



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

**EFFECTO DE *Trichoderma spp.* SOBRE *Fusarium spp.* BAJO
CONDICIONES CONTROLADAS COMO ALTERNATIVA AL USO
DE PLAGUICIDAS DE SÍNTESIS QUÍMICA**

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTOR:

JOSÉ ALONSO OTAVALO CAMPO

Riobamba – Ecuador

2023



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

**EFFECTO DE *Trichoderma spp.* SOBRE *Fusarium spp.* BAJO
CONDICIONES CONTROLADAS COMO ALTERNATIVA AL USO
DE PLAGUICIDAS DE SÍNTESIS QUÍMICA**

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTOR: JOSÉ ALONSO OTAVALO CAMPO

DIRECTORA: ING. NORMA SOLEDAD ERAZO SANDOVAL PhD.

Riobamba – Ecuador

2023

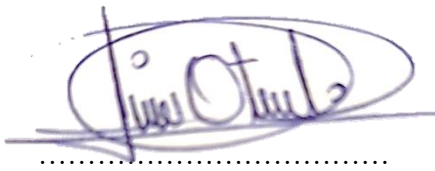
© 2024, José Alonso Otavalo Campo

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

Yo, José Alonso Otavalo Campo, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría 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 Titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 11 de diciembre de 2023



.....
José Alonso Otavalo Campo
100435666-1

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; Tipo: Proyecto de Investigación, **EFECTO DE *Trichoderma spp.* SOBRE *Fusarium spp.* BAJO CONDICIONES CONTROLADAS COMO ALTERNATIVA AL USO DE PLAGUICIDAS DE SINTESIS QUÍMICA** realizado por el señor: **JOSÉ ALONSO OTAVALO CAMPO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. Magdy Mileni Echeverria Guadalupe PhD
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



2023-12-11

Ing. Norma Soledad Erazo Sandoval PhD
DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN



2023-12-11

Ing. Paulina Fernanda Bolaños Logroño MSc
ASESORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN



2023-12-11

DEDICATORIA

A mi padre Manuel Otavalo por ser la base fundamental de mi vida y por ser el ejemplo de lucha y superación, y brindarme la oportunidad de prepararme y poder llegar a formarme como un profesional con valores éticos y morales, y a mis hermanos y hermanas por brindarme su apoyo incondicional en cada parte de mi vida y mi carrera universitaria. A la ESPOCH que por sus grandes maestros formaron parte de mi vida estudiantil, aportando sus conocimientos y experiencias hasta cumplir una etapa más de vida como profesional.

José

AGRADECIMIENTO

Agradezco principalmente a Dios por darme la sabiduría e inteligencia para culminar este trabajo de titulación con éxito. A mi familia por ser mi apoyo incondicional, por amarme y por confiar en mí. De la misma manera, agradezco a mis queridos director y asesor de tesis por guiarme y corregirme constantemente con paciencia. A mis queridos amigos, quienes han hecho que cada día sea mejor.

José

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	3
1.1. Planteamiento del problema.....	3
1.2. Problema general de investigación.....	3
1.3. Problemas específicos de investigación.....	4
1.4. Objetivos.....	4
1.4.1. <i>Objetivo general</i>	4
1.4.2. <i>Objetivos específicos</i>	4
1.5. Justificación.....	4
1.6. Hipótesis.....	5

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Antecedentes de investigación.....	6
2.2. Referencias teóricas.....	7
2.2.1. <i>Trichoderma harzianum</i>	7
2.2.2. <i>Genética y taxonomía</i>	7
2.2.2.1. <i>Importancia</i>	8
2.2.2.2. <i>Micoparasitismo</i>	8
2.2.2.3. <i>Propiedades</i>	8
2.2.2.4. <i>Clasificación</i>	9
2.2.2.5. <i>Beneficios</i>	9
2.2.2.6. <i>Fusarium spp</i>	9
2.2.2.7. <i>Genética y taxonomía</i>	10

2.2.2.8.	<i>Características</i>	10
2.2.2.9.	<i>Causas</i>	10
2.2.9.10.	<i>Enfermedades causadas por Fusarium spp</i>	10
2.2.9.11.	<i>Control de Fusarium spp</i>	11
2.2.9.12.	<i>Aislamiento de Fusarium spp</i>	11
2.2.9.13.	<i>Síntomas de Fusarium spp</i>	11
2.2.3.	Colonias	11
2.2.3.1.	<i>Hifas</i>	12
2.2.3.2.	<i>Micelio</i>	12
2.2.4.	Esporas	12
2.2.4.1.	<i>Endosporios</i>	12
2.2.5.	Hongos saprófitos	13
2.2.6.	Píleo	13
2.2.7.	Himenio	13

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	14
3.1.	Enfoque de la investigación	14
3.2.	Nivel de investigación	14
3.3.	Diseño de investigación	14
3.3.1.	<i>Según las intervenciones en el trabajo de campo</i>	14
3.3.2.	<i>Tipo de estudio</i>	14
3.3.3.	<i>Población y planificación, selección y cálculo del tamaño de la muestra</i>	14
3.3.3.1.	<i>Localización de estudio</i>	14
3.3.3.2.	<i>Población de estudio</i>	15
3.3.3.3.	<i>Tamaño de la muestra</i>	15
3.3.3.4.	<i>Materiales y equipos</i>	15
3.3.4.	Pruebas de antagonismo entre <i>Trichoderma spp</i> y <i>Fusarium spp</i>	16
3.3.4.1.	<i>Diseño experimental</i>	16
3.3.4.2.	<i>Proceso de aplicación de la técnica de cultivo dual</i>	16
3.3.4.3.	<i>Reactivación de cepas de antagonistas y patógenos</i>	17
3.3.5.	Método Dual	18
3.3.5.1.	<i>Preparación de los medios de cultivo</i>	18
3.3.5.2.	<i>Siembra dual</i>	18
3.3.6.	Crecimiento micelial en la interacción <i>Trichoderma</i> vs <i>Fusarium</i>	18

3.3.6.1.	<i>Selección del mejor antagonista</i>	19
3.3.6.2.	<i>Método: Placa precolonizada Preparación de los medios de cultivo</i>	19
3.3.6.3.	<i>Siembra</i>	20
3.3.6.4.	<i>Pruebas de antagonismo in vitro mediadas por compuestos volátiles</i>	20
3.3.7.	<i>Método: por compuestos volatilizados</i>	21
3.3.7.1.	<i>Preparación de los medios de cultivo</i>	21
3.3.7.2.	<i>Siembra</i>	21
3.3.7.3.	<i>Análisis de datos</i>	21

CAPÍTULO IV

4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
4.1.	Capacidad antagónica de 7 cepas <i>Trichoderma</i> spp. sobre 2 cepas de <i>Fusarium</i> .	22
4.1.1.	<i>Determinación del tipo de antagonismo</i>	22
4.1.1.1.	<i>Análisis de varianza para crecimiento radial en cm de dos cepas de <i>Fusarium</i></i>	22
4.2.	Análisis de varianza para crecimiento radial cm de siete cepas de <i>Trichoderma</i>	25
4.3.	Discusión	34

	CONCLUSIONES	36
--	---------------------------	----

	RECOMENDACIONES	37
--	------------------------------	----

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Características antagónicas de <i>Trichoderma</i>	9
Tabla 3-1: Materiales, equipos, reactivos e insumos	15
Tabla 4-1: Análisis de varianza para crecimiento radial de dos cepas de <i>Fusarium</i> en tres métodos de antagonismo con siete cepas de <i>Trichoderma</i> a los siete días	22
Tabla 4-2: Análisis de varianza para crecimiento radial en cm de siete cepas de <i>Trichoderma</i>	25

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 3-1: Laboratorios de la Facultad de Recursos Naturales	15
Ilustración 3-2: Esquema en que se indica la ubicación en la placa de Petri	16
Ilustración 3-3: Esquema del establecimiento del método de placa precolonizada.....	19
Ilustración 3-4: Esquema del método de antagonismo por compuestos volátiles	20
Ilustración 4-1: Capacidad antagónica <i>Trichoderma spp.</i> sobre 2 cepas de <i>Fusarium</i>	22
Ilustración 4-2: Prueba de Tukey al 5% para crecimiento radial en cm de dos cepas.....	24
Ilustración 4-3: Prueba de Tukey al 5% para crecimiento radial en cm de dos cepas.....	24
Ilustración 4-4: Prueba de Tukey al 5% para crecimiento radial en cm de siete cepas	26
Ilustración 4-5: Control de siete cepas de <i>Trichoderma</i> en tres métodos de antagonismo	27
Ilustración 4-6: Caracterización morfológica <i>Trichoderma spp.</i> y <i>Fusarium spp.</i> TR1	27
Ilustración 4-7: Caracterización morfológica <i>Trichoderma spp.</i> y <i>Fusarium spp.</i> TR2.....	28
Ilustración 4-8: Caracterización morfológica <i>Trichoderma spp.</i> y <i>Fusarium spp.</i> TR3	29
Ilustración 4-9: Caracterización morfológica <i>Trichoderma spp.</i> y <i>Fusarium spp.</i> TR4	30
Ilustración 4-10: Caracterización morfológica <i>Trichoderma spp.</i> y <i>Fusarium spp.</i> TR5	30
Ilustración 4-11: Caracterización morfológica <i>Trichoderma spp.</i> y <i>Fusarium spp.</i> TR6	31
Ilustración 4-12: Caracterización morfológica <i>Trichoderma spp.</i> y <i>Fusarium spp.</i> TR7	32
Ilustración 4-13: Caracterización morfológica <i>Trichoderma spp.</i> y <i>Fusarium spp.</i> TR8	33
Ilustración 4-14: Caracterización morfológica <i>Trichoderma spp.</i> y <i>Fusarium spp.</i> TR9	33

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: MÉTODO DUAL

ANEXO B: PLACA PRECOLONIZADA

ANEXO C: MÉTODO POR VOLÁTILES

ANEXO D: ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES

ANEXO E: ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES

ANEXO F: ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES

ANEXO G: ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES

ANEXO H: ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES

ANEXO I: ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES

ANEXO J: PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

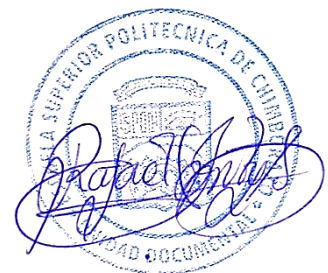
ANEXO K: IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS MICROORGANISMOS

ANEXO L: CRECIMIENTO RADIAL DE *TRICHODERMA* Y *FUSARIUM*

RESUMEN

En este estudio, se abordó la problemática del control de *Fusarium* spp., un patógeno que afecta diversos cultivos, mediante el uso de cepas de *Trichoderma*. El objetivo general fue evaluar la eficacia de diferentes cepas de *Trichoderma* en el control del crecimiento de *Fusarium* spp. y caracterizar morfológicamente ambas especies. La metodología utilizada incluyó la aplicación de tres métodos: método dual, placa precolonizada y otro basado por compuestos volátiles, se evaluaron competencia por espacio y nutrientes, micoparasitismo, antibiosis, empleando un diseño estadístico completamente al azar DCA, con 3 métodos de antagonismos y 3 repeticiones por cada método con un nivel de confianza de 5% en las pruebas de laboratorio, en el diseño completamente al azar (DCA), se realizó la prueba de Tukey. Los resultados obtenidos mostraron que todas las cepas de *Trichoderma* evaluadas tuvieron un efecto inhibitorio significativo sobre el crecimiento de *Fusarium* spp. Sin embargo, la eficacia varió dependiendo de las condiciones del tratamiento. En los resultados encontrados en la presente investigación se observó que las 2 cepas de *Fusarium* fueron controladas mejor por las cepas de *Trichoderma* cuando se utilizó el método dual, representados por las letras E-J, las cuales fueron similar a los controles, diferente de los tratamientos *Trichoderma*-Placa precolonizada-*Fusarium*, con los menores crecimientos de 0.4 cm, representados por la letra A. Se observó que las 2 cepas de *Fusarium* alcanzaron los máximos crecimientos con el método de caja precolonizada, lo cual significa que *Fusarium* una vez establecido, *Trichoderma* no realiza ningún control. Diferente del tratamiento *Trichoderma*-*Fusarium*-método dual, donde se observa el menor crecimiento de *Fusarium*, lo cual implica que *Trichoderma* creció sustancialmente, representada por la letra A.

Palabras clave: <TRICHODERMA>, <FUSARIUM>, <CONTROL BIOLÓGICO>, <EFICACIA>.




0336-DBRA-UPT-2024

ABSTRACT

In this research, the problem of *Fusarium* spp control, a pathogen that affects diverse crops, was addressed by the use of *Trichoderma* strains. The general objective was to evaluate the efficacy of different *Trichoderma* strains in controlling the growth of *Fusarium* spp, and to characterize morphologically both species. The methodology used included the application of three methods: dual method, pre-colonized plate, and another based on volatile compounds. Competition for space and nutrients, microparasites, and antibiosis were evaluated using a completely randomized statistical design DCA with 3 methods of antagonisms and 3 replicates for each method with a confidence level of 5% in laboratory tests. In the completely randomized design (DCA), Tukey's test was performed. The results showed that all the evaluated *Trichoderma* strains had a significant inhibitory effect on the growth of *Fusarium* spp. However, the efficacy varied depending on the treatment conditions. In the results found in the present investigation, it was observed that the 2 strains of *Fusarium* were better controlled by the strains of *Trichoderma* when the dual method was used. This is represented by the letters E-J, which were similar to the controls and different from the treatments *Trichoderma*-*Placa* pre-colonized *Fusarium* with the smallest growths of 0.4 cm, represented by the letter A. It was observed that the 2 strains of *Fusarium* reached the maximum growths with the pre-colonized box method, which means that *Fusarium* once established, *Trichoderma* does not carry out any control. This is different from the treatment *Trichoderma*-*Fusarium*-dual method, where the lowest growth of *Fusarium* is observed. This implies that *Trichoderma* grew substantially, represented by the letter A.

Keywords: <TRICHODERMA>, <FUSARIUM>, <BIOCONTROL>, <EFFECTIVENESS>.



Ing. Romel Francisco Calles Jiménez

C.I. 060387771

INTRODUCCIÓN

El aumento de la población mundial, el deterioro del medio ambiente y calidad de vida del hombre, son sólo algunos de los tantos factores que han motivado al ser humano a buscar nuevos procesos de producción agrícola que permitan cubrir la demanda, cada vez más creciente, de alimento y materias primas a través de procesos donde se aprovechen los recursos naturales de manera sostenible e integrando así los conceptos de conservación y desarrollo para la plena satisfacción de las necesidades humanas. No obstante, las actividades agrícolas extensivas y la ampliación de sus fronteras han traído consigo problemas fitosanitarios en los sistemas naturales, especialmente en el suelo, que es considerado el soporte principal de la agricultura.

(Vinale et al. 2008)

Uno de los aspectos importantes en la producción agrícola es el control de plagas y enfermedades; medidas fitosanitarias que minimicen las pérdidas económicas ocasionadas por diferentes efectos como son los agentes químicos o biológicos. La utilización extensiva de compuestos químicos para el control de enfermedades, la emergencia de patógenos resistentes a fungicidas, y el deterioro en la salud de productores y consumidores, han promovido la búsqueda de alternativa viables que garanticen una mayor sostenibilidad en la producción agrícola, minimizando el impacto sobre el medio ambiente.

Desde 1980 Rhizobacterias y hongos biocontroladores han sido investigados como posible alternativa de producción limpia. El empleo de agentes de control biológico (BCAs) ha permitido una reducción en la aplicación de fungicidas químicos y por lo tanto un control más eficiente de patógenos causantes de enfermedades, al ser incorporados a los programas de manejo integrado. El hongo *Trichoderma* spp. es un eficiente controlador biológico que está siendo ampliamente usado en agricultura como agente de biocontrol debido a su habilidad para colonizar sustratos rápidamente, inducir resistencia sistémica adquirida en plantas, promover el crecimiento vegetal y poseer actividad antagonista contra un amplio rango de hongos patógenos. El efecto inhibitorio de sus antibióticos y la degradación de componentes de la pared celular de patógenos de plantas es citado como aspecto importante de su actividad antagonista. (Gordon, 2017)

Las especies de *Trichoderma* tienen una gran actividad antagonista sobre patógenos como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium ultimum* y *Fusarium oxysporum*, causantes de enfermedades importantes en cultivos de rábano, clavel, crisantemo, frijol, cafeto, haba, tomate y cítricos entre otros. Durante los últimos años, varios investigadores y algunas empresas han mostrado gran interés en estudiar el potencial de *Trichoderma* como controlador biológico de patógenos de suelo. En este contexto, el presente trabajo evaluó bajo condiciones de invernadero,

la capacidad antagonista de aislamientos nativos y comerciales de *Trichoderma* spp frente al hongo fitopatógeno *Fusarium* spp. Los resultados de esta investigación ayudaron en la obtención de información tanto en laboratorio como en campo sobre la acción potencial biocontroladores de este género. (Harman et al., 2004)

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

Fusarium spp. es un patógeno destructivo transmitido por el suelo en todo el mundo que causa enfermedades a muchos cultivos económicamente importantes, bajo diferentes condiciones ambientales. (Garcés et al., 2010)

Entre las especies afectadas se encuentran principalmente de la familia *Solanaceae*, como la papa y el pimiento, a las cuales puede causar varios tipos de daños en múltiples etapas de crecimiento, como pudrición de semillas, marchitamiento previo y posterior a la emergencia, tallo de alambre, pudrición de la raíz e hipocótilo o raíz pivotante con manchas necróticas (Ma et al., 2013).

Para el manejo de esta enfermedad se han adoptado varias estrategias que involucran principalmente prácticas culturales y control químico. Sin embargo, debido a la amplia gama de hospederos del patógeno, la supervivencia a largo plazo en el suelo de sus estructuras de reposo, los esclerocios y la falta de resistencia genética, todavía se producen pérdidas cuantiosas. (Gordon, 2017)

Generalmente se suele utilizar plaguicidas de síntesis químicas con varias aplicaciones durante cada campaña del cultivo, con la consecuente contaminación ambiental que repercute en afectaciones a la salud de aplicadores y consumidores. Ante este problema, es importante encontrar alternativas de manejo de enfermedades de los cultivos, para lo cual se hace uso de agentes de control biológico como ciertos hongos, tal es el caso de *Trichoderma*, el cual presenta muchas cualidades antagónicas contra patógenos del suelo. (Vinale et al., 2008)

1.2. Problema general de investigación

Fusarium spp. es un patógeno destructivo transmitido por el suelo en todo el mundo que causa enfermedades a muchos cultivos económicamente importantes, bajo diferentes condiciones ambientales.

1.3. Problemas específicos de investigación

- Entre las especies afectadas se encuentran principalmente de la familia *Solanaceae*, como la papa y el pimiento, a las cuales puede causar varios tipos de daños en múltiples etapas de crecimiento.
- Para el manejo de esta enfermedad, generalmente se usa plaguicidas de síntesis química tóxicos, con la consecuente contaminación ambiental y afectación a la salud de aplicadores y consumidores.
- Es importante buscar alternativas de manejo de este patógeno y *Trichoderma*, por sus efectos antagónicos con diversos fitopatógenos registra esa posibilidad.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto antagónico de *Trichoderma spp.* sobre *Fusarium spp.* bajo condiciones controladas como alternativa al uso de plaguicidas de síntesis química.

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar la capacidad antagónica de 7 cepas de *Trichoderma* sobre 2 cepas de *Fusarium spp.*
- Establecer el mejor mecanismo de antagonismo de 7 cepas de *Trichoderma* sobre 2 cepas de *Fusarium spp.*
- Caracterizar morfológicamente las cepas de *Trichoderma spp* y *Fusarium spp.*

1.5. Justificación

La aplicación indiscriminada de plaguicidas de síntesis química tóxicas han demostrado históricamente que causan daños severos al ambiente, contaminando el agua, suelo y los productos cosechados. Afortunadamente existe un interés cada vez creciente por el consumo de alimentos más sanos, lo cual exige la aplicación de nuevas alternativas en el manejo de cultivos.

Entre estas alternativas se menciona la utilización de *Trichoderma spp.* que permite reducir las aplicaciones de productos químicos, evitando la contaminación de los recursos renovables. Como solución para mitigar los impactos ambientales que causan el uso excesivo de productos sintéticos por los productores, es una necesidad de acudir a nuevas investigaciones utilizando *Trichoderma spp.* como biocontrolador (Harman et al., 2004).

Además, la aplicación de *Trichoderma spp.* puede ser una herramienta no solo para el control de hongos fitopatógenos, sino como tratamiento integral para aumentar los rendimientos, por lo cual, la realización del presente trabajo se muestra como positivo, debido a que propone a los agricultores, un tratamiento con base en *Trichoderma spp.* (Shoresh & Harman, 2008).

1.6. Hipótesis

Ha: *Trichoderma harzianum* si genera efectos sobre *Fusarium spp.* bajo condiciones controladas

Ho: El *Trichoderma harzianum* no genera efectos sobre *Fusarium spp.* bajo condiciones controladas.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de investigación

Varios artículos y tesis tratan este tema. La investigación denominada: “Efecto diferencial de seis aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre la severidad de *Fusarium* spp., desarrollo radical y crecimiento de plantas de maíz” tuvo como objetivo evaluar agentes con potencial antagónico, seleccionados del microbiota de raíces de plantas de maíz, para el control biológico de *Fusarium* spp. Con el fin de estudiar formas de biocontrol de *Fusarium* spp., se colectaron seis aislamientos de *Trichoderma* spp. obtenidos de la rizosfera de plantas de maíz en diversas localidades de los estados portuguesa y Yaracuy; los aislados se utilizaron en pruebas de antagonismo sobre sustrato esterilizado en vivero. Se realizaron dos orificios en el sustrato y sobre ellos se colocaron granos de arroz esterilizados, cubriendo con 2 mL de solución de esporas antagonistas ($3-7 \times 10^6$ conidios mL⁻¹). Posteriormente, en cada hoyo se colocó una semilla híbrida D2000 de maíz y dos esclerocios de *Fusarium* y se agregaron 3 mL de la solución antagonista, cubriendo con suelo esterilizado. En relación a la supervivencia de las plantas, hubo un efecto positivo de los tratamientos donde se utilizó *Trichoderma*, obteniendo valores entre 70 y 90%. En cuanto a la severidad de la enfermedad de las plantas hasta los 60 días se obtuvo un valor de 82.5% en el testigo y 16.2% en el mejor tratamiento con *Trichoderma* (López et al., 2010).

El trabajo con el tema: “Biocontrol and growth enhancement potential of *Trichoderma* spp. against *Fusarium* spp. causing sheath blight disease in rice” tuvo como objetivo investigar los potenciales de mejora del crecimiento y control biológico de *Trichoderma* spp. contra *Fusarium* spp. Un total de 31 *Trichoderma* spp. fueron examinados por sus potenciales antagónicos contra *Fusarium* spp. en cultivo dual, el efecto de los metabolitos volátiles y no volátiles sobre la inhibición del crecimiento del patógeno de prueba en condiciones in vitro. Los resultados del ensayo de confrontación in vitro revelaron que entre los diferentes *Trichoderma* spp. probado, *T. harzianum* (SVPRT-THLi06) y *T. atroviride* (SVPP-4) exhibieron una excelente eficacia de control biológico con una inhibición del crecimiento micelial del 90,9 % y el 72,0 %, respectivamente. El filtrado de cultivo de *T. harzianum* (SVPRT- THLi6) al 50% fue altamente efectivo en la reducción del crecimiento micelial de *Fusarium* hasta en un 95,9% y en caso de metabolitos volátiles, la inhibición máxima (72,5%) en el crecimiento micelial de *Fusarium* fue registrado con *T. harzianum* aislado SVPP-8. Se encontró que un modo combinado de aplicación (tratamiento del suelo + inmersión de raíces + rociado foliar) con *T. harzianum* (SVPRT-THLi06)

fue más efectivo en condiciones de invernadero, que mostró la menor gravedad de la enfermedad (12,4 % frente al control 49,6 %) e incidencia de la enfermedad (27,1 % vs control 96,4%). (Chaudhary et al., 2020)

En la investigación: “Capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* frente a *Fusarium sigmoidea* y *Sclerotium rolfsii* y su efecto en cepas nativas de *Trichoderma aisladas* de cultivos de arroz” tuvo como finalidad estudiar la capacidad antagónica de una cepa comercial de *Trichoderma harzianum*, frente a *Fusarium*, *Nakatea sigmoide* y *Sclerotium rolfsii*, causante de la pudrición de tallos y vainas de arroz, al igual que su efecto en 14 cepas nativas de *Trichoderma aislada* de diferentes campos arroceros. Las pruebas demostraron que el *T. harzianum* presenta una elevada actividad antagónica e hiperparasítica contra *Fusarium*. La mayor acción de micoparasitismo se presentó con *Fusarium*, siendo frecuente en enrollamiento de hifas y la penetración. El desarrollo de la cepa *T. harzianum* (comercial), no afectó a las cepas nativas de *Trichoderma spp.*, que se ensayaron en el trabajo, en la mayoría de casos, las cepas de *Trichoderma* nativos mostraron un rápido desarrollo entre las 48 y 72 horas (Rondoy & Severino, 2019).

2.2. Referencias teóricas

2.2.1. *Trichoderma harzianum*

Es un hongo de vida libre que vive en el suelo y coloniza las raíces de muchas plantas como un simbionte oportunista no tóxico. Se utiliza como tratamiento foliar, de semillas y del suelo para controlar diversas, enfermedades fúngicas. Varios productos comerciales, como biofungicidas y promotores de crecimiento, se utilizan con fines biotecnológicos porque brindan muchas ventajas para la agricultura en condiciones de campo. (Lorito et al., 2010)

2.2.2. *Genética y taxonomía*

Las especies del género *Trichoderma* se clasifican taxonómicamente en la familia Fungi, el subgrupo Fungi, la clase *Mycomycetes*, el orden Candida y la familia Candidae. El género *Trichoderma* contiene alrededor de 30 especies con diferentes características morfológicas. *Trichoderma* en estado vegetativo tiene un micelio con septos simples. Esta especie es haploide y su pared está formada por quitina y glucano. Se reproducen asexualmente mediante conidios. Tienen conidióforos hialinos ramificados, filóforos simples o agrupados, conidios de 3 a 5 μm de diámetro, que muestran un rápido desarrollo en medios sintéticos

Produce clamidosporas en sustratos naturales. Estas estructuras pueden soportar condiciones ambientales adversas (Shoresh, Yedidia & Chet 2005).

2.2.2.1. *Importancia*

Su importancia se debe a su capacidad de adaptación y producción de metabolitos, como enzimas, compuestos promotores de crecimiento vegetal, y compuestos volátiles, entre otros, de interés biotecnológico y ambiental. Además, es utilizado como agente de biocontrol contra hongos fitopatógenos debido a sus múltiples mecanismos de acción, destacando la antibiosis, el micoparasitismo, la competencia por espacio y nutrientes, y la producción de metabolitos secundarios. (Lorito et al., 2010)

2.2.2.2. *Micoparasitismo*

El micoparasitismo de *Trichoderma* es un proceso muy complejo que involucra el crecimiento quimioorganotrófico sobre su huésped, a través de mecanismos de atracción, sujeción, enrollamiento y penetración de la hifa. La actividad de las enzimas líticas frecuentemente se combina con la producción de antibióticos, incrementando el nivel de antagonismo. Además, está basado en el antagonismo directo de los patógenos de las plantas en el suelo o a su vez en las raíces de las plantas, el cual puede ser ejercido por cualquiera de las especies de *Trichoderma*. (Alabouvette, Olivain & Steinberg, 2006)

2.2.2.3. *Propiedades*

Las propiedades antagónicas de *Trichoderma* contra hongos patógenos se basan en la activación de varios mecanismos, incluida la competencia por nutrientes y espacio, el parasitismo fúngico, los efectos antibacterianos, la promoción del crecimiento de las plantas y la inducción de respuestas de defensa de las plantas. También durante el parasitismo fúngico, *Trichoderma* secreta enzimas que hidrolizan las paredes celulares de sus hongos huéspedes, las más famosas de las cuales son proteasas, quitinasas y glucanasas, provocando la contracción de la membrana plasmática y la alteración citoplasmática. (Lorito et al., 2010)

2.2.2.4. Clasificación

El grado de antagonismo según la Escala de Clase planteada por Bell et al., (1882) citado por Garrido & Vilela (2019) son los que se muestran a continuación:

Tabla 2-1: Características antagónicas de *Trichoderma*

Grado	Capacidad antagónica
1	<i>Trichoderma</i> colonizó el 100% de la superficie de cultivo y creció sobre el hongo patógeno.
2	<i>Trichoderma</i> coloniza dos tercios de la superficie del medio y limita el crecimiento del hongo patógeno.
3	<i>Trichoderma</i> y patógenos vegetales ocuparon cada uno la mitad de la superficie, sin que el hongo dominara.
4	Los hongos fitopatógenos colonizan dos tercios de la superficie del medio y limitan el crecimiento de <i>Trichoderma</i> .
5	Los fitopatógenos colonizaron el 100% de la superficie de cultivo y crecieron sobre <i>Trichoderma spp.</i>

Fuente: Garrido & Vilela, 2019.

2.2.2.5. Beneficios

Su aplicación permite controlar los hongos, gracias a su alto potencial de control biológico tienen diversas ventajas, puesto que crece y desarrolla muy rápido, pero además produce una gran cantidad de enzimas y mecanismos de acción como: una competencia física por el espacio y los nutrientes del medio; la producción de metabolitos secundarios con actividad antibiótica o antifúngica. El enfrentamiento de *Trichoderma spp.*, con los fitopatógenos ocurre a las 72 horas, así el máximo recorrido de *Trichoderma spp.* en la superficie del medio se logra con *Fusarium spp.*, brindando una gran eficacia de *Trichoderma* contra el *Fusarium spp.*

(Suman, Nath Yadav & Verma, 2016)

2.2.2.6. *Fusarium spp*

Es una de las especies de hongos más comunes en el maíz y las patatas y ha atraído la mayor atención debido a la preocupación por los metabolitos secundarios tóxicos que produce. Esta preocupación surge del hecho de que el maíz es una parte importante de la cadena alimentaria humana, lo que enfatiza la necesidad de comprender la biología de las interacciones huésped-

patógeno. Esta enfermedad fúngica está muy extendida en todo el mundo y causa importantes pérdidas económicas a la mayoría de las plantas perennes y anuales, incluidos la mayoría de los cultivos hortícolas; Las enfermedades más comunes son el llamado ahogamiento de las plántulas y la pudrición de las raíces. (Arbeláez, 2000)

2.2.2.7. *Genética y taxonomía*

Su clasificación sigue siendo confusa y controvertida. Esto se debe a que su morfología es muy simple y las características fisiológicas y patológicas utilizadas en su clasificación varían ampliamente, lo que dificulta la clasificación de este grupo. Otro factor que contribuye a su ambigüedad taxonómica es que rara vez produce las estructuras sexuales tradicionalmente utilizadas en la taxonomía de hongos. Aunque existen muchas formas de *Fusarium*, *Fusarium spp.* A *Thanatephorus cucumeris* se le ha asignado una afección específica común a la mayoría de los grupos anastomóticos. (Dávila, 2022)

2.2.2.8. *Características*

Su principal característica es que presenta grupos dentro de la especie designados como grupos de anastomosis, de acuerdo con la capacidad que poseen sus hifas de fusionarse entre sí y compartir la información genética de ambas. (Fich, Segerson & Rose, 2016)

2.2.2.9. *Causas*

Las condiciones tropicales favorecen la incidencia de *Fusarium spp.* en varios cultivos, y en la actualidad su control se realiza con productos químicos, prácticas culturales y control biológico. Dentro de este último se están recurriendo a fórmulas a base del hongo antagonista *Trichoderma*, el mismo que tiene acción verificada sobre hongos del suelo como *Fusarium*.

(Fich, Segerson & Rose, 2016)

2.2.9.10. *Enfermedades causadas por Fusarium spp.*

Existen algunas enfermedades provocadas por este hongo, en donde destaca la sarna negra, el cual ocasiona fallas en la emergencia de la planta, disminución del rendimiento y malformaciones en los tubérculos como la papa, con la particularidad de presentar numerosos hospedantes y al no implementarse métodos de control, se acumula en el suelo en forma de esclerocios. (Gordon, 2017)

2.2.9.11. Control de *Fusarium spp.*

La aplicación de fungicidas al suelo o como desinfectantes para el control de la *Fusiamitis* beneficia la calidad sanitaria de los cultivos con niveles de incidencia aceptables del 5 %, sin aumentar el rendimiento. El control químico de la enfermedad no ha sido eficaz, por lo que la búsqueda de agentes nativos de control biológico para disminuir la carga infectiva del agente causal e incorporarse al manejo de la enfermedad, constituirá una alternativa más para reducir las pérdidas, los costos de producción y los niveles de contaminación ambiental. (Gordon, 2017)

2.2.9.12. Aislamiento de *Fusarium spp.*

Se puede obtener por medio del método de siembra directa, a partir de muestras de material vegetal enfermo y esclerocios presentes en las plantas con síntomas de Fusiamitis. El hongo *Fusarium spp.* aislado y una vez evidenciado su patogenicidad en algunas plantas, es conservado en tubos de ensayo contentivos del medio. (Gordon, 2017)

2.2.9.13. Síntomas de *Fusarium spp.*

Según (López et al., 2010), los daños causados por el hongo *Fusarium* son:

- Los cogollos en crecimiento tienen depresiones profundas que forman una forma estrangulada.
- Las hojas son de color violeta y tienen una roseta en la parte superior.
- Necrosis cortical del tejido de la madera.
- Formación de nódulos aéreos.

2.2.3. Colonias

Esta especie forma colonias flojas o compactas, pudiendo presentarse numerosas variaciones entre estos dos extremos; pueden presentarse estas características sobre una misma colonia; la compactación de colonias está relacionada con la estructura de los conidióforos.

(Andrade et al., 2019)

2.2.3.1. Hifas

Se trata de estructuras cilíndricas filiformes comunes a la mayoría de los hongos que forman su estructura vegetativa. Consisten en una serie de células alargadas rodeadas por una pared celular que juntas forman un micelio (Aguilar et al., 2021).

2.2.3.2. Micelio

El cuerpo vegetativo del hongo está formado por una gran cantidad de hifas. Dependiendo del tipo de crecimiento se clasifican en reproductivos o vegetativos. El micelio reproductivo crece en la superficie exterior del medio y es responsable de la producción de orgánulos reproductivos (endosporas) para formar un nuevo micelio. El micelio vegetativo es responsable de la absorción de nutrientes y crece hacia abajo para realizar sus funciones. (Vallejos et al., 2019)

2.2.4. Esporas

Las esporas de fiálidos se producen solas o se acumulan continuamente en la parte superior del tallo del jarrón, formando cabezas de esporas de menos de 15 mm de diámetro y rara vez en cadenas cortas; pueden ser de paredes lisas o rugosas, transparentes o de color amarillo verdoso a verde oscuro, a veces de apariencia angular, a veces truncadas en la base. (Aguilar et al., 2021)

2.2.4.1. Endosporios

Las endosporas son células especializadas y no reproductivas producidas por bacterias pertenecientes a la división Firmicutes. Su principal función es garantizar la supervivencia en condiciones ambientales adversas, ya que son altamente resistentes a la radiación (ultravioleta, X y gamma), la desecación, la lisozima, el calor, los desinfectantes químicos y la trituración mecánica. Estas endosporas son comunes en el suelo y el agua, donde pueden sobrevivir durante períodos prolongados. (Dávila, 2022) La estructura de una endospora es resistente a la mayoría de los agentes que normalmente serían letales para las células vegetativas. Aunque la mayoría de los productos de limpieza del hogar, alcoholes, compuestos de amonio y detergentes no tienen efecto sobre ellas, el óxido de etileno es eficaz para destruir las endosporas. Aunque son resistentes al calor y la radiación extrema, pueden ser eliminadas mediante tratamientos como la incineración o la esterilización en autoclave. (Dávila, 2022)

2.2.5. Hongos saprófitos

Son hongos descomponedores de la materia orgánica como madera, hojas, etc. Estos hongos, como la mayoría de ellos, necesitan de fuentes de Carbono, nitrógeno y compuestos inorgánicos como fuentes nutritivas, encontrando a la celulosa, hemicelulosa y lignina como su principal proveedor. (Polanco et al., 2019)

2.2.6. Píleo

En micología, sombrero es el nombre técnico del basidiocarpio o ascocarpio (cuerpo fructífero del hongo) que sostiene la superficie sobre la que se ubican las esporas, concretamente el himenio. (Polanco et al., 2019)

2.2.7. Himenio

El himenio es la parte fértil del basidiocarpio de los basidiomicetos y de los ascocarpos de los ascomicetos, formada por los basidios o ascas, que son las estructuras productoras de esporas. (Vallejos et al., 2019)

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Enfoque de la investigación

La investigación fue cuantitativa, debido a que las variables en estudio son cuantificables estadísticas; y según la manipulación de variables la presente investigación fue experimental por cuanto se aplicó tratamientos a las unidades experimentales, para evaluar la eficiencia de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium* spp.

3.2. Nivel de investigación

El nivel de investigación según el alcance del objetivo general y objetivos específicos es de tipo correlacional debido a que se van a relacionar dos variables.

3.3. Diseño de investigación

3.3.1. Según las intervenciones en el trabajo de campo

El estudio se realizó en las instalaciones de los laboratorios de la Facultad de Recursos Naturales, para mantener condiciones ambientales controladas, dichos laboratorios se encuentran ubicados de acuerdo con el sistema WGS 84 a 1°39'06" Latitud Sur y 78°37'10" de longitud Occidental.

3.3.2. Tipo de estudio

El desarrollo de la presente investigación fue de tipo exploratoria y explicativa, debido a que permito experimentar los determinantes de relación causa efecto entre las variables *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium* spp. bajo condiciones controladas.

3.3.3. Población y planificación, selección y cálculo del tamaño de la muestra

3.3.3.1. Localización de estudio

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio Biología de la Facultad de Recursos Naturales

de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.



Ilustración 3-1: Laboratorios de la Facultad de Recursos Naturales

Realizado por: Otavalo J., 2024.

3.3.3.2. Población de estudio

La población de estudio son las colonias de *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp., en las que se emplearon cajas de Petri por tratamiento donde cada caja consistió en una unidad experimental de donde se obtengan las medias para la comparación estadística.

3.3.3.3. Tamaño de la muestra

No es necesario aplicar el tamaño de la muestra en el estudio debido a que las unidades experimentales se han definido considerando un número adecuado para realizar comparaciones estadísticas.

3.3.3.4. Materiales y equipos

Tabla 3-1: Materiales, equipos, reactivos e insumos

Materiales	Equipos	Reactivos e Insumos
Envases plásticos	Autoclave	Papa dextrosa agar PDA
Cajas Petri	Cámara de flujo laminar	NaCl
Parafilm	Microscopio óptico	Cloranfenicol
Pipetas	Incubadora	Alcohol 70%
Probetas	Mechero	Agua destilada
Tubos de Ensayo		Lacto Glicerol

Realizado por: Otavalo J., 2024.

3.3.4. Pruebas de antagonismo entre *Trichoderma spp* y *Fusarium spp* mediante el método de bioensayo dual.

3.3.4.1. Diseño experimental

Se utilizó el diseño completamente al azar (DCA), con 3 métodos de antagonismos y 3 repeticiones por cada método con un nivel de confianza de 5% en las pruebas de laboratorio, en el diseño completamente al azar (DCA), se realizó la prueba de Tukey.

Unidad Experimental: placa de Petri / Método de cultivo dual

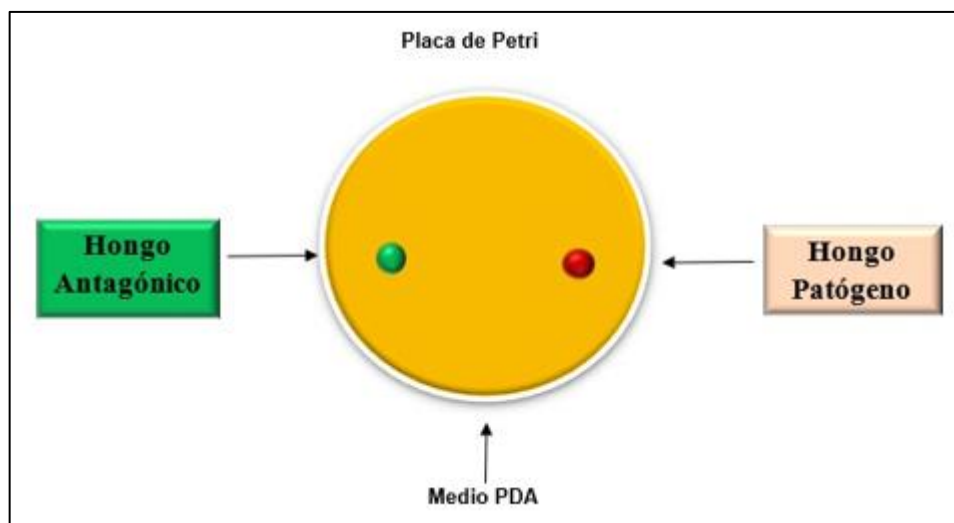


Ilustración 3-2: Esquema en que se indica la ubicación en la placa de Petri, el trozo de agar con micelio de *Trichoderma spp.* y *Fusarium spp.*

Realizado por: Otavalo J., 2024.

3.3.4.2. Proceso de aplicación de la técnica de cultivo dual

- Preparación del medio de cultivo: Preparar el medio de cultivo adecuado, en este caso, el medio PDA (Agar Papa-Dextrosa), siguiendo las instrucciones específicas de preparación.
- Siembra de los microorganismos: En una placa de Petri estéril, se realizó la siembra del antagonista (*Trichoderma spp.*) y del patógeno (*Fusarium spp.*). Se colocó un disco de 4 mm de diámetro de un cultivo puro de cada microorganismo en lados opuestos de la placa, separados por una distancia de 5 cm.

- Incubación: Se colocó la caja de Petri de cultivo en una incubadora a una temperatura (28 °C) y humedades adecuadas para ambos microorganismos.
- Observación del crecimiento: Durante el período de incubación, se realizó observaciones periódicas del crecimiento de las colonias de ambos microorganismos. Se registró cualquier cambio en el aspecto de las colonias, como cambios en el color, textura o presencia de halos de inhibición.
- Evaluación del antagonismo: Se evaluó el grado de antagonismo entre *Trichoderma* y *Fusarium*, mediante la observación de algún tipo de interacción entre las colonias, como inhibición del crecimiento de *Fusarium* por parte de *Trichoderma*.
- Análisis de resultados: Se comparó y analizó los resultados obtenidos, teniendo en cuenta el crecimiento y la interacción entre los microorganismos. Se evaluó si *Trichoderma* muestra algún tipo de control sobre *Fusarium* o si hay una respuesta de inhibición del patógeno.
- Interpretación de los resultados: Se realizó una interpretación de los resultados en función de los objetivos de la investigación, a través de la cuantificación de la capacidad de inhibición por parte de *Trichoderma* sobre el crecimiento de *Fusarium*.

3.3.4.3. Reactivación de cepas de antagonistas y patógenos

- Se reactivó 7 cepas diferentes de *Trichoderma* spp., 2 cepas diferente de *Fusarium* spp., de la colección existentes en el laboratorio de Biología de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH.
- Las 7 cepas de *Trichoderma* spp., se conservaron en agar PDA en refrigeración, fueron cultivadas en placas de Petri con medio de cultivo PDA y se colocaron en la incubadora a 28 °C por 5 días en oscuridad.
- Las 2 cepas de *Fusarium* spp., conservadas en agar PDA en refrigeración, fueron cultivadas en placas de Petri con medio de cultivo PDA y se colocaron en la incubadora a 28 °C por 10 días en oscuridad.

3.3.5. Método Dual

3.3.5.1. Preparación de los medios de cultivo

- Se diluyó 40 g de PDA en 1000 ml en agua destilada, para 69 cajas de Petri.
- Se esterilizó en autoclave durante 45 min a 121 C
- Se desinfectó la cámara de flujo laminar con alcohol, adicionalmente se colocó luz UV antes de dispensar el medio en las cajas de Petri.
- Se distribuyó 20 ml por caja.
- Se incubó por una noche a 28 C para secar y probar la esterilidad del medio.

3.3.5.2. Siembra dual

- Se realizaron confrontaciones mediante la técnica de cultivo dual entre patógenos y antagonistas, basados en *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* spp.
- Se sembró los discos de micelios *Fusarium* spp., y después de 3 días, se sembró los discos de micelios de *Trichoderma* spp., con un diámetro de 4 mm, ubicándolos en los extremos de las cajas de Petri, tomando en cuenta que, desde el borde de la caja Petri, se consideró dejar un espacio de 1 cm para poder realizar las medidas radiales de los hongos.
- Se incubó a 28 °C por 10 días en oscuridad.

3.3.6. Crecimiento micelial en la interacción *Trichoderma* vs *Fusarium*

- La toma de datos del crecimiento micelial de los hongos se las llevó a cabo cada día, o hasta observar que el antagonista crezca por encima del hongo patógeno y llenara por completo la superficie del medio PDA.
- Se evaluó el crecimiento micelial midiendo el diámetro en dirección vertical y horizontal del hongo patógeno y del antagonista.
- Los datos fueron ingresados en una hoja de Excel para seleccionar las cepas con mayor antagonismo contra el patógeno

3.3.6.1. Selección del mejor antagonista

Para determinar el mejor tratamiento inhibitor al patógeno se realizaron observaciones y mediciones diametrales de los micelios, o hasta que la caja Petri se llene.

Pruebas de antagonismo entre *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. mediante el método de placa precolonizada.

Diseño experimental - Unidad Experimental: placa de Petri.

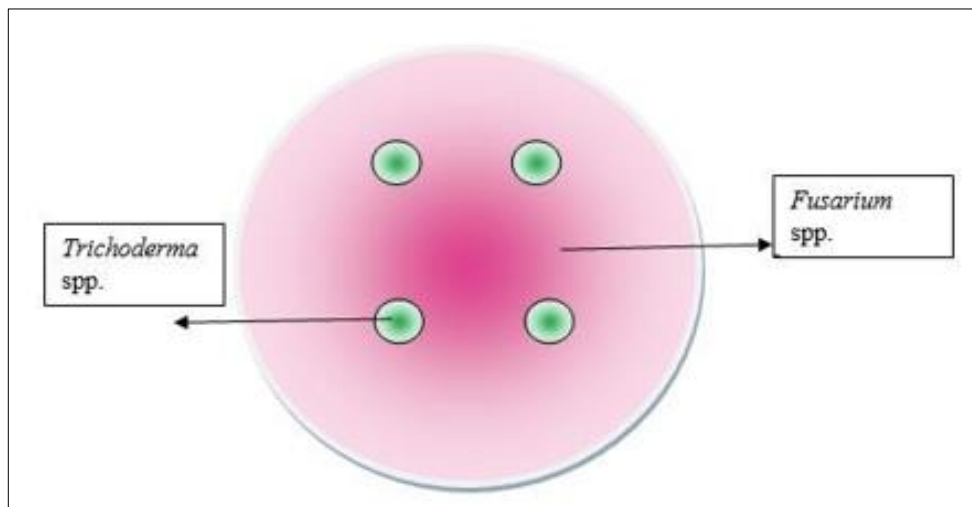


Ilustración 3-3: Esquema del establecimiento del método de placa precolonizada

Realizado por: Otavalo J., 2024.

3.3.6.2. Método: Placa precolonizada Preparación de los medios de cultivo

- Se diluyó 40 g de PDA en 1000 ml en agua destilada, para 55 cajas de Petri.
- Se esterilizó en autoclave durante 45 min a 121 °C.
- Se desinfectó la cámara de flujo laminar con alcohol, adicionalmente se colocó luz UV antes de dispensar el medio en las cajas de Petri.
- Se distribuyó 20 ml por caja.
- Se incubó por una noche a 28 °C para secar y probar la esterilidad del medio.

3.3.6.3. Siembra

- Se utilizó placas colonizada con *Trichoderma* spp.
- Se añadió 10 ml de agua destilada estéril sobre placas colonizada con *Trichoderma* spp.
- Con la ayuda de un asa Driglaski de vidrio se realizó varios raspados sobre la superficie de placas colonizado hasta remover las hifas de *Trichoderma* spp.
- Se realizó una dilución de 10^7 , para tomar 0,5 ml y se colocó 4 gotas sobre la caja colonizada por *Fusarium* spp.

3.3.6.4. Pruebas de antagonismo in vitro mediadas por compuestos volátiles de *Trichoderma* spp. contra *Fusarium* spp.

Diseño experimental - Unidad Experimental: placa de Petri.

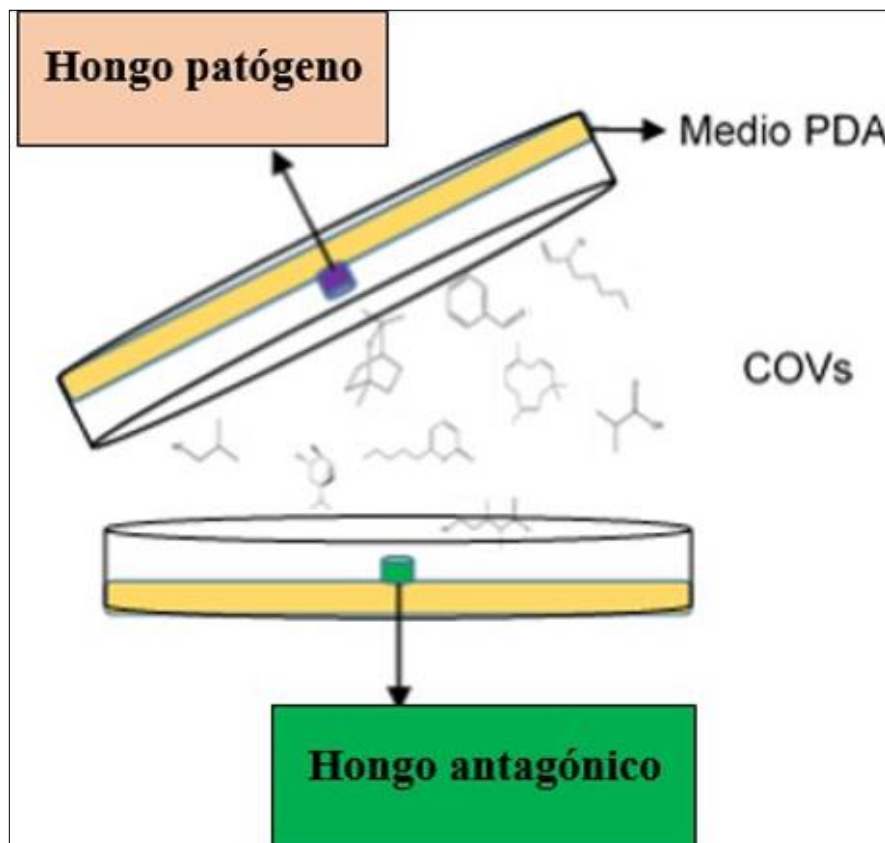


Ilustración 3-4: Esquema del método de antagonismo por compuestos volátiles

Realizado por: Otavalo J., 2024.

3.3.7. Método: por compuestos volatilizados

3.3.7.1. Preparación de los medios de cultivo

- Se diluyó 87 g de PDA y 2 capsulas de cloranfenicol en 2220 ml en agua destilada, para 111 cajas de Petri.
- Se esterilizó en autoclave durante 45 min a 121 °C.
- Se desinfectó la cámara de flujo laminar con alcohol, adicionalmente se colocó luz UV antes de dispensar el medio en las cajas de Petri.
- Se distribuyó 20 ml por caja.
- Se incubó por una noche a 28 °C para secar y se probó la esterilidad del medio.

3.3.7.2. Siembra

- Se sembró los discos de micelios de *Fusarium* spp., con un diámetro de 4 mm, con la ayuda de un sacabocado esterilizado ubicándolos en el centro de las cajas de Petri.
- En otras cajas de Petri se inoculó un disco de 4 mm de *Trichoderma* spp. de acuerdo con el número de cepas del patógeno y al número de repeticiones
- Una vez culminada esta fase, retirar las tapas que cubren las cajas de *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp.
- Se enfrentaron las placas dejando en la parte superior a *Fusarium* spp.
- Se colocaron en la incubadora a 28 °C por 10 días en oscuridad.

3.3.7.3. Análisis de datos

- El análisis de datos del crecimiento de los hongos *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. bajo condiciones controladas, como alternativa al uso de plaguicidas de síntesis química, puede implicar los siguientes pasos:
- Medición del crecimiento: Se registró el crecimiento de las colonias de *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. durante 10 días, para lo cual se midió el creciente radial de las colonias.
- Comparación de velocidades de crecimiento: Se calculó la tasa de crecimiento diario de cada uno de los hongos. Se comparó la velocidad de crecimiento de *Trichoderma* spp. con la de *Fusarium* spp.
- Evaluación del antagonismo: Se observó si hay algún efecto de inhibición o supresión del crecimiento de *Fusarium* spp. debido a la presencia de *Trichoderma* spp. Esto se puede evidenciar mediante una menor velocidad de crecimiento de *Fusarium* spp.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Capacidad antagonista de 7 cepas de *Trichoderma* spp. sobre 2 cepas de *Fusarium* spp.

4.1.1. Determinación del tipo de antagonismo

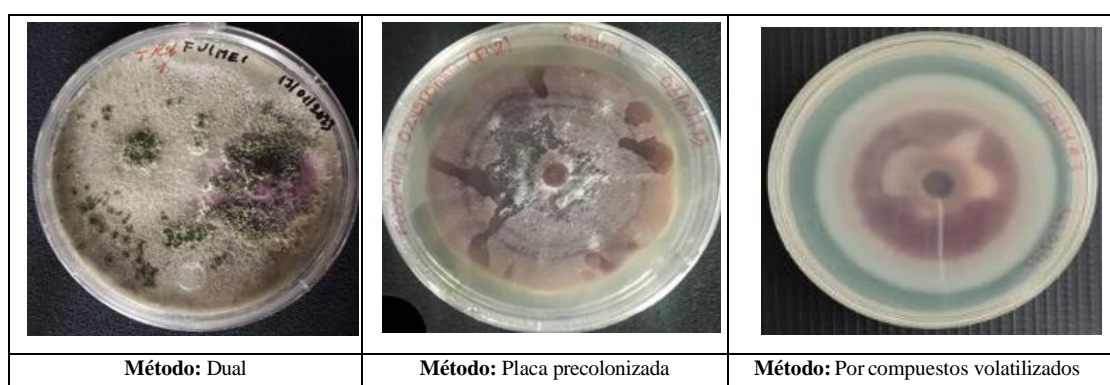


Ilustración 4-1: Capacidad antagonista 7 cepas de *Trichoderma* spp. sobre 2 cepas de *Fusarium*

Realizado por: Otavalo J., 2024.

4.1.1.1. Análisis de varianza para crecimiento radial en cm de dos cepas de *Fusarium* en tres métodos de antagonismo con siete cepas de *Trichoderma* a los siete días.

De acuerdo con el análisis de varianza para crecimiento radial en cm de dos cepas de *Fusarium* en tres métodos de antagonismo con siete cepas de *Trichoderma* a los siete días, es altamente significativo para tratamientos. Según el análisis de varianza correspondiente, el crecimiento micelial de *Fusarium* spp. en la Tabla 2-4, presentó altos niveles significativos, con un valor de 0,0001.

Tabla 4-1: Análisis de varianza para crecimiento radial de dos cepas de *Fusarium* en tres métodos de antagonismo con siete cepas de *Trichoderma* a los siete días

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Significancia
TRATAMIENTO	86,59	41	2,11	887,06	< 0,0001	**
ERROR	0,20	84	2,4E-03			
TOTAL	86,79	125				
CV: 1,97						

Realizado por: Otavalo J., 2024.

Donde:

F.V.: Factor de Variación

SC: suma de cuadrados total\

gl: grados de libertad

CM: cuadrado medio

p-valor: probabilidad al 5%

CV: Coeficiente de variación

Nota:

p-valor: $> 0,01$ y $> 0,05 = ns$ (No significativo)

p-valor: $> 0,01$ y $< 0,05 = *$ (Significativo)

p-valor: $< 0,01$ y $< 0,05 = **$ (Altamente significativo)

Fusarium incluye especies que se encuentran comúnmente en el suelo y que obtienen nutrientes de la materia orgánica y las raíces de las plantas. Los aportes de nutrientes al suelo suelen disiparse rápidamente debido a la presencia de una gran cantidad de microorganismos. Por tanto, la mayoría de los hongos forman estructuras resistentes y permanecen latentes. En el caso de *Fusarium*, algunas de sus especies forman clamidosporas que son estructuras resistentes que germinan únicamente en presencia de residuos vegetales o raíces. Las esporas de *Chlamyd* pueden sobrevivir por largos períodos incluso en condiciones desfavorables para el crecimiento de las hifas. (Vargas, 2019)

Fusarium es hongo patógeno un colonizador agresivo y competitivo en comparación con otras especies de hongos filamentosos (Beckman, 1987) y puede invadir el tejido cortical externo de las raíces a través de las puntas de las raíces y de las heridas. Este primer paso determina si el patógeno invadirá el sistema vascular. Las cepas no patógenas pueden colonizar las raíces, pero no causan enfermedades porque no pueden invadir el sistema vascular de la planta debido a una fuerte combinación de interacciones celulares, fortalecimiento de estructuras tisulares específicas de la planta y respuestas de defensa de la planta. sí. Esto último ocurre cuando el hongo invade un huésped inespecífico, donde permanece y forma nuevas clamidosporas, aumentando su capacidad para sobrevivir en el suelo. (Vargas, 2019)

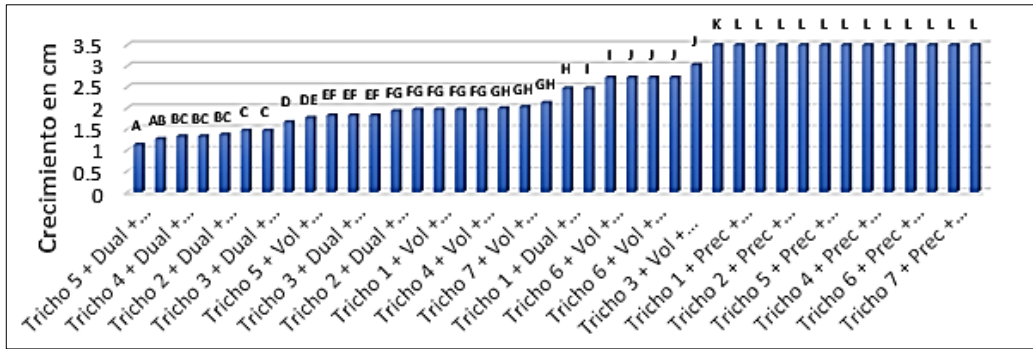


Ilustración 4-2: Prueba de Tukey al 5% para crecimiento radial en cm de dos cepas de *Fusarium*

Realizado por: Otavalo J., 2024.

La prueba de Tukey al 5% demuestra que las 2 cepas de *Fusarium* alcanzaron los máximos crecimientos con el método de caja precolonizada, lo cual significa que *Fusarium* una vez establecido, *Trichoderma* no realiza ningún control. Diferente del tratamiento *Trichoderma-Fusarium*-método dual, donde se observa el menor crecimiento de *Fusarium*, lo cual implica que *Trichoderma* creció sustancialmente, representada por la letra A

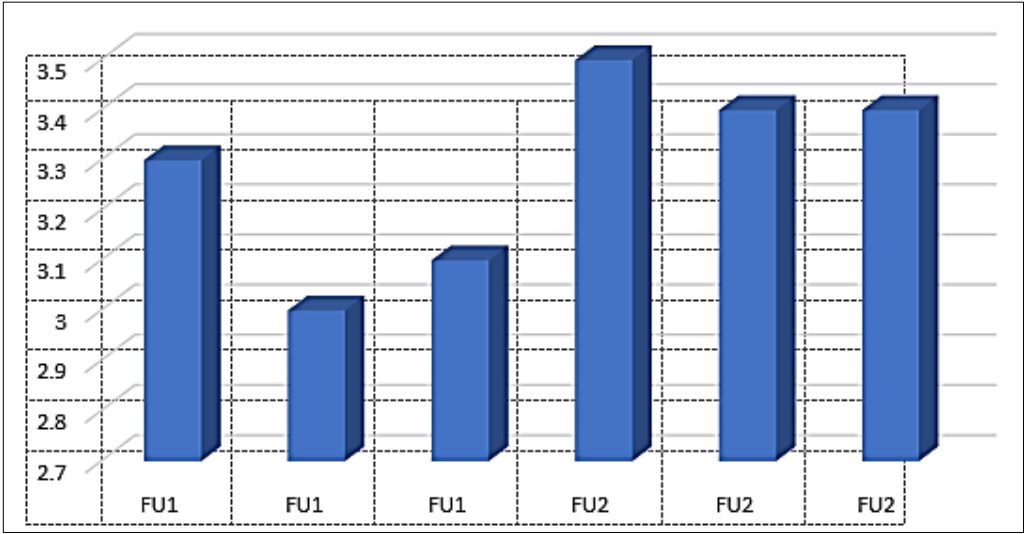


Ilustración 4-3: Prueba de Tukey al 5% para crecimiento radial en cm de dos cepas de *Fusarium* en tres métodos de antagonismo

Realizado por: Otavalo J., 2024.

4.2. Análisis de varianza para crecimiento radial en cm de siete cepas de *Trichoderma* en tres métodos de antagonismo con dos cepas de *Fusarium* a los tres días

De acuerdo con el análisis de varianza para crecimiento radial en cm de siete cepas de *Trichoderma* en tres métodos de antagonismo con dos cepas de *Fusarium* a los siete días, es altamente significativo para tratamientos. Según el análisis de varianza correspondiente, el crecimiento micelial de *Trichoderma* spp. en la Tabla 3-4, presentó altos niveles significativos, con un valor de 0,0001.

Tabla 4-2: Análisis de varianza para crecimiento radial en cm de siete cepas de *Trichoderma*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Significancia
TRATAMIENTO	268,95	41	6,56	1197,88	< 0,0001	**
ERROR	0,46	84	0,01			
TOTAL	269,41	125				
CV: 3,12						

Realizado por: Otavalo J., 2024.

Donde:

F.V: Factor de Variación **SC:** suma de cuadrados total \ **gl:** grados de libertad

CM: cuadrado medio

p-valor: probabilidad al 5%

CV: Coeficiente de variación

Nota:

p-valor: > 0,01 y > 0,05 = ns (No significativo)

p-valor: > 0,01 y < 0,05 = * (Significativo)

p-valor: < 0,01 y < 0,05 = ** (Altamente significativo)

Trichoderma es uno de los microorganismos beneficiosos con diversos mecanismos de acción que ejercen efectos biorreguladores. Además, tienen la capacidad de competir por el espacio, desarrollarse rápidamente, tolerar condiciones ambientales extremas y parasitar y controlar hongos, nematodos y otros patógenos vegetales. (Andrade-Hoyos et al., 2023)

Estudios realizados por Harán et al. (1996) descubrieron que *Trichoderma* es capaz de hacer esto. *F. oxysporum* produce enzimas como polisacáridos, proteasas y lipasas que participan en la degradación de la pared celular de f.sp. Involucrado. *Radicis-Lycopersici*. Como Juan et al. (2010) demostraron la capacidad de *T. viride* como agente de biocontrol de *F. oxysporum f. sp azuki* y *Pythium arrhenomanes* y como promotor del crecimiento vegetal en experimentos in vitro y de campo en plantas de soja. Además, encontraron una reducción en la gravedad de la enfermedad asociada a la destrucción del epitelio del patógeno por *T. viride* y una aceleración del crecimiento vegetal en plantas tratadas con el microorganismo. (Morato & Cardona, 2021)

Las especies de *Trichoderma* han sido ampliamente estudiadas durante décadas y se utilizan como biofertilizantes y agentes de control biológico en la agricultura (Gupta et al., 2014). El mecanismo de acción incluye la capacidad de actuar como antibiótico frente a patógenos vegetales, como lo demuestra el efecto inhibitorio de los COV producidos por *Trichoderma gamsii*, como se muestra en el estudio de Chen et al. (2016). Estos incluyen los ejercidos por los COV. En estudios contra diversos patógenos vegetales estudiados, incluido *Fusarium flocciferum*, se logró una inhibición del 46% del crecimiento radial. Entre los compuestos identificados mediante cromatografía de gases combinada con espectrometría de masas (CG-MS) se encuentran disulfuro de dimetilo, dibenzofurano, metanotiol y cetonas, que pueden funcionar como inhibidores químicos de hongos patógenos. Lo encontré. Por otro lado, la actividad biológica debida únicamente a los COV producidos por el hongo *T. viride* frente al hongo fitopatógeno *Fusarium spp.* en lanzamiento. Se han comparado tres métodos de extracción de COVs emitidos por DC9 (FIF025) y *Colletotrichum gloeosporioides* 26B, así como el hongo *T. viride*. (Ramírez, 2019)

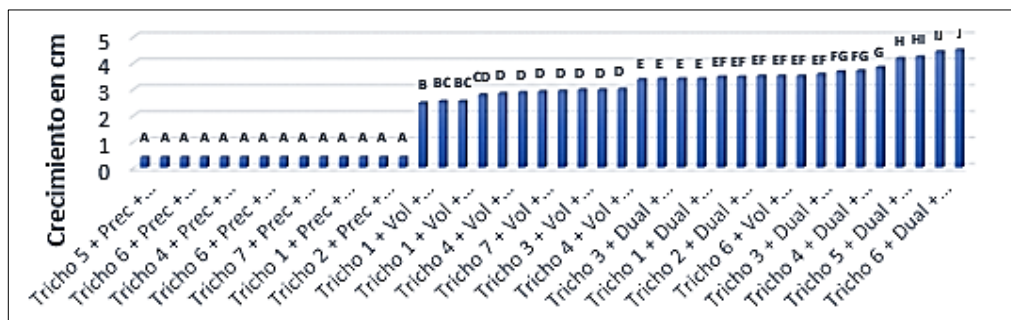


Ilustración 4-4: Prueba de Tukey al 5% para crecimiento radial en cm de siete cepas de *Trichoderma* en tres métodos de antagonismo

Realizado por: Otavalo J., 2024.

La prueba de Tukey al 5% demuestra que las 2 cepas de *Fusarium* fueron controladas mejor por las cepas de *Trichoderma* cuando se utilizó el método dual, representados por las letras E-J, las cuales fueron similar a los controles, diferente de los tratamientos *Trichoderma*-Placa

precolonizada- *Fusarium*, con los menores crecimientos de 0.4 cm, representados por la letra A.

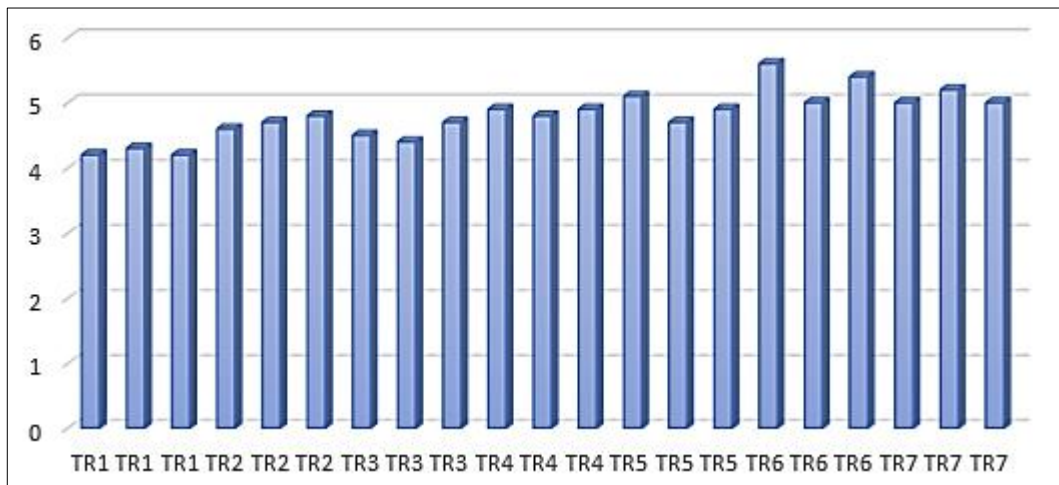


Ilustración 4-5: Control de siete cepas de *Trichoderma* en tres métodos de antagonismo con dos cepas de *Fusarium* a los tres días

Realizado por: Otavalo J., 2024.

Trichoderma spp. cepa TR1

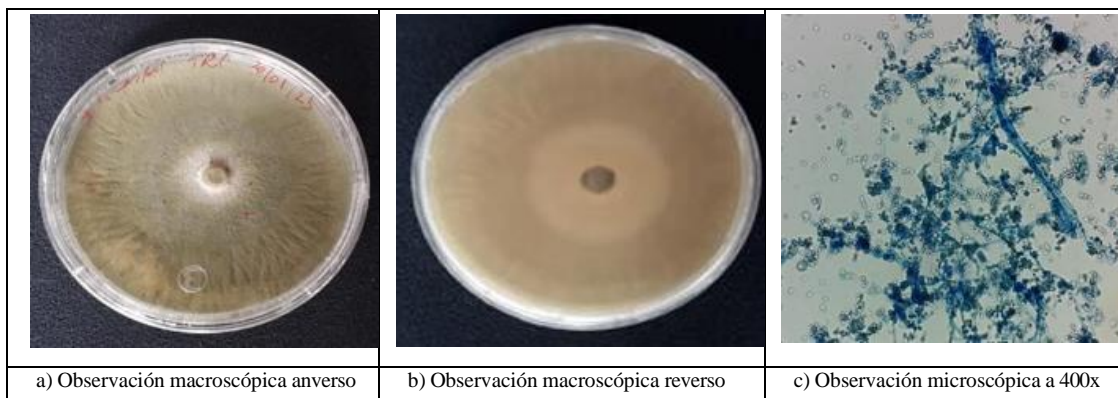


Ilustración 4-6: Caracterización morfológica de cepas *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp.

TR1

Realizado por: Otavalo J., 2024.

La cepa de *Trichoderma* spp. TR1 creció rápidamente en medio de cultivo PDA a 28°C. Inicialmente se observó en el anverso como el reverso una coloración blanca de textura lanosa.

Posteriormente presentó una tonalidad verde-amarillenta, márgenes ondulados, textura principalmente semi compacta lanosa, con pigmentación amarilla difusa del medio. Se observó conidióforos con ramas principales largas a su vez estas tienen algunas ramas cortas delgadas e irregulares con fiáldes individuales de forma cilíndrica al menos sin cuello estrecho y conidios

de forma ovalada, lisas de color verde claro. Basado en las características culturales y morfológicas de las cepas de *Trichoderma*. El TR1 obtenido en el estudio fue similar al reportado por Martínez et al. (2023), los aislados de *Trichoderma* tuvieron las siguientes características generales: colonias inicialmente blancas, uniformemente redondas y de rápido crecimiento que se volvieron verdes o azules después de 72 h; colonias septadas y transparentes cuando se observan con un aumento de 1000x, hifas, racimos comprimidos piramidales de conidióforos transparentes, tallos vítreos centrales alargados y expandidos y conidios ovaladas con paredes ligeramente rugosas.

Trichoderma spp. cepa TR2

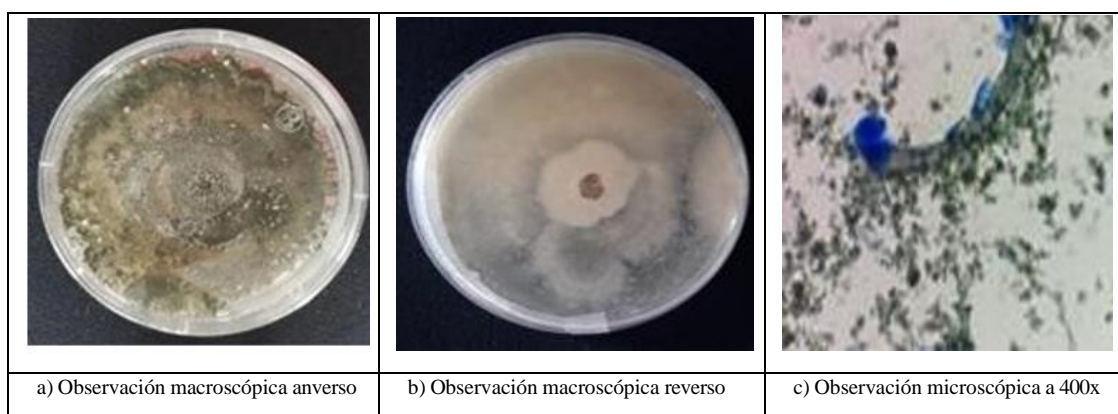


Ilustración 4-7: Caracterización morfológica cepas de *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. TR2

Realizado por: Otavalo J., 2024.

La cepa de *Trichoderma* spp. TR2 creció rápidamente en medio de cultivo PDA a 28 °C. Inicialmente se observó en el anverso como el reverso una coloración blanca de textura lanosa.

Posteriormente presentó una tonalidad verde oscura, márgenes ondulados, textura principalmente semi compacta lanosa, sin pigmentación amarilla difusa del medio. Se observó conidióforos largos con muchas fiálides individuales de forma cilíndrica al menos sin cuello estrecho. Los conidios de forma ovaladas, lisas de color verde oscuro. Basado en las características culturales y morfológicas de las cepas de *Trichoderma*. El TR1 obtenido en el estudio fue similar al reportado por Martínez et al. (2023), los aislados de *Trichoderma* tuvieron las siguientes características generales: colonias inicialmente blancas, uniformemente redondas y de rápido crecimiento que se volvieron verdes o azules después de 72 h; colonias septadas y transparentes cuando se observan con un aumento de 1000x, hifas, racimos comprimidos piramidales de conidióforos transparentes, tallos vítreos centrales alargados y expandidos y conidios ovaladas con paredes ligeramente rugosas.

Trichoderma spp. cepa TR3

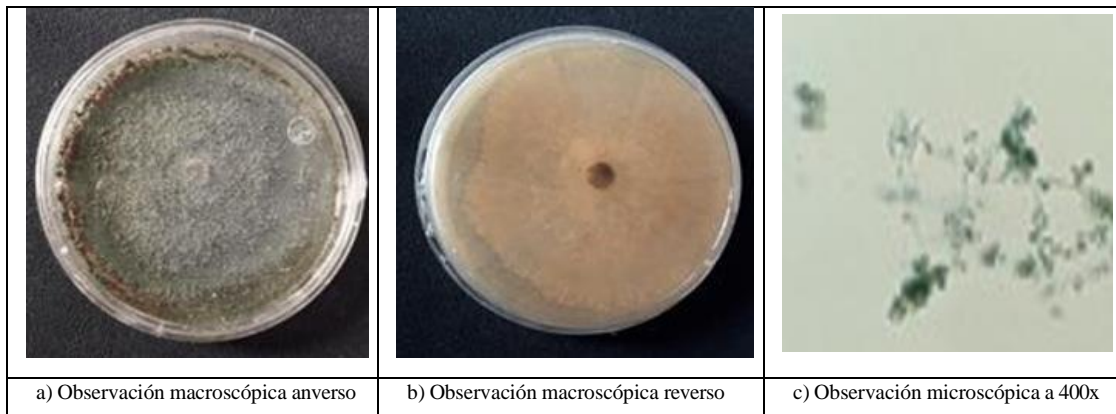


Ilustración 4-8: Caracterización morfológica cepas de *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. TR3

Realizado por: Otavalo J., 2024.

La cepa de *Trichoderma* spp. TR3 creció rápidamente en medio de cultivo PDA a 28°C. Inicialmente se observó en el anverso como el reverso una coloración blanca de textura lanosa.

Posteriormente presentó una tonalidad verde-amarillenta, márgenes ondulados, textura principalmente semi compacta lanosa, con pigmentación amarilla difusa del medio. Se observó conidióforos largos con fiálides individuales de forma lageniforme al menos sin cuello estrecho.

Conidios de forma ovalada, lisas de color verde oscuro. Basado en las características culturales y morfológicas de las cepas de *Trichoderma*. El TR3 obtenido en el estudio fue similar al reportado por Martínez et al. (2023), los aislados de *Trichoderma* tuvieron las siguientes características generales: colonias inicialmente blancas, uniformemente redondas y de rápido crecimiento que se volvieron verdes o azules después de 72 h; colonias septadas y transparentes cuando se observan con un aumento de 1000x, hifas, racimos comprimidos piramidales de conidióforos transparentes, tallos vítreos centrales alargados y expandidos y conidios ovaladas con paredes ligeramente rugosas.

Trichoderma spp. cepa TR4

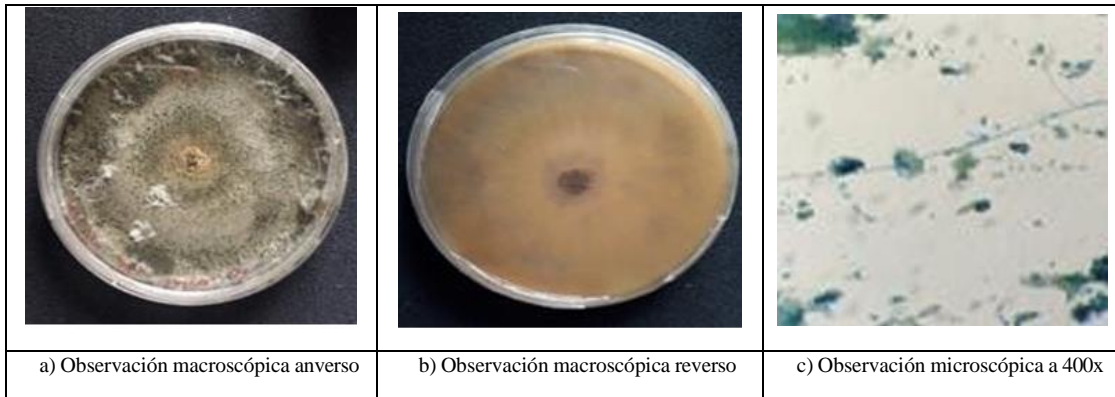


Ilustración 4-9: Caracterización morfológica cepas de *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. TR4

Realizado por: Otavalo J., 2024.

La cepa de *Trichoderma* spp. TR4 creció rápidamente en medio de cultivo PDA a 28°C. Inicialmente se observó en el anverso como el reverso una coloración blanca de textura lanosa. Posteriormente presentó una tonalidad verde oscura, márgenes ondulados, textura principalmente semi compacta lanoso, sin pigmentación amarilla difusa del medio. Se observó conidióforos largos con muchas fiálides individuales de forma cilíndrica al menos sin cuello estrecho. Conidios de forma ovaladas, lisas de color verde oscuro. Basado en las características culturales y morfológicas de las cepas de *Trichoderma*. El TR4 obtenido en el estudio fue similar al reportado por Martínez et al. (2023), los aislados de *Trichoderma* tuvieron las siguientes características generales: colonias inicialmente blancas, uniformemente redondas y de rápido crecimiento que se volvieron verdes o azules después de 72 h; colonias septadas y transparentes cuando se observan con un aumento de 1000x, hifas, racimos comprimidos piramidales de conidióforos transparentes, tallos vítreos centrales alargados y expandidos y conidios ovaladas con paredes ligeramente rugosas.

Trichoderma spp. cepa TR5

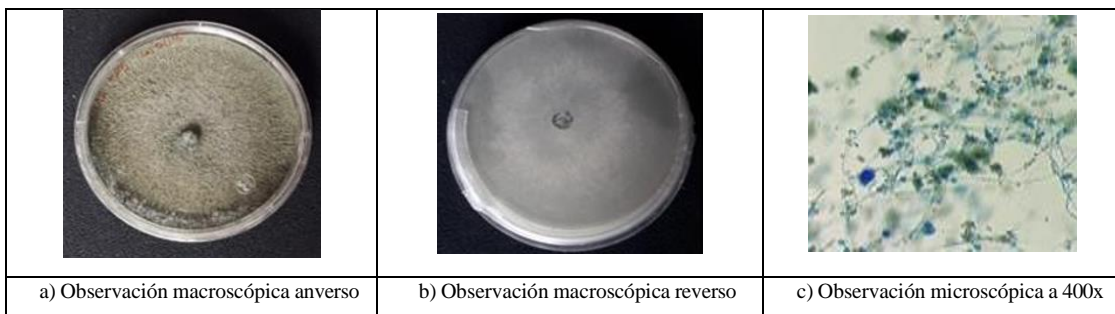


Ilustración 4-10: Caracterización morfológica cepas *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. TR5

Realizado por: Otavalo J., 2024.

La cepa de *Trichoderma* spp. TR5 creció rápidamente en medio de cultivo PDA a 28°C. Inicialmente se observó en el anverso como el reverso una coloración blanca de textura lanosa.

Posteriormente presentó una tonalidad verde-blanca, márgenes ondulados, textura principalmente semi compacta lanoso, con pigmentación amarilla difusa del medio. Se observó conidióforos largos con fiálides individuales de forma lageniforme al menos sin cuello estrecho. Los conidios de forma ovalada, lisas de color verde oscuro. Basado en las características culturales y morfológicas de las cepas de *Trichoderma*. El TR5 obtenido en el estudio fue similar al reportado por Martínez et al. (2023), los aislados de *Trichoderma* tuvieron las siguientes características generales: colonias inicialmente blancas, uniformemente redondas y de rápido crecimiento que se volvieron verdes o azules después de 72 h; colonias septadas y transparentes cuando se observan con un aumento de 1000x, hifas, racimos comprimidos piramidales de conidióforos transparentes, tallos vítreos centrales alargados y expandidos y conidios ovaladas con paredes ligeramente rugosas.

Trichoderma spp. cepa TR6

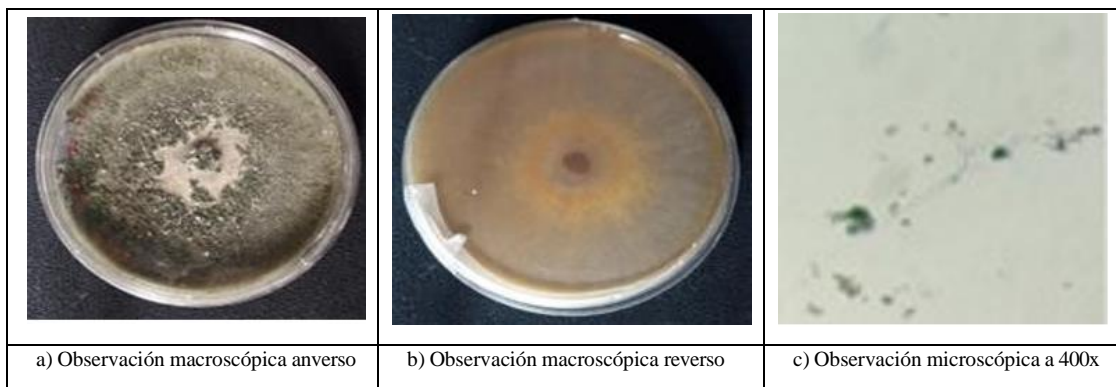


Ilustración 4-11: Caracterización morfológica cepas *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. TR6

Realizado por: Otavalo J., 2024.

La cepa de *Trichoderma* spp. TR6 creció rápidamente en medio de cultivo PDA a 28°C. Inicialmente se observó en el anverso como el reverso una coloración blanca de textura lanosa. Posteriormente presentó una tonalidad verde-amarillenta, márgenes ondulados, textura principalmente semi compacta lanosa, con pigmentación amarilla difusa del medio. Se observó conidióforos largos con fiálides individuales de forma lageniforme al menos sin cuello estrecho.

Los conidios de forma ovalada, lisas de color verde oscuro. Basado en las características culturales y morfológicas de las cepas de *Trichoderma*. El TR6 obtenido en el estudio fue similar al reportado por Martínez et al. (2023), los aislados de *Trichoderma* tuvieron las siguientes características generales: colonias inicialmente blancas, uniformemente redondas y de rápido

crecimiento que se volvieron verdes o azules después de 72 h; colonias septadas y transparentes cuando se observan con un aumento de 1000x, hifas, racimos comprimidos piramidales de conidióforos transparentes, tallos vítreos centrales alargados y expandidos y conidios ovaladas con paredes ligeramente rugosas.

Trichoderma spp. cepa TR7

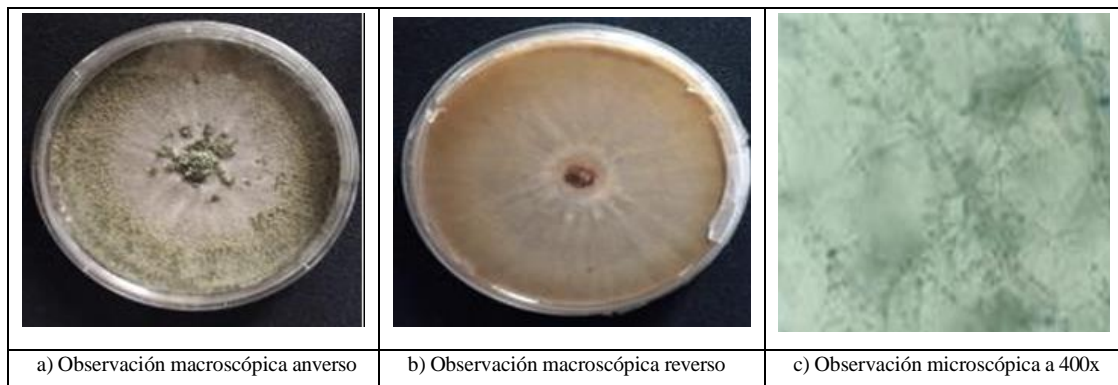


Ilustración 4-12: Caracterización morfológica cepas *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. TR7

Realizado por: Otavalo J., 2024.

La cepa de *Trichoderma* spp. TR7 creció rápidamente en medio de cultivo PDA a 28°C. Inicialmente se observó en el anverso como el reverso una coloración blanca de textura lanosa. Posteriormente presentó una tonalidad verde-amarillenta, márgenes ondulados, textura principalmente semi compacta lanosa, con pigmentación amarilla difusa del medio. Se observó conidióforos largos con fiálides individuales de forma lageniforme al menos sin cuello estrecho.

Los conidios de forma ovalada, lisas de color verde oscuro. Basado en las características culturales y morfológicas de las cepas de *Trichoderma*. El TR7 obtenido en el estudio fue similar al reportado por Martínez et al. (2023), los aislados de *Trichoderma* tuvieron las siguientes características generales: colonias inicialmente blancas, uniformemente redondas y de rápido crecimiento que se volvieron verdes o azules después de 72 h; colonias septadas y transparentes cuando se observan con un aumento de 1000x, hifas, racimos comprimidos piramidales de conidióforos transparentes, tallos vítreos centrales alargados y expandidos y conidios ovaladas con paredes ligeramente rugosas.

Trichoderma spp. cepa TR8

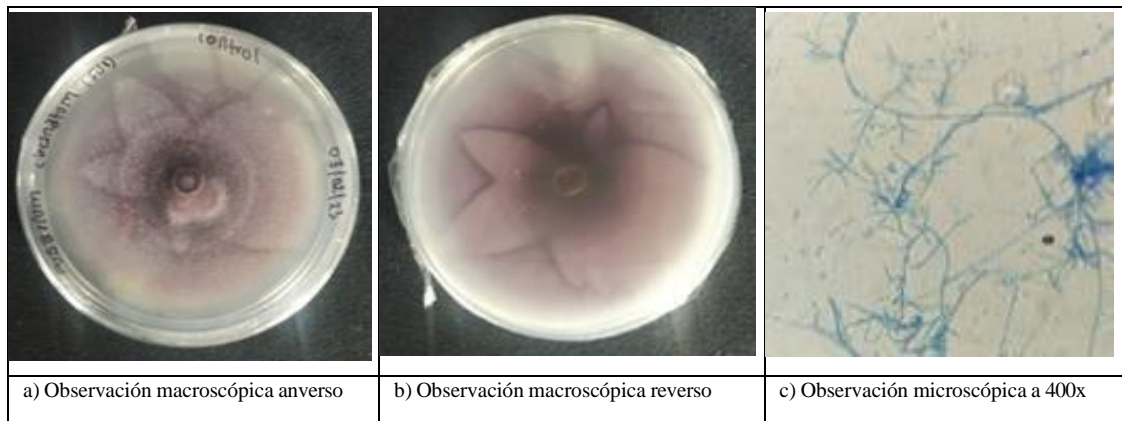


Ilustración 4-13: Caracterización morfológica cepas de *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. TR8

Realizado por: Otavalo J., 2024.

La cepa de *Fusarium* spp. FU1 creció lentamente en medio de cultivo PDA a 28°C. Inicialmente, el color blanco inicial del micelio se observó en el anverso y el reverso, pero con el tiempo se volvió de color rojo violeta. Entre las características microscópicas se observó la presencia de clamidosporas y formación de esporodoquios. Las características anteriores concuerdan con las reportadas por García- Díaz et al. (2016), en la muestra evaluada de *Fusarium* circinatum se presentó hifas algodonosas, blanco y coloración con pigmentación violeta intensa en PDA, microconidias ovaladas sin septos.

Trichoderma spp. cepa TR9

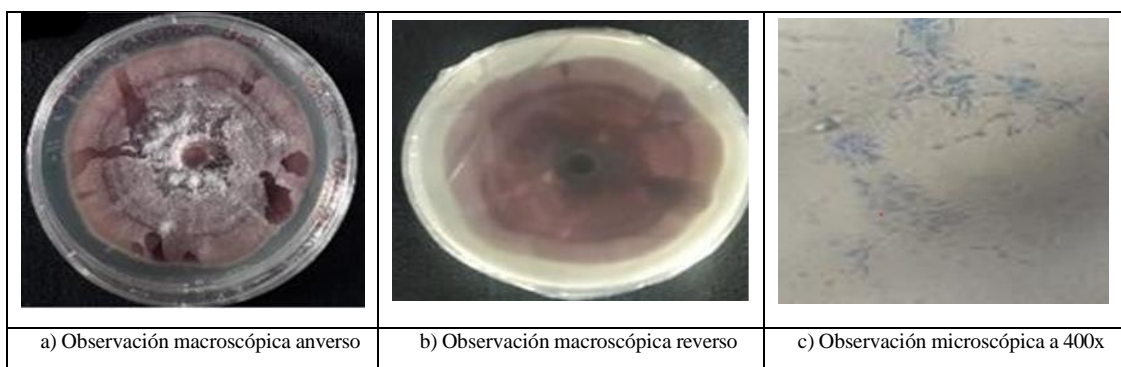


Ilustración 4-14: Caracterización morfológica cepas *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. TR9

Realizado por: Otavalo J., 2024.

La cepa de *Fusarium* spp. FU2 creció lentamente en medio de cultivo PDA a 28°C. Inicialmente, el color blanco inicial del micelio se observó en el anverso y el reverso, pero con el tiempo se volvió de color rojo-violeta. Entre las características microscópicas se observó la presencia de clamidosporas y formación de esporodoquios. Las características antes descritas concuerdan con

las reportadas por García-Díaz et al., (2016), en la muestra evaluada de *Fusarium circinatum* se presentó micelio algodonoso, blanco y coloración con pigmentación violeta intensa en PDA, microconidias ovales sin septos.

4.3. Discusión

Como objetivo específico se consideró determinar la capacidad antagónica de 7 cepas de *Trichoderma* sobre 2 cepas de *Fusarium* spp., según Vargas (2019), afirma que *Trichoderma* bajo condiciones de laboratorio es capaz de presentar distintos grados de inhibición; en *Fusarium oxysporum*. Así mismo *Trichoderma harzianum* por acción de las enzimas hidrolíticas que produce, inhibe la germinación de esporas y elongación de las hifas de varios hongos, entre ellos *Fusarium solani* y *Fusarium gramineum*.

En los resultados encontrados en la presente investigación se observó que las 2 cepas de *Fusarium* fueron controladas mejor por las cepas de *Trichoderma* cuando se utilizó el método dual, representados por las letras E-J, las cuales fueron similar a los controles, diferente de los tratamientos *Trichoderma*-Placa precolonizada-*Fusarium*, con los menores crecimientos de 0.4 cm, representados por la letra A.

Los resultados de este estudio se compararon con un estudio de antagonismo "in vitro" realizados por Ramírez-Olier et al. (2019), quienes utilizaron un método de cultivo dual para determinar el antagonismo in vitro y evaluaron el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PIRG) y el grado de parasitismo fúngico (grado 0-4). Se encontró que ambos aislados producían 100% de PIRG y parasitismo fúngico en etapa 4 en cultivos duales contra *F. oxysporum*, y GRB-HA2 causó 84% de PIRG y parasitismo fúngico en etapa 4 contra *F. oxysporum*. Por lo tanto, estos *T. aspergillus* muestra potencial para el control biológico de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos.

Establecer el mejor mecanismo de antagonismo de 7 cepas de *Trichoderma* sobre 2 cepas de *Fusarium* spp., según Vargas (2019), menciona que *Fusarium* spp. es un colonizador agresivo y competitivo en comparación con otras especies de hongos filamentosos, es capaz de penetrar en el tejido cortical externo de la raíz a través de las puntas de las raíces o de heridas.

En los resultados encontrados en la presente investigación se observó que las 2 cepas de *Fusarium* alcanzaron los máximos crecimientos con el método de caja precolonizada, lo cual significa que *Fusarium* una vez establecido, *Trichoderma* no realiza ningún control. Diferente del tratamiento

Trichoderma-Fusarium-método dual, donde se observa el menor crecimiento de *Fusarium*, lo cual implica que *Trichoderma* creció sustancialmente, representada por la letra A.

Los resultados de este estudio fueron comparados con un estudio de antagonismo “in vitro” realizado por Díaz (2016), quien mencionó que no se presentó ningún parasitismo fúngico con este método de caja precolonizada, es decir, *Trichoderma harzianum* no logró colonizar el micelio superficial de *F. redolens* y *F. oxysporum*. Tampoco hay evidencia de que las hifas de *T. harzianum* penetren o envuelvan las hifas de *F. redolens* y *F. oxysporum*, lo que indica que esta cepa de *Trichoderma* no tiene capacidad fúngica para micoparasitar este fitopatógeno. Este comportamiento puede deberse a la quitina de la pared celular de *F. redolens* y *F. oxysporum* está recubierto de una capa proteica que impide su degradación por la quitinasa y la β -1-3-glucanasa producidas por *Trichoderma harzianum*, lo que dificulta el control de esta cepa en las últimas etapas de la infección por *Fusarium*.

CONCLUSIONES

- Todas las cepas de *Trichoderma* evaluadas tienen un efecto inhibitor significativo sobre el crecimiento de *Fusarium* spp. La eficacia de *Trichoderma* puede variar dependiendo de las condiciones específicas del tratamiento.
- Las 2 cepas de *Fusarium* fueron controladas mejor por las cepas de *Trichoderma* cuando se utilizó el método dual, las cuales fueron similar a los controles, diferente de los tratamientos *Trichoderma*-Placa precolonizada-*Fusarium*, con los menores crecimientos de 0.4 cm.
- En el método caja precolonizada se observó que las 2 cepas de *Fusarium* alcanzaron los máximos crecimientos, lo cual significa que *Fusarium* una vez establecido, *Trichoderma* no realiza ningún control. Diferente del tratamiento *Trichoderma*-*Fusarium*-método dual, donde se observa el menor crecimiento de *Fusarium*.
- La caracterización morfológica revela similitudes en las características de *Trichoderma* spp., como una tonalidad verde-oscuro en la mayoría de las cepas y la textura algodonosa del micelio, así como la forma alargada y el color verde-amarillenta de los conidios. Sin embargo, la identificación precisa requiere métodos moleculares adicionales. En cuanto a *Fusarium* spp., se encontraron diferencias en la forma de los conidios, aunque ambos comparten el color, blanco y coloración con pigmentación violeta intensa del micelio y los conidios.
- El uso de metabolitos volátiles y la interacción directa entre *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. pueden afectar el desarrollo y la reproducción de *Fusarium* spp.; *Trichoderma* spp. puede competir con *Fusarium* spp. por nutrientes y espacio, para producir enzimas antifúngicas y desencadenar respuestas de defensa en las plantas hospederas.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios adicionales para investigar la eficacia de las cepas de *Trichoderma* en diferentes condiciones y evaluar su capacidad para controlar *Fusarium* spp. en diferentes cultivos.
- Se recomienda utilizar el método dual como estrategia preferida para el control de *Fusarium* spp. en futuros estudios y aplicaciones prácticas.
- Se recomienda realizar análisis morfológicos detallados de las cepas de *Trichoderma* y *Fusarium* para comprender mejor los cambios estructurales y las interacciones entre ambos organismos durante el antagonismo.

BIBLIOGRAFÍA

1. **AGUILAR, R., ARÉVALO, C., MORALES, A. y GALECIO, M.** Fungi associated with necrosis of vascular bundles in organic banana crop: Symptoms, isolation and identification, and integrated management alternatives. *Scientia Auricularia*, vol. 12, no. 2, ISSN 23066741. DOI 10.17268/SCI.AGROPECU.2021.028.
2. **ALABOUVETTE, C., OLIVAIN, C. & STEINBERG, C.** Biological control of plant diseases: The European situation. *European Journal of Plant Pathology*, vol. 114, no. 3, ISSN 09291873. DOI 10.1007/s10658-005-0233-0.
3. **ANDRADE ET AL,** Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de Chile. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 10, no. 6.
4. **ANDRADE ET AL,** Ecological and biological benefits of the cosmopolitan fungus *Trichoderma* spp. in agriculture: A perspective in the Mexican countryside. *Revista Argentina de Microbiología*, ISSN 03257541. DOI 10.1016/j.ram.2023.06.005.
5. **ARBELÁEZ, G.,** Some aspects of *Fusarium* genus and the *Fusarium oxysporum* species. *Agronomía Colombiana*, vol. 17, no. 7.
6. **CHAUDHARY ET AL,** Biocontrol and growth enhancement potential of *Trichoderma* spp. Against *Rhizoctonia solani* causing sheath blight disease in rice. *Journal of Environmental Biology*, vol. 41, no. 5, ISSN 23940379. DOI 10.22438/JEB/41/5/MRN-1303.
7. **DÁVILA, A.,** Antagonismo de cepas de *Trichoderma* spp. aisladas de suelos agrícolas de Galápagos a diferentes hongos patógenos.
8. **DÍAZ ALULEMA, E.V.,** "Evaluación in vitro de la actividad de *Trichoderma* spp. Sobre *Fusarium* spp. Como alternativa al uso de fungicidas químicos que producen contaminación [en línea]. S.l.: s.n. [consulta: 5 noviembre 2023]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/handle/123456789/6193>.
9. **FICH, E., SEGERSON, N. & ROSE, J.,** The Plant Polyester Cutin: Biosynthesis, Structure, and Biological Roles. *Annual Review of Plant Biology*, vol. 67, ISSN 15452123. DOI 10.1146/annurev-arplant-043015-111929.
10. **GARCÉS, E., OROZCO, M., BAUTISTA, G. & VALENCIA, H.,** *Fusarium oxysporum*

the fungus that one should know. *Acta biológica colombiana*, vol. 6, no.1.

11. **GARCÍA ET AL**, Aprobado: junio. *Publicado como ARTÍCULO en Agro ciencia* [en línea], vol. 51, [consulta: 7 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/302/30249773004.pdf>
12. **GORDON, T.**, Annual Review of Phytopathology Fusarium oxysporum and the Fusarium Wilt Syndrome. [en línea], DOI 10.1146/annurev-phyto-080615. Disponible en: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615->.
13. **HARMAN, G., HOWELL, C., VITERBO, A., CHET, I. & LORITO, M.**, *Trichoderma species* - Opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Review Microbiología*, vol. 2, no. 1, ISSN 17401526. DOI 10.1038/nrmicro797.
14. **LÓPEZ, Y., PINEDA, J., HERNÁNDEZ, A. & ULACIO, D.**, Efecto diferencial de seis aislamientos de *Trichoderma* sobre la severidad de *Rhizoctonia solani*, desarrollo radical y crecimiento de plantas de maíz. *Bioagro*, vol. 22, no. 1.
15. **LORITO, M., WOO, S., HARMAN, G. & MONTE, E.**, Translational research on *Trichoderma*: From 'omics to the field. *Annual Review of Phytopathology*, vol. 48, ISSN 00664286. DOI 10.1146/annurev-phyto-073009-114314.
16. **MARTÍNEZ, D., COCA, B., DELGADO, B. & DUQUE, Y.**, Caracterización morfo – cultural y variabilidad genética y molecular de aislamientos de *Trichoderma*. *redalyc.org* [en línea], vol. 25. Disponible en: <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v25i2.1890>.
17. **MORATO, L.D.D. & CARDONA, M.B.B.** Resistance induction of tomato (*Solanum lycopersicum L.*) and antagonism of *Trichoderma viride* against *Fusarium oxysporum*. *Acta Agronomica*, vol. 70, no. 1, ISSN 23230118. DOI 10.15446/acag. v70n1.78357.
18. **POLANCO, L., ALVARADO, O., PÉREZ, O., GONZÁLEZ, R. & OLIVARES, E.** Hongos asociados con la muerte regresiva de los cítricos en Nuevo León y Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 10, no. 4.
19. **RAMÍREZ ALARCÓN, S.M** Compuestos orgánicos volátiles de *Trichodermaspp.* con actividad biocontrolador sobre el patógeno *Fusarium oxysporumf. sp.* [en línea]. Colombia:

Universidad Nacional de Colombia. [consulta: 5 noviembre 2023]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/77894>.

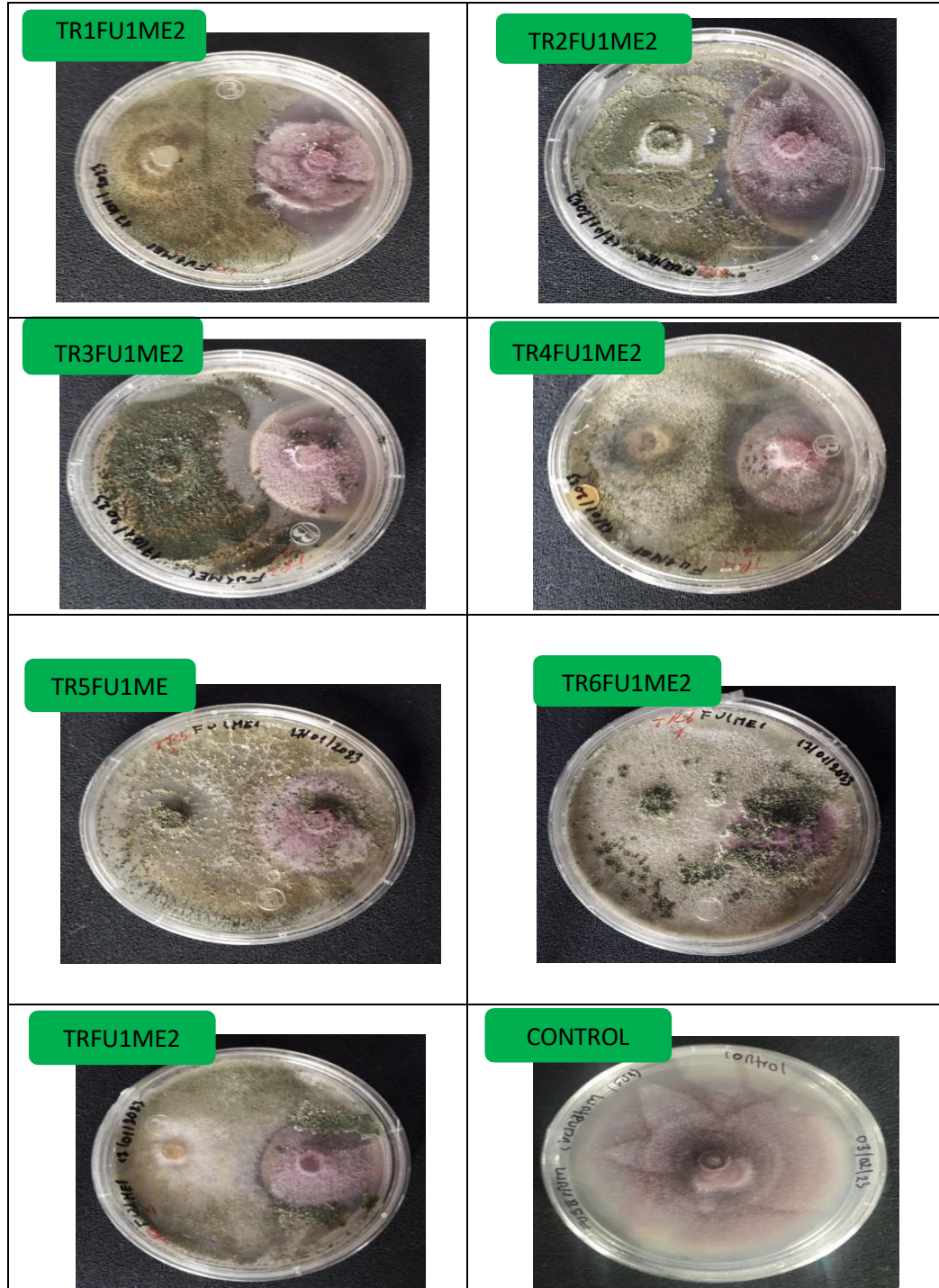
20. **RAMÍREZ ET AL.** Curvularia lunata, and Fusarium oxysporum. *Revista UIS Ingenierías* [en línea], vol. 18. ISSN 1657-4583. DOI 10.18273/revuin.v18n2-2019015. Disponible en: <https://doi.org/10.18273/revuin.v18n2-2019015>.
21. **RONDOY, M. & SEVERINO, N.** Antagonistic capacity of Trichoderma harzianum compared to Rhizotecnia, Nakataea sigmoidea, Sclerotium rolfsii and its effect in native strains of Trichoderma isolated form rice crops. *Scientia Auricularia*, vol. 10, no. 2, ISSN 23066741. DOI 10.17268/sci.agropecu.2019.02.05.
22. **SHORESH, M. & HARMAN, G.E.** The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to Trichoderma harzianum T22 inoculation of the root: A proteomic approach. *Plant Physiology*, vol. 147, no. 4, ISSN 15322548. DOI 10.1104/pp.108.123810.
23. **SHORESH, M., YEDIDIA, I. & CHET, I.** Involvement of jasmónico acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by Trichoderma spirillum T203. *Phytopathology*, vol. 95, no. 1, ISSN 0031949X. DOI 10.1094/PHYTO-95-0076.
24. **SUMAN, A., NATH YADAV, A. & VERMA, P.** Endophytic microbes in crops: Diversity and beneficial impact for sustainable agriculture. *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity: Vol. 1: Research Perspectives*. S.l.: Springer India, pp. 117-143. ISBN 9788132226475.
25. **VALLEJOS, G., ARÉVALO, L., ILIQUIN, I. & SOLIS, R.** Field response of coffee clones to inoculation with consortium of arbuscular mycorrhizal fungi in the Amazonas Region, Peru. *Informacion Tecnologica*, vol. 30, no. 6, ISSN 07180764. DOI 10.4067/S0718
26. **VARGAS VERA, R.H.** [en línea]. S.l.: s.n. [consulta: 5 noviembre 2023]. Disponible en: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3260144>.
27. **VINALE, F. ET AL.,** Trichoderma plant pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 40, no. 1, ISSN 00380717. DOI 10.1016/j.soilbio.2007.07.002.

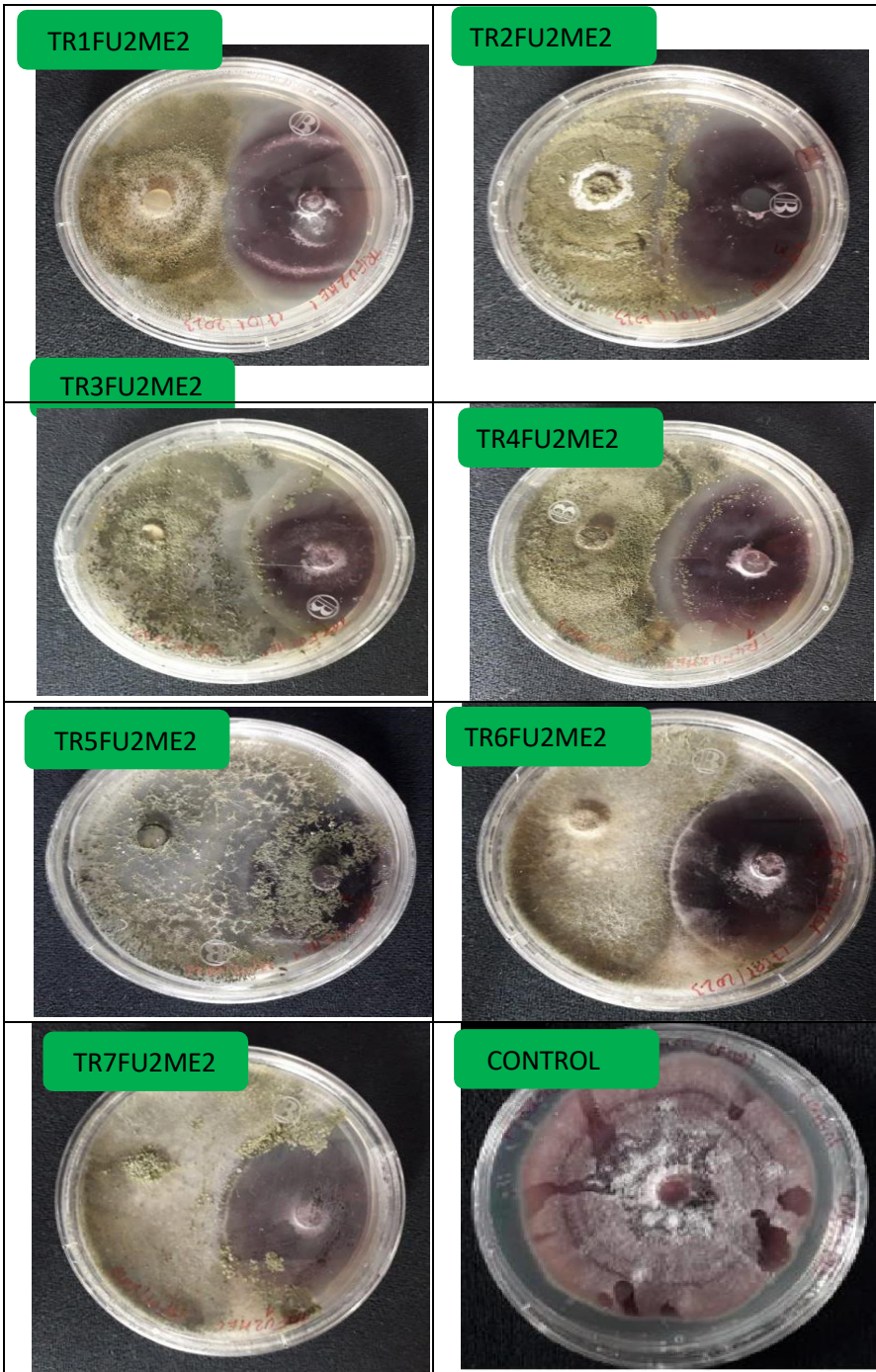


ANEXOS

ANEXO A: MÉTODO DUAL

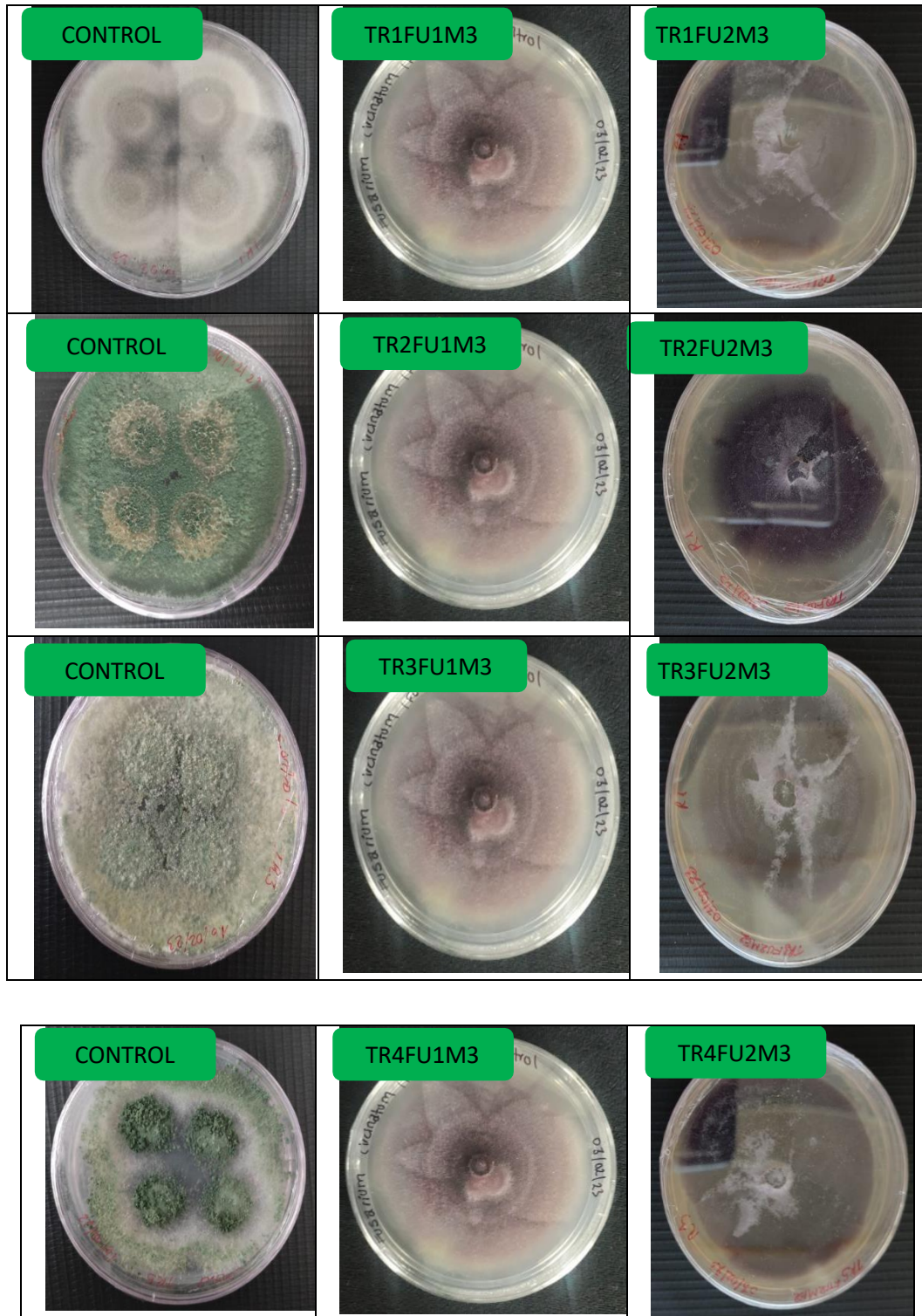
Antagonismo de 7 cepas de *Trichoderma* spp. frente a 2 cepas de *Fusarium* spp.

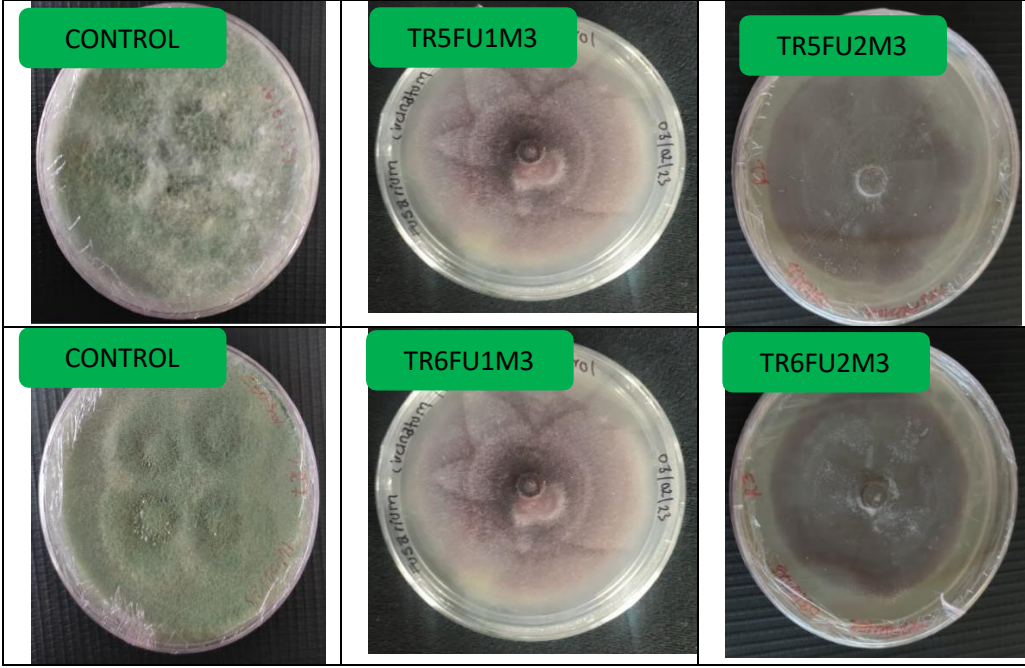




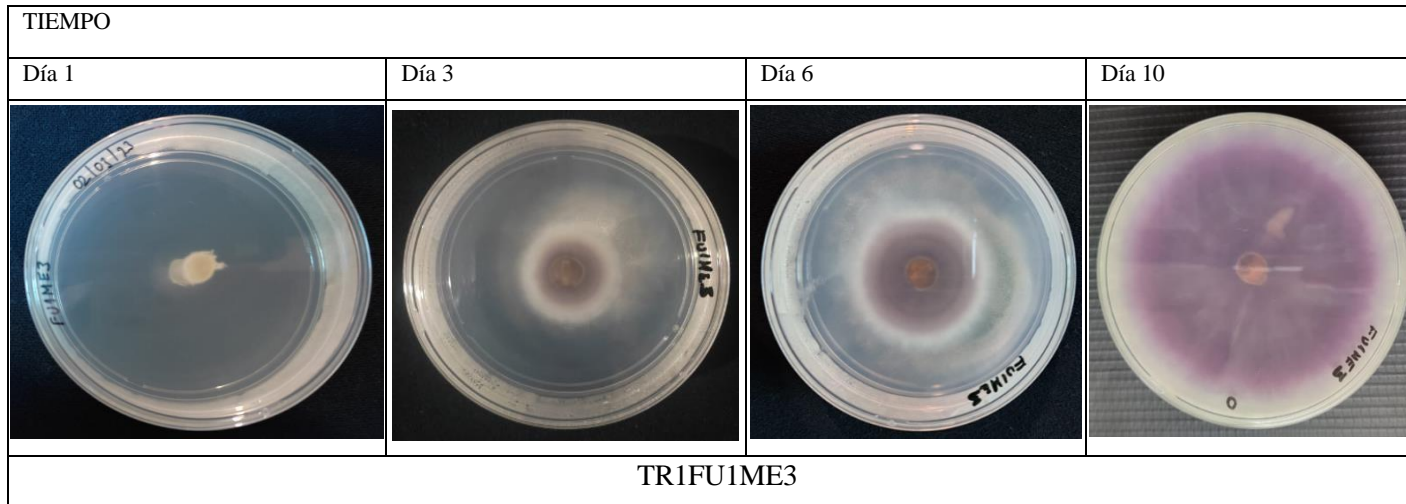
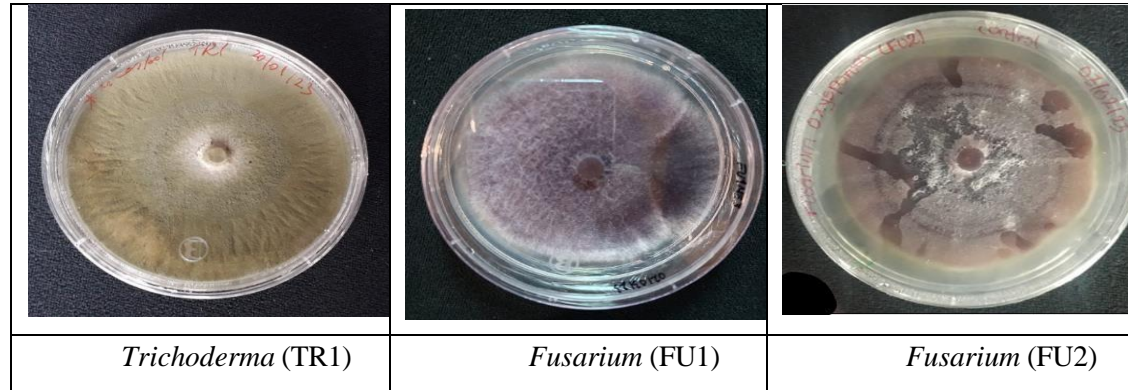
ANEXO B: PLACA PRECOLONIZADA

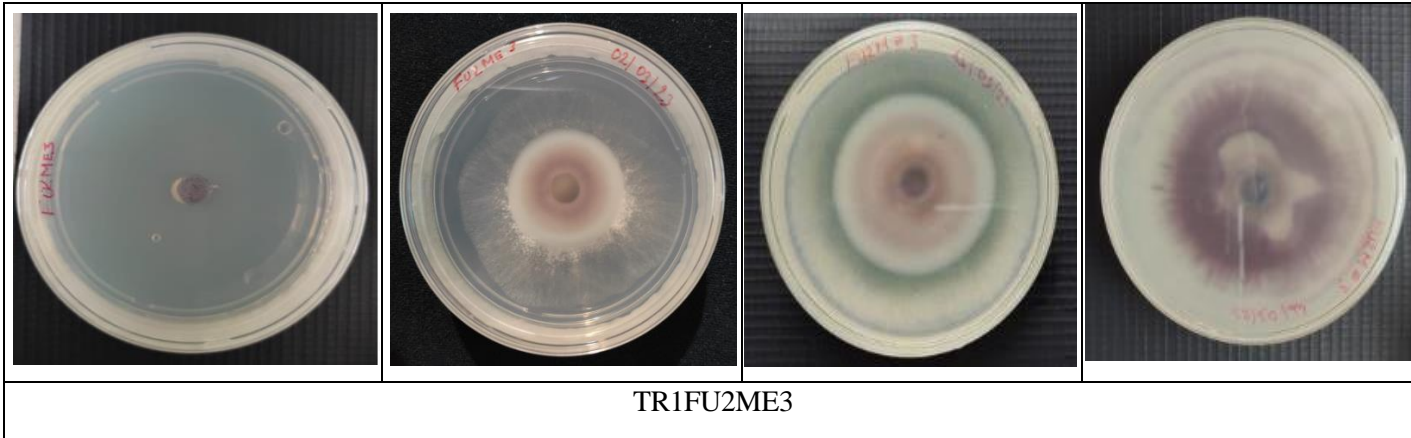
Antagonismo de 7 cepas de *Trichoderma* spp. frente a 2 cepas de *Fusarium* spp.



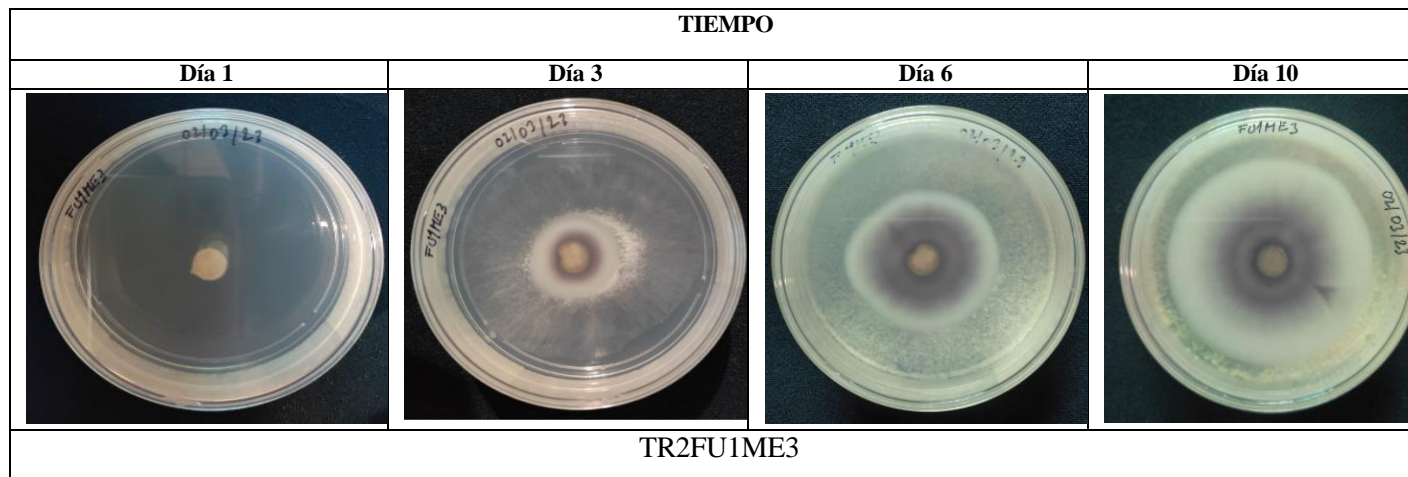
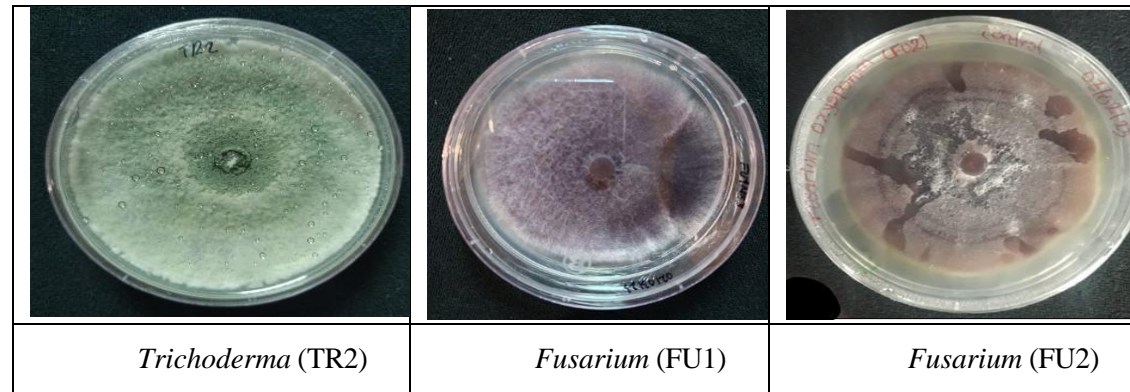


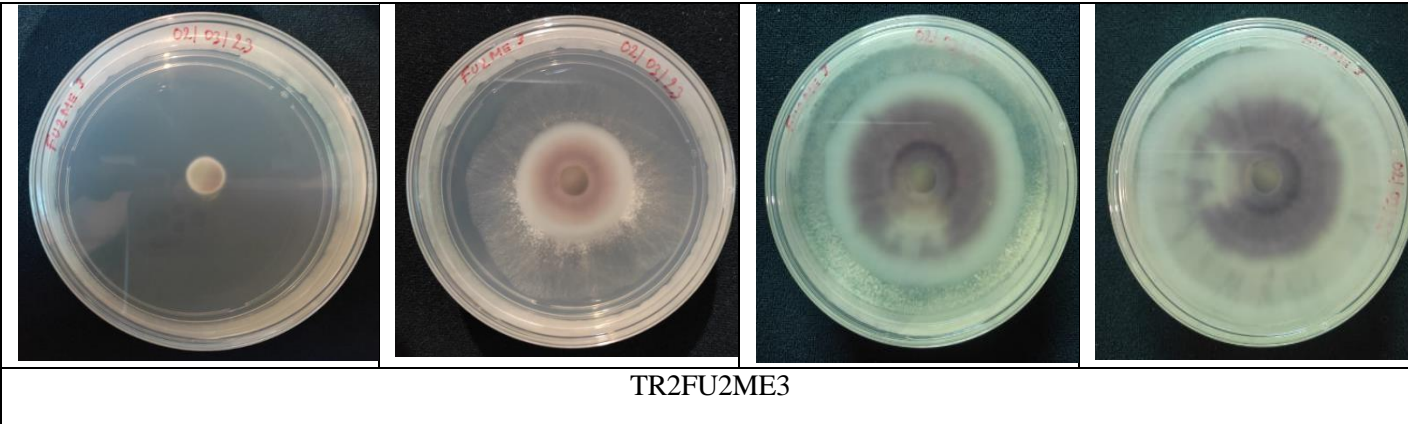
ANEXO C: MÉTODO POR VOLÁTILES



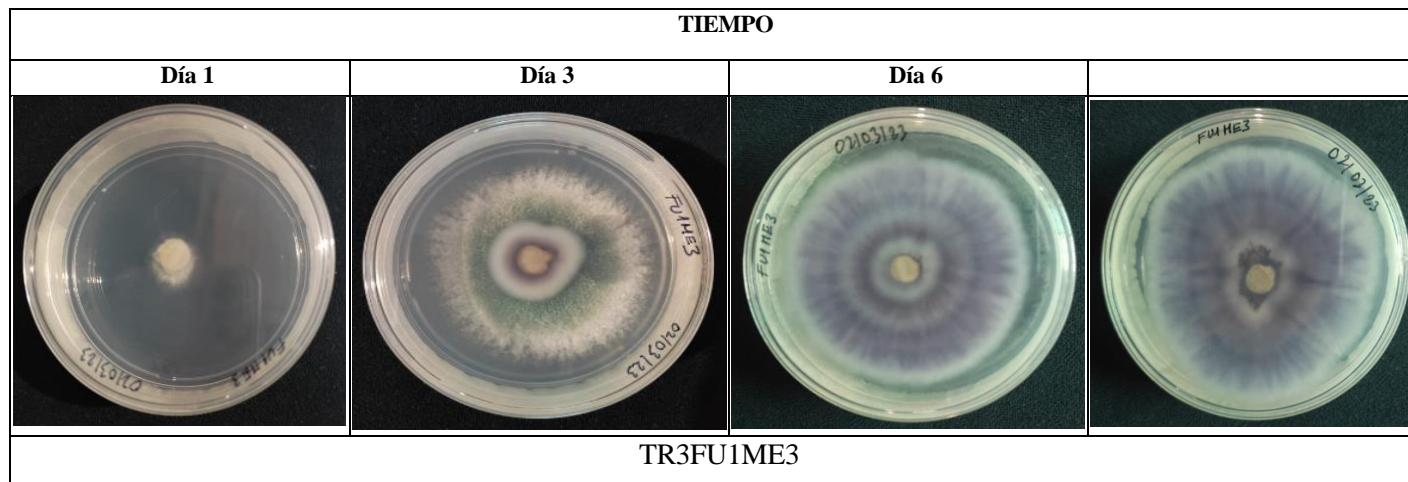
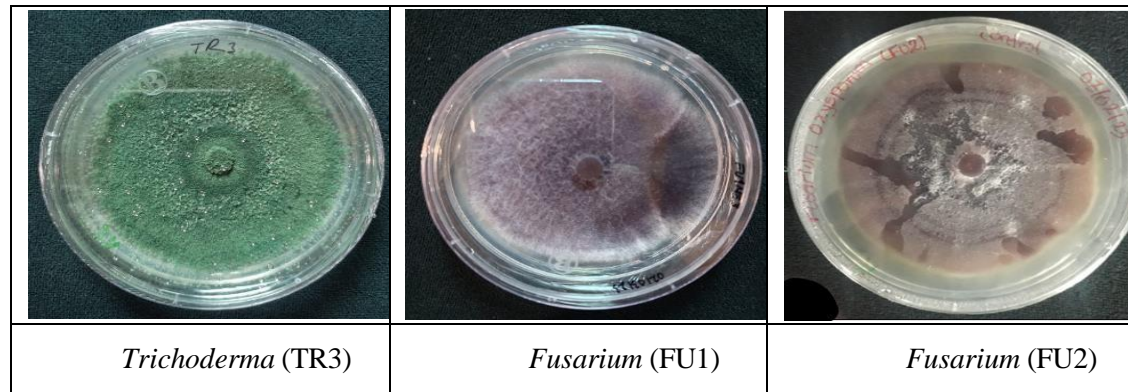


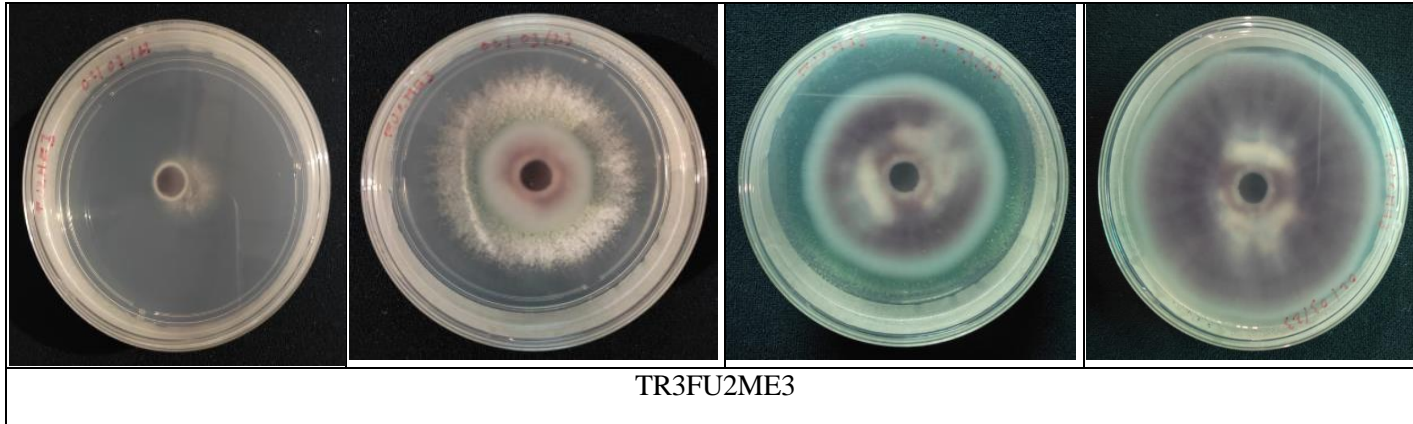
ANEXO D: ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES (COVs) Producidos Por *Trichoderma* Spp. (Tr1) Frente A *Fusarium* Spp. (Fu1, Fu2)



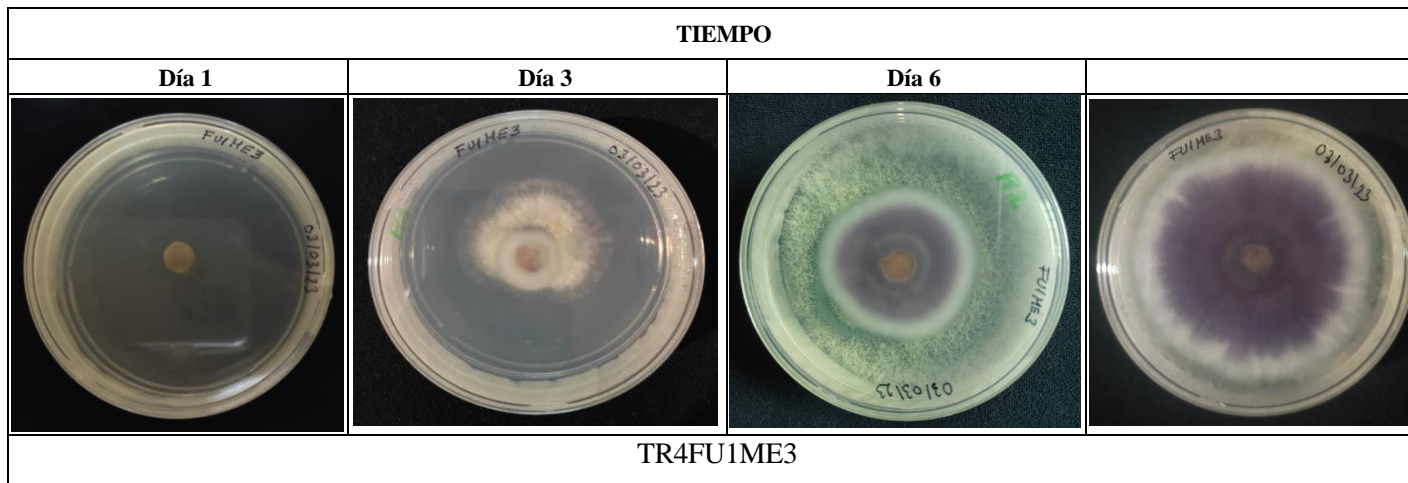
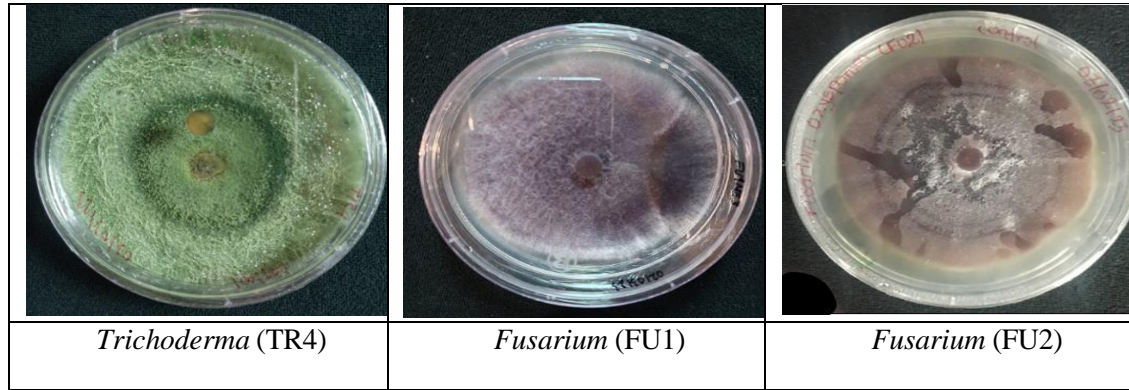


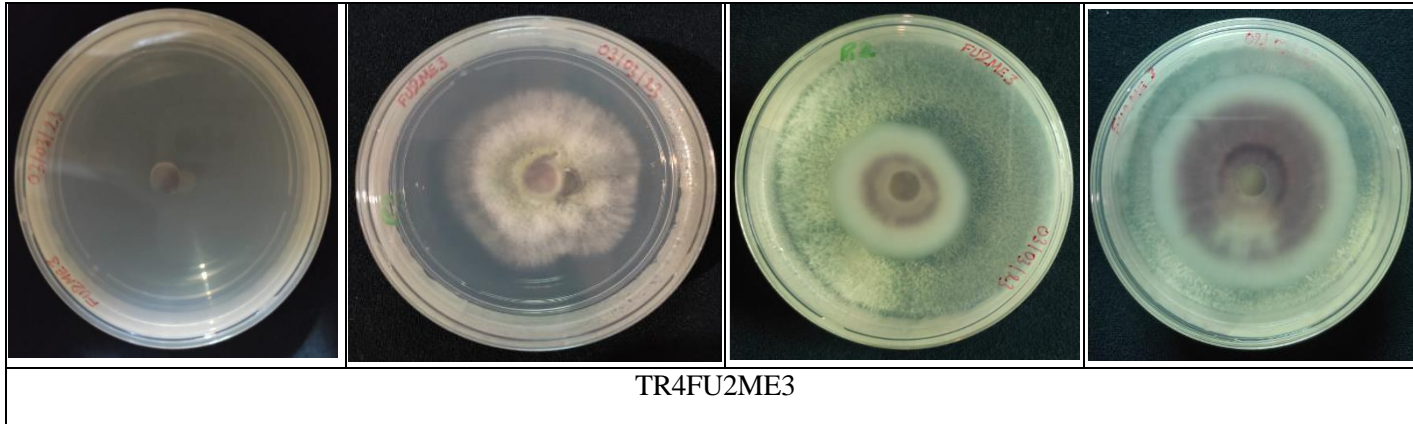
**ANEXO E: ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES
(COVs) Producidos Por *Trichoderma* Spp. (Tr2) Frente A *Fusarium* Spp. (Fu1, Fu2)**



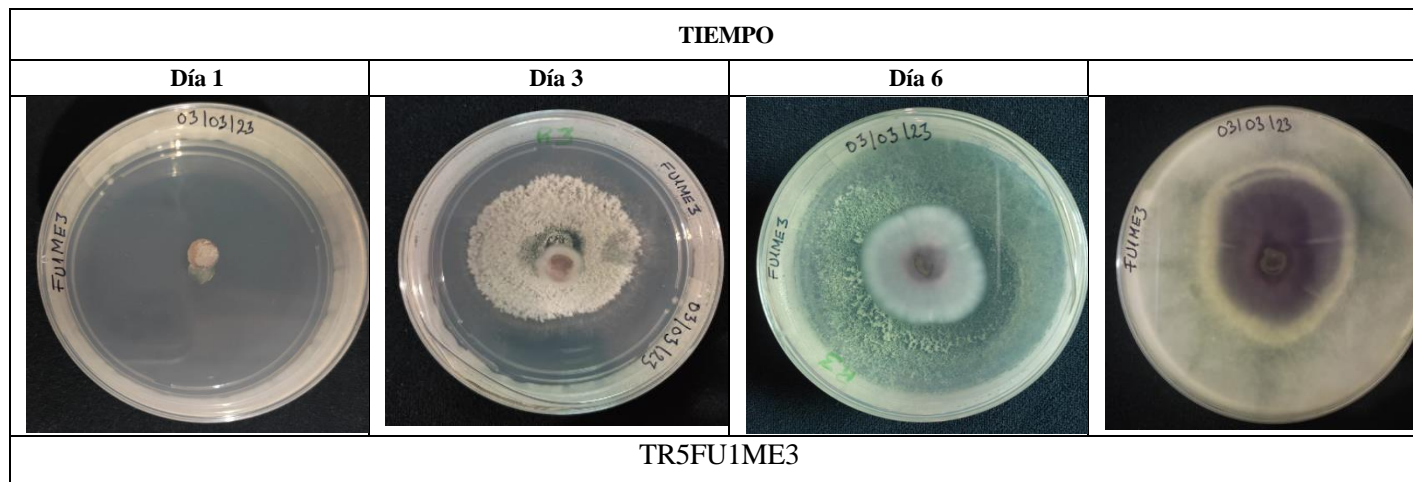
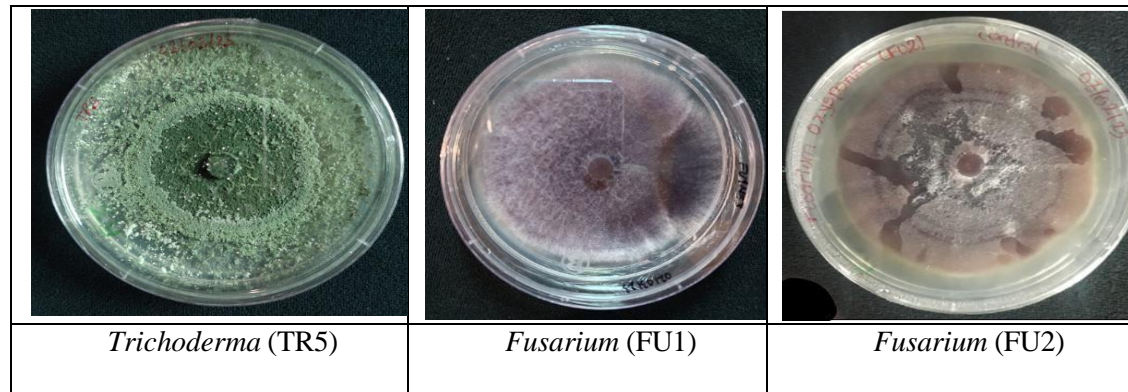


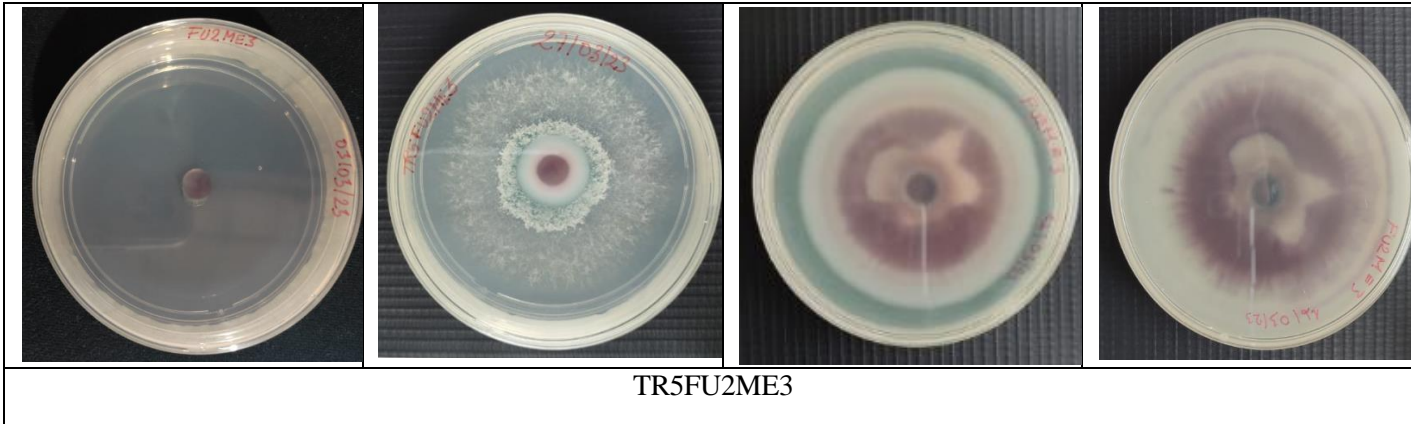
ANEXO F: ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES (COVs) producidos por *Trichoderma* spp. (tr3) frente a *fusarium* spp. (fu1, fu2)



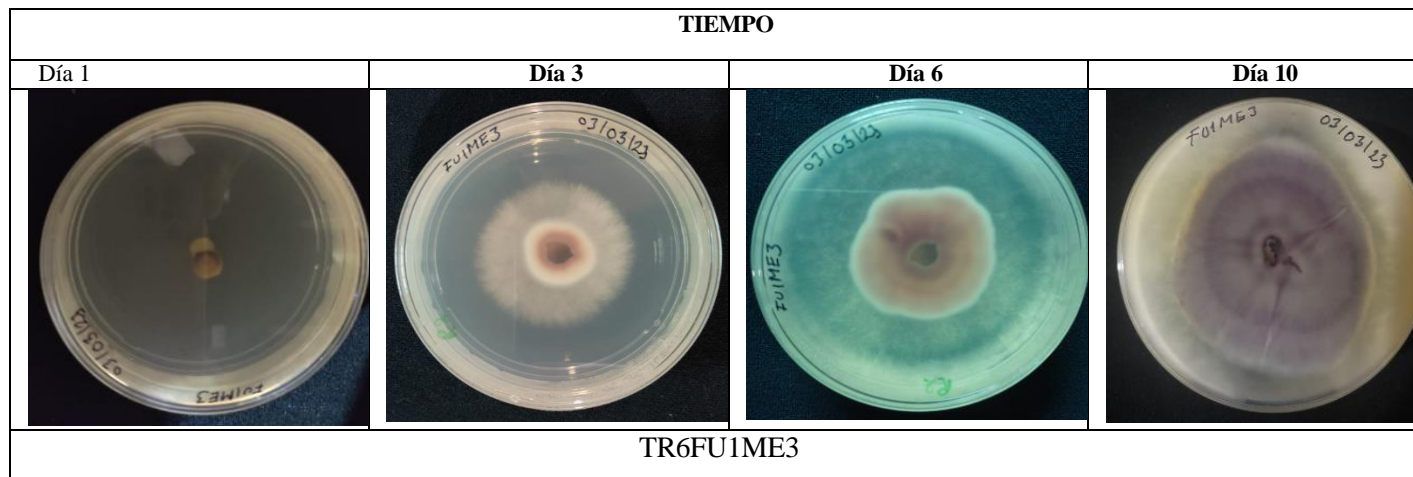
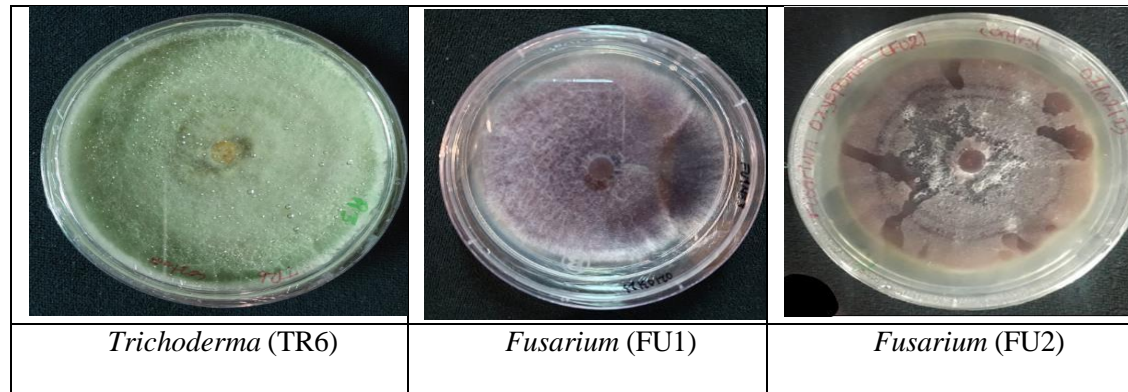


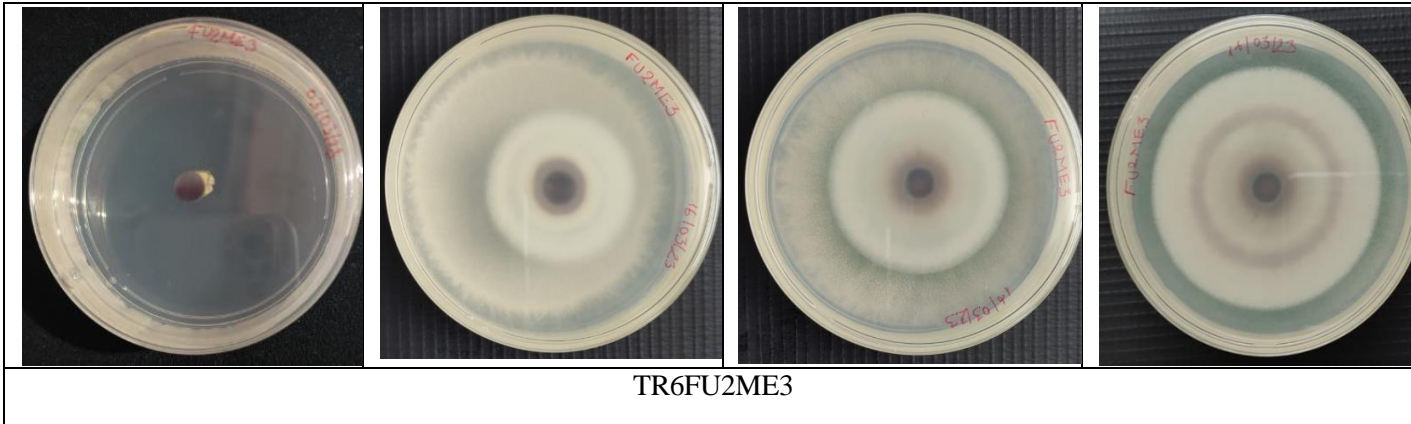
ANEXO G: ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES (COVs) Producidos Por *Trichoderma* Spp. (Tr4) Frente A *Fusarium* Spp. (Fu1, Fu2)



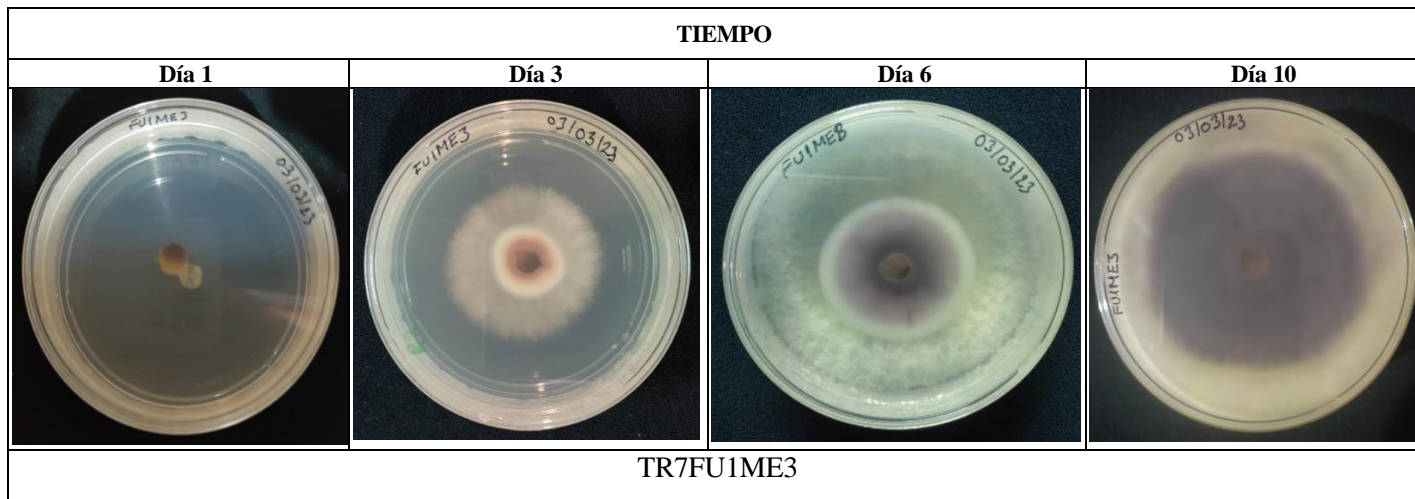
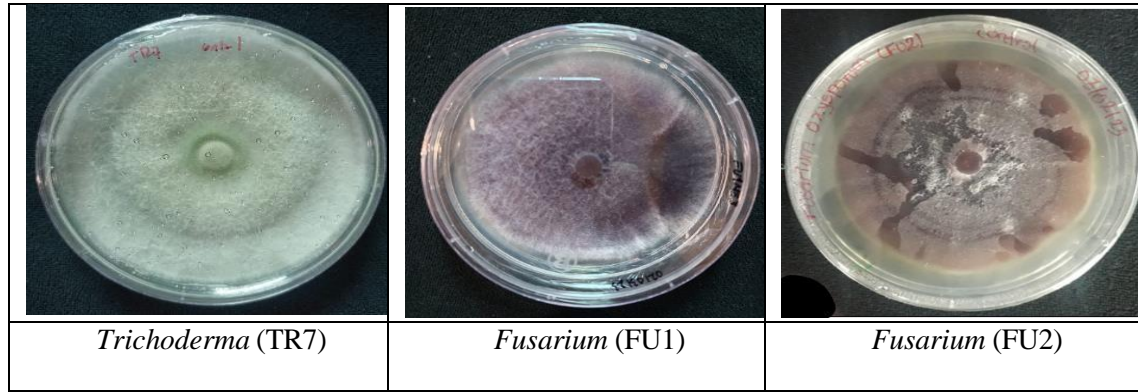


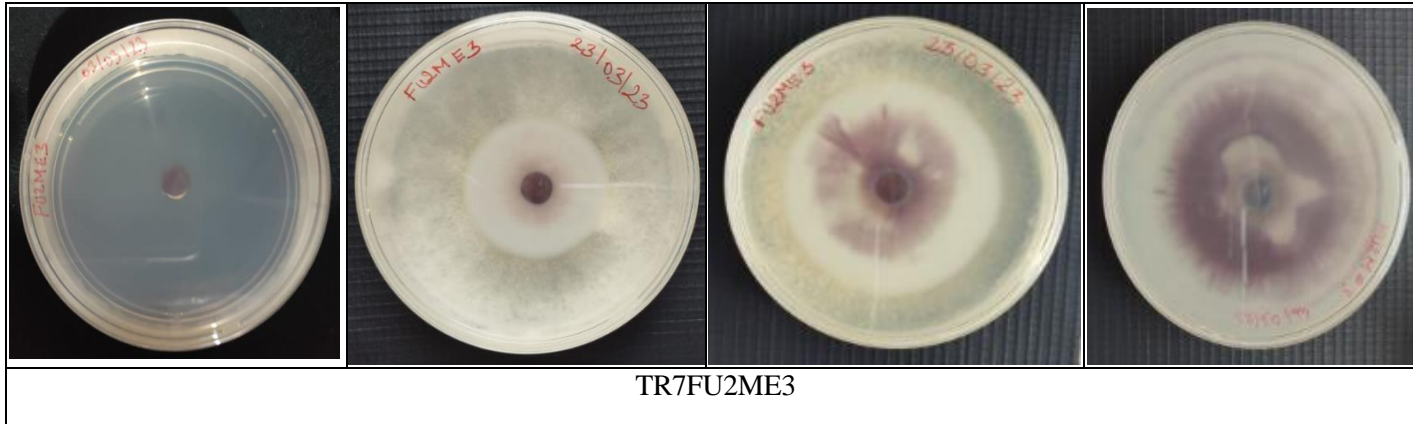
ANEXO H: ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES (COVs) Producidos Por *Trichoderma* Spp. (Tr5) Frente A *Fusarium* Spp. (Fu1, FU2)



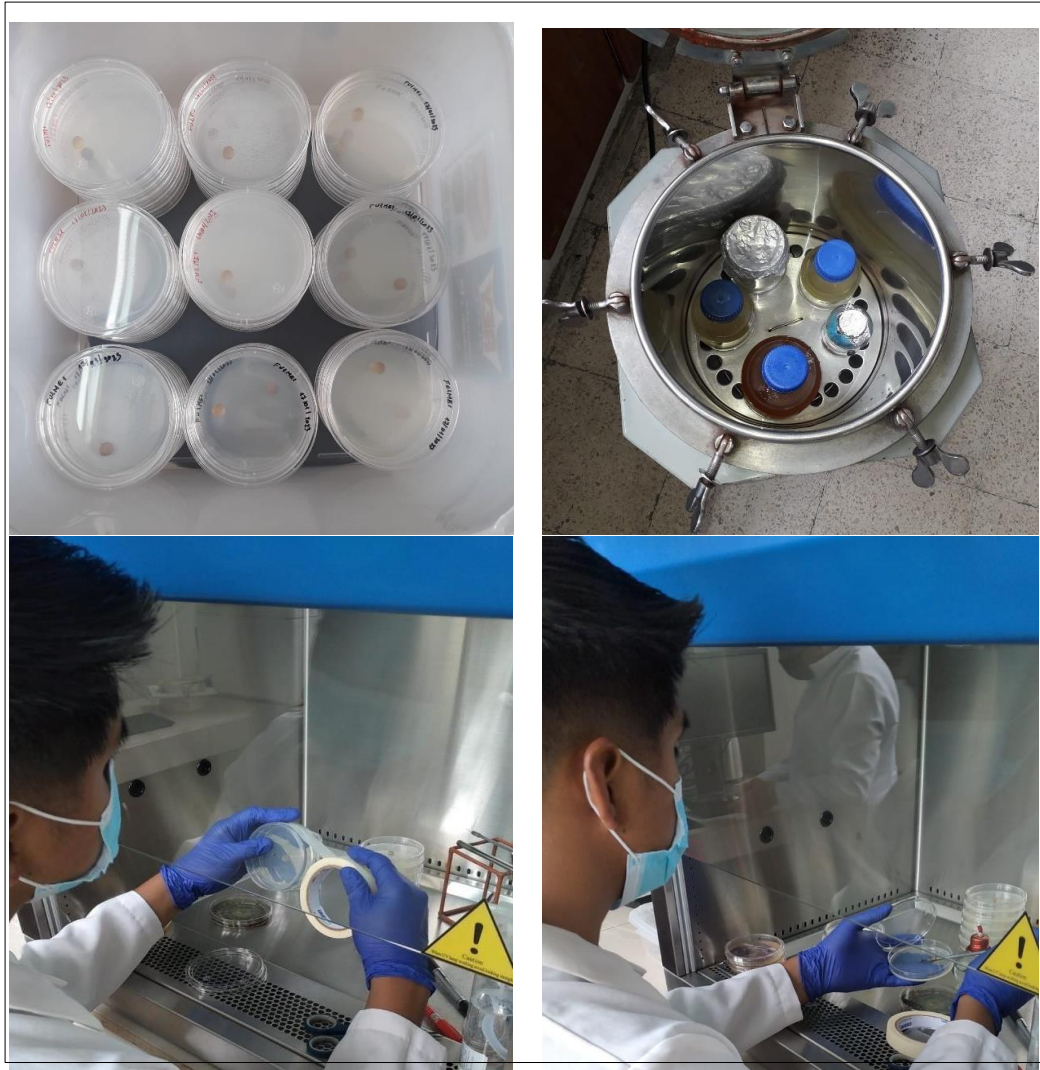


ANEXO I: ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES (COVs) Producidos Por *Trichoderma* Spp. (Tr6) Frente A *Fusarium* Spp. (Fu1, Fu2)

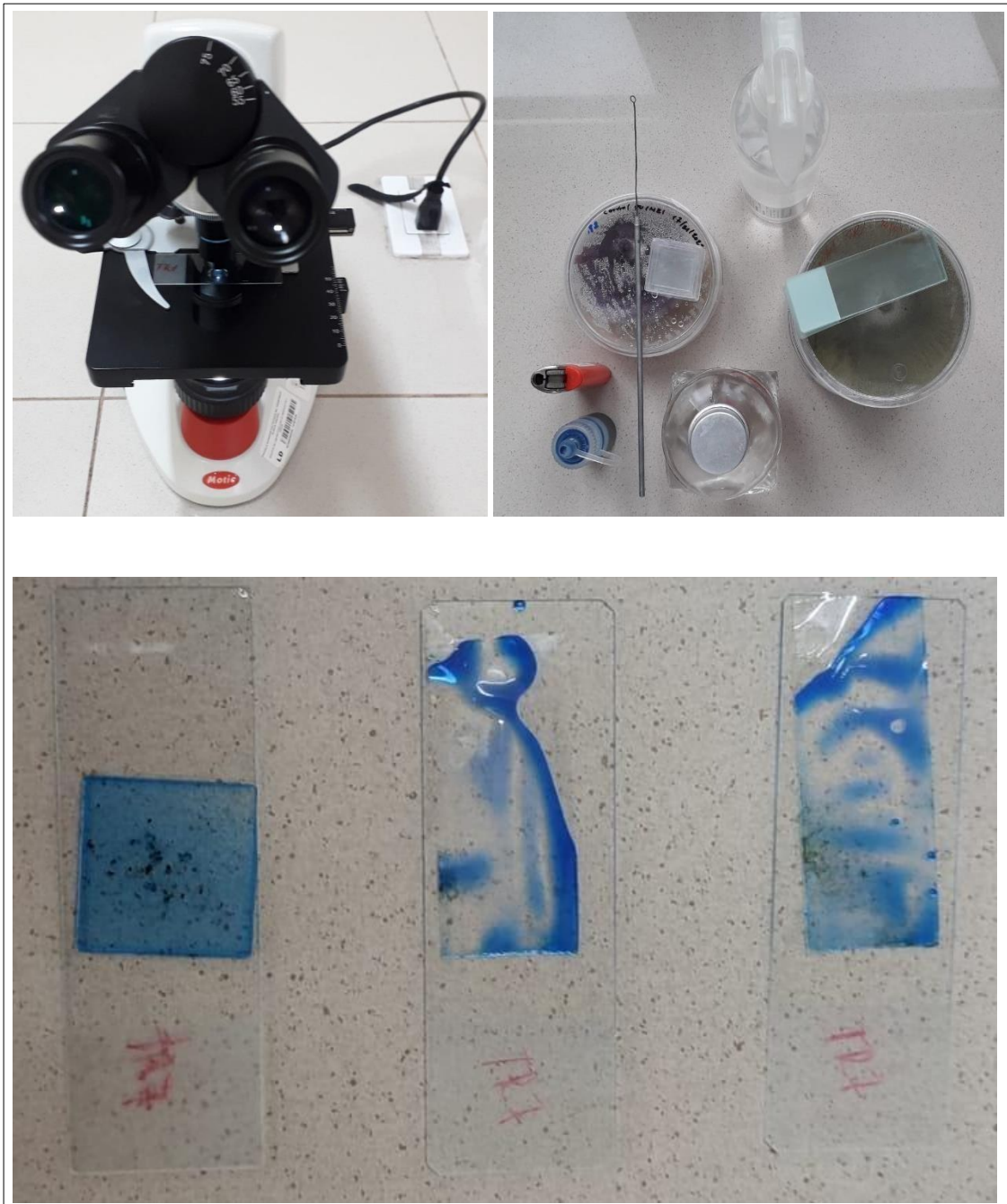




ANEXO J: PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



ANEXO K: IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS MICROORGANISMOS



ANEXO L: CRECIMIENTO RADIAL DE *TRICHODERMA* Y *FUSARIUM*

	Método Dual						
<i>Trichoderma</i>							
			ANCHO EN (cm)				
TRATAMIENTOS	REPETICIONES	1D	2D	3D	4D	5D	6D
TR1FU1ME1	1	0,5	1,5	2,5	3,5	4,5	5
TR1FU1ME1	2	0,5	1,5	2,6	3,4	4,5	5
TR1FU1ME1	3	0,6	1,5	2,5	3,5	4,4	5,1
TR1FU2ME1	1	0,5	1,5	2,5	3,5	4,5	5
TR1FU2ME1	2	0,5	1,5	2,5	3,3	4,4	5,1
TR1FU2ME1	3	0,6	1,5	2,5	3,4	4,5	5
TR2FU1ME1	1	0,4	1,1	2,9	3,5	4,5	5
TR2FU1ME1	2	0,5	1	2,9	3,5	4,5	5
TR2FU1ME1	3	0,5	1,2	2,8	3,5	4,4	5,1
TR2FU2ME1	1	0,4	1,2	2,5	3,5	4,5	5
TR2FU2ME1	2	0,4	1	2,5	3,5	4,4	5,1
TR2FU2ME1	3	0,4	1,1	2,6	3,5	4,5	5
TR3FU1ME1	1	0,7	2	2,8	3,6	4,6	5,3
TR3FU1ME1	2	1	2	2,7	3,5	4,6	0,4
TR3FU1ME1	3	0,8	1,9	2,8	3,6	4,5	5,5
TR3FU2ME1	1	0,8	2	3	3,5	4,5	5,3
TR3FU2ME1	2	1	2	3	3,5	4,6	5,2
TR3FU2ME1	3	0,9	2	2,9	3,4	4,5	5,1
TR4FU1ME1	1	0,5	2	2,8	3,6	4,8	6
TR4FU1ME1	2	0,5	1,9	2,9	3,7	4,9	6,1
TR4FU1ME1	3	0,4	2	2,8	3,8	4,9	6,2
TR4FU2ME1	1	0,5	2	3	3,8	4,7	6
TR4FU2ME1	2	0,5	1,9	3,1	3,9	4,8	6
TR4FU2ME1	3	0,5	2	2,9	3,8	4,7	6,1
TR5FU1ME1	1	0,9	2	3	4,2	5,4	6,5
TR5FU1ME1	2	1	1,9	3,1	4	5,3	6,5
TR5FU1ME1	3	0,9	2	3,2	4,3	5,4	6,4
TR5FU2ME1	1	0,9	1,2	3	4,3	5,2	6,5
TR5FU2ME1	2	1	1,1	2,9	4,2	5,3	6,4
TR5FU2ME1	3	1	1,2	3	4,2	5,2	6,4
TR6FU1ME1	1	1,5	2,3	3,5	4,4	5,5	6,5
TR6FU1ME1	2	1,4	2,3	3,5	4,3	5,6	6,5
TR6FU1ME1	3	1,4	2,4	3,5	4,6	5,6	6,5
TR6FU2ME1	1	1	2,1	3,3	3,7	4,5	5,2
TR6FU2ME1	2	1,1	2,2	3,3	3,6	4,6	5,3

TR6FU2ME1	3	1,2	2,1	3,4	3,7	4,6	5,3
TR7FU1ME1	1	1,3	2,3	3,4	4,5	4,7	5,5
TR7FU1ME1	2	1,3	2,4	3,4	4,6	4,7	5,6
TR7FU1ME1	3	1,4	2,5	3,5	4,4	4,6	5,7
TR7FU2ME1	1	0,9	2	2,9	3,3	4,3	5,5
TR7FU2ME1	2	1	2,1	2,9	3,4	4,3	5,4
TR7FU2ME1	3	0,9	2	3	3,7	4,2	5,5

TESTIGO				
TR1	0,6	2,2	4,2	6,5
	0,5	2,4	4,3	6,5
	0,7	2,3	4,2	6,5
TR2	0,7	2,3	4,6	6,5
	0,5	2,4	4,7	6,5
	0,6	2,5	4,8	6,5
TR3	0,8	2,5	4,5	6,5
	0,9	2,4	4,4	6,5
	1	2,4	4,7	6,5
TR4	1	2,5	4,5	6,5
	0,9	2,6	4,7	6,5
	1	2,4	4,9	6,5
TR5	1	2,7	4,8	6,5
	1	2,8	4,7	6,5
	0,9	2,7	4,8	6,5
T6	1	2,8	4,8	6,5
	1,2	2,7	4,8	6,5
	1	2,8	4,7	6,5
TR7	1	2,6	4,5	6,5
	1,3	2,9	4,6	6,5
	1	2,6	4,7	6,5

	MÉTODO DUAL						
<i>Fusarium</i>							
			ANCHO EN (cm)				
Tratamientos	Repetición	1D	2D	3D	4D	5D	6D
TR1FU1ME1	1	0,1	0,3	1,1	1,5	1,4	1,7
TR1FU1ME1	2	0,2	0,3	1,2	1,4	1,3	1,6
TR1FU1ME1	3	0,1	0,3	1,1	1,4	1,4	1,7
TR1FU2ME1	1	0,4	0,5	1,7	2,2	1,9	2,4
TR1FU2ME1	2	0,3	0,6	1,6	2,1	1,9	2,4
TR1FU2ME1	3	0,3	0,5	1,7	2,2	2	2,4
TR2FU1ME1	1	0,1	0,3	0,6	1	1,4	1,7
TR2FU1ME1	2	0,1	0,3	0,5	1	1,3	1,6
TR2FU1ME1	3	0,1	0,3	0,6	0,9	1,4	1,7
TR2FU2ME1	1	0,1	0,5	1	1,5	1,9	2,4
TR2FU2ME1	2	0,1	0,5	1,1	1,4	1,9	2,4
TR2FU2ME1	3	0,1	0,5	0,6	1,5	2	2,4
TR3FU1ME1	1	0,1	0,1	0,5	1	1,5	2
TR3FU1ME1	2	0,1	0,1	0,5	0,9	1,4	1,9
TR3FU1ME1	3	0,1	0,1	0,5	1	1,5	2
TR3FU2ME1	1	0,1	0,1	0,9	1,3	1,8	2,2
TR3FU2ME1	2	0,1	0,1	1	1,4	1,9	2,3
TR3FU2ME1	3	0,1	0,1	0,9	1,3	1,8	2,2
TR4FU1ME1	1	0,1	0,5	0,7	1	1,3	1,7
TR4FU1ME1	2	0,1	0,5	0,6	0,9	1,3	1,6
TR4FU1ME1	3	0,1	0,4	0,6	1,1	1,3	1,7
TR4FU2ME1	1	0,1	0,5	0,6	0,9	1,2	1,6
TR4FU2ME1	2	0,1	0,4	0,6	0,8	1,2	1,6
TR4FU2ME1	3	0,1	0,5	0,6	0,9	1,3	1,6
TR5FU1ME1	1	0,1	0,2	0,5	0,8	1,1	1,4
TR5FU1ME1	2	0,1	0,3	0,5	0,9	1,2	1,4
TR5FU1ME1	3	0,1	0,2	0,5	0,7	1,1	1,5
TR5FU2ME1	1	0,1	0,4	0,8	1,3	1,6	
TR5FU2ME1	2	0,1	0,5	0,9	1,4	1,7	
TR5FU2ME1	3	0,1	0,5	0,8	1,3	1,7	
TR6FU1ME1	1	0,1	0,5	0,9	1,1	1,5	2
TR6FU1ME1	2	0,1	0,5	0,9	1,1	1,5	1,9
TR6FU1ME1	3	0,1	0,4	0,8	1,1	1,4	2
TR6FU2ME1	1	0	0,5	1,1	1,4	2	
TR6FU2ME1	2	0	0,5	1	1,5	2	
TR6FU2ME1	3	0	0,4	1,2	1,4	2	

TR7FU1ME1	1	0,1	0,5	0,7	1	1,3	1,7
TR7FU1ME1	2	0,1	0,4	0,6	1,1	1,4	1
TR7FU1ME1	3	0,1	0,4	0,7	1	1,3	1,7
TR7FU2ME1	1	0,1	0,5	0,9	1,4	1,8	2,2
TR7FU2ME1	2	0,1	0,6	0,9	1,4	1,8	2,2
TR7FU2ME1	3	0,1	0,6	0,8	1,5	1,9	2,3

TESTIGO

TRAT A.	REP.	1D	2D	3D	4D	5D	6D	7D	8D
FU1	1	0,1	0,2	0,6	1	1,3	1,7	2	2,2
FU1	2	0,1	0,3	0,7	1	1,3	1,7	1,9	2,3
FU1	3	0,1	0,2	0,6	0,9	1,3	1,7	1,9	2,2
FU2	1	0,1	0,3	0,8	1,4	1,9	2,2	2,5	2,9
FU2	2	0,1	0,3	0,8	1,3	1,7	2,3	2,7	3,1
FU2	3	0,1	0,4	0,9	1,4	1,8	2,3	2,7	3

Método Volátiles (M3)

Trichoderma

TRATAMIENTOS	REPETICIONES	1D	ANCHO EN (cm)		
			2D	3D	4D
TR1FU1ME1	1	0,5	1,5	2,5	3,5
TR1FU1ME1	2	0,5	1,5	2,6	3,5
TR1FU1ME1	3	0,6	1,5	2,5	3,5
TR1FU2ME1	1	0,5	1,5	2,5	3,5
TR1FU2ME1	2	0,5	1,5	2,5	3,5
TR1FU2ME1	3	0,6	1,5	2,5	3,5
TR2FU1ME1	1	0,4	1,1	2,9	3,5
TR2FU1ME1	2	0,5	1	2,9	3,5
TR2FU1ME1	3	0,5	1,2	2,8	3,5
TR2FU2ME1	1	0,4	1,2	2,5	3,5
TR2FU2ME1	2	0,4	1	2,5	3,5
TR2FU2ME1	3	0,4	1,1	2,6	3,5
TR3FU1ME1	1	0,7	2	2,8	3,5
TR3FU1ME1	2	1	2	2,7	3,5
TR3FU1ME1	3	0,8	1,9	2,8	3,5
TR3FU2ME1	1	0,8	2	3	3,5
TR3FU2ME1	2	1	2	3	3,5
TR3FU2ME1	3	0,9	2	2,9	3,5
TR4FU1ME1	1	0,5	2	2,8	3,5
TR4FU1ME1	2	0,5	1,9	2,9	3,5
TR4FU1ME1	3	0,4	2	2,8	3,5
TR4FU2ME1	1	0,5	2	3	3,5
TR4FU2ME1	2	0,5	1,9	3,1	3,5
TR4FU2ME1	3	0,5	2	2,9	3,5
TR5FU1ME1	1	0,9	2	3,5	
TR5FU1ME1	2	1	1,9	3,5	
TR5FU1ME1	3	0,9	2	3,5	
TR5FU2ME1	1	0,9	1,2	3	3,5
TR5FU2ME1	2	1	1,1	2,9	3,5
TR5FU2ME1	3	1	1,2	3	3,5
TR6FU1ME1	1	0,3	1,5	3,5	
TR6FU1ME1	2	0,2	1,6	3,5	
TR6FU1ME1	3	0,1	1,5	3,5	
TR6FU2ME1	1	0,1	1,3	3,5	
TR6FU2ME1	2	0,1	1,5	3,5	
TR6FU2ME1	3	0,1	1,4	3,5	
TR7FU1ME1	1	0,1	1	3	3,5
TR7FU1ME1	2	0,1	1,1	2,9	3,5

TR7FU1ME1	3	0,1	1	2,8	3,5
TR7FU2ME1	1	0,2	0,6	2,9	3,5
TR7FU2ME1	2	0,3	0,5	2,9	3,5
TR7FU2ME1	3	0,2	0,5	3	3,5

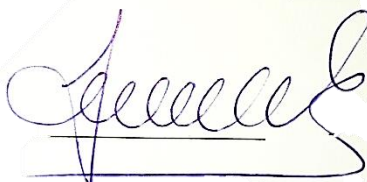

CONTROL

Tratamientos	Repeticiones	1D	2D	3D	4D
TR1	1	0,6	1,5	2,4	3,5
TR1	2	0,7	1,5	2,4	3,5
TR1	3	0,6	1,6	2,3	3,5
TR2	1	0,5	1	2,7	3,5
TR2	2	0,4	1,2	2,6	3,5
TR2	3	0,4	1,2	2,7	3,5
TR3	1	1	1,9	2,8	3,5
TR3	2	0,9	2	2,9	3,5
TR3	3	0,9	2	2,9	3,5
TR4	1	0,5	2	2,8	3,5
TR4	2	0,4	1,9	2,9	3,5
TR4	3	0,5	2	2,8	3,5
TR5	1	0,7	2,2	3,5	
TR5	2	0,4	2	3,5	
TR5	3	0,6	2,2	3,5	
TR6	1	0,2	2,3	3,5	
TR6	2	0,2	2,2	3,5	
TR6	3	0,2	2,3	3,5	
TR7	1	0,1	0,5	1,7	3,5
TR7	2	0,1	0,5	1,8	3,5
TR7	3	0,1	0,5	1,7	3,5



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA
NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega: 04/ 06 / 2024

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: José Alonso Otavalo Campo
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Ingeniería en Biotecnología Ambiental
Título a optar: Ingeniero en Biotecnología Ambiental
 Ing. Norma Soledad Erazo Sandoval PhD Director del Trabajo de Titulación
 Ing. Paulina Fernanda Bolaños Logroño MSc Asesor del Trabajo de Titulación

