



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

**EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA CAPACIDAD ANTAGONISTA
DE *Bacillus subtilis* F. Cohn FRENTE A SIETE CEPAS DE HONGOS
FITOPATÓGENOS**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO AGRÓNOMO

AUTOR:

RONALD ESTIVENS CEPEDA CALERO

Riobamba – Ecuador

2023



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

**EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA CAPACIDAD ANTAGONISTA
DE *Bacillus subtilis* F. Cohn FRENTE A SIETE CEPAS DE HONGOS
FITOPATÓGENOS**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO AGRÓNOMO

AUTOR: RONALD ESTIVENS CEPEDA CALERO

DIRECTORA: ING. NORMA ERAZO SANDOVAL PhD.

Riobamba – Ecuador

2023

© 2023 Ronald Estivens Cepeda Calero

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, Ronald Estivens Cepeda Calero, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

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

Riobamba, 02 de junio de 2023



Ronald Estivens Cepeda Calero

060583627-9

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Proyecto de Investigación, **EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA CAPACIDAD ANTAGONISTA DE *Bacillus subtilis* F. Cohn FRENTE A SIETE CEPAS DE HONGOS FITOPATÓGENOS**, realizado por el señor: **RONALD ESTIVENS CEPEDA CALERO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

| | FIRMA | FECHA |
|---|--|--------------|
| Ing. Víctor Alberto Lindao Córdova PhD PRESIDENTE DEL TRIBUNAL |  | 2023-06-02 |
| Ing. Norma Soledad Erazo Sandoval PhD DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR |  | 2023-06-02 |
| Ing. Pablo Israel Álvarez Romero PhD ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR |  | 2023-06-02 |

DEDICATORIA

En primer lugar, quiero expresar mi gratitud a Dios y a mi santo Apóstol Santiago por permitirme existir y llegar hasta este punto de mi vida. También quiero dedicar este logro a mis padres, Mariana Calero y Jorge Cepeda, quienes han sido el pilar fundamental y más importante en mi vida, brindándome su apoyo incondicional cada día. Así mismo, quiero agradecer a mis dos hermanos, Jeyson y Jorge Luis, por alentarme y motivarme en todo momento, incluso en los momentos más difíciles de este largo camino. Agradezco a toda mi familia por sus valiosos consejos y palabras de aliento, y finalmente quiero agradecer a mis amigos por su apoyo constante cuando más lo he necesitado.

Ronald

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi gran agradecimiento a todos aquellos que participaron en este extenso proceso, en particular a mis padres y familiares, así como a los profesores de la Carrera de Agronomía, especialmente a la Ingeniera Norma Erazo, Ph.D., Ingeniero Pablo Álvarez, Ph.D., y a la Ingeniera Gabriela Rosero, quienes fueron los principales colaboradores en esta investigación. Con su conocimiento, enseñanza y dirección, me brindaron una valiosa orientación para la realización de este trabajo.

Ronald

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|------------------------------|-------|
| ÍNDICE DE TABLAS..... | xii |
| ÍNDICE DE ILUSTRACIONES..... | xv |
| ÍNDICE DE ANEXOS | xvi |
| RESUMEN..... | xvii |
| SUMMARY | xviii |
| INTRODUCCIÓN | 1 |

CAPÍTULO I

| | |
|--------------------------------------|---|
| 1. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN..... | 2 |
| 1.1 Planteamiento del problema..... | 2 |
| 1.2 Objetivos | 2 |
| 1.2.1 Objetivo general | 2 |
| 1.2.2 Objetivos Específicos..... | 2 |
| 1.3 Justificación | 2 |
| 1.4 Hipótesis..... | 3 |
| 1.4.1 Nula..... | 3 |
| 1.4.2 Alterna..... | 3 |

CAPÍTULO II

| | |
|---|---|
| 2 MARCO TEÓRICO | 4 |
| 2.1 Género <i>Bacillus</i> | 4 |
| 2.1.1 <i>Bacillus subtilis</i> | 4 |
| 2.1.2 <i>Características</i> | 4 |
| 2.1.3 <i>Ciclo de vida de Bacillus</i> | 5 |
| 2.1.4 <i>Usos</i> | 5 |
| 2.1.5 <i>Metabolismo de Bacillus subtilis</i> | 6 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 2.2 | Antagonismo | 6 |
| 2.2.1 | <i>Características</i> | 6 |
| 2.2.2 | <i>Capacidad antagonista</i> | 6 |
| 2.2.3 | <i>Efecto antagonista del género Bacillus</i> | 6 |
| 2.2.3.1 | <i>Producción de antibióticos</i> | 7 |
| 2.2.3.2 | <i>Producción de enzimas líticas</i> | 7 |
| 2.2.3.3 | <i>Producción de sideróforos</i> | 7 |
| 2.2.3.4 | <i>Producción de compuestos volátiles</i> | 8 |
| 2.2.3.5 | <i>Competencia</i> | 8 |
| 2.2.3.6 | <i>Inducción de la resistencia sistémica de la planta (IRS)</i> | 9 |
| 2.3 | Producción <i>in vitro</i> | 9 |
| 2.3.1 | <i>Medios de cultivo</i> | 9 |
| 2.3.2 | <i>Constituyentes básicos de los medios de cultivo</i> | 9 |
| 2.3.2.1 | <i>Fuentes de energía</i> | 10 |
| 2.3.2.2 | <i>Componentes estructurales celulares</i> | 10 |
| 2.3.2.3 | <i>Agua</i> | 10 |
| 2.4 | Hongos Fitopatógenos | 10 |
| 2.4.1 | <i>Generalidades</i> | 10 |
| 2.4.2 | <i>Importancia económica</i> | 10 |
| 2.4.3 | <i>Importancia Agrícola</i> | 11 |
| 2.4.4 | <i>Hongos de la parte radicular</i> | 11 |
| 2.4.4.1 | <i>Fusarium oxysporum</i> | 11 |
| 2.4.4.2 | <i>Aspergillus spp.</i> | 13 |
| 2.4.4.3 | <i>Neopestalotiopsis sp.</i> | 15 |
| 2.4.5 | <i>Hongos de la parte aérea</i> | 16 |
| 2.4.5.1 | <i>Alternaria grandis</i> | 16 |
| 2.4.5.2 | <i>Moniliophthora roreri</i> | 18 |
| 2.4.6 | <i>Hongos de poscosecha</i> | 19 |
| 2.4.6.1 | <i>Penicillium spp.</i> | 19 |

| | | |
|---------|--------------------------------|----|
| 2.4.6.2 | <i>Colletotrichum</i> spp..... | 21 |
|---------|--------------------------------|----|

CAPÍTULO III

| | | |
|---------|--|-----------|
| 3 | MATERIALES Y MÉTODOS..... | 23 |
| 3.1 | Características del lugar | 23 |
| 3.1.1 | <i>Localización.....</i> | 23 |
| 3.1.2 | <i>Ubicación geográfica</i> | 23 |
| 3.1.3 | <i>Condiciones climáticas de laboratorio.....</i> | 23 |
| 3.2 | Materiales y equipos..... | 23 |
| 3.2.1 | <i>Materiales oficina.....</i> | 23 |
| 3.2.2 | <i>Materiales de laboratorio</i> | 24 |
| 3.2.3 | <i>Equipos de laboratorio</i> | 24 |
| 3.2.4 | <i>Reactivos</i> | 24 |
| 3.3 | Métodos..... | 25 |
| 3.3.1 | <i>Microorganismos Empleados.....</i> | 25 |
| 3.3.2 | <i>Metodología</i> | 25 |
| 3.3.2.1 | <i>Preparación del medio de cultivo (PDA y AN).....</i> | 26 |
| 3.3.2.2 | <i>Repique de los hongos fitopatógenos.....</i> | 26 |
| 3.3.2.3 | <i>Técnica de Cultivo Dual.....</i> | 26 |
| 3.3.2.4 | <i>Técnica de Compuestos volátiles</i> | 27 |
| 3.3.3 | <i>Cálculo del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial</i> | 27 |
| 3.3.4 | <i>Cálculo de la tasa de crecimiento del micelio.....</i> | 28 |
| 3.3.5 | <i>Cálculo del porcentaje de inhibición de esporulación</i> | 28 |
| 3.3.6 | <i>Análisis de las características morfológicas</i> | 29 |
| 3.4 | Especificaciones del experimento..... | 30 |
| 3.4.1 | <i>Esquema del diseño experimental</i> | 30 |
| 3.4.2 | <i>Tratamientos (T).....</i> | 30 |
| 3.5 | Tipo de diseño | 30 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3.5.1 | <i>Características del diseño</i> | 30 |
| 3.5.2 | <i>Esquema de análisis de varianza</i> | 30 |
| 3.5.3 | <i>Análisis estadístico</i> | 31 |
| 3.5.4 | <i>Análisis funcional</i> | 31 |

CAPITULO IV

| | | |
|---------|--|----|
| 4 | MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS | 32 |
| 4.1 | Procesamiento, análisis e interpretación de resultados | 32 |
| 4.1.1 | <i>Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos</i> | 32 |
| 4.1.1.1 | <i>Método Dual</i> | 32 |
| 4.1.1.2 | <i>Método de compuestos volátiles</i> | 34 |
| 4.1.1.3 | <i>Método de compuestos volátiles (4 días)</i> | 37 |
| 4.1.2 | <i>Tasa de crecimiento de hongos fitopatógenos</i> | 40 |
| 4.1.2.1 | <i>Método dual</i> | 40 |
| 4.1.2.2 | <i>Método de Compuestos Volátiles</i> | 42 |
| 4.1.2.3 | <i>Método de compuestos volátiles (4 días)</i> | 44 |
| 4.1.3 | <i>Porcentaje de inhibición de la esporulación de hongos fitopatógenos</i> | 46 |
| 4.1.4 | <i>Características Morfológicas</i> | 47 |
| 4.1.4.1 | <i>Fusarium Oxysporum</i> | 48 |
| 4.1.4.2 | <i>Aspergillus spp.</i> | 49 |
| 4.1.4.3 | <i>Colletotrichum spp.</i> | 50 |
| 4.1.4.4 | <i>Penicillium spp.</i> | 51 |
| 4.1.4.5 | <i>Neopestalotiopsis sp.</i> | 52 |
| 4.1.4.6 | <i>Alternaria grandis</i> | 53 |
| 4.1.4.7 | <i>Moniliophthora roreri</i> | 54 |
| 4.2 | Discusión | 55 |
| 4.3 | Comprobación de la hipótesis | 59 |

CAPÍTULO V

| | | |
|------------|---|-----------|
| 5. | CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 60 |
| 5.1 | Conclusiones | 60 |
| 5.2 | Recomendaciones | 60 |

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|--------------------|---|----|
| Tabla 1-2: | Clasificación taxonómica de <i>Bacillus subtilis</i> | 4 |
| Tabla 2-2: | Clasificación taxonómica de <i>Fusarium oxysporum</i> | 12 |
| Tabla 3-2: | Clasificación taxonómica de <i>Aspergillus</i> spp..... | 14 |
| Tabla 4-2: | Clasificación taxonómica de <i>Neopestalotiopsis</i> sp..... | 15 |
| Tabla 5-2: | Clasificación taxonómica de <i>Alternaria grandis</i> | 17 |
| Tabla 6-2: | Clasificación taxonómica de <i>Moniliophthora roreri</i> | 18 |
| Tabla 7-2: | Clasificación taxonómica de <i>Penicillium</i> spp..... | 20 |
| Tabla 8-2: | Clasificación taxonómica de <i>Colletotrichum</i> spp..... | 21 |
| Tabla 9-3: | Procedencia de los microorganismos empleados en la investigación | 25 |
| Tabla 10-3: | Escala para el porcentaje de inhibición | 28 |
| Tabla 11-3: | Tratamientos de la investigación | 30 |
| Tabla 12-3: | Análisis de Varianza (ANOVA)..... | 31 |
| Tabla 13-3: | Prueba T para la tasa de crecimiento..... | 31 |
| Tabla 14-4: | Análisis de Varianza para el porcentaje de inhibición vertical de crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método dual | 32 |
| Tabla 15-4: | Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método dual | 33 |
| Tabla 16-4: | Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método dual | 34 |
| Tabla 17-4: | Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método dual | 34 |
| Tabla 18-4: | Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método de volátiles..... | 35 |
| Tabla 19-4: | Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante volátiles | 36 |

| | | |
|--------------------|---|----|
| Tabla 20-4: | Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante volátiles | 36 |
| Tabla 21-4: | Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante volátiles | 37 |
| Tabla 22-4: | Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> por el método de volátiles (4 días)..... | 38 |
| Tabla 23-4: | Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> por volátiles (4 días) | 38 |
| Tabla 24-4: | Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> por volátiles (4 días) | 39 |
| Tabla 25-4: | Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> por volátiles (4 días) | 40 |
| Tabla 26-4: | Prueba T para la tasa de crecimiento vertical del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método dual..... | 41 |
| Tabla 27-4: | Prueba T para la tasa de crecimiento horizontal del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método dual..... | 42 |
| Tabla 28-4: | Prueba T para la tasa de crecimiento vertical del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método de compuestos volátiles | 43 |
| Tabla 29-4: | Prueba T para la tasa de crecimiento horizontal del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método de compuestos volátiles | 44 |
| Tabla 30-4: | Prueba T para la tasa de crecimiento vertical del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> por el método de compuestos volátiles (4 días) | 45 |
| Tabla 31-4: | Prueba T para la tasa de crecimiento horizontal del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> por el método de compuestos volátiles (4 días) | 46 |
| Tabla 32-4: | Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición de esporulación de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> | 47 |

| | | |
|--------------------|--|-----|
| Tabla 33-4: | Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición de la esporulación de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> | 47 |
| Tabla 34-4: | Características morfológicas de <i>Fusarium oxysporum</i> | 48 |
| Tabla 35-4: | Características morfológicas de <i>Aspergillus</i> spp. | 49 |
| Tabla 36-4: | Características morfológicas de <i>Colletotrichum</i> spp. | 50 |
| Tabla 37-4: | Características morfológicas de <i>Penicillium</i> spp..... | 51 |
| Tabla 38-4: | Características morfológicas de <i>Neopestalotiopsis</i> sp..... | 512 |
| Tabla 39-4: | Características morfológicas de <i>Alternaria grandis</i> | 513 |
| Tabla 40-4: | Características morfológicas de <i>Moniliophthora roreri</i> | 514 |

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

| | | |
|--------------------------|--|----|
| Ilustración 1-4: | Porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método dual.... | 32 |
| Ilustración 2-4: | Porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método dual.... | 33 |
| Ilustración 3-4: | Porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método de compuestos volátiles | 35 |
| Ilustración 4-4: | Porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método de compuestos volátiles | 36 |
| Ilustración 5-4: | Porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método de volátiles (4 días)..... | 37 |
| Ilustración 6-4: | Porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> por el método de compuestos volátiles (4 días) | 39 |
| Ilustración 7-4: | Tasa de crecimiento vertical del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método dual | 40 |
| Ilustración 8-4: | Tasa de crecimiento horizontal del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método dual | 41 |
| Ilustración 9-4: | Tasa de crecimiento vertical del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método de compuestos volátiles | 42 |
| Ilustración 10-4: | Tasa de crecimiento horizontal del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método de compuestos volátiles | 43 |
| Ilustración 11-4: | Tasa de crecimiento vertical del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método de compuestos volátiles (4 días)..... | 44 |
| Ilustración 12-4: | Tasa de crecimiento horizontal del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> mediante el método de compuestos volátiles (4 días)..... | 45 |
| Ilustración 13-4: | Porcentaje de inhibición de esporulación de siete hongos fitopatógenos en presencia de <i>Bacillus subtilis</i> | 46 |

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO
- ANEXO B:** CEPAS DE LOS HONGOS UTILIZADOS EN LA INVESTIGACIÓN
- ANEXO C:** REPIQUE DE HONGOS
- ANEXO D:** ENFRENTAMIENTO ANTAGONISTA DE LOS TRATAMIENTOS
- ANEXO E:** ALMACENAMIENTO DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES
- ANEXO F:** PROCEDIMIENTO PARA LA INHIBICIÓN DE ESPORULACIÓN
- ANEXO G:** ANVERSO DE LOS CONTROLES AL FINAL DEL ENSAYO
- ANEXO H:** REVERSO DE LOS CONTROLES AL FINAL DEL ENSAYO
- ANEXO I:** TRATAMIENTOS AL FINAL DEL ENSAYO POR EL MÉTODO DUAL
- ANEXO J:** ANVERSO DE LOS TRATAMIENTOS AL FINAL DEL ENSAYO POR EL MÉTODO DE COMPUESTOS VOLÁTILES
- ANEXO K:** REVERSO DE LOS TRATAMIENTOS AL FINAL DEL ENSAYO POR EL MÉTODO DE COMPUESTOS VOLÁTILES
- ANEXO L:** ANVERSO DE LOS TRATAMIENTOS AL FINAL DEL ENSAYO POR EL MÉTODO DE COMPUESTOS VOLÁTILES (4 DÍAS)
- ANEXO M:** REVERSO DE LOS TRATAMIENTOS AL FINAL DEL ENSAYO POR EL MÉTODO DE COMPUESTOS VOLÁTILES (4 DÍAS)
- ANEXO N:** INHIBICIÓN DE ESPORULACIÓN
- ANEXO O:** DATOS DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN MICELIAL Y ESPORAS DE LOS HONGOS FITOPATÓGENOS
- ANEXO P:** DATOS DE LA TASA DE CRECIMIENTO DE LOS HONGOS FITOPATÓGENOS

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo, evaluar “*in vitro*” la capacidad antagonista de *Bacillus subtilis* F. Cohn frente a siete cepas de hongos fitopatógenos. La metodología implementada tuvo un enfoque cuantitativo y cualitativo, se utilizó un diseño experimental, mediante el método dual y el método de compuestos volátiles en dos etapas de crecimiento. Se realizó la medición del crecimiento micelial del hongo fitopatógeno, tanto horizontal como vertical y de esta forma, se determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial. Además, se recopiló información de la tasa de crecimiento micelial y al final del ensayo se contabilizó las esporas para determinar el porcentaje de inhibición en la esporulación de los hongos. De igual forma, se determinó las características morfológicas, tanto macroscópicas como microscópicas. Se utilizaron cepas de *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus* spp., *Colletotrichum* spp., *Penicillium* spp., *Neopestalotiopsis* sp., *Alternaria grandis* y *Moniliophthora roreri*. Mediante el método dual se determinó que el mayor porcentaje de inhibición mostró a *Moniliophthora roreri* con un 61,85 % vertical y con un 27, 43% horizontal, mientras, el menor porcentaje se obtuvo con *Aspergillus* spp., que no mostró inhibición. En cuanto al método de compuestos volátiles el mayor porcentaje de inhibición mostró *Moniliophthora roreri* con mayor al 40 %, mientras tanto, a *Aspergillus* spp., y *Penicillium* spp., no mostraron inhibición. De igual forma, en el método compuestos volátiles (2 etapa crecimiento) el mayor porcentaje de inhibición mostró a *Colletotrichum* spp., con porcentaje mayor al 25 %, mientras, a *Penicillium* spp., no mostró inhibición. En este contexto se concluye que *Bacillus subtilis* F. Cohn mostró antagonismo frente a la mayoría de hongos fitopatógenos mediante los métodos utilizados, en donde, se recomienda realizar estudios en campo con *Moniliophthora roreri*, *Alternaria grandis* y *Neopestalotiopsis* sp., que fueron a las que causa mayor inhibición, mientras tanto, no utilizar con *Aspergillus* spp.

Palabras clave: <*Bacillus subtilis*>, <ANTAGONISMO>, <HONGOS FITOPATÓGENOS>, <LIPOPÉPTIDOS>, <COMPUESTOS VOLÁTILES>, <MÉTODO DUAL>, <INHIBICIÓN>.



1153-DBRA-UPT-2023

SUMMARY

This research aimed to evaluate the “*in vitro*” antagonistic capacity of *Bacillus subtilis* F. Cohn against seven strains of phytopathogenic fungi. The methodology was quantitative and qualitative, and an experimental design was used, using the dual method and the method of volatile compounds in two stages of growth. The mycelial growth of the phytopathogenic fungus was measured, both horizontally and vertically, so the percentage of mycelial growth inhibition was determined. In addition, mycelial growth rate information was collected and at the end of the trial the spores were counted to determine the percentage inhibition of fungal sporulation. The morphological characteristics, both macroscopic and microscopic, were also determined. *Strains of Fusarium oxysporum, Aspergillus spp, Colletotrichum spp, Penicillium spp, Neopestalotiopsis sp, Alternaria grandis and Moniliophthora roreri* were used. By means of the dual method, it was determined that the highest percentage of inhibition showed *Moniliophthora roreri* with 61.85% vertical and 27.43% horizontal, while the lowest percentage was obtained with *Aspergillus spp.* which showed no inhibition. As for the method of volatile compounds, the highest percentage of inhibition showed *Moniliophthora roreri* with more than 40 %, while *Aspergillus spp.* and *Penicillium spp.* showed no inhibition. Similarly, in the method of volatile compounds (2nd growth stage) the highest percentage of inhibition showed *Colletotrichum spp.* with a percentage higher than 25%, while *Penicillium spp.* showed no inhibition. It is concluded that *Bacillus subtilis* F. Cohn showed antagonism against most of the phytopathogenic fungi by the methods used. It is recommended to carry out field trips with *Moniliophthora roreri, Alternaria grandis* and *Neopestalotiopsis sp.*, which caused the greatest inhibition, and not to use *Aspergillus spp.*

Keywords: <*Bacillus subtilis*>, <ANTAGONISM>, <PHYTOPATHOGENIC FUNGI>, <LIPOPEPTIDES>, <VOLATILE COMPOUNDS>, <DUAL METHOD>, <INHIBITION>.



Esthela Isabel Colcha Guashpa

0603020678

INTRODUCCIÓN

La agricultura convencional, que utiliza fertilizantes químicos, técnicas de labranza inadecuadas y la expansión de la frontera agrícola, está causando un impacto negativo en el medio ambiente, la economía y la sociedad de las zonas donde se practica. Este modelo de producción agrícola ha generado un desgaste en los ecosistemas, lo que ha llevado al resurgimiento de plagas y enfermedades, al desarrollo de resistencia genética, a la contaminación ambiental y, lo que es más importante, a afectaciones en la salud humana (Escobar, 2016, p. 5).

Es importante reconocer que la agricultura es una actividad crucial para el desarrollo económico, social y ambiental del mundo, ya que proporciona aproximadamente el 80% de los alimentos que se consumen. Sin embargo, las plagas y enfermedades, que incluyen bacterias, nematodos, virus, insectos y especialmente hongos, afectan aproximadamente entre el 20% y el 30% de la producción agrícola anual (FAO, et al., 2020, p. 5) al atacar diferentes partes de la planta, como es el caso de hongos del suelo como *Fusarium oxysporum*, *Neopestalotiopsis* sp., y *Aspergillus* spp., de igual forma hongos que atacan la parte aérea como *Alternaria grandis* y *Moniliophthora roreri*, y hongos que atacan principalmente en poscosecha como *Penicillium* spp. y *Colletotrichum* spp., siendo los principales agentes causales (Villarreal, et al., 2018, p. 100).

De esta manera, con el propósito de controlar las enfermedades en los cultivos agrícolas, una de las estrategias más comunes es el uso de productos derivados de microorganismos que puedan servir como biofertilizantes y bioplaguicidas. Esto reduce la necesidad de utilizar productos químicos en la agricultura y, por lo tanto, reduce los costos de producción. Entre los microorganismos utilizados para este fin se encuentran las bacterias del género *Bacillus*, las cuales poseen un alto potencial debido a su capacidad para ejercer actividad antagónica a través de la competencia, la producción de antibióticos y la producción de enzimas líticas como las quitinasas (Tejera, et al., 2012, p. 120).

Según Cobo (2017, p. 35), el desarrollo de bioproductos para el control de enfermedades se enfoca en la preservación ecológica de la interacción entre la planta y el microorganismo, las estrategias de aplicación de los inoculantes, el aislamiento de nuevas cepas y la identificación de mecanismos de acción innovadores. *Bacillus* tienen un gran potencial como antagonistas debido a la gran cantidad de sustancias con actividad biosida que son capaces de producir efectos de control sobre fitopatógenos (Villarreal, et al., 2018, p. 101). Debido a la poca información en nuestro país de la utilización de microorganismos antagonistas, se propuso evaluar “*in vitro*” la capacidad antagonista de *Bacillus subtilis* F. Cohn frente a siete cepas de hongos fitopatógenos.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

El presente trabajo de investigación se enfocó en la evaluación *in vitro* de la capacidad antagonista de *Bacillus subtilis* F. Cohn frente a siete cepas de hongos fitopatógenos.

Se desconoce el efecto en Ecuador de la actividad antagonista de *Bacillus subtilis* F. Cohn frente a diferentes hongos fitopatógenos; sabiendo que el ataque de estos hongos es uno de los factores principales que han favorecido la caída en la producción de los cultivos, atacando a diferentes partes de la planta, ya sea *Fusarium oxysporum*, *Neopestalotiopsis* sp., y *Aspergillus* spp., a la parte radicular, *Alternaria grandis* y *Moniliophthora roreri* siendo su ataque más fuerte a la parte aérea, mientras tanto, *Penicillium* spp., y *Colletotrichum* spp., su ataque en poscosecha.

1.2 Objetivos

1.2.1 *Objetivo general*

Evaluar “*in vitro*” la capacidad antagonista de *Bacillus subtilis* F. Cohn frente a siete cepas de hongos fitopatógenos.

1.2.2 *Objetivos Específicos*

- Evaluar el efecto antagonista de *Bacillus subtilis* F. Cohn sobre siete cepas de hongos fitopatógenos.
- Determinar las características morfológicas de los hongos fitopatógenos durante las pruebas de antagonismo.

1.3 Justificación

La razón detrás de este proyecto de titulación radica en la aplicación de los conocimientos teóricos y prácticos adquiridos durante nuestra carrera, a través de la investigación de bacterias

beneficiosas como *Bacillus subtilis*, y en la mejora de las técnicas actuales utilizadas en el control de enfermedades fúngicas.

Técnicamente se justifica debido a que en nuestro país en la actualidad no existe la cantidad suficiente de información necesaria para el control de enfermedades fúngicas a base de bacterias antagonistas, por lo cual, se considera de gran importancia generar datos sobre el control antagónico de *Bacillus subtilis* a diferentes hongos fitopatógenos que afectan a las principales especies vegetales en nuestro país.

De igual forma, para reducir el efecto negativo al medio ambiente por el uso de químicos, se ha intentado utilizar productos comerciales para el control biológico, los cuales no han sido efectivos, ya que son elaborados con cepas provenientes de otras regiones edafoclimáticas. Todo esto nos indica que existe la necesidad de encontrar una alternativa de control biológico que sea particular a nuestra zona. Por lo cual, el uso de bacterias antagonistas como *Bacillus subtilis* para el tratamiento de diversas enfermedades fúngicas, ya sean del suelo, aéreas o en poscosecha, se ha estudiado y documentado poco.

1.4 Hipótesis

1.4.1 Nula

- *Bacillus subtilis* F. Cohn no demuestra antagonismo sobre los siete hongos fitopatógenos.

1.4.2 Alterna

- *Bacillus subtilis* F. Cohn demuestra antagonismo al menos contra un hongo fitopatógeno.

CAPÍTULO II

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Género *Bacillus*

Se sabe que *Bacillus* spp., cuenta con alrededor de 377 especies descritas hasta el año 2019, las cuales tienen una similitud genética entre ellas (Lema, 2022, p. 10, citados en Caulier, et al., 2019, p. 302). El género *Bacillus* fue descrito por Ferdinand Julius Cohn entre la década de 1870 y 1880, pero su heterogeneidad en la fisiología ecológica dificulta su clasificación genética (Corrales, et al., 2012, p. 80). En resumen, el género *Bacillus* es de gran interés debido a la amplia diversidad fisiológica que posee, la cual se explica por la formación de esporas, una característica que le permite habitar en diferentes hábitats, tanto terrestres como acuáticos (Restrepo, et al., 2015, p. 66).

2.1.1 *Bacillus subtilis*

Como se mencionó previamente, en 1872 Cohn reportó por primera vez el género *Bacillus*, el cual consiste en bacterias que producen endosporas resistentes a altas temperaturas. La clasificación taxonómica de *Bacillus subtilis* es la siguiente:

Tabla 1-2: Clasificación taxonómica de *Bacillus subtilis*

| | |
|----------------|--------------------|
| Dominio | Bacteria |
| Filo | Firmicutes |
| Clase | Bacilos |
| Orden | Bacillales |
| Familia | Bacillaceae |
| Género | <i>Bacillus</i> |
| Especie | <i>B. Subtilis</i> |

Fuente: Maughan y Van der Auwera, 2011.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

2.1.2 Características

Entre las principales características del género *Bacillus*, se encuentran su capacidad de crecer aeróbica o facultativamente anaeróbica, su estructura Gram positiva, su forma bacilar con movilidad flagelar y un tamaño que oscila entre 0,5 a 10 μm . Es importante destacar que su crecimiento óptimo se produce en un pH neutro, y que tiene un amplio rango de temperatura de crecimiento, siendo lo óptimo entre 28 y 35 $^{\circ}\text{C}$, aunque la mayoría de las especies son mesófilas (30 y 45 $^{\circ}\text{C}$). También es importante mencionar su capacidad para producir un gran número de

endosporas de forma oval o cilíndrica, lo que les permite resistir diferentes tipos de estrés (Villarreal, et al., 2018, p. 101).

Bacillus subtilis es una bacteria que se encuentra ampliamente distribuida en diferentes hábitats, lo cual la convierte en un excelente agente para el control biológico de diversas enfermedades fúngicas. En un medio de cultivo, su morfología de colonias puede ser observada entre las 12 y 24 horas, y generalmente presentan una forma irregular con elevación planoconvexa, margen ondulado, color blanco a crema perlado y un tamaño de 1 mm o más (Lema, 2022, p. 12, citados en Kumar, et al., 2011, pp. 37-59).

Es importante considerar que *Bacillus subtilis* es una de las bacterias más estudiadas debido a su actividad antifúngica, lo que le permite sintetizar metabolitos peptídicos con acción antibiótica, como gramicidina, surfactina, iturina y fengicina. Además, su actividad antagonista se complementa con su capacidad para colonizar eficazmente la zona de la rizósfera, su rápida asimilación de nutrientes y la secreción de enzimas digestivas que degradan y matan por contacto directo a hongos y bacterias que sirven de alimento (Villarreal, et al., 2018, p. 103).

2.1.3 Ciclo de vida de *Bacillus*

El género *Bacillus* se caracteriza por la formación de endosporas, estructuras que les permiten colonizar, diseminar y permanecer en los ecosistemas. La bacteria atraviesa dos fases distintas:

- Fase vegetativa: en condiciones adecuadas, la reproducción ocurre por fisión binaria de forma exponencial (Aristizábal, citado en CALS, 2016).
- Fase de esporulación: esta fase se inicia como un mecanismo de protección ante el estrés biótico o abiótico, con la formación de una preespora dentro de la célula madre. La preespora está compuesta por componentes proteicos, peptidoglicano, una pared interna y células germinales en su interior. La célula madre luego entra en un proceso de lisis y libera la endospora madura (Lema, 2022, p. 12, citado en CALS, 2016).

2.1.4 Usos

Bacillus subtilis ha demostrado su capacidad para controlar varios hongos fitopatógenos, incluyendo *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia* spp., *Verticillium dahliae*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria* spp. Por esta razón, el principal uso de esta

bacteria es como microorganismo antagónico para combatir las principales enfermedades que afectan a los cultivos (Pedraza, et al., 2020, p. 114).

2.1.5 *Metabolismo de Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis tiene un metabolismo principalmente respiratorio, en el cual el oxígeno actúa como aceptor terminal de electrones. Por lo tanto, en presencia de oxígeno, se produce un crecimiento abundante con la formación de productos principales como 2,3-butanodiol, acetoina y CO₂ (gas carbónico). En ambientes con baja disponibilidad de oxígeno, se puede observar un crecimiento y una fermentación débil en medios que contienen glucosa. Es importante destacar que aproximadamente el 4-5% del genoma de esta bacteria está dedicado a la producción de antibióticos (Cobo, 2017, p. 20).

2.2 Antagonismo

2.2.1 *Características*

El antagonismo microbiano se refiere a la capacidad de un microorganismo para inhibir, degradar o incluso matar a otros tipos de microorganismos. Hay muchos microorganismos que poseen esta capacidad antagonista, siendo los más estudiados aquellos que incluyen el género *Trichoderma*, *Bacillus* y *Lactobacillus* (Pieterse, et al., 2014, pp. 347-375).

2.2.2 *Capacidad antagonista*

La capacidad antagonista de los microorganismos se define como una relación negativa, es decir, la inhibición, deterioro o muerte de un microorganismo debido a la acción de otro. Es importante destacar que los microorganismos no tienen un único modo de acción, lo que les confiere una característica importante para ser utilizados como agentes de control biológico. Por esta razón, se han descrito varios mecanismos antagónicos empleados por microorganismos que controlan el desarrollo de patógenos (Layton, et al., 2011, pp. 177-187).

2.2.3 *Efecto antagonista del género Bacillus*

Se ha demostrado que el género *Bacillus* tiene un potencial significativo como controlador biológico de patógenos de forma independiente. Entre los diversos mecanismos que se han identificado para este proceso se encuentran las relaciones de competencia, la producción de

enzimas, antibióticos y otras sustancias, como sideróforos, que permiten a estos microorganismos ejercer su capacidad de biocontrol o antagonista (Villarreal, et al., 2018, p. 104).

2.2.3.1 *Producción de antibióticos*

Los fitopatógenos pueden tener su crecimiento inhibido por los antibióticos, y se estima que entre el 4% y el 8% del genoma de *Bacillus* spp., está destinado a la producción de biomoléculas antimicrobianas, dependiendo de la especie (Caulier, et al., 2019, p. 302).

Los compuestos lipopéptidos cíclicos no ribosomales (LPs) son compuestos formados por un péptido cíclico unido a una cadena de ácido graso β -hidroxi o β -amino. Estos compuestos tienen características como una actividad antibacteriana prominente, baja toxicidad y son biodegradables en el ambiente. Además, en algunas líneas celulares humanas, tienen efectos antitumorales y antivirales, y son estables a altas temperaturas (Lema, 2022, p. 13, citado en Caulier, et al., 2019, p. 302).

Los compuestos lipopéptidos cíclicos se clasifican en iturinas, fengicinas y surfactinas, lo cual está relacionado con la longitud del ácido graso y la secuencia de aminoácidos (Villarreal, et al., 2018, pág. 104). Las fengicinas tienen actividad antagonista frente a diversos hongos, pero no frente a bacterias y levaduras. Las surfactinas, por otro lado, tienen una amplia actividad antibacteriana y antifúngica (Caulier, et al., 2019, p. 302).

La actividad antagonista de los lipopéptidos se debe principalmente a su interacción con la membrana citoplasmática de las células de hongos o bacterias, lo cual, provoca la formación de poros y de tal forma, un desequilibrio osmótico, lo que resulta en la muerte de las células de los organismos fitopatógenos (Villarreal, et al., 2018, p. 106).

2.2.3.2 *Producción de enzimas líticas*

Es importante considerar que la pared celular de los hongos está compuesta por diversos componentes, como polisacáridos, glicoproteínas y otros, que varían según la especie. Por lo tanto, la producción de enzimas líticas, como las quitinasas y las β -glucanasas, han demostrado tener un efecto antagonista contra patógenos fúngicos. Estas enzimas son responsables principalmente de la degradación de los principales polisacáridos que conforman la pared celular de los hongos, a través de la hidrólisis de sus enlaces glucosídicos (Caulier, et al., 2019, p. 302).

2.2.3.3 *Producción de sideróforos*

Es importante saber que los sideróforos son metabolitos secundarios que actúan como secuestrantes o quelantes del hierro. El hierro es un elemento esencial para algunas funciones celulares, y los sideróforos permiten la formación de complejos Fe^{3+} -sideróforo. De esta manera, los microorganismos que producen sideróforos pueden utilizar el hierro a través de un receptor específico ubicado en la membrana celular, mediante dos mecanismos diferentes: 1) directamente mediante el complejo Fe^{3+} -sideróforo a través de la membrana celular, o 2) reduciendo extracelularmente a complejos Fe^{3+} (Villarreal, et al., 2018, pp. 109-110).

Bacillus subtilis tiene la habilidad de producir sideróforos, lo que permite regular la concentración de hierro en el medio mediante su quelatación como complejo Fe^{3+} -sideróforo. Esto evita que el hierro esté disponible para los agentes patógenos, ya que el crecimiento de estos microorganismos depende en gran medida del hierro (Villarreal, et al., 2018, p. 111).

2.2.3.4 Producción de compuestos volátiles

Los compuestos volátiles orgánicos (VOCs) son moléculas de bajo peso molecular, con un peso igual o inferior a 300 g/mol, que son producidos por *Bacillus* spp. Estos tienen la capacidad de suprimir el crecimiento y la germinación de esporas en diversos hongos fitopatógenos, y pueden causar daño directo al ADN de los agentes patógenos. Algunos VOCs que merecen destacarse son el benzotiazol, el benzaldehído, el fenilacetaldéhid y el 2,3-butanodiol, entre otros, que han demostrado tener actividad antimicrobiana (Pedraza, et al., 2020, p. 118).

2.2.3.5 Competencia

Este mecanismo implica el uso compartido de un recurso por dos especies, pero en diferentes proporciones, lo que limita la cantidad de recurso disponible y genera una competencia desigual (Layton, et al., 2011, pp. 177-187).

- Competencia por nutrientes: Se refiere a la lucha por obtener nutrientes esenciales para el desarrollo de funciones microbianas vitales, como la reproducción, nutrición, respiración y/o metabolismo. Esto limita la colonización de otras especies patógenas (Layton, et al., 2011, p. 183).
- Competencia por espacio: Se refiere al hecho de que el desarrollo de un microorganismo en una determinada área inhibe de alguna manera la invasión de otros microorganismos en esa misma área (Layton, et al., 2011, pp. 177-187).

2.2.3.6 *Inducción de la resistencia sistémica de la planta (IRS)*

Existen dos tipos de mecanismos de defensa en las plantas:

- La resistencia sistémica adquirida (SAR), que es una respuesta dependiente del ácido salicílico (SA). En esta respuesta, los receptores detectan la presencia de patógenos y activan una serie de genes, como los que codifican para proteínas antimicrobianas denominadas PR para combatirlos (Pieterse, et al., 2014, pp. 347-375).
- La respuesta sistémica inducida (RSI) es otro tipo de mecanismo de defensa en las plantas, que depende del ácido jasmónico y del etileno. Esta respuesta es activada por elicitores, como lipopéptidos, fitohormonas y compuestos volátiles, producidos por microorganismos beneficiosos. La activación de genes produce cambios estructurales, como el aumento de lignina en las paredes celulares, y la producción de metabolitos secundarios, como flavonoides, fitoalexinas, auxinas y glucosinatos en general (Pieterse, et al., 2014, pp. 347-375).

2.3 **Producción *in vitro***

En el campo de la microbiología, la producción *in vitro* se refiere a un método utilizado para propagar microorganismos, tales como bacterias, hongos, entre otros. Este método implica el uso de varias técnicas que permiten el crecimiento y mantenimiento de células o tejidos en un medio de cultivo, el cual se encuentra bajo condiciones ambientales controladas (Perea, 2009, pp. 7).

2.3.1 ***Medios de cultivo***

En el ámbito de laboratorio, el término "medio" se utiliza para referirse a materiales que poseen una combinación adecuada para permitir el crecimiento de una población microbiana de células o tejidos. Existen varios tipos de medios que se pueden utilizar en condiciones de laboratorio para obtener cepas, así como para aislar e identificar microorganismos con distintos fines (Perea, 2009, p. 10).

2.3.2 ***Constituyentes básicos de los medios de cultivo***

Según Perea (2009, pp. 12-22), los componentes fundamentales de los medios de cultivo son los siguientes:

2.3.2.1 *Fuentes de energía:*

Orgánicas: Proteínas, carbohidratos, polisacáridos, grasas, ácidos orgánicos (ácido láctico, cítrico etc.) (Perea, 2009, pp. 12-22).

Inorgánicas: Nitritos, amonio, azufre, etc (Perea, 2009, pp. 12-22).

Luz (Perea, 2009, pp. 12-22).

2.3.2.2 *Componentes estructurales celulares*

Componentes principales: Carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, magnesio, calcio, hierro, azufre, potasio, fósforo y sodio (Perea, 2009, pp. 12-22).

Elementos trazas: Zinc, cobalto, cobre, molibdeno y manganeso (Perea, 2009, pp. 12-22).

Factores de crecimiento: son compuestos orgánicos que son necesarios para el crecimiento de los microorganismos y, por lo tanto, deben ser proporcionados como nutrientes. Algunos ejemplos de estos factores son las purinas, aminoácidos, vitaminas y pirimidinas (Perea, 2009, pp. 12-22).

2.3.2.3 *Agua*

2.4 **Hongos Fitopatógenos**

2.4.1 *Generalidades*

Los hongos son el grupo de agentes fitopatógenos más importante debido a la gran cantidad y diversidad de enfermedades que causan. Algunos hongos están especializados en atacar una sola especie vegetal o especies de un solo género. Además, su parasitismo extremadamente versátil se evidencia por la variedad de especies y órganos vegetales que pueden infectar, la diversidad de síntomas y enfermedades que pueden causar, y las estrategias ecológicas, formas de nutrición y especificidad de interacciones que utilizan para su propagación (Suárez, et al., 2010, pp. 14-23).

2.4.2 *Importancia económica*

Es importante tener en cuenta que las plantas pueden verse afectadas por una variedad de enfermedades y plagas durante su fase de crecimiento. Entre ellas, los hongos fitopatógenos son particularmente problemáticos, ya que no solo pueden causar daño a las plantas y sus frutos, sino que también pueden disminuir significativamente el valor de los productos en el mercado. De esta manera, las pérdidas económicas causadas por estos hongos pueden ser muy significativas (Suárez, et al., 2010, pp. 14-23).

Hongos como *Penicillium* spp, *Colletotrichum* spp., *Fusarium oxysporum*, entre otros, afectan cultivos de gran importancia económica en nuestro país. Para combatir estas plagas, se aplican grandes cantidades de agroquímicos con el fin de establecer un sistema de control eficiente. Sin embargo, esto genera altos costos para los productores y reduce significativamente la producción, lo que disminuye los ingresos económicos (Suárez, et al., 2010, pp. 14-23).

2.4.3 Importancia Agrícola

Los hongos que afectan a las plantas en la producción se conocen como fitopatógenos y tienen una gran importancia en el ámbito agrícola, ya que cada año destruyen aproximadamente un tercio de los productos cosechados. Específicamente, estos hongos causan la pérdida de cinco alimentos principales: arroz, trigo, papa, maíz y soya, que son ampliamente consumidos a nivel mundial. Sin embargo, es importante destacar que no solo estos cultivos son afectados, sino que la mayoría de los cultivos agrícolas son atacados por diferentes hongos fitopatógenos (Suárez, et al., 2010, p. 17).

En caso de que estos cultivos fueran infectados simultáneamente hasta el punto de perder toda la planta, más del 60% de la población mundial se vería afectada en su alimentación. Existe una amplia variedad de géneros de hongos que atacan estos cultivos, como *Fusarium*, *Aspergillus*, *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Botrytis*, entre muchos otros (Suárez, et al., 2010, pp. 14-23).

2.4.4 Hongos de la parte radicular

2.4.4.1 *Fusarium oxysporum*

Fusarium es un género de hongos saprófitos que se alimentan de residuos orgánicos en descomposición y se encuentran comúnmente en el suelo. Sin embargo, pueden colonizar a muchas especies vegetales y causar pérdidas significativas para los agricultores. En nuestro país, afectan a cultivos muy importantes como el banano, la papa, el melón, el tomate, las flores ornamentales, el maní y otros (Mozón & Rodríguez, 2013, p. 2).

Cabe mencionar que, actualmente se considera que *Fusarium oxysporum* es un complejo de especies que incluye diversas especies crípticas. Para avanzar en la estabilización de la posición taxonómica de *Fusarium oxysporum* como especie, y permitir el nombramiento de múltiples especies crípticas reconocidas en este complejo, se designó un epítipo para *Fusarium oxysporum*. Utilizando la inferencia filogenética de múltiples locus y las diferencias morfológicas sutiles con el epítipo recién establecido de *Fusarium oxysporum* como punto de referencia, se pudieron resolver 15 especies crípticas descritas como especies (Lombard, et al., 2019, pp. 1-47).

Taxonomía

Tabla 2-2: Clasificación taxonómica de *Fusarium oxysporum*

| | |
|----------------|---------------------------|
| Reino | Fungi |
| Filo | Ascomycota |
| Clase | Sordariomycetes |
| Orden | Hypocreales |
| Familia | Nectriaceae |
| Género | <i>Fusarium</i> |
| Especie | <i>Fusarium oxysporum</i> |

Fuente: EPPO, 2020

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Sintomatología

En el ámbito del campo, la presencia de *Fusarium oxysporum* se puede identificar por la aparición de lesiones hundidas de color negro o marrón en la base de los tallos, así como manchas rojizas en los pecioloos cercanos a la copa de la planta. También se pueden observar masas de micelios rosados o blancos que crecen en la base de los esquejes o en la parte superior de la planta (Lema, 2022, p. 12)

En el caso del banano, los síntomas externos causados por la Fusariosis de las musáceas (*Fusarium oxysporum* f. sp. cubense) se caracterizan por un amarillamiento uniforme de las hojas adultas a lo largo del borde de la hoja, que se extiende hacia la vena central de la hoja hasta que esta se seca y adquiere un color marrón. Es posible que se presente o no una fisura en la base del pseudotallo (Aguilar, 2021, pp. 249-256).

Características morfológicas

Existen estructuras macroscópicas y microscópicas que pueden ser útiles para identificar este hongo.

- En cuanto a las características macroscópicas, presenta una morfología variable, con micelio aéreo de aspecto algodonoso y color que puede variar entre blanco, rosado durazno, rojo y violeta. Su tasa de crecimiento es de aproximadamente 1 centímetro por día en medio de cultivo PDA a 30 °C, aunque esto puede variar dependiendo del medio utilizado para su cultivo (Berruezo, 2018, p. 77-79).

- En cuanto a las características microscópicas, se pueden describir tres estructuras de reproducción asexual:

- Los microconidios: son esporas pequeñas, hialinas, ovaladas y de una o dos células que se forman en las monofiálides laterales y se encuentran en abundancia en los tejidos vasculares.

- Los macroconidios son esporas con pared delgada en forma de medialuna, con 3 a 5 septos y puntiagudas en los extremos, que se encuentran en la superficie de las plantas infectadas.

- Las clamidosporas, por su parte, son esporas con paredes gruesas y esféricas, con una o dos células, que se ubican en el micelio maduro de forma intercalada o terminal. Estas estructuras son cuerpos de resistencia capaces de permanecer invernando por tiempo indefinido, siendo resistentes a la desecación y a bajas temperaturas (Berruezo, 2018, p. 77-79).

2.4.4.2 *Aspergillus* spp.

La mayoría de las especies del género *Aspergillus* son hongos filamentosos saprófitos que desempeñan una función importante en la degradación de la materia orgánica. Su hábitat natural es el suelo, donde sobreviven y se desarrollan sobre materia en descomposición. Su reproducción se produce a través de conidios, cuya germinación da lugar a las hifas. En algunas ocasiones, pueden causar problemas de moho negro en los cultivos. Una característica destacada de las especies de *Aspergillus* es su capacidad para producir micotoxinas (Martínez, et al., 2013, pp. 126-146).

Las condiciones ideales para el crecimiento de *Aspergillus* son temperaturas elevadas (>30 °C) y períodos muy húmedos. A temperaturas inferiores a 15 °C, el patógeno se mantiene relativamente inactivo. *Aspergillus* requiere una humedad relativa entre el 70 y el 90%, y un contenido de agua en la semilla entre el 15 y el 20% (Martínez, et al., 2013, pp. 126-146).

Taxonomía

Tabla 3-2: Clasificación taxonómica de *Aspergillus* spp.

| | |
|----------------|-------------------------|
| Reino | Fungi |
| Filo | Ascomycota |
| Clase | Eurotiomycetes |
| Orden | Eurotiales |
| Familia | Trichocomaceae |
| Género | <i>Aspergillus</i> |
| Especie | <i>Aspergillus</i> spp. |

Fuente: Barzola, et al., 2016.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Sintomatología

La principal característica de esta enfermedad es la presencia de esporas de moho pulverulento en la superficie del bulbo o entre sus escamas. Los bulbos afectados suelen presentar distintos grados de podredumbre blanda. Por lo general, la transmisión se produce a través de semillas, aunque el suelo también puede ser una vía importante de inoculación. Esta enfermedad puede propagarse mediante esporas que son transportadas por el viento (Barzola, et al., 2016, p. 189-202).

Características morfológicas

Aspergillus es un género de hongos mitospóricos que se caracterizan por producir hifas especializadas llamadas conidióforos, en los cuales se encuentran las células conidiógenas que darán origen a las esporas asexuales o conidios. Aunque es una estructura unicelular, el conidióforo característico de *Aspergillus* se compone de tres partes bien diferenciadas: una vesícula (extremo apical hinchado), un estipe (sección cilíndrica ubicada debajo de la vesícula) y una célula pie (sección final que conecta el conidióforo con el micelio, a veces separada por un septo) (Abarca, 2000, p. 80).

En la parte superior de la vesícula se localizan las células conidiógenas, también conocidas como fiálides. En muchas especies, entre la vesícula y las fiálides se encuentran otras células llamadas métulas. Las cabezas conidiales que sólo poseen fiálides se llaman uniseriadas, mientras que las que tienen tanto fiálides como métulas se denominan biseriadas (Martínez, et al., 2013, pp. 126-146).

Las colonias de *Aspergillus* spp., tienen un aspecto denso y algodonoso de color canela-café, con un micelio blanco apenas visible. En la parte posterior, pueden presentar un color amarillo, dorado o marrón, y a veces se observa un pigmento amarillento difuso. La zona central de la colonia puede ser aterciopelada, lanosa, y puede ser plana o presentar surcos radiales (Abarca, 2000, p. 83).

2.4.4.3 *Neopestalotiopsis* sp.

Neopestalotiopsis podría ser clasificado como un hongo necrótrofo, capaz de sobrevivir tanto en materia orgánica fresca como en descomposición. En los últimos tiempos, se ha encontrado este hongo, en particular, en fresas como *Neopestalotiopsis* sp., actualmente se le asocia con la podredumbre de la raíz y la corona en fresa (Maharachchikumbura, et al., 2014, pp. 121-186).

En 2014, Maharachchikumbura introdujo dos nuevos géneros de *Pestalotiopsis*, *Neopestalotiopsis* y *Pseudepestalotiopsis*. La presencia de *Neopestalotiopsis* en coronas enfermas de fresa es un acontecimiento sin precedentes. El primer informe de identificación del patógeno en el cultivo de fresa se realizó en España (Chamorro, et al., 2016, pp. 1495). En Ecuador, desde 2015 se han reportado síntomas de la enfermedad *Pestalotiopsis* en fresas de las zonas productoras de Quito y Ambato. Sin embargo, la identificación molecular y morfológica del ascomiceto se ha determinado solo hasta el nivel de género (Hidrovo, 2020, p. 21, citado en Guevara, 2015).

Taxonomía

Tabla 4-2: Clasificación taxonómica de *Neopestalotiopsis* sp.

| | |
|----------------|------------------------------|
| Reino | Fungi |
| Filo | Ascomycota |
| Clase | Sordariomycetes |
| Orden | Xylariales |
| Familia | Sporocadaceae |
| Género | <i>Neopestalotiopsis</i> |
| Especie | <i>Neopestalotiopsis</i> sp. |

Fuente: Schoch et al., 2020.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Sintomatología

Este hongo afecta principalmente la corona y las raíces de frutillas. Se ha observado que los daños pueden ser más graves cuando las condiciones climáticas son desfavorables o durante la temporada de lluvias, cuando la humedad relativa es alta. *Neopestalotiopsis* tiene una fase saprofítica, lo que significa que puede sobrevivir en tejidos muertos y favorecer su propagación. Además, tiene la capacidad de formar acérvulos, estructuras reproductivas asexuales que son fáciles de ser diseminadas por el viento (Chamorro, 2016, p. 1495).

Un síntoma distintivo de *Neopestalotiopsis* es la presencia de una coloración blanca rodeada por bordes de color más oscuro en la corona de la planta (Medina, 2020, p. 21). Por lo general, también se observan áreas necróticas y decoloración en las raíces y la corona, lo que puede resultar en la muerte de la planta. Además, las hojas pueden comenzar a decolorarse entre los nervios, adquiriendo un tono marrón rojizo y finalmente marchitándose (Intriago, et al., 2021, p. 525).

Características morfológicas

Neopestalotiopsis es un hongo que produce acérvulos concéntricos de color negro, con un tamaño de 280 μm . Sus conidios son fusiformes o elipsoides, con cinco células y un tamaño promedio de $22,7 \times 7,7 \mu\text{m}$. Las células apicales y basales son hialinas, mientras que las células tercera y cuarta de la base son más oscuras (de color marrón) y la segunda célula de la base es de color marrón pálido. Los conidios tienen un apéndice basal (con un promedio de 9,5 μm) y de dos a cuatro apéndices apicales (con un promedio de 25,9 μm), y se desarrollan a una temperatura de 25°C en medio PDA (Maharachchikumbura, et al., 2014, pp. 121-186).

Los aislamientos de este hongo presentan conidios fusiformes con cuatro septos elipsoides, con un tamaño promedio de 22.5 a 32.5 μm x 7.5 a 12.0 μm . Las células apicales y basales son cónicas y transparentes, mientras que la célula anterior a la basal es más clara que las células tercera y cuarta. Los conidios tienen un apéndice basal y dos o tres apéndices filiformes (Intriago, et al., 2021, p. 522).

2.4.5 Hongos de la parte aérea

2.4.5.1 *Alternaria grandis*

Este hongo se encuentra ampliamente distribuido y suele infectar a plantas de la familia Solanáceae, ocasionando la enfermedad conocida como tizón temprano, la cual también puede ser causada por otras especies de *Alternaria*, principalmente *Alternaria solani*. La incidencia de este hongo es mayor en plantas que presentan deficiencias nutricionales o se encuentran en condiciones de estrés, aunque sus esporas tienen la capacidad de resistir condiciones extremas (Rodrigues, et al., 2010, p. 28).

Este hongo prefiere temperaturas cálidas, alrededor de los 27°C, y su índice de infección disminuye significativamente a temperaturas inferiores a los 12°C. Cuando las condiciones son favorables, el hongo puede germinar en un lapso de 1 a 3 horas (Tapuy, 2022, p. 7, citado en Thomma, 2003, pp. 225-227). En el cultivo de papa y otras plantas de la familia Solanáceae, Simmons identificó

las especies de esporas grandes y pico largo *Alternaria grandis* y *Alternaria solani*, lo cual posteriormente fue respaldado por otros estudios (Rodrigues, et al., 2010, p. 28).

Alternaria grandis se diferencia de *Alternaria solani* en solo 1 nucleótido en su secuencia. Los dos aislamientos de *Alternaria grandis* estudiados, CBS 109158 y CBS 116695, tienen conidios notablemente más grandes que los aislamientos de *Alternaria solani* (Simmons, 2000, pp. 244-286). Sin embargo, es importante mencionar que un estudio reciente reveló que *Alternaria solani* (CBS 109157) y *Alternaria grandis* (CBS 109158) difieren en 8 de 770 nucleótidos en su secuencia de calmodulina (Woudenberg, et al., 2014, p. 45).

Taxonomía

Tabla 5-2: Clasificación taxonómica de *Alternaria grandis*

| | |
|----------------|---------------------------|
| Reino | Fungi |
| Filo | Ascomycota |
| Clase | Dothideomycetes |
| Orden | Pleosporales |
| Familia | Pleosporaceae |
| Género | <i>Alternaria</i> |
| Especie | <i>Alternaria grandis</i> |

Fuente: Simmons, 2000.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Sintomatología

Los síntomas iniciales en las hojas se manifiestan como pequeñas manchas cloróticas que, posteriormente, se necrosan y adquieren una forma amorfa de color marrón oscuro a negro, aumentando su tamaño. Las manchas suelen estar rodeadas por un halo clorótico amplio, lo que indica la intoxicación de las células del parénquima foliar debido a la rápida propagación de la toxina del patógeno (Simmons, 2000, pp. 244-286).

Los síntomas que produce *Alternaria grandis* en plantas de la familia Solanáceae se han descrito como "manchas negras rodeadas de un halo amarillo" (Bessadat, et al., 2016). Es importante destacar que *Alternaria grandis* pertenece a la sección Porri de la especie *Alternaria* y está estrechamente relacionada con *Alternaria solani* (Woudenberg, et al., 2014, p. 45).

Características morfológicas

En condiciones *in vitro*, la temperatura óptima para el desarrollo del micelio de este hongo es de 27 °C, mientras que la temperatura ideal para el desarrollo de conidios y conidióforos oscila entre 19 y 23 °C, así como la presencia de luz. Macroscópicamente, las colonias de este hongo presentan una textura algodonosa y plana, con una coloración inicialmente blanca grisácea que posteriormente se torna verde oliva oscuro o café en la superficie, y café oscuro a negro en el reverso de la colonia, debido a la acumulación de pigmento dihidroxinaftaleno-melanina (Woudenberg, et al., 2014, pp. 1-47).

En cuanto a sus características microscópicas, *Alternaria grandis* tiene una longitud del cuerpo del conidio de 102-184 µm y un ancho del cuerpo del conidio de 14-17 µm. Además, presenta una longitud del pico de 135-206 µm, de 9-14 tabiques transversales, 0-3 tabiques longitudinales y un solo pico. Cabe mencionar que, las esporas tienen un color café claro (Rodrigues, et al., 2010, p. 28).

2.4.5.2 *Moniliophthora roreri*

Moniliophthora roreri es un hongo hemibiotrófico que, en una primera etapa, establece una asociación con células vivas y, posteriormente, con tejido muerto. El proceso de infección comienza cuando las esporas reproductivas o conidias del hongo llegan a la superficie de las mazorcas. Las condiciones óptimas para su desarrollo son alta humedad y temperatura, lo que favorece la germinación y penetración del hongo en la mazorca, causando daños internos en las primeras etapas de la enfermedad (Sánchez y Garcés, 2012, p. 252). En Ecuador, la presencia de la moniliasis puede provocar daños en las cosechas de hasta el 60% (Sanchez y Garcés, 2012, p. 250).

Taxonomía

Tabla 6-2: Clasificación taxonómica de *Moniliophthora roreri*

| | |
|----------------|-----------------------|
| Reino | Fungi |
| Filo | Basidiomycota |
| Clase | Agaricomycetes |
| Orden | Agaricales |
| Familia | Marasmiaceae |
| Género | <i>Moniliophthora</i> |
| Especie | <i>M. roreri</i> |

Fuente: Evans et al., 2003.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Sintomatología

En todas las etapas del desarrollo de los frutos de cacao, se pueden observar síntomas tanto externos como internos. Los daños externos se caracterizan por la aparición de necrosis, deformación y pudrición en las mazorcas. Aunque algunos frutos de entre 60 y 80 días pueden completar su desarrollo sin presentar síntomas externos, el tejido interno está necrosado (Sánchez y Garcés, 2012, pág. 251, citado en Reuck, 1997, pp. 1-2).

La infección del hongo provoca la muerte del fruto, el cual adquiere un color café oscuro y se cubre con una "felpa" de color crema, que son las esporas del hongo. Esta característica en forma de polvo permite que el hongo se disperse fácilmente por el viento, agua y trabajadores. La enfermedad presenta una mayor incidencia cuando hay altas precipitaciones. Es importante destacar que el hongo solo infecta los tejidos en crecimiento, especialmente los frutos jóvenes (Johnson et al., 2008, p. 27).

Otro síntoma de la enfermedad es la madurez prematura, en la que las mazorcas cambian de color y parecen maduras aunque aún no lo están. Los tejidos centrales, la pulpa, las semillas y, en ocasiones, la cáscara se fusionan en una sola masa rodeada por una sustancia acuosa debido a su descomposición (Johnson et al., 2008, p. 27).

Caracterización morfológica

Según lo informado por Suárez (2006, p. 6), las características macroscópicas de este hongo incluyen un crecimiento zonal en áreas concéntricas con diferentes tonalidades dentro de la colonia. El centro es de color pardo oscuro, con una masa conidial pulverulenta dispuesta en una capa compacta adyacente a una zona de color crema, salpicada de masa conidial. La zona micelial está formada por filamentos cortos y entrelazados, y es de color blanco al principio y luego se vuelve crema.

En cuanto a las características microscópicas, se observan conidias globosas e hifas hialinas en su estado joven, cabe mencionar que, el micelio es hialino y brillante. Las esporas pueden ser globosas, subglobosas y elípticas (Suárez, 2006, p. 6).

2.4.6 *Hongos de poscosecha*

2.4.6.1 *Penicillium* spp.

El género *Penicillium* fue inicialmente descrito por Link en 1809 y sus especies tienen una amplia distribución en todo el mundo, siendo ubicuas. Muchas de estas especies habitan en el suelo o en materia orgánica en descomposición (Martínez Benítez, 2003, p. 3, citados en Pitt y Hocking, 1997).

Este patógeno se considera un saprófito y ataca predominantemente al fruto en el campo, ya sea mientras se encuentra en el árbol o durante su recolección, transporte, almacenamiento, envasado o distribución. Normalmente, el hongo se desarrolla rápidamente en condiciones de temperatura entre 15 y 28 °C y una alta humedad relativa (Hernandez et al., 2007, pp. 66-74).

Taxonomía

Tabla 7-2: Clasificación taxonómica de *Penicillium* spp.

| | |
|----------------|-------------------------|
| Reino | Fungi |
| Filo | Ascomycota |
| Clase | Eurotiomycetes |
| Orden | Eurotiales |
| Familia | Trichocomaceae |
| Género | <i>Penicillium</i> |
| Especie | <i>Penicillium</i> spp. |

Fuente: Pitt y Hocking, 1997.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Sintomatología

El hongo *Penicillium* spp., tiene la capacidad de permanecer en la piel del fruto durante meses y desarrollarse con el contacto de los fluidos liberados por heridas en la corteza. Una vez establecido en la fruta, sus hifas blanquecinas secretan una enzima que destruye la lignina de la corteza, ablandando los tejidos. Es fácilmente identificable a simple vista y al tacto, ya que la fruta presenta un aspecto húmedo y se hunde al presionarla con el dedo. En el caso de *P. digitatum*, se observa una zona esporulada de color verde oliva rodeada por una amplia zona de micelio blanco y una estrecha banda de cáscara blanda de apariencia acuosa (Delgado y Pérez, 1997, p. 5-7).

Características morfológicas

Las colonias de estos hongos, observadas macroscópicamente, suelen tener un crecimiento rápido y comienzan siendo blancas, pero con el tiempo adquieren tonalidades como azul, azul verdoso, verde, gris oliva o incluso rosado, con un reverso de color amarillo cremoso. La textura de la colonia depende de la especie y puede ser plana, filamentosa, aterciopelada o algodonosa, y también puede presentar gotas de exudado (Villón y Paredes, 2022, p. 16, citados en DATABIO, 2016.).

Al observar microscópicamente este hongo, se pueden observar hifas septadas de color hialino. Los conidióforos tienen ramas secundarias llamadas métulas, que son cilíndricas y tienen paredes lisas. En estas ramas se encuentran de 3 a 6 fiálides en forma de matraz, de las cuales surgen largas cadenas de esporas o conidios que forman el característico penacho o pincel del género (Villón y Paredes, 2022, p. 17, citados en DATABIO, 2016.).

2.4.6.2 *Colletotrichum* spp.

Colletotrichum es considerado uno de los géneros de patógenos de plantas más relevantes y ampliamente distribuidos en todo el mundo, con una especial predilección por afectar a los cultivos de regiones tropicales y subtropicales (Pérez et al., 2003, p. 25, citados en Manners et al., 2000).

Este hongo se considera actualmente un complejo de especies, clasificadas en nueve clados principales según análisis filogenéticos. *Colletotrichum* engloba a más de 100 especies que son responsables de causar antracnosis en casi todos los cultivos destinados a la producción de alimentos, fibras y forrajes a nivel mundial, como por ejemplo *C. gloeosporioides*, *C. truncatum*, *C. lineola*, *C. boninense*, entre otras (Rojo et al., 2017, pp. 547-570).

Para que ocurra la germinación de las esporas, la infección y la producción de ascosporas, se requiere una alta humedad relativa cercana al 100% y una temperatura óptima entre los 25-29 °C. Sin embargo, la enfermedad también puede manifestarse en condiciones más secas. La propagación del hongo se ve favorecida por salpicaduras de agua, corrientes de aire, insectos, rozamiento en hojas y frutos, granizo u otras formas de contacto (Rodríguez et al., 2013, pp. 898-905).

Taxonomía

Tabla 8-2: Clasificación taxonómica de *Colletotrichum* spp.

| | |
|----------------|----------------------------|
| Reino | Fungi |
| Filo | Ascomycota |
| Clase | Hypocreomycetidae |
| Orden | Glomerellales |
| Familia | Glomerellaceae |
| Género | <i>Colletotrichum</i> |
| Especie | <i>Colletotrichum</i> spp. |

Fuente: Reblová et al., 2011.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Sintomatología

En ciertas plantas huésped, los primeros síntomas de la enfermedad se manifiestan como pequeñas manchas húmedas en las hojas, mientras que en otras aparecen como manchas necróticas y cloróticas de forma circular o irregular, lo cual también depende de la planta huésped. En algunas plantas, las manchas pueden tener una forma similar a la de un ojo de rana, mientras que en otras pueden tener una forma angular debido a que quedan limitadas por la nervadura de la hoja (Rojo et al., 2017, p. 543).

Las lesiones causadas por el hongo presentan un color amarillo, tostado, marrón o negro, a menudo con un halo clorótico de color amarillo brillante. Estas manchas se expanden rápidamente y tienen una textura similar a la del papel. Durante esta fase, el hongo llena los acérvulos, donde produce esporas. En algunos casos, las hojas infectadas pueden llegar a caerse y también pueden verse afectadas las flores. Los síntomas iniciales en hojas y frutos son pequeñas manchas en la cutícula que van aumentando de tamaño y se necrosan a medida que avanza la enfermedad (Rodríguez et al., 2013, pp. 898-905).

Características morfológicas

En un estudio llevado a cabo por Pérez et al. (2003, pp. 28-33) sobre cepas de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum dematium*, se realizó una descripción macro y microscópica. Se encontró que el color predominante de la colonia fue lila y que la tasa de crecimiento osciló entre 4 y 7 mm por día. Las esporas de *Colletotrichum gloeosporioides* tienen forma cilíndrica con un extremo redondeado y otro agudo, y varían en tamaño entre 7-8 micras de longitud y 3-4 micras de ancho. Por otro lado, *Colletotrichum dematium* presentó un color gris radial y las esporas tienen una forma falcada y fusiforme con ambos extremos agudos, con un tamaño que varía entre 16-18 micras de longitud y 3-4 micras de ancho.

Colletotrichum presenta diferentes morfotipos, como margen circular o entero y coloración gris del micelio, con masas conidiales de color naranja. En el caso de *Colletotrichum gloeosporioides*, sus esporas tienen forma ovoide y miden entre 13.56-14.24 x 4-4.02 μm , presentando un crecimiento micelial radial con margen entero u ondulado, generalmente de color blanco con masas conidiales de color anaranjado en el centro de la colonia (Rojo et al., 2017, pp. 549-570).

CAPÍTULO III

3 MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de investigación que se presenta es de tipo experimental, enfocado en la evaluación *in vitro* de la capacidad antagonista de *Bacillus subtilis* F. Cohn frente a varios hongos fitopatógenos, incluyendo *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus* sp., *Colletotrichum* spp., *Neopestalotiopsis* sp., *Alternaria grandis*, *Penicillium* spp., y *Moniliophthora roreri*.

3.1 Características del lugar

3.1.1 Localización

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicado en la parroquia Lizarzaburu, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo.

3.1.2 Ubicación geográfica

Latitud: 1°39'05.10"S

Longitud: 78°40'59,86"O

Altitud: 2820 msnm (Tiupul, 2011, p. 1).

3.1.3 Condiciones climáticas de laboratorio

Temperatura promedio: 23 °C

Humedad relativa: 43%

3.2 Materiales y equipos

3.2.1 Materiales oficina

- Libreta de apuntes
- Esfero
- Regla
- Marcador permanente o rotulador

- Teléfono
- Computadora
- Memoria USB
- Calculadora
- Impresora

3.2.2 *Materiales de laboratorio*

- Cajas petri
- Pipetas
- Micropipetas
- Parafilm
- Mascarilla
- Piseta
- Guantes desechables
- Envases esterilizados
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Sacabocados
- Agujas
- Cámara de Neubauer

3.2.3 *Equipos de laboratorio*

- Incubadora memmert 854 Schwabach W-Germany
- Balanza analítica OHAUS PA4202
- Microscopio Motic BA310E
- Mecheros (Lámpara de alcohol)
- Autoclave Hyrayama HL 3030 e
- Cabina de Bioseguridad clase II Tipo A2 Biobase BBS 110LLA2-x

3.2.4 *Reactivos*

- Agua destilada
- Agar Nutritivo Titan Biotech LTD
- Agar Papa Dextrosa Difco™

- Etanol 70 %
- Azul de algodón

3.3 Métodos

3.3.1 *Microorganismos Empleados*

Para llevar a cabo el estudio de antagonismo, se emplearon aislados de *Bacillus subtilis* F. Cohn. De igual forma, se utilizaron siete cepas de hongos fitopatógenos (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus* sp., *Colletotrichum* spp., *Neopestalotiopsis* sp., *Alternaria grandis*, *Penicillium* spp. y *Moniliophthora roreri*). Cabe destacar que, antes de llevar a cabo el estudio de antagonismo, se evaluó la capacidad de la cepa bacteriana para crecer en el medio Agar Papa Dextrosa (PDA) con el fin de utilizarlo en el cultivo dual.

Tabla 9-3: Procedencia de los microorganismos empleados en la investigación

| Investigador | Lugar y año | Microorganismo | Proyecto |
|------------------------|----------------|----------------------------------|--|
| Ing. Norma Erazo PhD | ESPOCH, (2012) | <i>Bacillus subtilis</i> F. Cohn | Banco de microorganismos de microbiología |
| Ing. Pablo Álvarez PhD | ESPOCH, (2023) | <i>Fusarium oxysporum</i> | Cultivos fúngicos del Laboratorio de fitopatología |
| Ing. Pablo Álvarez PhD | ESPOCH, (2023) | <i>Aspergillus</i> spp. | Cultivos fúngicos del Laboratorio de fitopatología |
| Ing. Pablo Álvarez PhD | ESPOCH, (2023) | <i>Colletotrichum</i> spp. | Cultivos fúngicos del Laboratorio de fitopatología |
| Ing. Pablo Álvarez PhD | ESPOCH, (2023) | <i>Penicillium</i> spp. | Cultivos fúngicos del Laboratorio de fitopatología |
| Ing. Pablo Álvarez PhD | ESPOCH, (2023) | <i>Neopestalotiopsis</i> sp. | Cultivos fúngicos del Laboratorio de fitopatología |
| Ing. Pablo Álvarez PhD | ESPOCH, (2023) | <i>Alternaria grandis</i> | Cultivos fúngicos del Laboratorio de fitopatología |
| Ing. Pablo Álvarez PhD | ESPOCH, (2023) | <i>Moniliophthora roreri</i> | Cultivos fúngicos del Laboratorio de fitopatología |

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

3.3.2 *Metodología*

Se llevaron a cabo pruebas de antagonismo de *Bacillus subtilis* F. Cohn utilizando la técnica de cultivo dual en cajas Petri con medios de cultivo PDA y Agar nutritivo. Además, se empleó la técnica de compuestos volátiles como complemento a las pruebas de antagonismo.

3.3.2.1 *Preparación del medio de cultivo (PDA y AN)*

- Para comenzar, se llevó a cabo la preparación del medio de cultivo con Agar Papa Dextrosa (PDA), utilizando una cantidad de 40 g de PDA por cada litro de medio. El medio se esterilizó en la autoclave a una temperatura de 121 °C durante aproximadamente 15 a 20 minutos a una atmósfera de presión.
- Después de la esterilización, el medio de cultivo se dejó reposar durante unos 30 minutos antes de su uso.
- Una vez que el medio de cultivo se enfrió, se agregaron aproximadamente 15 a 20 mL de medio en cada unidad de las cajas Petri.
- Luego, se permitió que el medio de cultivo se solidificara por completo.
- Es importante destacar que el procedimiento para la preparación del agar nutritivo (AN) es similar, con la excepción de que se requirieron 30 g de AN por cada litro de medio.

3.3.2.2 *Repique de los hongos fitopatógenos*

- Para llevar a cabo este procedimiento, se colocaron todos los materiales utilizados en la cámara de flujo y se los expuso al UV durante unos 15 a 20 minutos para trabajar en un ambiente estéril.
- Después de esto, se utilizaron sacabocados de tamaño 4 para realizar agujeros en las cajas de los hongos que se iban a repicar.
- Se tomó una muestra del hongo con una punta estéril y se colocó en las cajas Petri que contenían PDA, sellándolas con parafilm.
- Las cajas Petri se colocaron en la incubadora Memmert a una temperatura de 28 °C hasta que los hongos se desarrollaron completamente.
- Este procedimiento se llevó a cabo con las siete cepas de hongos fitopatógenos que se estaban estudiando.

3.3.2.3 *Técnica de Cultivo Dual*

Es importante destacar que la metodología descrita por Torres Cortés et al. (2018, pp. 239-245) fue empleada para llevar a cabo esta técnica:

- Una vez que se tuvieron listos los hongos que se iban a utilizar, se utilizaron sacabocados para realizar agujeros en las cajas Petri.
- Luego, se colocó el hongo en la mitad de la caja Petri utilizando una punta estéril.

- Posteriormente, se tomó una muestra de bacteria sólida con el asa y se colocó en los extremos de la caja Petri, es decir, en la parte superior e inferior, mediante un estriado simple.
- Las cajas Petri se mantuvieron en incubadora a 28°C durante aproximadamente una a tres semanas para permitir el crecimiento completo de los hongos.
- Es importante destacar que se realizaron mediciones cada 24 horas para verificar tanto el crecimiento del antagonista como el de los hongos fitopatógenos, tomando medidas verticales y horizontales del crecimiento del micelio del hongo.

3.3.2.4 *Técnica de Compuestos volátiles*

Es importante señalar que se empleó la metodología descrita por León et al. (2020, pp. 20-25) para llevar a cabo esta técnica, trabajando con diferentes tiempos de crecimiento del hongo, de la siguiente manera:

- En la primera etapa de crecimiento, tanto los hongos (PDA), como las bacterias (AN) se sembraron el mismo día para no dar ventaja al crecimiento del hongo.
- Luego, se enfrentaron los hongos con la bacteria colocándolos frente a frente y sellando las dos cajas.
- En la siguiente etapa de crecimiento, se sembraron los hongos en PDA y se dejaron durante aproximadamente cuatro días, lo que resultó en un crecimiento aproximado del 20 al 40%.
- Después de transcurrido este tiempo, se procedió a sembrar la bacteria en Agar nutritivo.
- Luego, se enfrentaron los hongos con la bacteria colocándolos frente a frente y sellando las dos cajas.
- Es importante mencionar que se realizaron mediciones cada 24 horas para verificar el crecimiento del antagonista y de los hongos fitopatógenos, midiendo tanto vertical como horizontalmente el crecimiento del hongo.

3.3.3 *Cálculo del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial*

Se llevó a cabo el análisis del antagonismo mediante el cálculo del porcentaje de inhibición utilizando la metodología descrita por León et al. (2020, pp. 20-25). La selección del mejor antagonismo se basó en el porcentaje de inhibición obtenido. La ecuación utilizada para calcular el porcentaje de inhibición fue la siguiente:

$$\% \text{ Inhibición} = \left(1 - \frac{td}{cd}\right) * 100$$

En la fórmula, los términos representan lo siguiente:

"**td**" representa el diámetro de la colonia fúngica cuando se cultiva con el aislado bacteriano.

"**cd**" representa el diámetro de la colonia fúngica cuando se cultiva sin el aislado bacteriano (control).

Cabe mencionar que, mediante la implementación de la siguiente escala se estableció si la inhibición es:

Tabla 10-3: Escala para el porcentaje de inhibición

| | |
|-------------------------|-------------|
| Inhibición Baja | 0 % - 25 % |
| Inhibición Media | 25 % - 50 % |
| Inhibición Alta | > 50 % |

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

3.3.4 *Cálculo de la tasa de crecimiento del micelio*

Se empleó la metodología descrita por Corrales et al. (2012, p. 69) para calcular la tasa de crecimiento micelial (TC), utilizando la siguiente fórmula:

$$Tc = \frac{Cf - Ci}{Tf - Ti}$$

En la fórmula, los términos representan lo siguiente:

"**Tf**" es el tiempo final.

"**Ti**" es el tiempo inicial.

"**Cf**" es el crecimiento final.

"**Ci**" es el crecimiento inicial.

3.3.5 *Cálculo del porcentaje de inhibición de esporulación*

El porcentaje de inhibición de esporulación se calculó una vez que el control del hongo alcanzó su crecimiento total, utilizando la metodología descrita por Armenia (2005, p. 37).

- Para los controles, se agregaron 5 mL de agua esterilizada en las cajas Petri correspondientes. Se raspó el micelio alrededor de 120 segundos con un asa triangular para homogeneizarlo con el agua agregada.
- Se retiraron 25 uL de los controles que contenían agua con micelio del hongo y se colocaron en placas portaobjetos. En cuanto a las repeticiones, se agregaron 12,5 uL del hongo y 12,5 uL de *Bacillus subtilis* líquido.
- Las placas con las muestras se colocaron en cámara húmeda y se dejaron durante aproximadamente 24 horas.
- Después de ese tiempo, se agregó una gota de azul de algodón sobre las muestras y se colocaron los cubreobjetos para observarlas en el microscopio.
- Se enfocó desde el lente de menor aumento (4x) hasta el de mayor (40x) y se contaron aproximadamente 100 esporas. Se registraron las esporas reproductivas y se calculó el porcentaje de inhibición de esporulación.

Es importante mencionar que para *Alternaria grandis* se utilizó la metodología descrita por Rodrigues, et al. (2010, p. 28) de la siguiente manera:

- Las cajas Petri de los controles se dejaron destapadas durante aproximadamente 24 horas bajo la exposición de rayos ultravioleta, ya sea de la luz solar durante el día o de la luz artificial durante la noche.
- Posteriormente, se llevó a cabo el mismo procedimiento que con las otras cepas de hongos, es decir, se colocaron en una cámara húmeda durante 24 horas y se observaron en el microscopio.

3.3.6 Análisis de las características morfológicas

Se examinaron las características morfológicas de los hongos fitopatógenos tanto macroscópica como microscópicamente. Es importante destacar que esto se llevó a cabo al final del ensayo, cuando el control de los hongos ya se había desarrollado por completo.

- En cuanto a las características macroscópicas, se evaluó el color de las colonias de acuerdo con Pantone (2020). Además, se evaluaron las características del micelio de acuerdo a diferentes autores dependiendo el hongo. Según Gómez (2018), la velocidad de crecimiento de los hongos se define como el tiempo que tarda la colonia en ocupar las 2/3 partes de la caja Petri, con rangos establecidos de la siguiente manera:

- Rápido: Entre una y dos semanas

- Moderado: Entre dos y tres semanas
- Lento: Entre tres y cuatro semanas.

• En cuanto a las características microscópicas, se basaron en la información de diferentes autores, dependiendo del hongo en estudio.

3.4 Especificaciones del experimento

3.4.1 Esquema del diseño experimental

| | |
|-----------------------------------|----|
| Número de tratamientos | 8 |
| Número de repeticiones | 3 |
| Número de unidades experimentales | 24 |

3.4.2 Tratamientos (T)

Tabla 11-3: Tratamientos de la investigación

| Código | Descripción |
|--------|--|
| T1 | <i>Bacillus subtilis</i> F Cohn + <i>Fusarium oxysporum</i> |
| T2 | <i>Bacillus subtilis</i> F Cohn + <i>Aspergillus</i> sp. |
| T3 | <i>Bacillus subtilis</i> F Cohn + <i>Colletotrichum</i> spp. |
| T4 | <i>Bacillus subtilis</i> F Cohn + <i>Penicillium</i> spp. |
| T5 | <i>Bacillus subtilis</i> F Cohn + <i>Neopestalotiopsis</i> sp. |
| T6 | <i>Bacillus subtilis</i> F Cohn + <i>Alternaria grandis</i> |
| T7 | <i>Bacillus subtilis</i> F Cohn + <i>Moniliophthora roreri</i> |
| T8 | Controles |

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

3.5 Tipo de diseño

3.5.1 Características del diseño

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con ocho tratamientos y tres repeticiones para las variables de porcentaje de inhibición micelial y porcentaje de inhibición de esporulación. Mientras tanto, para la tasa de crecimiento se utilizó la Prueba T.

3.5.2 Esquema de análisis de varianza

Tabla 12-3: Análisis de Varianza (ANOVA)

| Fuente de Variación | Fórmula | Gl |
|---------------------|----------|----|
| Tratamientos | (t-1) | 7 |
| Error | t (n -1) | 16 |
| Total | (tn)-1 | 23 |

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Tabla 13-3: Prueba T para la tasa de crecimiento

| Tratamiento | Tasa de crecimiento | | | |
|-------------|---------------------|-------------|-----------|---------------|
| | Media | D. Estandar | p - valor | Significancia |
| T | (cm/día) | - | - | - |
| T_C | (cm/día) | - | - | - |

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

3.5.3 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza ANOVA con los datos obtenidos sobre el porcentaje de inhibición del micelio y de la esporulación, lo que permitió comparar varios grupos en relación a la variable cuantitativa para determinar si las medias poblacionales eran iguales (0) o diferentes (1).

Por otro lado, en cuanto a la tasa de crecimiento, se sometieron los datos obtenidos a la Prueba T para muestras independientes. Esta prueba permitió comparar las medias de dos grupos de casos para determinar si eran diferentes o iguales.

3.5.4 Análisis funcional

a. Durante el análisis de varianza, si se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, se utilizó la prueba de Tukey para separar las medias, y se evaluó su significancia con un valor de $P < 0,05$.

b. De igual forma, la prueba T se evaluó su significancia con un valor de $P < 0,05$.

c. Además, el coeficiente de variación se expresó en forma de porcentaje.

CAPITULO IV

4 MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Procesamiento, análisis e interpretación de resultados

4.1.1 Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos

4.1.1.1 Método Dual

Dual vertical

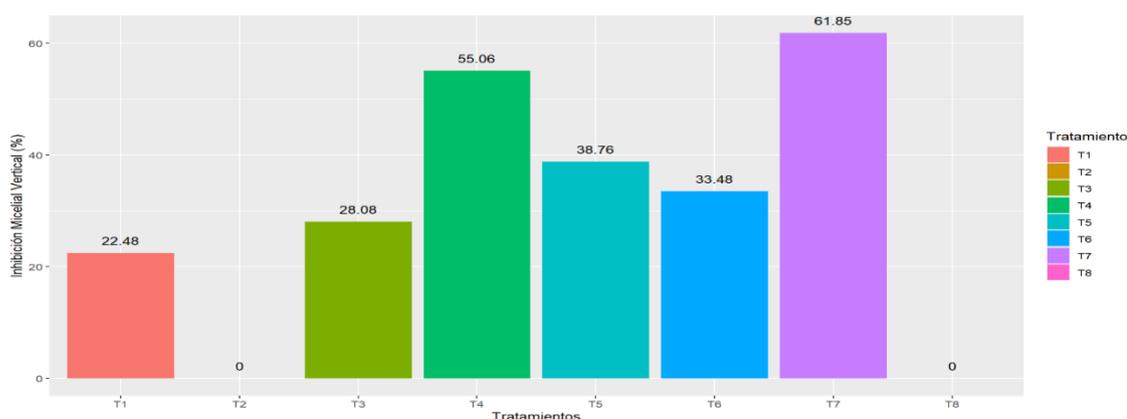


Ilustración 1-4: Porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método dual

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

El análisis de varianza para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial mediante el método dual determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0,01$), con un coeficiente de variación de 6,95 % (Tabla 14-4).

Tabla 14-4: Análisis de Varianza para el porcentaje de inhibición vertical de crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método dual

| Variables | gl | SC | MC | F | p - valor | Significancia |
|-------------|----|--------|--------|-------|----------------------|---------------|
| Tratamiento | 7 | 10776 | 1539,4 | 354,8 | 0,000000000000000247 | ** |
| Error | 16 | 69 | 4,3 | | | |
| Total | 23 | 10845 | | | | |
| CV | | 6,95 % | | | | |

Diferencias altamente significativas "***" ($p < 0,01$), diferencias significativas "*" ($p < 0,05$), no significativo "ns" ($> 0,05$).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial por el método dual (Tabla 15-4, Ilustración 1-4) se determinó que existen 6 grupos de tratamiento: en el grupo A con el mayor porcentaje de inhibición se ubicó el T7 correspondiente a *Moniliophthora roreri* con una media de 61,85 %, seguido del grupo “B” se ubicó el tratamiento T4 correspondiente a *Penicillium spp.*, con una media de 55,06 %, después el grupo “C” se ubicó el T6 correspondiente a *Alternaria grandis* con una media de 38,76 %; cabe mencionar que los tratamientos T2 y T8 no presentaron porcentaje de inhibición mediante este método.

Tabla 15-4: Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método dual

| Tratamiento | Medias | Rango | | |
|--|----------|-------|---|---|
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. roreri</i>) | 61,85387 | A | | |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium spp.</i>) | 55,06024 | B | | |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 38,76475 | C | | |
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 33,48209 | C | D | |
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum spp.</i>) | 28,07927 | | D | E |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 22,47918 | | | E |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus spp.</i>) | 0,00000 | | | F |
| T8 (Controles) | 0,00000 | | | F |

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Dual horizontal

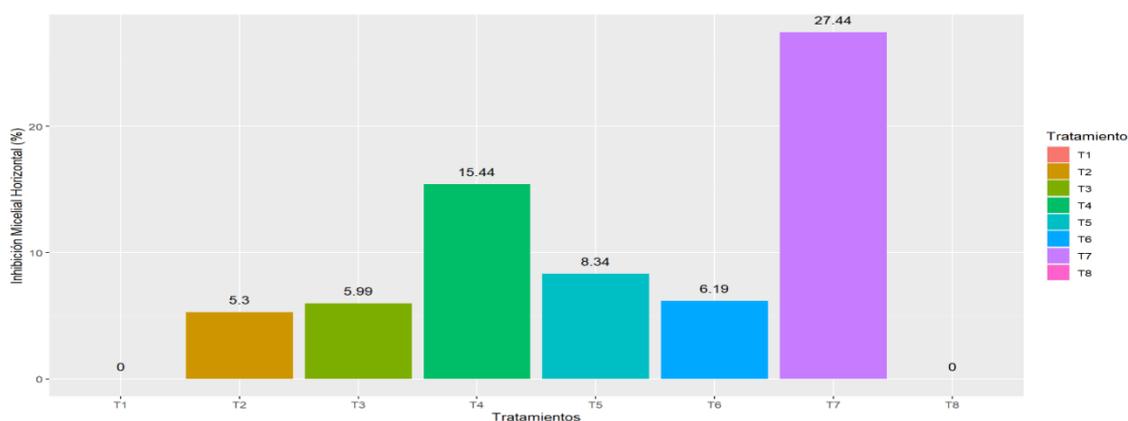


Ilustración 2-4: Porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método dual

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

El análisis de varianza para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos mediante el método dual determinó que existen diferencias altamente

significativas entre los tratamientos ($p < 0,01$), con un coeficiente de variación de 11,89 % (Tabla 16-4).

Tabla 16-4: Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método dual

| Variabes | gl | SC | MC | F | p - valor | Significancia |
|-------------|----|---------|--------|-------|---------------------|---------------|
| Tratamiento | 7 | 1719,3 | 245,62 | 235,8 | 0,00000000000000628 | ** |
| Error | 16 | 16,7 | 1,04 | | | |
| Total | 23 | 1736 | | | | |
| CV | | 11,89 % | | | | |

Diferencias altamente significativas “***” ($p < 0,01$), diferencias significativas “**” ($p < 0,05$), no significativo “ns” ($> 0,05$).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial por el método dual (Tabla 17-4, Ilustración 2-4) se determinó que existen 5 grupos: en el grupo A con el mayor porcentaje de inhibición se ubicó el T7 correspondiente a *Moniliophthora roreri* con una media de 27,44 %, seguido del grupo “B” se ubicó el T4 correspondiente a *Penicillium* spp., con una media de 15,44 %; cabe mencionar que los demás tratamientos no se obtuvieron datos elevados mediante este método.

Tabla 17-4: Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método dual

| Tratamiento | Medias | Rango |
|---|-----------|-------|
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. roreri</i>) | 27,435655 | A |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium</i> spp.) | 15,440713 | B |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopestalotiopsis</i> sp.) | 8,344914 | C |
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 6,189700 | C D |
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum</i> spp.) | 5,986899 | C D |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus</i> spp.) | 5,297295 | D |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 0,000000 | E |
| T8 (Controles) | 0,000000 | E |

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.1.2 Método de compuestos volátiles

Volátiles vertical

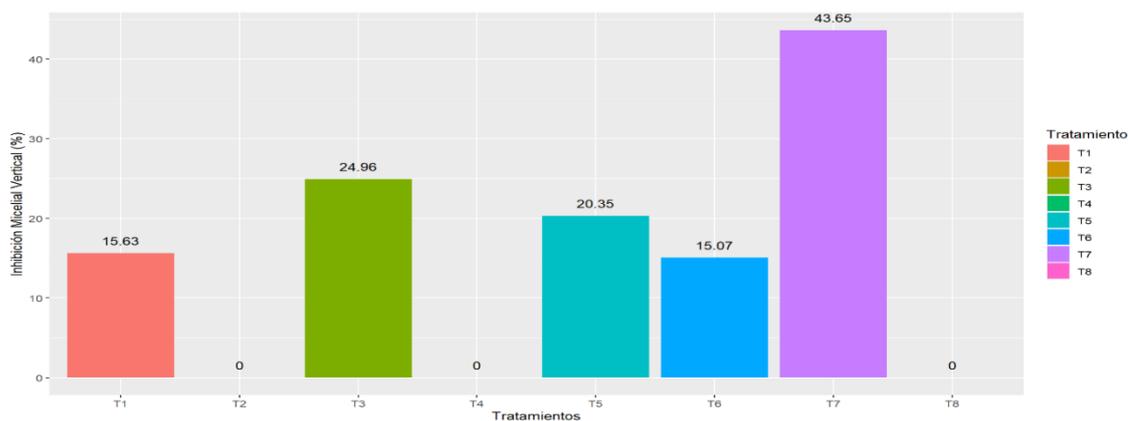


Ilustración 3-4: Porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método de compuestos volátiles
Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

El análisis de varianza para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial mediante el método de compuestos volátiles determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0,01$), con un coeficiente de variación de 7,17 % (Tabla 18-4).

Tabla 18-4: Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método de volátiles

| Variabes | gl | SC | MC | F | p - valor | significancia |
|-------------|----|--------|-------|-------|--------------------|---------------|
| Tratamiento | 7 | 4873 | 696,1 | 605,8 | 0,0000000000000002 | ** |
| Error | 16 | 18 | 1,1 | | | |
| Total | 23 | 4891 | | | | |
| CV | | 7,17 % | | | | |

Diferencias altamente significativas "***" ($p < 0,01$), diferencias significativas "**" ($p < 0,05$), no significativo "ns" ($> 0,05$).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial por el método de compuestos volátiles (Tabla 19-4, Ilustración 3-4) se determinó que existen 5 grupos: en el grupo A con el mayor porcentaje de inhibición se ubicó el T7 correspondiente a *Moniliophthora roreri* con una media de 43,65 %, seguido del grupo "B" se ubicó el T3 correspondiente a *Colletotrichum* spp., con una media de 24,96 %; cabe mencionar que los tratamientos T2, T4 y T8 no presentaron porcentaje de inhibición mediante este método.

Tabla 19-4: Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante volátiles

| Tratamiento | Medias | Rangos |
|--|----------|--------|
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. royeri</i>) | 43,65345 | A |
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum spp.</i>) | 24,96247 | B |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 20,35038 | C |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 15,62826 | D |
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 15,07486 | D |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus spp.</i>) | 0,00000 | E |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium spp.</i>) | 0,00000 | E |
| T8 (Controles) | 0,00000 | E |

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Volátiles horizontal

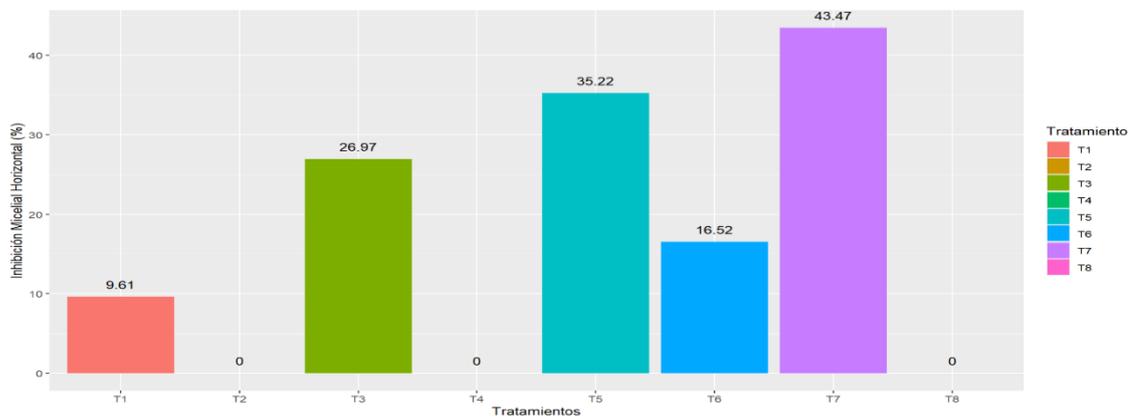


Ilustración 4-4: Porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método de compuestos volátiles

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

El análisis de varianza para el porcentaje de inhibición horizontal del micelio por el método de compuestos volátiles determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0,01$), con un coeficiente de variación de 6,20 % (Tabla 20-4).

Tabla 20-4: Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante volátiles

| Variabes | gl | SC | MC | F | p - valor | Significancia |
|-------------|----|--------|-------|-------|--------------------|---------------|
| Tratamiento | 7 | 6155 | 879,3 | 843,1 | 0,0000000000000002 | ** |
| Error | 16 | 17 | 1,0 | | | |
| Total | 23 | 6172 | | | | |
| CV | | 6,20 % | | | | |

Diferencias altamente significativas "***" ($p < 0,01$), diferencias significativas "*" ($p < 0,05$), no significativo "ns" ($> 0,05$).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial por el método de compuestos volátiles (Tabla 21-4, Ilustración 4-4) se determinó que existen 6 grupos: en el grupo A con el mayor porcentaje de inhibición se ubicó el T7 correspondiente a *Moniliophthora roreri* con una media de 43,47 %, mientras tanto en el grupo “B” se ubicó T5 correspondiente a *Neopestalotiopsis* sp., con una media de 35,21 %; cabe mencionar que los tratamientos T2, T4 y T8 no presentaron porcentaje de inhibición mediante este método.

Tabla 21-4: Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante volátiles

| Tratamiento | Medias | Rango |
|---|-----------|-------|
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. roreri</i>) | 43,471974 | A |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopestalotiopsis</i> sp.) | 35,217029 | B |
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum</i> spp.) | 26,969653 | C |
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 16,519110 | D |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 9,611922 | E |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus</i> spp.) | 0,000000 | F |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium</i> spp.) | 0,000000 | F |
| T8 (Controles) | 0,000000 | F |

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.1.3 Método de compuestos volátiles (4 días)

Volátiles vertical (4 días)

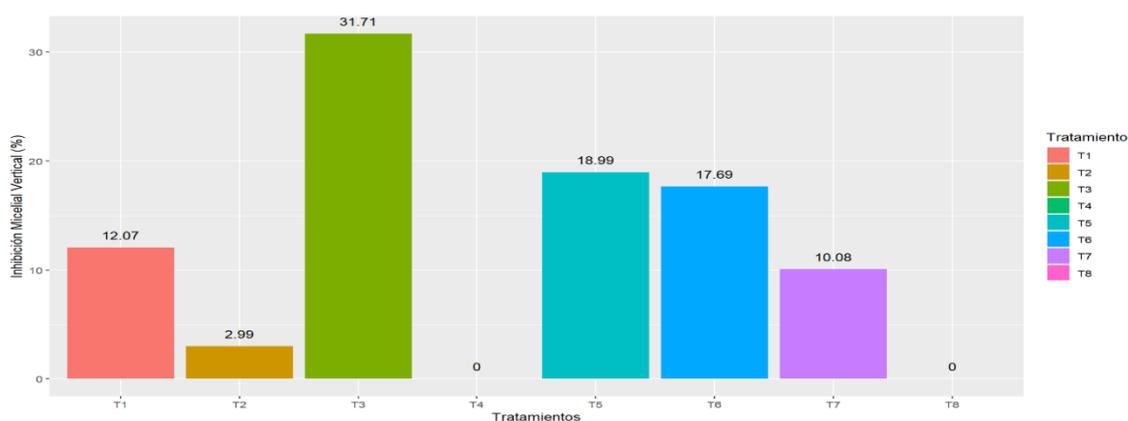


Ilustración 5-4: Porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método de volátiles (4 días)

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

El análisis de varianza para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial mediante el método de compuestos volátiles (4 días) determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0,01$), con un coeficiente de variación de 6,91 % (Tabla 22-4).

Tabla 22-4: Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* por el método de volátiles (4 días)

| Variabes | gl | SC | MC | F | p - valor | Significancia |
|-------------|----|--------|-------|-------|--------------------|---------------|
| Tratamiento | 7 | 2525,6 | 360,8 | 551,5 | 0,0000000000000002 | ** |
| Error | 16 | 10,5 | 0,7 | | | |
| Total | 23 | 2536,1 | | | | |
| CV | | 6,91 % | | | | |

Diferencias altamente significativas “***” ($p < 0,01$), diferencias significativas “**” ($p < 0,05$), no significativo “ns” ($> 0,05$).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial por el método de compuestos volátiles (4 días) (Tabla 23-4, Ilustración 5-4) se determinó que existen 5 grupos: en el grupo A con el mayor porcentaje de inhibición se ubicó el T3 correspondiente a *Colletotrichum* spp., con una media de 31,70 %, mientras, el grupo “B” se ubicaron los tratamientos T5 y T6 correspondiente a *Neopestalotiopsis* sp. y *Alternaria grandis* con una media de 35,21 % y 17,68 % respectivamente; cabe mencionar que los demás tratamientos no se obtuvieron datos elevados mediante este método.

Tabla 23-4: Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición vertical del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* por volátiles (4 días)

| Tratamiento | Medias | Rango |
|---|-----------|-------|
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum</i> spp.) | 31,709000 | A |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopestalotiopsis</i> sp.) | 18,991977 | B |
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 17,688609 | B |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 12,071039 | C |
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. roleri</i>) | 10,080914 | C |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus</i> spp.) | 2,986816 | D |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium</i> spp.) | 0,000000 | E |
| T8 (Controles) | 0,000000 | E |

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Volátiles horizontal (4 días)

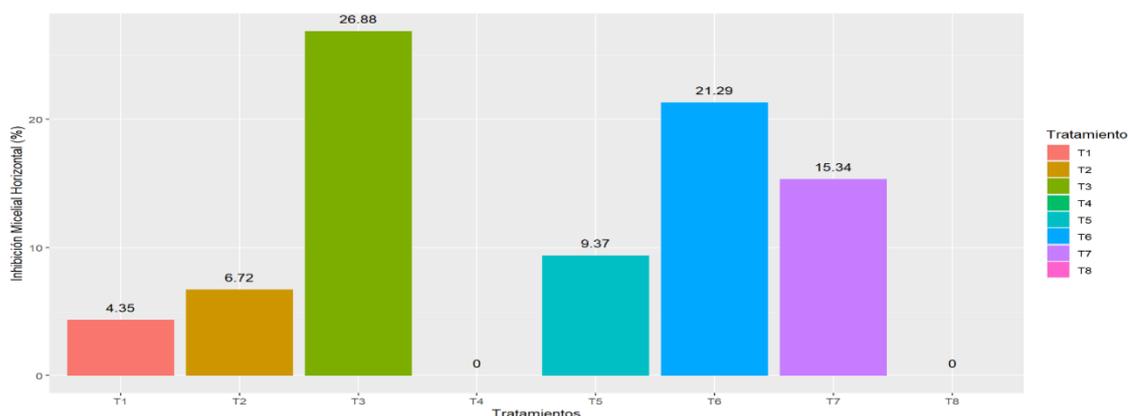


Ilustración 6-4: Porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* por el método de compuestos volátiles (4 días)

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

El análisis de varianza para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial mediante el método de compuestos volátiles (4 días) determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0,01$), con un coeficiente de variación de 9,89 % (Tabla 24-4).

Tabla 24-4: Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* por volátiles (4 días)

| Variabes | gl | SC | MC | F | p - valor | Significancia |
|-------------|----|--------|--------|-------|---------------------|---------------|
| Tratamiento | 7 | 2045,7 | 292,25 | 271,3 | 0,00000000000000207 | ** |
| Error | 16 | 17,2 | 1,08 | | | |
| Total | 23 | 2062,9 | | | | |
| CV | | 9,89 % | | | | |

Diferencias altamente significativas “***” ($p < 0,01$), diferencias significativas “*” ($p < 0,05$), no significativo “ns” ($> 0,05$).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial por el método de compuestos volátiles (4 días) (Tabla 25-4, Ilustración 6-4) se determinó que existen 6 grupos: en el grupo A con el mayor porcentaje de inhibición se ubicó el T3 correspondiente a *Colletotrichum* spp., con una media de 26,87 %, seguido del grupo “B” se ubicó el T6 correspondiente a *Alternaria grandis* con una media de 21,28 %, luego el grupo “C” se ubicó el T7 correspondiente a *Moniliophthora roreri* con una media de 15,34 %; cabe mencionar que los demás tratamientos no se obtuvieron datos elevados mediante este método.

Tabla 25-4: Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición horizontal del crecimiento micelial de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* por volátiles (4 días)

| Tratamiento | Medias | Rango |
|--|-----------|-------|
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum</i> spp.) | 26,878060 | A |
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 21,289162 | B |
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. roleri</i>) | 15,344035 | C |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopestalotiopsis</i> spp.) | 9,374639 | D |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus</i> spp.) | 6,722017 | D E |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 4,354939 | E |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium</i> spp.) | 0,000000 | F |
| T8 (Controles) | 0,000000 | F |

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.2 Tasa de crecimiento de hongos fitopatógenos

4.1.2.1 Método dual

Dual vertical

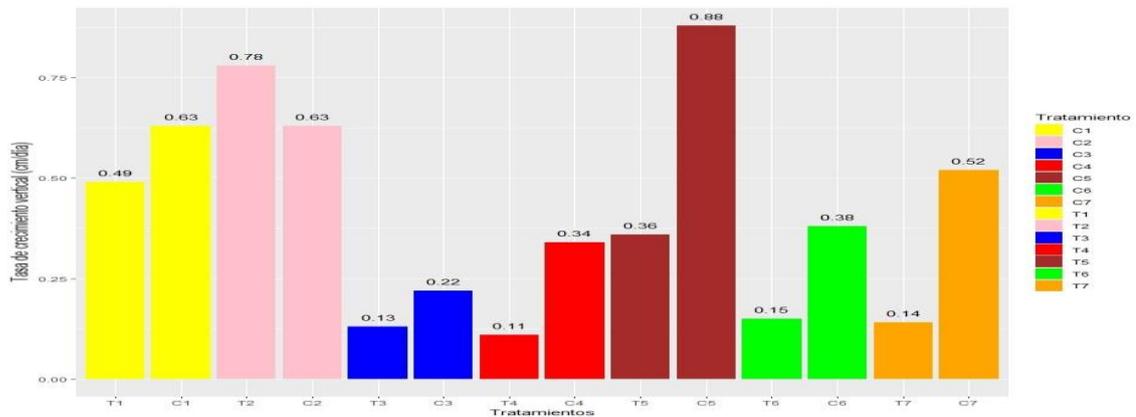


Ilustración 7-4: Tasa de crecimiento vertical del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método dual

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

La prueba T para la tasa de crecimiento vertical del micelio mediante el método dual determinó que existen diferencias significativas para el tratamiento T2 ($p < 0,05$), mientras, existen diferencias altamente significativas para los demás tratamientos ($p < 0,01$), con una desviación estándar de 4 para todos los tratamientos (Tabla 26-4).

Tabla 26-4: Prueba T para la tasa de crecimiento vertical del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método dual

| Tasa de crecimiento | | | | |
|--|----------------|-------------|------------|---------------|
| Tratamiento | Media (cm/día) | D. Estandar | p - valor | Significancia |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 0,49 | 4 | 0,00578794 | ** |
| T1_C (<i>F. oxysporum</i>) | 0,63 | | | |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus spp.</i>) | 0,78 | 4 | 0,01275098 | * |
| T2_C (<i>Aspergillus spp.</i>) | 0,63 | | | |
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum spp.</i>) | 0,13 | 4 | 0,00029025 | ** |
| T3_C (<i>Colletotrichum spp.</i>) | 0,22 | | | |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium spp.</i>) | 0,11 | 4 | 0,00000586 | ** |
| T4_C (<i>Penicillium spp.</i>) | 0,34 | | | |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 0,36 | 4 | 0,00180383 | ** |
| T5_C (<i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 0,88 | | | |
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 0,15 | 4 | 0,00003748 | ** |
| T6_C (<i>A. grandis</i>) | 0,38 | | | |
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. royeri</i>) | 0,14 | 4 | 0,00012013 | ** |
| T7_C (<i>M. royeri</i>) | 0,52 | | | |

Diferencias altamente significativas “***” ($p < 0,01$), diferencias significativas “*” ($p < 0,05$), no significativo “ns” ($> 0,05$).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Dual horizontal

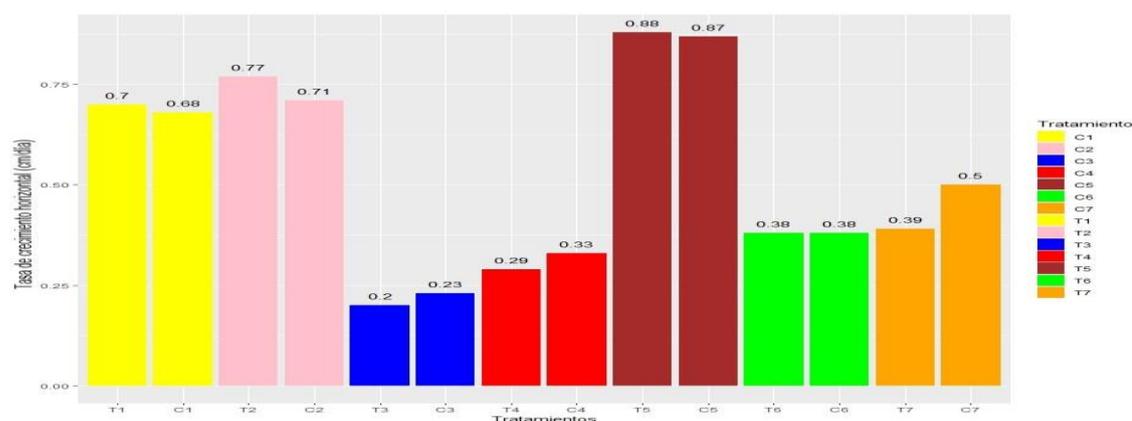


Ilustración 8-4: Tasa de crecimiento horizontal del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método dual

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

La prueba T para la tasa de crecimiento horizontal del micelio mediante el método dual determinó que existen diferencias significativas para los tratamientos T3 y T7 ($p < 0,05$), mientras, existen diferencias altamente significativas en el tratamiento T4 ($p < 0,01$); por otro lado, no existe diferencias significativas para los tratamientos T1, T2, T5 y T6 ($p > 0,05$), con una desviación estándar de 4 para todos los tratamientos (Tabla 27-4).

Tabla 27-4: Prueba T para la tasa de crecimiento horizontal del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método dual

| Tratamiento | Tasa de crecimiento | | | |
|--|---------------------|-------------|-----------|---------------|
| | Media (cm/día) | D. Estandar | p - valor | Significancia |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 0,70 | 4 | 0,52250 | ns |
| T1_C (<i>F. oxysporum</i>) | 0,68 | | | |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus spp.</i>) | 0,77 | 4 | 0,23591 | ns |
| T2_C (<i>Aspergillus spp.</i>) | 0,71 | | | |
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum spp.</i>) | 0,20 | 4 | 0,01315 | * |
| T3_C (<i>Colletotrichum spp.</i>) | 0,23 | | | |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium spp.</i>) | 0,29 | 4 | 0,00206 | ** |
| T4_C (<i>Penicillium spp.</i>) | 0,33 | | | |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 0,88 | 4 | 0,94499 | ns |
| T5_C (<i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 0,87 | | | |
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 0,38 | 4 | 1 | ns |
| T6_C (<i>A. grandis</i>) | 0,38 | | | |
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. roleri</i>) | 0,39 | 4 | 0,01493 | * |
| T7_C (<i>M. roleri</i>) | 0,50 | | | |

Diferencias altamente significativas “***” (p<0,01), diferencias significativas “*” (p<0,05), no significativo “ns” (>0,05).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.2.2 Método de Compuestos Volátiles

Volátiles vertical

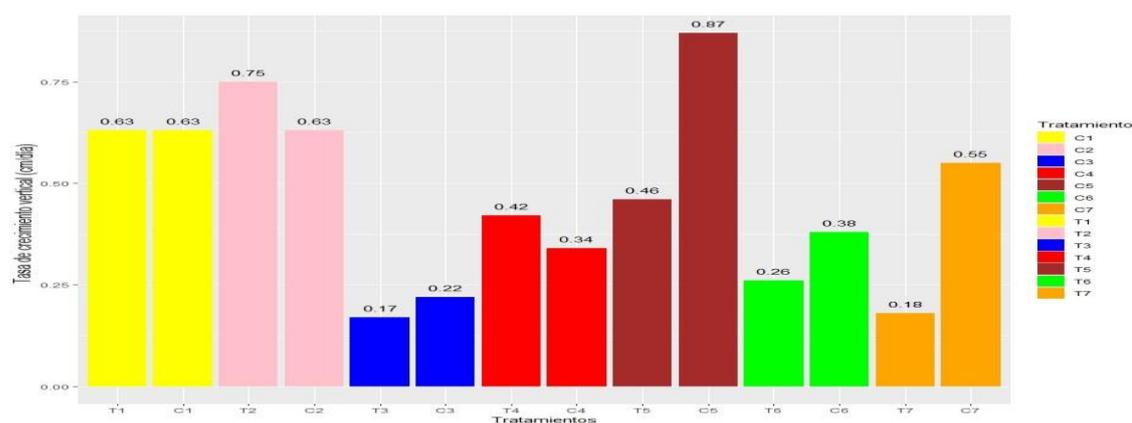


Ilustración 9-4: Tasa de crecimiento vertical del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método de compuestos volátiles

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

La prueba T para la tasa de crecimiento vertical del micelio por el método de compuestos volátiles determinó que existen diferencias altamente significativas para los tratamientos T3, T4, T5, T6 y

T7 ($p < 0,01$); mientras, se determinó que no existe diferencias significativas para los tratamientos T1 y T2 ($p > 0,05$), con una desviación estándar de 4 para todos los tratamientos (Tabla 28-4).

Tabla 28-4: Prueba T para la tasa de crecimiento vertical del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método de compuestos volátiles

| Tratamiento | Tasa de crecimiento | | | |
|---|---------------------|-------------|-----------|---------------|
| | Media (cm/día) | D. Estandar | p - valor | Significancia |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 0,63 | 4 | 1 | ns |
| T1_C (<i>F. oxysporum</i>) | 0,63 | | | |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus spp.</i>) | 0,75 | 4 | 0,08165 | ns |
| T2_C (<i>Aspergillus spp.</i>) | 0,63 | | | |
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum spp.</i>) | 0,17 | 4 | 0,00149 | ** |
| T3_C (<i>Colletotrichum spp.</i>) | 0,22 | | | |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium spp.</i>) | 0,42 | 4 | 0,00789 | ** |
| T4_C (<i>Penicillium spp.</i>) | 0,34 | | | |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopetalotiopsis sp.</i>) | 0,46 | 4 | 0,00465 | ** |
| T5_C (<i>Neopetalotiopsis sp.</i>) | 0,87 | | | |
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 0,26 | 4 | 0,00030 | ** |
| T6_C (<i>A. grandis</i>) | 0,38 | | | |
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. roleri</i>) | 0,18 | 4 | 0,00013 | ** |
| T7_C (<i>M. roleri</i>) | 0,55 | | | |

Diferencias altamente significativas “***” ($p < 0,01$), diferencias significativas “**” ($p < 0,05$), no significativo “ns” ($> 0,05$).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Volátiles horizontal

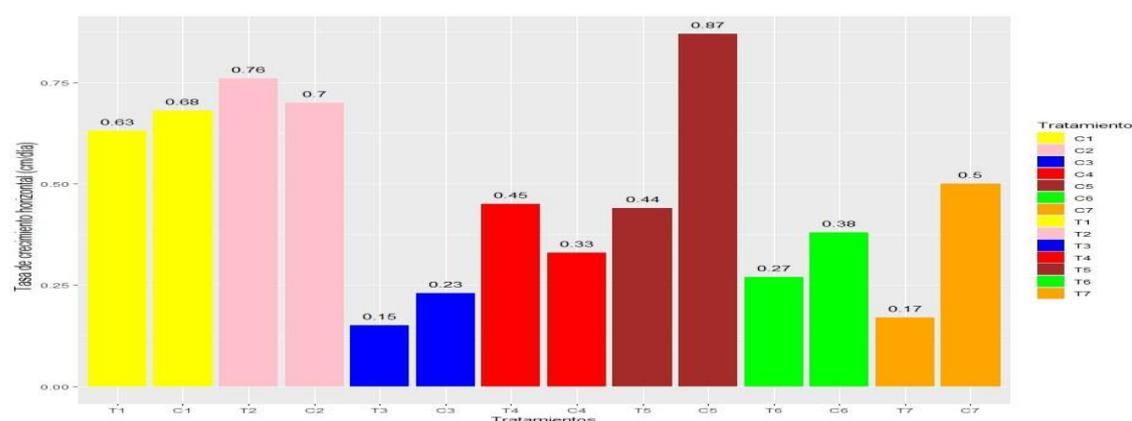


Ilustración 10-4: Tasa de crecimiento horizontal del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método de compuestos volátiles

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

La prueba T para la tasa de crecimiento horizontal del micelio mediante el método de compuestos volátiles determinó que existen diferencias altamente significativas para los tratamientos T3, T4, T5 y T7 ($p < 0,01$); por otro lado, existe diferencias significativas para el tratamiento T6 ($p < 0,05$);

mientras, no existe diferencias significativas para los tratamientos T1 y T2 ($p > 0,05$), con una desviación estándar de 4 para todos los tratamientos (Tabla 29-4).

Tabla 29-4: Prueba T para la tasa de crecimiento horizontal del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método de compuestos volátiles

| Tasa de crecimiento | | | | |
|--|----------------|-------------|-----------|---------------|
| Tratamiento | Media (cm/día) | D. Estandar | p - valor | Significancia |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 0,63 | 4 | 0,12417 | ns |
| T1_C (<i>F. oxysporum</i>) | 0,68 | | | |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus spp.</i>) | 0,76 | 4 | 0,54748 | ns |
| T2_C (<i>Aspergillus spp.</i>) | 0,71 | | | |
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum spp.</i>) | 0,15 | 4 | 0,00165 | ** |
| T3_C (<i>Colletotrichum spp.</i>) | 0,23 | | | |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium spp.</i>) | 0,45 | 4 | 0,00031 | ** |
| T4_C (<i>Penicillium spp.</i>) | 0,33 | | | |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 0,44 | 4 | 0,00484 | ** |
| T5_C (<i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 0,87 | | | |
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 0,27 | 4 | 0,01730 | * |
| T6_C (<i>A. grandis</i>) | 0,38 | | | |
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. royeri</i>) | 0,17 | 4 | 0,00005 | ** |
| T7_C (<i>M. royeri</i>) | 0,50 | | | |

Diferencias altamente significativas “***” ($p < 0,01$), diferencias significativas “**” ($p < 0,05$), no significativo “ns” ($> 0,05$).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.2.3 Método de compuestos volátiles (4 días)

Volátiles vertical (4 días)

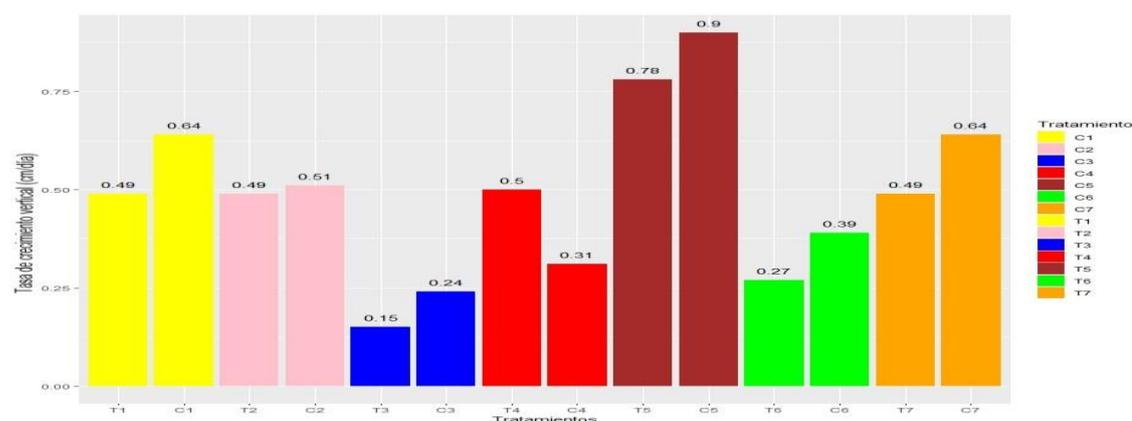


Ilustración 11-4: Tasa de crecimiento vertical del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método de compuestos volátiles (4 días)

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

La prueba T para la tasa de crecimiento vertical del micelio mediante el método de compuestos volátiles (4 días) determinó que existen diferencias altamente significativas para los tratamientos T3, T5 y T6 ($p < 0,01$); mientras, existen diferencias significativas para los tratamientos T4 y T7 ($p < 0,05$), por otro lado, no existe diferencias significativas para los tratamientos T1 y T2 ($p > 0,05$), con una desviación estándar de 4 para todos los tratamientos (Tabla 30-4).

Tabla 30-4: Prueba T para la tasa de crecimiento vertical del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* por el método de compuestos volátiles (4 días)

| Tratamiento | Tasa de crecimiento | | | |
|--|---------------------|-------------|-----------|---------------|
| | Media (cm/día) | D. Estandar | p - valor | Significancia |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 0,51 | 4 | 0,1897 | ns |
| T1_C (<i>F. oxysporum</i>) | 0,57 | | | |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus spp.</i>) | 0,60 | 4 | 0,6963 | ns |
| T2_C (<i>Aspergillus spp.</i>) | 0,58 | | | |
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum spp.</i>) | 0,16 | 4 | 0,0003 | ** |
| T3_C (<i>Colletotrichum spp.</i>) | 0,23 | | | |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium spp.</i>) | 0,48 | 4 | 0,0102 | * |
| T4_C (<i>Penicillium spp.</i>) | 0,31 | | | |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 0,43 | 4 | 0,0024 | ** |
| T5_C (<i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 0,91 | | | |
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 0,25 | 4 | 0,0039 | ** |
| T6_C (<i>A. grandis</i>) | 0,38 | | | |
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. roleri</i>) | 0,47 | 4 | 0,0188 | * |
| T7_C (<i>M. roleri</i>) | 0,65 | | | |

Diferencias altamente significativas “***” ($p < 0,01$), diferencias significativas “**” ($p < 0,05$), no significativo “ns” ($> 0,05$).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Volátiles horizontal (4 días)

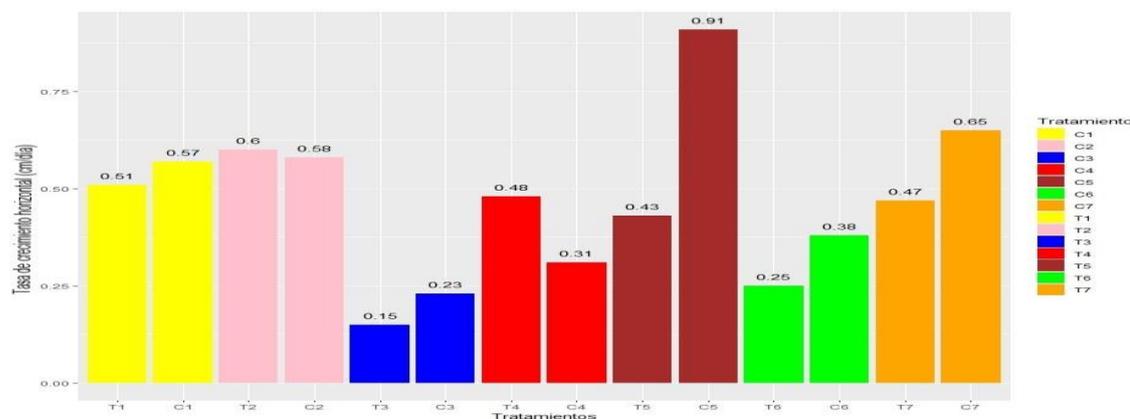


Ilustración 12-4: Tasa de crecimiento horizontal del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* mediante el método de compuestos volátiles (4 días)

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

La prueba T para la tasa de crecimiento horizontal del micelio mediante el método de compuestos volátiles (4 días) determinó que existen diferencias altamente significativas para los tratamientos T3 y T4 ($p < 0,01$); mientras, existe diferencias significativas para los tratamientos T5, T6 y T7 ($p < 0,05$), por otro lado, no existe diferencias significativas para los tratamientos T1 y T2 ($p > 0,05$), con una desviación estándar de 4 para todos los tratamientos (Tabla 31-4).

Tabla 31-4: Prueba T para la tasa de crecimiento horizontal del micelio de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis* por el método de compuestos volátiles (4 días)

| Tasa de crecimiento | | | | |
|--|----------------|-------------|-----------|---------------|
| Tratamiento | Media (cm/día) | D. Estandar | p - valor | Significancia |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 0,49 | 4 | 0,05649 | ns |
| T1_C (<i>F. oxysporum</i>) | 0,64 | | | |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus spp.</i>) | 0,49 | 4 | 0,66612 | ns |
| T2_C (<i>Aspergillus spp.</i>) | 0,51 | | | |
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum spp.</i>) | 0,15 | 4 | 0,00012 | ** |
| T3_C (<i>Colletotrichum spp.</i>) | 0,24 | | | |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium spp.</i>) | 0,50 | 4 | 0,00119 | ** |
| T4_C (<i>Penicillium spp.</i>) | 0,31 | | | |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 0,78 | 4 | 0,30900 | * |
| T5_C (<i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 0,90 | | | |
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 0,27 | 4 | 0,01880 | * |
| T6_C (<i>A. grandis</i>) | 0,39 | | | |
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. roleri</i>) | 0,49 | 4 | 0,01955 | * |
| T7_C (<i>M. roleri</i>) | 0,64 | | | |

Diferencias altamente significativas “***” ($p < 0,01$), diferencias significativas “*” ($p < 0,05$), no significativo “ns” ($> 0,05$).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.3 Porcentaje de inhibición de la esporulación de hongos fitopatógenos

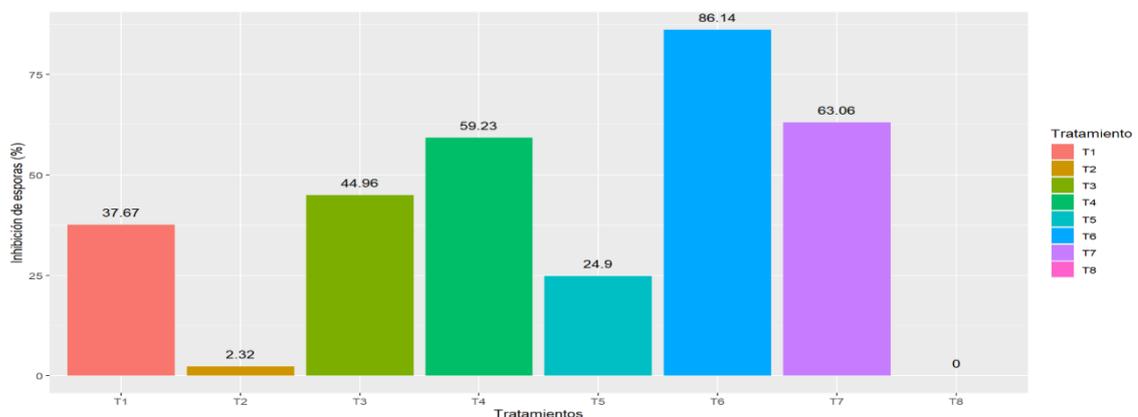


Ilustración 13-4: Porcentaje de inhibición de esporulación de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis*

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

El análisis de varianza para el porcentaje de inhibición de esporulación de los hongos fitopatógenos determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0,01$), con un coeficiente de variación de 7,71 % (Tabla 32-4).

Tabla 32-4: Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición de esporulación de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis*

| Variablen | gl | SC | MC | F | p - valor | Significancia |
|-------------|----|--------|--------|-------|--------------------|---------------|
| Tratamiento | 7 | 18 921 | 2703,1 | 287,6 | 0,0000000000000013 | ** |
| Error | 16 | 150 | 9,4 | | | |
| Total | 23 | 19 071 | | | | |
| CV | | 7,71 % | | | | |

Diferencias altamente significativas “***” ($p < 0,01$), diferencias significativas “**” ($p < 0,05$), no significativo “ns” ($> 0,05$).

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

Mediante la prueba de Tukey al 5 % para el porcentaje de inhibición de esporulación (Tabla 33, Ilustración 13) se determinó que existen 5 grupos: en el grupo “A” se ubicó el tratamiento T6 correspondiente a *Alternaria grandis* con una media de 86,13 %, seguido del grupo “B” en donde se ubicaron los tratamientos T7 y T4 correspondientes a *Moniliophthora roreri* y *Penicillium spp.*, con unas medias de 63,05 y 59,22 % respectivamente. Mientras tanto, en el último grupo “E” se ubicaron los tratamientos T2 y T8 correspondientes a *Moniliophthora roreri* y controles con unas medias de 2,32 y 0,00 % respectivamente.

Tabla 33-4: Prueba de Tukey al 5% para el porcentaje de inhibición de la esporulación de siete hongos fitopatógenos en presencia de *Bacillus subtilis*

| Tratamiento | Medias | Rango |
|--|-----------|-------|
| T6 (<i>B. subtilis</i> + <i>A. grandis</i>) | 86,136364 | A |
| T7 (<i>B. subtilis</i> + <i>M. roreri</i>) | 63,055556 | B |
| T4 (<i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium spp.</i>) | 59,225246 | B |
| T3 (<i>B. subtilis</i> + <i>Colletotrichum spp.</i>) | 44,959779 | C |
| T1 (<i>B. subtilis</i> + <i>F. oxysporum</i>) | 37,668350 | C |
| T5 (<i>B. subtilis</i> + <i>Neopestalotiopsis sp.</i>) | 24,897911 | D |
| T2 (<i>B. subtilis</i> + <i>Aspergillus spp.</i>) | 2,321335 | E |
| T8 (Controles) | 0,000000 | E |

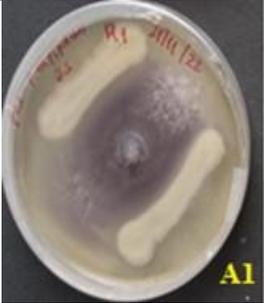
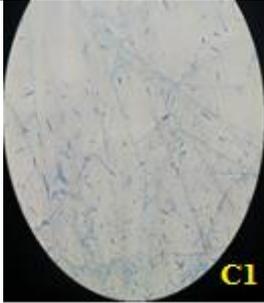
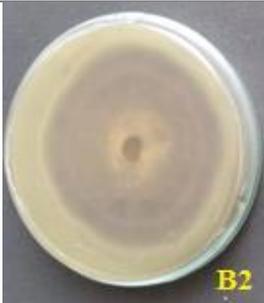
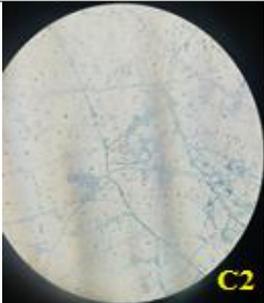
Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.4 Características Morfológicas

Las características morfológicas de los hongos se caracterizaron macroscópica y microscópicamente, en donde, se utilizó las siguientes tablas (Tabla 34 – Tabla 40) para describir a cada uno en estudio.

4.1.4.1 *Fusarium Oxysporum*

Tabla 34-4: Características morfológicas de *Fusarium oxysporum*

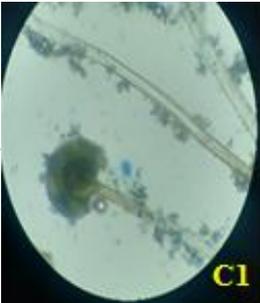
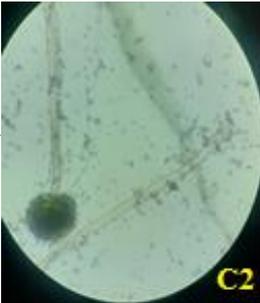
| <i>Fusarium Oxysporum</i> (PDA) | | | | | | | | | |
|---------------------------------|----------|--|---|--|--|-------------------------------|--|--|--|
| R Crecimiento | | Características macroscópicas | | | | Características microscópicas | | | |
| | | Anverso | | Reverso | | Forma | Micelio | | |
| R1 | Moderado | Violeta (PMS 5125 RGB #754760) |  | Café claro (PMS 482 RGB #e5d3c1) |  | No radial | No abundante, poco algodonoso | Escasos microconidios, es decir, esporas pequeñas ovaladas y abundantes en los tejidos vasculares, que se forman en las monofiálides laterales. |  |
| R2 | Moderado | Violeta (PMS 5125 RGB #754761) |  | Café claro (PMS 482 RGB #e5d3c2) |  | No radial | No abundante, no algodonoso | Presencia de macroconidios, en forma de media luna con 3 a 5 septos (Berruezo, 2018). | |
| R3 | Moderado | Violeta (PMS 5125 RGB #754762) |  | Café claro (PMS 482 RGB #e5d3c3) |  | No radial | No abundante, no algodonoso (Berruezo, 2018). | | |
| C1 | Rápido | Blanco y centro violeta (PMS 5245 RGB #e5d3cc) |  | Crema claro (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | Radial | Abundante, compacto, Algodonoso y micelio aéreo | Conidióforo ramificado. Abundantes microconidios, es decir, esporas pequeñas ovaladas y abundantes en los tejidos vasculares, que se forman en las monofiálides laterales. |  |
| C2 | Rápido | Blanco y centro morado (PMS 5245 RGB #e5d3cc) |  | Crema claro (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | Radial | Abundante, compacto, Algodonoso y micelio aéreo | Escasos macroconidios en forma de media luna con 2 a 3 septos (Berruezo, 2018). | |
| C3 | Rápido | Blanco y centro morado (PMS 5245 RGB #e5d3cc) |  | Crema claro (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | Radial | Abundante, compacto, Algodonoso y micelio aéreo (Berruezo, 2018). | | |

A1 y A2: Anverso; B1 y B2: Reverso; C1 y C2: Lente 40x; PMS: Codificación mediante la Escala de Pantone.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.4.2 *Aspergillus* spp.

Tabla 35-4: Características morfológicas de *Aspergillus* spp.

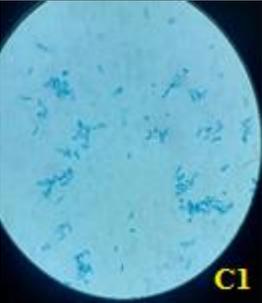
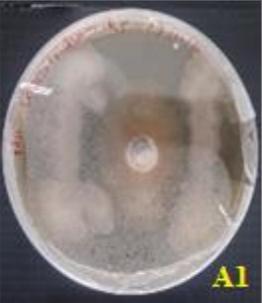
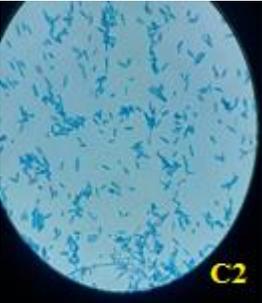
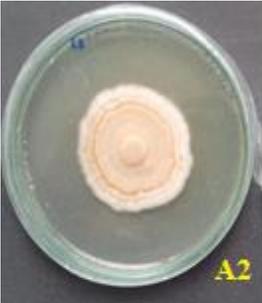
| | | <i>Aspergillus</i> spp. (PDA) | | | | | | | |
|----|-------------|-----------------------------------|---|------------------------------------|--|-----------|--|--|--|
| R | Crecimiento | Características macroscópicas | | | | Forma | Micelio | Características microscópicas | |
| | | Anverso | Reverso | | | | | | |
| R1 | Rápido | Café oscuro (PMS 476 RGB #593d2b) |  | Crema (PMS 1215 RGB #f9e08c) |  | No radial | Algodonoso denso, micelio blanco apenas visible, pigmento difusible amarillento | Presencia de conidióforos, que presentaron estipe vesícula y célula pie, de igual forma la presencia se fiálides, siendo uniseriadas, aunque también existían biseriadas, es decir, la presencia de métula. De igual forma numerosos conidios sobre los fiálides (Rangel, 2019 pág. 48). |  |
| R2 | Rápido | Café oscuro (PMS 476 RGB #593d2b) |  | Crema (PMS 1215 RGB #f9e08c) |  | No radial | Algodonoso denso, micelio blanco apenas visible, pigmento difusible amarillento | | |
| R3 | Rápido | Café oscuro (PMS 476 RGB #593d2b) |  | Crema (PMS 1215 RGB #f9e08c) |  | No radial | Algodonoso denso, micelio blanco apenas visible, pigmento difusible amarillento (Aristizábal, 2022 pág. 16). | | |
| C1 | Rápido | Café oscuro (PMS 476 RGB #593d2b) |  | Crema claro (PMS 1205 RGB #f7e8aa) |  | No radial | Algodonoso, micelio polvoriento, pigmento difusible Amarillento | Presencia de conidióforos, uniseriados que presentaron estipe, vesícula y célula pie, de igual forma la presencia de fiálides. También numerosos conidios sobre los fiálides (Rangel, 2019 pág. 48). |  |
| C2 | Rápido | Café oscuro (PMS 476 RGB #593d2b) |  | Crema claro (PMS 1205 RGB #f7e8aa) |  | No radial | Algodonoso, micelio polvoriento, pigmento difusible Amarillento | | |
| C3 | Rápido | Café oscuro (PMS 476 RGB #593d2b) |  | Crema claro (PMS 1205 RGB #f7e8aa) |  | No radial | Algodonoso, micelio polvoriento, pigmento difusible Amarillento chango | | |

A1 y A2: Anverso; B1 y B2: Reverso; C1 y C2: Lente 40x; PMS: Codificación mediante la Escala de Pantone.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.4.3 *Colletotrichum* spp.

Tabla 36-4: Características morfológicas de *Colletotrichum* spp.

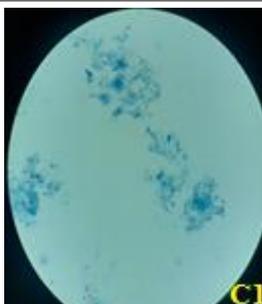
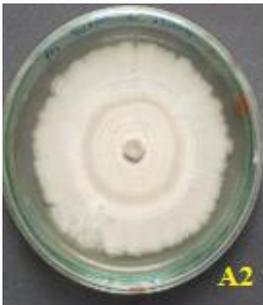
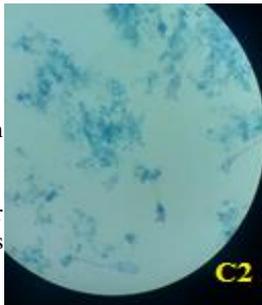
| | | <i>Colletotrichum</i> spp. (PDA) | | | | | |
|----|-------------|---|--|---|-----------|--|--|
| R | Crecimiento | Características macroscópicas | | | | Características microscópicas | |
| | | Anverso | Reverso | Forma | Micelio | | |
| R1 | Lento | Anaranjado – crema (PMS 1575 RGB #fc8744) |  | Anaranjado claro (PMS 135 RGB #fcc963) | No radial | No abundante, poco algodonoso, margen irregular |  |
| R2 | Lento | Anaranjado (PMS 1495 RGB #ff993f) |  | Anaranjado claro (PMS 135 RGB #fcc963) | No radial | No abundante, no algodonoso, margen irregular | |
| R3 | Lento | Anaranjado – crema (PMS 1575 RGB #fc8746) |  | Anaranjado claro (PMS 135 RGB #fcc963) | No radial | No abundante, poco algodonoso, margen irregular (Rojo et al., 2017, pp. 549-570). | |
| C1 | Lento | Blanco con masas conidiales anaranjadas (PMS 1485 RGB #ffb777) |  | Anaranjado (PMS 1495 RGB #ff993f) | Radial | Abundante, compacto, Algodonoso, con pigmento difusible naranja, margen entero |  |
| C2 | Lento | Blanco con masas conidiales anaranjadas (PMS 1485 RGB #ffb778) |  | Blanco – Anaranjado (PMS 1485 RGB #ffb777) | Radial | Abundante, compacto, Algodonoso, margen entero | |
| C3 | Lento | Blanco con masas conidiales anaranjadas (PMS 1485 RGB #ffb779) |  | Anaranjado (PMS 1495 RGB #ff993f) | Radial | Abundante, compacto, Algodonoso, con pigmento difusible naranja, margen entero (Rojo et al., 2017, pp. 549-570). | |

A1 y A2: Anverso; B1 y B2: Reverso; C1 y C2: Lente 40x; PMS: Codificación mediante la Escala de Pantone

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.4.4 *Penicillium* spp.

Tabla 37-4: Características morfológicas de *Penicillium* spp.

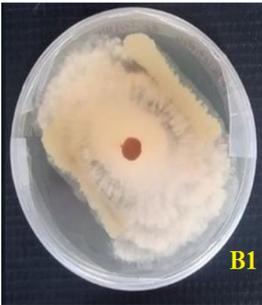
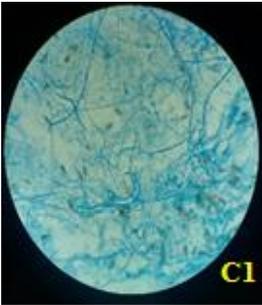
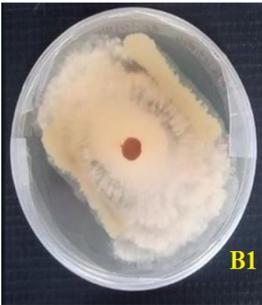
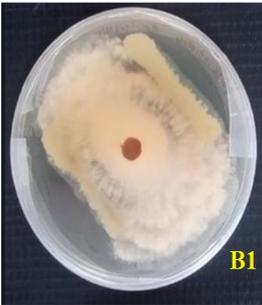
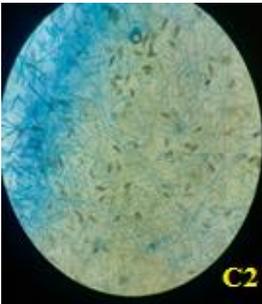
| | | <i>Penicillium</i> spp. (PDA) | | | | | | | |
|----|-------------|--------------------------------------|---|----------------------------------|---|-------------------------------|---|---|--|
| R | Crecimiento | Características macroscópicas | | | | Características microscópicas | | | |
| | | Anverso | | Reverso | | | | | |
| R1 | Lento | Gris verdoso (PMS 5845 RGB #b2aa70) |  | Café claro (PMS 149 RGB #fccc93) |  | No radial | Textura plana, hialina | Presentan cadenas sin ramificar de esporas o conidios (Andino et al., 2021 p. 31). |  |
| R2 | Lento | Gris verdoso (PMS 5845 RGB #b2aa71) | | Café claro (PMS 149 RGB #fccc93) | | No radial | Textura plana, hialina | | |
| R3 | Lento | Gris verdoso (PMS 5845 RGB #b2aa72) |  | Café claro (PMS 149 RGB #fccc93) |  | No radial | Textura plana, hialina (Villón y Paredes, 2022, pp. 16-18). | | |
| C1 | Lento | Blanco verdoso (PMS 580 RGB #c9d6a3) |  | Crema (PMS 148 RGB #ffd69b) |  | Radial | Textura plana, denso, borde ondulado | Presenta conidióforos con métulas, de forma cilíndrica, con paredes lisas y tienen de 4 a 6 fiálides; de ahí parten largas cadenas sin ramificar de esporas o conidios que forman el penacho (Andino et al., 2021 p. 31). |  |
| C2 | Lento | Blanco verdoso (PMS 580 RGB #c9d6a4) | | Crema (PMS 148 RGB #ffd69b) | | Radial | Textura plana, denso, borde ondulado | | |
| C3 | Lento | Blanco verdoso (PMS 580 RGB #c9d6a5) |  | (Crema PMS 148 RGB #ffd69b) |  | Radial | Textura plana, denso, borde ondulado (Villón y Paredes, 2022, pp. 16-18). | | |

A1 y A2: Anverso; B1 y B2: Reverso; C1 y C2: Lente 40x; PMS: Codificación mediante la Escala de Pantone.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.4.5 *Neopestalotiopsis* sp.

Tabla 38-4: Características morfológicas de *Neopestalotiopsis* sp.

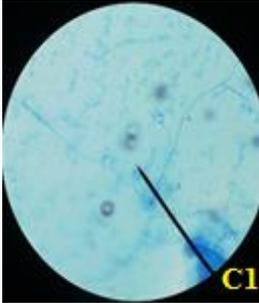
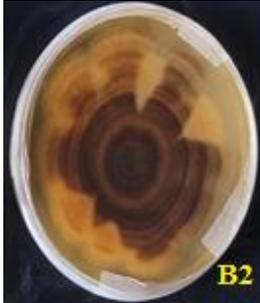
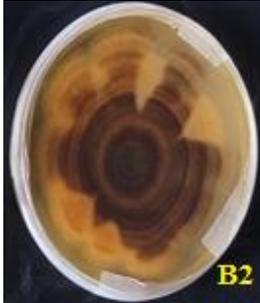
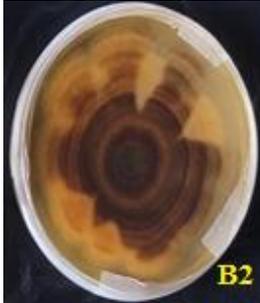
| | | <i>Neopestalotiopsis</i> sp. (PDA) | | | | | | | |
|----|-------------|-------------------------------------|--|--|--|-------------------------------|--|--|--|
| R | Crecimiento | Características macroscópicas | | | | Características microscópicas | | | |
| | | Anverso | Reverso | Forma | Micelio | | | | |
| R1 | Moderado | Blanco (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | Blanco – anaranjado (PMS 1495 RGB #ff993f) |  | No radial | Algodonoso, con escasos acérvulos | Presencia de escasos conidios, que presentan de 2 a 3 septos basales y un apical, el color característico de los intermedios es marrón (Intriago, et al., 2021, p. 522). |  |
| R2 | Moderado | Blanco (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | Blanco – anaranjado (PMS 1495 RGB #ff993f) |  | No radial | Algodonoso, con escasos acérvulos | | |
| R3 | Moderado | Blanco (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | Blanco – anaranjado (PMS 1495 RGB #ff993f) |  | No radial | Algodonoso, con escasos acérvulos (Acosta, 2022 pp. 52-58). | | |
| C1 | Rápido | Blanco (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | Cremoso – Anaranjado (PMS 1485 RGB #ffb777) |  | Radial | Algodonoso, con abundantes acérvulos | Presencia de abundantes conidios, que presentan de 2 a 4 apéndices basales y 1 apéndice apical. El color de los septos intermedios es café oscuro a marrón semitransparente; el color de los septos externos es transparentes o hialinas (Intriago, et al., 2021, p. 522). |  |
| C2 | Rápido | Blanco (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | Cremoso – Anaranjado (PMS 1485 RGB #ffb777) |  | Radial | Algodonoso, con abundantes acérvulos | | |
| C3 | Rápido | Blanco (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | Cremoso – Anaranjado (PMS 1485 RGB #ffb777) |  | Radial | Algodonoso, con abundantes acérvulos (Acosta, 2022 pp. 52-58). | | |

A1 y A2: Anverso; B1 y B2: Reverso; C1 y C2: Lente 40x; PMS: Codificación mediante la Escala de Pantone.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.4.6 *Alternaria grandis*

Tabla 39-4: Características morfológicas de *Alternaria grandis*

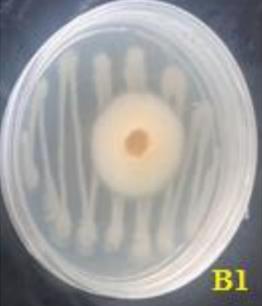
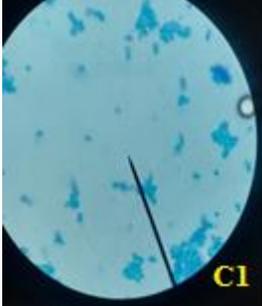
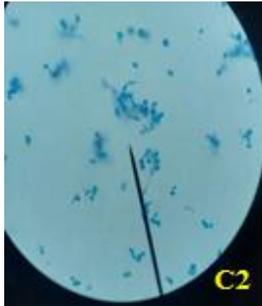
| | | <i>Alternaria grandis</i> (PDA) | | | | | | | |
|----|-------------|--|--|---|---|-----------|--|---|--|
| R | Crecimiento | Características macroscópicas | | | | Forma | Micelio | Características microscópicas | |
| | | Anverso | Reverso | | | | | | |
| R1 | Moderado | Crema (PMS 461 RGB #ede5ad) |  | Blanco (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | Radial | Poco algodonoso, plano, hialino (Woudenberg, et al., 2014). | No se encontraron la presencia de conidios bien desarrollados, presencia de hifas, con conidios pequeños, de un septo o célula (Rodrigues, et al., 2010, p. 28). |  |
| R2 | Moderado | Crema (PMS 461 RGB #ede5ad) |  | Blanco (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | No radial | Poco algodonoso, plano, hialino | | |
| R3 | Moderado | Blanco – crema (PMS 461 RGB #ede5ad) |  | Blanco (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | No radial | Poco algodonoso, plano, hialino | | |
| C1 | Moderado | Gris, anaranjado (PMS 434 RGB #e0d1c6) |  | Café anaranjado (PMS 160 RGB #9e540a) |  | Radial | Denso algodonoso, con pigmento difusible naranja, borde ondulado (Woudenberg, et al., 2014). | Conidias muriformes catenuladas, las conidias forman cadenas, de 5 a 7 septos o células. Presenta hifas y conidias de color marrón claro a oscuro (Rodrigues, et al., 2010, p. 28). |  |
| C2 | Moderado | Gris, anaranjado (PMS 434 RGB #e0d1c7) |  | Café anaranjado (PMS 160 RGB #9e540a) |  | Radial | Denso algodonoso, con pigmento difusible naranja, borde ondulado | | |
| C3 | Moderado | Gris, anaranjado (PMS 434 RGB #e0d1c8) |  | Café anaranjado (PMS 160 RGB #9e540a) |  | Radial | Denso algodonoso, con pigmento difusible naranja, borde ondulado | | |

A1 y A2: Anverso; B1 y B2: Reverso; C1 y C2: Lente 40x; PMS: Codificación mediante la Escala de Pantone.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.1.4.7 *Moniliophthora roreri*

Tabla 40-4: Características morfológicas de *Moniliophthora roreri*

| <i>Moniliophthora roreri</i> (PDA) | | | | | | | | |
|------------------------------------|-------------|---|---|---|---|--|---|---|
| Características macroscópicas | | | | | | | | |
| R | Crecimiento | Anverso | Reverso | Forma | Micelio | Características microscópicas | | |
| R1 | Lento | Café claro (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  A1 | Blanco (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  B1 | No radial Masa conidial poco pulvurenta, hialina (Gómez, y otros, 2022 pág. 4). | Presenta conidias hialinas; de igual forma, las esporas globosas (Suárez, 2006, p. 6). |  C1 |
| R2 | Lento | Café claro (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | Blanco (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | No radial Masa conidial poco pulvurenta, hialina | | |
| R3 | Lento | Café claro (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | Blanco (PMS 4545 RGB #e5dbba) |  | No radial Masa conidial poco pulvurenta, hialina | | |
| C1 | Moderado | Café claro – crema (PMS 467 RGB #ddcca5) |  A2 | Crema – naranja (PMS 148 RGB #ffd69b) |  B2 | Radial Masa conidial pulvurenta, algodonosa, denso (Gómez, y otros, 2022 pág. 4). | Presenta conidias globosas, hifas y conidias hialinas; de igual forma, las esporas son subglobosas, globosas, y elípticas (Suárez, 2006, p. 6). |  C2 |
| C2 | Moderado | Café claro – crema (PMS 467 RGB #ddcca6) |  | Crema – naranja (PMS 148 RGB #ffd69b) |  | Radial Masa conidial pulvurenta, algodonosa, denso | | |
| C3 | Moderado | Café claro – crema (PMS 467 RGB #ddcca7) |  | Crema – naranja (PMS 148 RGB #ffd69b) |  | Radial Masa conidial pulvurenta, algodonosa, denso | | |

A1 y A2: Anverso; B1 y B2: Reverso; C1 y C2: Lente 40x; PMS: Codificación mediante la Escala de Pantone.

Realizado por: Cepeda, Ronald, 2023.

4.2 Discusión

De acuerdo a Pedraza, et al. (2020, p. 114) el uso de *Bacillus subtilis* ha demostrado ser capaz de controlar diversos hongos fitopatógenos, por lo cual, el principal uso que se le da a esa bacteria es como microorganismo antagonico para las principales enfermedades fúngicas.

En lo referente a la variable del porcentaje de inhibición de micelio por el método dual, se presentó diferencias altamente significativas en los tratamientos, verticalmente *Moniliophthora roreri* correspondiente al tratamiento T7, fue en el que mayor porcentaje se obtuvo con el 61,85 %, con reducciones en su tasa de crecimiento de 4,2 mm/día, coincidiendo con investigaciones de Suárez y Rangel (2013, pp. 370-378) en donde *Bacillus* (BZ005) inhibió a este hongo con porcentajes cercanos a 89%. Se debe mencionar que, los demás tratamientos obtuvieron porcentajes por sobre el 20%, excepto la cepa de *Aspergillus* spp., que obtuvo el 0,00 % de inhibición.

De igual forma, la inhibición horizontal fue mayor para el T7 con un 27,43 %, los demás tratamientos presentaron valores por debajo del 15 %. El principal modo de acción de *Bacillus subtilis* es por antibiosis, es decir, mediante la producción de antibióticos como las iturinas, fengicinas y surfactinas como lo menciona Caulier, et al. (2019, p. 302), lo que indica el elevado potencial antagonista de *Bacillus subtilis* frente a algunas cepas de hongos fitopatógenos. De acuerdo a Villarreal, et al. (2018, pp. 95 -130), la razón detrás de esto puede ser la variedad de metabolitos generados por *Bacillus*, los cuales tienen efectos antifúngicos y pueden incluir antibióticos, lipopéptidos, sideróforos y enzimas líticas.

En estudios realizados por Leyva, et al. (2017, pp. 229-236) mencionan que el porcentaje de inhibición de *Bacillus subtilis* frente a *Fusarium oxysporum* raza 1 es de 63,47%, mencionando que en esta investigación la cepa de *Bacillus subtilis* no produjo volátiles. Además, en estudios realizados por De Dios Ávila (2020, p. 6) mencionan que en ensayos *in vitro* de *Bacillus subtilis* contra *F. oxysporum* mostraron inhibiciones de 33,2 % a 56,33 % con reducciones en la tasa de crecimiento de 7.33 mm/día, siendo superior al de nuestra investigación, la cual presentó inhibición de micelio del 22,47 %, con reducciones en su tasa de crecimiento de 1,4 mm/día.

De igual forma, en el mismo estudio, *B. subtilis* mostró inhibiciones superiores al 63,24 % sobre *Colletotrichum* sp., observándose una reducción en la tasa de crecimiento micelial de 10,47 mm/día al confrontarse con el aislado Bs-11 de *B. subtilis*, siendo estos datos superiores a los encontrados en nuestra investigación, ya que en *Colletotrichum* spp., la inhibición fue de 28,07 %, con una reducción en la tasa de crecimiento de 0,9 mm/día.

Hernández, et al. (2010, pp. 181-189) mencionan que las cepas bacterianas autóctonas de ciertos ecosistemas pueden tener una mayor eficacia como agentes de biocontrol y PGPB, en comparación con las cepas exóticas. Además, Cruz, et al. (2016, pp. 53-61) afirman que es preferible utilizar antagonistas microbianos nativos en lugar de aquellos aislados de otros ambientes, ya que las autóctonas están adaptados a condiciones específicas de su hábitat, mostrando más eficacia.

En cuanto al método de compuestos volátiles se presentó diferencias altamente significativas en los tratamientos, siendo el tratamiento T7 correspondiente a *Moniliophthora roreri* el que mayor porcentaje de inhibición obtuvo, tanto vertical como horizontal por sobre el 40%, con una reducción de la tasa de crecimiento de 3,33 a 3,37 mm/día, siendo valores inferiores a los encontrados por Vera (2021, pp. 65-68), en donde *Bacillus subtilis* produjo porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de *M. roreri* aislado de mazorcas del clon de cacao EET-103 tipo Nacional, con valores superiores al 62,5 %.

De igual forma, seguido por el tratamiento T5 correspondiente a *Neopestalotiopsis* sp., con un porcentaje de inhibición del 20 al 35 %, con reducción en su tasa de crecimiento de 4,10 a 4,30 mm/día, esto debido a lo señalado por Tahir (2017, pp. 1-15), el cual menciona que la emisión de compuestos volátiles en cepas de *Bacillus* spp., tienen la capacidad para inhibir el crecimiento micelial de agentes fitopatógenos. En donde, según Pedraza, et al. (2020, p. 114) mencionan que, los VOCs que han mostrado tener actividad microbiana pueden ser el benzotiazol, el benzaldehído, el fenilacetaldehído y el 2,3-butanodiol, de igual forma, Arrebola, et al. (2010, pp. 122-128) señala que, la 3-hidroxi-2-butanona (acetoína) es la cetona predominante producida por *Bacillus subtilis* PPCB001 es en un 45,98 %.

Mientras tanto, los demás tratamientos obtuvieron porcentajes menores al 25 %, con reducciones en la tasa de crecimiento de 0,5 a 1,2 mm/día. Cabe destacar que no se encontró inhibición en *Penicillium* spp. (T4) y *Aspergillus* spp. (T2), es decir, con un porcentaje del 0,00%, lo que difiere de lo reportado por Arrebola, et al. (2010, pp. 122-128), quienes encontraron un porcentaje de inhibición de hasta el 73% en especies de *Penicillium* spp., cuando se utilizaron compuestos volátiles de cepas de *Bacillus* como *Bacillus subtilis* PPCB001 o *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004, o una combinación de ambas.

Los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas en el método de compuestos volátiles (4 días), siendo *Colletrotichum* spp., el que presentó el mayor porcentaje de inhibición con un 31%, lo que resultó en una reducción de la tasa de crecimiento de 0,8 mm/día y un

crecimiento lento, tal como lo señaló Gómez (2018). Además, según Arrebola (2010, pp. 122-128), los efectos antifúngicos de los volátiles aumentan a medida que mayor es el tiempo de exposición.

Los demás tratamientos obteniéndose valores inferiores comparado con los otros métodos, tanto vertical y horizontal, es decir, valores por debajo del 22 % en todos los tratamientos, con una reducción de la tasa de crecimiento hasta de 1,8 mm/día, ha esto menciona Suarez et al. (2010, pp. 14-23), cuando el hongo ya está desarrollado, es decir, tiene ventaja de crecimiento es más complicado controlar mediante la utilización de microorganismos, en este caso *Bacillus subtilis*. Se debe recalcar que el tratamiento que corresponde a *Aspergillus* spp., no se produjo inhibición por ninguno de los métodos, según, Martínez (2013, p. 130) las especies de *Aspergillus* tienen la capacidad para producir micotoxinas las cuales provocan mayor resistencia al control por microorganismos.

En la inhibición de esporas, el tratamiento T6 perteneciente a *Alternaria grandis* presentó el porcentaje más alto con el 86,13 %, debido a la dificultad de esporulación de este hongo, como lo menciona Woudenberg, et al. (2014, pp. 1-47); seguido por el tratamiento de *Moniliophthora roreri* que obtuvo el 63,05 % coincidiendo con resultados obtenidos por Vera (2021, pp. 67) quienes obtuvieron valores de inhibición de la esporulación superiores al 60,85 %.

Mientras tanto, los Tratamientos T4, T3, T1 y T5 mostraron valores de inhibición entre el 25 y 60 %, en donde, Guato, et al. (2019, pp. 393-402) mencionan que, la producción de enzimas hidrolíticas degradan la membrana citoplasmática de hongos filamentosos y esto reduce la esporulación de los hongos. Mientras tanto que, el tratamiento T2 correspondiente a *Aspergillus* presentó una inhibición casi nula del 2,32%.

En trabajos de Guato, et al. (2019, pp. 393-402) se ha demostrado que la inclusión de *B. subtilis* en ensayos *in vitro* puede disminuir de manera significativa el número de conidios en *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* con una eficacia superior al 90%. Además, en investigaciones realizadas en *M. roreri*, se observó que la presencia de *Bacillus subtilis* logró inhibir las esporas con una efectividad superior al 90%.

En cuanto a las características morfológicas cabe mencionar que, en la mayoría de los tratamientos con *Bacillus subtilis* se produjeron cambios, ya sea macroscópicos o microscópicos, a excepto de *Aspergillus* spp., en el cual, no provocó ninguna alteración. En los demás tratamientos los cambios fueron notorios, ya sea en el color, en la forma de crecimiento, o de igual manera, en el micelio, que según Caulier, et al. (2019, p. 302) esto se debe a la producción de encimas líticas como las

quitinasas y las β -glucanasas que ayudan a la degradación de los principales polisacáridos de la pared celular de los hongos, mediante la hidrólisis de sus enlaces glucosídicos. De igual forma, Villarreal, et al. (2018, pp. 95 -130) mencionan que, la producción de lipopéptidos provocan la formación de poros y de tal forma, un desequilibrio osmótico en la membrana citoplasmática.

En las características microscópicas, en la mayoría de los tratamientos se dificulta la esporulación de los hongos como lo menciona Guato, et al. (2019, pp. 393-402). En estudios de Leyva, et al. (2017, pp. 229-236) señalan que los cambios en la morfología de las hifas de *Fusarium oxysporum* sugieren la presencia de compuestos extracelulares con actividad de enzimas líticas o propiedades antibióticas. Además, Sharifi y Ryu (2016, pp. 1-10) demostraron que los metabolitos volátiles de *Bacillus* sp., tienen la capacidad de producir cambios en la pigmentación de hongos como *F. oxysporum* y *Botrytis cinerea*.

En los cultivos puros de *Fusarium oxysporum* se observó un crecimiento radial con micelio algodonoso y aéreo, con un color crema claro en el reverso y blanco con el centro morado en el anverso, lo cual concuerda con lo reportado por Díaz (2019, p. 31). En cuanto a las características microscópicas, se evidenció la presencia de microconidios abundantes formando conidióforos ramificados y macroconidios con 2 a 3 septos, lo cual coincide con trabajos de (Lema, 2022, p. 33).

En los cultivos puros de *Aspergillus* spp. se observó un color café oscuro en el anverso y crema claro en el reverso con pigmento difusible naranja, con un micelio algodonoso y textura polvorienta, tal como lo reportado por Aristizábal (2022, p. 16), y también coincide con los hallazgos de Chango (2019, p. 29) que describió un halo de color café. En cuanto a las características microscópicas, se observó la presencia de conidióforos uniseriados, con numerosos conidios sobre los filídes, lo cual coincide con lo reportado por Rangel (2019, p. 48).

En los cultivos puros de *Colletotrichum* spp., se observó un color blanco con masas conidiales naranjas en el anverso y crema con pigmento difusible naranja en el reverso, lo cual coincide con los resultados reportados por Rojo et al. (2017, pp. 549-570). En cuanto a las características microscópicas, se observaron setas y acérvulos, con la presencia de conidios unicelulares de paredes lisas y sin septos, con una parte central ligeramente curvada y paredes paralelas, lo cual coincide con lo reportado por Ramírez (2019, p. 341).

Mientras tanto, en los cultivos puros de *Penicillium* spp., se observó un color blanco verdoso en el anverso y crema en el reverso, con micelio de textura plana, de acuerdo con lo reportado por Villón y Paredes (2022, pp. 16-18). En cuanto a las características microscópicas, se obtuvieron

resultados similares a los informados por Andino, et al. (2021 pág. 31) en aislados provenientes de granos de quinua, donde se observaron conidióforos con métulas de forma cilíndrica y paredes lisas, con 4 a 6 fiálides, a partir de las cuales se forman largas cadenas sin ramificar de esporas o conidios que forman el penacho o pincel.

En los cultivos puros de *Neopestalotiopsis* sp., se observó un color blanco en el anverso y cremoso naranja en el reverso, coincidiendo con lo reportado por Acosta (2022, pp. 52-58). Además, Intriago, et al. (2021, p. 522) describen características como un micelio algodonoso con abundantes acérvulos. En cuanto a las características microscópicas, se observaron abundantes conidios con 2 a 4 apéndices basales y un apéndice apical tal como lo mencionado por Acosta (2022, pp. 52-58), con un color café oscuro a marrón en los septos intermedios (Intriago, et al., 2021, p. 522).

Los cultivos puros de *Alternaria grandis* coinciden con los resultados obtenidos por Woudenberg, et al. (2014, pp. 1-47), quienes observaron una textura algodonosa, abundante y densa, con tonalidades que variaron entre blanco-gris y gris anaranjado. En cuanto a las características microscópicas, se evidenció la presencia de conidias muriformes catenuladas, que se organizan en cadenas de 5 a 7 células o septos. Además, se observaron hifas y conidias de color marrón claro a oscuro, de acuerdo con lo reportado por Rodrigues, et al. (2010, p. 28).

En los cultivos puros de *Moniliophthora roreri*, se observó un color café claro a crema en el anverso y crema naranja en el reverso, coincidiendo con lo reportado por Romero (2018, p. 53). De igual forma, se coincide con Gómez et al. (2022 pág. 4) que describen un crecimiento radial con masa conidial algodonosa densa y polvorienta. En cuanto a las características microscópicas, se coincide con lo reportado por Gómez et al. (2022 pág. 6), donde se observaron conidias globosas, hifas y conidias hialinas, así como esporas subglobosas, globosas y elípticas.

4.3 Comprobación de la hipótesis

Una vez que se llevó a cabo el estudio, se verificó que la hipótesis alterna se cumple. Es decir, se demostró que *Bacillus subtilis* F. Cohn ejerció antagonismo, al menos, contra uno de los siete hongos fitopatógenos.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- *Moniliophthora roreri* tuvo el mayor porcentaje de inhibición con un 61,85% vertical y un 27,43% horizontal en el método dual, y más del 40% en volátiles. Los demás tratamientos mostraron porcentajes de inhibición menores al 50% en el método dual, siendo inhibición media; mientras que, en el método de compuestos volátiles, la inhibición fue menor al 25%. En cuanto al método de compuestos volátiles (2 etapa crecimiento) el único tratamiento por sobre el 25% fue *Colletotrichum* spp. La cepa de *Aspergillus* spp., mostró el menor porcentaje de inhibición en todos los métodos empleados.

- *Alternaria grandis*, *Moniliophthora roreri* y *Penicillium* spp., tuvieron los mayores porcentajes de inhibición de esporulación, con el 86,14 %, 63,06 % y 59,23 % respectivamente, lo que indica una inhibición alta, es decir, mayor al 50%. Los hongos correspondientes a *Neopestalotiopsis* sp., y *Aspergillus* spp., tuvieron los menores porcentajes de inhibición con 24,9 % y 2,32 % respectivamente, indicando una inhibición baja, es decir, por debajo del 25%.

- Mediante la realización del estudio se determinó las características morfológicas de cada uno de los hongos fitopatógenos, concluyendo que *Bacillus subtilis* F. Cohn provoca cambios en las características, tanto macroscópicas como microscópicas debido al amplio número de sustancias y compuestos que son capaces de producir.

5.2 Recomendaciones

- Se recomienda no utilizar *Bacillus subtilis* con cepas de *Aspergillus* spp., debido a que, en condiciones in vitro, no provoca inhibición del crecimiento micelial y de igual forma, no inhibe la esporulación.

- Realizar estudios en campo con cepas de *Moniliophthora roreri*, *Alternaria grandis* y *Neopestalotiopsis* sp., que fueron a las que causa mayor inhibición, y de esta forma, poder utilizar como un método seguro y efectivo para el control de diversas enfermedades fúngicas que atacan a los cultivos.

BIBLIOGRAFÍA

ABARCA, Lourdes. “Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial”. *Revista Iberoamericana de Micología*, vol. 17 (2000), (España), pp. 79 - 84.

ACOSTA, Uriel. Caracterización de aislamiento de *Neopestalotiopsis* spp., y efecto de fungicidas en pre y post-infección en el cultivo de fresa (Trabajo de titulación). (Doctorado) Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola, Texcoco, México. 2022. pp.133.

AGUILAR, René; et al. “Hongos asociados a la necrosis de haces vasculares en el cultivo de banano orgánico: síntomas, aislamiento e identificación, y alternativas de manejo integrado”. *Scientia Agropecuaria*, vol. 12, n° 2 (2021), (Perú) pp. 249-256.

ANDINO, Liseth; & RENÉ, Fausto. Evaluación *In vitro* de la actividad antagonista de las bacterias ácidas lácticas aisladas de alimentos fermentados sobre *Penicillium* sp., y *Aspergillus* sp., de granos de quinua [En línea] (Trabajo de titulación). (Bioquímico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Riobamba, Ecuador. 2021. pp. 106. [Consulta: 2023-03-04] Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/15411>

ARREBOLA, Eva; et al. “Efecto de compuestos volátiles producidos por cepas de *Bacillus* sobre la pudrición poscosecha en cítricos”. *Biological Control* [En línea], 2010, (España) 53(1), pp. 122-128. [Consulta: 05 marzo 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.11.010>

ARISTIZÁBAL, Mariana. Caracterización morfológica y molecular de *Aspergillus* sección *Fumigati*, obtenidos del cepario del grupo Biología Celular y Molecular CIB-UdeA en Medellín [En línea] (Trabajo de titulación). (Doctorado) Universidad de Antioquia, Escuela de Microbiología, Medellín, Colombia. 2022. pp. 29. [Consulta: 2023-03-04] Disponible en: <https://hdl.handle.net/10495/31866>

ARMENIA, Gurrola. Actividad antifúngica de extractos con metabolitos secundarios de semilla de *Moringa Oleifera* Lam., para el control *in vitro* de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Sonora, México. 2005. pp. 86. [Consulta: 2022-11-19]. Disponible en:

https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/825/1/Velazquez-Gurrola%20A_MC_2005.pdf

BARZOLA, SONIA.; et al. “La prevalencia de *Aspergillus* spp., y aflatoxinas en *Zea mays* L.(maíz) almacenado en silos, en Ecuador” *Revista publicando* [En línea], 2016, (Ecuador) 3(7), pp. 189 - 202. [Consulta: 27 Febrero 2023]. ISSN 1390-9304. Disponible en: https://revistapublicando.org/revista/index.php/crv/article/view/89/pdf_127

BERRUEZO, Lorena. Caracterización morfológica, biológica y molecular de los complejos *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani* asociados al cultivo de *Nicotiana tabacum* L. en el Noroeste Argentino [En línea] (Trabajo de titulación). (Doctoral). Universidad Nacional de Salta, Buenos Aires, Argentina, 2018. pp. 168. [Consulta: 2023-02-27] Disponible en: <http://hdl.handle.net/11336/80238>

BESSADAT, N, et al. “Primer Reporte de Tizón Temprano del Tomate Causado por *Alternaria grandis* en Argelia. *The American Phytopathological Society* [En línea], 2016, (United State of America) 100(2), pp. 533. [Consulta: 01 marzo 2023]. ISSN 1943-7692. Disponible en: <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-15-0613-PDN>

CALS. *Bacterial Endospores*. [Blog] 2016. [Consulta: 25 Febrero 2023]. Disponible en: <https://cals.cornell.edu/microbiology/research/active-research-labs/angertlab/epulopiscium/bacterial-endospores>.

CAULIER, S, et al. “Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group”. *Frontiers in Microbiology*. vol. n° 10 (2019), (United State of American) pp. 302-302.

CHAMORRO, M; et al. “First report of root and Crown rot caused by *Pestalotiopsis clavispora* (*Neopestalotiopsis clavispora*) on Strawberry in Spain”. *Plant Dis* [En línea], 2016, (Spain) 100(7), pp. 1495. [Consulta: 28 febrero 2023]. ISSN 0191-2917. Disponible en: <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-15-1308-PDN>

CHANGO, CARLOS EFRAÍN. Caracterización morfológica y molecular de hongos asociados a la rizósfera de plantas de café en la isla Santa Cruz–Galápagos (Trabajo de titulación). (Ingeniero) Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas, Quito, Ecuador.

2019. Pp. 99. [Consulta: 2023-03-07]. Disponible en:
<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/18721>

COBO, Carlos. Evaluación de medios de cultivo líquidos para la multiplicación de la bacteria *Bacillus subtilis* [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad San Francisco de Quito USFQ, Quito, Pichincha, Ecuador, 2017. pp. 1-52. [Consulta: 2023-02-27]. Disponible en:
<http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/6598>

COHN, Ferdinand Julius. “Untersuchungen über Bakterien”. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, vol. 1 (1872), (Alemania) pp. 127-224.

CORRALES, Lucia, et al. “Efecto biocontrolador de *Bacillus* spp., frente a *Fusarium* sp., bajo condiciones de invernadero en plantas de Tomillo (*Thymus vulgaris* L.). *NOVA*, vol. 10, nº 17 (2012), (Cuba) pp. 64 - 82.

CRUZ MARTÍN, M; et al. “Diversidad de cepas bacterianas de la filosfera de *Musa* spp., con actividad antifúngica frente a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet”. *Bioteología Vegetal*, vol. 16, nº 1 (2016), (Cuba) pp. 53–61

DATABIO. *Penicillium* spp. [Blog]. Unión Europea: 2016. [Consulta: 03 Marzo 2023]. Disponible en:
<https://www.insst.es/documents/94886/353749/Penicillum+spp+2017.pdf/57121544-91574bbe-a6eb-b394c83bf9e1.913634100>.

DE DIOS ÁVILA, N; et al. “Identificación y actividad antagonica *in vitro* de aislados de bacterias contra hongos de importancia agrícola”. *Revista bio ciencias* [En línea], 2020, (México) 7, pp. 1-12. [Consulta: 06 marzo 2023]. ISSN. 2007-3380. Disponible en:
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200733802020000100317&lng=es&nrm=iso

DELGADO, Ricardo., & PEREZ, Gabriela. Características biológicas de *Penicillium digitatum*, *P. italicum* y *P. ulaiense* en postcosecha de Citrus [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniero) Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay. 1997. pp. 5-7. [Consulta: 2023-03-03]. Disponible en:
<https://www.researchgate.net/publication/303752626>

DÍAZ, YOHANA LISSET. Aislamiento y caracterización de cepas nativas de *Bacillus* spp y *Trichoderma* spp de la rizósfera de cafeto con potencial antagonista frente a *Fusarium oxysporum* del valle de Monzón – Huánuco-Perú (Trabajo de titulación). (Bióloga Microbióloga) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología, Lima, Perú. 2019. pp. 102. [Consulta: 2023-03-07]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/10188>

EPPO. *Fusarium* [blog]. [Consulta: 28 Febrero 2023]. Disponible en: <https://gd.eppo.int/taxon/1FUSAG>

ESCOBAR, Germán. “La relevancia de la agricultura en América Latina y el Caribe”. *Revista Nueva Sociedad*, vol. 2, nº 1 (2016), (América Latina), pp. 1 - 22.

EVANS, H. C.; et al. “Phylogeny of the frosty pod rot pathogen of cocoa”. *Plant pathology* [En línea], 2003 (Reino Unido) 52(4), pp. 476-485. [Consulta: 01 marzo 2023]. ISSN 1365-3059. Disponible en: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00867.x>

FAO; et al. Panorama de la seguridad alimentaria y nutrición en América Latina y el Caribe [en línea], 2020, (Santiago de Chile). [Consulta: 20 enero 2023]. ISBN 9789251336656. Disponible en: <https://www.fao.org/3/cb2242es/cb2242es.pdf>

GÓMEZ, Eyder Daniel. Caracterización morfológica, molecular, bioquímica de hongos y bacterias asociados a piñuela *Bromelia karatas* L. en los municipios de Patia y Mercaderes Cauca [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Colombia. 2018. pp. 90

GÓMEZ, Jubram José; et al. “Aislamiento y caracterización del hongo *Moniliophthora roreri* (Cif) H.C. Evans, Stalpers, Samson & Benny. (1978). de frutos de *Teobroma cacao* L”. *Revista Torreón Universitario* [En línea], 2022, (Nicaragua) 11 (32) pp. 8. [Consulta: 2023-03-04]. ISSN 2313-7215. Disponible en: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/387/3873452006/html/>

GUATO, JEFFERSON; et al. “Bacterias promotoras del crecimiento en plantas con potencial agente biocontrolador a *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, y *Moniliophthora roreri*”. *Scientia Agropecuaria* [En línea], 2019, (Perú) 10(3), pp. 393-402. [Consulta: 07 marzo 2023]. ISSN 2077-9917. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172019000300010&script=sci_abstract

GUEVARA, J. L. Evaluación de la presencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* en el cultivo de frutilla *fragaria ananassa* duch. Mediante indicadores morfológicos, bioquímicos y moleculares en las parroquias de Checa, el Quinche, Pifo, Puembo, y Yaruquí. (Trabajo de titulación) Universidad Estatal de Bolívar, Guaranda, 2015.

HERNANDEZ, Ana Niurka; et al. “Uso de Microorganismos Antagonistas en el Control de Enfermedades Postcosecha en Frutos”. Rev. Mexicana de fitopatología [En línea], 2007, (México) 25(1), pp. 66-74 [Consulta: 03 marzo 2023]. ISSN 2007-8080. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092007000100009&lng=es&nrm=iso

HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ, A; et al. “Identificación de aislamientos autóctonos de *Pseudomonas fluorescentes* con actividad antagónica ante *Curvularia* spp”. *Revista Protección Vegetal*, vol. 25, nº 3 (2010), (México) pp. 181-189.

HIDROVO, Jousy Anahí. Evaluación morfológica y de patogenicidad del hongo *Neopestalotiopsis* como agente causal de la pudrición de corona en frutillas (*Fragaria x ananassa*) variedad Albión [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador. 2020. pp. 20-25. [Consulta: 2023-02-28] Disponible en: <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/9758/1/131917TSR.pdf>

INTRIAGO, Hamilton Octavio; et al. “Brotos de pudrición de la corona en *Fragaria x ananassa* causados por *Neopestalotiopsis mesopotamica* en Ecuador”. *Emirates Journal of Food and Agriculture* [En línea]. 2021, (Ecuador) 33(6), pp. 520-527. [Consulta: 28 febrero 2023]. Disponible en: <https://www.ejfa.me/index.php/journal/article/view/2718/1476>

JOHNSON, J; et al. “Manual de manejo y producción del cacaotero”. *Manual* [En línea], 2008, (Nicaragua) pp. 40. [Consulta: 25 febrero 2023]. Disponible en: <http://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENF01J71.pdf>

KUMAR, A.; ET AL. *Bacterias in Agrobiology* [en línea]. Heidelberg-Alemania: Crop Ecosystems & Springer, 2011. [Consulta: 20 Febrero 2023]. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-642-18357-7_2

LAYTON, C, et al. “*Bacillus* spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos”. *NOVA* [en línea], 2011, (Colombia) 9(15), pp. 177 - 187. [Consulta: 02 diciembre 2023]. ISSN 1794-2470. Disponible en: <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/nova/article/view/501/1061>

LEÓN, D.C; et al. “Actividad fungicida de compuestos orgánicos volátiles de la bacteria *Paenibacillus* contra *Colletotrichum gloeosporioides*”. *Revista Colombiana de Química* [En línea], 2020, (Colombia) 49(1), pp. 20-25. [Consulta: 18 Noviembre 2022]. ISSN 0120-2804. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042020000100020&lng=en&nrm=iso

LEMA, Eduardo Mauricio. Capacidad antagonica “*in vitro*” de *Bacillus* spp., frente a *Fusarium* sp [en línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniero) Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas, Quito, Ecuador. 2022. pp 1-92. (Consulta: 2023-01-25). Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/27394/5/FAG-CIA-LEMA%20EDUARDO.pdf>.

LEYVA RODRÍGUEZ, L; et al. “Antagonismo in vitro de cepas de *Bacillus* spp., frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*”. *Bioteología Vegetal* [En línea], 2017, (Cuba) 17(4), pp. 229-236. [Consulta: 06 marzo 2023]. ISSSN. 2074-8647. Disponible en: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/565>

LOMBARD, L, et al. “Epitypification of *Fusarium oxysporum* – clearing the taxonomic chaos”. *Persoonia* [En línea], 2019, 43(1), pp. 1 - 47. [Consulta: 27 Febrero 2023]. ISSN 1878-9080. Disponible en: <https://doi.org/10.3767/persoonia.2019.43.01>

MAHARACHCHIKUMBURA, S, et al. “*cha* revised”. *Studies in Mycology* [En línea], 2014, (United State of America), 79(1), pp. 121-186. [Consulta: 28 Febrero 2023]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.005>

MANNERS, J, et al. *Gene transfer and expression in Colletotrichum gloeosporioides causing Anthracnose on Stylosanthes*. San Pablo-United State of America: American Phytopathological Society, 2000.

MARTÍNEZ BENÍTEZ, Eva. Estudio de especies micotoxígenas del género *Penicillium*: *Penicillium verrucosum* Dierckx [En línea] (Trabajo de titulación). (Doctorado) Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España. 2003. pp. 3-16. [Consulta: 2023-03-03] Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5598/emb1de1.pdf?sequence=1>

MARTÍNEZ, Hadassa Yuf.; et al. “El Género *Aspergillus* y sus Micotoxinas en Maíz en México: Problemática y Perspectivas”. *Revista Mexicana de Fitopatología* [En línea], 2013, (México) 31(2), pp.126-146. [Consulta: 27 Febrero 2023]. ISSN 2007-8080. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018533092013000200005&lng=es&nrm=iso

MAUGHAN, H.; & VAN DER AUWERA G. “*Bacillus* taxonomy in the genomic era finds phenotypes to be essential though often misleading”. *Infection, Genetics and Evolution* [En línea], 2011 (United State of America) 11(5), pp. 789-797. [Consulta: 27 Diciembre 2022]. ISSN 1567-1348. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567134811000268?via%3Dihub>

MEDINA, M. “La revista profesional de campo”. *Agro Excelencia*, nº 31, (2020), (México) pp. 21.

MOZÓN.; & RODRÍGUEZ. “Infecciones causadas por el género *Fusarium*”. *Control Calidad SEIMC*, vol. 3 (2013), pp. 1 - 6.

PANTONE. *Pantone color guide* [blog]. 2020. [Consulta: 05 marzo 2023]. Disponible en: <https://www.pantone.com/color-guide>

PEDRAZA, Luz; et al. “Mecanismos de acción de *Bacillus* spp. (Bacillaceae) contra microorganismos fitopatógenos durante su interacción con plantas”. *Acta Biológica Colombiana* [en línea]. 2020, (Colombia) 25(1), pp.112-125. [Consulta: 25 febrero 2023]. ISSN 0120-548X. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2020000100112&lng=en&nrm=iso

PEREA, Margarita.; et al. *Cultivo de tejidos vegetales in vitro: manual de prácticas de laboratorio*. [En línea] Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 2009. [Consulta: 27 febrero 2023]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/79882>

PÉREZ, Libia; et al. “Caracterización morfológica y patogénica de *Colletotrichum* sp., como agente causal de la antracnosis en ñame *Dioscorea* sp”. *Revista Colombiana de Biotecnología* [En línea], 2003, (Colombia) 1(1), pp. 23 - 35. [Consulta: 03 marzo 2023]. ISSN 0123-3475. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77650104>

PIETERSE, C; et al. “Resistencia sistémica inducida por microorganismos benéficos”. *Annual review of phytopathology*, vol. 52 (2014), (United State of America) pp. 347 - 375.

PITT, JI; & HOCKING, AD. *Fungi and food spoilage*. 2ªed. Reino Unido: Chapman and Hall. 1997, pp. 593.

RAMÍREZ, Hilda Elisa. “Inhibición de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Botrytis cinerea* con extractos de *Guazuma ulmifolia* Lam”. *Revista Mexicana de Fitopatología* [En línea], 2019, (México) 37(2), pp. 330-344. [Consulta: 2023-03-04]. ISSN 2007-8080. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092019000200009&script=sci_arttext

RANGEL, Erika Janet. Caracterización morfológica y molecular de aislados nativos de *Aspergillus flavus* eficaces para el control de la contaminación con aflatoxinas del ensilaje de maíz en Aguascalientes [En línea] (Trabajo de titulación). (Doctorado) Universidad Autónoma de Aguascalientes, México. 2019. pp. 130. [Consulta: 2023-03-04] Disponible en: <http://hdl.handle.net/11317/1710>

REBLOVÁ, M; et al. “*Monilochaetes* and allied genera of the *Glomerellales*, and a reconsideration of families in the *Microascales*”. *Studies in Mycology*, vol. 68, nº 1 (2011), (Países Bajos) pp. 163-191.

RESTREPO, Gloria María; et al. “Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica”. *Revista CENIC* [En línea], 2015, (Cuba) 46(1), pp. 63-76 [Consulta: 22 Febrero 2023]. ISSN: 0253-5688. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181238817006>

REUCK, D. “*Monilia* del cacao. ¿Una amenaza semejante a la escoba de bruja?”. *Revista Café & Cacao: Noticias*, vol. 2, nº 1, (1997), (Colombia) pp. 1-2.

RODRIGUES, TT; et al. “First report of *Alternaria tomatophila* and *A.grandis* causing early blight on tomato and potato in Brazil”. *New Disease Reports* [En línea]. 2010, (Brazil) vol. 22, pp. 28-28. [Consulta: 28 Febrero 2023]. Disponible en: https://www.ndrs.org.uk/pdfs/022/NDR_022028.pdf

RODRÍGUEZ, E; et al. “Análisis de la infección de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. de frutos de aguacatero”. *Revista Brasileira de Fruticultura* [En línea], 2013,

(Brasil) 35(3), pp. 898-905. [Consulta: 04 marzo 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000300029>

ROJO, Indira; et al. “Situación actual de *Colletotrichum* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control”. *Revista Mexicana de Fitopatología* [En línea], 2017, (México) 35(3), pp. 549 - 570. [Consulta: 04 marzo 2023]. ISSN 2007-8080. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092017000300549&lng=es&nrm=iso

ROMERO, RICARDO FERNANDO. Biodiversidad de ecotipos de *Moniliophthora roreri* en cacao (*Theobroma cacao*) clon ccn-51 y la actividad antagonista de PGPR (Trabajo de titulación). (Ingeniero) Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias, Quevedo, Ecuador. 2018. pp. 93. [Consulta: 2023-03-07]. Disponible en: <http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/3319>

SÁNCHEZ MORA, Fernando David.; & GARCÉS FIALLOS, Felipe Rafael. “*Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al. en el cultivo de cacao”. *Scientia Agropecuaria* [En línea]. 2012, (Perú) 3 (3), pp. 249-258. [Consulta: 01 marzo 2023]. ISSN 2077-9917. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=357633703006>

SHARIFI, Rouhallah; & RYU, Choong-Min. “Are Bacterial Volatile Compounds Poisonous Odors to a Fungal Pathogen *Botrytis cinerea*, Alarm Signals to *Arabidopsis* Seedlings for Eliciting Induced Resistance, or Both?”. *Frontiers in Microbiology* [En línea], 2016, (Suiza) 7, pp. 1-10. [Consulta: 07 marzo 2023]. ISSN 1664-302X. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00196>

SIMMONS, EG. 2000. “*Alternaria* themes and variations. Species on Solanaceae”. *Mycotaxon*, vol. 75, 1-115 (2000), (United State of America) pp. 244-286.

SCHOCH CL; et al. “NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools”. *The journal of biological databases and curation* [en línea]. 2020, (United Kingdom) [Consulta: 28 Febrero 2023]. baaa062. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/database/baaa062>

SUÁREZ BECERRA, GP; et al. “Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control”. *Revista Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos de la UDLAP*, vol. 4, n° 2 (2010), (México) pp. 14-23.

SUÁREZ, Liliana. “Aislamiento e identificación de *Moniliophthora roreri* causante de moniliasis en municipios del nororiente colombiano y ensayos preliminares para su control biológico”. *Respuestas* [En línea], 2006, (Colombia) 1 (1), pp. 3-8. [Consulta: 02 marzo 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.22463/0122820X.623>

SUÁREZ, Liliana., & RANGEL RIAÑO, Alba Luz. “Aislamiento de microorganismos para control biológico de *Moniliophthora roreri*”. *Acta agronómica* [En línea], 2013, (Colombia) 62(4), pp. 370-378. [Consulta: 05 marzo 2023]. ISSN. 0120-2812. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28122013000400011

TAPUY, Myrka Palmira. Evaluación de aislados de *Trichoderma* spp., sobre *Alternaria* sp., en el cultivo de pitahaya (*Selenicereus* sp.), en condiciones de invernadero (Trabajo de titulación). (Ingeniería). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Sede Orellana, Coca, Ecuador: 2022. pp. 6-8.

TAHIR, H; et al. “Los volátiles de *Bacillus* afectan negativamente a la fisiología y la ultraestructura de *Ralstonia solanacearum* e inducen resistencia sistémica en el tabaco contra bacterias”. *Scientific reports* [En línea], 2017, (Reino Unido) 7(1), pp. 1-15. [Consulta: 06 marzo 2023]. ISSN 40481. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/srep40481>

TEJERA, B; et al. “Antagonismo de *Bacillus* spp. frente a hongos fitopatógenos del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.)”. *Revista de Protección Vegetal* [en línea]. 2012, (Cuba) 27 (2), pp. 117 - 122. [Consulta: 21 Febrero 2023]. ISSN 1010-2752. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522012000200008&lng=es&nrm=iso.

TIUPUL, Paulo César. Anuario climatológico año 2011. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.

THOMMA, B. “*Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite”. *Molecular plant pathology* [En línea], 2003, (United State of America) 4(1), pp. 225-227. [Consulta: 28 febrero 2023]. DOI 10.1046/J.1364-3703.2003.00173.X. Disponible en: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.13643703.2003.00173.x>.

TORRES CORTÉS, G; et al. “Antagonism of *Bacillus* spp. against *Fusarium oxysporum* f. sp. radicis-lycopersici and their effects on tomato plants growth”. *Chilean Journal of Agricultural Research*, vol. 78, n° 2 (2018), (Chile) pp. 239-245.

VERA, MARÍA; et al. “Actividad Antifúngica de Compuestos Volátiles Producidos por *Bacillus* spp. sobre *Moniliophthora roreri*”. *Memorias del II Congreso de Control Biológico Aplicado* [En línea], 2021, (Ecuador) 36, pp. 65-68. [Consulta: 06 marzo 2023]. ISSN 978-9978-68-187-9. Disponible en: <http://archivosacademicos.usfq.edu.ec>

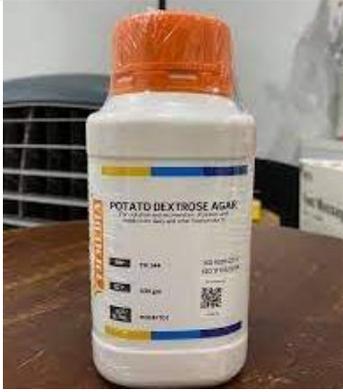
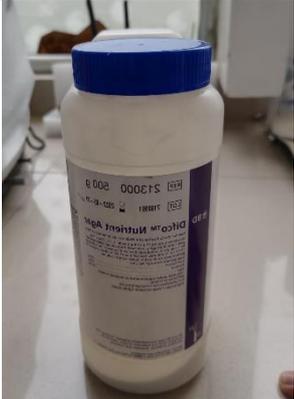
VILLARREAL, María; et al. 2018. “El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola”. *Revista Mexicana de Fitopatología* [en línea], 2018, (México) 36(1), pp. 95 - 130. [Consulta: 10 marzo 2023]. ISSN 2007-8080. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018533092018000100095&lng=es&nrm=iso

VILLÓN, Keiko.; & PAREDES, Karen. Estudio bibliográfico de la capacidad antimicótica del *Samanea saman* en especies de hongos fitopatógenos como *Penicillium citrinum* y *Alternaria brassicicola* [en línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniero) Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2022. pp. 16-18. [Consulta: 2023-03-03]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/58344>

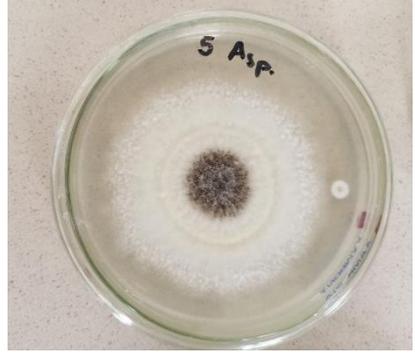
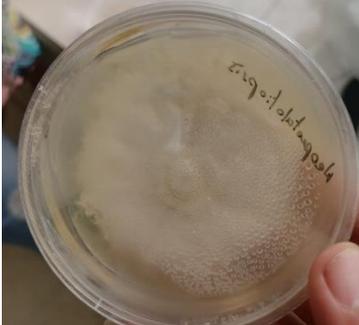
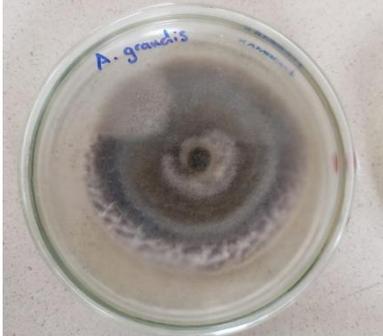
WOUDENBERG, J H; et al. “Large-spored *Alternaria* pathogens in section Porri disentangled”. *Studies in Mycology* [En línea], 2014, (United State of America) 79(1), pp. 1-47. [Consulta: 01 marzo 2023]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.simyco.2014.07.003>.

ANEXOS

ANEXO A: PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO

| | |
|---|--|
|  |  |
| Medio para el crecimiento de hongos (PDA) | Medio para el crecimiento de bacterias (AN) |
|  |  |
| Pesando el medio para la preparación | Medios listos para la incubación |
|  |  |
| Medios de cultivos preparado | Medio vertido en las cajas petri |

ANEXO B: CEPAS DE LOS HONGOS UTILIZADOS EN LA INVESTIGACIÓN

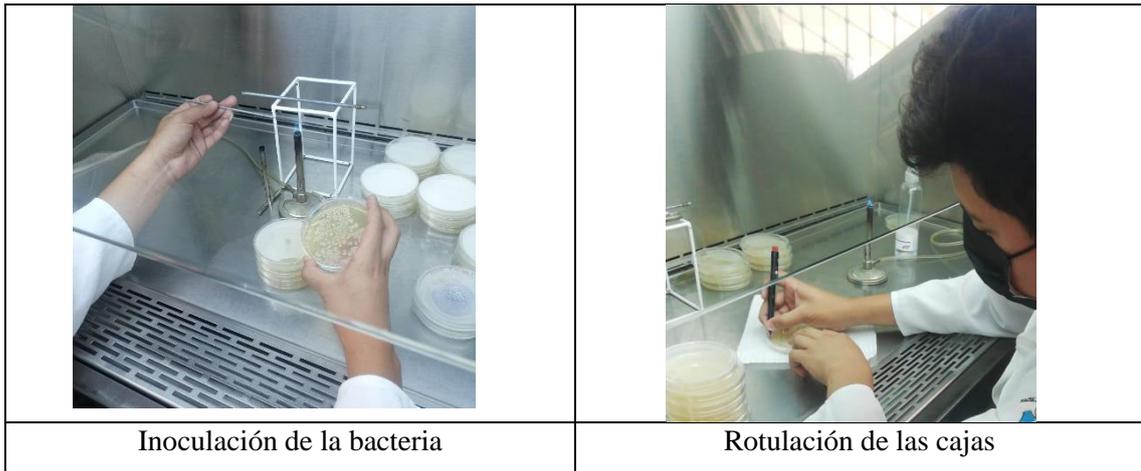
| | |
|--|--|
|  |  |
| <p><i>Fusarium Oxysporum</i></p> | <p><i>Aspergillus spp.</i></p> |
|  |  |
| <p><i>Colletotrichum spp.</i></p> | <p><i>Penicillium spp.</i></p> |
|  |  |
| <p><i>Neopestalotiopsis sp.</i></p> | <p><i>Alternaria grandis</i></p> |
|  | |
| <p><i>Moniliophthora roreri</i></p> | |

ANEXO C: REPIQUE DE HONGOS

| | |
|--|---|
|  |  |
| <p>Materiales a utilizar</p> | <p>Esterilización de los materiales</p> |
|  |  |
| <p>Repique de las siete cepas de hongos</p> | <p>Rotulación de las cajas</p> |

ANEXO D: ENFRENTAMIENTO ANTAGONISTA DE LOS TRATAMIENTOS

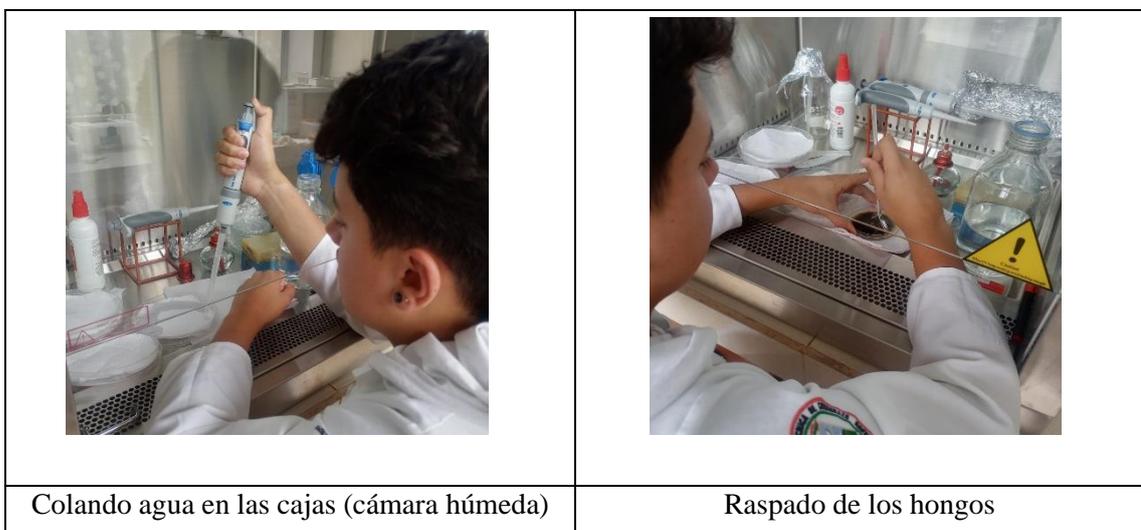
| | |
|---|--|
|  |  |
| <p>Desinfección del área de trabajo</p> | <p>Inoculación de los hongos</p> |



ANEXO E: ALMACENAMIENTO DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES



ANEXO F: PROCEDIMIENTO PARA LA INHIBICIÓN DE ESPORAS





Absorción del líquido con hongo

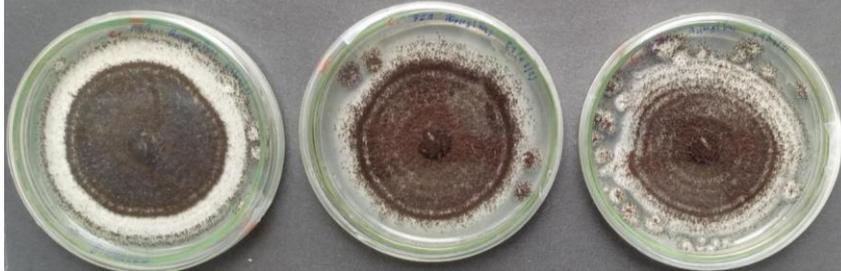


Absorción del líquido con *Bacillus subtilis*

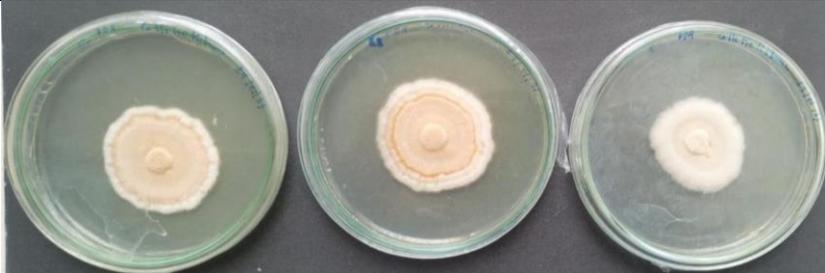
ANEXO G: ANVERSO DE LOS CONTROLES AL FINAL DEL ENSAYO



Fusarium oxysporum



Aspergillus spp.



Colletotrichum spp.



Penicillium spp.



Neopestalotiopsis sp.

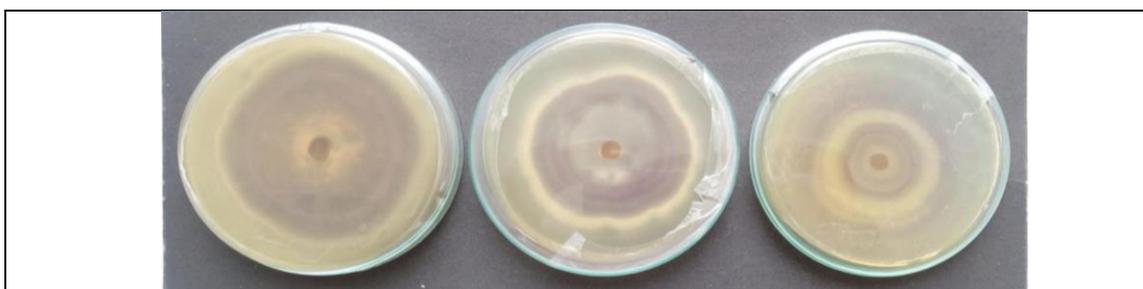


Alternaria grandis

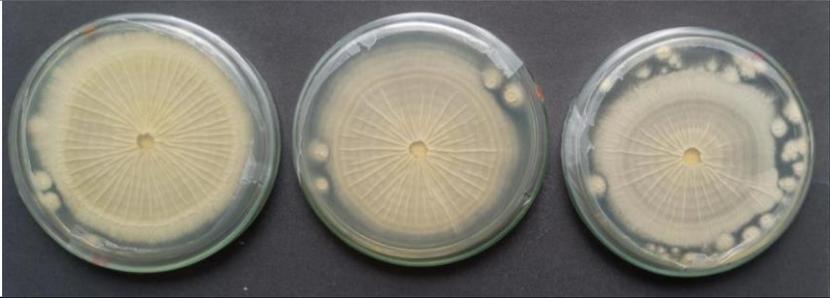


Moniliophthora roreri

ANEXO H: REVERSO DE LOS CONTROLES AL FINAL DEL ENSAYO



Fusarium oxysporum



Aspergillus spp.



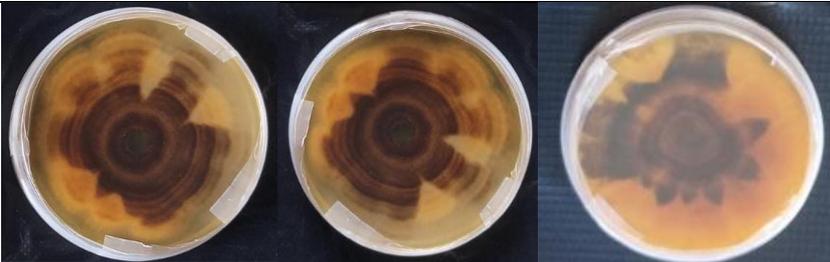
Colletotrichum spp.



Penicillium spp.



Neopestalotiopsis sp.



Alternaria grandis



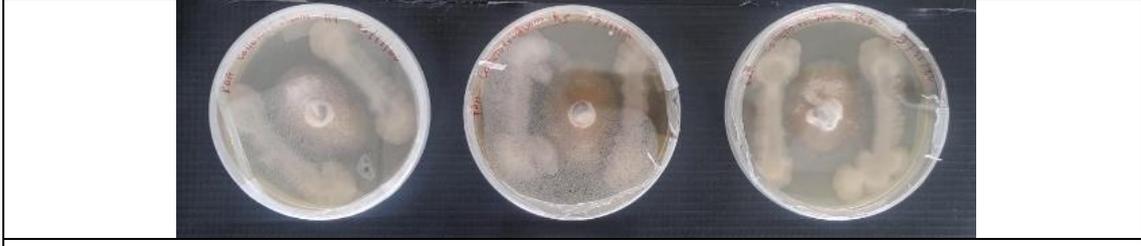
ANEXO I: TRATAMIENTOS AL FINAL DEL ENSAYO POR EL MÉTODO DUAL



Fusarium oxysporum



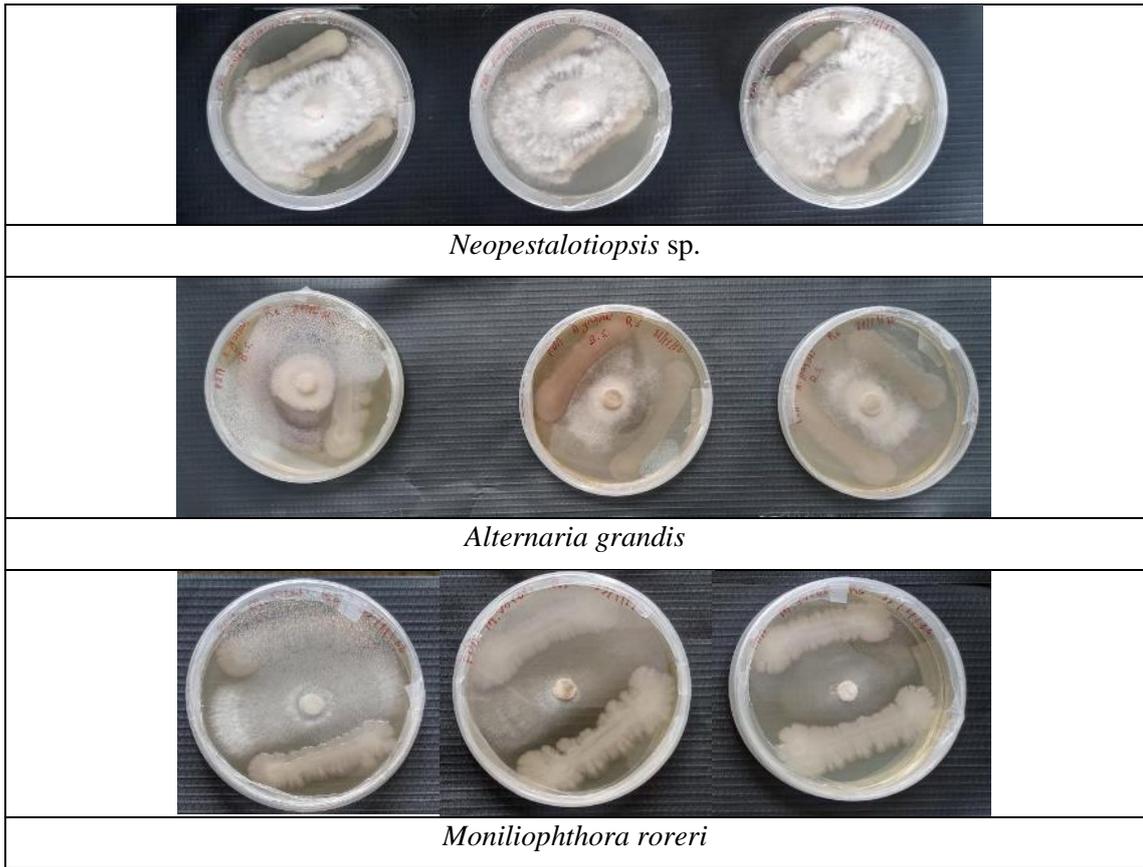
Aspergillus spp.



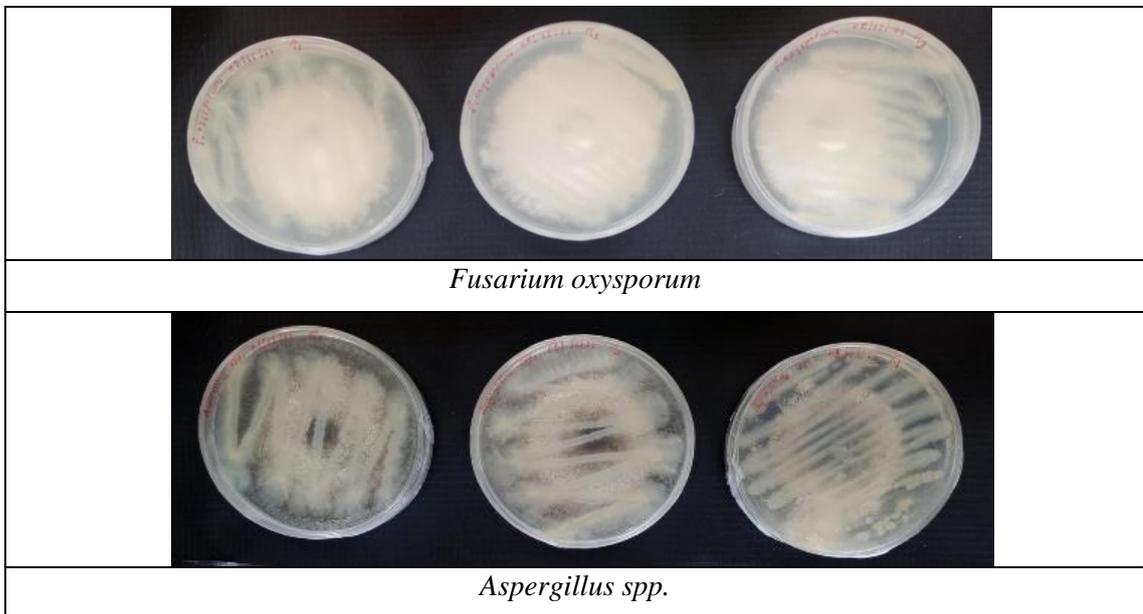
Colletotrichum spp.

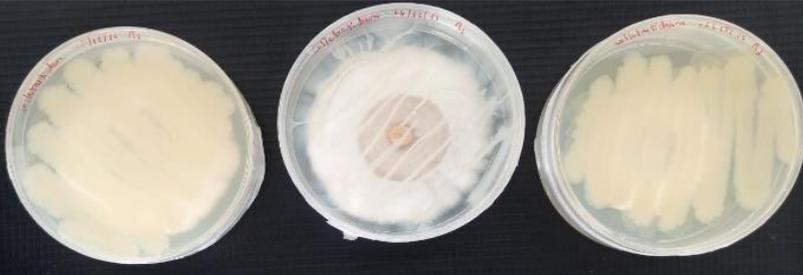


Penicillium spp.

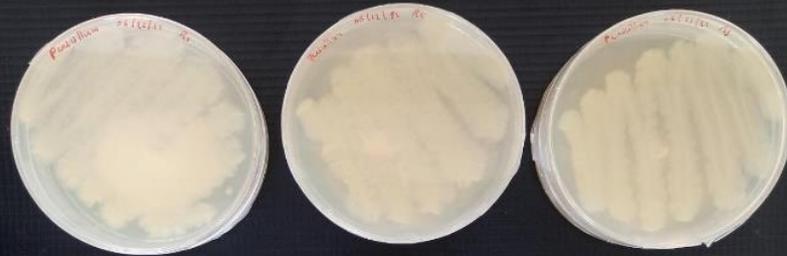


ANEXO J: ANVERSO DE LOS TRATAMIENTOS AL FINAL DEL ENSAYO POR EL MÉTODO DE COMPUESTOS VOLÁTILES

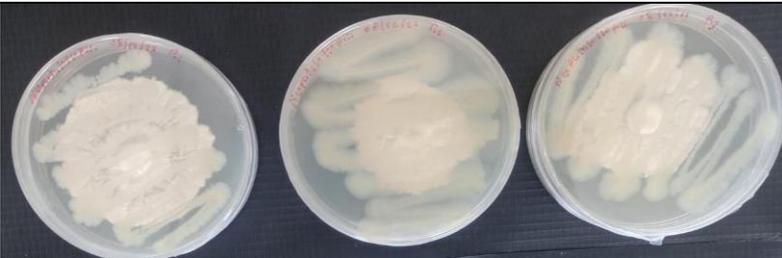




Colletotrichum spp.



Penicillium spp.



Neopestalotiopsis sp.

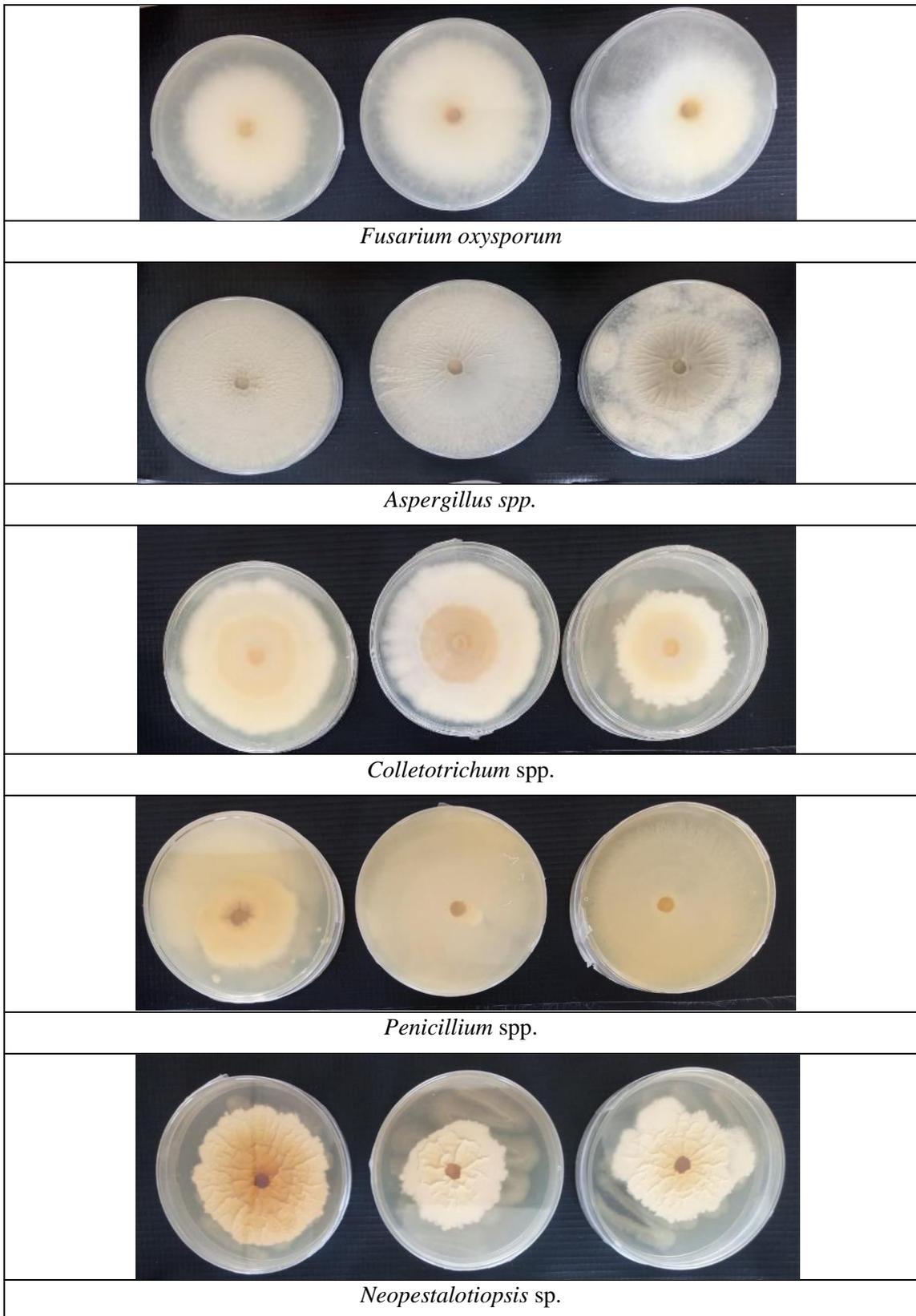


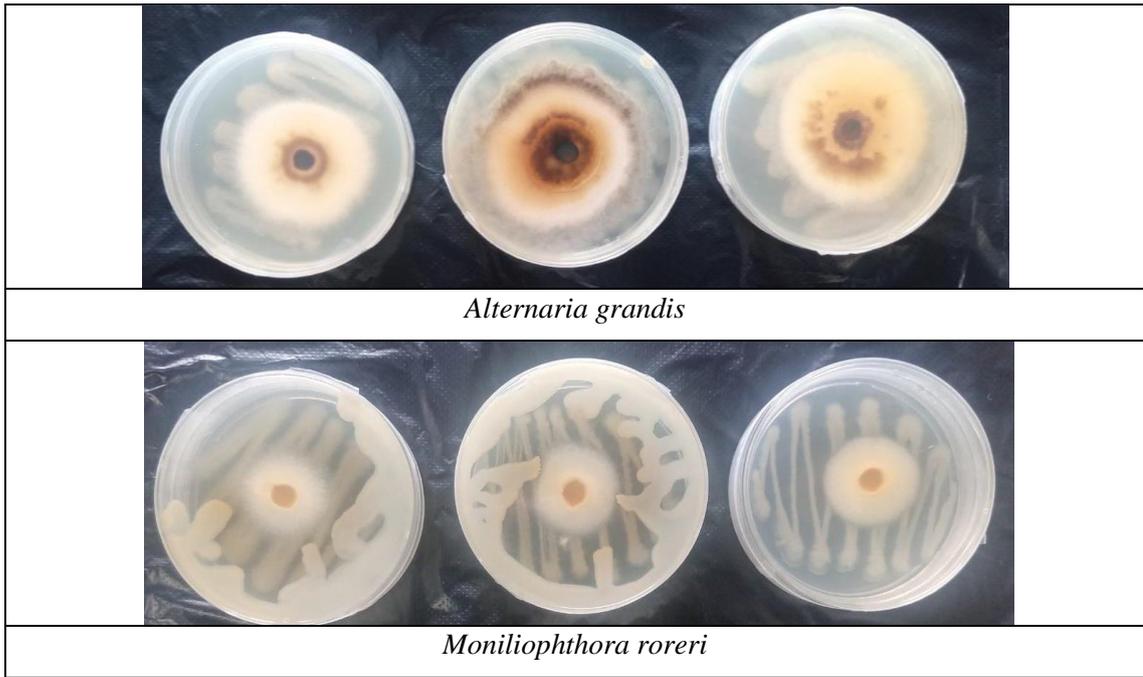
Alternaria grandis



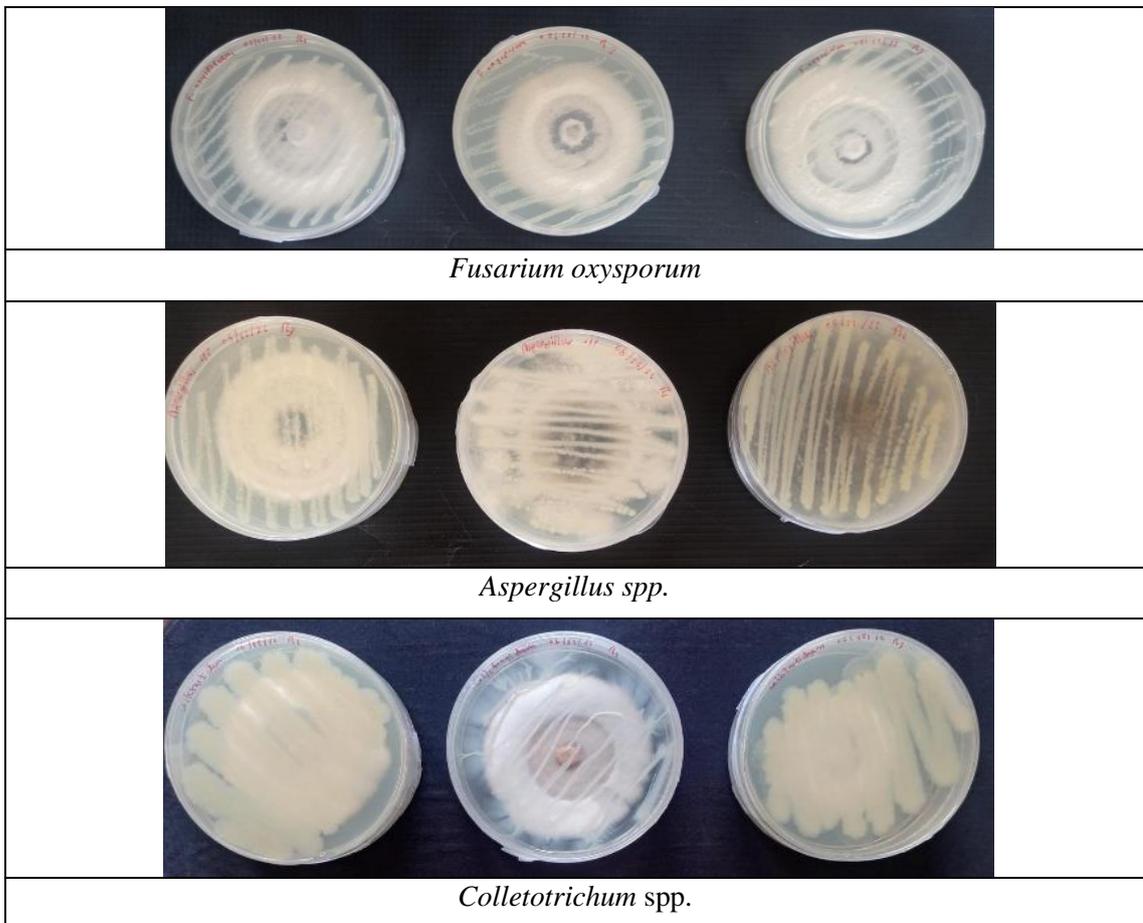
Moniliophthora roreri

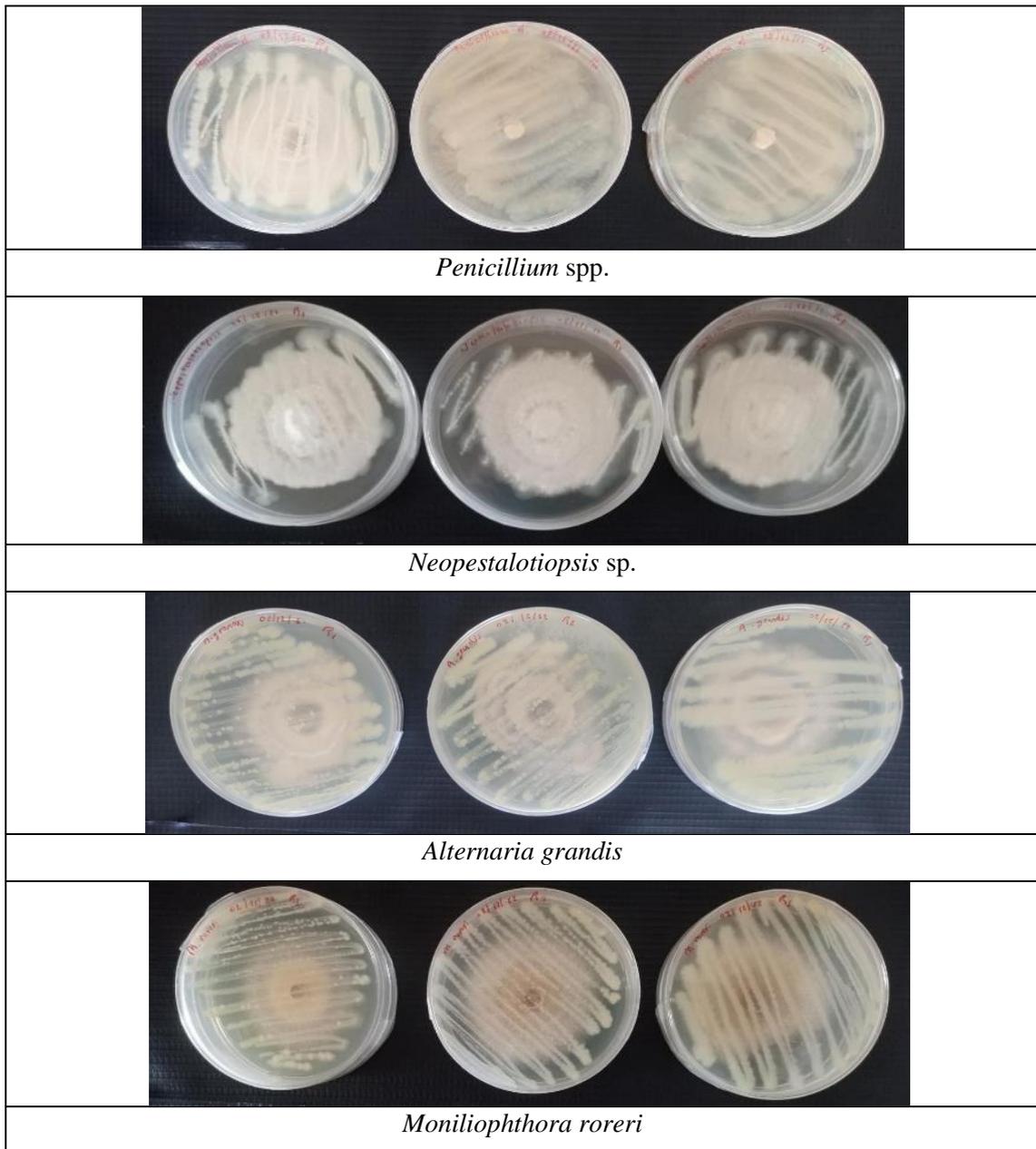
ANEXO K: REVERSO DE LOS TRATAMIENTOS AL FINAL DEL ENSAYO POR EL MÉTODO DE COMPUESTOS VOLÁTILES





ANEXO L: ANVERSO DE LOS TRATAMIENTOS AL FINAL DEL ENSAYO POR EL MÉTODO DE COMPUESTOS VOLÁTILES (4 DÍAS)



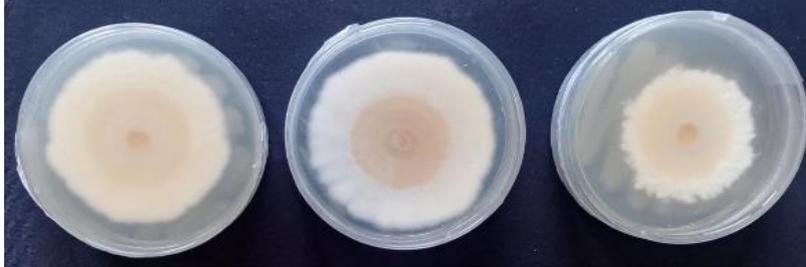


ANEXO M: REVERSO DE LOS TRATAMIENTOS AL FINAL DEL ENSAYO POR EL MÉTODO DE COMPUESTOS VOLÁTILES (4 DÍAS)





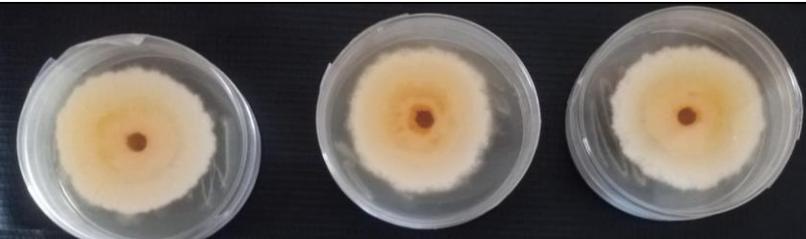
Aspergillus spp.



Colletotrichum spp.



Penicillium spp.



Neopestalotiopsis sp.

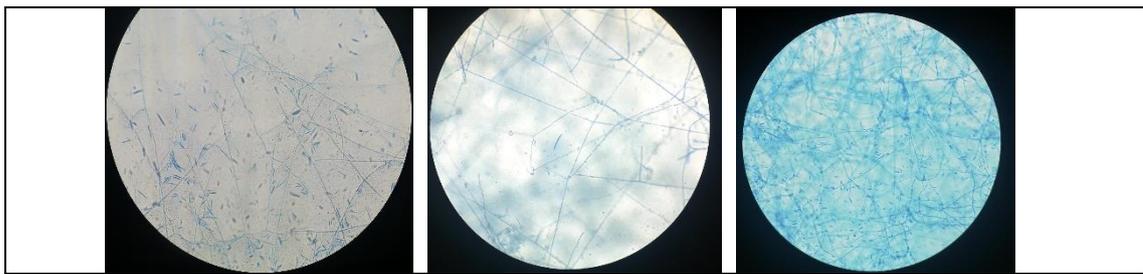


Alternaria grandis

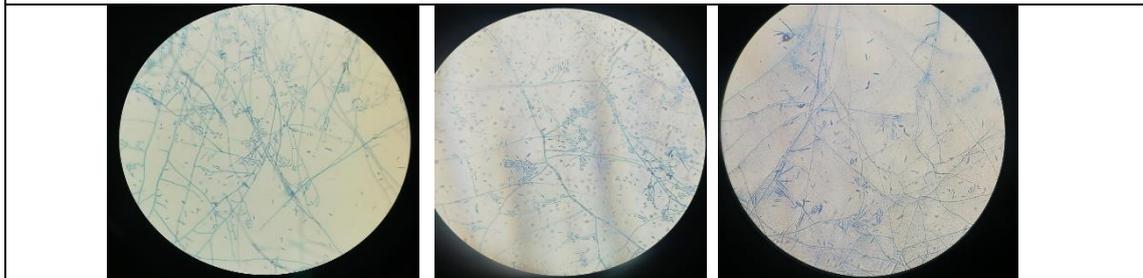


Moniliophthora roreri

ANEXO N: INHIBICIÓN DE ESPORULACION



Repeticiones

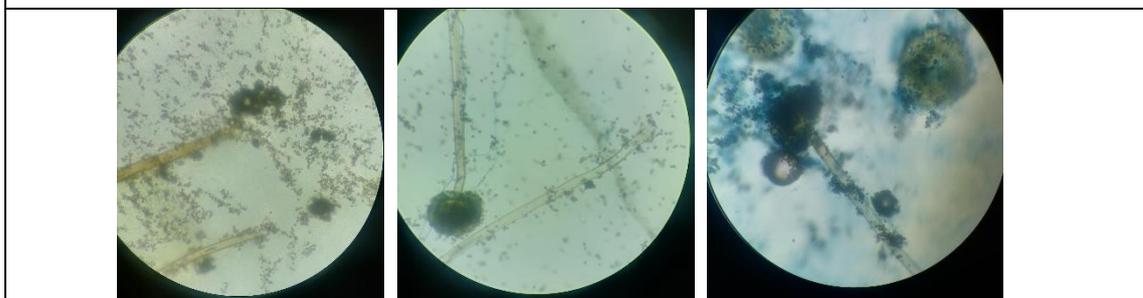


Controles

Fusarium oxysporum

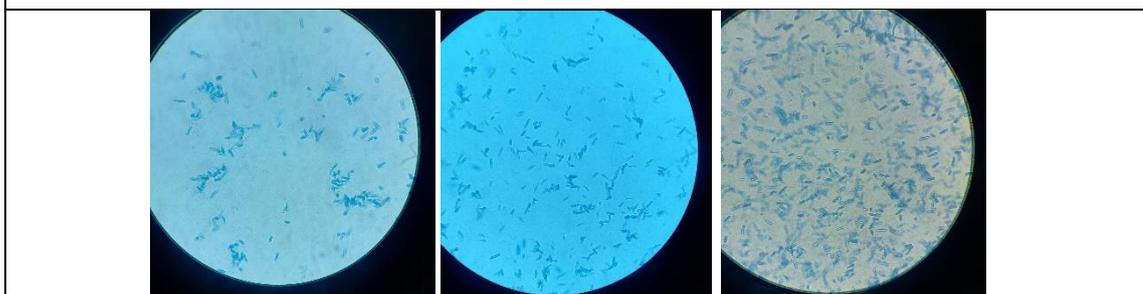


Repeticiones

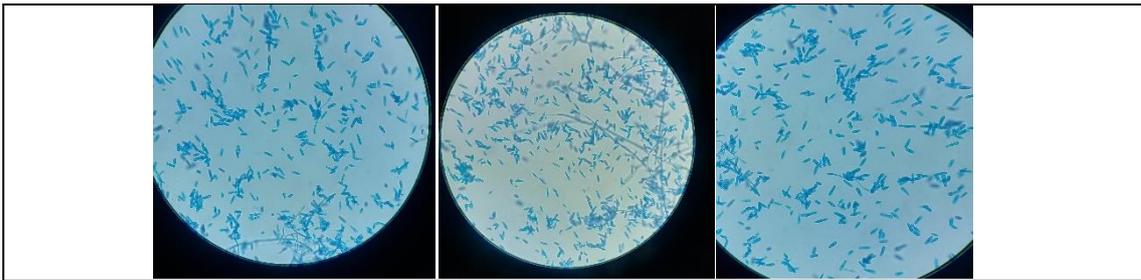


Controles

Aspergillus spp.

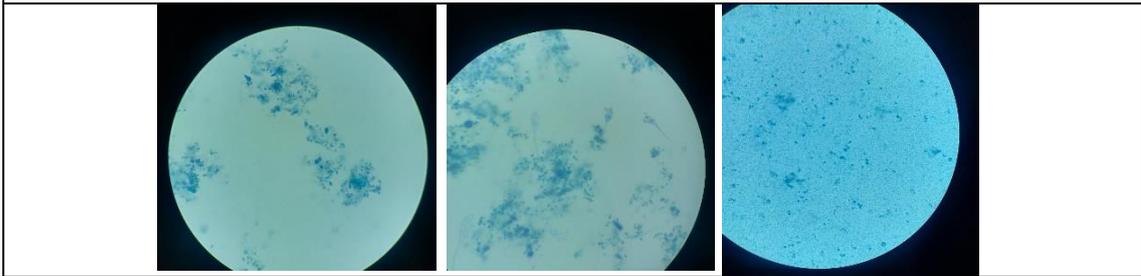


Repeticiones



Controles

Colletotrichum spp.

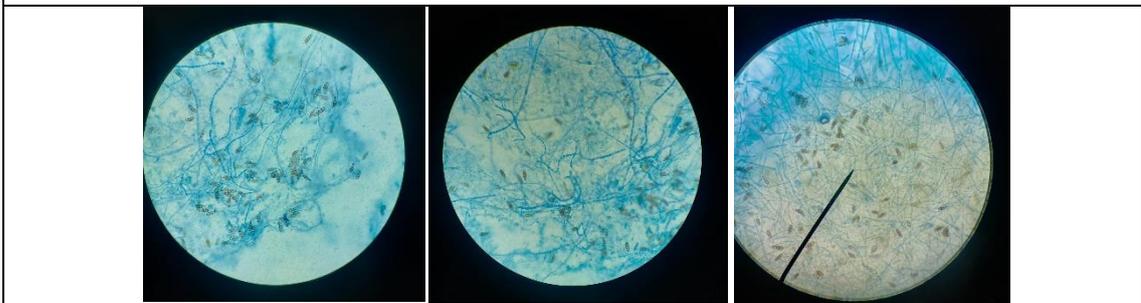


Repeticiones

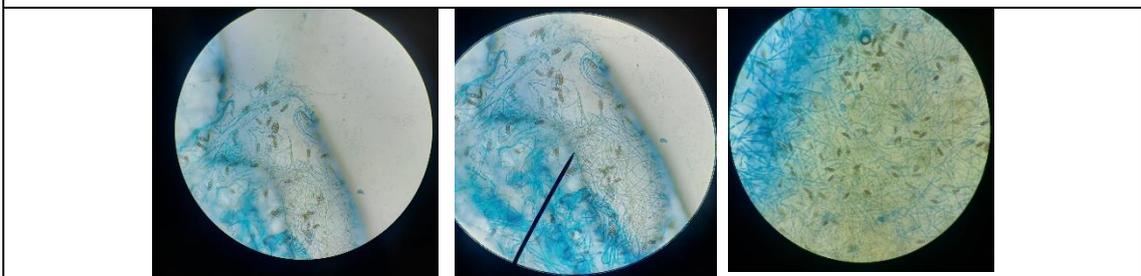


Controles

Penicillium spp.

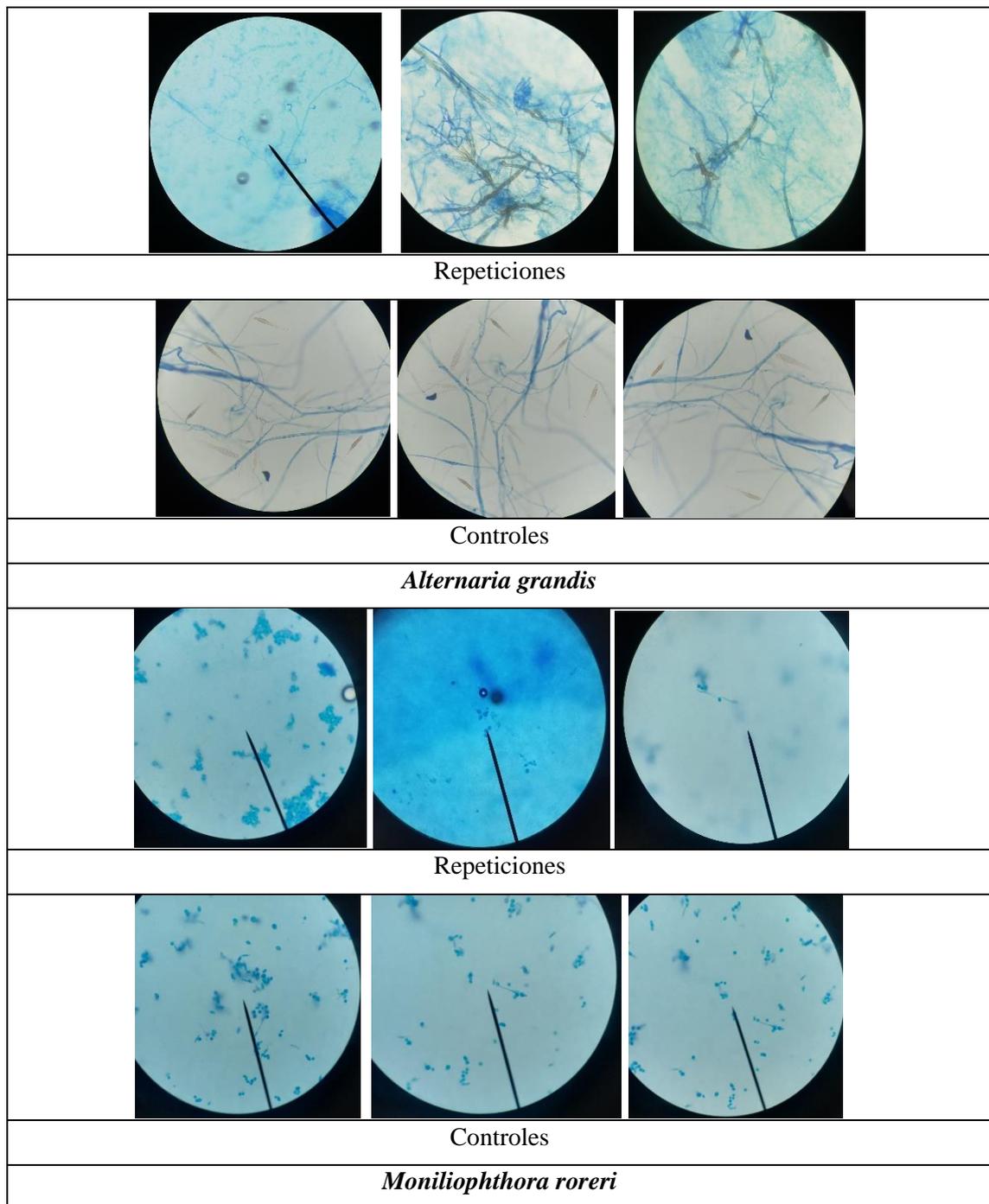


Repeticiones



Controles

Neopestalotiopsis sp.



ANEXO O: DATOS DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN MICELIAL Y ESPORULACIÓN DE LOS HONGOS FITOPATÓGENOS

| T | R | Volátiles_h | Volátiles_v | Dual_h | Dual_v | 4 días_h | 4 días_v | Inhibición esporas |
|----|---|-------------|-------------|--------|--------|----------|----------|--------------------|
| T1 | 1 | 9,84 | 15,88 | 0,00 | 21,08 | 6,69 | 11,24 | 37,50 |
| T1 | 2 | 9,60 | 14,33 | 0,00 | 22,54 | 3,20 | 12,34 | 39,39 |
| T1 | 3 | 9,40 | 16,67 | 0,00 | 23,81 | 3,17 | 12,63 | 36,11 |
| T2 | 1 | 0,00 | 0,00 | 5,48 | 0,00 | 6,57 | 3,83 | 0,00 |

| | | | | | | | | |
|----|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| T2 | 2 | 0,00 | 0,00 | 6,73 | 0,00 | 6,72 | 2,54 | 1,41 |
| T2 | 3 | 0,00 | 0,00 | 3,69 | 0,00 | 6,88 | 2,59 | 5,56 |
| T3 | 1 | 25,45 | 23,55 | 5,90 | 29,28 | 26,18 | 31,44 | 41,67 |
| T3 | 2 | 28,16 | 25,82 | 6,81 | 28,21 | 27,95 | 31,72 | 46,15 |
| T3 | 3 | 27,30 | 25,51 | 5,25 | 26,74 | 26,50 | 31,96 | 47,06 |
| T4 | 1 | 0,00 | 0,00 | 16,07 | 52,54 | 0,00 | 0,00 | 59,18 |
| T4 | 2 | 0,00 | 0,00 | 15,76 | 56,13 | 0,00 | 0,00 | 60,71 |
| T4 | 3 | 0,00 | 0,00 | 14,49 | 56,51 | 0,00 | 0,00 | 57,78 |
| T5 | 1 | 34,31 | 19,90 | 9,37 | 40,70 | 9,42 | 19,65 | 21,05 |
| T5 | 2 | 34,73 | 19,39 | 7,46 | 34,70 | 11,16 | 17,01 | 27,06 |
| T5 | 3 | 36,61 | 21,76 | 8,21 | 40,89 | 7,54 | 20,32 | 26,58 |
| T6 | 1 | 17,40 | 16,71 | 5,03 | 32,37 | 20,77 | 17,31 | 90,91 |
| T6 | 2 | 14,44 | 13,09 | 5,47 | 33,26 | 21,44 | 18,21 | 80,00 |
| T6 | 3 | 17,71 | 15,43 | 8,07 | 34,82 | 21,66 | 17,55 | 87,50 |
| T7 | 1 | 42,96 | 42,47 | 26,66 | 59,48 | 15,37 | 9,64 | 66,67 |
| T7 | 2 | 44,92 | 43,71 | 27,03 | 60,16 | 15,67 | 9,48 | 62,50 |
| T7 | 3 | 42,53 | 44,78 | 28,61 | 65,92 | 15,00 | 11,13 | 60,00 |
| T8 | 1 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| T8 | 2 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| T8 | 3 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

ANEXO P: DATOS DE LA TASA DE CRECIMIENTO DE LOS HONGOS FITOPATÓGENOS

| T | R | Dual_h | Dual_v | Volátiles_h | Volátiles_v | 4 días_h | 4 días_v |
|----|---|--------|--------|-------------|-------------|----------|----------|
| T1 | 1 | 0,72 | 0,52 | 0,65 | 0,68 | 0,55 | 0,53 |
| T1 | 2 | 0,73 | 0,46 | 0,62 | 0,62 | 0,49 | 0,53 |
| T1 | 3 | 0,65 | 0,48 | 0,62 | 0,59 | 0,44 | 0,48 |
| C1 | 1 | 0,72 | 0,67 | 0,72 | 0,67 | 0,73 | 0,64 |
| C1 | 2 | 0,66 | 0,61 | 0,66 | 0,61 | 0,59 | 0,55 |
| C1 | 3 | 0,65 | 0,61 | 0,65 | 0,61 | 0,60 | 0,53 |
| T2 | 1 | 0,79 | 0,82 | 0,89 | 0,80 | 0,56 | 0,61 |
| T2 | 2 | 0,80 | 0,72 | 0,77 | 0,79 | 0,47 | 0,66 |
| T2 | 3 | 0,73 | 0,80 | 0,63 | 0,65 | 0,43 | 0,53 |
| C2 | 1 | 0,79 | 0,65 | 0,79 | 0,65 | 0,54 | 0,60 |
| C2 | 2 | 0,68 | 0,59 | 0,68 | 0,59 | 0,57 | 0,56 |
| C2 | 3 | 0,65 | 0,64 | 0,65 | 0,64 | 0,43 | 0,59 |
| T3 | 1 | 0,20 | 0,12 | 0,17 | 0,17 | 0,15 | 0,15 |
| T3 | 2 | 0,21 | 0,13 | 0,17 | 0,17 | 0,15 | 0,16 |
| T3 | 3 | 0,20 | 0,14 | 0,14 | 0,16 | 0,15 | 0,15 |
| C3 | 1 | 0,22 | 0,21 | 0,22 | 0,21 | 0,23 | 0,22 |
| C3 | 2 | 0,24 | 0,22 | 0,24 | 0,22 | 0,25 | 0,22 |
| C3 | 3 | 0,22 | 0,21 | 0,22 | 0,21 | 0,25 | 0,24 |

| | | | | | | | |
|----|---|------|------|------|------|------|------|
| T4 | 1 | 0,29 | 0,10 | 0,44 | 0,39 | 0,47 | 0,42 |
| T4 | 2 | 0,29 | 0,12 | 0,44 | 0,44 | 0,50 | 0,54 |
| T4 | 3 | 0,29 | 0,11 | 0,46 | 0,44 | 0,52 | 0,48 |
| C4 | 1 | 0,35 | 0,35 | 0,35 | 0,35 | 0,34 | 0,34 |
| C4 | 2 | 0,33 | 0,33 | 0,33 | 0,33 | 0,28 | 0,30 |
| C4 | 3 | 0,32 | 0,33 | 0,32 | 0,33 | 0,32 | 0,31 |
| T5 | 1 | 0,94 | 0,39 | 0,50 | 0,53 | 0,88 | 0,48 |
| T5 | 2 | 0,75 | 0,30 | 0,37 | 0,40 | 0,62 | 0,40 |
| T5 | 3 | 0,94 | 0,39 | 0,46 | 0,45 | 0,85 | 0,40 |
| C5 | 1 | 0,93 | 0,94 | 0,93 | 0,93 | 0,95 | 0,98 |
| C5 | 2 | 0,74 | 0,75 | 0,74 | 0,75 | 0,78 | 0,78 |
| C5 | 3 | 0,94 | 0,94 | 0,94 | 0,94 | 0,98 | 0,98 |
| T6 | 1 | 0,41 | 0,16 | 0,29 | 0,25 | 0,29 | 0,27 |
| T6 | 2 | 0,35 | 0,14 | 0,27 | 0,26 | 0,24 | 0,22 |
| T6 | 3 | 0,39 | 0,15 | 0,26 | 0,26 | 0,29 | 0,25 |
| C6 | 1 | 0,41 | 0,39 | 0,41 | 0,39 | 0,42 | 0,39 |
| C6 | 2 | 0,33 | 0,36 | 0,33 | 0,36 | 0,34 | 0,35 |
| C6 | 3 | 0,41 | 0,39 | 0,41 | 0,39 | 0,42 | 0,41 |
| T7 | 1 | 0,39 | 0,12 | 0,17 | 0,18 | 0,44 | 0,42 |
| T7 | 2 | 0,42 | 0,15 | 0,17 | 0,18 | 0,54 | 0,53 |
| T7 | 3 | 0,35 | 0,15 | 0,17 | 0,18 | 0,49 | 0,45 |
| C7 | 1 | 0,47 | 0,47 | 0,47 | 0,47 | 0,59 | 0,58 |
| C7 | 2 | 0,53 | 0,54 | 0,53 | 0,54 | 0,68 | 0,69 |
| C7 | 3 | 0,49 | 0,54 | 0,49 | 0,54 | 0,64 | 0,67 |



epoch

**Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje**

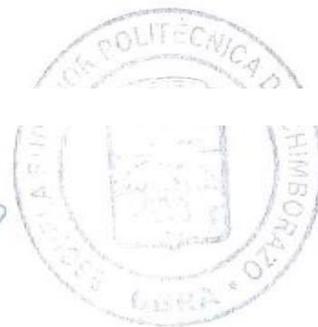
**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL**

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 26 / 06 / 2023

| |
|--|
| INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S) |
| Nombres – Apellidos: Ronald Estivens Cepeda Calero |
| INFORMACIÓN INSTITUCIONAL |
| Facultad: Recursos Naturales |
| Carrera: AGRONOMÍA |
| Título a optar: INGENIERO AGRÓNOMO |
| f. responsable: Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz |

Cristhian Fernando Castillo Ruiz



1153-DBRA-UTP-2023