



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

**ESTUDIO IN VITRO DE LA SENSIBILIDAD DE *Alternaria* spp. EN  
PITAHAYA (*Selenicereus megalanthus*) A FUNGICIDAS  
COMERCIALES**

**Trabajo de Integración Curricular**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

**INGENIERA AGRÓNOMA**

**AUTORA:**

**ROCIO DEL CISNE SARMIENTO RAMÍREZ**

**DIRECTOR:** Ing. HILTER FARLEY FIGUEROA SAAVEDRA Msc.

El Coca-Ecuador

2024

**©2024, Rocio del Cisne Sarmiento Ramírez**

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, Rocío del Cisne Sarmiento Ramírez, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados de este son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

El Coca, 02 de julio de 2024

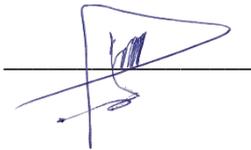
A handwritten signature in blue ink, enclosed within a hand-drawn oval. The signature is stylized and appears to be the name 'Rocio del Cisne Sarmiento Ramirez'.

**Rocio del Cisne Sarmiento Ramírez**

**220036609-0**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES**  
**CARRERA AGRONOMÍA**

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Investigación Experimental. **ESTUDIO IN VITRO DE LA SENSIBILIDAD DE *Alternaria* spp. EN PITAHAYA (*Selenicereus megalanthus*) A FUNGICIDAS COMERCIALES**, realizado por la señorita: **ROCIO DEL CISNE SARMIENTO RAMÍREZ**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Carlos Mestanza Ramón PhD. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2024-07-02
Ing. Hilter Farley Figueroa Saavedra Msc. <b>DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2024-07-02
Ing. Fabian Miguel Carrillo Riofrío Msc. <b>ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2024-07-02

## **DEDICATORIA**

Esta investigación va dedicada con mucho cariño y esfuerzo a Dios por estar conmigo en cada momento de mi vida, cuidándome y brindándome las capacidades necesarias para poder desempeñarme de manera inteligente en el transcurso de mi carrera, a mis padres quienes me han dado la vida, la educación y los valores que me han caracterizado como una persona honesta, responsable, solidaria y respetuosa. Reitero mi cariño a mi pequeña y amada hija Scarleth y Marco por ser esas personas incondicionales en mi día a día, siempre han estado brindándome esos ánimos y deseos de ser una profesional. De la misma manera a mi tutor el Ing. Hilter Figueroa, a mi asesor el Ing. Fabian Carrillo y en general a todos los docentes de los cuales tuve la oportunidad de recibir sus conocimientos, en ocasiones regaños ya que a través de ellos aprendí a mejorar académica y profesionalmente.

Rocio

## **AGRADECIMIENTO**

Primero agradezco a Dios, por brindarme la vida, la sabiduría e inteligencia y a la vez me agradezco a mí misma por ser una mujer luchadora, constante y no desmayar para lograr este objetivo. A mi madre Irma Ramírez, por apoyarme y darme esos ánimos en mis momentos difíciles, a mi querido padre Luis Sarmiento, mis hermanos Fernando, Cristhian y Alejandra. A Marco García una persona muy especial en mi vida, destacado por ser quien siempre ha estado, dándome ánimos y brindándome su apoyo emocional para cumplir esta gran meta. Y como no agradecer a mi gran inspiración y motivación, mi hija Scarleth Liseth por ser la bendición más grande y maravillosa que Dios me pudo regalar. Agradezco a mis amistades que estuvieron brindándome su ayuda, un especial agradecimiento a Ing. Jimmy Pico y Christopher Suárez, responsables del Departamento de Protección Vegetal de (Iniap), Instituto que me abrió las puertas y me brindo su ayuda en la realización de mi trabajo de titulación.

Rocio

## ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY/ABSTRACT .....	xiv
INTRODUCCIÓN .....	1

## CAPITULO I

1.	PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN .....	3
1.1	Planteamiento del problema .....	3
1.2	Objetivos.....	4
1.2.1	<i>Objetivo general</i> .....	4
1.2.2	Objetivos específicos .....	4
1.3	Justificación.....	5
1.4	Hipótesis o pregunta de investigación.....	5

## CAPÍTULO II

2.	MARCO TEÓRICO .....	6
2.1	Origen de la pitahaya .....	6
2.2	Taxonomía de la pitahaya .....	6
2.2.1	<i>Generalidades del cultivo</i> .....	6
2.2.2	<i>Problemas fitosanitarios del cultivo</i> .....	7
2.2.3	<i>Prevalencia de Alternaria spp., en la Pitahaya</i> .....	7
2.3	Fungicidas.....	8
2.3.1	<i>Acción fungicida o fungistática</i> .....	8
2.3.2	<i>Clases de fungicidas</i> .....	9

2.3.3	<i>Modo de acción de los fungicidas</i> .....	9
2.3.4	<i>Clasificación de los fungicidas</i> .....	10
2.4	<b>Productos Fungicidas</b> .....	11
2.4.1	<i>Difenoconazole</i> .....	11
2.4.2	<i>Azoxystrobin</i> .....	11
2.4.3	<i>Clorotalonil</i> .....	12
2.4.4	<i>Tebuconazole</i> .....	12
2.4.5	<i>Bacillus subtilis</i> .....	13
2.5	<b>Hongo Alternaria spp</b> .....	14
2.5.1	<i>Alternaria spp</i> .....	14
2.5.2	<i>Evolución filogenética</i> .....	14
2.5.3	<i>Taxonomía</i> .....	15
2.5.4	<i>Micotoxinas</i> .....	16
2.5.5	<i>Morfología</i> .....	17
2.5.6	<i>Ciclo de la enfermedad</i> .....	17
2.6	<b>Medios de cultivo</b> .....	18
2.6.1	<i>Medios sólidos</i> .....	18
2.6.2	<i>Medios líquidos</i> .....	19

### CAPITULO III

3.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	21
3.1	<b>Localización del estudio</b> .....	21
3.2	<b>Posición geográfica</b> .....	21
3.3	<b>Materiales y equipos</b> .....	22
3.4	<b>Metodología</b> .....	23
3.4.1	<i>Método experimental</i> .....	23
3.4.2	<i>Factores de estudio</i> .....	23
3.5	<b>VARIABLES EVALUADAS</b> .....	23
3.5.1	<i>Variable dependiente</i> .....	23
3.5.2	<i>Variable independiente</i> .....	23
3.5.3	<i>Unidad experimental</i> .....	23
3.6	<b>DISEÑO EXPERIMENTAL</b> .....	23
3.7	<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> .....	23

3.8	<i>Tratamientos</i> .....	24
3.9	<i>Manejo del ensayo</i> .....	25
3.9.1	<i>Reactivación de Alternaria spp.</i> .....	25
3.9.1	<i>Número de conidios por caja Petri</i> .....	25
3.9.2	<i>Germinación de conidios de Alternaria spp.</i> .....	25
3.9.3	<i>Método para prueba de fungicidas como inhibidor de germinación de conidios...</i> .....	25
3.10	<i>Datos para evaluar</i> .....	26
3.10.1	<i>Determinación de número de conidios por caja Petri.</i> .....	26
3.10.2	<i>Determinación del tiempo de germinación de conidios de Alternaria spp.</i> .....	26
3.10.3	<i>Determinación de la eficacia de fungicidas en la germinación de conidios de Alternaria spp.</i> .....	26

#### Capítulo IV

4.	<b>MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</b> .....	28
4.1	<i>Procesamiento, análisis e interpretación de resultados</i> .....	28
4.1.1	<i>Efecto de los fungicidas sobre el crecimiento del tubo germinativo.</i> .....	28
4.1.2	<i>Efecto de la dosis fungicida sobre el crecimiento del tubo germinativo</i> .....	29
4.1.3	<i>Efecto de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los fungicidas evaluados</i> .	29
4.2	<i>Discusión</i> .....	33
4.3	<i>Comprobación de hipótesis</i> .....	35

#### CAPITULO V

5.	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	36
5.1	<b>Conclusiones</b> .....	36
5.2	<b>Recomendaciones</b> .....	36

#### GLOSARIO

#### BIBLIOGRAFIA

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2-1:</b> Taxonomía de la pitahaya Amarilla ( <i>Selenicereus megalanthus</i> ) .....	6
<b>Tabla 2-2:</b> Taxonomía de <i>Alternaria</i> .....	15
<b>Tabla 3-1:</b> Posición geográfica .....	21
<b>Tabla 3-2:</b> Lista de materiales utilizados .....	22
<b>Tabla 3-3:</b> Esquema Anova (ADEVA) .....	24
<b>Tabla 3-4:</b> Descripción de los tratamientos.....	24

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 2-1:</b> Estructuras reproductivas de <i>Alternaria</i> .....	17
<b>Ilustración 3-1:</b> Mapa que muestra la ubicación geográfica de la Estación Experimental Central de la Amazonia, perteneciente al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). .....	21
<b>Ilustración 4-1:</b> Inhibición del tubo germinativo de conidios de <i>Alternaria</i> spp.....	28
<b>Ilustración 4-2:</b> Efecto de la dosis de los productos evaluados. ....	29
<b>Ilustración 4-3:</b> Efecto de la concentración mínima inhibitoria de Azoxystrobin.....	30
<b>Ilustración 4-4:</b> Efecto de la concentración mínima inhibitoria de Tebuconazole .....	30
<b>Ilustración 4-5:</b> Efecto de la concentración mínima inhibitoria de Difeconazole .....	31
<b>Ilustración 4-6:</b> Efecto de la concentración mínima inhibitoria de Clorotalonil .....	32
<b>Ilustración 4-7:</b> Efecto de la concentración mínima inhibitoria de <i>Bacillus subtilis</i> .....	32

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

**ANEXO A:** REACTIVACIÓN Y MULTIPLICACIÓN DE *ALTERNARIA* SPP.

**ANEXO B:** PREPARACIÓN DE *ALTERNARIA* SPP. PARA CONTEO DE CONIDIOS Y DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE GERMINACIÓN.

**ANEXO C:** PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN EN FUNGICIDAS PARA REALIZAR LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD.

**ANEXO D:** MEDICIÓN DE TUBO GERMINATIVO DE *ALTERNARIA* SPP. MEDIANTE PROGRAMA MOTIC IMAGE PLUS.

## RESUMEN

La pitahaya amarilla, también conocida como fruta dragón amarilla (*Selenicereus megalanthus*), es un fruto exótico apreciado por su sabor distintivo y propiedades nutricionales. Sin embargo, en Ecuador, su producción enfrenta desafíos fitosanitarios, incluida la presencia del hongo patógeno *Alternaria* spp. Este hongo puede causar manchas en las hojas, pudrición de los frutos e incluso pérdidas significativas en la producción si no se controla adecuadamente. A pesar de la popularidad de los productos comerciales, su eficacia contra esta enfermedad no se ha evaluado en un entorno in vitro, lo que genera una brecha crítica de conocimiento al momento de utilizar dichos productos. Para abordar esto, se evaluó la sensibilidad de *Alternaria* spp. presente en el cultivo de pitahaya a diferentes fungicidas comerciales mediante pruebas in vitro. El estudio se realizó en el laboratorio de Protección Vegetal de la Estación Experimental Central de la Amazonía (INIAP) en el Cantón Joya de los Sachas, Provincia de Orellana. Los fungicidas evaluados incluyeron el Difeconazole, Clorotalonil, Azoxystrobin, tebuconazol y un control biológico con *Bacillus subtilis*. Las variables consideradas fueron las dosis (alta, media y baja) y la inhibición del tubo germinativo. Los resultados indican que el tebuconazol (0.10  $\mu\text{m}$ ) es el fungicida más efectivo para reducir la longitud del tubo germinativo de *Alternaria* spp., seguido por Clorotalonil (0.18  $\mu\text{m}$ ), Azoxystrobin (0.37  $\mu\text{m}$ ) y Difeconazole (0.37  $\mu\text{m}$ ). Además, *Bacillus subtilis* mostró una eficacia intermedia (0.73  $\mu\text{m}$ ). Estos hallazgos resaltan la importancia de utilizar dosis adecuadas para maximizar la eficacia y minimizar el riesgo de resistencia en el control de patógenos en cultivos agrícolas.

**Palabras claves:** <HONGO (*Alternaria* spp.)>, <FUNGICIDAS>, <DOSIS>, <INHIBICIÓN>, <SENSIBILIDAD>, <TEBUCONAZOLE>, <BIOLÓGICO>.

Cristian Tenelanda S.

Ing. Cristian Sebastian Tenelanda S.

0604686709



1081-DBRAI-UPT-2024

## SUMMARY

Yellow pitahaya, also known as yellow dragon fruit (*Selenicereus megalanthus*), an exotic fruit prized its distinctive flavor and nutritional properties. However, in Ecuador, its production faces phytosanitary challenges, including pathogenic fungus presence *Alternaria* spp. This fungus can cause leaf spot, fruit rot and even significant yield losses if is not properly controlled. Despite popularity of commercial products, efficacy against this disease has not been evaluated a vitro environment, creating a critical knowledge gap when using such products. To address this, sensitivity of *Alternaria* spp. present in pitahaya crop to different commercial fungicides was evaluated by in vitro tests. The study was conducted at Plant Protection Laboratory of Central Experimental Station in Amazon (INIAP) in Joya de los Sachas Canton, Orellana Province. The fungicides evaluated included Difeconazole, Chlorotalonil, Azoxystrobin, tebuconazole and a biological control with *Bacillus subtilis*. The variables considered were doses (high, medium and low) and germ tube inhibition. The results indicate tebuconazole (0.10  $\mu\text{m}$ ) is the most effective fungicide to reduce *Alternaria* spp. germ tube length, followed by Chlorothalonil (0.18  $\mu\text{m}$ ), Azoxystrobin (0.37  $\mu\text{m}$ ) and Difeconazole (0.3  $\mu\text{m}$ ). In addition, *Bacillus subtilis* showed intermediate efficacy (0.73  $\mu\text{m}$ ). These findings highlight the importance to use adequate doses to maximize efficacy and minimize resistance risk on pathogens control in agricultural crops.

**Key words:** <FUNGI (*Alternaria* spp.)>, <FUNGICIDES>, <DOSE>, <INHIBITION>, <SENSITIVITY>, <TEBUCONAZOLE>, <BIOLOGICAL>.

Translated by:



Lcda. Nancy de las Mercedes Barreno Silva. Mgs  
DOCENTE ESPOCH SEDE-ORELLANA

## INTRODUCCIÓN

La pitahaya amarilla o fruta dragón amarilla (*Selenicereus megalanthus*) es un fruto exótico popular y apreciado por su sabor distintivo y sus propiedades nutricionales (Morillo-Coronado et al. 2022). En Ecuador, específicamente en la provincia de Morona Santiago, particularmente en la localidad de Palora, la producción de pitahaya ha adquirido relevancia económica significativa. Sin embargo, esta actividad se enfrenta a desafíos fitosanitarios, entre ellos, la presencia de *Alternaria* spp., un hongo patógeno que puede causar manchas en hojas, pudrición de frutos e incluso pérdidas significativas en la producción si no es controlada de manera adecuada (Suárez, Pico y Delgado 2019, pág. 1).

El control de patógenos del género *Alternaria* spp., en los cultivos de la pitahaya es fundamental para garantizar la sostenibilidad y rentabilidad a largo plazo. La evaluación de la sensibilidad de *Alternaria* spp. a fungicidas comerciales a través de estudios *in vitro* es esencial para desarrollar estrategias de manejo efectivas (Rojas 2020, pág. 67).

Ecuador, país reconocido por su diversidad biológica y destacada producción agrícola (Varea 2004), la investigación en agricultura se ha intensificado para abordar los desafíos específicos del cultivo de la pitahaya. La provincia de Morona Santiago, donde se encuentra Palora, emerge como un ente clave estratégico en esta investigación, especialmente en la optimización de la producción y la mitigación de los riesgos fitopatológicos asociados con este cultivo (Suárez, Pico y Delgado 2019, pág. 1).

El estudio propuesto se enfoca en conocer la sensibilidad de la cepa de *Alternaria* spp., presente en la pitahaya amarilla de Palora a diferentes fungicidas comerciales mediante ensayos *in vitro*. Específicamente, se evaluará cómo estos fungicidas afectan el tubo germinativo de *Alternaria* spp., lo cual es crucial para comprender su efectividad en la inhibición del crecimiento y desarrollo del hongo. La investigación determinará la capacidad de los fungicidas para reducir o atrofiar el tubo germinativo, proporcionando datos críticos para la selección de tratamientos y dosis más efectivos.

Esta investigación es relevante para la agricultura local y nacional, ya que sus resultados pueden proporcionar información valiosa para el diseño de programas de manejo integrado de enfermedades en los cultivos de pitahaya. Al identificar fungicidas que inhiben eficazmente el crecimiento de *Alternaria* spp., los productores podrán implementar prácticas de control más eficientes, reduciendo las pérdidas y mejorando la calidad del producto final. Estos hallazgos

tienen el potencial de beneficiar a los productores de pitahaya en todo el país, contribuyendo a la sostenibilidad y competitividad de este importante cultivo.

## CAPITULO I

### 1 PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

En el país, el cultivo de Pitahaya se concentra principalmente en Palora provincia de Morona Santiago y en Pedro Vicente Maldonado provincia de Pichincha (Proaño Bastidas 2013, pág.2). En Ecuador existen 1.528 hectáreas sembradas de pitahaya con una producción de 7.6 Tn por hectárea (Vargas et al. 2020, págs. 15) este cultivo enfrenta desafíos significativos debido a plagas y enfermedades que impactan tanto la calidad como el rendimiento del fruto (Valencia-Botín, Kokubu y Ortiz-Hernández 2013 pág. 2).

Entre las enfermedades que afectan notablemente el cultivo de pitahaya, especialmente durante las etapas de crecimiento vegetativo y reproductivo, se destaca la provocada por el ataque de *Alternaria* spp. Este patógeno, puede actuar como fitopatógeno o saprófito, es reconocido por causar la aparición de sarna en las vainas y frutos (Suárez, Pico y Delgado 2019, pág. 1), cierta enfermedad limita el crecimiento de nuevos cladodios, generando sarnas o costras que obstruyen su desarrollo.

#### 1.1 Planteamiento del problema

La producción de pitahaya amarilla (*Selenicereus Megalanthus*) en la región de Morona Santiago, con enfoque en Palora, enfrenta un desafío crítico relacionado con la presencia de *Alternaria* spp. Esta enfermedad, manifestada como sarna en vainas y frutos, impacta severamente el crecimiento y rendimiento del cultivo, con pérdidas potenciales que pueden alcanzar hasta el 80% durante la temporada de cosecha (Suárez, Pico y Delgado 2019, pág. 1).

La estrategia primaria de control implica el uso de fungicidas comerciales. Sin embargo, la eficacia de estos productos y su capacidad para enfrentar específicamente las cepas de *Alternaria* spp., presentes en la pitahaya amarilla no ha sido evaluada en un entorno *in vitro*. La ausencia de información sobre la sensibilidad de estas cepas de hongos patógenos a los fungicidas comerciales disponibles, en un entorno controlado *in vitro*, representa una brecha crítica en el conocimiento.

La necesidad de realizar pruebas *in vitro* para evaluar la respuesta de *Alternaria* spp., a diferentes fungicidas comerciales representa una importancia fundamental para implementar un diseño de estrategias precisas y efectivas de manejo y control. La falta de datos sobre la efectividad de estos productos en un entorno controlado impide la identificación de tratamientos óptimos, dosis adecuadas y la comprensión de posibles resistencias, elementos esenciales para el desarrollo de

recomendaciones prácticas que fortalezcan la sostenibilidad y rentabilidad del cultivo de pitahaya amarilla en esta región.

En contexto, la realización de pruebas *in vitro* se vuelve imperativa para llenar este vacío de información y proporcionar una base sólida para la toma de decisiones informadas sobre el manejo de *Alternaria* spp., en la pitahaya amarilla de Palora perteneciente a la provincia de Morona Santiago.

## **1.2 Objetivos**

### ***1.2.1 Objetivo general***

Evaluar la sensibilidad de *Alternaria* spp., presente en el cultivo de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) a diferentes fungicidas comerciales, mediante pruebas *in vitro*.

### ***1.2.2 Objetivos específicos***

- Determinar la sensibilidad *in vitro* de crecimiento del tubo germinativo de *Alternaria* spp., a cinco fungicidas comerciales con el fin de proporcionar datos fundamentales para el control fitosanitario efectivo en cultivos de pitahaya.
- Analizar el efecto inhibitorio de las diferentes dosis de fungicidas comerciales sobre el crecimiento del tubo germinativo de *Alternaria* spp., en condiciones *in vitro*.
- Estimar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de cada fungicida con el fin de controlar la germinación de *Alternaria* spp., en condiciones *in vitro*.

### 1.3 Justificación

La evaluación exhaustiva de la sensibilidad de las cepas de *Alternaria* spp., presentes en la pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) frente a una gama diversa de fungicidas comerciales mediante ensayos *in vitro* es esencial para abordar los desafíos fitopatológicos que amenazan la viabilidad de estos cultivos.

La pitahaya, a pesar de su creciente demanda y reconocimiento por su valor nutricional y singularidad en el mercado, enfrenta constantes amenazas por enfermedades fúngicas, particularmente aquellas ocasionadas por especies de *Alternaria* spp. Estas infecciones no solo impactan la calidad y cantidad de la producción de pitahayas, además representa una preocupación significativa para los productores locales.

La justificación de este estudio radica en la necesidad urgente de comprender y caracterizar la respuesta de las cepas específicas de *Alternaria* spp., presentes en la pitahaya amarilla frente a distintos fungicidas disponibles en el mercado. Esta evaluación *in vitro* no solo permitirá discernir la eficacia de los fungicidas comerciales en el control de estas infecciones, sino que también proporcionará información detallada sobre la resistencia o sensibilidad de los patógenos a estos agentes químicos.

La relevancia de este estudio se fundamenta en su potencial impacto directo en la sostenibilidad de la industria de la pitahaya en la provincia de Morona Santiago y a nivel nacional en Ecuador. Al comprender mejor la sensibilidad de los hongos patógenos a los fungicidas comerciales, se podrían desarrollar estrategias de manejo más precisas y efectivas para mitigar las enfermedades fúngicas en los cultivos de pitahaya. Además, la información obtenida puede ser crucial para optimizar el uso de fungicidas, reducir la resistencia adquirida por hongos y mejorar la salud general de los cultivos.

### 1.4 Hipótesis o pregunta de investigación

**H<sub>0</sub>:** Los fungicidas comerciales a diferentes concentraciones en condiciones *in vitro*, no ejercen un efecto inhibitorio en el crecimiento del tubo germinativo de conidios de *Alternaria* spp.

**H<sub>1</sub>:** Los fungicidas comerciales a diferentes concentraciones en condiciones *in vitro*, ejercen un efecto inhibitorio en el crecimiento del tubo germinativo de conidios de *Alternaria* spp.

## CAPÍTULO II

### 2 MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Origen de la pitahaya

La pitahaya, originaria de América Latina, se cultiva en todo el mundo y se distribuye tanto en América como en Asia, contando con alrededor de 200 especies endémicas. Esta familia muestra una amplia diversidad y presencia exclusiva, concentrándose especialmente en naciones como Guatemala, México, Brasil, Costa Rica, Honduras, Colombia y Ecuador (Huachi et al. 2015, pág. 3).

#### 2.2 Taxonomía de la pitahaya

La pitahaya es parte de la familia *Cactaceae* y se clasifica como un tipo de cactus. Estas plantas son enredaderas y cuentan con raíces aéreas, y sus frutos pueden presentarse con o sin brácteas. En términos taxonómicos, se destacan dos géneros principales: el *Hylocereus*, asociado a la pitahaya roja, y el *Selenicereus*, que se relaciona con la pitahaya amarilla.

**Tabla 2-1:** Taxonomía de la pitahaya Amarilla (*Selenicereus megalanthus*)

<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophita</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Orden</b>	<i>Caryophyllae</i>
<b>Familia</b>	<i>Cactaceae - cactácea</i>
<b>Genero</b>	<i>Selenicereus</i>
<b>Especie</b>	<i>Megalanthus</i>
<b>Nombre científico</b>	<i>Selenicereus Megalanthus</i>

Fuente: (García Solís 2021).

Realizado por: Sarmiento R., 2024.

##### 2.2.1 Generalidades del cultivo

La pitahaya es una planta perenne que posee características trepadoras y hemiepífitas, capaz de absorber agua tanto a través de las raíces en el suelo como de las raíces adventicias presentes en su tallo. Sus hojas se presentan en forma de pencas con márgenes ovalados, adoptando una estructura triangular al ser observadas en corte transversal. Sus flores son completas, hermafroditas y simétricas, destacan por su abundancia de estambres y pétalos de color blanco, alcanzando dimensiones de hasta 25 cm de largo (Vargas Tierras et al. 2020, pág. 10).

Los frutos de la pitahaya son del tipo baya y su color varía dependiendo de la especie, generalmente se presentan en tonalidades intensas de amarillo o rojo. Su pulpa es blanca, de forma ovalada a alargada (con longitudes entre 6 y 12 cm) y su peso oscila entre 50 y 400 gramos. En su interior alberga pequeñas semillas de tonalidad oscura (Vargas Tierras et al. 2020, pág. 10).

La pitahaya, conocida como "Fruta del Dragón", ha ganado fama a nivel mundial debido a sus notables propiedades nutricionales y fisicoquímicas, lo que la convierte en un alimento funcional reconocido. Este fruto exótico es apreciado por sus compuestos bioactivos y se valora por sus características organolépticas, lo que le confiere un alto valor comercial (Verona 2020, pág. 2).

En la actualidad, la pitahaya se ha convertido en una fruta tropical altamente rentable para la exportación, impulsada por sus cualidades nutricionales y su atractiva morfología. Esta fruta es una fuente rica de vitamina C, carbohidratos, agua y fibra, que representan aproximadamente el 80% de su composición. Se destaca por su capacidad antioxidante, principalmente en las semillas, las cuales poseen concentraciones elevadas de ácidos grasos, especialmente el ácido linoleico. El aceite extraído de estas semillas se utiliza con propósitos laxantes y para aliviar molestias estomacales, mejorando el funcionamiento del tracto digestivo (Sotomayor et al. 2019. pág. 5).

### **2.2.2 Problemas fitosanitarios del cultivo**

La pitahaya, aunque es una fruta altamente apreciada, enfrenta desafíos fitosanitarios significativos. Algunos de los problemas comunes incluyen enfermedades fúngicas como la mancha bacterial y las pudriciones causadas por hongos, que pueden afectar la calidad y cantidad de la fruta. Además, plagas como los ácaros, escamas y cochinillas pueden impactar negativamente el crecimiento y la salud de la planta, comprometiendo su producción. Estos problemas fitosanitarios exigen estrategias efectivas de manejo integrado para salvaguardar los cultivos de pitahaya y mantener su rendimiento óptimo. El cultivo de pitahaya es afectado por plagas y enfermedades, destacándose los patógenos *Alternaria*, *Antracnosis*, (Suárez, Pico y Delgado 2019, pág.1), pudrición basal, bacteriosis, nematodos fitoparásitos y la plaga denominada chinche pata de hoja; perjudicando estos problemas fitosanitarios al agricultor una pérdida económica del 44% (Valencia 2013, pág. 2).

### **2.2.3 Prevalencia de *Alternaria* spp., en la Pitahaya**

Estudios previos han identificado la presencia de *Alternaria* spp., como un desafío fitopatológico importante en el cultivo de la pitahaya. Se ha observado que estas especies fúngicas pueden causar

daños significativos en la fruta, afectando la calidad y cantidad de la producción (Suárez, Pico y Delgado 2019, pág. 1). La susceptibilidad de la pitahaya a las infecciones por *Alternaria* spp., ha generado preocupación debido a las pérdidas económicas y de rendimiento que puede ocasionar. Investigaciones previas han demostrado que estas infecciones pueden reducir la calidad de la fruta y disminuir los rendimientos de los cultivos (Suárez, Pico y Delgado 2019, pág. 1).

## 2.3 Fungicidas

La palabra "fungicidas" tiene sus raíces en "fungicida", derivado del latín "*fungus*" (hongo) y el sufijo "-cida", que significa "matar" o "destruir". Un "fungicida" es una sustancia capaz de controlar o eliminar hongos. Así, la "fungicidas" se refiere a la inherente capacidad de un agente para ser fungicida, es decir, su habilidad para combatir el crecimiento o propagación de hongos patógenos. Este término describe la capacidad de un compuesto, pesticida o agente natural para controlar o prevenir el crecimiento de hongos dañinos. En esencia, la fungicidas se relaciona con la capacidad de un producto o sustancia para actuar eficazmente como fungicida, ofreciendo protección contra hongos no deseados (Pulido y Sandoval 2008, págs. 40).

### 2.3.1 Acción fungicida o fungistática

La acción fungicida y fungistática se refiere al efecto que tienen ciertos compuestos o agentes sobre los hongos.

**Fungicida:** Se trata de sustancias o compuestos químicos que tienen la capacidad de matar o destruir hongos. Estos agentes fungicidas pueden ser utilizados para eliminar activamente el crecimiento de hongos patógenos, deteniendo su desarrollo y reproducción.

**Fungistática:** Por otro lado, la acción fungistática implica la capacidad de inhibir o detener el crecimiento y la reproducción de hongos, pero no necesariamente los destruye por completo. En lugar de matarlos, estos agentes fungistáticos limitan su crecimiento y actividad, manteniendo los niveles de infección bajo control (García y Portilla 2011, pág. 193).

Ambas acciones son relevantes en la agricultura, la medicina y la industria, donde el control de hongos patógenos es esencial. Los fungicidas se utilizan para el control activo de infecciones fúngicas, mientras que los fungistáticos pueden ser útiles para prevenir la proliferación de hongos en ciertas condiciones sin necesariamente eliminarlos por completo (Alexopoulos, 1996, pág. 220).

### 2.3.2 *Clases de fungicidas*

Los fungicidas se dividen en diferentes clases según su modo de acción, composición química y efectos sobre los hongos. A continuación, una breve reseña de algunas clases comunes de fungicidas:

**Fungicidas protectores:** Son productos que crean una barrera protectora en la superficie de la planta, previniendo la infección por hongos. Se aplican antes de que ocurra la infección y son efectivos principalmente como medida preventiva (García y Portilla 2011, pág. 193)

**Fungicidas sistémicos:** Estos fungicidas son absorbidos por la planta y se mueven dentro de sus tejidos, ofreciendo protección desde adentro. Son efectivos tanto preventivamente como curativamente, por su eficacia de detener el crecimiento de hongos existentes (García y Portilla 2011, págs. 193)

**Fungicidas de contacto:** Actúan únicamente sobre la superficie de la planta tratada y no son absorbidos por los tejidos. Son efectivos al entrar en contacto directo con el hongo, pero no tienen actividad residual (García y Portilla 2011, pág. 194)

**Fungicidas de acción específica:** Dirigidos a un grupo particular de hongos o a un proceso metabólico específico en los hongos, estos fungicidas son selectivos en su acción, lo que los hace útiles para el control de ciertas enfermedades fúngicas sin afectar otros organismos (García y Portilla 2011, pág. 194)

**Fungicidas de amplio espectro:** Tienen la capacidad de controlar una amplia gama de hongos. Aunque son efectivos contra muchos patógenos, pueden tener impactos más amplios en el ambiente al afectar también a organismos no objetivo (Oliver y Hewitt 2014, pág. 120).

### 2.3.3 *Modo de acción de los fungicidas*

Los fungicidas se agrupan según su modo de acción, química y efectividad contra ciertos tipos de hongos. Algunos de los principales grupos de fungicidas incluyen (Oliver y Hewitt 2014, pág. 120).

**Inhibidores de la síntesis de ergosterol:** Actúan bloqueando la producción de ergosterol, un componente vital de las membranas celulares de los hongos. Esto afecta la integridad de las membranas, provocando la muerte del hongo o la inhibición de su crecimiento. Ejemplos: triazoles, imidazoles (Oliver y Hewitt 2014, pág. 120).

**Inhibidores de la síntesis de quitina:** Impiden la formación de quitina, un componente estructural clave en los hongos. Sin la formación adecuada de quitina, la estructura de la pared celular se debilita, afectando la capacidad del hongo para crecer y reproducirse. Ejemplos: Bencimidazoles, Anilino pirimidinas (Oliver y Hewitt 2014, pág. 121).

**Inhibidores de la respiración mitocondrial:** Interfieren con la cadena respiratoria de los hongos, afectando su capacidad para producir energía. Ejemplos: Estrobirulinas, Carboxamidas (Oliver y Hewitt 2014, pág. 121).

**Fungicidas multisíticos:** Estos fungicidas tienen varios sitios de acción y pueden actuar sobre diferentes procesos metabólicos en los hongos, lo que los hace efectivos contra una amplia gama de patógenos. Ejemplos: Cloratoloni, Mancozeb (Oliver y Hewitt 2014, pág. 121).

#### **2.3.4 Clasificación de los fungicidas**

Los fungicidas se clasifican en familias basadas en su estructura química y su modo de acción. A continuación, algunas familias comunes de fungicidas (Oliver y Hewitt 2014, pág. 119).

**Triazoles:** Comprende un grupo importante de fungicidas sistémicos que inhiben la biosíntesis del ergosterol en los hongos. Esta familia incluye compuestos como el tebuconazol, el Propiconazol y el Difenconazol (Oliver y Hewitt 2014, pág. 119).

**Imidazoles:** Otro grupo de fungicidas sistémicos que también interfieren con la síntesis de ergosterol. Ejemplos incluyen el clotrimazol y el miconazol, que se utilizan en aplicaciones médicas (Oliver y Hewitt 2014, pág. 119).

**Benzimidazoles:** Actúan como inhibidores de la síntesis de microtúbulos en los hongos, interfiriendo con su división celular. Ejemplos incluyen el Tiabendazol y el Carbendazim (Oliver y Hewitt 2014, pág. 119).

**Estrobilurinas:** Fungicidas que interfieren con la cadena de transporte de electrones en la respiración mitocondrial de los hongos. Algunos ejemplos son el Azoxistrobina y el Picoxistrobina (Oliver y Hewitt 2014, pág. 119).

**Morfolinás:** Inhiben la biosíntesis del aminoácido metionina en los hongos, afectando su crecimiento y desarrollo. La Fludioxonil es un ejemplo común de esta familia (Oliver y Hewitt 2014, pág. 119).

**Carbamatos:** Se utilizan para el control de hongos fitopatógenos y pueden tener varios modos de acción, incluyendo la inhibición de la división celular. Citándose el Tiram y el Carbaril (Oliver y Hewitt 2014, pág. 119).

## **2.4 Productos Fungicidas**

### **2.4.1 Difenconazole**

El Difenconazole es un fungicida sistémico que ejerce su acción principalmente como inhibidor de la biosíntesis de ergosterol, un componente crucial de las membranas celulares en hongos. Actúa al interferir con la enzima C14-demetilasa, esencial en la ruta metabólica que convierte el lanosterol en ergosterol (Oliver y Hewitt 2014, pág. 120).

El ergosterol es fundamental para la integridad y función de las membranas celulares en los hongos. Su inhibición provoca una serie de efectos perjudiciales en la célula fúngica:

**Alteración de la membrana celular:** La disminución en la síntesis de ergosterol provoca cambios en la composición y estructura de las membranas celulares de los hongos. Esto resulta en una mayor permeabilidad de las membranas, lo que altera su función como barrera protectora y afecta la homeostasis celular (Oliver y Hewitt 2014, pág. 120).

**Impedimento del crecimiento y la reproducción:** La reducción en la producción de ergosterol puede afectar la formación de estructuras celulares y miceliales, lo que interrumpe la división celular y restringe el crecimiento y la reproducción del patógeno fúngico (Oliver y Hewitt 2014, págs. 120).

### **2.4.2 Azoxystrobin**

Azoxystrobin es un fungicida de la familia de las Estrobilurinas que tiene un modo de acción específico en los hongos patógenos. Actúa como un inhibidor de la respiración mitocondrial al interferir con el complejo III de la cadena de transporte de electrones en las mitocondrias de los hongos (Oliver y Hewitt 2014, pág. 120)..

*Mecanismo de acción:*

Inhibición de la respiración mitocondrial: Al unirse a la quinol oxidasa del complejo III de la cadena de transporte de electrones, el Azoxystrobin interfiere con la transferencia de electrones en la cadena respiratoria. Esto provoca una interrupción en el flujo de electrones y la formación de especies reactivas de oxígeno, lo que lleva a un bloqueo en la producción de ATP (energía) en la célula fúngica (Boudina et al. 2007, pág. 10).

Efectos en la respiración y metabolismo celular: Esta interrupción en la respiración mitocondrial afecta significativamente el metabolismo energético de los hongos, debilitando su capacidad para generar energía. Como resultado, se reduce la capacidad del hongo para crecer, desarrollarse y reproducirse (Boudina et al. 2007, pág. 10).

### **2.4.3 Clorotalonil**

El Clorotalonil es un fungicida multisítico que actúa de manera no específica sobre diversos puntos dentro de la célula del hongo. Su modo de acción no se centra en un sitio específico, sino que afecta múltiples procesos metabólicos y celulares en el patógeno (Boudina et al. 2007, pág. 10).

*Mecanismo de acción:*

Inhibición de múltiples procesos en la célula: Actúa como un fungicida de contacto que se adhiere a la superficie de la planta, cuando es absorbido por el hongo, interfiere con varios procesos celulares y metabólicos. Esto puede incluir la inhibición de enzimas, la alteración de la estructura de la membrana y la interferencia con la síntesis de proteínas en el hongo (Chaves, Shea y Danehower 2008, pág. 3).

Efecto en la germinación del patógeno: Aunque el Clorotalonil no tiene un modo de acción específico para detener la germinación del patógeno, su acción general y no específica en la célula fúngica puede afectar su capacidad para desarrollarse normalmente y completar su ciclo de vida (Chaves, Shea y Danehower 2008, pág. 3).

### **2.4.4 Tebuconazole**

El tebuconazole es un fungicida sistémico del grupo de los triazoles y su modo de acción se centra en la inhibición de la biosíntesis del ergosterol en los hongos, similar a otros miembros de esta familia (Oliver y Hewitt 2014, pág. 120).

*Mecanismo de acción:*

Inhibición de la biosíntesis de ergosterol: Actúa como un inhibidor de la enzima C14-demetilasa, que participa en la conversión del anosterol a ergosterol, un componente esencial de las membranas celulares de los hongos (Muñoz-Leoz et al. 2011, pág. 1).

Efecto en la germinación del patógeno: Al igual que otros triazoles, el tebuconazole no está específicamente dirigido a detener la germinación del patógeno. Su acción principal se enfoca en afectar la síntesis de ergosterol, por ende su impacto está más relacionado con la actividad celular una vez que el hongo ha germinado y se encuentre activo (Muñoz-Leoz et al. 2011, pág. 1).

#### **2.4.5 *Bacillus subtilis***

*Bacillus subtilis* es una bacteria Gram positiva ampliamente estudiada y utilizada en diferentes aplicaciones debido a su versatilidad y capacidades beneficiosas. Se encuentra en suelos y ambientes naturales y ha sido ampliamente investigada por sus propiedades benéficas en la agricultura, la industria y la biotecnología (Sonenshein, Hoch y Losick 1993, pág. 3).

Algunas características y usos de *Bacillus subtilis* incluyen:

Biotecnología: Esta bacteria se utiliza en la producción de enzimas industriales, como proteasas y amilasas, que tienen aplicaciones en la industria alimentaria y de detergentes.

Control biológico: *Bacillus subtilis* es un agente de control biológico de patógenos de plantas. Produce metabolitos antimicrobianos y péptidos que inhiben el crecimiento de patógenos fúngicos y bacterianos, ayudando así a proteger las plantas de enfermedades (Sonenshein, Hoch y Losick 1993, pág. 3).

Promoción del crecimiento de plantas: Además de su actividad antipatógena, *Bacillus subtilis* puede promover el crecimiento de las plantas al inducir la resistencia sistémica en las plantas y mejorar la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Sonenshein, Hoch y Losick 1993, pág. 3).

*Mecanismo de acción:*

*Bacillus subtilis* ejerce su acción principalmente a través de la producción de compuestos antimicrobianos como péptidos antibióticos, enzimas y metabolitos secundarios, logrando afectar la membrana celular de otros microorganismos, inhibiendo su crecimiento y desarrollo (Sonenshein, Hoch y Losick 1993, pág. 3).

En términos de mecanismo de acción, *Bacillus subtilis* produce una variedad de compuestos que tienen efectos antibióticos y antifúngicos. Los péptidos antimicrobianos, como la subtilisina, interfieren con las membranas celulares de otros microorganismos, provocando su desestabilización y eventual destrucción (Sonenshein, Hoch y Losick 1993, pág. 3).

## **2.5 Hongo *Alternaria* spp**

### **2.5.1 *Alternaria* spp**

*Alternaria*, un género de hongos, está presente en todas partes y abarca especies que son saprófitas, endofíticas y patógenas. Presente en diversos sustratos como semillas, plantas, productos agrícolas, animales, suelo y atmósfera, estas causan graves enfermedades en plantas, provocando pérdidas significativas en cultivos.

*Alternaria*, un patógeno fúngico con una amplia distribución, comprende especies que desempeñan funciones como saprófitas, endófitas y patógenas. Se asocian con diversos sustratos, como semillas, plantas, productos agrícolas, animales, suelo y atmósfera. Conocidas por ser patógenas vegetales graves, algunas especies ocasionan pérdidas considerables en cultivos y tienen un impacto importante después de la cosecha, siendo agentes causantes de la faeohifomicosis en pacientes inmunocomprometidos o actuando como alérgenos transportados por el aire. Dada la importancia de sus efectos negativos en la salud humana y el entorno, la identificación precisa y rápida de las especies de *Alternaria* resulta valiosa para investigadores, micólogos médicos y el público en general (Woudenberg et al. 2013, pág. 2).

### **2.5.2 *Evolución filogenética***

En cuanto al género, *Alternaria* es un microorganismo ubicuo de hifomicetos dematiáceos que comprende más de 790 epítetos de especies y aproximadamente 368 especies aceptadas en 29 secciones. Estas especies ocupan diversos hábitats, desde establecer relaciones endofíticas en tejidos vegetales sin síntomas aparentes, hasta adoptar estilos de vida saprófitas en una amplia variedad de hospedadores y sustratos, como vegetación muerta, papel y alimentos. Además, desempeñan roles como patógenos en plantas y animales, incluyendo a los seres humanos, a nivel

mundial. El género tiene una distribución global que abarca regiones como Asia (por ejemplo, India, Japón), Australia, Europa y América del Norte (Thomma 2003, pág. 2).

Como agentes patógenos invasivos, los géneros de *Alternaria* se encuentran frecuentemente en diversos entornos, tales como la atmósfera, polvo, interiores, suelo y estructuras antiguas deterioradas. Ocasionan enfermedades vegetales generalizadas, como manchas en las hojas y defoliación, manifestando síntomas característicos con lesiones necróticas que van desde tonalidades marrones hasta negras, rodeadas por áreas cloróticas en las hojas. También poseen la capacidad de infectar flores, frutos, raíces, plántulas y tallos, dando lugar a diferentes tipos de lesiones. Estas enfermedades disminuyen el valor de mercado y generan pérdidas económicas en cultivos esenciales como repollo, pepino, habas, cebolla, patata, tomate y plantas ornamentales (Ma et al. 2010, pág. 3).

La implementación exitosa de estrategias de control a menudo se ve dificultada por errores en la identificación de las especies de *Alternaria*. Estas cepas tienen la capacidad de sintetizar una amplia variedad de metabolitos secundarios. Algunas fitotoxinas generadas por *Alternaria* muestran aplicaciones beneficiosas en la biotecnología, actuando como agentes de control biológico o herbicidas dirigidos contra diversas especies vegetales en diversos entornos. No obstante, también producen micotoxinas y están asociadas con enfermedades oportunas que afectan la salud de animales y seres humanos, como la alternariosis, además de representar un riesgo potencial de contaminación en productos alimentarios (Ma et al. 2010, pág. 3).

Numerosas discusiones y revisiones taxonómicas han contribuido a una mejor comprensión de la taxonomía de *Alternaria* y sus relaciones con géneros asociados. Muchas formas sexuales, previamente descritas con diferentes nombres, se consideran la etapa sexual de *Alternaria*. Esto incluye especies que históricamente se trataban por separado, como *Allewia*, *Crivellia* y *Lewia*, que ahora se consideran sinónimos de *Alternaria*. Las especies presentan diversas características morfológicas en sus etapas sexuales y asexuales, lo que afecta su clasificación y taxonomía (Lawrence et al. 2014, pág. 2).

### 2.5.3 Taxonomía

El género *Alternaria* fue establecido por Nees en 1816 con la especie tipo *A. alternata* inicialmente (*Alternaria tenuis*), y clasificado taxonómicamente de la siguiente manera.

**Tabla 2-2:** Taxonomía de *Alternaria*

<b>Reino</b>	<b>Fungi</b>
<b>Filo</b>	Deuteromycetes.

<b>Clase:</b>	Hyphomycetes
<b>Orden:</b>	Hyphomycetales
<b>Familia:</b>	Dematiaceae.
<b>Género:</b>	Alternaria

**Fuente:** (Agrios 2004).

**Realizado por:** Sarmiento R., 2024.

Es un tipo de hongo formado por filamentos que tienen estructuras de conidióforos simples y tabicados. Los conidios de *Alternaria* spp., muestran divisiones en sus estructuras, tanto transversales como longitudinales, llamadas dictiosporas; tienen un color marrón y terminaciones en punta en su extremo apical llamadas (*faeodictiosporas*). Se generan mediante un crecimiento en la punta de una célula conidiógena o del conidio previo, lo que puede dar lugar a una cadena de conidios si la espóra produce múltiples crecimientos. Los conidios de este género siguen un patrón de desarrollo acrópeto (Simmons 2007, pág. 312).

#### 2.5.4 *Micotoxinas*

Ciertas cepas de *Alternaria* son conocidas por su habilidad para producir una diversidad de metabolitos secundarios. Estos compuestos son sustancias de bajo peso molecular que se producen durante la fase estacionaria de crecimiento y no son esenciales para el desarrollo o el crecimiento del hongo productor. Persiste un debate sobre la naturaleza del metabolismo secundario y la función que cumplen estos compuestos en la biología de los organismos que los producen. Una considerable cantidad de estos metabolitos muestran actividad biológica y pueden ser perjudiciales para otros microorganismos, actuando como antibióticos, así como para plantas, en forma de fitotoxinas, y también para animales (Fox y Howlett 2008, pág. 2).

Las micotoxinas son sustancias orgánicas generadas por hongos, capaces de causar daño a la salud tanto de seres humanos como de animales. Estas toxinas pueden causar problemas de intoxicación aguda, subaguda o crónica, y sus efectos pueden incluir carcinogenicidad, teratogenicidad, mutagenicidad, neurotoxicidad e inmunosupresión (Richard 2007, pág. 3). Cuando los animales o los humanos ingieren o inhalan toxinas fúngicas en ciertas concentraciones, pueden experimentar efectos adversos para la salud. Estos incluyen la reducción de la disponibilidad de alimentos ricos en proteínas, impactos en la inmunidad tanto humoral como celular, lo que conlleva a una mayor susceptibilidad a las infecciones microbianas, así como también pueden afectar la morbilidad y mortalidad en animales de producción (Bräse et al. 2009, pág. 3).

### 2.5.5 *Morfología*

El micelio de *Alternaria* spp., tiene una apariencia característica: es segmentado, de color verde oscuro. Sus conidios, de tono café pardo, son ovalados y están dispuestos en cadenas cortas, pudiendo encontrarse en agrupaciones o de manera individual. En estas cadenas, el conidio más joven se sitúa en el extremo. Los conidióforos, simples y de tonalidad oscura, pueden variar en longitud, pero en esencia consisten en una estructura que une cadenas de conidios (esporas) con el conidióforo. Bajo condiciones óptimas, este hongo puede germinar en un lapso de 1 a 3 horas, permitiendo que las esporas se dispersen a través del viento (Thomma 2003, pág. 4).



**Ilustración 2-1:** Estructuras reproductivas de *Alternaria*

**Fuente:** (Agris 2004).

### 2.5.6 *Ciclo de la enfermedad*

*Alternaria* spp., es un hongo que reside en tejidos infectados, como hojas en el suelo, tubérculos y plantas huéspedes. Sus conidios germinan en estas superficies e ingresan a través del tejido epidérmico de las hojas, tallos y frutos, encontrando acceso al interior, ya sea por la superficie externa o la cáscara de estos últimos. Bajo condiciones de humedad y temperatura adecuadas, se inicia la infección, manifestándose como manchas en la parte inferior de la planta

aproximadamente de 2 a 3 días después de la siembra. En unos cuatro días, se observa la presencia de esporas a medida que estas manchas alcanzan unos 3 mm de diámetro. Las esporas y conidios se propagan a través del viento, infectando plantas cercanas y causando lesiones más extensas en las hojas, tallos y frutos durante la etapa de senescencia de la planta en el campo. Estas lesiones tienden a fusionarse, creando áreas más grandes en la superficie de las hojas, tallos y frutos. Es importante tener en cuenta que esta enfermedad puede provocar pérdidas considerables en los frutos si se almacenan a temperaturas frías de alrededor de 8 °C (Wang et al. 2020, pág. 2).

## **2.6 Medios de cultivo**

Un medio de cultivo en microbiología es un entorno diseñado para el crecimiento, mantenimiento y estudio de microorganismos como bacterias, hongos o virus en un laboratorio. Este medio proporciona los nutrientes necesarios, como carbohidratos, proteínas, sales minerales, vitaminas y factores de crecimiento, para que los microorganismos se desarrollen y se multipliquen (Casado, Torrico y Medina 2012, pág. 9).

Existen diferentes tipos de medios de cultivo, cada uno adaptado para el crecimiento de ciertos tipos de microorganismos. Los medios pueden ser sólidos, líquidos o semisólidos y pueden tener composiciones específicas para promover ciertas características o identificar propiedades particulares de los microorganismos, como su capacidad para fermentar ciertos azúcares o su resistencia a ciertos antibióticos (Casado, Torrico y Medina 2012, pág. 9).

Los medios de cultivo pueden ser simples, conteniendo solo los nutrientes básicos, o complejos, agregando extractos de tejidos o sueros. Además, se pueden usar medios selectivos que fomentan el crecimiento de ciertos microorganismos mientras inhiben otros y medios diferenciales que permiten distinguir diferentes especies según sus características de crecimiento o la producción de ciertos metabolitos (Casado, Torrico y Medina 2012, pág. 9).

Los medios de cultivo son herramientas fundamentales para el aislamiento, identificación y conservación de microorganismos. Su desarrollo se remonta a los estudios de Louis Pasteur, considerado el padre de la microbiología, quien observó el crecimiento microbiano en soluciones con azúcar y nitrógeno. Desde entonces, se han creado medios especializados para microorganismos exigentes se multipliquen (Casado, Torrico y Medina 2012, pág. 9).

Clasificación: La forma más simple de clasificar los medios de cultivo es por su consistencia:

### **2.6.1 Medios sólidos**

Contienen agar, un polisacárido extraído del alga *Gelidium* (u otros géneros) que les da firmeza. Son útiles para:

Aislamiento: Permiten el crecimiento de colonias individuales, facilitando la identificación.

Mantenimiento: Conservan las características de los microorganismos durante un tiempo.

Pruebas de sensibilidad a antibióticos: Permiten evaluar la eficacia de diferentes antibióticos contra un microorganismo.

### **2.6.2 Medios líquidos**

No contienen agar y son más viscosos. Se utilizan para:

Cultivo a gran escala: Permiten obtener grandes cantidades de microorganismos para diferentes propósitos.

Pruebas bioquímicas: Detectan la presencia de enzimas y otras sustancias producidas por los microorganismos.

Producción de metabolitos: Permiten obtener productos de interés industrial a partir de microorganismos.

Obtención del agar: Se extrae de las algas mediante procesos de lavado, secado, extracción, filtración, purificación y desecación. El resultado final puede ser polvo o hojuelas que se añaden al medio de cultivo multipliquen (Casado, Torrico y Medina 2012, pág. 10).

En síntesis, los medios de cultivo son esenciales para el estudio de los microorganismos y sus aplicaciones en diversas áreas como la medicina, la industria y la agricultura. La elección del medio adecuado depende de las características del microorganismo que se desea estudiar y del objetivo del estudio.



## CAPITULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 Localización del estudio

Este trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Protección Vegetal de la Estación Experimental Central de la Amazonía (INIAP), localizada, en el Cantón Joya de los Sachas, Provincia de Orellana.

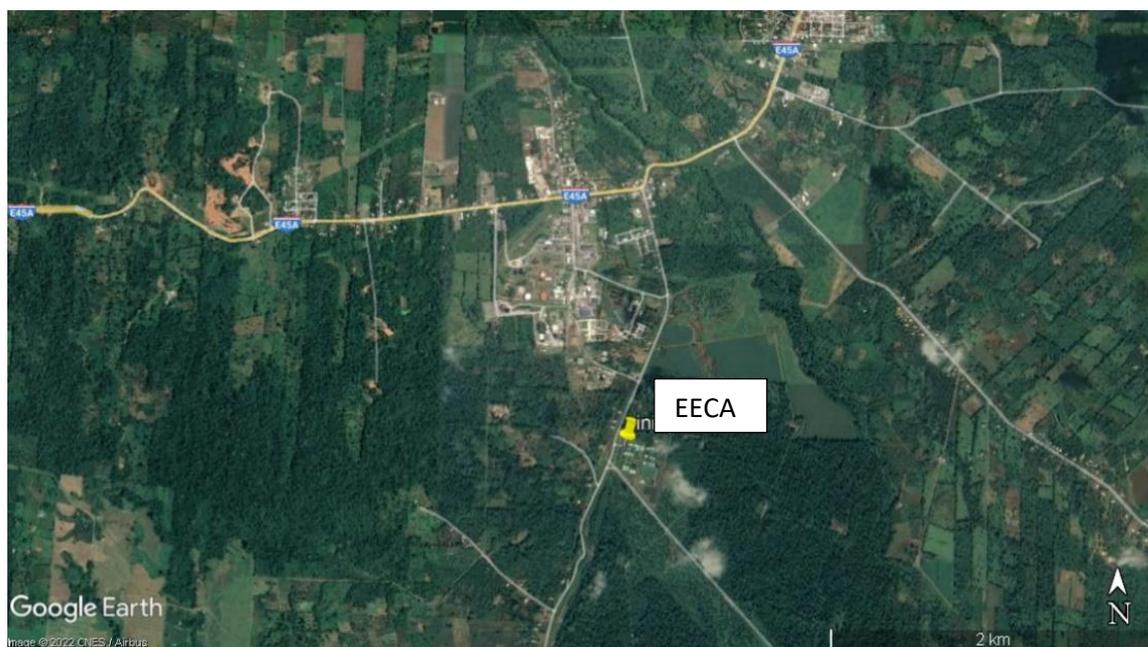
#### 3.2 Posición geográfica

**Tabla 3-1:** Posición geográfica

Zona	Parroquia	X (Este)	Y (Norte)
18 M	San Carlos	291,398.00 m E	9,962,333.00 m S

Fuente: INIAP, 2023.

Realizado por: Sarmiento, R., 2024.



**Ilustración 3-1:** Ubicación de la Estación Experimental Central de la Amazonia, perteneciente al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

Realizado por: Sarmiento, R., 2024.

### 3.3 Materiales y equipos

**Tabla 3-2:** Lista de materiales utilizados.

<p><b>Materiales</b></p>	<p><b>Materiales de laboratorio</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Cubre y porta objetos</li> <li>-Tubos de ensayo</li> <li>-Matraces</li> <li>-Cajas Petri</li> <li>-Mandil</li> <li>-Sacabocados de 5 mm</li> <li>-Pinzas</li> <li>-Espátula</li> <li>-Mechero de alcohol,</li> <li>-Algodón hidrófilo</li> <li>-Papel aluminio,</li> <li>-Guantes de nitrilo</li> <li>-Alcohol 70 y 90 %</li> <li>-Papa Dextrosa Agar</li> <li>-Agar</li> <li>-Glucosa</li> <li>-Levadura</li> <li>-Fungicidas comerciales</li> </ul>
<p><b>Equipo</b></p>	<p><b>Equipo de laboratorio y escritorio</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Estereomicroscopio</li> <li>-Microscopio</li> <li>-Cámara de flujo laminar</li> <li>-Autoclave</li> <li>-Estufa</li> <li>-Destilador</li> <li>-Balanza analítica</li> <li>-Cámara de microscopio</li> <li>-Micropipetas</li> <li>-Computadora,</li> <li>-Impresora</li> <li>-Cámara de celular</li> <li>-Memoria USB</li> </ul>

Realizado por: Sarmiento, R., 2024.

### **3.4 Metodología**

#### **3.4.1 Método experimental**

La investigación y la obtención de datos se llevaron a cabo en un entorno de laboratorio. Se emplearon estrategias explicativas para recopilar la información, haciendo uso de gráficos y tablas estadísticas con la asistencia de la suite de programación Microsoft Office Excel.

#### **3.4.2 Factores de estudio**

Factor A: fungicidas

Cinco niveles (Difeconazole, Clorotalonil, Azoxystrobin, *Bacillus subtilis*, Tebuconazole)

Factor B: dosis 3 niveles (Alta, Media, Baja). Siendo la dosis media la recomendada de acuerdo con la ficha técnica, alta (más del 50% de la dosis recomendada) y baja (menos el 50% de la dosis recomendada).

### **3.5 Variables evaluadas**

#### **3.5.1 Variable dependiente**

Largo del tubo germinativo que expresará la Inhibición del tubo germinativo de *Alternaria* spp.

#### **3.5.2 Variable independiente**

Esta variable está conformada por los fungicidas y las dosis (alta, media y baja)

#### **3.5.3 Unidad experimental**

Porta objetos

### **3.6 Diseño experimental**

Se utilizará un diseño completamente aleatorizado DCA con tres repeticiones.

### **3.7 Análisis estadístico**

Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico Infostat versión 2015 (Di Renzo et al., 2015). Los análisis de varianza se realizarán usando modelos lineales generales y mixtos, así mismo un análisis de comparación de medias LSD de Fisher  $\alpha= 0,05$  (Di Rienzo, Macchiavelli & Casanoves, 2015).

En cuanto la variable del largo del tubo germinativo expresado en micras, se aplicaron modelos lineales, generales y mixtos, siendo los efectos fijos el factor fungicida-dosis y la interacción resultado de ambos factores. Se requirieron ajustes de varianza: la varianza de identidad (VarIdent), siendo las selecciones de modelos bajo el menor valor de los criterios de información de Akaike (AIC), brindando así un equilibrio óptimo entre ajuste y simplicidad.

Se utilizó un ADEVA multifactorial con el fin de determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los fungicidas, las tres dosis y cualquier interacción que pueda surgir entre estos factores. Lo antes mencionado se llevó a cabo para identificar diferencias específicas entre los fungicidas y dosis, lo que permitió un análisis detallado de las relaciones entre los tratamientos y sus efectos en el control de la *Alternaria* spp.

A continuación, se presenta el esquema de ADEVA:

**Tabla 3-3:** Esquema Anova (ADEVA)

<b>Fuentes de variación</b>			<b>Grados de libertad</b>
Repetición	r-1	2	
Tratamientos	t-1	15	
Error experimental	t(r-1)	30	
Total	rt-1	47	

Realizado por: Sarmiento, R., 2024.

### 3.8 Tratamientos

**Tabla 3-4:** Descripción de los tratamientos

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Ingrediente activo de fungicidas</b>	<b>Descripción de dosis</b>		<b>ml empleados</b>
<b>T1</b>	Difenoconazole	Alta	750 ml/ha	0.38
<b>T2</b>	Difenoconazole	Media	500 ml/ha	0.25
<b>T3</b>	Difenoconazole	Baja	250 ml/ha	0.13
<b>T4</b>	Clorotalonil	Alta	750ml/ha	0.38
<b>T5</b>	Clorotalonil	Media	500 ml/ha	0.25
<b>T6</b>	Clorotalonil	Baja	250 ml/ha	0.13
<b>T7</b>	Azoxystrobin	Alta	600 ml/ha	0.30
<b>T8</b>	Azoxystrobin	Media	400 ml/ha	0.20
<b>T9</b>	Azoxystrobin	Baja	200 ml/ha	0.10

<b>T10</b>	<i>Bacillus subtilis</i>	Alta	3 lt/ha	1.5
<b>T11</b>	<i>Bacillus subtilis</i>	Media	2 lt/ha	1
<b>T12</b>	<i>Bacillus subtilis</i>	Baja	1 lt/ha	0.5
<b>T13</b>	Tebuconazole	Alta	600 ml/ha	0.30
<b>T14</b>	Tebuconazole	Media	400 ml/ha	0.20
<b>T15</b>	Tebuconazole	Baja	200 ml/ha	0.10
<b>T16</b>	Testigo			

Realizado por: Sarmiento, R., 2024.

### 3.9 Manejo del ensayo

#### 3.9.1 Reactivación de *Alternaria spp.*

Para el proceso de rehabilitación de dichos aislados se utilizó la técnica de (Goral & Lappa, 1972, pág. 2), que consiste en descongelar y remover al hongo conservado en microtubos, para ello se usó una punta de asa estéril, se seleccionó un disco del hongo y se depositó en una caja Petri que contenga medios de cultivo, ente caso se utilizaron dos medios: PDA y Agar Lactosa, seguidamente se incubaron a 27 °C hasta que se evidenció el crecimiento del hongo.

#### 3.9.2 Número de conidios por caja Petri

Para desarrollar esta actividad se realizó un raspado ligero con una espátula Drigalsky, adicionando previamente 10 ml de agua destilada estéril a cajas Petri sembradas con *Alternaria spp.*, de 7 a 10 días de crecimiento en medio PDA y Agar Lactosa. La suspensión obtenida se filtró con gasas estériles para eliminar micelio y fragmentos del medio de cultivo. Posteriormente, la suspensión de conidios de cada caja se determinó usando una cámara de Neubauer (Rodríguez-Maturino et al., 2015, pág. 3).

#### 3.9.3 Germinación de conidios de *Alternaria spp.*

Para realizar esta actividad se utilizó una concentración de conidios ajustada a  $1 \times 10^8$  de esta concentración se tomó una alícuotas de 5  $\mu$ l y se las colocó en cajas Petri con medio de cultivo Agar Agua (AA), con ayuda de un microscopio se observó cada treinta minutos el crecimiento del tubo germinativo (Santos, García, Cotes, & Villamizar, 2012, pág. 2), para determinar el tiempo de germinación se midió el crecimiento de 20 conidios en un lapso de tres horas.

#### 3.9.4 Método para prueba de fungicidas como inhibidor de germinación de conidios.

Para la determinación del efecto germinicida de los fungicidas sobre la germinación de conidios de *Alternaria* spp., se procedió a la obtención de conidios. La suspensión obtenida se ajustó a una concentración de  $1 \times 10^8$ , esta suspensión de conidios se mezcló con la concentración de fungicida a evaluar, a una relación 1:1 (v/v) esto se realizó en tubos eppendorf previamente esterilizados, donde se colocó 0.5 ml de la concentración de conidios y 0.5 ml de la concentración de fungicida diluido en 100 ml de Agar Agua (AA), de esta mezcla se colocó 5  $\mu$ l en porta objetos los cuales se los cubrió y selló los costados con esmalte de uñas transparente para evitar desecación (Muljowati & Hikam, 2023; Rodriguez-Maturino et al., 2015, pág. 1-3).

### **3.10 Datos para evaluar**

#### **3.10.1 Determinación de número de conidios por caja Petri.**

Para el recuento de conidios se tomó la cepa de *Alternaria* spp., después de ver transcurrido 7 a 10 días de la siembra *in vitro*, en dos medios de cultivo distintos. En esta actividad se realizó un raspado ligero en las cajas Petri, la muestra sustraída se la deposito en tubos de ensayo con 9 ml de agua esterilizada y se realizaron diluciones seriadas, se colocó 10  $\mu$ l (0.01 ml) con una pipeta automática en la cámara de Neubauer, con la ayuda del microscopio a lente de 10x se calculó la cantidad de esporas por mililitro de producto, a través de la fórmula siguiente: Número de esporas/ml = Suma de 5 C.S. x factor de dilución x 50.000 (Báez Cevallos et al., 2019, pág. 19).

$$\text{Conidios/ml} = \left( \frac{\text{número total de conidios contados}}{\text{número de cuadrados contados}} \right) * \left( \frac{1}{\text{volumen del cuadrado}} \right) * \text{Factor de dilución}$$

#### **3.10.2 Determinación del tiempo de germinación de conidios de *Alternaria* spp.**

Para determinar el tiempo de germinación se tomó la muestra de conidios en un portaobjetos, con la ayuda del microscopio Motic, se realizó un enfoque con lente de 40x, se procedió a tomar medidas con el programa (Motic image plus) el crecimiento de 20 conidios, la medición se la realizo por un lapso de tres horas consecutivas, en donde el tubo germinativo del testigo sobrepaso el diámetro de la conidia (Santos et al., 2012, pág 3).

#### **3.10.3 Determinación de la eficacia de fungicidas en la germinación de conidios de *Alternaria* spp.**

Para determinar la eficacia de los cinco fungicidas comerciales se empleó el microscopio Motic con un enfoque de 10x y 40x, utilizando el programa de medición (Motic image plus), donde se

midió el crecimiento del tubo germinativo de los conidios de *Alternaria* spp., en las diferentes concentraciones de cada producto.

## CAPITULO IV

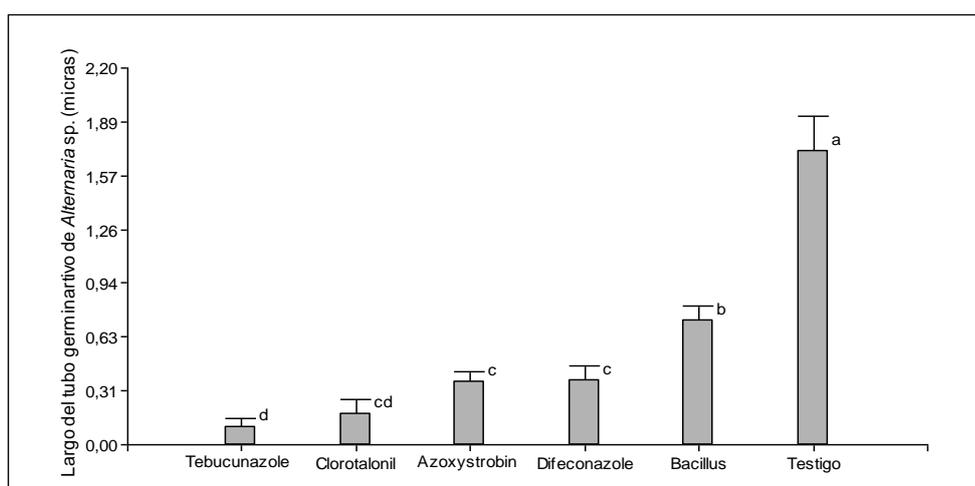
### 4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1 Procesamiento, análisis e interpretación de resultados

En general el procesamiento y análisis de los diferentes datos alcanzados en el presente estudio se ejecutaron con la finalidad de determinar los fungicidas con mayor eficacia, las dosis adecuadas y la concentración mínima inhibitoria de cada ingrediente activo expuesto sobre el tubo germinativo de *Alternaria* spp., en el cultivo de pitahaya. Este mecanismo conlleva distintas fases cruciales, desde la reactivación del patógeno, conteo de conidios, medición del tubo germinativo y preparación del análisis estadístico hasta la interpretación de los resultados en este contexto.

##### 4.1.1 Efecto de los fungicidas sobre el crecimiento del tubo germinativo.

Al analizar la variable largo del tubo germinativo de *Alternaria* spp., se encontró diferencias estadísticas significativas (P valor: <0,0001) en los fungicidas estudiados, en la (ilustración 4-1) el mayor efecto de inhibición lo obtuvo los fungicidas Tebuconazole y Clorotalonil con valores de 0,10 y 0,18  $\mu\text{m}$  respectivamente, los mismo que difieren estadísticamente de los demás fungicidas. Estos efectos son seguidos del fungicida Azoxystrobin y Difeconazole, los cuales son iguales estadísticamente, con valores de 0,37  $\mu\text{m}$ . La menor inhibición del tubo germinativo fue lograda por *Bacillus Subtilis* con un valor de 0,73  $\mu\text{m}$ , el cual difiere de los demás tratamientos y diferente estadísticamente con el testigo sin fungicida con un valor de 1,71  $\mu\text{m}$ .

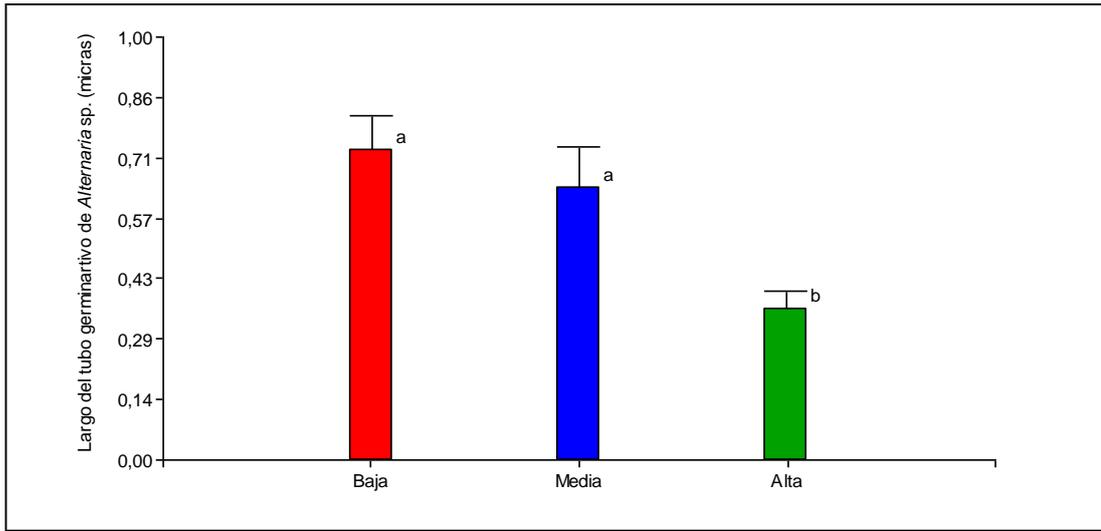


**Ilustración 4-1:** Inhibición del tubo germinativo de conidios de *Alternaria* spp.

Realizado por: Sarmiento, R., 2024.

#### 4.1.2 Efecto de la dosis fungicida sobre el crecimiento del tubo germinativo.

Al analizar la variable largo del tubo germinativo de *Alternaria* spp., en el factor dosis, hubo diferencias significativas (P valor <0,0001). Se observa que la dosis alta logro el mejor efecto de inhibición obteniendo el menor crecimiento de largo del tubo con 0.36  $\mu\text{m}$  siendo diferentes estadísticamente a las dosis medias y baja, presentando los mayores crecimientos (0.64  $\mu\text{m}$  y 0.73  $\mu\text{m}$  respectivamente) (Ilustración 4.2).



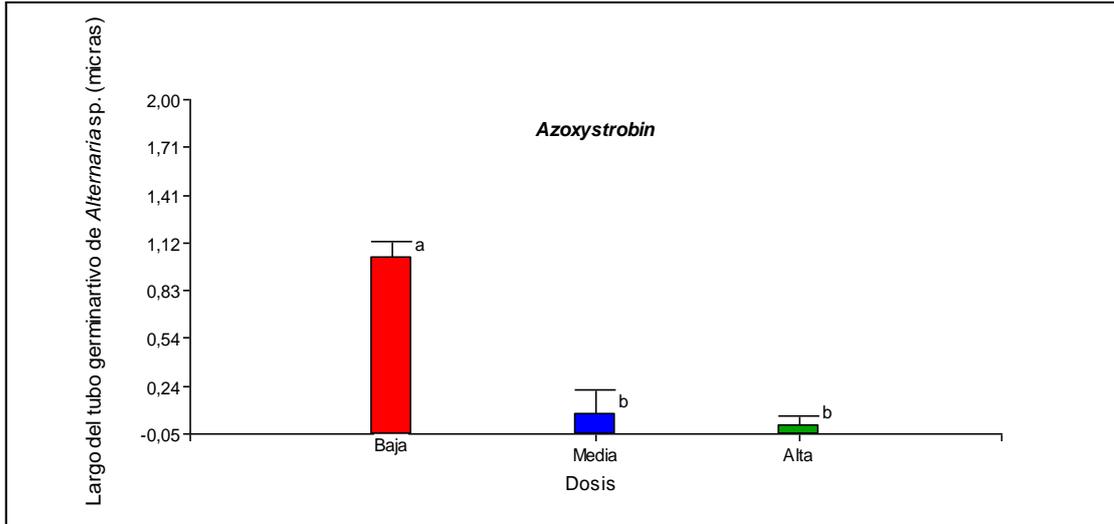
**Ilustración 4-2:** Efecto de la dosis de los productos evaluados.

Realizado por: Sarmiento, R., 2024.

#### 4.1.3 Efecto de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los fungicidas evaluados.

- Azoxystrobin

En cuanto al análisis de la variable largo de tubo germinativo de *Alternaria* spp., frente a las diferentes concentraciones (alta, media, baja) presento diferencias significativas (P valor: 0,0001) tenemos qué, para Azoxystrobin en dosis alta y media lograron la mayor inhibición del tubo germinativo, siendo estas iguales estadísticamente entre sí (0.03 y 0.07  $\mu\text{m}$  respectivamente); no obstante, la dosis baja presento el mayor crecimiento; es decir menor inhibición con 1,03  $\mu\text{m}$  (ilustración 4-3).

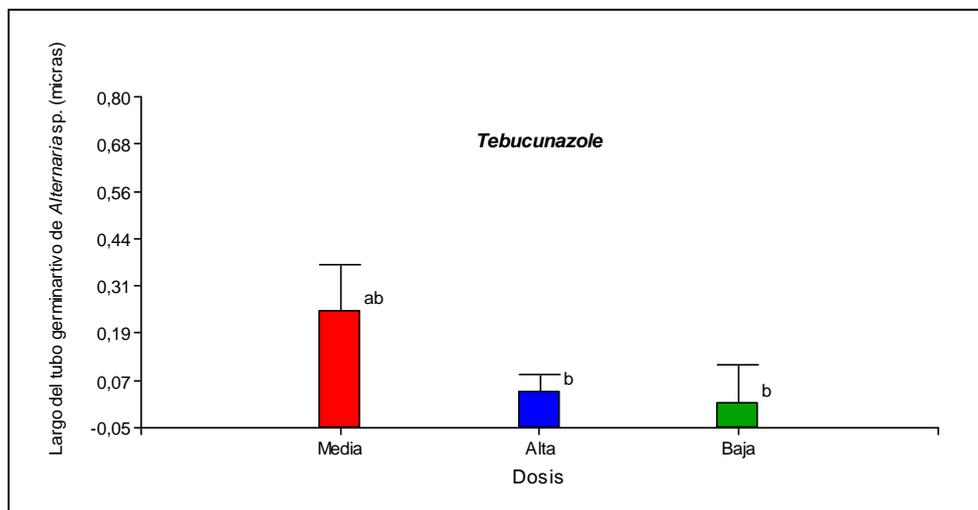


**Ilustración 4-3:** Efecto de la concentración mínima inhibitoria de Azoxytrobin

Realizado por: Sarmiento, R., 2024.

- Tebuconazole

En cuanto al análisis de la variable largo de tubo germinativo de *Alternaria* spp., frente a diferentes concentraciones (alta, media, baja) presento diferencias significativas (P valor: 0,0001), para Tebuconazole la dosis baja y alta lograron la mayor inhibición del tubo germinativo, siendo estas iguales estadísticamente entre sí (0,03 y 0,05  $\mu\text{m}$  respectivamente); difiriendo la dosis media entre sí, presentando una menor inhibición con 0,25  $\mu\text{m}$  (ilustración 4-4).



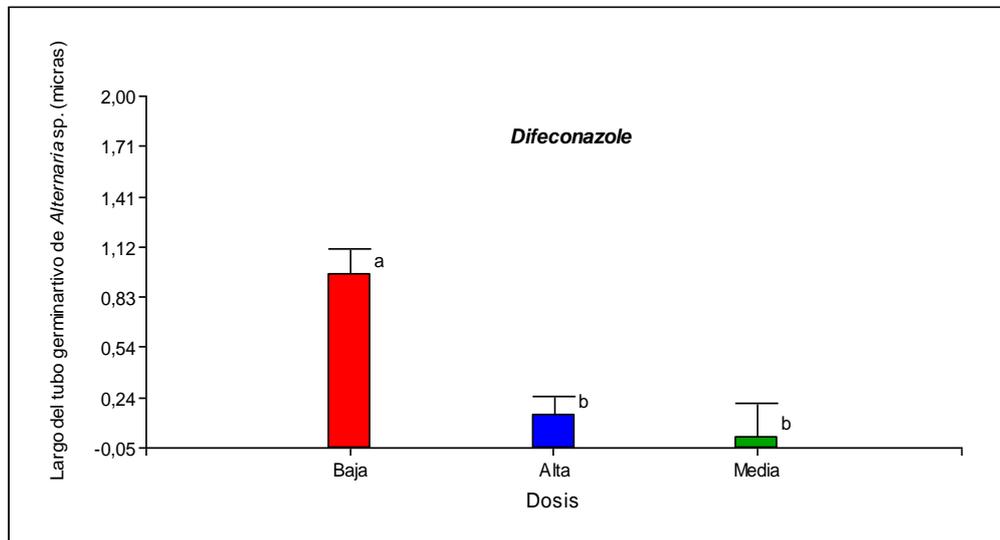
**Ilustración 4-4:** Efecto de la concentración mínima inhibitoria de Tebuconazole

Realizado por: Sarmiento, R., 2024.

- Difeconazole

En cuanto al análisis de la variable largo de tubo germinativo de *Alternaria* spp., frente a diferentes concentraciones (alta, media, baja) presento diferencias significativas (P valor:

0,0001), se deduce que, Difeconazole en dosis media y alta lograron la mayor inhibición del tubo germinativo, siendo estas iguales estadísticamente entre sí (0.08 y 0.14  $\mu\text{m}$  respectivamente); estas dosis son diferentes estadísticamente de la dosis baja, la cual presenta la menor inhibición del tubo germinativo con 0.96  $\mu\text{m}$  (Ilustración 4-5).

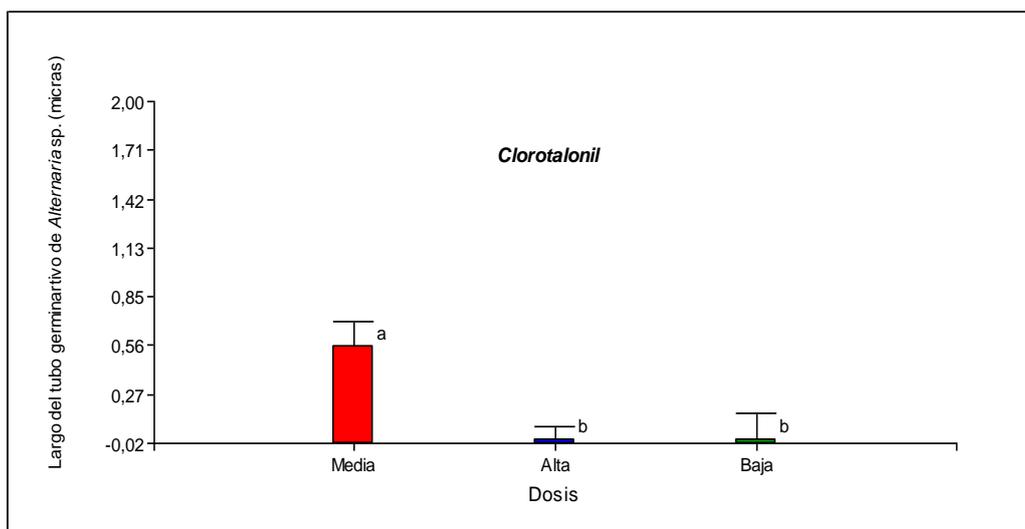


**Ilustración 4-5:** Efecto de la concentración mínima inhibitoria de Difeconazole

Realizado por: Sarmiento, R., 2024.

#### - Clorotalonil

En cuanto al análisis de la variable largo de tubo germinativo de *Alternaria* spp., frente a diferentes concentraciones (alta, media, baja) presento diferencias significativas (P valor: 0,0001), se deduce que, Clorotalonil en dosis alta y baja relativamente obtuvieron la mayor inhibición del tubo germinativo, siendo estas iguales estadísticamente entre sí (0.02 y 0.04  $\mu\text{m}$  respectivamente); aunque los dos fueron significativamente menores que la dosis media con 0.55  $\mu\text{m}$  (Ilustración 4-6).

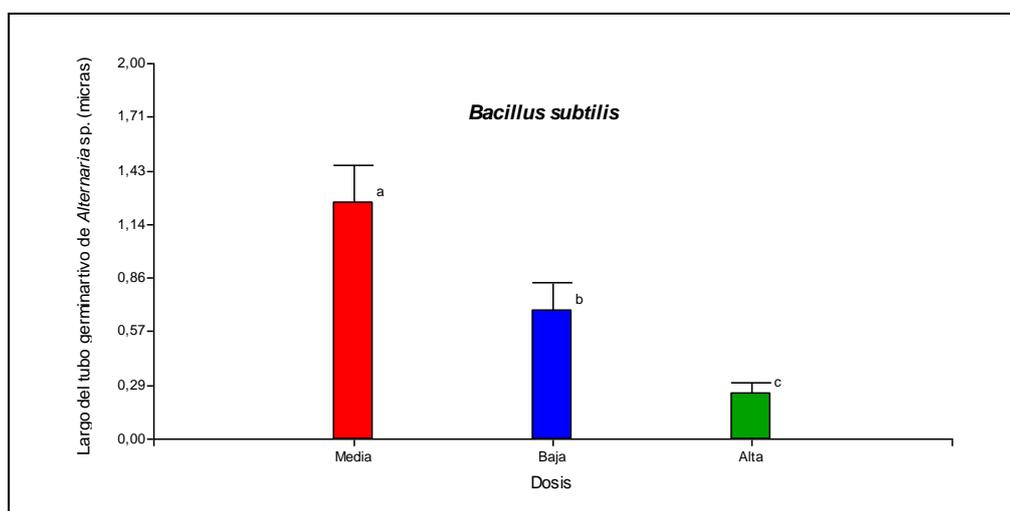


**Ilustración 4-6:** Efecto de la concentración mínima inhibitoria de Clorotalonil

Realizado por: Sarmiento, R., 2024.

- *Bacillus subtilis*

En cuanto al análisis de la variable largo de tubo germinativo de *Alternaria* spp., sobre las diferentes concentraciones (alta, media, baja) presento diferencias significativas (P valor: 0,0001), para *Bacillus subtilis* se evidenció un mayor efecto inhibitorio en la dosis alta con 0.24  $\mu\text{m}$ , siendo diferente a la dosis baja con 0.68  $\mu\text{m}$  siendo las dos significativamente menor a la dosis media con 1.26  $\mu\text{m}$  (Ilustración 4.7).



**Ilustración 4-7:** Efecto de la concentración mínima inhibitoria de *Bacillus subtilis*

Realizado por: Sarmiento, R., 2024.

## 4.2 Discusión

En el presente estudio se demuestra la eficacia sobresaliente del fungicida Tebuconazole en la reducción de la germinación de *Alternaria* spp. ha sido respaldada por diversos estudios anteriores. Meena et al. (2020) corroboraron nuestros hallazgos al destacar la eficacia de Tebuconazole en la supresión de *Alternaria* spp. Así mismo Ozkilinc y Sener (2017) y Gveroska (2013), respaldaron la notable actividad antifúngica de este triazol.

La efectividad de Tebuconazole se reflejó en la longitud media más corta del tubo germinativo de *Alternaria* spp., con una media de 0.10  $\mu\text{m}$ , siendo significativamente diferente de otros tratamientos ( $p < 0.05$ ). Los resultados coinciden con investigaciones recientes llevadas a cabo por Yadav et al. (2022) y Kumar et al. (2022), quienes también concluyeron que este triazol se posiciona como la opción más efectiva entre los fungicidas evaluados contra *Alternaria* spp. La consistencia en los hallazgos entre diferentes estudios refuerza la confianza en la eficacia de este triazol como agente antifúngico frente a *Alternaria* spp.

Además, estudios como el de (Zhou et al. 2019)), han mostrado que otros fungicidas del grupo de los cloronitrilos, como Clorotalonil, también presentan alta eficacia en la inhibición de la germinación de *Alternaria* spp., aunque Tebuconazole sigue siendo el más efectivo. Por otro lado, (Xing et al. 2017), evaluaron la eficacia de fungicidas combinados y encontraron que la combinación de Tebuconazole con otros agentes antifúngicos puede potenciar aún más su eficacia.

Los hallazgos de Gikas et al. (2022), apoyan la importancia de la dosis del fungicida en la eficacia del tratamiento, indicando que la concentración del fungicida tiene un impacto directo en el control de *Alternaria* spp. Este estudio subraya la relevancia de considerar cuidadosamente la dosis del fungicida, ya que una concentración adecuada puede maximizar la eficacia del tratamiento.

Investigaciones adicionales por parte de (Juroszek et al. 2022), destacaron que la efectividad de los fungicidas puede variar según las condiciones ambientales, lo que resalta la necesidad de ajustar las dosis en función de factores como la humedad y la temperatura. Esto es crucial para maximizar la eficacia del tratamiento en diferentes entornos agrícolas.

En cuanto al análisis de dosis para conocer la CMI de los fungicidas comerciales expuestos para la eficacia del tubo germinativo de *Alternaria* spp., se cita primeramente el caso de Tebuconazole, la dosis baja (0.03  $\mu\text{m}$ ) fue significativamente más efectiva que la dosis media (0.25  $\mu\text{m}$ ),

mostrando una clara superioridad en esta concentración específica, este hallazgo es consistente con estudios como el de (Meng 2022), que también reportaron que las dosis bajas de Tebuconazole pueden ser más efectivas debido a una mejor absorción y distribución en los tejidos fúngicos. De la misma manera el estudio de (Contreras Moya 2022), determinó que la dosis baja (150 ml /ha) de tebuconazoles tiene eficacia contra los conidios de (*moniliophthora roreri*) mientras que la dosis media (350 ml/ha) presenta el mayor control en el micelio del hongo.

Para Difenconazole, la dosis media (0.08  $\mu\text{m}$ ) fue la más efectiva en comparación con la dosis alta y baja. Esta observación se alinea con los resultados de (Contreras Moya 2022) y (Sharma, Sharma y Sharma 2019), quienes encontraron que las dosis intermedias ofrecían un equilibrio óptimo entre eficacia y fitotoxicidad, proporcionando una supresión adecuada del patógeno sin causar daño a la planta huésped.

En cuanto a Azoxystrobin demostró una eficacia significativa en la dosis alta y media, reduciendo la longitud del tubo germinativo a 0.03 y 0.07  $\mu\text{m}$ , han demostrado la capacidad de la dosis alta para inhibir la respiración mitocondrial al interferir con el complejo III de la cadena de transporte de electrones. En estudios de análisis de dosis, se menciona que la dosis media de Azoxystrobin también fue efectiva, mientras que la dosis baja resultó significativamente menos eficaz, lo que subraya la importancia de utilizar concentraciones adecuadas para maximizar su eficacia (Xing et al. 2017).

El tratamiento Clorotalonil mostró un efecto significativo en la dosis alta y baja, reduciendo una longitud media del tubo germinativo de 0.02  $\mu\text{m}$  y 0.04 respectivamente. Estos hallazgos tienen similitud con (Chaves, Shea y Danehower 2008), investigaciones realizadas contra *Alternaria solani* dando como resultado la inestabilidad de la eficacia en dosis medias. Su uso debe ser gestionado adecuadamente para evitar el desarrollo de resistencia en los patógenos.

Finalmente, *Bacillus subtilis*, aunque menos eficaz que los fungicidas químicos, mostró una reducción en la longitud del tubo germinativo en dosis alta con 0.24  $\mu\text{m}$ . Este resultado es consistente con estudios que resaltan su uso en control biológico y promoción del crecimiento de plantas (Su et al. 2020). La eficacia intermedia de *Bacillus subtilis*, podría ser atribuida a la producción de compuestos antimicrobianos que inhiben el crecimiento fúngico.

En síntesis, estudios como el de (Budde-Rodriguez et al. 2022), enfatizan la importancia de la rotación de fungicidas para prevenir el desarrollo de resistencia en patógenos como *Alternaria* spp. De la misma manera Martínez et al. (2012) afirma que la sensibilidad *in vitro* es un mecanismo que indica la dosis en la cual no debe presentar crecimiento un hongo, en caso de responder crecimiento alguno se identifica que existe resistencia del patógeno contra el fungicida.

En conjunto, la convergencia de resultados entre estudios previos y mi trabajo actual fortalece la evidencia de la eficacia consistente de los fungicidas estudiados. Estos resultados proporcionan una referencia sólida para futuras investigaciones en el manejo de enfermedades fúngicas en cultivos agrícolas, destacando la importancia de seleccionar las dosis y productos adecuados para optimizar los resultados.

#### **4.3 Comprobación de hipótesis**

Se confirma que los fungicidas comerciales evaluados (Difeconazole, Azoxystrobin, Clorotalonil, Tebuconazole y *Bacillus subtilis*) a diferentes dosis (alta, media y baja) en condiciones *in vitro* ejercen capacidad de inhibición sobre el tubo germinativo de conidios de *Alternaria* spp. La capacidad de inhibición expuesta ante el hongo patógeno se da por aceptable la hipótesis de investigación Hi.

## CAPITULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- La evaluación de la sensibilidad in vitro del tubo germinativo de *Alternaria* sp, demostró que Tebuconazole (0.10 $\mu$ m) es el fungicida más efectivo en reducir la longitud del tubo germinativo, seguido por Clorotalonil (0.18 $\mu$ m), Azoxystrobin (0.37 $\mu$ m) y Difeconazole (0.37 $\mu$ m), mientras que *Bacillus subtilis* (0.73  $\mu$ m) presentó una eficacia intermedia.
- En el análisis del efecto inhibitorio del tubo germinativo de *Alternaria* spp., frente a diferentes dosis de fungicidas comerciales se constató la mayor efectividad en la dosis alta con (0.36 $\mu$ m). Sin embargo, no existió diferencias significativas entre la dosis media (0.64 $\mu$ m) y baja (0.73 $\mu$ m).
- En cuanto a la estimación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de cada fungicida se deduce el mejor tratamiento con su respectiva dosis: Tebuconazole en dosis bajas (0.03  $\mu$ m), Clorotalonil en dosis alta (0.02  $\mu$ m), Azoxystrobin en dosis alta (0.03  $\mu$ m), Difeconazole en dosis media (0.08  $\mu$ m) y *Bacillus Subtilis* en dosis altas (0.24  $\mu$ m). Estos resultados subrayan la importancia de utilizar dosis adecuadas, en virtud de maximizar su eficacia y riesgo de resistencia en el control de patógenos en cultivos agrícolas.

#### 3.2 Recomendaciones

- Se recomienda aplicar los resultados del presente estudio en campo, de esta manera corroborar la eficacia de los fungicidas y dosis utilizados contra *Alternaria* spp., en el cultivo de pitahaya.
- Para realizar estudios sobre el tubo germinativo de un patógeno, se recomienda conocer las etapas de maduración de los conidios. De esta manera poder evaluar desde la última etapa de maduración la germinación hacia los fungicidas a evaluar.

## GLOSARIO

1. **Adaptación:** Ajuste de un organismo a su entorno para sobrevivir.
2. **Alometría:** Relación entre tamaño y funciones biológicas.
3. **Azoxystrobin:** Fungicida, afecta respiración mitocondrial de los hongos.
4. ***Bacillus subtilis*:** Bacteria en control biológico de enfermedades en plantas.
5. **Biodiversidad:** Variedad de vida en un ecosistema.
6. **Cloratolonil:** Fungicida, inhibe procesos celulares en los hongos.
7. **Control Biológico:** Uso de organismos para controlar plagas y enfermedades.
8. **Desinfección:** Proceso para eliminar microorganismos patógenos.
9. **Genética:** Estudio de la herencia y variación.
10. **Microbioma:** Conjunto de microorganismos en un hábitat específico.
11. **Parasitismo:** Relación simbiótica donde un organismo se beneficia a expensas de otro.
12. **Patógeno:** Organismo que causa enfermedad.
13. **Procarionte:** Organismo sin núcleo definido, como bacterias.
14. **Simbiosis:** Relación interactiva entre dos especies.
15. **Taxonomía:** Clasificación de organismos en categorías jerárquicas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **AGRIOS, George.** *Fitopatología*. [En línea]. 2da Edición. México Distrito Federal. Editorial Limusa S.A. 2004 [Consulta: 20 febrero 2024]. Disponible en: [https://books.google.com.ec/books/about/Fitopatolog%C3%ADa.html?id=6hVkJNAAACA&redir\\_esc=y](https://books.google.com.ec/books/about/Fitopatolog%C3%ADa.html?id=6hVkJNAAACA&redir_esc=y)
2. **ALEXOPOULOS, Constantine Jhon.** "Introductory mycology" [En línea] 1996, (Estados Unidos) vol. 2, págs. 3 - 125. [Consulta 17 enero 2024]. ISBN 0-471-52229-5. Disponible en: [https://www.google.com.ec/books/edition/Introductory\\_Mycology/Te5UokQMrVUC?hl%20=es&gbpv=0&bsq=2.%09ALEXOPOULOS,%20C.J.,%20MIMS,%20C.W.%20y%20BLACKWELL,%20M.,%201996.%20Introductory%20mycology.%20S.l.:%20John%20Wiley%20and%20Sons.%20ISBN%200-471-52229-5](https://www.google.com.ec/books/edition/Introductory_Mycology/Te5UokQMrVUC?hl%20=es&gbpv=0&bsq=2.%09ALEXOPOULOS,%20C.J.,%20MIMS,%20C.W.%20y%20BLACKWELL,%20M.,%201996.%20Introductory%20mycology.%20S.l.:%20John%20Wiley%20and%20Sons.%20ISBN%200-471-52229-5)
3. **ALFONSO PULIDO, Dina Paola.** y **SANDOVAL SISA, Edna Rocío.** Evaluación " In Vitro" de fungicidas para el control de hongos patógenos en esquejes de clavel durante la etapa de enraizamiento. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Ingeniería). Bogotá-Colombia. 2008. págs. 20-63. [Consulta: 2024-05-24]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8499/tesis136.pdf>
4. **BOUDINA, Ali, EMMELIN, Corine, BAALIOUAMER, Aoumeur, PAISSE, Oliver.** y **CHOVELON, Jean.** "Photochemical transformation of azoxystrobin in aqueous solutions." *Chemosphere*, [En línea] 2007, (Estados Unidos), vol. 68, (7), págs. 1280 - 1288. [Consulta: 20 febrero 2024]. ISSN 0045-6535. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653507001555>
5. **BRÄSE, Stefan, ENCINAS, Arantxa, KECK, Julia** y **NISING, Carl.** "Chemistry and biology of mycotoxins and related fungal metabolites" *Chemical reviews*, [En línea] 2009. (Estados Unidos), vol. 109 (9), págs. 1- 5. [Consulta: 20 febrero 2024]. ISSN 0009-2665. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19534495/>
6. **BUDDE RODRIGUEZ, Sarah, PASCUA, Julie, MALLIK, Ipsita** y **GUDMESTAD, Neil.** "Sensitivity of *Alternaria* spp. from potato to pyrimethanil, cyprodinil, and fludioxonil" *Crop Protection*, [En línea]. 2022. (Estados Unidos), vol. 152, [Consulta: 20 febrero 2024]. ISSN 0261-2194. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219421003252>

7. **CASADO GONZALES Concepción, TORRICO CABEZAS Gertrudis y MEDINA ANGUITA María.** *Medios de cultivo en un laboratorio de microbiología.* [En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad de Valencia. Perú - Trujillo. 2012. págs. 3-13. [Consulta: 2024-05-24]. Disponible en: <https://libroslaboratorio.wordpress.com/wp-content/uploads/2012/09/medios-de-cultivo-en-un-laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf>
8. **CHAVES, Alicia, SHEA, Damián. y DANEHOWER, David.** "Analysis of chlorothalonil and degradation products in soil and water by GC/MS and LC/MS", *Chemosphere*, [En línea]. 2008. (Estados Unidos), vol. 71 (4), págs. 288- 295, [Consulta: 20 agosto 2023]. ISSN 0045-6535. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653507014191>
9. **CONTRERAS MOYA, Cristian Matías.** Eficacia de la mezcla de diferentes ingredientes activos de diferente grupo químico sobre el control de *Alternaria solani* en el cultivo de papa. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Ingeniería). Universidad de Talca. Chile 2022. págs. 1 - 3. [Consulta: 2023-10-23]. Disponible en: [http://dspace.otalca.cl/bitstream/1950/13293/2/resumen\\_contreras\\_moya.pdf](http://dspace.otalca.cl/bitstream/1950/13293/2/resumen_contreras_moya.pdf)
10. **DIMITROV Mauricio, KOSOL Sujitra, SMIDT Hauke, BUIJSE Laura, VAN DEN BRINK Paul, VAN WIJNGAARDEN Rene, BROCK Theo y MALTBY Lorraine.** "Assessing effects of the fungicide tebuconazole to heterotrophic microbes in aquatic microcosms." *Science of the Total Environment*, [En línea]. 2014. (Estados Unidos), vol. 490, págs. 865- 894, [Consulta: 25 agosto 2023]. ISSN 0048-9697. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969714007530>
11. **FOX Ellen y HOWLETT Bárbara.** "Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology" *Current opinion in microbiology*, [En línea]. 2008, (Estados Unidos), vol. 11 (6), págs. 645- 675, [Consulta: 30 agosto 2023]. ISSN 1369-5274. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369527408001446>
12. **GARCÍA MELGAREJO Jairo.** Mecanismo de acción de los fungicidas. *Revista ventana al campo*, [En línea]. 2011, (Colombia), vol. 15 (1), págs. 195 - 203. [Consulta: 30 agosto 2023]. Disponible en: <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/19031>
13. **GARCÍA SOLÍS, Joel Alexander.** Aspectos de producción, comercialización y desarrollo del cultivo de pitahaya (*Hylocereus spp.*) en el litoral ecuatoriano. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Ingeniería). Universidad de Técnica de Babahoyo. Ecuador- Babahoyo 2021.

págs. 1 - 21. [Consulta: 2023-11-23]. Disponible en:  
<http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/9343>

14. **GIKAS Georgios, PARLAKIDIS Parlaskevas, MAVROPOULOS Theodoros y VRYZAS Zisis.** "Particularities of fungicides and factors affecting their fate and removal efficacy: A review" *Sustainability*, [En línea]. 2022, (Estados Unidos), vol. 14 (7), págs. 1-8, [Consulta: 31 agosto 2023]. ISSN 2071-1050. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2071-1050/14/7/4056>
15. **GVEROSKA Biljana.** "The effectiveness of fungicides in the control of *Alternaria alternata* depending on their impact on pathogen biology." *Tobacco*, [En línea]. 2013. (Estados Unidos), vol. 63 (6), págs. 154- 205, [Consulta: 01 septiembre 2023]. ISSN 0494-3244. Disponible en: <http://www.tobaccobulletin.mk/contents/2013/pdf%202013%201-6%205.pdf>
16. **HUACHI Laura, YUGSI Elizabeth, PAREDES María Fernanda, CORONEL Daniel, VERDUGO Karla y SANTAMARÍA Pablo.** Desarrollo de la pitahaya (*Cereus* sp.) en Ecuador. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Ingeniería). Universidad Politécnica Salesiana Ecuador- Quito 2015. págs. 1 - 31. [Consulta: 2023-11-02]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/13849>
17. **JUROSZEK Peter, LABORDE Marie, KLEINHENZ Benno, MELLENTHIN Mariana, RACCA Paolo y SIEROTZKI Helge.** "A review on the potential effects of temperature on fungicide effectiveness." *Plant Pathology*, [En línea]. 2022. (Estados Unidos), vol. 71 (4), págs. 111 - 135. [Consulta: 12 septiembre 2023]. ISSN 0032-0862. Disponible en: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ppa.13531>
18. **KUMAR Dinesh, GODARA S, MEENA AK y KUMHAR D.** "Evaluation of different fungicides in the control of purple blotch [*Alternaria porri* (Ellis) Cif] of onion." *Pharma Innov*, [En línea] 2022. (Estados Unidos), vol. 11 (2), págs. 112- 135. [Consulta: 15 septiembre 2023]. Disponible en: <https://www.thepharmajournal.com/archives/2022/vol11issue2/PartM/11-2-113-352.pdf>
19. **LAWRENCE Daniel, GANNIBAL Philipp, DUGAN Frank y PRYOR Barry.** "Characterization of *Alternaria* isolates from the infectoria species-group and a new taxon from *Arrhenatherum*, *Pseudoalternaria arrhenatheria* sp. nov." *Mycological progress*, [En

- línea]. 2014. (Estados Unidos), vol. 13, págs. 835- 910. [Consulta: 25 septiembre 2023]. ISSN 1617-416X. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11557-013-0910-x>
20. **MA Ya-Tuan, QIAO Li-Rui, SHI Wen-Quan, ZHANG An-Ling y GAO Jin-Ming.** "Metabolites produced by an endophyte *Alternaria alternata* isolated from *Maytenus hookeri*." *Chemistry of natural compounds*, [En línea]. 2010. (Estados Unidos), vol. 46, págs 159- 162. [Consulta: 02 septiembre 2023]. ISSN 0009-3130. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10600-010-9662-x>
21. **MEENA Ram Prasanna., SARAN Permeshwar, KALARIYA Kuldeepsingh. y MANIVEL P.** "Efficacy of fungicides and plant extracts against *Alternaria alternata* causing leaf blight of chandrasur (*Lepidium sativum*)." *Indian Journal of Agricultural Sciences*, [En línea]. 2020. (Estados Unidos), vol. 90 (2), págs. 396- 383.[Consulta: 12 septiembre 2023]. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/reader/e3968fa6b237f7beed1b75c685cc67d935832d30>
22. **MENG Rulyu.** Characterization of *Colletotrichum nymphaeae* Isolates from Apple with Reduced Sensitivity to Fluazinam and Tebuconazole. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Maestría). Universidad de Clemson. Estados Unidos - Carolina 2022. págs. 3 - 48. [Consulta: 2023-11-22]. Disponible en: [https://tigerprints.clemson.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=4916&context=all\\_theses](https://tigerprints.clemson.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=4916&context=all_theses)
23. **MORILLO CORONADO Ana Cruz, MANJARRES HERNÁNDEZ Elsa Helena, SAENZ QUINTERO Óscar Javier y MORILLO CORONADO Yacenia.** "Morphoagronomic Evaluation of Yellow Pitahaya (*Selenicereus megalanthus* Haw.) in Miraflores, Colombia." *Agronomy*, [En línea]. 2022. (Estados Unidos), vol. 12 (7), págs. 439-582. [Consulta: 23 septiembre 2023]. ISSN 2073-4395. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2073-4395/12/7/1582>
24. **MUÑOZ LEOZ Borja, RUIZ ROMERA Estilita, ANTIGÜEDAD Iñaki y GARBISU Carlos.** "Tebuconazole application decreases soil microbial biomass and activity." *Soil Biology and Biochemistry*, [En línea]. 2011. (Estados Unidos), vol. 43 (10), págs. 380-400. [Consulta: 12 septiembre 2023]. ISSN 0038-0717. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0038071711002513>
25. **OLIVER Richard y HEWITT Hewitt.** "Fungicides in crop protection." *Science Cabi*. [En línea]. 2014. vol. 1, págs. 1-4. Consulta: 20 noviembre 2023]. ISBN 1-78064-166-4. 2014.

[Disponible

en

[https://books.google.com.ec/books/about/Fungicides\\_in\\_Crop\\_Protection\\_2nd\\_Editio.html?id=4x0xBQAAQBAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.ec/books/about/Fungicides_in_Crop_Protection_2nd_Editio.html?id=4x0xBQAAQBAJ&redir_esc=y)

26. **OZKILINC Hilal y SENER Kurt.** "Screening fungicide resistance of *Alternaria* pathogens causing *Alternaria* blight of pistachio in Turkey" *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, [En línea]. 2017. (Estados Unidos), vol. 27 (4). págs. 339-360. [Consulta: 20 noviembre 2023]. ISSN 1308-7576. Disponible en: <https://dergipark.org.tr/en/pub/yyutbd/article/339081>
27. **PROAÑO BASTIDAS Stephany Carolina.** Estudio de exportación de la Pitahaya ecuatoriana hacia el mercado europeo. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Ingeniería). Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Ecuador- Quito 2013. págs. 1 - 31. [Consulta: 2023-11-02]. <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/2965200#:~:text=Resumen%20La%20presente%20disertaci%C3%B3n%20se%20centra%20en%20el,mercado%20internacional%20con%20un%20producto%20diferente%20al%20petr%C3%B3leo.>
28. **RICHARD John.** "Some major mycotoxins and their mycotoxicoses An overview." *International journal of food microbiology*. [En línea]. 2007. (Estados Unidos), vol. 119 (2), págs. 177- 914. [Consulta: 23 noviembre 2023]. ISSN 0168-1605. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17719115/>
29. **ROJAS TAPIA Gustavo.** Sensibilidad in vitro de cinco aislados de *Trichoderma* spp., a fungicidas. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Ingeniería). Pontificia Universidad Autónoma del Estado de México. México 2020. págs. 3 - 44. [Consulta: 2023-11-02]. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/109309#:~:text=Los%20resultados%20obtenidos%20demuestran%20que%20los%20aislados%20de,0.18%20%25%20y%20T.%20asperillum%20%28TFR3%29%200.08%20%25.>
30. **SHARMA Adikshita y SHARMA Mónica.** "Efficacy and economics of fungicides for management of mango anthracnose." *Indian Phytopathology*, [En línea]. 2019. (Estados Unidos), vol. 72, págs. 360-39, [Consulta: 23 noviembre 2023]. ISSN 0367-973X. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42360-019-00130#:~:text=Six%20different%20non-systemic>

31. **SIMMONS Emory Guy.** "Alternaria an identification manual, fully illustrated and with catalogue raisonné", *Fungal Biodiversity Centre*, [En línea] 2007. (Estados Unidos), vol. 3, págs. 1284-1304. [Consulta: 23 noviembre 2023]. ISSN. 1796-2007. Disponible en: [https://books.google.com.ec/books/about/Alternaria.html?id=F\\_AzKgAACAAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.ec/books/about/Alternaria.html?id=F_AzKgAACAAJ&redir_esc=y)
32. **SONENSHEIN Abraham, HOCH James y LOSICK Richard.** "Bacillus subtilis and other gram-positive bacteria: biochemistry, physiology, and molecular genetics." *Sociedad Americana de Microbiología*. [En línea]. 1993, (Estados Unidos), vol. 10, págs. 683- 672. [Consulta: 23 noviembre 2023]. ISBN. 9781683672777. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1128/9781555818388>
33. **SOTOMAYOR Andrea, PITIZACA Soledad, SÁNCHEZ Maritza, BURBANO Armando, DÍAZ Alejandra, NICOLALDE José, VIERA William, CAICEDO Carlos y VARGAS Yadira.** "Physical chemical evaluation of pitahaya fruit *Selenicereus megalanthus* in different development stages." *Enfoque UTE*, [En línea]. 2019, (Ecuador) vol. 10 (1), págs. 6-40. [Consulta: 30 noviembre 2023]. ISSN 1390-6542. Disponible en: <https://ingenieria.ute.edu.ec/enfoqueute/index.php/revista/article/view/386>
34. **SU Yuan, LIU Chuan, FANG Huan y ZHANG Dawei.** "Bacillus subtilis: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials, and medicine." *Microbial cell factories* [En línea], 2020, (Estados Unidos), vol. 19. págs. 934- 946. [Consulta: 30 noviembre 2023]. Disponible en: <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12934-020-01436-8>
35. **SUÁREZ Christopher, PICO Jimmy y DELGADO Alex.** *Memorias: Reconocimiento de enfermedades fúngicas sobre pencas de pitahaya amarilla (Cereus sp.) en el cantón Palora*. [En línea]. Repositorio Digital INIAP. 2019. [Consulta: 10 noviembre 2023]. Disponible en: <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5409>
36. **THOMMA Bart.** "Alternaria spp.: from general saprophyte to specific parasite" *Molecular plant pathology*, [En línea]. 2003. (Estados Unidos), vol. 4 (4), págs. 205- 383. [Consulta: 10 noviembre 2023]. ISSN 1464-6722. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20569383/>
37. **VALENCIA BOTÍN, Alberto; KOKUBU, Hirotaka. y ORTÍZ HERNÁNDEZ, Yolanda.** "A brief overview on pitahaya (*Hylocereus* spp.) diseases." *Australasian Plant Pathology*,

- [En Línea]. 2013. (Estados Unidos), vol. 42, págs. 193-200. [Consulta: 20 enero 2024]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13313-012-0193-8#citeas>
38. **VAREA Anamaria.** "Iniciativas para conservar la biodiversidad." *Revista de ciencias sociales y humanas Universitas*, [En Línea] 2004, (Ecuador), vol. 1 (4), págs. 5-60. [Consulta: 20 enero 2024]. ISSN 1390-8634. Disponible en: <https://universitas.ups.edu.ec/index.php/universitas/article/view/4.2004.01>
39. **VARGAS TIERRAS Yadira Beatriz, PICO Jimmy, DÍAZ Aalejandra, SOTOMAYOR AKOPYAN Dennis Alfonso, BURBANO Armando, CAICEDO Carlos, PAREDES ANDRADE Nelly, CONGO Carlos, TINOCO Leider, BASTIDAS Servio, CHIQUIMARCA Javier, MACAS Julio y VIERA William.** "Manual del Cultivo de Pitahaya para la Amazonía Ecuatoriana." *Repositorio Digital INIAP* [En Línea]. 2020,(Ecuador), vol. 2, págs. 2-74. [Consulta: 20 enero 2024]. ISSN 9942224890. Disponible en: <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5551>
40. **VERONA RUIZ Anggie, URCIA CERNA Juan y PAUCAR MENACHO Luz María.** "Pitahaya (*Hylocereus* spp.): culture, physicochemical characteristics, nutritional composition, and bioactive compounds." *Scientia Agropecuaria*, [En línea]. 2020. (Perú), vol. 11 (3), págs. 99- 20. [Consulta: 20 enero 2024]. ISSN 2077-9917. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2077-99172020000300439](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172020000300439)
41. **WANG Hong-Wey, XU Man, CAI Xiao-Yu, FENG Tian y XU Wei-Li.** "Application of spent mushroom substrate suppresses Fusarium wilt in cucumber and alters the composition of the microbial community of the cucumber rhizosphere" *European Journal of Soil Biology*, [En línea]. 2020. (Estados Unidos), vol. 101, págs. 164-203. [Consulta: 20 enero 2024]. ISSN 1164-5563. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1164556320303150>
42. **XING Zhang, LIN Zhang, YIQIN He, CHEN Lu, ZHENGWU Fang, MINGMIN Zhao, YONGXING Zhu y DONGFANG Ma.** "Inhibition Effect and Synergistic Effect of Prochloraz and Tebuconazole and Their Mixture on Fusarium graminearum" *Plant Diseases and Pests*, [En línea]. 2017. (Estados Unidos), vol. 8 (6), págs. 14-61. [Consulta: 20 enero 2024]. ISSN 2152-3932. Disponible en: <https://www.proquest.com/docview/2213036197?fromopenview=true&pq-origsite=gscholar&sourcetype=Scholarly%20Journals#>

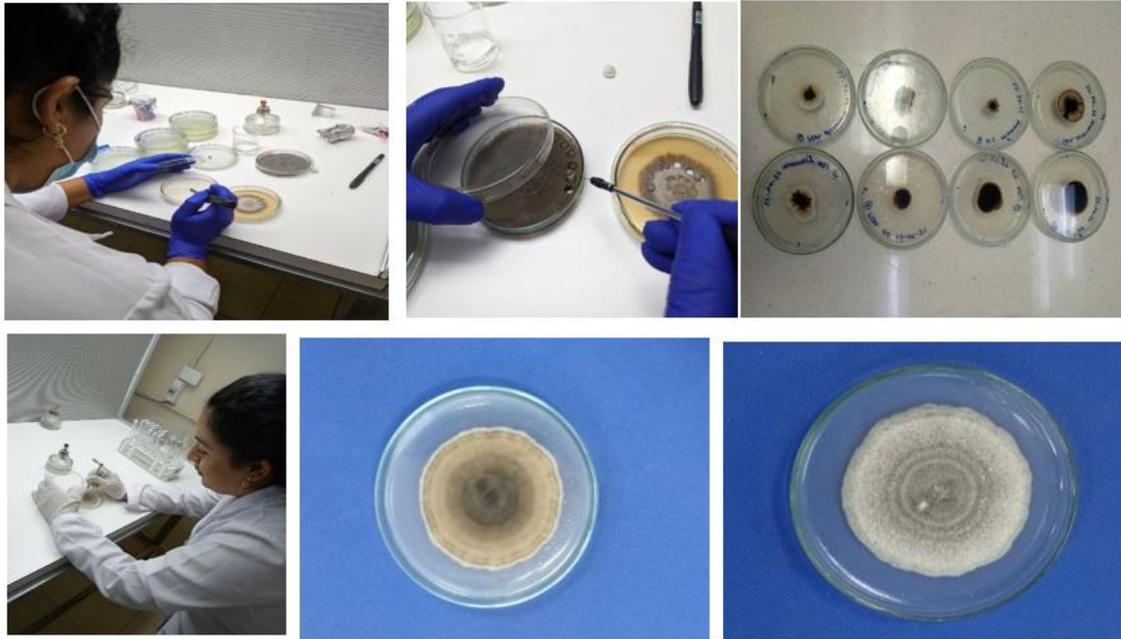
43. **YADAV Prakash Chand, GAHLOT Neha, BIJARNIA Arjum, KUMAR Aanand y CHOUDHARY Manish.** "Efficacy of Tebuconazole 25.9 EC against cumin blight (*Alternaria burnsii*)." *Chemical Science Review and Letters*, [En línea]. 2022. (Estados Unidos), vol. 11 (43). [Consulta: 20 enero 2024]. Disponible en: [https://chesci.com/wpcontent/uploads/2022/10/13\\_CS205301419\\_Completed.pdf](https://chesci.com/wpcontent/uploads/2022/10/13_CS205301419_Completed.pdf)
44. **ZHOU Yuxin, YU Junjie, PAN Xiayan, YU Mina, DU Yan, QI Zhongquiang, ZHANG Rongsheng, SONG Tianqiang, YIN Xiaole y LIU Yongfeng.** "Characterization of propiconazole field-resistant isolates of *Ustilagoidea virens*." *Pesticide biochemistry and physiology*, [En línea]. 2019. (Estados Unidos), vol. 153, págs. 47-95. [Consulta: 20 enero 2024]. ISSN 0048-3575. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30744888/>

Cristian Tenelonda S.



## ANEXOS

### ANEXO A: REACTIVACIÓN Y MULTIPLICACIÓN DE *ALTERNARIA* SPP.



### ANEXO B: PREPARACIÓN DE *ALTERNARIA* SPP. PARA CONTEO DE CONIDIOS Y DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE GERMINACIÓN



**ANEXO C: PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN EN FUNGICIDAS PARA REALIZAR PRUEBAS DE SENSIBILIDAD.**



**ANEXO D: MEDICIÓN DE TUBO GERMINATIVO DE *ALTERNARIA* SPP. MEDIANTE PROGRAMA MOTIC IMAGE PLUS.**

