



**UNL**

Universidad  
Nacional  
de Loja

**Universidad Nacional de Loja**

**Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables**

**Carrera de Ingeniería Agronómica**

**Identificación y biocontrol de los microorganismos causantes de la  
Marchitez Vasculare del Babaco (*Vasconcellea heilbornii* Badillo)  
procedentes de Loja.**

**Trabajo de Titulación previa la  
obtención del título de Ingeniera  
Agrónomo**

**AUTORA:**

Auliria Francisca Correa Jiménez

**DIRECTOR:**

Ing. Ángel Rolando Robles Carrión, PhD.

Loja – Ecuador

2024

Educamos para Transformar

## Certificación



UNL

Universidad  
Nacional  
de Loja

Sistema de Información Académico  
Administrativo y Financiero - SIAAF

### CERTIFICADO DE CULMINACIÓN Y APROBACIÓN DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo, **Robles Carrion Angel Rolando**, director del Trabajo de Integración Curricular denominado **Identificación y biocontrol de los microorganismos causantes de la Marchitez Vascular del Babaco (*Vasconcellea heilbornii* Badillo)** procedentes de Loja., perteneciente al estudiante **AULIRIA FRANCISCA CORREA JIMENEZ**, con cédula de identidad N° **1900888247**.

#### Certifico:

Que luego de haber dirigido el **Trabajo de Integración Curricular**, habiendo realizado una revisión exhaustiva para prevenir y eliminar cualquier forma de plagio, garantizando la debida honestidad académica, se encuentra concluido, aprobado y está en condiciones para ser presentado ante las instancias correspondientes.

Es lo que puedo certificar en honor a la verdad, a fin de que, de así considerarlo pertinente, el/la señor/a docente de la asignatura de **Integración Curricular**, proceda al registro del mismo en el Sistema de Gestión Académico como parte de los requisitos de acreditación de la Unidad de Integración Curricular del mencionado estudiante.

Loja, 26 de Febrero de 2024

F)  ANGEL ROLANDO  
ROBLES CARRION  
DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN  
CURRICULAR

## **Autoría**

Yo, **Auliria Francisca Correa Jiménez**, declaro ser autora del presente Trabajo de Titulación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mí Trabajo de Titulación, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

**Firma:** 

**Cédula de Identidad:** 1900888247

**Fecha:** 29/04/2024

**Correo electrónico:** [auliria.correa@unl.edu.ec](mailto:auliria.correa@unl.edu.ec)

**Teléfono o Celular:** 0959000356

## Carta de autorización

**Carta de autorización por parte del autor, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Integración Curricular.**

Yo, **Auliria Francisca Correa Jiménez**, declaro ser autora del Trabajo de Titulación denominado **“Identificación y biocontrol de los microorganismos causantes de la Marchitez Vasculare del Babaco (*Vasconcellea heilbornii* Badillo) procedentes de Loja”**, como requisito para optar el título de **Ingeniera Agrónomo**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del trabajo de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los veintinueve días del mes de abril del dos mil veinticuatro.

**Firma:**



**Autor:** Auliria Francisca Correa Jiménez

**Cédula:** 1900888247

**Dirección:** San Sebastián, Loja

**Correo electrónico:** [auliria.correa@unl.edu.ec](mailto:auliria.correa@unl.edu.ec)

**Teléfono:** 0959000356

### **DATOS COMPLEMENTARIOS:**

**Director del Trabajo de Titulación:** Ing. Ángel Rolando Robles Carrión, PhD.

## **Dedicatoria**

A Dios que me ha dado salud, vida, amor, Fé y coraje para perseverar frente a las adversidades que se me han presentado al emprender este viaje y finalmente llegar a la etapa de la culminación de la presente meta.

A mis padres Ibelia Jiménez y Manuel Correa, quienes con su esfuerzo y sacrificio me impulsaron y enseñaron el valor del trabajo arduo, me han apoyado inmensamente, este logro también es suyo.

De manera especial a mi hermana María Correa, quien me apoyo de muchas formas y siempre ha estado allí. A todos mis hermanos y hermanas por brindarme su cariño y apoyo. A mis amigas y sobrinas (Kerly y Adelaida) con las que siempre he compartido desde niña. A Juleni Castillo, la amiga que me inspiro a perseguir mis sueños, y gracias a sus consejos me ayudo a creer en mí.

*Auliria Correa*

## **Agradecimientos**

A todos y cada uno de los docentes que impartieron sus conocimientos, gracias por su paciencia, enseñanza e inspiración, para forjarme como una profesional.

Al Ing. Ángel Robles, mi director de tesis, por su guía y paciencia, sus consejos y orientación fueron fundamentales para dar forma a esta tesis, al igual que al Ing. Byron Becerra, por su apoyo logístico y técnico, sin su ayuda en el laboratorio, este proyecto no hubiera sido posible.

A mis amigos de la universidad, Jairo Sarango, Byron Guamán, Elsa Tène, Fernando Uchuari, por apoyarme en el proceso de mi tesis, sin su ayuda se me hubiesen complicado demasiado las cosas, además de estar siempre en mi camino compartiendo muchas experiencias, estoy realmente agradecida y jamás olvidaré su apoyo. A todos mis compañeros con los que hemos compartido experiencias (Lenin, Edy, Karen, Cristina, Marcos, Dalila), y hemos recorrido estos casi 5 años.

A mis amigos, no precisamente de la universidad y familia, por sus mensajes de ánimo que me ayudaban a seguir adelante.

A mi hermana Gloria Correa, en donde me hospede y quien me apoyo con sus servicios en el trayecto de las clases virtuales.

Y por encima de todo, y con gran amor, gracias a mi familia, por estar incondicionalmente conmigo, esperando este logro, por siempre gracias.

*Auliria Correa*

## Índice de contenidos

Portada.....	i
Certificación.....	ii
Autoría.....	iii
Carta de autorización.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimientos.....	vi
Índice de contenidos.....	vii
Índice de figuras.....	ix
Índice de tablas.....	x
Índice de anexos.....	xi
<b>1. Título.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Resumen.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1 Absatract.....</b>	<b>3</b>
<b>3. Introducción.....</b>	<b>4</b>
<b>4. Marco teórico.....</b>	<b>6</b>
<b>4.1 Origen, evolución y distribución geográfica del babaco.....</b>	<b>6</b>
<b>4.2 Morfología y taxonomía.....</b>	<b>6</b>
<b>4.3 Principal Enfermedad del Babaco.....</b>	<b>7</b>
<b>4.3.1 Marchitez Vasculat del Babaco.....</b>	<b>7</b>
<b>4.4 Importancia económica y geográfica de la MVB.....</b>	<b>8</b>
<b>4.5 Factores predisponentes y de propagación de la MVB.....</b>	<b>8</b>
<b>4.6 Microorganismos causantes de la Marchitez Vasculat.....</b>	<b>8</b>
<b>4.6.1 Fusarium.....</b>	<b>8</b>
<b>4.7 Identificación morfológica de especies de Fusarium.....</b>	<b>9</b>
<b>4.8 Métodos de diagnóstico y detección de los microorganismos.....</b>	<b>11</b>
<b>4.8.1 Hongos fitopatógenos.....</b>	<b>11</b>

4.8.2	<i>Aislamiento de hongos fitopatógenos</i> .....	11
4.8.3	<i>Medios de cultivo</i> .....	11
<b>4.9</b>	<b>Identificación de hongos</b> .....	<b>12</b>
<b>4.10</b>	<b>Biocontrol de la Marchitez Vascular</b> .....	<b>12</b>
<b>5.</b>	<b>Metodología</b> .....	<b>14</b>
<b>5.1</b>	<b>Diseño metodológico</b> .....	<b>14</b>
5.1.1	<i>Descripción de las Zonas Estudio</i> .....	14
5.1.2	<i>Condiciones Climáticas</i> .....	14
5.1.3	<i>Localización y duración del experimento</i> .....	15
5.1.4	<i>Tipo de investigación</i> .....	15
5.1.5	<i>Diseño experimental</i> .....	15
5.1.6	<i>Modelo matemático del diseño experimental</i> .....	16
<b>5.2</b>	<b>Metodología general</b> .....	<b>16</b>
5.2.1	<i>Metodología para el primer objetivo</i> .....	16
5.2.2	<i>Metodología para el segundo objetivo</i> .....	18
<b>5.3</b>	<b>Parámetros Evaluados</b> .....	<b>19</b>
<b>6.</b>	<b>Resultados</b> .....	<b>21</b>
<b>6.1</b>	<b>Resultados para el primer objetivo</b> .....	<b>21</b>
6.1.1	<i>Caracterización cultural de los aislados de Fusarium spp</i> .....	21
6.1.2	<i>Caracterización morfológica de los aislados de Fusarium spp</i> .....	23
<b>6.2</b>	<b>Resultados para el segundo objetivo</b> .....	<b>26</b>
6.2.1	<i>PICR</i> .....	26
<b>7.</b>	<b>Discusiones</b> .....	<b>32</b>
<b>8.</b>	<b>Conclusiones</b> .....	<b>35</b>
<b>9.</b>	<b>Recomendaciones</b> .....	<b>36</b>
<b>10.</b>	<b>Bibliografía</b> .....	<b>37</b>
<b>11.</b>	<b>Anexos</b> .....	<b>41</b>



### Índice de figuras.

<b>Figura 1.</b> Características morfológicas para la identificación de especies de <i>Fusarium</i> . .....	10
<b>Figura 2.</b> Características culturales (Pigmentación del anverso y reverso) de los aislados de <i>Fusarium</i> spp. procedentes de Loja en medio de cultivo PDA. ....	22
<b>Figura 3.</b> Estructuras macroconidios de los diferentes aislados de <i>Fusarium</i> spp., observados en microscopio 40x. ....	25
<b>Figura 4.</b> Biocontroles de los diferentes aislados de <i>Fusarium</i> spp. con los antagonistas. ....	27

## Índice de tablas.

<b>Tabla 1.</b> Taxonomía del babaco (Robles, 2013).....	7
<b>Tabla 2.</b> Clasificación taxonómica de <i>Fusarium</i> spp. ....	9
<b>Tabla 3.</b> Origen de las muestras del Babaco para el aislamiento de microorganismos fúngicos de Loja .....	14
<b>Tabla 4.</b> Áreas de muestreo de la marchitez vascular del babaco en Loja .....	16
<b>Tabla 5.</b> Características culturales de los aislados de <i>Fusarium</i> spp. colectados en zonas productivas de babaco en Loja, Ecuador (Datos Cualitativos).....	22
<b>Tabla 6.</b> Características culturales de los aislados de <i>Fusarium</i> spp. colectados en zonas productivas de babaco en Loja, Ecuador (Datos Cuantitativos).....	23
<b>Tabla 7.</b> Tamaño de macro y microconidios de <i>Fusarium</i> spp., colectados en zonas productivas de babaco en Loja, Ecuador (Datos Cuantitativos).....	25
<b>Tabla 8.</b> Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%) de aislados de <i>Fusarium</i> spp. con los respectivos biocontroladores. ....	29
<b>Tabla 9.</b> Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%) de aislados de <i>Fusarium</i> spp. con los respectivos biocontroladores. ....	30

## Índice de anexos.

<b>Anexo 1.</b> Recolección de muestras y siembra en medio PDA.....	41
<b>Anexo 2.</b> Observación microscópica de las estructuras de las colonias aisladas.....	41
<b>Anexo 3.</b> Crecimiento de los aislados de <i>Fusarium</i> .....	41
<b>Anexo 4.</b> Siembra de micelio de hongos en tubos de ensayo para el conteo UFC .....	42
<b>Anexo 5.</b> Siembra de cultivos duales .....	42
<b>Anexo 6.</b> Medición de crecimiento radial de <i>Fusarium</i> en cultivo dual .....	43
<b>Anexo 7.</b> Biocontroles finales de los aislados de <i>Fusarium</i> spp. con <i>Trichoderma</i> spp. <i>Penicillium</i> spp. y <i>Lecanicillium</i> spp.....	44
<b>Anexo 8.</b> Tabulación de datos en Excel de UFC .....	44
<b>Anexo 9.</b> Tabulación de datos en Excel de tamaño de macro y microconidios.....	45
<b>Anexo 10.</b> Tabulación de datos en Excel de los biocontroles.....	45
<b>Anexo 11.</b> Análisis estadístico de biocontroladores. ....	46
<b>Anexo 12.</b> Certificado de la traducción del resumen. ....	47

## **1. Título**

“Identificación y biocontrol de los microorganismos causantes de la Marchitez Vascular del Babaco (*Vasconcellea heilbornii* Badillo) procedentes de Loja”

## 2. Resumen

La enfermedad Marchitez Vascular del Babaco (MVB), ocasionada por el complejo de hongos del género *Fusarium* spp. es una de las enfermedades de mayor importancia económica. Ha provocado grandes devastaciones en las plantaciones del cultivo, lo que ha llevado a los agricultores a recurrir a estrategias de control químico e incluso a abandonar la actividad debido a la disminución del rendimiento. Existe una alternativa de control útil además de amigable con el ambiente, se trata del control biológico, que propone la búsqueda de microorganismos antagonistas para controlar los microorganismos patógenos. El objetivo de esta investigación consistió primeramente en caracterizar los aislados asociados a la MVB, en Loja, para lo cual se recolectaron muestras de raíz de Babaco con síntomas de MVB y se caracterizaron, morfológica y culturalmente, teniendo en cuenta aspectos como: pigmentación de las colonias, tipo de micelio, medición del crecimiento radial, conteo de esporas, medición de macro y microconidios. Posteriormente, se evaluó el antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. *Penicillium* spp. y *Lecanicillium* spp. contra los 5 aislados de *Fusarium* spp. para ello se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial y los datos se procesaron estadísticamente comprobando supuestos de homogeneidad y varianza mediante pruebas de Tukey. Los resultados obtenidos indican que los 5 aislados presentan características correspondientes al género *Fusarium* spp. en el cual se observó variabilidad, lo que refleja la presencia de diversas especies de *Fusarium* spp. y según la tasa de crecimiento radial se identificaron dos categorías de clasificación: 2 aislados con crecimiento medio y 3 con crecimiento rápido. Referente al biocontrol los resultados indican que la cepa de *Trichoderma* spp. mostró un potencial alto de PICR: >50 % de los aislados de *Fusarium* spp, por lo que se lo clasifica como un buen controlador. Las cepas de *Penicillium* spp. y *Lecanicillium* spp. demostraron un potencial menor como biocontroladores. Se concluye que *Trichoderma* spp. es el mejor controlador, destacando por su eficacia en la inhibición de *Fusarium* spp.

**Palabras clave:** Caracterización morfológica, caracterización cultural, potencial de biocontroles, antagonismo.

## 2.1 Absatract

Babaco vascular wilt disease (BVD), caused by a complex of fungi of the genus *Fusarium* spp. is one of the most economically important diseases. It has caused great devastation in the crop's plantations, leading growers to use chemical control strategies and even to stop the activity due to the decrease in yields. There is a useful and environmentally friendly control alternative: biological control, which proposes the search for antagonistic microorganisms to control pathogenic microorganisms. The objective of this research was first to characterize the isolates associated with BVM in Loja, for which samples of Babaco roots with symptoms of BVM were collected and characterized morphologically and culturally, taking into account aspects such as: colony pigmentation, mycelial type, measurement of radial growth, spore count, measurement of macro and microconidia. Posteriorly, the in vitro antagonism of *Trichoderma* spp. *Penicillium* spp. and *Lecanicillum* spp. against the 5 isolates of *Fusarium* spp. was evaluated using a completely randomized design with bifactorial arrangement and the data were statistically processed by testing assumptions of homogeneity and variance by Tukey's tests. The results obtained indicate that the 5 isolates present characteristics corresponding to the genus *Fusarium* spp. in which variability was observed, reflecting the presence of various species of *Fusarium* spp. and according to the radial growth rate, two classification categories were identified: 2 isolates with medium growth and 3 with rapid growth. Regarding biocontrol, the results indicate that the strain of *Trichoderma* spp. showed a high potential of PICR: >50 % of the isolates of *Fusarium* spp, so it is classified as a good controller. *Penicillium* spp. and *Lecanicillum* spp. strains showed a lower potential as biocontrollers. It is concluded that *Trichoderma* spp. is the best controller, standing out for its efficacy in the inhibition of *Fusarium* spp.

**Key words:** Morphological characterization, cultural characterization, biocontrol potential, antagonism.

### 3. Introducción

El babaco (*Vasconcellea x helbornii* (Badillo) es considerado como una fruta exótica, originario de las zonas andinas de Ecuador y Colombia, un híbrido del cruce natural entre *Vasconcellea cundinamarcensis* (Chamburo) x *Vasconcellea stipulata* (Toronche), se lo encuentra en nuestro país en la zona central sur; provincia de Loja, por lo que se le denomina fruta andina (Freire, 2015). Desde un punto de vista económico y nutricional, tiene un gran potencial como especie cultivable. Es una fruta de importancia, ya que presenta ventajas competitivas en el mercado interno y perspectiva de exportación, pues, sus características de sabor, aroma, carencia de semillas y buena capacidad de conservación han dado lugar a que sea demandada por el mercado exterior (Bejarano, 2003).

Sin embargo, a pesar de su importante potencial, el babaco enfrenta desafíos significativos relacionados con enfermedades entre las cuales se encuentran infecciones bacterianas masivas causadas por *Erwinia* y *Agrobacterium*, así como el hongo *Fusarium oxysporum*. *Vasconcellea*, que hasta el momento es responsable de la Marchitez Vascular del Babaco (MVB), el mismo que ha generado pérdidas significativas (Scheldeman et al., 2003). Valencia (2014) menciona que la MVB ha disminuido muchas plantaciones y finalmente ha sido la causa del abandono de las mismas, y efectivamente de la reducción significativa del área de cultivo, tanto a nivel provincial y nacional. Así mismo esta enfermedad se caracteriza por la obstrucción de los vasos conductores del babaco, lo que ocasiona la muerte de las plantas afectadas, la misma que es causada por un complejo de hongos del género *Fusarium* que interactúan con la planta (Robles et al., 2016).

Frente a la problemática una de las alternativas para contrarrestar los daños causados por patógenos, se encuentra el control biológico o biocontrol. Una alternativa sostenible y respetuosa con el medioambiente para el control de enfermedades en los cultivos. La utilización de organismos beneficiosos, como hongos o bacterias antagonistas, reduce la incidencia y severidad de la Marchitez Vascular, sin generar problemas de resistencia o contaminación. Entre los microorganismos más importantes se encuentran las bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Enterobacteriaceas* y hongos de los géneros *Gliocladium*, *Penicillium* y *Trichoderma*, éste último el más utilizado para el control de un grupo importante de patógenos del suelo (Pérez, 2004).

Aunque se han llevado a cabo estudios previos sobre la enfermedad, aún existen algunas dudas en cuanto a la caracterización de los microorganismos causantes de la misma. Según Ochoa & Ellis (2002), las limitantes más importantes de la producción del babaco están asociadas con la escasez de tecnologías de manejo de enfermedades, es por ello, que las investigaciones y el uso de agentes de control biológico se muestra como una alternativa ventajosa frente a la utilización del control químico (Pérez, 2004), consecuentemente es importante la búsqueda y comprobación de organismos diferentes capaces de controlar los agentes patógenos que causan considerables pérdidas.

La presente investigación tiene el objetivo de evaluar la eficacia de los biocontroles frente a los microorganismos causantes de la MVB procedentes de Loja. Al abordar esta cuestión crítica, no solo buscamos comprender la dinámica de la interacción de los biocontroles y los patógenos, sino también proporcionar información valiosa que pueda contribuir a desarrollar estrategias de manejo más efectivas para la gestión de la enfermedad, reducir las pérdidas económicas y promover una producción sostenible de babaco.



## 4. Marco teórico.

### 4.1 Origen, evolución y distribución geográfica del babaco

El origen del babaco se encuentra en los valles interandinos de la provincia de Loja, en Ecuador. En la actualidad el cultivo se encuentra presente en diversas provincias del Ecuador, incluyendo Imbabura (Atuntaqui, Perucho y Otavalo), Pichincha (Tumbaco, San Antonio de Pichincha, San José de Minas, Guayllabamba), Tungurahua (Patate, Baños, Pelileo), Chimborazo (Penipe, Pallatanga y Huigra), Azuay (El Valle de Cuenca, Paute, Gualaceo), Loja (Loja, Malacatos y Vilcabamba), entre otros (Montenegro, 2009).

Muchas investigaciones sobre la clasificación de *V. heilbornii* se han basado en análisis filogenéticos y molecular; donde se destacan teorías sobre el origen y la ubicación taxonómica del babaco. Una de ellas se refiere a la hibridación entre *V. cundimarcensis* (Chamburo) y *V. stipulata* (Toronche), lo que indica que se produjo una hibridación en una etapa anterior de su evolución; lo que permitió la aparición de los primeros individuos de *V. heilbornii* (Robles et al., 2016).

El sur del Ecuador está considerado como centro de biodiversidad de las papayas de montaña, especies andinas del reciente género *Vasconcellea*, familia Caricaceae (Montenegro 2009). El híbrido natural *V. × heilbornii*, comercialmente llamado babaco, es cultivado al nivel comercial en Ecuador y obtiene interés del mercado internacional que está expandiéndose continuamente con nuevas frutas subtropicales (Scheldeman et al., 2003).

### 4.2 Morfología y taxonomía

**Raíz.** – Formada por raíces principales, gruesas verticales, tipo carnosas, de estas salen las raíces absorbentes, que tienen una longitud de acuerdo con el diámetro de las hojas de la planta hasta de 90 cm de largo, y se encuentran superficialmente (Maldonado, 2011).

**Tallo.** - Es cilíndrico, no leñoso, de color verde cuando joven y verde oliváceo cuando maduro, este puede alcanzar más de 2 metros de altura, es recto, esponjoso, no tiene ramificaciones secundarias y solo emite brotes primarios (Maldonado, 2011).

**Hojas.** – Se distribuyen de manera alterna a lo largo del tallo, cada una con su respectivo limbo. Inicialmente verdes, su color torna oscuro con el tiempo, de limbo lobulado, con cinco a siete lóbulos (Maldonado, 2011).

**Flores.** – Se forman cuando la planta ha alcanzado cierta madurez y brotan de manera continua en las axilas de las hojas, son de forma acampanada, femeninas, solitarias, pétalos de color blanco-amarillento-verde y sépalos verde oscuros (Maldonado, 2011).

**Frutos.** - Es una baya alargada, con una pulpa jugosa, aromática y de color crema, con pocas semillas amarillentas e infértiles. Su ápice o extremo es semipuntón de forma pentagonal, su base es redondeada y cóncava donde se articula el pedículo. Su tamaño varía de 20 a 30 centímetros de largo y de 6 a 11 centímetros de diámetros y su puede pesar hasta 2 kilogramos. Tiene un sabor similar a la piña, la fresa y la naranja (Maldonado, 2011).

Como manifiesta Badillo en la última actualización que tuvo la clasificación de dicha especie, en la tabla 1 se muestra la taxonomía del babaco.

**Tabla 1.** Taxonomía del babaco (Robles, 2013).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden:	Brassicales
Familia:	Caricacea
Género:	Vasconcellea
Especie:	<i>Vasconcellea heilbornii</i> var. <i>pentágona</i> Badillo

### 4.3 Principal Enfermedad del Babaco

#### 4.3.1 Marchitez Vascular del Babaco.

La aparición de la enfermedad MVB tiene su origen en Ecuador durante la década de 1990, coincidiendo con el auge en la producción y exportación del babaco hacia mercados internacionales, principalmente desde las provincias del sur del país. En el año de 1996 se observó la presencia de una enfermedad relevante que atacaba las raíces del babaco en invernaderos de la Sierra centro del país (Ochoa & Fonseca, 2000).

- **Sintomatología**

Los primeros indicios de los marchitamientos vasculares en las plantas se manifiestan a través de afectaciones en su sistema vascular. Estos síntomas incluyen la pérdida de turgencia en la célula, clorosis, marchitamiento general y finalmente la muerte de la planta (Dean et al., 2012).

En el caso singular de la enfermedad causada por *Fusarium* spp. los síntomas suelen presentarse en etapas cercanas a la floración; las plantas son raquílicas, con un amarillamiento blanquecino ascendente y marchitamiento (Eraso et al., 2014).

#### **4.4 Importancia económica y geográfica de la MVB.**

Las enfermedades de origen fúngico son responsables de las considerables pérdidas en diversos cultivos, incluyendo el babaco (Freire, 2015). La MVB es una enfermedad que ha ocasionado la reducción del cultivo en un 100 % (Ochoa & Fonseca, 2000). *Fusarium oxysporum*, se destaca como una de las principales causas de mermas significativas en los rendimientos de este fruto, lo que ha obligado a muchos agricultores a modificar sus prácticas de producción; sin embargo, los estudios actuales mencionan que existen más patógenos que interactúan con la planta y ocasionan la enfermedad (Ochoa & Fonseca, 2000; Robles et al., 2016).

#### **4.5 Factores predisponentes y de propagación de la MVB.**

Según Agrios (2005), los factores predisponentes son: propagación mediante factores bióticos y abióticos, la incidencia en cultivos mal manejados que puede llegar al 100 % y cultivos con sistemas de riego por aspersión.

Además el patógeno se disemina entre plantaciones, principalmente por material de siembra, a través del agua de riego, y además el viento (Fonseca & Ochoa, 1998; Ochoa & Ellis, 2002).

#### **4.6 Microorganismos causantes de la Marchitez Vascular.**

El género *Fusarium* spp. está asociado con enfermedades que afectan las raíces y el sistema vascular de diversas plantas. Provoca la marchitez de varias especies vegetales, incluyendo algunas gramíneas (Silva et al., 2007).

##### **4.6.1 Fusarium**

Es un género de hongos saprófito y parásito de plantas de distribución mundial, reside de manera natural en el suelo y en materia orgánica en descomposición. Es conocido por su capacidad fitopatógena que tiene un impacto en una amplia gama de cultivos.

*Fusarium oxysporum* es una de la especie de hongo fitopatógeno morfológicamente la más variable, pudiendo llegar a constituir entre el 8 y 10 % del total de la flora fungosa del suelo (Fernández, 1979). Una de las posibles causas por las que las estrategias de control para dicha enfermedad son débilmente efectivas, según algunas investigaciones recientes realizadas por Robles et al. (2014) indican que la propagación de la enfermedad no se debe únicamente a

la incidencia de *F. oxysporum*, sino que involucra un sistema patológico complejo que interactúa con la planta.

Según Hoog et al., (2000) y Leslie & Summerell (2006), la clasificación de *Fusarium* es la siguiente (Tabla 2).

**Tabla 2.** Clasificación taxonómica de *Fusarium* spp.

<b>División:</b>	Ascomycota
<b>Clase:</b>	Eucomycetes Sordariomycetes
<b>Orden:</b>	Hypocreales
<b>Familia:</b>	Hypocreaceae
<b>Género:</b>	<i>Fusarium</i>
<b>Especie:</b>	<i>F. oxysporum</i>

#### **4.7 Identificación morfológica de especies de *Fusarium*.**

Tradicionalmente, la identificación de las especies de *Fusarium* se lleva a cabo considerando características morfológicas tales como la forma y el tamaño de los macro y microconidios; así como la presencia o ausencia de clamidosporas. Además, se evalúa la apariencia, forma y pigmentación de las colonias, junto con la velocidad de crecimiento. Es importante comprender las características morfológicas para identificar las especies de *Fusarium* causantes de muerte en plantas de babaco (Rentería et al., 2020).

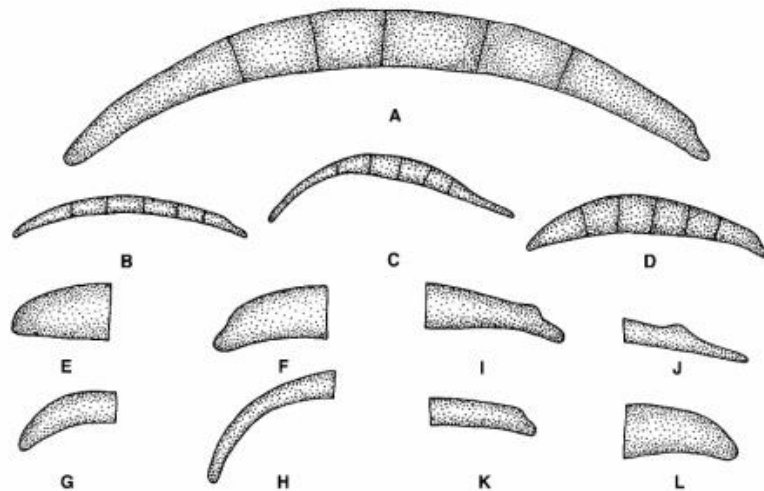
La morfología de las colonias es altamente variable y puede presentar dos tipos, siendo particularmente relevante la de tipo micelial, caracterizada por el crecimiento abundante de micelio aéreo con una textura algodonosa. Las colonias muestran una coloración variable, desde blanco hasta tonos rosado durazno, pero usualmente presentan un matiz púrpura o violeta más intenso en la superficie del agar y la presencia limitada de microconidias (Garcés et al., 2001).

Las estructuras representativas de la clase Deuteromycetes incluyen a los hongos superiores, que poseen micelio tabicado, que no se conocen por reproducirse sexualmente, o si lo hacen, es rara o simplemente no se ha documentado. Estos hongos se reproducen asexualmente mediante la formación de esporas llamadas conidios, que pueden ser de diversas formas y tamaños, hialinos u oscuros, unicelulares o multicelulares, y pueden presentarse de forma libre o agrupados en ramilletes o cadenas (Esteli, 2011).

- **Etiología**

El hongo produce tres categorías de esporas llamadas: macroconidio, microconidio y clamidosporas. Algunas especies producen los tres tipos de esporas, mientras que otras especies no.

- ✓ El macroconidio es el órgano principal para la caracterización (Figura 1), no solamente de las especies, sino también del género *Fusarium*; su forma y tamaño varía según la especie (Leslie & Summerell, 2006).
- ✓ El microconidio es una característica principal en la taxonomía del género *Fusarium* y se considera su presencia o ausencia. Si el conidio está presente, las características a considerarse son: forma, modo de formación, si está solo, en falsas cabezas o en cadenas (Leslie & Summerell, 2006).
- ✓ Las clamidosporas si están presentes, pueden estar solas, en pares, en grupos o en cadenas. Su pared puede ser rugosa, gruesa o lisa. Esta es una espora que sobrevive ante ambientes adversos que garantiza la supervivencia y supervivencia del hongo cadenas (Leslie & Summerell, 2006).



**Figura 1.** Características morfológicas para la identificación de especies de *Fusarium*.

A-D: formas representativas de macroconidios. E-H: formas de la célula apical del macroconidio. I-L: formas de la célula basal del macroconidio (Leslie & Summerell, 2006).

- **Patología**

Los procesos de infección de *Fusarium* inician con la germinación de las clamidosporas presentes en residuos de cosechas pasadas o el micelio presente en el suelo, el mismo que penetra a mediante la raíz o por daños mecánicos al nivel de las raíces de las plantas. El hongo extiende sus estructuras dentro de la corteza de la raíz, alcanza la endodermis y llega a los vasos

xilemáticos, desde donde asciende y se expande por toda la planta. El micelio se multiplica y crea sus primeras estructuras reproductivas (microconidios), que obstruyen los vasos, alterando el volumen del agua disponible para las hojas y el funcionamiento general de toda la planta. Esto conduce al cierre de los estomas, marchitamiento de hojas y la muerte de la planta (Dean et al., 2012).

#### **4.8 Métodos de diagnóstico y detección de los microorganismos**

##### **4.8.1 Hongos fitopatógenos**

La mayoría de las especies de microorganismos son mesófilas (20-30 °C), se desarrollan mejor en pH entre 4-7 y en ambientes con humedad relativa 60 % (Granados, 2018).

Su cuerpo está conformado de un talo vegetativo conocido como micelio, el cual está constituido por filamentos tubulares ramificados conocidos como hifas. La presencia o ausencia de tabiques transversales en el micelio constituyen la primera característica distintiva para su identificación; por lo tanto, si la hifa presenta tabiques (septos), se denomina micelio septado, y si carece de ellos, se denomina micelio cenocítico. Esta distinción en la presencia de tabiques transversales es crucial para diferenciar entre ambos tipos de micelio.

##### **4.8.2 Aislamiento de hongos fitopatógenos**

El aislamiento se refiere al proceso de separación de microorganismos de su sustrato natural (planta) para cultivarlos en un medio artificial. El aislamiento y cultivos tienen varios propósitos, el más común en un laboratorio de fitopatología es encontrar la causa de una enfermedad desconocida, pero también pueden tener fines didácticos o de investigación sobre taxonomía, fisiología y genética microbiana. Es común también cuando se desea tener cepas puras, en la evaluación de productos químicos in vitro (Chile, 2016).

El método más común para aislar patógenos de hojas infectadas y otros órganos de la planta implica seleccionar cortes pequeños de 5 a 10 mm<sup>2</sup> desde el borde de la lesión infectada, de manera que incluyan tejidos enfermos y aparentemente sanos (Agrios, 2005).

Para que el hongo crezca y esporule no solo se necesita un fragmento del material hospedante, sino de medios de cultivos recomendados para hongos (Agrios, 2007).

##### **4.8.3 Medios de cultivo**

El medio de cultivo se refiere a una sustancia o solución que proporciona las condiciones necesarias para el desarrollo de microorganismos, mientras que el cultivo se define como el resultado obtenido del crecimiento y proliferación de un organismo en dicho medio (Cañedo & Ames, 2004).

- ✓ **Agar Papa Dextrosa (PDA).** Se utiliza como medio de cultivo para evaluar la morfología y pigmentación de las colonias. Su elevado contenido de carbohidratos promueve un mayor crecimiento, aunque puede retardar la esporulación hasta por un mes, lo que puede resultar en la formación de colonias atípicas. La temperatura de incubación de los hongos en este medio es de 25 a 28 ° C (Camacho, 2009).

#### **4.9 Identificación de hongos**

Para la identificación de hongos fitopatógenos es necesario la observación de sus estructuras somáticas y reproductivas. Para determinar el género y especie del hongo patógeno son necesarios el empleo de la técnica de cámara húmeda (aislamiento) y el uso de claves taxonómicas (Calzada, 2002; Chile, 2016).

#### **4.10 Biocontrol de la Marchitez Vascular**

El control biológico o biocontrol, consiste en el uso de microorganismos para reducir la densidad de población o el impacto de un organismo plaga, y hacerlo menos perjudicial de lo que es. Los mecanismos más estudiados han sido micoparasitismo, competencia y antibiosis. Por otra parte, la capacidad de poseer diferentes modos de acción puede ser responsables de controlar diferentes enfermedades en el mismo huésped o enfermedad en distintos huéspedes (Sempere & Santamarina, 2008).

En el control biológico microbiano, se emplean esporas o filtrados de cultivos de hongos antagonistas que actúan mediante productos metabólicos. Estos productos ejercen su acción sobre la pared celular, membrana y los ácidos nucleicos de los hospederos, o bien, mediante micoparasitismo, matando directamente las estructuras invadidas. Este proceso contribuye a reducir la concentración de esporas o la densidad poblacional, lo que permite el ataque de muchos hongos fitopatógenos de gran importancia económica (Cueva, 2007). Se han descrito aislados de *Trichoderma*, *Gliocadium*, *Talaromyces flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Stilbella aciculosa*, *Acremonium zeae*, *Phomopsis* spp. y especies de *Penicillium* como *Penicillium nigrkans* y otros hongos que producen antibióticos con actividad biocontroladora frente a otras especies fúngicas (Sempere & Santamarina, 2008).

Además, la presencia de metabolitos secundarios producidos por algunos microorganismos, pueden inducir procesos de resistencia en las plantas, estimulando la producción de sustancias inhibitoras (Cueva, 2007). El uso de antagonistas, como los hongos del género *Trichoderma* destaca por su versatilidad, adaptabilidad y facilidad de manipulación, lo que los convierte en una opción efectiva en el manejo de enfermedades causadas por

patógenos fúngicos del suelo, como *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium*, entre otros (Guédez et al., 2012).

El control biológico basado en hongos, como *Trichoderma*, es una alternativa eficaz a largo plazo, debido a que implica la adaptación del microorganismo al medio ambiente y su establecimiento en los ecosistemas, un mecanismo muy diferente al de los productos químicos, que son compuestos inertes. En el manejo integrado de enfermedades, todos estos elementos deben tenerse en cuenta (Guédez et al., 2012). Controladores biológicos como *Trichoderma* spp. han demostrado efectos positivos en el control de diversas enfermedades debido a su interacción sinérgica dentro de un consorcio (Sudheer et al., 2013). Estos hongos predominan en los ecosistemas terrestres y acuáticos, beneficiándose de su alta capacidad reproductiva y tolerancia a condiciones extremas de temperatura, pH y salinidad, así como la presencia de materia orgánica y humedad (Argumedo et al., 2009).

Según el estudio realizado por Martínez (2012), sobre la evaluación y selección de cepas de *Trichoderma* spp. para control biológico de *Fusarium* spp. en maracuyá, en condiciones *in vitro*. Se determinó que la evaluación del PICR (porcentaje de inhibición del crecimiento radial) tuvo un 50%, la cual corresponde al grado 2 de la escala de capacidad antagónica frente a la cepa de *Fusarium solani*.

*Penicillium* es un género productor de polisacáridos y enzimas que degradan la pectina, además de secretar glucanasas, celulasas, hemicelulasas y otras enzimas que degradan la pared celular del patógeno (Sempere & Santamarina, 2008).

Dentro de los mecanismos responsables de su capacidad antagonista incluyen antibiosis, competencia (espacio-nutrientes), micoparasitismo, desactivación de enzimas de los patógenos, etc (Martínez et al., 2013).

Actualmente, no existen estudios de efecto de *Lecanicillium* spp. en la MVB, sin embargo, datan algunos estudios de aplicación en el hongo *Hemileia vastatrix*.



## 5. Metodología

### 5.1 Diseño metodológico

#### 5.1.1 Descripción de las Zonas Estudio

Loja está situada en la parte sur del país y es la provincia con la menor altitud entre las 10 provincias que compone la región interandina. Su topografía es notablemente variada, abarca desde zonas montañosas hasta áreas de sabana, y posee una gran diversidad de climas.

- ✓ **La Argelia:** Es un barrio situado al sur de la hoya de Loja, perteneciente a la parroquia Punzara, que forma parte del cantón y provincia de Loja. Está aproximadamente a 5 km de la ciudad (Vera, 2019).
- ✓ **Tierras coloradas:** Es un barrio ubicado en una topografía elevada perteneciente a la parroquia San Sebastián y en los límites de la ciudad de Loja. Algunos sectores tienen una topografía bastante pronunciada (Ponce & Michael, 2018).
- ✓ **Consacola:** Es una localidad ubicada en el norte de Loja, en la parroquia Sucre.

En la Tabla 3 se pueden ver cada una de las coordenadas geográficas de las localidades de recolección de muestras.

**Tabla 3.** Origen de las muestras del Babaco para el aislamiento de microorganismos fúngicos de Loja

Cantón	Localidad	Código	Coordenadas geográficas		
			Latitud (S)	Longitud (O)	Altitud (msnm)
Loja	Argelia	M1R1	4° 02' 47"	79° 12' 40"	2 135
	Tierras	M3R1			
	Coloradas	M3R2	4° 0' 45"	79° 14' 29"	2 420
		M5R2			
	Consacola	M5R5	-3° 58' 21"	79° 12' 56"	2 100

**Leyenda:** Argelia (M1), Tierras Coloradas (M3) y Consacola (M5).

#### 5.1.2 Condiciones Climáticas

Las condiciones climáticas imperantes en Loja se caracterizan por una temperatura cálida y moderada. Incluso en el mes más seco hay mucha lluvia. El clima aquí se clasifica como Cfb (C: Templado, f: Precipitaciones constantes y b: Templado) por el sistema Köppen-Geiger. La temperatura en este lugar es de aproximadamente 15.0 °C, según determina el análisis estadístico. La precipitación anual en esta localidad es de aproximadamente 1453 mm. La zona de vida a la que pertenece, según Holdridge es bosque seco montano bajo (Cañadas, 1993).

### 5.1.3 Localización y duración del experimento

El desarrollo del proyecto se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Nacional de Loja, en el laboratorio de Sanidad Vegetal correspondiente a la carrera de agronomía de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables. La duración del experimento tiene un tiempo estimado de 5 meses (180 días).

### 5.1.4 Tipo de investigación

La investigación es de carácter cuantitativo, cualitativo; la misma que permitió medir los indicadores de los dos tipos como: Tasa de Crecimiento Radial (TCR) y color de colonias, entre otros. Es descriptivo y explicativo, porque se describieron las características de los microorganismos causantes de la marchitez vascular del babaco, así como la fundamentación de las posibles razones del nivel de incidencia o inhibición de los microorganismos fitopatógenos frente a los antagonistas. El diseño es de tipo experimental debido a que se realiza en condiciones de laboratorio.

### 5.1.5 Diseño experimental

Para el primer objetivo específico se realizó un diseño experimental completamente al azar, el cual estuvo determinado por aislados de microorganismos patógenos asociados a la MVB (*Fusarium* spp.) de las diferentes zonas. Para el segundo objetivo específico se realizó un diseño experimental con arreglo bifactorial con 20 tratamientos que corresponde a cinco aislados de *Fusarium* spp. y cuatro antagonistas. Los tratamientos utilizados fueron: **T1:** M1R1+*Trichoderma* spp. **T2:** M1R1+*Penicillium* spp. **T3:** M1R1+ *Lecanicillium* spp. **T4:** M3R1+*Trichoderma* spp. **T5:** M3R1+*Penicillium* spp. **T6:** M3R1+ *Lecanicillium* spp. **T7:** M3R2+*Trichoderma* spp. **T8:** M3R2+*Penicillium* spp. **T9:** M3R2+ *Lecanicillium* spp. **T10:** M5R2+*Trichoderma* spp. **T11:** M5R2 +*Penicillium* spp. **T12:** M5R2+ *Lecanicillium* sp. **T13:** M5R5+*Trichoderma* spp. **T14:** M5R5+*Penicillium* spp. **T15:** M5R5+ *Lecanicillium* spp. Los respectivos testigos son: **T16:** M1R1, **T17:** M3R1, **T18:**M3R2, **T19:** M5R2, **T20:** M5R5.

**Diseño experimental:** DCA bifactorial

**Unidad experimental:** Cajas de Petri

**Factores o variables independientes:** 4 Antagonistas y 5 aislados patógenos

**Número de tratamientos:** 20 incluidos el testigo

**Variable dependiente:** % de inhibición

**Número de replicas:** 6 por cada tratamiento

**Testigo absoluto:** Uno

### 5.1.6 Modelo matemático del diseño experimental

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma_k + E_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$ : Es la 1-ésima observación de los i-j-ésimos tratamientos.

i: 1...a niveles del factor 1.

j: 1...b niveles del factor 2.

k: 1... r números de bloque.

$\mu$ : es la media general.

$\alpha_i$ : Es el i-esimo efecto del primer factor.

$\beta_j$ : Es el j-esimo efecto del segundo factor.

$(\alpha\beta)_{ij}$ : Es el ij-esimo efecto del primer factor y el segundo.

$\gamma_k$ : Es el k-esimo bloque.

$E_{ijk}$ : Es el error aleatorio del ij-esimo efecto en el k-esimo bloque.

## 5.2 Metodología general

### 5.2.1 Metodología para el primer objetivo

*“Caracterizar morfológica y culturalmente los microorganismos asociados a la MVB procedentes de Loja”*

- **Colecta de muestras y aislamiento de los microorganismos asociados a la MVB.**

Los muestreos fueron llevados a cabo desde el 26 de octubre al 11 de noviembre de 2023, en zonas de mayor producción de babaco en el Cantón Loja, Ecuador, (Tabla 4). Las muestras recolectadas fueron obtenidas de plantas que presentaban síntomas tales como clorosis en las hojas inferiores, decoloración de los haces vasculares, pudrición en cuello y base del tallo, así como defoliación. Los síntomas se caracterizaron, tanto en el campo como en el laboratorio. El análisis de las muestras se realizó mediante cortes transversales y longitudinales de las raíces afectadas, utilizando observaciones visuales a simple vista y con la asistencia de un microscopio estereoscópico de la marca *Olympus*, con objetivo de 10x.

**Tabla 4.** Áreas de muestreo de la marchitez vascular del babaco en Loja

Cantones	Parroquia	Barrios	Total, de muestras colectadas
Loja	Punzara	Argelia	1
	Sucre	Tierras Coloradas	2
	Carigán	Consacola	2

Para el procesamiento de muestras, se realizaron cortes de explantes en la zona raíz y tallo de lesiones en fases tempranas e intermedias de la enfermedad. Las muestras extraídas de

las raíces y los tallos de las plantas fueron sometidas a un lavado con agua corriente durante un periodo de 3 minutos, con el fin de eliminar partículas de suelo del área recolectada. Posteriormente, las muestras seleccionadas (secciones afectadas de tallos y raíces) se cortaron en segmentos de 0,3 a 0,5 cm de largo y se desinfectaron durante 2 min en hipoclorito de sodio (NaClO) al 2,5 %, seguido de 1 min en alcohol etílico al 70 %. Además, se llevó a cabo un enjuague de tres veces con agua destilada, cada una durante 1 min. El propósito de este procedimiento fue eliminar cualquier macroorganismos saprófitos y no patogénicos presente en la superficie del tejido vegetal.

A continuación, el tejido vegetal desinfectado, se siembra en cajas Petri (90 x 15 mm), empleando un medio de cultivo PDA (Difco). Luego, se procede a sellar las cajas Petri con papel Parafilm e incubar durante 48 h a 28 °C.

Posteriormente, se tomaron cinco secciones del tejido vegetal previamente desinfectado se colocaron en cajas de Petri (90 x 15 mm) que contenían medio de cultivo PDA (20 mm). Las cajas de Petri se sellaron con papel Parafilm y se incubaron durante 48 h a  $\pm$  28 °C, tomando en cuenta el procedimiento sugerido por Leslie & Summerell (2006). Los hongos que se desarrollaron se transfirieron a medio de cultivo PDA utilizando la técnica de corte de punta de hifa (Rojas, 2011). Finalmente, se realizaron observaciones al microscopio (40x) y se efectuaron cortes de discos de agar que contenían esporas individuales germinadas. Estas esporas se transfirieron a medio de cultivo PDA, para su incubación (Nelson et al., 1983).

- **Caracterización morfo-cultural**

La caracterización morfológica y cultural de los hongos obtenidos de las raíces del babaco se realizó mediante el uso de claves taxonómicas propuestas por Barnett & Hunter (1987), Watanabe (2002) y Leslie & Summerell (2006). Proceso que incluyó el análisis de diversas características morfológicas, considerando el tipo y el color de la colonia [anverso y reverso (de acuerdo con la tabla de colores propuesta por Rayner (1970)], así como la determinación de la Tasa de Crecimiento Radial (TCR), la medición y conteo de las estructuras reproductivas.

Además, para el calcular de TCR, se sembraron 6 cajas de Petri (90 x 15 mm), con medio de cultivo PDA por cada muestra. Se transfirió de forma aséptica un disco del cultivo fúngico (7,61 mm de radio) que contenían estructuras vegetativas al medio de cultivo PDA. Las cajas se sellaron e incubaron a  $\pm$  28 °C en una incubadora digital (durante 72 h). El cálculo de la TCR (mm/día) se llevó a cabo comparando el crecimiento a los cuatro días con el de tres días, el de seis días con el de cinco días, y el de ocho días con el de siete días y así sucesivamente. La TCR se calculó según la fórmula propuesta por Baldrian & Gabriel, (2002).

$$\text{TCR} = \frac{(\text{Df} - \text{Di})}{(\text{Tf} - \text{Ti})}$$

Dónde:

Donde: **TCR**: Tasa de crecimiento radial; **Df**: Diámetro final (mm); **Di**: Diámetro inicial (mm); **Tf**: Tiempo final (días); **Ti**: Tiempo inicial (días).

Los valores de diámetros inicial (Di) y final (Df), así como los tiempos iniciales (Ti) y final (Tf) correspondieron a la variación diaria en crecimiento y tiempo transcurrido. La toma de medidas se realizó durante un periodo de ocho días, ya que a partir de este tiempo varios de los aislados cubrieron toda la superficie de la placa. Los aislados se agruparon según las categorías de crecimiento: lento (10 mm de crecimiento por día), medio (10-12 mm de crecimiento por día) y rápido (>12 mm de crecimiento por día) (Dubey et al., 2010).

Además, se procedió a medir y caracterizar las estructuras reproductivas, para lo cual se hicieron microcultivos de cada aislado en medio de cultivo PDA, los cuales se incubaron a  $\pm 28$  °C por 72 h. Después de la incubación, se examinaron las muestras utilizando un microscopio (40x) y para medir se utilizó el programa imagen J, en el cual se midió el largo y ancho tanto de macroconidios como de microconidios. Se realizaron mediciones de 100 microconidios y 100 macroconidios, seleccionados al azar para determinar su tamaño promedio (Castaño, 1998). Además, se realizó el conteo de conidios en cada uno de los aislados, mediante el método de conteo por cuadrantes en la cámara Neubauer, con un aumento de 40x. Para el cálculo de la concentración final de UFC se utilizó la fórmula descrita por Rojas-Triviño (2011).

$$\text{Concentración (UFC)} = \frac{\text{Número de células} \times 10\,000}{\text{Número de cuadrantes contados}}$$

La identidad a nivel de género de los aislados fúngicos se estableció, según las características morfológicas (macro y microscópicas) y culturales. Además, se utilizaron las claves detalladas de Barnett & Hunter (1987), Watanabe (2002), Leslie & Summerell (2006).

### 5.2.2 Metodología para el segundo objetivo

*“Realizar pruebas de biocontrol con microorganismos antagonistas bajo condiciones in vitro.”*

Los antagonistas fueron proporcionados por el laboratorio de sanidad vegetal y Biotecnología de la UNL.

- **Pruebas de antagonismo in vitro a partir de cultivos duales**

Una vez caracterizados los 5 aislados de *Fusarium* spp. se procedió a activar los tres biocontroladores: *Trichoderma* spp. *Penicillium* spp. y *Lecanicillium* spp.

En el caso de antagonistas fúngicos como *Trichoderma* spp. *Penicillium* spp. y *Lecanicillium* spp. se realizaron cultivos duales, según Hassan *et al.* (2014), y se colocó un disco de 3 mm de diámetro, tanto de la colonia del antagonista, como de la colonia del patógeno (6 días), enfrentados en cajas de Petri con medio de cultivo PDA. Se utilizaron tratamientos controles, en los cuales se colocó un disco del hongo patógeno de 3 mm de diámetro en el centro de las placas, con medio de cultivo PDA. Todas las placas se incubaron a  $\pm 28$  °C.

### 5.3 Parámetros Evaluados

El análisis estadístico se llevó a cabo con el paquete estadístico Infostat. Para analizar la TCR, y realizar la cuantificación y mediciones de las estructuras reproductivas, se utilizaron diseños experimentales completamente aleatorios, con un total de 6 réplicas. En todos los casos, se verificaron los supuestos de homogeneidad y normalidad de las varianzas, en caso de cumplirse los supuestos, se realizaron pruebas paramétricas, con el análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias mediante las pruebas de Tukey ( $\alpha < 0.05$ ) (Leech *et al.*, 2005).

Las evaluaciones se llevaron a cabo cada 24 horas utilizando un calibrador digital tipo pie de rey, y los valores se registraron en milímetros. La toma de datos no finalizó hasta que colonizó toda la placa el tratamiento control. Se determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) (Suárez *et al.*, 2008).

*Formula 1*

$$\text{PICR} = \left[ \frac{(R1 - R2)}{R1} \right] \times 100$$

Donde R1 es el radio del tratamiento control y R2 es el radio del tratamiento en cultivo dual

Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial con 15 tratamientos y 6 repeticiones (cajas de Petri) por tratamiento, que incluyó los tratamientos controles. Los tratamientos utilizados fueron: **T1:** M1R1+*Trichoderma* spp. **T2:** M1R1+*Penicillium* spp. **T3:** M1R1+ *Lecanicillium* spp. **T4:** M3R1+*Trichoderma* spp. **T5:** M3R1+*Penicillium* spp.

**T6:** M3R1+ *Lecanicillium* spp. **T7:** M3R2+*Trichoderma* spp. **T8:** M3R2+*Penicillium* spp. **T9:** M3R2+ *Lecanicillium* spp. **T10:** M5R2+*Trichoderma* spp. **T11:** M5R2 +*Penicillium* spp.

**T12:** M5R2+ *Lecanicillium* spp. **T13:** M5R5+*Trichoderma* spp. **T14:** M5R5+*Penicillium* spp.  
**T15:** M5R5+ *Lecanicillium* spp.

Los resultados del PICR se analizaron mediante la utilización de la prueba del ANOVA ( $\alpha < 0.05$ ), previa comparación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas, mediante el uso del programa Infostat.

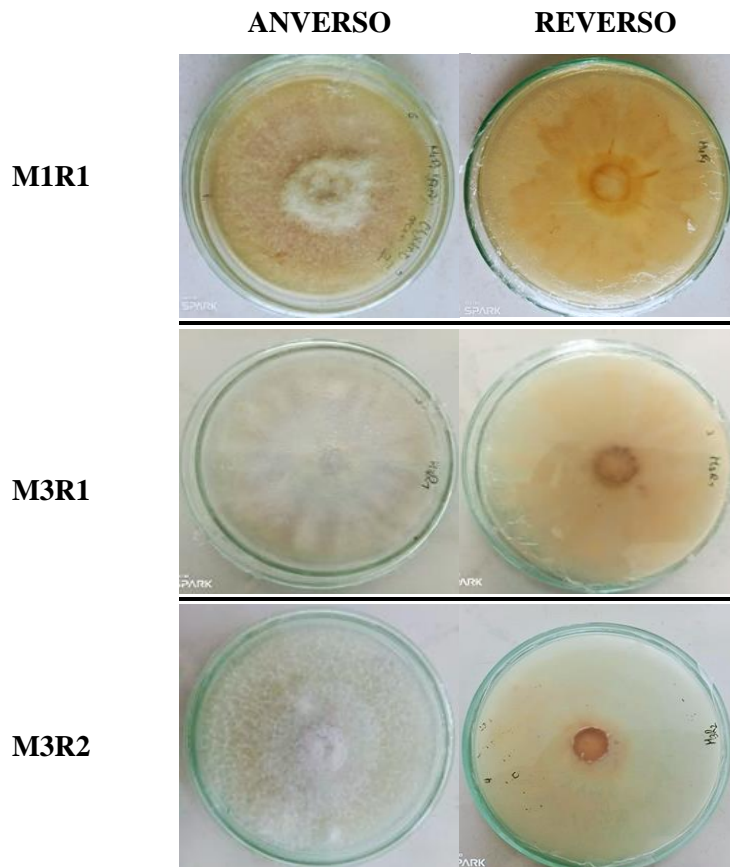
## 6. Resultados

### 6.1 Resultados para el primer objetivo

En el aislamiento de microorganismos asociados a la MVB de las diferentes zonas de Loja, se obtuvieron 5 colonias. Los aislados se caracterizaron morfológica y culturalmente utilizando claves taxonómicas de Barnett & Hunter (1987); Watanabe (2003); Leslie & Summerell (2006). Estas claves detallaron análisis como el tipo de micelio (TDM), el color de la colonia (CDC), la cuantificación del crecimiento radial y las medidas de las estructuras reproductivas.

#### 6.1.1 Caracterización cultural de los aislados de *Fusarium* spp.

Al analizar la pigmentación de los aislados, en el anverso de las cajas con medio de cultivo PDA se observó que variaron entre blanco cremoso, y blanco anaranjado, excepto el aislado M5R5 que presentó tonalidad violeta en el centro. En el reverso la coloración fue entre crema, blanco, rosado, amarillo; el aislado M1R1 presento mayor variabilidad de pigmentación respecto al resto. Todos los aislados mostraron colonias con bordes redondeados y regulares, con una textura afelpada y algodonosa. La formación de anillos se evidenció en el aislado M5R2. Se muestran los colores característicos de *Fusarium* spp. de cada una de las colonias de los diferentes lugares de aislamiento, después de 10 días de crecimiento (Figura 2).





**M5R2**



**M5R5**



**Figura 2.** Características culturales (Pigmentación del anverso y reverso) de los aislados de *Fusarium* spp. procedentes de Loja en medio de cultivo PDA.

**Leyenda:** La Argelia (**M1R1**), Consacola (**M3R1**) y (**M3R2**), Tierras Coloradas (**M5R2**) y (**M5R5**).

**Fuente:** El autor

Para la respectiva caracterización cultural de cada uno de los aislados fúngicos se ha establecido una tabla con datos cualitativos (Tabla 6), la cual nos explica las características del color de cada una de las colonias y el tipo de micelio, en el cual podemos destacar variaciones de micelio en los diferentes aislados de *Fusarium* spp. tal como se detalla en la tabla.

**Tabla 5.** Características culturales de los aislados de *Fusarium* spp. colectados en zonas productivas de babaco en Loja, Ecuador (Datos Cualitativos).

Aislado	Origen del aislado	Color de colonias		Tipo de micelio
		Anverso	Reverso	
<u>M1R1</u>	Argelia	Color blanco a amarillento	Amarillo verdoso (Pantone PMS 121)	Aéreo escaso, o denso flocoso
<u>M3R1</u>	Consacola	Blanco a color crema	Color crema (Pantone PMS 1485)	Aéreo abundante, flocoso
<u>M3R2</u>	Consacola	Color Blanco a color morado pálido	Color crema a anaranjado (Pantone PMS 719)	Aéreo denso, algodonoso
<u>M5R2</u>	Tierras Coloradas	Color blanco a color anaranjado	Color rosa pálido (Pantone PMS 706)	Crecimiento radial con anillos concéntricos, aéreo, denso, algodonoso.

<u>M5R5</u>	Tierras Coloradas	Color durazno a blanco	Color durazno a naranja (Pantone PMS 152)	Aéreo escaso o floccoso de color durazno con tientes púrpura.
-------------	-------------------	------------------------	---	---

**Leyenda:** La Argelia (**M1R1**), Consacola (**M3R1**) y (**M3R2**), Tierras Coloradas (**M5R2**) y (**M5R5**). Como referencia de colores se empleó colores Pantone PMS.

### 6.1.2 Caracterización morfológica de los aislados de *Fusarium* spp.

Seguidamente, en la tabla 7 (tabla de datos cuantitativos) se representa la tasa de crecimiento radial (TCR) de los diferentes aislados. Cada dato representa el promedio de la medición radial en milímetros (mm) durante los intervalos de tiempo señalados. En este parámetro se observan pequeñas variaciones entre los diferentes intervalos de tiempo.

También en la misma tabla podemos apreciar el conteo de las estructuras reproductivas, donde se representa el conteo de los conidios por cada cuadrante de la cámara Neubauer Doble. De esta manera podemos evidenciar que los mejores resultados estadísticos corresponden al aislado M5R2 procedente de (Tierras Coloradas), luego le sigue M3R1 (Consacola), M1R1 (La Argelia), M5R5 (Tierras Coloradas) y finalmente M3R2 (Consacola).

**Tabla 6.** Características culturales de los aislados de *Fusarium* spp. colectados en zonas productivas de babaco en Loja, Ecuador (Datos Cuantitativos).

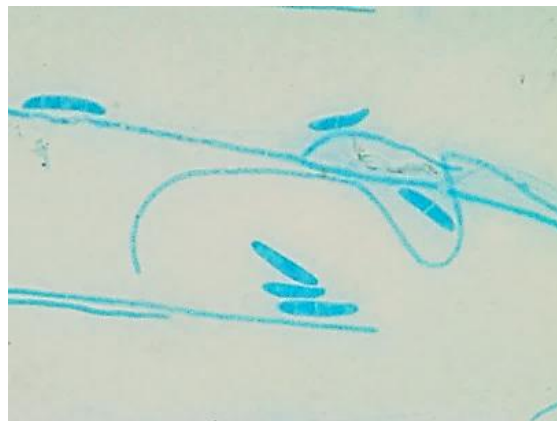
Aislado	Origen de aislado	Tasa de crecimiento radial (mm)					Número de conidios/mL
		Día 2	Día 4	Día 6	Día 8	Día 10	
<u>M1R1</u>	Argelia	3,74	13,69	11,49	10,81 b	13,11 bc	5,35 x 10 <sup>5</sup> ab
<u>M3R1</u>	Consacola	3,15	14,20	13,69	13,42 ab	16,54 ab	5,53 x 10 <sup>5</sup> ab
<u>M3R2</u>	Consacola	2,77	14,32	<b>14,97</b>	<b>15,56 a</b>	14,68 abc	3,43 x 10 <sup>5</sup> b
<u>M5R2</u>	Tierras Coloradas	3,68	<b>14,93</b>	13,26	12,73 ab	<b>16,88 a</b>	<b>8,79 x 10<sup>5</sup> a</b>
<u>M5R5</u>	Tierras Coloradas	2,66	15,23	12,51	11,79 ab	12,06 c	4,34 x 10 <sup>5</sup> b

**Leyenda:** La Argelia (**M1r1**), Consacola (**M3R1**) y (**M3R2**), Tierras Coloradas (**M5R2**) y (**M5R5**). Medias con letras distintas en cada columna difieren según la prueba de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ) ( $n=30$ ) Según prueba Tukey entre aislados existe poca diferencia significativa.

En la Tabla 7 se puede determinar que el número de estructuras reproductivas no influye en la tasa de crecimiento radial de los aislados, sin embargo, es evidente que existe pequeñas variabilidades en las evaluaciones de los aislados de cada localidad.

Continuamente se procedió a observar a nivel microscópico las estructuras de cada uno de los aislados, en el cual se observó a nivel de macroconidias formas diferentes entre cada uno de los aislados, para el M1R1 presento conidios curvados con una media de 2 a 4 septos, el aislado M3R1 presento conidios ligeramente curvados con una media de tres septos y con un pie basal, el aislado M3R2 presento conidios con extremos redondeados, rectas y una media de septos de 2 a 4, el M5R2 presento conidios alargadas, curvadas, con parte apical de forma puntiaguda y parte basal en forma de gancho, el último aislado correspondiente a M5R5 presenta largos conidios con un mayor número de septos (7 septos), células apicales con ligera forma de gancho y células basales con ligera forma de pie.

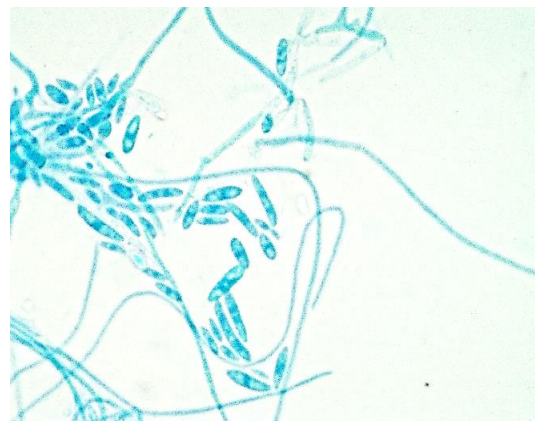
**M1R1**

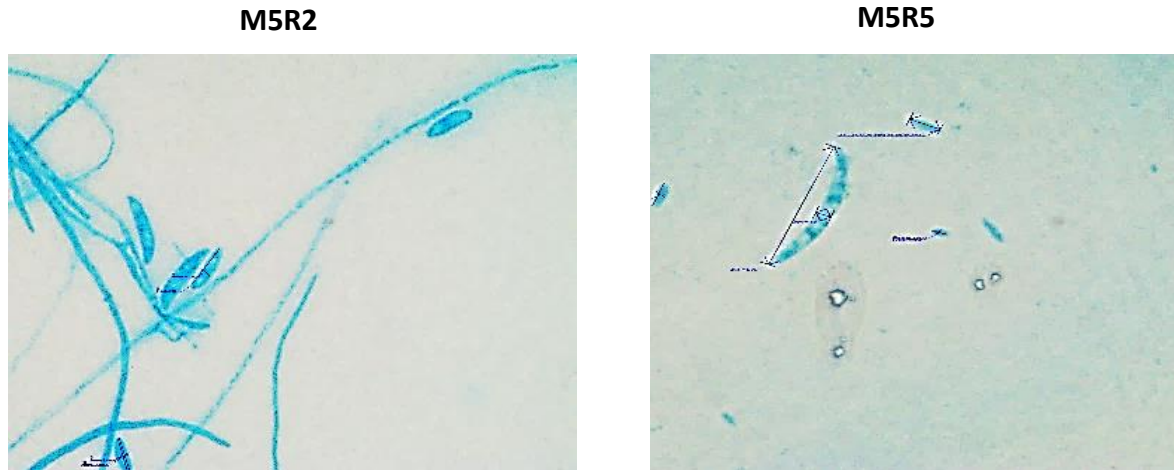


**M3R1**



**M3R2**





**Figura 3.** Estructuras macroconidios de los diferentes aislados de *Fusarium* spp., observados en microscopio 40x.  
**Fuente:** El autor

La tabla 9 presenta los datos de tamaño de macro y microconidios por cada aislado. Los valores están expresados en micras (um), y representan el promedio de las mediciones tomadas. Además, se proporciona información sobre el número de septos correspondiente.

Dados estos resultados se define que el aislado con mayor tamaño de macro conidios es el M5R5, luego el M3R1, M5R2 y finalmente el M1R1 y M3R2. El mejor valor estadístico para los macroconidios correspondió al aislado M5R5, mientras que para los microconidios el aislado M3R1.

**Tabla 7.** Tamaño de macro y microconidios de *Fusarium* spp., colectados en zonas productivas de babaco en Loja, Ecuador (Datos Cuantitativos)

Aislado	Origen de aislado	Macroconidios			Microconidios
		Talla (µm)	Forma	Septo	Talla (µm)
<u>M1R1</u>	Argelia	24,083x4,727 ab	Curvada	2 y 4 septos	11,34x2,987 b
<u>M3R1</u>	Consacola	26,74x4,500 ab	Ligeramente curvado	3 septos	14,40x3,076 a
<u>M3R2</u>	Consacola	23,023x3,572 c	Ancha y redonda	2 y 4 septos	10,01x3,282 b
<u>M5R2</u>	Tierras Coloradas	25,142x3,660 b	Curvado	2 y 3 septos	10,04x1,934 b
<u>M5R5</u>	Tierras Coloradas	32,338x3,239 a	Largas y curvadas, forma de pie	2 y 7 septos	9,21x2,306 b

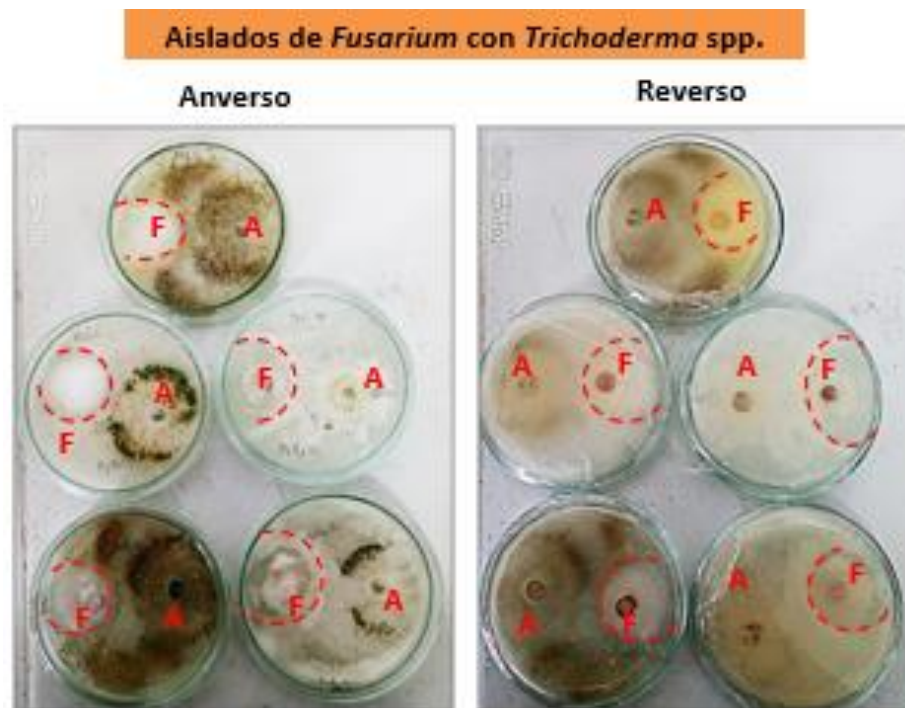
**Leyenda:** La Argelia (**M1r1**), Consacola (**M3R1**) y (**M3R2**), Tierras Coloradas (**M5R2**) y (**M5R5**).

Medias con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ) ( $n=200$ ).

## 6.2 Resultados para el segundo objetivo

### 6.2.1 PICR

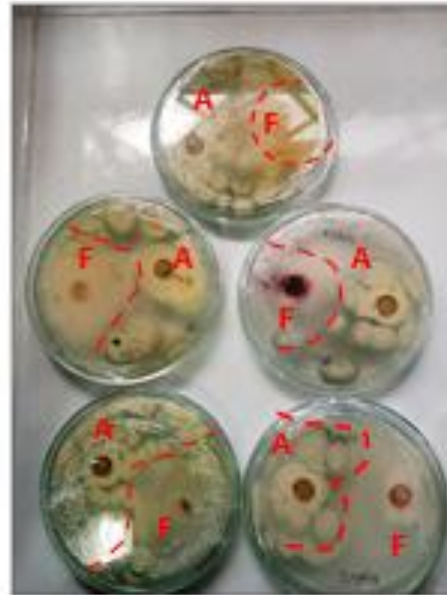
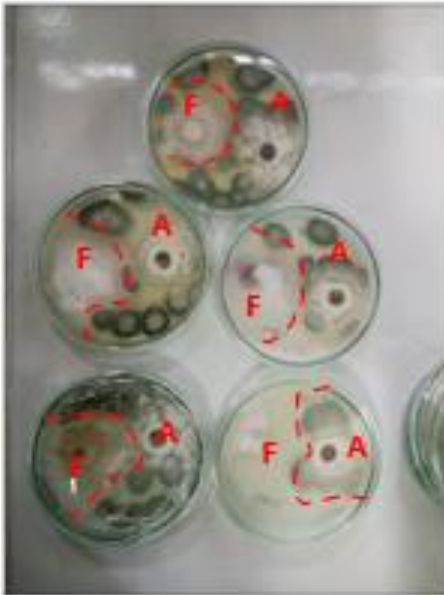
En las cajas de Petri se observa los diferentes crecimientos e inhibiciones de los aislados de *Fusarium* spp. en contacto con los antagonistas: *Trichoderma* spp. *Penicillium* spp. y *Lecanicillium* spp. a nivel anverso y reverso, en el cual a simple vista se puede apreciar que la *Trichoderma* spp. ha funcionado mejor como controladora de *Fusarium* spp., colonizando las tres cuartas partes de la caja de Petri.



**Aislados de *Fusarium* con *Penicillium* spp.**

**Anverso**

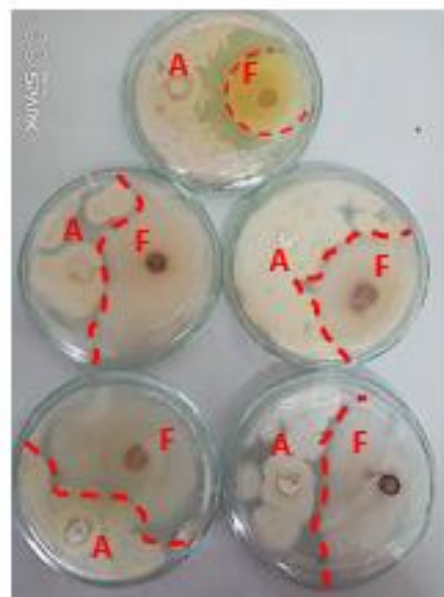
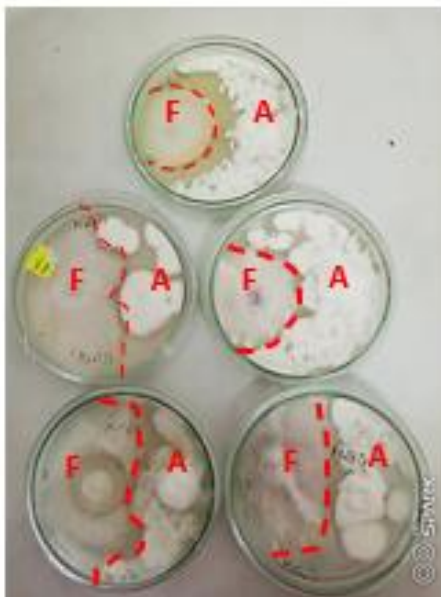
**Reverso**



**Aislados de *Fusarium* con *Lecanicillium* spp.**

**Anverso**

**Reverso**



**Figura 4.** Biocontroles de los diferentes aislados de *Fusarium* spp. con los antagonistas.

**Fuente:** El autor



Las siguientes tablas (Tabla 8 y Tabla 9) presentan los datos correspondientes al PICR de los diferentes tratamientos, expresado en porcentaje y su vez en milímetros. Cabe destacar que la tabla 8 indica los valores correspondientes a los días: dos, cuatro y seis; la tabla 9 indican los valores correspondientes a los días siguientes: ocho, diez y doce en donde se completó el llenado de la caja de Petri del tratamiento control. Las tablas 8 y 9 además nos resalta los valores representativos entre los diferentes días; Primeramente, observando en la tabla 8 de PICR, en el día dos se reflejan diferencias significativas entre los tratamientos, en donde destaca el tratamiento M3R1T (**T4:** M3R1+*Trichoderma* spp) con un 25,87% de inhibición. En el día 4, el tratamiento M3R2T (**T7:** M3R2+*Trichoderma* spp) con un 43,22%, y en el día 6 el mejor biocontrol se obtuvo en el tratamiento M3R2T (**T7:** M3R2+*Trichoderma* spp) con un 68,16%.

En la tabla 9, correspondiente al día 8 con un 76,69% para el tratamiento M5R5T (**T13:** M5R5+*Trichoderma* spp), día 10 con 76,51 % correspondiente al tratamiento M3R2T (**T7:** M3R2+*Trichoderma* spp) y finalmente al día 12 con 83,06 % para el tratamiento M5R2T (**T10:** M5R2+*Trichoderma* spp). Los resultados traducen a la *Trichoderma* spp. como el biocontrolador más eficaz.

Además, es importante resaltar que la inhibición ya significativa por biocontroladores empezó desde el día cuatro, es decir a la segunda medición ya *Trichoderma* spp. empezó a controlar a los aislados de *Fusarium* spp. En cambio, para *Lecanicillium* spp. la inhibición significativa empezó al día 6 y para *Penicillium* spp. igualmente, al día 6.

**Tabla 8.** Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%) de aislados de *Fusarium* spp. con los respectivos biocontroladores.

Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%)						
Tratamientos	mm	Día 2 (%)	mm	Día 4 (%)	mm	Día 6 (%)
<b>M1R1T</b>	5,77	15,57 ab	11,97	29,70 abcdef	9,37	59,88 ab
<b>M1R1P</b>	6,78	2,00 b	13,49	20,60 bcdef	21,60	10,68 fg
<b>M1R1L</b>	6,58	4,45 ab	14,32	15,76 cdef	14,87	32,40 cde
<b>M3R1T</b>	<b>5,91</b>	<b>25,87 a</b>	10,90	35,97 abc	11,03	56,08 ab
<b>M3R1P</b>	7,32	9,48 ab	11,66	31,65 abcde	16,17	30,77 cdef
<b>M3R1L</b>	8,23	5,69 ab	16,85	9,89 f	20,59	17,25 efg
<b>M3R2T</b>	6,95	6,96 ab	<b>10,33</b>	<b>43,22 a</b>	<b>8,99</b>	<b>68,16 a</b>
<b>M3R2P</b>	6,62	10,66 ab	12,27	32,66 abcd	16,43	41,69 cd
<b>M3R2L</b>	6,94	3,02 b	14,96	18,11 cdef	15,77	46,58 abcd
<b>M5R2T</b>	7,05	13,36 ab	9,66	41,03 ab	10,38	58,68 ab
<b>M5R2P</b>	7,51	7,25 ab	14,78	9,95 f	22,30	12,74 efg
<b>M5R2L</b>	7,66	8,75 ab	14,66	10,31 f	18,93	25,36 defg
<b>M5R5T</b>	5,35	11,39 ab	10,98	24,87 abcde	9,50	59,83 ab
<b>M5R5P</b>	6,06	2,15 b	13,17	11,444 ef	22,43	5,71 g
<b>M5R5L</b>	5,84	4,16 ab	12,76	13,98 def	21,78	8,79 g
<b>M1R1</b>	6,55		16,52		21,61	
<b>M3R1</b>	8,19		17,27		24,76	
<b>M3R2</b>	6,8		18,34		28,4	
<b>M5R2</b>	7,95		16,55		25,63	
<b>M5R5</b>	6,02		13,77		23,85	
<b>EEX ±</b>		2,41		2,52		2,50

**Leyenda:** **T1:** *Trichoderma* spp. **P:** *Penicillium* spp. **L:** *Lecanicillium* spp. La Argelia (**M1R1**), Consacola (**M3R1**) y (**M3R2**), Tierras Coloradas (**M5R2**) y (**M5R5**). Medias con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ) (n=90).



Referente a la tabla 9, interpretando desde la perspectiva de los PICR por aislado durante el último día de evaluación (día 12), se observa que para el primer aislado M1R1 se ha obtenido un mayor biocontrol con la aplicación antagonica de *Trichoderma* spp. con un porcentaje de 79,87 %; con la aplicación de *Lecanicillium* spp. se ha obtenido un PICR de 51,64 %; mientras que con la aplicación de *Penicillium* spp. su porcentaje corresponde a 37,83 %.

Para el aislamiento M3R1 se ha obtenido un mayor control con el antagonista *Trichoderma* spp. con 74,35 %, luego con *Penicillium* spp. con 42 % y *Lecanicillium* spp. con un valor de 39,35 %.

Respecto a el aislamiento M3R2 igualmente el resultado más positivo es con aplicación de *Trichoderma* spp. de (76,5 %), *Lecanicillium* spp. (48,01 %) y *Penicillium* spp. (33,56 %- día 10).

En cuanto al aislado M5R2 el mejor biocontrolador igualmente se aprecia que es *Trichoderma* spp. con un porcentaje de inhibición de 83,06 %, *Lecanicillium* spp. (51,50%) y *Penicillium* spp (40,20%).

Y para el asilado M5R5 *Trichoderma* spp. ha controlado en un 77,30 %, *Lecanicillium* spp. (48,73 %) y *Penicillium* spp. (30,53%).

**Tabla 9.** Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%) de aislados de *Fusarium* spp. con los respectivos biocontroladores.

Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%)						
Tratamientos	mm	Día 8 (%)	mm	Día 10 (%)	mm	Día 12 (%)
<b>M1R1T</b>	13,82	59,90 abc	12,25	73,53 a	8,16	79,87 a
<b>M1R1P</b>	24,76	28,27 de	27,86	29,05 cd	24,86	37,83 b
<b>M1R1L</b>	17,99	47,54 bcde	25,79	34,86 bc	19,31	51,64 b
<b>M3R1T</b>	14,51	60,07 abc	13,10	72,33 a	9,18	74,36 a
<b>M3R1P</b>	17,57	50,97 bcd	23,34	44,63 b	21,37	36,41 b
<b>M3R1L</b>	22,79	36,88 cde	30,35	25,43 bc	21,63	39,35 b
<b>M3R2T</b>	12,97	66,50 ab	<b>11,57</b>	<b>76,51 a</b>		-
<b>M3R2P</b>	17,37	55,36 abc	23,77	42,82 bc		-

<b>M3R2L</b>	20,07	48 bcde	26,94	33,56 bc		-
<b>M5R2T</b>	11,47	63,90 a	12,28	68,94 ab	<b>6,69</b>	<b>83,06 a</b>
<b>M5R2P</b>	24,42	5,49 e	27,38	23,62 bc	23,47	40,20 b
<b>M5R2L</b>	21,65	27,77 de	30,30	17,28 c	19,18	51,50 b
<b>M5R5T</b>	<b>7,51</b>	<b>76,69 a</b>	11,04	75,09 a	8,38	77,30 a
<b>M5R5P</b>	25,14	21,22 de	38,54	20,53 bc	25,54	30,53 b
<b>M5R5L</b>	20,61	35,60 cde	30,35	22,35 bc	18,85	48,73 b
<b>M1R1</b>	32,77		35,05		40,74	
<b>M3R1</b>	34,01		36,71		37,02	
<b>M3R2</b>	38,71		36,41			
<b>M5R2</b>	32,59		33,25		39,33	
<b>M5R5</b>	32,55		33,13		36,91	
<b>EEX ±</b>		3,42		3,18		3,09

**Leyenda:** **T1:** *Trichoderma* spp. **P:** *Penicillium* spp. **L:** *Lecanicillium* spp. La Argelia (**M1R1**), Consacola (**M3R1**) y (**M3R2**), Tierras Coloradas (**M5R2**) y (**M5R5**). Medias con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ) ( $n=90$ ).

## 7. Discusiones

Un gran número de especies han sido descritas dentro del género *Fusarium* por diversos autores, sin embargo 70 especies son consideradas por Leslie & Summerell (2006).

En el medio de cultivo PDA los aislamientos presentaron pigmentaciones entre amarillentos, colores crema y rosa pálido, estos resultados coinciden con los informados por Villanueva et al. (2018), la existencia de algunas especies de *Fusarium* que pueden presentar, en medios de cultivo sintético, colonias blancas, cremas, naranjas, pardo, pardo rojizo, rojo carmín, rosa, púrpura e incluso azuladas.

Adicionalmente, se detectó variabilidad entre aislamientos de una misma especie, lo que sugiere la posible existencia de biotipos, aspectos en los que se debe profundizar en estudios posteriores. Todo ello refleja la intensa evolución que está sucediendo en el género *Fusarium* y la variedad de especies capaces de afectar el cultivo (Duarte et al., 2016).

La Tabla 9 muestra las medias de ancho y largo de los macroconidios según el número de septos y el promedio de células. El análisis estadístico reveló variaciones significativas en el largo y ancho promedio de los macroconidios entre los aislados; sin embargo, la variabilidad de tamaños dentro de las especies no permitió identificar diferencias entre ellos.

Dadas las características morfológicas y culturales de los diferentes aislados se determina que el aislamiento M3R2 presenta características típicas de *Fusarium oxysporum*, conforme a lo encontrado en las investigaciones descritas por Rentería et al. (2018), en su aislamiento (Fo-38); características tales como macroconidios alargados y ligeramente curvados con tres septos, siendo el extremo basal puntiagudo y la célula apical con ligera forma de gancho, junto con microconidias ovaladas y sin septos. Además, presenta un rápido crecimiento de micelio aéreo, con coloraciones blanco a anaranjado, estas características coinciden con la investigación realizada por Salazar et al. (2020), en sus aislados. Sosa et al., (2022) informaron que las macroconidias de *Fusarium oxysporum* asociado a *Nicotiana tabacum* L. tienen una longitud 8,17-33,35  $\mu\text{m}$  y ancho de 1,45-6,30  $\mu\text{m}$ ; y 3 septos lo cual coincidió con lo observado en el presente estudio pues el tamaño de las macroconidias observadas de *Fusarium oxysporum* da un promedio de 23, 023 x 3,572  $\mu\text{m}$ .

El aislado M3R2 se observan macroconidias abundantes y redondas, con 2 a 4 septos, de forma ancha y redonda, la célula apical es redonda y el pie basal carece de definición, las microconidias son abundantes y pueden o no presentar divisiones, con colores crema. Estos resultados concuerdan con los hallazgos de resultados Salazar et al, (2020) en sus aislamientos

PA (013, 014, 015). Los cultivos de *Fusarium solani* suelen ser de color blanco a crema con escaso micelio (Leslie & Summerell, 2006). La forma de los microconidios coincide con resultados reportados por Chehri et al.,(2011).

Los demás aislados presentan características entre *Fusarium brachygibbosum* y *Fusarium falciforme*, sin embargo, por la similitud de características entre especies de *Fusarium* es bastante difícil acertar de manera clara la especie de estos aislados. Es por ello que para una mejor complementación y concretar la especie se asignen los criterios moleculares.

Respecto a los resultados del segundo objetivo específico, del efecto de los biocontroladores, en su primer caso con *Trichoderma* spp. se ha obtenido valores de medias PICR mayores al 50 % lo que significa según la tabla de determinación de capacidad antagónica de *Trichoderma* Bell et al. (1982), que la inhibición se encuentra en un nivel 2 en donde el antagonista crece las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo, lo que es un nivel significativo de inhibición. Resultados semejantes se reportan por Martínez (2012) sobre la evaluación y selección de cepas de *Trichoderma* spp. para control biológico de *Fusarium* spp., en maracuyá, en condiciones in vitro, donde se determinó que la evaluación del PICR tuvo un 50%, la cual corresponde al grado 2 de la escala de capacidad antagónica frente a la cepa de *Fusarium solani*. Otros estudios reportan una clase de antagonismo de cepas de *Trichoderma* spp. en un nivel 2, con porcentajes de inhibición entre el 70% y 95%, considerándose como agentes potenciales del biocontrol de hongos patógenos (Michel et al., 2019).

El buen desempeño de *Trichoderma* spp contra los aislados patógenos sugiere que la cepa tiene mecanismos de biocontrol activos. Las pruebas in vitro demostraron procesos de competencia, antibiosis y parasitismo que logran la inhibir y destruir los patógenos de interés. La estructura celular de estos patógenos determina su nivel de afectación.

En el control con *Penicillium* spp. los resultados reflejan un control medio de los fitopatógenos de babaco, se encuentra alrededor del 30%. Cal et al. (2008), destaca que especies como *Penicillium oxalicum* tiene un amplio espectro de actividad contra diferentes hongos fitopatógenos en varios huéspedes. Se han informado la eficacia de *Penicillium* para diferentes enfermedades en tomate dentro de ellas la *Fusarium* spp.

La actividad antagonista se atribuye a varios mecanismos, tales como competencia por nutrientes y espacio, la liberación de compuestos antifúngicos, el parasitismo del patógeno, la formación de biopelículas, la inducción de las defensas del huésped y la intervención de especies reactivas de oxígeno (ROS) en la respuesta defensiva (Liu et al., 2013).

Estudios de antagonismo así mismo reflejan que se han observado reducciones altas del crecimiento de patógenos en pruebas *in vitro*, confirmaron la antibiosis como penetración, progresión, colonización y esporulación con otros hongos, igualmente en nuestro ensayo los posibles mecanismos para explicar el antagonismo fueron la competencia.

En el caso del biocontrol con *Lecanicillium* spp. se obtuvieron resultados menores a los evaluados con el antagonista *Trichoderma*, actualmente no hay estudios de aplicación de *Lecanicillium* en control de la *Fusarium* en Babaco, sin embargo, se ha obtenido un control en nivel 3 según la escala antagónica Bell et al., (1982), lo que indica que el antagonista y patógeno colonizan la mitad de la superficie del medio de cultivo y ninguno de los dos domina sobre otro.

Algunos estudios de control con *Lecanicillium* datan en la aplicación en el hongo *Hemileia vastatrix* en café.

*Lecanicillium* spp., se ha utilizado como agente de control biológico en regiones tropicales. En una investigación reciente, Sánchez et al. (2024), resalta el potencial de *Lecanicillium* como agente de control biológico contra la roya. Además, enfatiza la necesidad de tomar en cuenta los factores abióticos, como la humedad relativa y la temperatura, para optimizar su eficacia y adaptar su aplicación a las condiciones específicas del entorno. El género *Lecanicillium* ha sido ampliamente estudiado, se ha registrado su utilidad como agente de control biológico de mildius y uredinales. Se ha documentado que el porcentaje de parasitismo de *Lecanicillium* spp. presenta variaciones dependiendo de las especies y aislamientos (Arriola et al., 1998).

La penetración del hongo en el huésped tiene lugar mediante la cutícula o a través de la vía oral. En el caso de la penetración a través de la cutícula, intervienen enzimas como lipasas, quitinasas y proteasas, las cuales se encargan de descomponer el tejido y facilitando así la penetración de la espora. (Zambrano, 2019)

Diversas especies de hongos entomopatógenos tienen la capacidad de generar ácidos orgánicos, y algunos de ellos han sido involucrados al proceso infeccioso. Por ejemplo, se ha reportado la producción de ácido oxálico entre los que se incluye al hongo *Lecanicillium* (*Verticillium*). Este compuesto ha sido identificado como un factor de virulencia en hongos fitopatógenos (Asaff et al., 2006).

Es ampliamente conocido que parámetros ambientales como los factores abióticos (tipo de suelo, temperatura del suelo, pH del suelo, potencial hídrico y similares) y bióticos (especies y variedades de plantas, actividad microbiana del suelo), así como otros factores como el método y el momento de las aplicaciones pueden influir en la eficacia del control biológico (Boughalleb et al., 2018).

## 8. Conclusiones

- Los cinco aislados obtenidos de los suelos rizosféricos del babaco de la ciudad de Loja, presentaron características morfológicas y culturales típicas del género *Fusarium* spp.
- La eficacia de los tratamientos se refleja notablemente en los resultados, especialmente en T10 donde la combinación de M5R5 con *Trichoderma* spp. logró un porcentaje de inhibición del 83,06%, seguido por T1, con M1R1 y *Trichoderma* spp. alcanzando un 79,87%. De esta manera se concluye que *Trichoderma* spp. podría ser un biocontrol efectivo para reducir el crecimiento radial de *Fusarium* spp. debido a que representó el grado más alto de inhibición.
- El biocontrol con *Lecanicillum* spp. y *Penicillium* spp. si logró controlar la enfermedad, pero a un menor nivel.

## **9. Recomendaciones**

- Se recomienda complementar la caracterización morfológica con técnicas moleculares para obtener resultados más definitivos y confiables.
- Obtener más aislados de la Marchitez Vascular del Babaco en diversas zonas del país para comprobar su variabilidad fenotípica y genotípica
- Aplicar el control biológico de la Marchitez Vascular del Babaco en condiciones de campo, para evaluar su interacción con diversos factores bióticos y abióticos y obtener resultados más asequibles para el agricultor.

## 10. Bibliografía

- Agrios, G. (2005). Plant Pathology. *Elsevier*(5), 164.  
[https://books.google.com.ec/books?id=CnzbGZgby60C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q=fusarium%20oxysporum&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=CnzbGZgby60C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q=fusarium%20oxysporum&f=false)
- Agrios, G. (2007). Fitopatología. Limusa, México.
- Arbeláez, G. (2000). Algunos aspectos de los hongos del genero fusarium y de la especie fusarium oxysporum. *Agronomía Colombiana*, 17(11).
- Argumedo, R., Alarcon, A., Ferrera, R., & Peña, J. (2009). El género fúngico Trichoderma y su relación con los contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Scielo Revista internacional de contaminación ambiental*, 25(4).
- Arriola, M., Chet, I., & Rólz, C. (1998). Hongos que atacan la roya del café. *Univesidad del Valle de Guatemala*. <http://uvg.edu.gt/publicaciones/revista/volumenes/revista8.pdf>
- Asaff, A., García, C., González, G., & Torre, M. d. (2006). Carbon distribution and redirection of metabolism in *P. fumosoroseus* during solid-state and liquid fermentations. *Process Biochemistry*, 41(6). <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.01.001>
- Baldrian, P., & Gabriel, J. (2002). Intraspecific variability in growth response to cadmium of the wood-rotting fungus *Piptoporus betulinus*. *Mycologia*, 94(3), 428-436. <https://doi.org/10.1080/15572536.2003.11833208>
- Bejarano, D. (2003). Evaluacion del comportamiento agronomico del babaco (*Carica x heilbornii* nm pentagona) injertado en cinco patrones de caricaceas. [Tesis] Univercidad Central del Ecuador Facultad de Ciencias Agricolas.
- Boughalleb, N., Salem, I., & M'Hamdi, M. (2018). Evaluación de la eficiencia de las especies *Trichoderma* , *Penicillium* y *Aspergillus* como agentes de control biológico contra cuatro hongos del suelo de melón y sandía. *Egipto J Biol Pest Control*(25). <https://doi.org/10.1186/s41938-017-0010-3>
- Cal, A. d., Redondo, C., Szejnberg, A., & Melgarejo, P. (2008). Biocontrol del oídio por *Penicillium oxalicum* en viveros de fresas a campo abierto. *ELSEVIER*, 103-107. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.07.010>
- Cañadas L. 1993. El mapa bioclimático y ecológico del Ecuador. Editorial Banco Central del Ecuador. Quito, Ecuador.
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). Manual de laboratorio para el manejo de hongos fitopatogenos. Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa.



- Chile, M. (2016). Caracterización morfológica de hongos fitopatógenos en el cultivo de babaco (carica pentágona) en el sector Salcedo. Proyecto de Investigación-Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Cueva, D. (2007). Producción de inoculantes a base de *Trichoderma* spp. para el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *caricae* en injertos de babaco ( *Vasconcelle* ev. babaco). [Tesis]Escuela Politécnica del Ejército- ESPE.
- Dean, R., Pretorius, S., Hammond, K., Pietro, A. D., Jason Rudd, R. K., Ellis, J., & Foster, G. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Eraso, C., Acosta, J., Salazar, C., & Betancourth, C. (2014). Evaluación de cepas de *Trichoderma* spp. para el manejo del amarillamiento de arveja causado por *Fusarium oxysporum*. *SciELO*, 15(2).
- Esteli. (2011). Enfermedades causadas por hongos. En *Fitopatología general* (pág. 21).
- Fernández, M. (1979). *Introducción a la fitopatología : hongos y mycoplasmas* (3 ed.). (INTA, Ed.) Buenos Aires [Argentina].
- Granados, M. (2018). Identificación morfológica de hongos fitopatógenos. Universidad de Costa Rica.
- Guédez, C., Cañizalez, L., Castillo, C., & Olivar, R. (2012). Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. *SciELO Rev. Soc. Ven. Microbiol*, 32(1).
- Hassan, N., M.M. Elsharkawy, M. Shimizu, and M. Hyakumachi. (2014). Control of root rot and wilt diseases of roselle under field conditions. *Mycobiology*. 42(4): 376- 384.
- Jaramillo, J., Rodríguez, V., Gil, L., García, M., Hio, J., Quevedo, D., Sánchez, G., Aguilar, P., Pinzón, L., Zapata, M., Restrepo, J., & Arroyave., M. (2012). Tecnología para el cultivo del tomate bajo condiciones protegidas. Cooperación Colombiana de Investigación Agropecuaria. <http://hdl.handle.net/20.500.12324/13320>
- Leslie, J., & Summerell, B. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. 360.
- Liu, J., Sui, Y., Wisniewski, M., Drobyc, S., & Liu, Y. (2013). Utilización de levaduras antagonistas para el manejo de enfermedades fúngicas de la fruta en poscosecha. *Revista Internacional de Microbiología de Alimentos*, 167(2), 153-160. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.09.004>
- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Rev. Protección Veg.* , 28(1), 1-11.

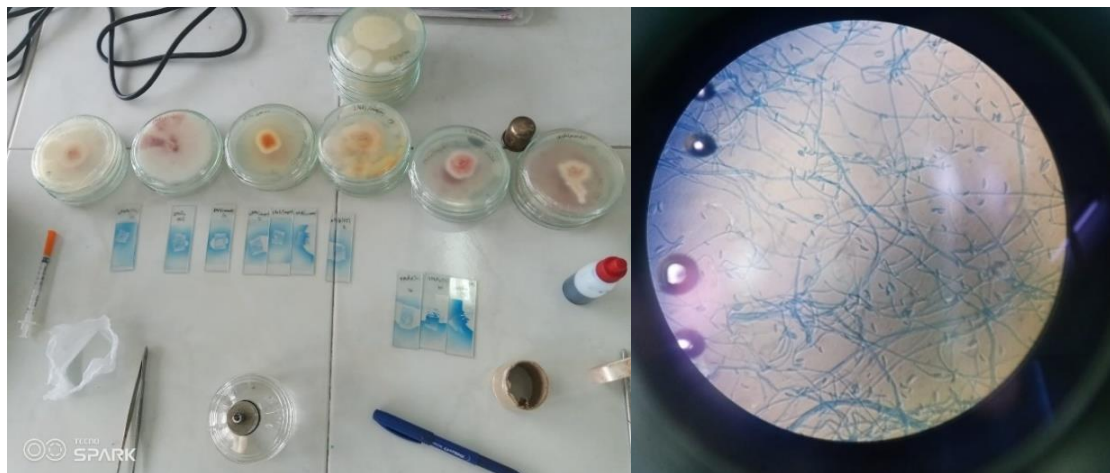
- Michel, A., Hernandez, J., Toledo, R., Sabino, J., & Romero, T. (2019). Capacidad antagónica de trichoderma spp. Nativa contra phytophthora parasitica y fusarium oxysporum aislados de cultivos de jamaica. *Fitotec*, 42(3), 235-241.  
[scielo.org.mx/pdf/rfm/v42n3/0187-7380-rfm-42-03-00235.pdf](http://scielo.org.mx/pdf/rfm/v42n3/0187-7380-rfm-42-03-00235.pdf)
- Muñoz, V., & Viviana Cisterna, A. F. (2004). Aislamiento de microorganismos fitopatógenos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA.
- Nelson, (1983) Microconidias, macroconidias, clamidiosporas.
- Ochoa, & Ellis. (2002). Componentes de Manejo Integrado de la Fusariosis o marchitez vascular del babaco en el Ecuador. *Revista Tecnica Informativa del Instituto Nacional Autonomo de Investigaciones Agropecuarias*(16), 4.
- Ochoa, J., & Fonseca. (2000). Primer Reporte de Marchitez por Fusarium de Babaco ( Carica × heilbornii var. pentagona ) en Ecuador. *NIH*, 82(4), 199.  
<https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.2.199A>
- Pérez, L. (2004). Fusarium wilt (Panama disease) of bananas: an updating review of the current knowledge on the disease and its causal agent. *Research Gate*.
- Ponce, B., & Michael, A. (2018). *Loja se encuentra al extremo sur del país. Es la provincia.* Loja-Ecuador.
- Rayner. (1970). <https://search.worldcat.org/es/title/mycological-colour-chart/oclc/150844>
- Rentería, D. L. (2015). Estudio de la interaccion entre Fusarium y Trichoderma en babaco (Vasconcellea heilbornii Badillo). [Tesis] Universidad Nacional de Loja.
- Rentería, M., Guerra, M., Ochoa, A., Moreno, S., Meza, A. d., & Guzmán, J. (2020). Descripción y comparación entre morfotipos de Fusarium brachygibbosum, F. falciforme y F. oxysporum patogénicos en sandía cultivada en Sonora, México. *Scielo Rev. mex. fitopatol* , 37(1). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1808-1>
- Rentería, M., Guerra, M., Ochoa, A., Moreno, S., Varela, A., Gutiérrez, L., & Meza, A. d. (2018). Análisis filogenético multilocus del complejo fúngico asociado a pudrición radicular de sandía en Sonora, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(2), 233-255. <https://doi.org/https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1710-1>
- Revelo, J. (1991). El hongo Fusarium oxysporum. 8.  
<http://repositorio.iniap.gob.ec/jspui/handle/41000/99>
- Robles, A., Lidcay, I., & Gutiérrez, R. T. (2016). El babaco (Vasconcellea heilbornii var. pentagona Badillo). Principales agentes fitopatógenos y estrategias de control. *Scielo*,

- 43(2), 2. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-57852016000200011](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852016000200011)
- Rojas A. 2011. Conceptos y Práctica de Microbiología General. Editorial: [Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Palmira], Colombia. 161 p.
- Sánchez, R., González, E., Padilla, S., Gallegos, M., Gonzáles, U., Gómez, R., & Ramos, K. (Febrero de 2024). Efectividad de cepas de *Trichoderma* spp., y *Lecanicillium* spp., en el control de la roya (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome) en el cultivo del café en Nayarit, México. *Revista de Ciencias Biológicas y Dalud*, 26(1). <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v26i1.2047>
- Scheldeman, X., Romero, J., Damme, V. V., Heyens, V., & Damme, P. (2003). Potencial de papayas de altura (*Vasconcella* spp.) en el sur del Ecuador. 5(1): 73-80.
- Sempere, F., & Santamarina, M. (2008). Los hongos como agentes de control biológico. *Phytohemeroteca*. <https://www.phytoma.com/la-revista/phytohemeroteca/203-noviembre-2008/los-hongos-como-agentes-de-control-biologico>
- Silva, J., Torres, P., & Escobar, J. (2007). Identificación de hongos fitopatógenos y presencia salmonella sp en compost de plantas de tratamiento de aguas residuales. 12(1). <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5484683.pdf>
- Sudheer, Y., Anushree, D., Ankita, S., Harikesh, S., & Birinchi, S. (2013). Co-inoculated Biopriming with *Trichoderma*, *Pseudomonas* and *Rhizobium* Improves Crop Growth in *Cicer arietinum* and *Phaseolus vilgaris*. 6(2), 255-259. <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ijaeb&volume=6&issue=2&article=010>
- Valencia, J. (2014). Propagación por esquejes Herbáceos de Jigacho (*Vasconcella stipulata* V. Badillo) [Tesis] Repositorio Universidad Tecnica de Ambato.
- Vera, A. (2019). Plan de negocios para la implementacion de productos turisticos en la hacienda punzara de la ciudad de Loja. Loja-Ecuador.
- Zambrano, Y. (2019). Evaluación de *Lecanicillium lecanii* cepa elite en el control de ácaros fitofagod (*Tetranychus urticae*), en cultivo de rosa sp en Facatativa- Cundinamarca. Universidad de Pamplona-Facultad de Ciencias Básicas.
- Watanabe, T. (2002). Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. (2nd ed.). Editorial: CRC Press LLC. United States of America. 506 p

## 11. Anexos



**Anexo 1.** Recolección de muestras y siembra en medio PDA



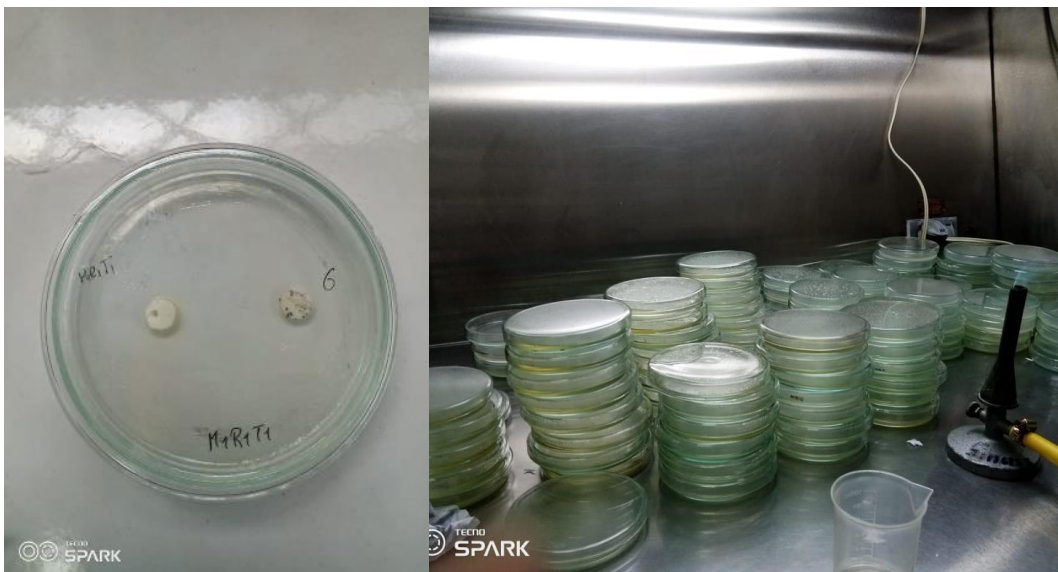
**Anexo 2.** Observación microscópica de las estructuras de las colonias aisladas



**Anexo 3.** Crecimiento de los aislados de *Fusarium*



**Anexo 4.** Siembra de micelio de hongos en tubos de ensayo para el conteo UFC



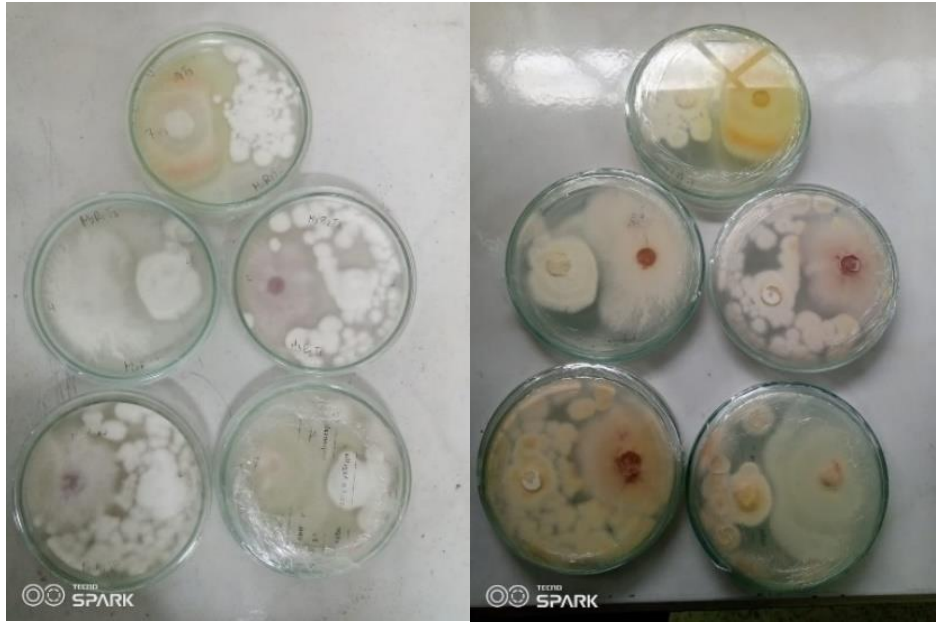
**Anexo 5.** Siembra de cultivos duales





**Anexo 6. Medición de crecimiento radial de Fusarium en cultivo dual**





**Anexo 7.** Biocontroles finales de los aislados de *Fusarium* spp. con *Trichoderma* spp. *Penicillium* spp. y *Lecanicillium* spp.

MIR1																						
1	1	1	3	1	2	2	1	1	1	5	2	2	2	5	1	2	23	28	46	34	269	336250
	1	1	1	2	1	3	4	2	0	3	4	6	2	4	1	2	Concentración (UFC) = $\frac{\text{Número de células} \times 10\ 000}{\text{Número de cuadrantes contados}}$				269	2,2E+07
	1	1	1	2	2	2	2	0	3	2	3	9	3	3	3	3					336250	
	0	1	3	3	3	1	0	2	3	2	1	0	1	0	1	1						
	2	3	5	1	1	1	2	2	0	1	4	2	0	1	2	2	43	34	26	35		
	1	2	5	3	5	2	2	3	1	1	2	2	2	1	4	1					1,3E+07	
	1	2	3	4	2	0	6	2	4	1	2	1	4	0	5	1						
	1	2	4	4	2	0	2	2	1	2	0	2	3	3	6	0						
2	5	10	9	11	5	9	6	6	1	5	2	2	2	5	1	2	Concentración (UFC) = $\frac{\text{Número de células} \times 10\ 000}{\text{Número de cuadrantes contados}}$				572	715000
	9	8	9	7	2	3	11	8	0	3	4	6	2	4	1	2					2,9E+07	
	3	3	7	15	3	7	6	0	3	2	3	9	3	3	3	3						
	5	7	9	3	5	6	3	4	3	2	1	0	1	0	1	1						
	9	13	7	5	1	2	2	2	0	1	4	2	0	1	2	2	Concentración (UFC) = $\frac{\text{Número de células} \times 10\ 000}{\text{Número de cuadrantes contados}}$					
	6	11	12	4	11	12	6	7	1	1	2	2	2	1	4	1						
	6	10	8	3	15	20	7	2	4	1	2	1	4	0	5	1						
	11	5	7	3	4	7	8	1	1	2	0	2	3	3	6	0						

**Anexo 8.** Tabulación de datos en Excel de UFC

	Aislados	LARGO	ANCHO	Tamaño macro	Aislados	LARGO	ANCHO	Tamaño macro
1	M1R1	28,305	3,533	100,00	M1R1	15,089	3,434	51,82
2	M1R1	27,848	4,185	116,54	M1R1	6,980	3,558	24,83
3	M1R1	20,980	4,164	87,36	M1R1	18,341	5,926	108,69
4	M1R1	26,809	4,711	126,30	M1R1	18,341	5,870	107,66
5	M1R1	20,222	4,287	86,69	M1R1	8,102	2,573	20,85
6	M1R1	24,562	4,377	107,51	M1R1	9,157	1,756	16,08
7	M1R1	22,968	4,417	101,45	M1R1	9,635	2,409	23,21
8	M1R1	19,752	4,347	85,86	M1R1	11,140	2,727	30,38
9	M1R1	32,191	4,164	134,04	M1R1	9,904	1,831	18,13
10	M1R1	30,640	4,901	150,17	M1R1	11,173	2,293	25,62
11	M1R1	23,988	6,041	144,91	M1R1	10,255	2,171	22,26
12	M1R1	20,351	6,727	136,90	M1R1	10,188	3,071	31,29
13	M1R1	22,232	5,308	118,01	M1R1	9,710	2,776	26,95
14	M1R1	19,747	5,889	116,29	M1R1	9,993	2,409	24,07
15	M1R1	20,645	5,602	115,65	M1R1	12,137	2,000	24,27
16	M3R1	28,097	4,348	122,17	M3R1	18,343	4,434	81,33

Anexo 9. Tabulación de datos en Excel de tamaño de macro y microconidios

TRICHODERMA	08/02/2024		10/02/2024		12/02/2024		14/02/2024		16/02/2024		18/02/2024	
M1R1	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO
1	8,34	9,57	13,27	19,52	11,61	27,35	15,96	38,6	10,62	38,82	10,7	44,97
2	8,87	9,01	16,39	20,42	12,97	23,57	19,78	37,3	16,2	36,53	16,94	45,01
3	10,01	10,1	14,29	20,17	13,15	29,75	16,66	43,82	13,09	42,28	12,07	44,22
4	8,44	11,17	12,95	19,78	10,77	27,87	16	39,29	10,38	38,03	9,68	43,31
5	9,21	9,5	17,24	20,09	11,23	25,5	19,38	32,6	14,56	36,67	6,97	40
6	7,76	10,13	15,67	20,03	14,49	25,46	13,13	36,01	8,64	35,89	10,58	40,96
M3R1	08/02/2024		10/02/2024		12/02/2024		14/02/2024		16/02/2024		18/02/2024	
	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO
1	8,91	11,42	15,2	21,05	14,51	29,43	18	39,03	13,7	40,24	13,03	41,4
2	8,14	12,7	13,59	21,59	18,18	30,22	21,93	43,52	17,89	38,83	15,67	42,63
3	9,15	9,15	13,81	20	13,17	24,8	16,62	35	12,57	39,56	12,44	42,83
4	10,33	12,01	13,13	15,63	12,34	24,3	14,89	36,96	9,1	38,8	10,74	25,31
5	7,95	9,45	12,8	21,52	12,22	29,82	15,8	41,58	10,7	42,73	8,77	45,11
6	8,98	12,42	14,85	21,84	13,77	30,4	17,84	39,64	14,65	38,13	12,44	42,84
M3R2	08/02/2024		10/02/2024		12/02/2024		14/02/2024		16/02/2024		18/02/2024	
	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO	FUSARIUM	TESTIGO
1	8,7	10,69	11,77	22,2	9,64	32,62	13,99	41,59	8,94	37,83		
2	9,44	9,94	13,11	21,19	12,18	30,6	15,28	38,78	10,45	34,59		
3	10,79	11	12,86	20	10,64	30	13,67	41,24	11,22	37,41		
4	9,67	9,87	14,82	21,01	13,74	30,61	17,52	41,25	13,83	41,21		
5	10,07	10,3	15,66	20,49	13,98	30,44	18,88	42,78	13,81	40,95		
6	11	11	11,76	23,18	11,76	34,13	16,49	44,63	11,15	44,51		

Anexo 10. Tabulación de datos en Excel de los biocontroles.



Resultados

Error: 34,9575 gl: 75

Biocontrol	Medias	n	E.E.	
M3R1T1	15,17	6	2,41	A
M1R1T1	9,06	6	2,41	A B
M5R2T1	7,69	6	2,41	A B
M5R5T1	6,55	6	2,41	A B
M3R2T2	6,17	6	2,41	A B
M3R1T2	5,47	6	2,41	A B
M5R2T3	5,06	6	2,41	A B
M5R2T2	4,20	6	2,41	A B
M3R2T1	4,02	6	2,41	A B
M3R1T3	3,29	6	2,41	A B
M1R1T3	2,56	6	2,41	B
M5R5T3	2,39	6	2,41	B
M3R2T3	1,74	6	2,41	B
M5R5T2	1,24	6	2,41	B
M1R1T2	1,15	6	2,41	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

30	M5R5T2	2	7.43	0.86	0.15	0.86
----	--------	---	------	------	------	------

Resultados

Error: 38,0665 gl: 75

Biocontrol	Medias	n	E.E.	
M3R2T1	25,78	6	2,52	A
M5R2T1	24,39	6	2,52	A B
M3R1T1	21,17	6	2,52	A B C
M3R2T2	19,20	6	2,52	A B C D
M3R1T2	18,65	6	2,52	A B C D E
M1R1T1	17,35	6	2,52	A B C D E F
M5R5T1	14,45	6	2,52	A B C D E F
M1R1T2	11,94	6	2,52	B C D E F
M3R2T3	10,51	6	2,52	C D E F
M1R1T3	9,09	6	2,52	C D E F
M5R5T3	8,05	6	2,52	D E F
M5R5T2	6,58	6	2,52	E F
M5R2T3	5,99	6	2,52	F
M5R2T2	5,76	6	2,52	F
M3R1T3	5,69	6	2,52	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### Anexo 11. Análisis estadístico de biocontroladores.

## CERTIFICADO DEL RESUMEN

Yo, **Maholy Katherine Morocho Merino**, portadora de la cedula de Identidad N°:1104677131. Licenciada en Ciencias de la Educación Especialidad Idioma Inglés. Certifico la traducción al idioma inglés el resumen del Trabajo de Integración Curricular denominada: **"Identificación y biocontrol de los microorganismos causantes de la Marchitez Vascular del Babaco (*Vasconcellea heilbornii* Badillo) procedentes de Loja"**, perteneciente a la señorita **Aulira Francisca Correa Jimenez**, esta corresponde al texto original en español.

A la parte interesada muy atentamente,



**Maholy Katherine Morocho Merino**

Licenciada en Ciencias de la Educación Especialidad Idioma Inglés  
Registro N° 1008-2016-1695982 SENEYCOT.

**Anexo 12.** Certificado de la traducción del resumen.