma sp. (MC8)

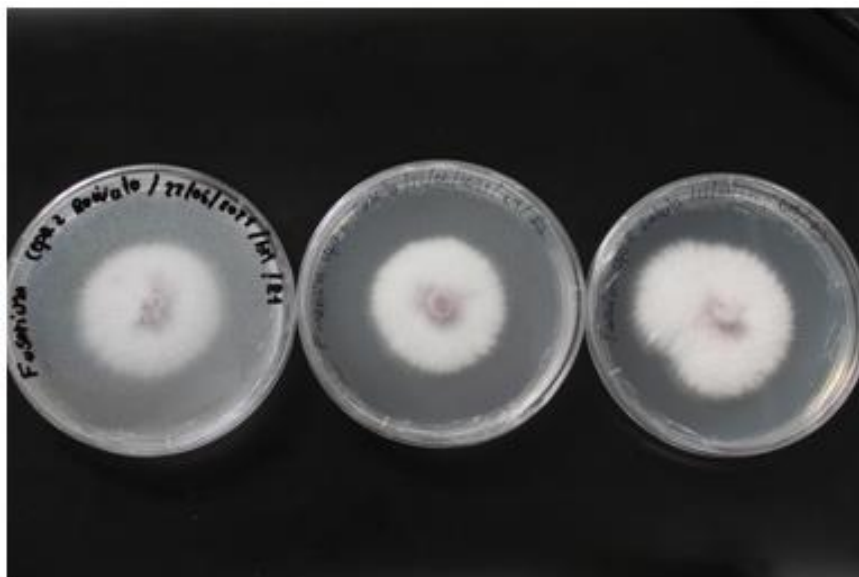
Trichoderma harzianum

Reactivación de hongos patógenos de *fusarium* sp

Fusarium patulacepa 2



Fusarium radiata cepa 2



ANEXO D: SIEMBRA DE CONFRONTACIONES.

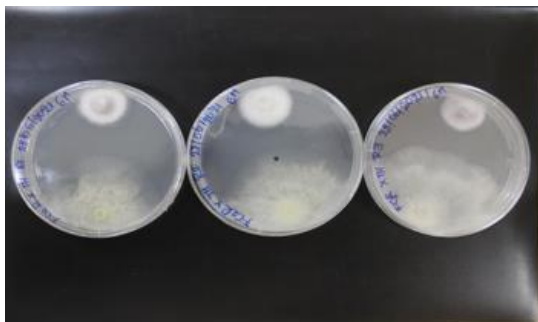


Confrontaciones de *Trichoderma* sp. y *Fusarium* sp. Mediante la técnica de siembra dual, con disco micelial de 5 mm sembrados en cada extremo de las cajas Petri, tomando en cuenta 1 cm desde el borde hacia el centro.

Sellado con la ayuda de papel film, para proceder al etiquetado de las confrontaciones mediante el código de las cepas de *Trichoderma* sp. contra el *Fusarium* sp. y su debida fecha de siembra.

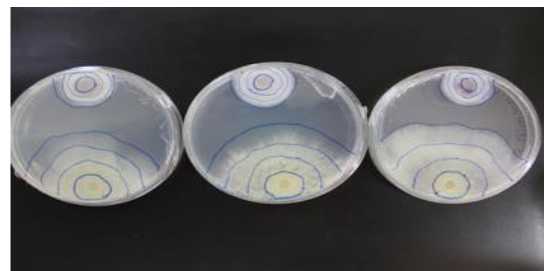


ANEXO E: MEDICIÓN MICELIAL DE SIEMBRA DUAL.

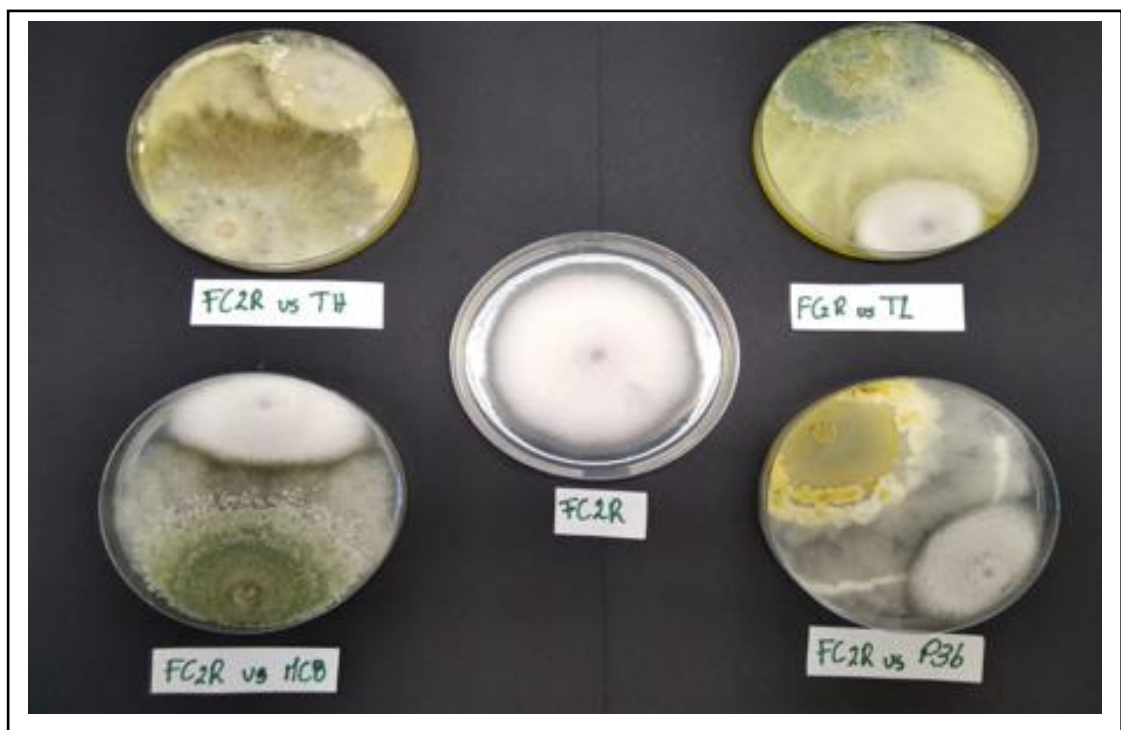
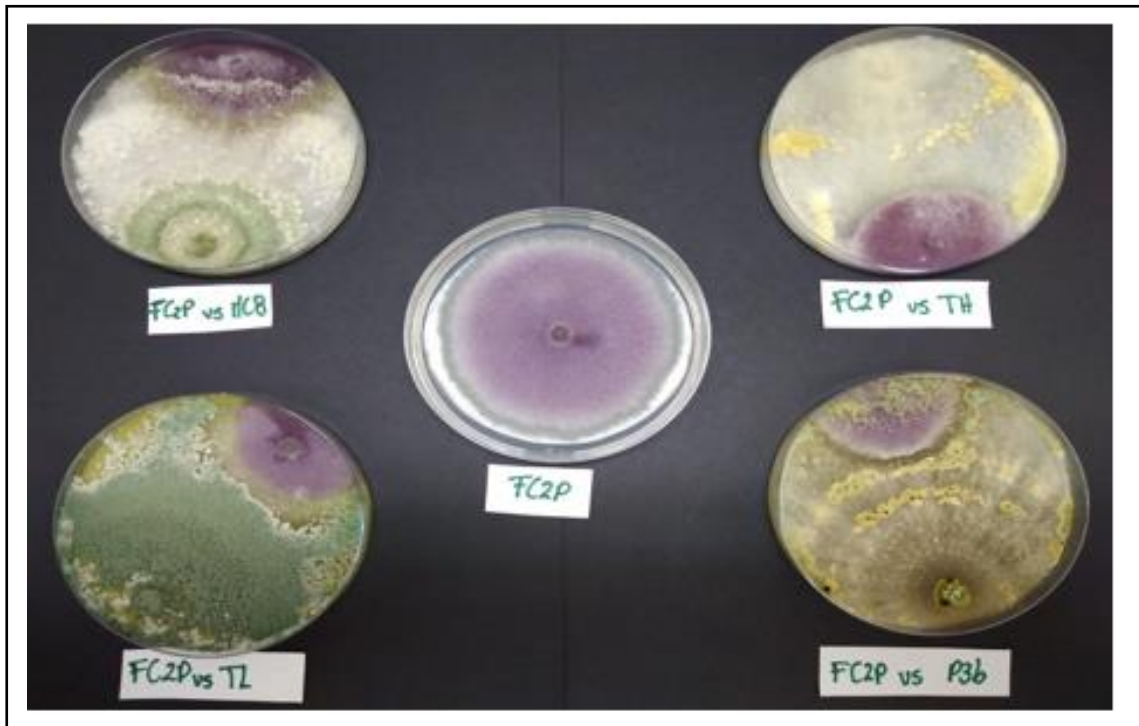


Toma de datos del crecimiento radial de los hongos enfrentados

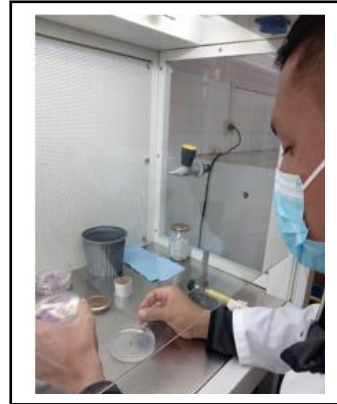
Marcados del crecimiento del micelio del hongo antagonista y el patógeno a los 4 días.



ANEXO F: RESULTADO DE LAS SIEMBRAS DUALES CON SU TESTIGO

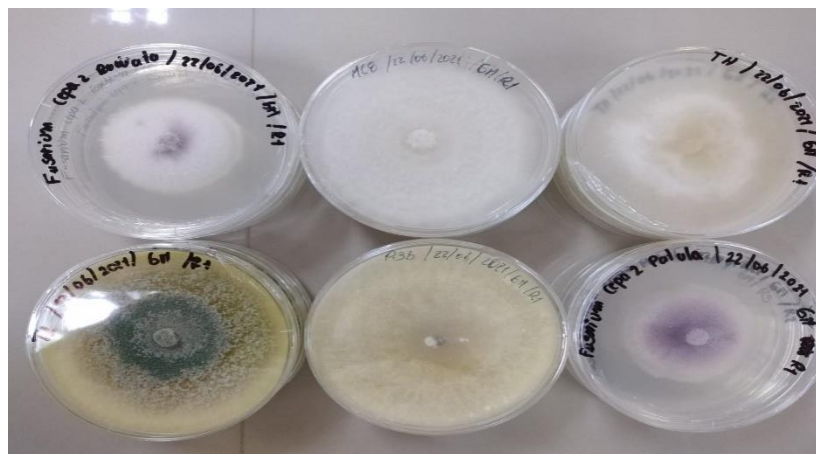


ANEXO G: REPIQUE DE LOS MEJORES INHIBIDORES A NIVEL DE LABORATORIO



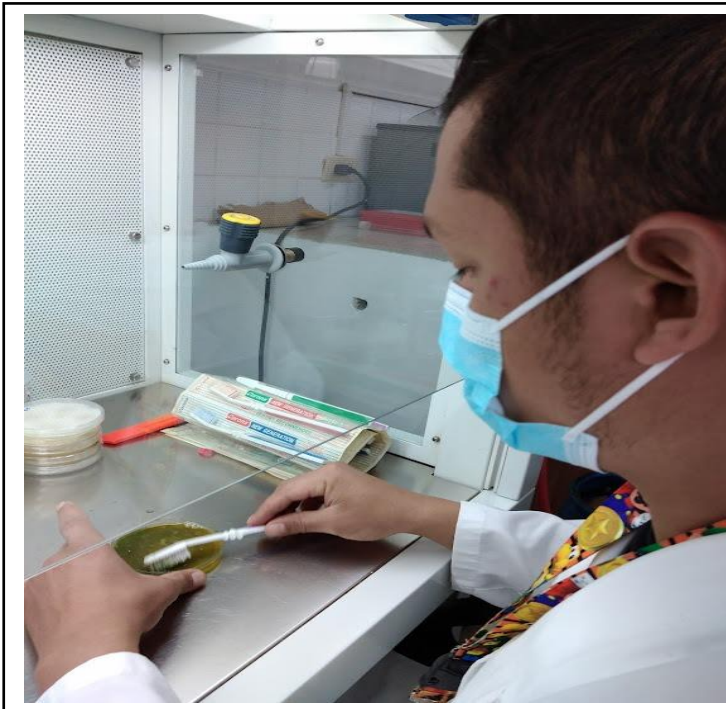
Repique de *Trichoderma* spp que presentaron la mejor inhibición en medio PDA

ANEXO H: AISLADOS REPICADOS Y CONSERVADOS PARA SER APLICADOS EN LA FASE DE CAMPO



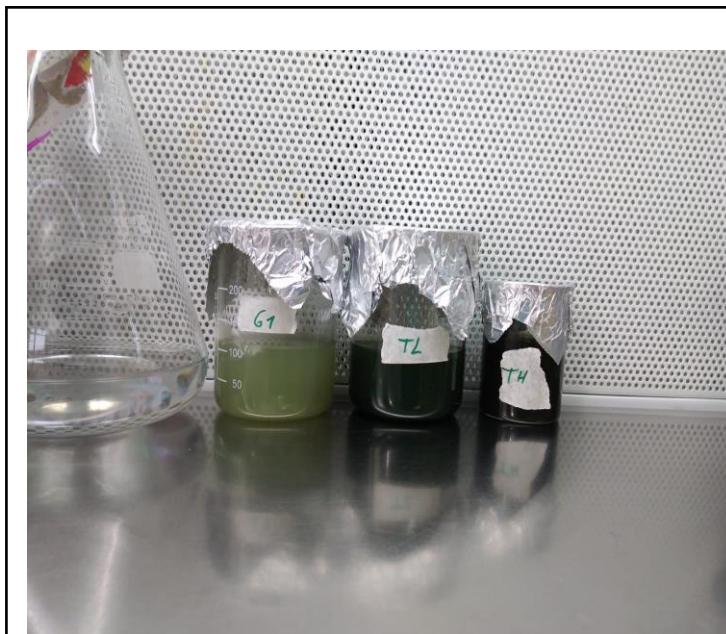
Trichoderma spp y patógeno con mayor inhibición in vitro sembrados para la preparación de inóculos y ejecución en la fase de campo. Para su pronto crecimiento se sembraron 4 micelios en cada caja Petri.

ANEXO I: PREPARACIÓN DE INÓCULOS



Raspado del micelio para la realizar el inoculo y conteo de esporas.

ANEXO J: SUSPENSIÓN Y CONTEO DE ESPORAS.



Conteo de esporas con la ayuda del microscopio y la cámara de Neubauer

ANEXO K: APLICACIÓN DE INÓCULOS



ANEXO L: TOMA DE DATOS Y OBSERVACIONES DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN.



ANEXO M: OBSERVACIONES DEL ESTRÉS



ANEXO N: TOMA DE DATOS.



ANEXO O: REACTIVACIÓN



ANEXO P: ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA TASA DE CRECIMIENTO MICELIAL EN

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Enfrentamiento	8	0,03939	0,004923	5,939	0,000491
Error	21	0,01741	0,000829		

Pinus radiata.

ANEXO Q: ANALISIS DE VARIANZA DE LA TASA DE CRECIMIENTO MICELIAL EN *P. patula*

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Enfrentamiento	8	0,02289	0,002861	1,362	0,269
Error	21	0,04413	0,002101		

ANEXO R. ANÁLISIS DE VARIANZA DE ALTURA EN *P. patula*

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Tratamiento	6	275,6	45,93	23,426	1,35e-12***
Tiempo	1	107,68	107,68	54,925	1,95e-09***
Repetición	2	6,67	3,33	1,701	0,194
Tratamiento: Tiempo	6	119,17	19,86	10,131	3,58e-07***
Error	47	92,14	1,96		

ANEXO S: ANÁLISIS DE VARIANZA DE ALTURA EN *P. radiata*

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Tratamiento	6	525,2	87,53	22,446	2,80e-12***
Tiempo	1	1,7	1,7	0,446	0,507
Repetición	2	1,4	0,7	0,179	0,837
Tratamiento: Tiempo	6	268,2	44,69	11,461	7,35e-08***
Error	47	183,3	3,9		

ANEXO T: ANÁLISIS DE VARIANZA DEL TAMAÑO DE RAÍZ EN *P. patula*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Enfrentamiento	6	41,36	6,803	4,127	0,0176*
Repetición	2	5,61	2,803	1,678	0,2277
Error	12	20,04	1,67		

ANEXO U: ANÁLISIS DE VARIANZA DEL TAMAÑO DE RAÍZ EN *P. radiata*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Enfrentamiento	6	5,301	0,8834	0,52	0,783
Repetición	2	0,134	0,067	0,039	0,961
Error	12	20,383	1,6986		

ANEXO V: ANÁLISIS DE VARIANZA DE PESO FRESCO EN *P. patula*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Enfrentamiento	6	64,73	10,79	0,892	0,533
Repetición	2	23,43	11,72	0,969	0,41
Error	11	133,02	12,09		

ANEXO W: ANÁLISIS DE VARIANZA DE PESO FRESCO EN *P. radiata*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Enfrentamiento	6	1,4627	0,24379	1,602	0,229
Repetición	2	0,0574	0,02872	0,189	0,83
Error	12	1,8256	0,15214		

ANEXO X: ANÁLISIS DE VARIANZA DE PESO SECO DE RAÍZ EN *P. patula*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Enfrentamiento	6	0,0020056	0,0003343	4,671	0,0113*
Repetición	2	0,0002574	0,0001287	1,798	0,2074
Error	12	0,0008588	0,0000716		

ANEXO Y: ANÁLISIS DE VARIANZA DE PESO SECO DE RAÍZ EN *P. radiata*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Enfrentamiento	6	0,009719	0,0016198	2,731	0,0654
Repetición	2	0,000333	0,0001667	0,281	0,7599
Error	12	0,007118	0,0005932		

ANEXO Z: ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PESO SECO DE TALLO EN *P. patula*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Enfrentamiento	6	0,009779	0,00163	1,852	0,171
Repetición	2	0,003679	0,001839	2,09	0,166
Error	12	0,01056	0,00088		

ANEXO AA: ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PESO SECO DE TALLO EN *P. radiata*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Enfrentamiento	6	0,02411	0,004018	1,358	0,306
Repetición	2	0,00186	0,000928	0,313	0,737
Error	12	0,03551	0,002959		

ANEXO AB: ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INCIDENCIA EN *P. patula*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Tratamiento	6	15690	2615	3,121	0,011755*
Tiempo	1	372	372	0,444	0,50847
Repetición	2	8737	4368	5,213	0,00902**
Tratamiento: Tiempo	6	3019	503	0,6	0,72843
Error	47	39384	838		

ANEXO AC: ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INCIDENCIA EN *P. radiata*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de f	Pr(>f)
Tratamiento	6	45258	7543	21,328	6,62e-12***
Tiempo	1	46113	46113	130,387	3,73e-75***
Repetición	2	928	464	1,312	0,279
Tratamiento: Tiempo	6	18714	3119	8,819	1,89e-06***
Error	47	16622	354		



epoch

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: 13/ 06 / 2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: Guillermo Gabriel Moreta Lara
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Recursos Naturales
Carrera: Ingeniería Forestal
Título a optar: Ingeniero Forestal
f. responsable: Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz




Ing. Cristhian Castillo

1125-DBRA-UTP-2022