



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN HORTICULTURA Y FRUTICULTURA

Proyecto de Investigación previo a la
obtención del título de Ingeniero en
Horticultura y Fruticultura.

Título del Proyecto de Investigación:

DESARROLLO DE ESTRATEGIAS MIPE PARA EL MANEJO DE *Fusarium*
oxysporum EN MARACUYÁ (*Passiflora edulis*)

Autor:

Willian Denis Alarcón Monserrate

Directora del Proyecto de Investigación:

Dra. Carmen Suarez, PhD

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2016

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Willian Dennis Alarcón Monserrate**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Willian Dennis Alarcón Monserrate

Autor

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

La suscrita Dra. Carmen Suarez Capello,. Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante **Willian Denis Alarcón Monserrate**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**DESARROLLO DE ESTRATEGIAS MIPE PARA EL MANEJO DE *Fusarium oxysporum* EN MARACUYÁ (*Passiflora edulis*)**”, Previo a la obtención del título de Ingeniero en Horticultura y Fruticultura, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Dra. Carmen Suarez Capello, PhD
Directora del Proyecto de Investigación

CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

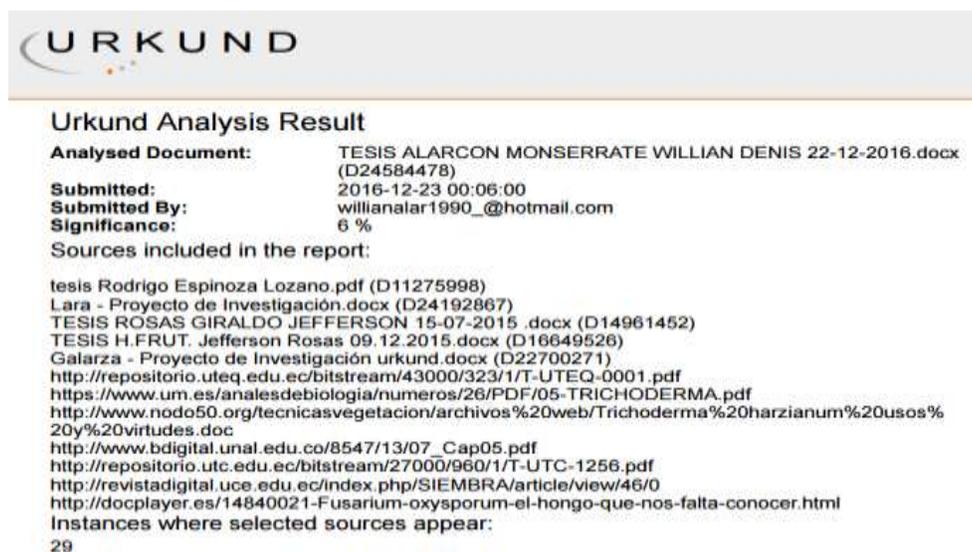
La suscrita, **Dra. Carmen Suarez Capello PhD**, en calidad de Directora del Proyecto de Investigación titulado: “**DESARROLLO DE ESTRATEGIAS MIPE PARA EL MANEJO DE *Fusarium oxysporum* EN MARACUYÁ (*Passiflora edulis*)**”, CERTIFICA: Que, el Sr. Willian Denis Alarcón Monserrate, egresado de la Carrera de Ingeniería en Horticultura y Fruticultura, ha cumplido con las correcciones pertinentes, de acuerdo al reglamento de Graduación de Pregrado de la UTEQ, e ingresado el Proyecto de Investigación al sistema URKUND, el mismo refleja un porcentaje de similitud del 6%.



URKUND

Documento	TESIS ALARCON MONSERRATE WILLIAN DENIS 22-12-2016.docx (D24584478)
Presentado	2016-12-22 18:06 (-05:00)
Presentado por	willianalar1990_@hotmail.com
Recibido	csuarez.uteq@analysis.urkund.com
Mensaje	TESIS Mostrar el mensaje completo

6% de esta aprox. 36 páginas de documentos largos se componen de texto presente en 12 fuentes.



URKUND

Urkund Analysis Result

Analysed Document: TESIS ALARCON MONSERRATE WILLIAN DENIS 22-12-2016.docx (D24584478)
Submitted: 2016-12-23 00:06:00
Submitted By: willianalar1990_@hotmail.com
Significance: 6 %

Sources included in the report:

- tesis Rodrigo Espinoza Lozano.pdf (D11275998)
- Lara - Proyecto de Investigación.docx (D24192867)
- TESIS ROSAS GIRALDO JEFFERSON 15-07-2015 .docx (D14961452)
- TESIS H.FRUT. Jefferson Rosas 09.12.2015.docx (D16649526)
- Galarza - Proyecto de Investigación urkund.docx (D22700271)
- <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/323/1/T-UTEQ-0001.pdf>
- <https://www.um.es/analesdebiologia/numeros/26/PDF/05-TRICHODERMA.pdf>
- <http://www.nodo50.org/tecnicasvegetacion/archivos%20web/Trichoderma%20harzianum%20usus%20y%20virtudes.doc>
- http://www.bdigital.unal.edu.co/8547/13/07_Cap05.pdf
- <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/960/1/T-UTC-1256.pdf>
- <http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/SIEMBRA/article/view/46/0>
- <http://docplayer.es/14840021-Fusarium-oxysporum-el-hongo-que-nos-falta-conocer.html>

Instances where selected sources appear:
29

Dra. Carmen Suarez Capello PhD
Directora del Proyecto de Investigación



UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN HORTICULTURA Y FRUTICULTURA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“DESARROLLO DE ESTRATEGIAS MIPE PARA EL MANEJO DE *Fusarium oxysporum* EN MARACUYÁ (*Passiflora edulis*)”

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de:

Ingeniero en Horticultura y Fruticultura

Aprobado por:

Ing. Agr. M. Sc. Alfonso Vasco Medina
Presidente del Tribunal

Ing. Agr. M. Sc. Jorge Mendoza Mora
Miembro del Tribunal

Ing. Agr. M. Sc. Cesar Varas Maenza
Miembro del Tribunal

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2016

AGRADECIMIENTO

A Dios sobre todas las cosas por haberme dado la vida y las fuerzas y lograr haber llegado en este momento de mi formación profesional.

A mi madre Cecilia Alarcón, a mis tía y mis primos, por el gran apoyo durante mis, siendo el motivo de todos mis esfuerzos para salir adelante.

A las autoridades de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por contribuir con el inicio, de ejecución y culminación de este trabajo de investigación.

A la Dra. Carmen Suárez Capello PhD, Directora del Proyecto de Investigación por haberme dado la confianza y su apoyo durante todo el proceso de la investigación.

A los miembros del Tribunal de Sustentación: Ing. Agr. M. Sc. Alfonso Vasco Medina, Ing. Agr. M. Sc. y el Ing. Agr. M. Sc. Cesar Varas Maenza por las sugerencias realizadas en el presente Proyecto de Investigación, y en especial a este último por su apoyo incondicional a lo largo de mi tiempo de estudios e investigación, demostrando su confianza, por lo que siempre le voy a estar agradecido.

A los Ing. Gabriel Liubá Definí, Daniel Vera Avilés y Denny Carriel, por sus consejos en la actividad de desarrollo de la investigación.

Willian Alarcón

DEDICATORIA

A Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado la vida y una buena salud para lograr mi objetivo, además de su bondad y amor.

A mi madre Cecilia Alarcón por ser parte y fundamental de mi vida y en todo lo que soy, y en mi educación tanto académica por su apoyo incondicional perfectamente mantenido a través del tiempo, por sus consejos, por sus ejemplos de perseverancia y constancia que los caracteriza y que me han infundado siempre, pero más que nada por su amor.

A mi familia por el apoyo diariamente y a mis compañeros de estudios y amigos por compartir conmigo en los buenos y malos momentos de vida.

Willian Alarcón

RESUMEN

En la búsqueda del desarrollo de estrategias MIPE para el manejo de Maracuyá (*Passiflora edulis*), se realizó esta investigación con el objetivo de establecer los componentes del manejo integrado de *Fusarium oxysporum* F. Sp. *passifloracea*, en la Maracuyá, midiendo la eficiencia de la aplicación del hongo antagonista *Trichoderma sp* en el manejo de la enfermedad y, determinando el efecto de los Extractos Vegetales a base de Ruda de gallinazo (*Ruta graveolens*) y la Ortiga (*Urtica dioica*), sobre la infección causada por *F. oxysporum* F. Sp. *Passifloraceae*, en la Maracuyá. La investigación se llevó a cabo en el Invernadero y en el Laboratorio de Fitopatología y Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo en la que se estudiaron tanto la variedad de Maracuyá Amarilla y Roja inoculadas con *F. oxysporum*, las mismas que fueron tratadas con medios de control entre los que se evaluó el biológico (Trichob: hongos antagonistas), Extractos de Ortiga (*U. dioica*) y Ruda (*R. minuta*), Captan (Control químico-Carboximida). Se usaron dos testigos, uno inoculado con *F. oxysporum* y otro sin inocular. El diseño utilizado fue Bloques Completos al Azar (BCA) para evaluaciones *in vitro* y con arreglo factorial para el ensayo en invernadero. La unidad experimental estuvo constituida por cinco Plantas/Tratamiento y para la separación de medias de tratamientos se utilizó la prueba de Duncan al 0,05%. Las variables que se registraron en invernadero fueron Muerte de la Planta (MP), Longitud de las Lesiones Vasculares (TLV-cm) y Peso de la Raíz (PR-g); y, a nivel de laboratorio se determinó el índice de inhibición del crecimiento radial (ICM) y de esporulación (PIE). De acuerdo a los resultados, la variedad de Maracuyá Amarilla tuvo el promedio más bajo de Plantas Muertas; aunque su comportamiento fue similar a la variedad Roja en las demás variables registradas. Entre los medios de control se observó que el *Trichoderma* tuvo un amplio control sobre *F. oxysporum* F. Sp. *passifloraceae*, inhibiendo la actividad del hongo a nivel de crecimiento y de reproducción. El Extracto Vegetal a base de Ortiga (*U. dioica*) fue el más eficaz en cuanto a la inhibición del crecimiento micelial de este hongo.

Palabras Claves: *Fusarium. oxysporum*, Extractos Vegetales, Antagonista, Maracuyá

SUMMARY

In the search for the development of MIPE strategies for the management of passion fruit (*Passiflora edulis*), this research was carried out with the objective of establishing the components of the integrated management of *Fusarium oxysporum* F. Sp. *Passifloraceae*, in passion fruit, measuring the efficiency of Application of the antagonistic fungus *Trichoderma sp* in the management of the disease and determining the effect of plant extracts based on Ruta de gallinazo (*Ruta graveolens*) and nettle (*Urtica dioica*) on infection caused by *F. oxysporum* F. Sp. *Passifloraceae*, in passion fruit. The research was carried out in the Greenhouse and in the Laboratory of Phytopathology and Microbiology of the Quevedo State Technical University in which both the variety of yellow and red passion fruit inoculated with *F. oxysporum* were studied, the same ones that were treated by means (Trichoeb: antagonistic fungi), extracts from Ortiga (*U. dioica*) and Ruda (*R. minuta*), Captan (Chemical Control-Carboximide). Two controls were used, one inoculated with *F. oxysporum* and the other without inoculation. The design used was Complete Blocks to Random (BCA) for in vitro evaluations and factorial arrangement for the greenhouse test. The experimental unit consisted of five plants / treatment and for the separation of means of treatments the Duncan test at 0.05% was used. The variables that were recorded in greenhouse were plant death (MP), length of vascular lesions (TLV-cm) and root weight (PR-g); And the level of inhibition of radial growth (ICM) and sporulation (PIE) was determined at the laboratory level. According to the results, the variety of yellow passion fruit had the lowest average of dead plants; Although its behavior was similar to the red variety in the other variables recorded. Among the means of control it was observed that *Trichoderma* had a broad control over *F. oxysporum* F. Sp. *Passifloraceae*, inhibiting the fungus activity at growth and reproduction level. Vegetable extract based on Nettle (*U. dioica*) was the most effective in inhibiting the mycelial growth of this fungus.

Keywords: *Fusarium. Oxysporum*, plant extracts, antagonist, passion fruit

TABLA DE CONTENIDO

Contenido	Página
Portada	i
Declaración de Autoría y Cesión de Derechos.....	ii
Certificación de Culminación del Proyecto de Investigación	iii
Reporte de la Herramienta de Prevención de Coincidencia y/o Plagio Académico.....	iv
Certificación de Aprobación por Tribunal de Sustentación	v
Agradecimiento	vi
Dedicatoria.....	vii
Resumen	viii
Summary.....	ix
Tabla de Contenido.....	x
Índice de Tablas.....	xiv
Índice de Anexos	xv
Código Dublín	xvii
Introducción.....	1
CAPÍTULO I CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.1 Problematización de Investigación.....	4
1.1.1 Planteamiento del Problema	4
1.1.2 Formulación del Problema.....	4
1.1.3 Sistematización del Problema.....	4
1.2 Objetivos.....	5
1.2.1 General.....	5
1.2.2 Específicos.....	5
1.3 Justificación	5

CAPÍTULO II FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	6
2.1 Marco Teórico	7
2.1.1 Generalidades del Cultivo de Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	7
2.1.1.1 Taxonomía de la Maracuyá	7
2.1.1.2 Variedades de Maracuyá	7
2.1.1.3 Descripción Botánica.....	8
2.1.1.4 Requerimientos Edafoclimáticos.....	9
2.1.1.5 Importancia Económica de la Maracuyá	9
2.1.1.6 Distribución de la Producción de Maracuyá a Nivel Mundial	10
2.1.1.7 Área Productiva en Ecuador	10
2.1.1.8 Demanda.....	11
2.1.1.9 Exportaciones del País al Mundo	12
2.1.1.10 Rendimientos	12
2.1.2 Aspectos Generales sobre <i>Fusarium oxysporum</i>	13
2.1.2.1 Taxonomía y Genética de <i>Fusarium oxysporum</i>	14
2.1.2.2 Pudrición del Tallo Causada por <i>Fusarium oxysporum</i>	15
2.1.2.3 Ciclo de la Enfermedad	16
2.1.2.4 Síntomas de <i>Fusarium oxysporum</i>	16
2.1.2.5 Diseminación	17
2.1.2.6 Epidemiología.....	18
2.1.2.7 Métodos de Control de <i>Fusarium oxysporum</i>	18
2.1.2.8 Medidas de Prevención y Culturales	19
2.1.3 Aspectos Generales de <i>Trichoderma</i>	22
2.1.3.1 Características.....	22
2.1.3.2 Manejo Integrado.....	23

2.1.4 Extractos Vegetales	24
2.1.1.1 Uso de Extractos Vegetales para el Control de Enfermedades	24
2.1.1.2 Características de Plantas con Propiedades Antifúngicas	25
2.1.5 Ruda de Gallinazo (<i>Ruta graveolens</i>).....	25
2.1.6 Ortiga (<i>Urtica dioica</i>).....	26
CAPÍTULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	28
3.1 Localización de la Investigación	29
3.2 Tipo de Investigación	29
3.3 Métodos de Investigación.....	29
3.4 Fuentes de Recolección de la Información.....	29
3.5 Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	29
3.6 Instrumentos de Investigación	30
3.6.1 Material de Siembra.....	30
3.6.2 Factores en Estudio.....	31
3.6.3 Tratamientos Estudiados.....	32
3.6.4 Especificaciones del Experimento.....	32
3.6.4.1 Preparación del Sustrato y Desinfección	33
3.6.4.2 Semilleros	33
3.6.4.3 Trasplante	33
3.6.4.4 Riego.....	33
3.6.4.5 Control de Malezas.....	33
3.6.4.6 Preparación del Inóculo	34
3.6.4.7 Inoculación en las Raíces	35
3.6.4.8 Preparación de los Extractos Vegetales.....	35
3.6.4.9 Aplicación de los Tratamientos	36

3.6.5 Datos Registrados y Metodología de Evaluación.....	36
3.6.5.1 Plantas Muertas	36
3.6.5.2 Tamaño de las Lesiones vasculares	36
3.6.5.3 Pesos de la Raíz	37
3.6.5.4 Inhibición del Crecimiento Micelial.....	37
3.6.5.5 Porcentaje de Inhibición de Esporas.....	37
3.6.5.6 Observaciones de la Evolución de Síntomas de la Enfermedad.....	38
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
4.1 Resultados.....	40
4.1.1 Plantas Muertas por <i>F. oxysporum</i> en Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	40
4.1.2 Tamaño de Lesión (cm).....	42
4.1.3 Peso de la Raíz (g).....	44
4.1.4 Inhibición Crecimiento Micelial (ICM) e Inhibición Esporas (PIE) (%).....	46
4.1.5 Comportamiento de la Resistencia de 2 Variedades para el Manejo de <i>Fusarium oxysporum</i> en Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	47
4.2 Discusión	47
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	51
5.1 Conclusiones.....	52
5.2 Recomendaciones	53
CAPÍTULO VI: BIBLIOGRAFÍA.....	54
6.1 Bibliografía Citada	55
CAPÍTULO VII: ANEXOS	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Principales provincias productoras de maracuyá en Ecuador	11
Tabla 2	Principales empresas productoras de concentrado de maracuyá en el Ecuador año 2010.....	11
Tabla 3	Exportaciones del Ecuador hacia el mundo (FOB).....	12
Tabla 4	Esquema del ADEVA del diseño experimental utilizado en la fase de laboratorio .	30
Tabla 5	Esquema del ADEVA del diseño experimental utilizado en la fase de laboratorio .	30
Tabla 6	Descripción de los factores en estudio	31
Tabla 7	Descripción de los tratamientos estudiados	32
Tabla 8	Promedios de plantas muertas.....	41
Tabla 9	Promedios de la longitud de necrosis a nivel de tallo.....	43
Tabla 10	Peso de raíz (g).....	45
Tabla 11	Promedios de porcentaje inhibición crecimiento micelial (ICM) e inhibición de esporas (PIE) de la cepa de <i>Fusarium oxysporum</i>	46
Tabla 12	Comportamiento de la resistencia de 2 variedades en el desarrollo de estrategias MIPE para el manejo de <i>F. oxysporum</i> en Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	47

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Aislamiento de <i>F. oxysporum</i> en Maracuyá	66
Anexo 2	Repique de <i>F. oxysporum</i> en Maracuyá	66
Anexo 3	Conteo de esporas de <i>F. oxysporum</i>	67
Anexo 4	Aislamiento de <i>F. oxysporum</i> puro.....	67
Anexo 5	Tierra para sustrato	68
Anexo 6	Zeolita para sustrato.....	68
Anexo 7	Mezcla de sustrato	69
Anexo 8	Corte de fundas	69
Anexo 9	Raíces quitadas de la tierra	70
Anexo 10	Lavado de raíces	70
Anexo 11	Lavado de plantas	71
Anexo 12	Raspando el micelio del <i>F oxysporum</i>	71
Anexo 13	Agitación de inóculo.....	72
Anexo 14	Licuada el medio de cultivo con <i>F oxysporum</i>	72
Anexo 15	Plantas inoculadas.....	73
Anexo 16	Plantas de ruda (<i>Ruta minuta</i>).....	73
Anexo 17	Planta de ortiga (<i>Urtica dioica</i>).....	74
Anexo 18	Banco de especies	74
Anexo 19	Agua purísima del páramo utilizada en el ensayo	75

Anexo 20	Elaboración de los extractos vegetales por el método de infusión	75
Anexo 21	Desinfectando los extractos vegetales	76
Anexo 22	Peso del material vegetal para la elaboración de los extracto	76
Anexo 23	Filtrado de los extractos.....	77
Anexo 24	Croquis de campo	65
Anexo 25	Planta muerta por <i>Fusarium oxysporum</i>	78
Anexo 26	Medición de las lesiones vascular por <i>Fusarium oxysporum</i>	79
Anexo 27	Evaluación del peso de raíz (g).....	79
Anexo 28	Cajas Petri con los tratamientos.....	80
Anexo 29	Evaluación del crecimiento micelial (L/A) de <i>Fusarium oxysporum</i>	80
Anexo 30	Esporas de <i>Fusarium oxysporum</i> vistas en microscopio.....	81

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	Desarrollo de estrategias MIPÉ para el manejo de <i>Fusarium oxysporum</i> en maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).
Autor:	William Denis Alarcón Monserrate
Palabras clave:	<i>Fusarium. oxysporum</i> , extractos vegetales, antagonista, maracuyá
Fecha de publicación:	
Editorial:	
Resumen:	<p>En la búsqueda del desarrollo de estrategias MIPÉ para el manejo de Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), se realizó esta investigación con el objetivo de establecer los componentes del manejo integrado de <i>Fusarium oxysporum</i> F. Sp. <i>passifloraceae</i>, en la Maracuyá, midiendo la eficiencia de la aplicación del hongo antagonista <i>Trichoderma sp</i> en el manejo de la enfermedad y, determinando el efecto de los Extractos Vegetales a base de Ruda de gallinazo (<i>Ruta graveolens</i>) y la Ortiga (<i>Urtica dioica</i>), sobre la infección causada por <i>F. oxysporum</i> F. Sp. <i>Passifloraceae</i>, en la Maracuyá. La investigación se llevó a cabo en el Invernadero y en el Laboratorio de Fitopatología y Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo en la que se estudiaron tanto la variedad de Maracuyá Amarilla y Roja inoculadas con <i>F. oxysporum</i>, las mismas que fueron tratadas con medios de control entre los que se evaluó el biológico (Trichoeb: hongos antagonistas), Extractos de Ortiga (<i>U. dioica</i>) y Ruda (<i>R. minuta</i>), Captan (Control químico-Carboximida). Se usaron dos testigos, uno inoculado con <i>F. oxysporum</i> y otro sin inocular. El diseño utilizado fue Bloques Completos al Azar (BCA) para evaluaciones <i>in vitro</i> y con arreglo factorial para el ensayo en invernadero. La unidad experimental estuvo constituida por cinco Plantas/Tratamiento y para la separación de medias de tratamientos se utilizó la prueba de Duncan al 0,05%. Las variables que se registraron en invernadero fueron Muerte de la Planta (MP), Longitud de las Lesiones Vasculares (TLV-cm) y Peso de la Raíz (PR-g); y, a nivel de laboratorio se determinó el índice de inhibición del crecimiento radial (ICM) y de esporulación (PIE). De acuerdo a los resultados, la variedad de Maracuyá Amarilla tuvo el promedio más bajo de Plantas Muertas; aunque su comportamiento fue similar a la variedad Roja en las demás variables registradas. Entre los medios de control se observó que el <i>Trichoderma</i> tuvo un amplio control sobre <i>F. oxysporum</i> F. Sp. <i>passifloraceae</i>, inhibiendo la actividad del hongo a nivel de crecimiento y de reproducción. El Extracto Vegetal a base de Ortiga (<i>U. dioica</i>) fue el más eficaz en cuanto a la inhibición del crecimiento micelial de este hongo.</p>
Descripción:	
Url:	

INTRODUCCIÓN

El Ecuador se ha convertido en uno de los países exportadores de cultivo de Maracuyá, también conocida como fruta de la Pasión o parchita. Esta es una fruta tropical, de sabor un poco ácido y con aroma característico. De acuerdo con los últimos datos del Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca (MAGAP), hasta el 2015 se contabilizaron 4.286 hectáreas de cultivo de *P. edulis.*, con una producción nacional de 18 toneladas por hectárea, colocando al Ecuador en el quinto lugar de exportación. Aunque existen variedades en cultivo, estas no están muy bien caracterizadas y básicamente se las distingue por su tamaño, color y sabor (Bejarano & Hernández, 2011).

Poco tiempo después de haberse iniciado el desarrollo del cultivo, las plantaciones se vieron afectadas por el ataque del hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum*, el cual ataca principalmente a las raíces de la planta causando pérdida de unidades productiva hasta el 100% en menos de dos años. Este organismo es un hongo del suelo de muy difícil control en todos los cultivos que ataca y hacia los que desarrolla especialización a nivel de *patovares* o razas. En el caso de Maracuyá tenemos *Fusarium oxisporum pv passiflorae*. Esta especialización del patógeno hace que se lo considere uno de los microorganismos patógenos más agresivos que habita el suelo, donde puede sobrevivir hasta 40 años en la materia orgánica del suelo y la rizósfera de las plantas atacadas (Espinoza, 2013). Debido al ataque de este hongo y a la carencia de eficaces medidas de control, los productores tienden a cambiar el área de cultivo cada tres a cuatro años.

Una vez que el hongo infecta la planta puede causar pérdida de importancia económica de un 90% hasta ocasionar la Muerte de la Planta. Al igual que muchas otras enfermedades en cultivos con importancia económica, se ha tratado de controlar este hongo principalmente con fungicidas, con éxito muy relativo pues, aparte de la ineficacia de la mayoría de los fungicidas usados, existe toda la secuela de efectos negativos de estos productos como alteraciones en la micro biota del suelo e infecciones a la salud de los agricultores, consecuentemente se continua investigando alternativas de combate más eficiente y que contribuyan a mantener un desarrollo sustentable del cultivo, en armonía, con el medio ambiente (Martinez, 2012).

Fusarium spp es un hongo que se encuentra en el suelo alrededor del mundo y afecta muchas especies vegetales y es difícil de controlar. Existe una gran diversidad de especies de este hongo., de las cuales algunas son patogénicas y su gran mayoría son saprófitas e incluso pueden ser utilizadas como antagonista biológicos (Mora, 2001).

La enfermedad se caracteriza por la destrucción de los Vasos conductores de la Planta, provocando la Pudrición del Tallo y las Raíces, Impidiendo el flujo de Nutrientes, causando Marchitez de la Planta.

La importancia de esta investigación se basa en la utilización de productos orgánicos a base de Extractos Vegetales, que tengan propiedades antifúngicas, para ayudar a reducir el uso de productos convencionales de alta toxicidad, con una evidente contaminación ambiental, y un control cuestionable, además del alto costo que implican. Por estas razones se continúa en la búsqueda de alternativas, siendo los Extractos de Plantas, con propiedades fungicidas o fungistáticas una esperanza para integrar en la estrategia de manejo de esta enfermedad, a la vez que se regula el daño al ambiente, a la salud humana y se reducen costos de producción.

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Problematización de Investigación

1.1.1 Planteamiento del Problema

Uno de los principales problemas causado por *F. oxysporum* es el daño a nivel de cuello y sistema radicular de la planta, impidiendo el flujo de nutrientes, causando marchitez de la planta. Este hongo se considera uno de los más agresivos del suelo ya que puede sobrevivir por más de 40 años.

Una vez que el hongo infecta la Planta puede causar pérdidas de importancia económica de un 90% hasta ocasionar la muerte de la planta. Por esta razón, los agricultores se ven obligados a la aplicación de fungicidas de alta toxicidad, que a veces resultan deficientes, lo cual produce resistencia al patógeno y efecto al medio ambiente.

1.1.2 Formulación del Problema

¿Qué estrategias MIPE se pueden considerar y utilizar para el manejo de *F. oxysporum* en maracuyá (*Passiflora edulis*)?

1.1.3 Sistematización del Problema

En base a la problemática abordaba anteriormente se plantean las siguientes directrices:

¿Qué eficiencia tiene la aplicación del hongo antagonista *Trichoderma sp* en el manejo de *F. oxysporum*?

¿Cuál es el efecto de los Extractos Vegetales a base de Ruda de gallinazo (*Ruta graveolens*) y Ortiga (*Urtica dioica*), sobre la infección causada por *Fusarium oxysporum F. sp. Passifloraceae* en la Maracuyá?

1.2 Objetivos

1.2.1 General

Establecer los componentes del manejo integrado de *Fusarium oxysporum* F. Sp. *Passifloracea*, en la Maracuyá.

1.2.2 Específicos

- Medir la eficacia de la aplicación del hongo antagonista *Trichoderma sp.* en el manejo de la enfermedad.
- Determinar el efecto de los Extractos Vegetales a base de Ruda de gallinazo (*Ruta graveolens*) y la Ortiga (*Urtica dioica*), sobre la infección causada por *F. oxysporum* F. Sp. *passifloraceae*, en la Maracuyá.

1.3 Justificación

El patosistema *Fusarium*-maracuyá además de afectar directamente la economía de pequeños productores provocando la pérdida de enfermedades, es muy difícil de manejar/controlar, no existiendo una medida única realmente eficiente. En estas circunstancias, el control de este tipo de patosistemas requiere la integración de todas las tácticas que se puedan integrar bien sea para disminuir la población del patógeno, o para aumentar la resistencia del hospedero.

La importancia de la presente investigación se basa en la utilización de productos orgánicos a base de extractos de vegetales que tengan propiedades antifúngicas, biestimulantes o bioestáticas, que ayuden a reducir el uso de moléculas sintéticas tóxicas. Otro aspecto importante que se está considerando en esta investigación es que (a) se use algunas de las plantas que existen en el entorno del productor como la ortiga y la ruda, y (b) que la extracción de los principios activos contra *Fusarium* sea de fácil acceso al pequeño productor.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Marco Teórico

2.1.1 Generalidades del Cultivo de Maracuyá (*Passiflora edulis*)

La maracuyá (*Passiflora edulis*) es conocida internacionalmente como “la fruta de la pasión”, no por ser un afrodisíaco o tener alguna propiedad parecida a ello, sino porque su flor contiene los símbolos de La Pasión de Cristo, teniendo entonces un origen religioso esta designación (Taborda, 2013).

Este cultivo a la familia de las *Passifloraceae*, género *Passiflora*, cuyo origen se atribuye a la cuenca brasileña del río Amazonas, pero en el siglo XIX se distribuyó ampliamente en los trópicos y sub-trópicos por las características que tiene su fruto; se utiliza como diurético y algunos nativos de distintas zonas de Brasil utilizan sus hojas y frutos como medicina natural (Kato & Beraldo, 2010).

2.1.1.1 Taxonomía de la Maracuyá

Nombre común: Maracuyá

Nombre Científico: *Passiflora edulis* L.

Orden: Passiflorales

Familia: Passifloraceae

Género: *Passiflora*

Especie: *edulis* Sims (Álvarez, 2010).

2.1.1.2 Variedades de Maracuyá

La maracuyá (*Passiflora edulis*) es conocida internacionalmente como “la fruta de la pasión”, no por ser un afrodisíaco o tener alguna propiedad parecida a ello, sino porque su flor contiene los símbolos de La Pasión de Cristo, teniendo entonces un origen religioso esta designación (Taborda, 2013).

Este cultivo a la familia de las *Passifloraceae*, género *Passiflora*, cuyo origen se atribuye a la cuenca brasileña del río Amazonas, pero en el siglo XIX se distribuyó ampliamente en los

trópicos y sub-trópicos por las características que tiene su fruto; se utiliza como diurético y algunos nativos de distintas zonas de Brasil utilizan sus hojas y frutos como medicina natural (Kato & Beraldo, 2010).

2.1.1.3 Descripción Botánica

La maracuyá es una planta trepadora, vigorosa, de consistencia leñosa y ciclo semiperenne, que necesita de un soporte o tutor para desarrollarse, alcanzando sus ramas hasta 20 metros de largo. El sistema radicular es superficial totalmente ramificado, sin raíz pivotante, distribuido en un 90 % en los primeros 0.15 – 0.45 m de profundidad, por lo que es importante no realizar labores culturales que remuevan el suelo. El 68 % del total de raíces se encuentran a una distancia de 0.60 m del tronco, factor a considerar al momento de la fertilización y riego. Las hojas son simples, alternas, comúnmente trilobuladas o digitadas, con márgenes finamente dentados, miden de 7 a 20 cm de largo y son de color verde profundo, brillante en el haz y pálido en el envés (Torres, 2002).

Las flores son hermafroditas (perfectas), con un androginóforo bien desarrollado, nacen solitarias en las axilas, sostenidas por 3 grandes brácteas verdes que se asemejan a hojas. Las flores ostentan 3 sépalos de color blanco verdoso, 5 pétalos blancos y una corona formada por un abanico de filamentos que irradian hacia fuera, cuya base es de un color púrpura; estos filamentos tienen la función de atraer a los insectos polinizadores. Sobre el androginóforo se encuentra el órgano masculino o androceo, formado por 5 estambres con anteras grandes, que contienen los granos de polen que son amarillos y muy pesados, lo que dificulta la polinización por el viento, ya que la estructura femenina (gineceo) se ubica arriba de los estambres, además las anteras maduran antes que los estigmas, a eso se le llama dicogamia protándrica; el polen tiene una fertilidad del 70% (García, 2002).

El fruto es una baya, de forma globosa u ovoide, con un diámetro de 0.04–0.08 m y de 0.06–0.08 m de largo, la base y el ápice son redondeados, la corteza es de color amarillo, de consistencia dura, lisa y cerosa, de unos 0.003 m de espesor; el pericarpio es grueso, contiene de 200 – 300 semillas, cada una rodeada de un arilo (membrana mucilaginoso) que contiene un jugo aromático en el cual se encuentran las vitaminas y otros nutrientes (Pereira, 2015). La semilla es de color negro o violeta oscuro, cada semilla representa un ovario fecundado por un grano de polen, por lo que el número de semillas, el peso del fruto y la producción de

jugo están correlacionados con el número de granos de polen depositados sobre el estigma. Dicho número no debe ser menor de 190. Las semillas están constituidas por aceites en un 20 – 25 % y un 10 % de proteína (García, 2010).

2.1.1.4 Requerimientos Edafoclimáticos

La temperatura óptima para un buen desarrollo de la maracuyá es entre los 23 – 25 °C; aunque se adapta desde los 21 °C hasta los 32 °C, Con respecto a la altitud, comercialmente se puede cultivar desde el nivel del mar hasta los 1.000 msnm, con una humedad relativa del 60 % (Torres, 2002).

El maracuyá requiere de una precipitación anual de 800–1750 mm y una mínima mensual de 80 mm; además, en las etapas de floración y producción de frutos las plantas no deben ser sometidas a estrés hídrico ya que este podría ocasionar grandes pérdidas en la producción y se recomienda tener fuente constante de agua que supla con los requerimientos del cultivo (Ríos & Dorado, 2010). Requiere un mínimo de 11 horas de luz diaria para poder florecer, por ser un cultivo hasta cierto punto rústico, se puede cultivar en suelos desde arenosos hasta arcillosos, siendo preferibles los de textura areno arcillosa que tenga una profundidad mínima de 60 cm, un buen drenaje y una fertilidad de media a alta con un pH de 5.5 – 7.0, aunque el cultivo puede llegar a tolerar un pH de hasta 8 (Espinoza, 2013).

2.1.1.5 Importancia Económica de la Maracuyá

A pesar de que el manejo de las plantaciones de manera general es un poco ineficiente, los bajos costos de producción han permitido tener un espacio en el mercado internacional, ofreciendo un producto barato y de buena calidad; en efecto, el rendimiento más común por hectárea en Ecuador es de 14 a 15 toneladas métricas, comparado con el de otros países, que oscila entre 35 a 40 tm/ha (INEC, 2010). En Ecuador, la mayor área cultivada de maracuyá está ubicada en la región costa, principalmente en las zonas de Quinindé, Muisne, Santo Domingo De Los Tsáchilas, El Carmen, Chone, Tosagua, Calceta, Portoviejo, Quevedo, Balzar, San Jacinto de Yaguachi, Duran y Milagro. Los datos del último censo agropecuario señalan que hasta el 2003 había 20.089 hectáreas a nivel de país, con una producción de 168.569 toneladas métricas (Jiménez, 2009).

El país debido a su buen clima, y buen suelo para la agricultura ha sido excelente, primero para el cultivo de frutas para exportación, luego aparece la idea de procesarlas para hacer jugos naturales. Durante estos años estas empresas se dedicaron a satisfacer únicamente la demanda local y no es sino al principio de la década de los 90 que se registran las primeras exportaciones de jugos de frutas. En estos últimos años pocas han sido las empresas que han podido importar sofisticadas maquinarias debido a sus altos costos, sin embargo empresas como Quicornac y Tropifrutas mantienen una tecnología de punta con maquinarias nuevas. Hoy en día, las plantas compran grandes cantidades de frutas para procesarlas a niveles industriales. El Ecuador durante la última década ha exportado grandes cantidades de jugos de frutas (Ortiz & Navas, 2000).

2.1.1.6 Distribución de la Producción de Maracuyá a Nivel Mundial

Brasil es el principal productor a nivel mundial a partir de los años 80 ha sido Brasil. En este país se han dedicado a su cultivo 25,000-33,000 hectáreas durante los últimos años, generando el 50% de la producción mundial (250,000-420,000t). Por sus condiciones climáticas, en este país se puede cosechar prácticamente durante todo el año: Su producción por hectárea es de 45 toneladas (Gómez, 2005).

En Colombia el cultivo comercial se inició en los años 60 y fue hasta los 80 que se lanzó al mercado internacional. La superficie dedicada varía entre 2,500 y 7,000 hectáreas y el 70% de la producción se exporta, dejando el 30% para el mercado interno. Su producción es de 20 t/ha (Ayala & Cevallos, 2013).

En Perú este cultivo presenta un ciclo de vida más largo que en Brasil y Colombia, ya que se obtienen rendimientos altos aun durante el 5° año. La productividad media nacional es de 36 t/ha en un ciclo de tres años. En la actualidad, el 70% de la producción se destina al mercado en fresco y 30% a la agroindustria (Gómez, 2005).

2.1.1.7 Área Productiva en Ecuador

Según el censo nacional agropecuario, las provincias donde se concentra el mayor porcentaje de producción de maracuyá son: Esmeralda, Los Ríos, Manabí, Guayas y el Oro (Calle & Cobos, 2005).

Tabla 1 Principales provincias productoras de maracuyá en Ecuador

Provincia	UPAs	Superficie Plantada (Ha)
Esmeraldas	132	826
Los Ríos	221	493
Manabí	319	469
Guayas	118	207
El Oro	39	154
Total	829	2149

Fuente: Calle & Cobos (2005)

2.1.1.8 Demanda

El incremento de la demanda mundial de jugo concentrado de maracuyá se debe principalmente a las tendencias en el mercado de bebidas que marca un cambio de preferencias del consumidor hacia los productos no alcohólicos, naturales, saludables, con aromas y sabores innovadores, favoreciendo ampliamente el desarrollo de bebidas a partir de frutas, tanto en el mercado de los países desarrollados como en el de los países en desarrollo. Se puede percibir una demanda creciente de sabores de frutas tropicales para la oferta de mezclas refrescantes que incluyen frutas tropicales, particularmente en la Unión Europea y Estados Unidos (Ayala & Cevallos, 2013).

Tabla 2 Principales empresas productoras de concentrado de maracuyá en el Ecuador año 2010.

Empresas	Producción Nacional (Tm)	Exportaciones (Tm 97%)	Mercado Local (Tm 3%)
Tropifrutas S.A.	6115	5931.55	183.45
Quicornac S.A.	3051	2959.47	91.53
Ecuaplantation S.A.	1246	1208.62	37.38
Fruta de la pasión	826	801.22	24.78
Exofrut	763	740.11	22.89
Agroindustria Pacífico	712	690.64	21.36
Totales	12713	12331.61	381.39

Fuente: Ayala & Cevallos (2013)

2.1.1.9 Exportaciones del País al Mundo

Las exportaciones del Ecuador al Mundo en los últimos cinco años han presentado una tendencia creciente en el 2009 donde hubo una caída que se podría alegar a la crisis económicamente mundial de ese año, para el 2011 las exportaciones alcanzaron los USD 22,345 millones, lo cual significa USD 4,855 millones más que el 2010 (Ayala & Cevallos, 2013).

Tabla 3 Exportaciones del Ecuador hacia el mundo (FOB)

Año	Exportaciones (\$)
2007	14321316.00
2008	18818326.00
2009	13863055.00
2010	17489923.00
2011	22345205.00

Fuente: Ayala & Cevallos (2013)

2.1.1.10 Rendimientos

Los promedios en Ecuador son similares a Perú y Colombia, ya que Perú en la primera cosecha se obtuvo 15 tm/ha/año, en la segunda se obtiene de 12 a 18 y la tercera alrededor de 15 a 20, es decir un promedio de 50 toneladas por hectárea, durante el periodo de producción económicamente del cultivo, que dura alrededor de 3 años. La productividad es variable depende del nivel tecnológico que se emplean. Así en los cultivos, el rendimiento alcanza a los 10 tm de frutas fresca ha, mientras que los ensayos de los cultivos comerciales, con tecnología y cobertura de riesgo, se han reportado rendimientos de hasta 25 t/ha, en la zonas de Manabí y los Ríos, según estudios de la CORPEI (García, 2006).

En nuestro país la maracuyá posee zonas con condiciones edafoclimáticas propicias para su cultivo además de poseer una ventaja sobre el país de origen (Brasil), ya que los cultivos de pasionaria tienen periodos de descanso cuando las temperaturas son bajas y las horas luz son inferiores a las once horas (Calle & Cobos, 2005).

2.1.2 Aspectos Generales sobre *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum es un hongo que se presenta principalmente como saprófito en el suelo, o también como patógeno especializado a determinados cultivos alcanzando el nivel denominado “*formae specialis*”. Aparentemente es posible además, distinguir patotipos o razas fisiológicas de una misma forma especial (Garcés E. , Orozco, Bautista, & Valencia, 2001). Con seguridad esta plasticidad de hongo lo convierte en una de las especies de mayor importancia económica por el daño que causa en un amplio rango de hospedantes. El patógeno tiene la capacidad de atacar las plantas y ocasionar daños; marchitamiento vasculares y muerte a la planta, algunas de ellas ocasionan pudrición en la corona y a la raíz de la plantas (Arbeláez, 1989), (Bosland, 1988).

Se caracteriza por producir, *in vitro*, colonias de rápido crecimiento, con una tasa diaria cercana a un centímetro, en medio papa- dextrosa agar (PDA) a 25°C. La morfología de las colonias es muy variable y puede presentar dos tipos: una de tipo micelial caracterizada por la producción de abundante micelio aéreo, algodonoso, con una coloración variable, de blanco a rosado durazno, pero usualmente con un tinte púrpura o violeta más intenso en la superficie del agar y pocas microconidias (Booth, 1970).

Algunas especies de *Fusarium* producen esporas meioticas (sexuales) y hasta tres tipos de esporas mitóticas (asexuales). Sin embargo, se sabe que no todos los tipos de esporas son reducidos por todos las especies y menos del 20% de *Fusarium* tienen un ciclo sexual conocido, como fitopatogenos, emplean una amplia gama de estrategias de infección. La mayoría pueden ser clasificados como hemibiotrofos, porque la infección inicialmente se asemeja a la de un agente patógeno que se basa en un huésped vivo (biotrófico), pero con el tiempo mata y consume las células huésped (necrotrofico). Enfermedades por *Fusarium* pueden iniciar en las raíces (inoculo con origen en el suelo) o en parte aérea de la plantas (a través del aire o el agua) (Li-Jun *et al.*, 2013).

Según Nelson (1997), el hongo produce tres clases de esporas:

- Microconidias: Esporas generalmente unicelulares, sin septas, hialinas, elipsoidales a cilíndricas, rectas o curvadas; se forman sobre fiálides laterales, cortas, simples o sobre

conidióforos poco ramificados. Las microconidias tienen 5- 12 μm de largo por 2.5- 3.5 μm de ancho.

- Macroconidias: Esporas de paredes delgadas, fusiformes, largas, moderadamente curvadas en forma de hoz, con varias células y de 3 a 5 septas transversales, con la célula basal elongada y la célula apical atenuada; las macroconidias tiene un tamaño de 27 a 46 μm de largo por 3.0 a 4.5 μm de ancho.
- Clamidosporas: Esporas formadas a partir de la condensación del contenido de las hifas y de las conidias, de paredes gruesas. Se forman simples o en pares, terminales o intercalares: poseen un tamaño de 5 a 15 μm de diámetro, (Nelson, 1997). Gracias a ellas el hongo sobrevive en condiciones ambientales desfavorables y en el suelo como saprófito de vida libre en ausencia de plantas hospedantes, (Garret, 1977). Hasta el momento no se conoce la fase perfecta del hongo.

Gracias a ellas el hongo sobrevive en condiciones ambientales desfavorables y en el suelo como saprófito de vida libre en ausencia de plantas hospedantes (Garret, 1977). El hongo se conserva relativamente bien en el suelo (un año a veces más!) y en muchos otros soportes como las macetas, los estantes, los sistemas de riego, las tuberías, los recipientes de solución nutritiva, los residuos de cultivo. Puede sobrevivir a gran profundidad (100 a 150 cm) y resiste tanto a la desecación como a una saturación de agua en el suelo (Cyclamen, 2015).

2.1.2.1 Taxonomía y Genética de *Fusarium oxysporum*

El estudio taxonómico de *Fusarium oxysporum* se basa en la morfología, en el desarrollo de las estructuras reproductivas y en la manera como se forman, estas son especies caracterizadas por presentar diferencias morfológicas pequeñas sujetas principalmente a influencia ambiental; posteriormente unen la sección. Elegans en una especie única: *Fusarium oxysporum*, reconociendo, sin embargo, la existencia de variantes dentro de la especie, particularmente con respecto a la especialización de la planta hospedante. El taxón *formae specialis* corresponde a cepas cuyas características morfológicas y de cultivo son indistinguibles, pero muestran diferentes propiedades fisiológicas en su habilidad para parasitar un hospedante específico (Booth, 1970). Este taxón se ha empleado para

categorizar aislamientos que causan enfermedades en una especie, género o familia, en particular (Bosland, 1988).

Este mismo autor refiere que en el género *Fusarium* se han reconocido entre nueve y 78 especies, dependiendo del sistema taxonómico utilizado, el cual se basa principalmente en las características culturales de las colonias y de las esporas del hongo. La clasificación taxonómica del género es bastante controvertida según diversos taxónomos. Snyder y Hansen y Messian y Cassini reconocen nueve especies, Gordon considera 26 especies, Booth 44 especies, Wollenweber y Reinking 65 especies y Gerlach reconoce 78 especies (Nelson; 1990). Esto muestra la complejidad taxonómica del género *Fusarium*; por tal razón, la identificación de las especies debe ser hecha por expertos para evitar errores.

El conocimiento sistemático de *Fusarium oxysporum* ha mejorado con técnicas como el polimorfismo de isoenzimas. En este contexto diversos autores reportan polimorfismo principalmente para la aril esterasa, siendo posible diferenciar por este método especies de *Fusarium*, formas especiales y razas de *Fusarium oxysporum* (Belalcazar, 1984). Con esta técnica, se observaron diferencias en las razas de *Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum* y *Fusarium solani*, igualmente diferenciaron razas de *Fusarium oxysporum f. sp. conglutinans*. Para (Kistler, 1997), el carácter raza fisiológica puede o no correlacionarse con linaje clonal, ya que (Manicom & Bayen, 1993), en *Fusarium oxysporum f. sp. dianthi* se presenta un alineamiento entre raza, grupo de compatibilidad vegetativa y patrones de DNA “fingerprint”, pero en otras formas especiales como *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* las razas se encuentran dispersas en diferentes linajes clonales del patógeno, (Elías, Zamir, Lichtman, & Katan, 1993), o como sucede con *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* un único linaje clonal contiene todas las razas del patógeno (Jacobson & Gordon, 1988).

2.1.2.2 Pudrición del Tallo Causada por *Fusarium oxysporum*

Esta enfermedad también es conocida como secadera de la maracuyá, fusariosis entre otras, se caracteriza por la destrucción de los vasos conductores de la planta, en especial del xilema, un efecto grave de la presencia de esta enfermedad en una región es la permanencia del inoculo del agente causal, lo que invariablemente obliga a los productores a cambiar de cultivo, generando así un proceso migratorio del cultivo de maracuyá y de otras pasifloras

(Cadena Frutícola del Huila, 2006). Como principal agente causal de la pudrición se ha registrado a *Fusarium oxysporum f. sp. Passiflorae* (Gomez, 2008).

La diseminación de este patógeno se relaciona con el material vegetal de propagación, porque la selección de semillas no es la adecuada y no cumple con los estándares mínimos de calidad, lo que lleva a una alta infección de microorganismos fungosos, uno de ellos *Fusarium*. También inciden factores como el agua de riego, las lluvias fuertes o el viento, que son considerados agentes de diseminación de conidios y estructuras reproductivas del hongo (Agrios, 2005).

2.1.2.3 Ciclo de la Enfermedad

El patógeno coloniza por crecimiento del micelio o por medio de transporte pasivo de microconidias (Baayen, 1989). El ciclo se inicia con el crecimiento de las hifas o con la germinación de las clamidosporas en dormancia, presente en tejidos muertos del hospedante, estimulados por los exudados secretados por las raíces de las plantas recién sembradas. Las hifas del hongos penetran directamente la epidermis de las raíces, pasan a la corteza y a la endodermis y entran a los vasos del xilema, también las hifas pueden penetrar a través de las heridas hechas en formas mecánica o por nematodos, insectos o miriápodos, la penetración directa a través de las raíces es el método más común de penetración del patógeno. Una vez dentro de la planta el hongo se mueve hacia el tejido vascular por colonización intracelular a los vasos del xilema y los invade cuando están maduros (Baker, 1960).

2.1.2.4 Síntomas de *Fusarium oxysporum*

La enfermedad se caracteriza por la aparición unilateral de los síntomas de marchitamiento, acompañada del amarillamiento parcial de las hojas y el doblamiento de los brotes hacia el lado de la planta enferma, a causa de la interferencia en el crecimiento; en estados iniciales en las hojas puede observarse la mitad clorótica y la mitad de un color verde normal. Se observa además un enanismo de los brotes y disminución del crecimiento de la planta. Los síntomas de la enfermedad avanzan afectando la planta hacia arriba hasta causar un marchitamiento generalizado y la muerte. Un aspecto muy importante para el diagnóstico de la enfermedad que la diferencia fácilmente de otras enfermedades vasculares es una

coloración blanquecina, amarillenta o marrón en los haces vasculares y deshilachamiento de los tejidos sin afectar la médula (Baker, 1980).

Las principales lesiones que se observan cuando en caso positivo de ataque de este patógeno se dan en las raíces primarias y secundarias. Con la presencia de raíces en el lugar donde están las esporas de resistencia del hongo (clamidosporas), estas empiezan a germinar y se inicia el proceso de infección. Las hifas del hongo se adhieren a las raíces de la planta penetrándolas directamente, y una vez adentro, el micelio avanza hasta alcanzar el sistema vascular de la planta, específicamente el sistema xilemático, en este punto, el hongo utiliza el xilema como un sistema de avenidas por donde se desplaza rápidamente, no solamente mediante el crecimiento rápido de sus hifas sino también produciendo pequeñas esporas, muy abundantes, conocidas como microconidias, las que fácilmente pueden circular en el flujo de agua e ir invadiendo toda la planta (Di Pietro, Madrid, Caracuel, Delgado, & Roncero, 2003).

En plantas adultas, en estados iniciales de infección, empieza a observarse clorosis de las hojas jóvenes, mientras que las hojas más viejas presentan epinastia o decaimiento; gradualmente, la deshidratación se va haciendo más severa, afectando cada vez un mayor número de hojas y ramas hasta que toda la planta se observa totalmente marchita, sus frutos deshidratados no alcanzan la madurez, el número de flores disminuye considerablemente y en algunos casos es posible observar la formación de abundante micelio al interior del tallo (Agrios, 2005).

Con el crecimiento y desarrollo del hongo la planta reacciona tratando de impedir su avance, para lo cual genera geles o gomas y tilosas, que funcionan como barreras físicas y químicas que pretenden detener la evolución de la infección (Sun, Rost, & Matthews, 2008).

2.1.2.5 Diseminación

La principal diseminación del patógeno ocurre a través de esquejes infectados provenientes de la planta madre. Una de las dificultades para evitar este tipo de diseminación consiste en que el hongo coloniza el sistema vascular antes de la expresión de los síntomas en la planta y los esquejes obtenidos pueden contener el patógeno sin mostrar síntomas externos (Nelson, 1997); además la distribución del hongo no es uniforme debido a la colonización pasiva de

las microconidias en los vasos del xilema, por lo cual algunos esquejes pueden resultar sanos y otros enfermos (Fletcher & Martin, 1972).

2.1.2.6 Epidemiología

La temperatura es uno de los factores ambientales que mayor influencia tienen en el desarrollo de la enfermedad y en la expresión de los síntomas, así como la nutrición de la planta (Baker, 1980).

La temperatura óptima para el desarrollo del patógeno está entre 25 y 30° C, una temperatura mínima de 5°C y una temperatura máxima de 37°C, el punto termal de muerte en el suelo es de 57.5 a 60°C durante 30 minutos. La esporulación óptima ocurre entre 20 y 25°C, con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. El pH óptimo es de 7.7 SIN EMBARGO, puede desarrollarse entre 2.2 y 9.0 (Fletcher & Martin, 1972).

2.1.2.7 Métodos de Control de *Fusarium oxysporum*

Debido a las reconocidas dificultades en el manejo de esta enfermedad, la primera recomendación es evitar sembrar en zonas donde previamente se haya presentado la infección por este patógeno, incluso si se presentó en otro tipo de cultivos, pues se ha comprobado que bajo ciertas circunstancias puede llegar también a afectar el cultivo de maracuyá. Se recomienda el uso de plántulas de viveros reconocidos, que puedan certificar que el lote adquirido está libre de patógenos (Fisher & Rezende, 2008).

También pueden ser un poco más costosas, pero se puede estar más tranquilo en cuanto al material utilizado y a largo plazo se convierten en una inversión más segura (Espinoza, 2013).

Una vez establecido el cultivo, los métodos de control de la enfermedad incluyen todas las fuentes posibles, ya sea de carácter genético químico, biológico, físico y cultural. El uso de material resistente se considera la manera más efectiva de reducir este tipo de enfermedades, desafortunadamente aún no existe material resistente comprobado y comercial contra esta enfermedad, uno de los factores para este han dicado puede ser que el uso de injertos es una tecnología que aún no se ha adoptado en maracuyá por sus elevados costos (Castaño, 2009).

Con controles químicos y culturales se ha conseguido éxito limitado. En los últimos años se explora el uso de agentes de control biológicos como un enfoque ambientalmente amigable para el control de *Fusarium*.

Como medidas preventivas, se recomienda tener cuidado con la pureza de las fuentes de agua, las distancias de siembra y nutrición adecuadas para obstaculizar el desarrollo del hongo, así como otras labores culturales como no causar heridas, desinfectar herramientas de trabajo y aplicar cicatrizantes en los cortes (Guerrero & Carvajal, 2011).

2.1.2.8 Medidas de Prevención y Culturales

Una vez que la enfermedad se presenta en el cultivo, la aplicación de fungicidas no es eficaz, por lo que se recomienda manejar con prontitud y rigurosidad el foco de infección antes de que se disemine a la totalidad de las plantas del cultivo (Espinoza, 2013).

Debido a que es un patógeno del suelo que se confina al interior de la planta, su dispersión dentro de la planta es relativamente rápida, pero entre plantas es más limitada, por lo que se sugiere erradicar cuidadosamente las plantas efectivamente diagnosticadas con la enfermedad en las cuales se haya comprobado la aparición de coloraciones café – rojizas en tejidos de ramas o tallos. Es muy importante sacar cuidadosamente las plantas enfermas del lote e incinerarlas, porque dentro de ellas va el agente causal de nuevas infecciones. Finalmente, debe demarcarse de manera apropiada, aislando el sitio donde se presentó el foco de infección, pues no debe olvidarse que el patógeno ha quedado en el suelo y que, de no cuidarse el tránsito por ese lugar, se puede llevar en las botas o con el paso de animales, aumentando la afección en el lote (Guerrero & Carvajal, 2011).

La desinfección de suelos con desinfectantes antes de la plantación y posteriormente un control, suprimirán los hongos en el suelo y protegerán a las plantas contra una infección. El mejor método de prevención podría ser el uso de material vegetal tolerante o resistente (Espinoza, 2013).

- **Medidas Químicas de Control**

Existen diversas técnicas ensayadas para el control químico de *fusarium oxysporum*,: a nivel de viveros, en una cama de producción con síntomas de esta enfermedad se recomienda

hacer aplicaciones de formaldehído (50%) para evitar contagio. también se se ha recomendado tratamientos a base de dazomet, methan sodio, metil isotiocianato, además de la aplicación de fungicidas sistémicos del grupo del benomyl como thiabendazol, carbendazim y metilthiofanato (Gutiérrez, 1991). en otros estudios se determinó que aplicaciones de procloraz, carboxin + captan y metalaxyl + mancozeb fueron eficaces para el control de los hongos del suelo incluido *Fusarium* (Alfonso & Sandoval, 2008).

- **Medidas Físicas de Control**

La solarización es un método de control físico, ya que los patógenos son afectados por altas temperaturas que se crean por el efecto invernadero del polietileno colocado sobre el suelo. Es una técnica empleada para el control de muchos patógenos y plagas del suelo que captura la energía solar de tal modo que provoca cambios físicos, químicos y biológicos en el suelo; para ello se coloca una cubierta de polietileno transparente sobre el suelo húmedo durante los meses más calurosos del verano, con el fin de aumentar la temperatura del suelo a niveles letales para muchos fitopatógenos, semillas y plántulas de malezas (Pumisacho & Sherwood, 2002).

- **Medidas de Control Biológico**

Control biológico es un concepto usado tanto en fitopatología como en entomología o malherbología, que explica el control de un organismo dañino por otro. Sin embargo, el concepto se ha desarrollado por diferentes líneas en las disciplinas mencionadas. Así, en cuanto los entomólogos introducen un insecto parásito-específico desde un lugar (región o país) para el control de un determinado insecto-plaga en otro, el mismo trabajo en fitopatología enfatiza el manejo de microorganismos antagónicos residentes a través de prácticas, tales como aplicación de fertilizantes orgánicos, rotación de cultivos e incorporación de residuos de plantas infectadas (Sepúlveda, 2005).

Desde hace tiempo se ha reconocido que los microorganismos patógenos se incrementan durante el monocultivo de unos cultivos y los rendimientos se reducirán independientemente del programa de fertilidad. Los agentes de control biológico son usados para manejar fusariosis, debido a las limitaciones ambientales y económicas asociados con otras estrategias de control .El control biológico puede ser usado como una estrategia de manejo

o combinado con otros métodos, en un sistemas integrado de manejo (Borrero, Ordovas, Trillas, & Aviles, 2006).

El aporte de la micro flora saprófita para el control de patógenos del suelo ha sido escasamente comprendido y explotado. Para el manejo de enfermedades presentes en el suelo, el productor puede decidirse por dos tácticas: directamente, con la introducción de algún organismo benéfico, o indirectamente, modificando las condiciones del suelo a favor de los organismos antagónicos naturales, por ejemplo mediante aplicaciones de enmiendas orgánicas. El problema central de los agentes biológicos (no de sus derivados) es que, como todo organismo vivo, necesitan de un ecosistema receptivo para realizar sus funciones; por lo tanto su uso requiere consideraciones específicas, tanto para el control de la enfermedad como para la sobrevivencia del antagonista (Pumisacho & Sherwood, 2002).

Las especies pertenecientes al género *Trichoderma* se caracterizan por ser hongos saprófitos, que sobreviven en suelos con diferentes cantidades de materia orgánica, los cuales son capaces de descomponerla y en determinadas condiciones pueden ser anaerobios facultativos, lo que les permite mostrar una mayor plasticidad ecológica (Espinoza, 2013).

Este mismo autor refiere que es ampliamente conocido por su conducta antagonista y utilizada para biocontrol, debido a su facilidad para ser aislado y cultivado, a su vez un crecimiento rápido y un gran número de sustratos que no ataca plantas tienen diversas ventajas como agente de control biológico, y una gran tolerancia a condiciones ambientales que pueden sobrevivir en químicos y pesticidas.

Estudios realizados en evaluación de dos métodos de control (práctica cultural y microorganismos) contra *f. oxysporum* en el cultivo de naranjilla (*Solanum quitoense*) demostraron eficacia para la variable altura de planta tenemos a *Trichoderma* con una altura promedio de 75,24cm y 70,76 para *Bacillus*. En la variable severidad a los 180 días como la mejor alternativa a *Trichoderma* con 3,37% de severidad y 11,25% para *Bacillus*, de la misma forma para la variable mortalidad tenemos 5,50 % para *Trichoderma* y 14,67% de mortalidad para *Bacillus*. Para la variable incidencia tenemos con el mejor resultado y una baja incidencia a *Trichoderma* registrando los siguientes promedios a los 180 días 1,83 para *Trichoderma* y 7,83% para *Bacillus* *Trichoderma* demuestra su capacidad de control una vez

colonizada las raíces de la planta a partir de los 135 días a 180 días donde muestra una gran diferencia. Funcionando como Antagonista y estimulador de crecimiento (Tipanluisa, 2011).

Estudios realizados sobre la evaluación *in vitro* de fungicidas para el control de hongos patógenos del suelo, se encontró que el producto conocido comercialmente como Fitotripen, que esta formulado con base a tres especies del hongo *Trichoderma* fue el más efectivo para el control de los hongos en todos sus tratamientos, constituyéndose en una esperanza para control de *Fusarium* (Alfonso & Sandoval, 2008).

2.1.3 Aspectos Generales de *Trichoderma*

El género *trichoderma* posee buenas cualidades para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium*, entre otros. las especies de *Trichoderma* actúan como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que se les atribuye los cambios estructurales a nivel celular encontrados en los organismos con los que interactúa, tales como vacuolización, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular, (Ezziyyani, Pérez, Sid, Emilia, & Emilia, 2004).

En la actualidad hongos pertenecientes a este género se han probado y estan siendo usados en diversos patosistemas para el control de enfermedades de plantas producidos por hongos, debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores. los mecanismos por los que las cepas del género *trichoderma* desplazan al fitopatógeno son fundamentalmente de tres tipos: competencia directa por el espacio o por los nutrientes, producción de metabolitos antibióticos, ya sean de naturaleza volátil o no volátil y parasitismo directo de determinadas especies de *trichoderma* sobre los hongos fitopatógenos.

2.1.3.1 Características

El género *Trichoderma* pertenece a la clase sordariomycetes, orden hypocreales, familia hypocreaceae, género: *trichoderma*, es un hongo imperfecto que posee hifas hialinas septadas y ramificadas a ambos lados sin ser paralelas, los conidióforos presentan fiálides, y

conidios que son las principales estructuras de reproducción, mientras que sus estructuras de resistencia son las clamidosporas. Estas son similares a las de otros hongos formadores de clamidosporas, siendo de 5 a 10 veces más grandes que los conidios por sus voluminosas reservas de lípidos; son intercalares o terminales, de forma cilíndrica o globosa. Los conidióforos son hialinos, al inicio de su desarrollo se observan ramificados pero cuando maduran comienzan a separarse por su formación aérea, son rectos y pueden llegar a presentar un aspecto piramidal. Las fiálides son hialinas, en forma de frasco o botella, e infladas en la base y están unidas a los conidióforos en ángulo recto. Los conidios tienen de 2µm a 3µm de diámetro en promedio, son redondeados o de forma ovoide, lisos y se observan hialinos o de color verde brillante al microscopio (Chávez, 2006).

2.1.3.2 Manejo Integrado

El manejo integrado de plagas es una forma de manejo del agro ecosistema que es conveniente para el agricultor particularmente aquellos que deben manejar patosistemas complejos; este manejo propone una estrategia donde tomando en cuenta la socio economía y ecología de la finca, utiliza todos los métodos y técnicas apropiadas y disponibles para promover la salud y productividad del cultivo o sistema de cultivos presentes (Acurio, 2010).

El manejo integrado de enfermedades no ofrece recetas fijas. La combinación de estrategias y formas de control utilizadas en cualquier campo específico debe variar según la situación particular que se esté analizando. Se reconoce que el “manejo integrado” es demandante de conocimiento tanto del cultivo como de la biología y epidemiología de la plaga a tratar. El productor debe estar consciente de que la actividad agrícola es la principal causa de la irrupción de plagas, malezas y enfermedades. El monocultivo (en tiempo o espacio), los patrones de rotación inapropiados o demasiados cortos, la deficiente calidad fitosanitaria de la semilla y esquejes, crean condiciones ideales para el desarrollo de pestes. Sin embargo, el agricultor posee diversas oportunidades y herramientas para manejar esta situación a su favor, estas herramientas incluyen la manipulación de diversidad de especies sembradas, el tipo de la variedad plantada, el uso de variedades o cultivos intercalados, las prácticas y método de preparación del suelo y del cultivo, saneamiento, las alteraciones de las densidades de siembra y cosecha, la extensión y tipo de la rotación, las alteraciones de la fertilidad y la aplicación de riego, etc., (Acurio, 2010).

2.1.4 Extractos Vegetales

La necesidad de desarrollar tecnología de manejo de plagas y enfermedades para la agricultura orgánica y para tratar de conseguir soluciones alternativas para patosistemas complejos ha llevado a científicos y productores a explorar el uso de plantas y extractos de las mismas para integrarlos al control integrado o como alternativa a control químico. El uso de extractos vegetales para el control de plagas agrícolas era una práctica ancestral, ampliamente utilizada en diversas culturas y regiones del planeta hasta la aparición de los plaguicidas sintéticos (Molina, 2001).

Muchas especies botánicas muestran una acción reguladora sobre diversas plagas y enfermedades vegetales. Este efecto se ha atribuido a la presencia en las mismas de metabolitos secundarios los cuales forman parte de las estrategias defensivas de las plantas, (Villalobos, 1996) y son agrupados en compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenoides (Rodríguez, Morales, & Ramírez, 2000). Adicionalmente, son menos tóxicos y más fácilmente degradables (Funes, 1997) lo que los hace una buena alternativa de control para cultivos sustentables.

2.1.1.1 Uso de Extractos Vegetales para el Control de Enfermedades

En un estudio realizado para el efecto toxicológico de extractos vegetales sobre *Fusarium oxysporum* bajo condiciones controladas en la universidad técnica estatal de Quevedo demostraron que el extracto de ortiga (*Urtica dioica*), obtenido por el método de infusión, en dosis alta (50%), fue la que provocó el menor crecimiento micelial de *f. oxysporum*, asimismo, extractos de albahaca (*Ocimum basilicum*) y ruda (*Ruta graveolens*), en concentración 50%, también redujeron el crecimiento micelial provocando un efecto fungistático. Yugcha (2015) realizó pruebas conducentes a determinar que extractos acuosos, preferentemente por infusión en agua caliente son suficientes para mostrar el efecto de las especies en prueba. abriendo posibilidades interesantes para los productores. un aspecto a tener en cuenta es la metodología de extracción y la concentración de cada especie a significancia estadística encontrada con las interacciones.

Existen varias investigaciones mostrando la eficiencia de extractos vegetales de ruda y ortiga contra diversos hongos (Sandoval, 2006) , (Duarte, Pino, Infante, Sanchez, & Travieso, 2013), (Chavez & Aquino, 2012).

2.1.1.2 Características de Plantas con Propiedades Antifúngicas

Por el interés para la presente investigación, a continuación se incluyen la taxonomía y características de las dos especies determinadas por Yugcha (2015) con potencial uso para control de *Fusarium oxysporum*.

2.1.5 Ruda de Gallinazo (*Ruta graveolens*)

Naveda (2010), indica que la clasificación taxonómica de la ruda es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Sapindales

Familia: Rutáceas

Subfamilia: Rutoideae

Género: *Ruta*

Especie: *R. graveolens*

Nombre Binomial: *Ruta graveolens* L. (Naveda, 2010).

La ruda (*R. graveolens*) es originaria del sur de Europa y del Mediterráneo Oriental. Actualmente está naturalizada y cultivada en diversas partes del mundo. En América se la encuentra en Canadá, Estados Unidos, México, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Perú, y Chile. La Ruda pertenece a la familia de las Rutáceas que comprende 161 géneros y más de 1600 especies cosmopolitas que van desde pequeñas matas hasta arbustos y árboles, el género *Ruda* incluye siete especies de arbustos muy aromáticos.

La Ruda posee diferentes principios activos, pero el glucósido flavonoide rutina (C₂₇H₃₀O₁₆) es su principal componente, localizado principalmente en las hojas. Los demás componentes son: aceite esencial (0.1%) constituido por ácidos (anísico, caprílico, plagónico y salicílico), cetonas (metilnonilcetona-C₁₁H₂₂O- y metilheptilcetona -CH₃COC₇H) y terpenos (limoneno, pineno, metilnonil-carbinol y cineol); alcaloides (arborinina, graveolina, graveolinina, skiamina, soforina, cocusaginina, etc.); taninos; furanocumarinas, como el bergapteno, psolareno y xantotoxina; vitamina C; quinolonas y furoquinolonas, gomas y resinas; ésteres y los flavonoides quercetina y luteolina.

2.1.6 Ortiga (*Urtica dioica*)

Contento (2013), sostiene que la ortiga es originaria de Europa y Asia pero se la encuentra aclimatada en todas las zonas del globo como parte integrante de la flora de trópico y subtropical. Suelen crecer en los huertos como maleza; el terreno húmedo y cierta sombra favorecen su desarrollo. El mismo autor indica que la taxonomía de ortiga es la siguiente:

Reino: Plantae

Clase: Magnoliopsida

División: Magnoliophyta

Orden: Rosales

Familia: Urticales

Género: *Urtica*

Especie: *dioica*

Nombre vulgar: ortiga mayor y ortiga verde, pringamosa.

La ortiga menor es una planta herbácea, perenne, color verde, alcanza una altura de 60-150cm. Presenta numerosos pelos urticantes. Su raíz es carnosa perenne; posee tallos erectos, más o menos tetrágonos, de color verde que suelen ser fibrosos y jugosos, las hojas son simples, de color verde grisáceo, opuestas, cubiertas de vellosidades, que segregan ácido fórmico, y estos son pecioladas, aserradas, entre ovales y acorazonadas, miden de 4 a 7cm de longitud y terminan en punta (Alvarado & Rodas, 2000).

Dentro de la composición química de la ortiga se encuentran ácidos fenólicos como el cafeico (hasta 1.6%), clorogénico (0.5%), neoclorogénico, ferúlico. Posee también

características antioxidantes debido a su contenido de flavonoides (0.7 a 1.8%) principalmente rutina, isoquercitrina, kaempferol, quercetina, isoramnetina y astragalina. Su contenido de sales minerales llega hasta un 20 % incluyendo hierro, azufre, calcio, sílica, potasio y manganeso. Otros constituyentes importantes son los ácidos orgánicos como acético, butírico, cítrico, fórmico y fumárico. Contiene además taninos, carotenos, esteroides (betasitosterol), alcaloides (betaína) y una proporción elevada de clorofila a y b. La raíz contiene mucílagos, esteroides (betasitosterol, estigmasterol, campesterol), escopoletina, lignanos, taninos astringentes, monoterpenos y triterpenos (Rubio, 2014).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Localización de la Investigación

La presente investigación se llevó a cabo durante el periodo de junio a noviembre del 2016 en el invernadero de la finca Experimental “La María” ubicada en el Km 7.5 de la vía Quevedo-Mocache, y en el Laboratorio del Departamento de Fitopatología y Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicada en el Km 1.5 de la vía Quevedo – Santo Domingo, entre 75 y 80 msnm; longitud oeste 79°, 28', 30" y latitud sur 01°, clima tropical húmedo, temperatura 32°C, y la mínima 22°C, con precipitaciones anuales de 2.000 a 2.300 mm y heliofanía anual de 870 horas/luz.

3.2 Tipo de Investigación

La investigación en cuestión fue de tipo experimental en la cual se manejó el estudio de diferentes factores y evaluaron variables para el manejo de fusariosis en Maracuyá.

3.3 Métodos de Investigación

En la investigación se basó en el método inductivo para la delimitación de las variables estudiadas, mientras que se utilizó el método deductivo para identificar el efecto específico de los medios de control sobre *F. oxysporum*.

3.4 Fuentes de Recolección de la Información

La información para la presente investigación se obtuvo mediante la información directa a través de la evaluación de las variables delimitadas (fuentes primarias), sumándose a esto información de libros, revistas, publicaciones y documentos en línea (fuentes secundarias).

3.5 Diseño Experimental y Análisis Estadístico

El ensayo en laboratorio se realizó bajo un diseño completamente al azar con 8 tratamientos en 6 repeticiones, mientras que para el ensayo en el invernadero se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x6 en 3 repeticiones. Se utilizó la prueba de

Duncan al 95% de probabilidad para la comparación de medias de los tratamientos. El correspondiente procesamiento estadístico se realizó utilizando Infostat.

El esquema del análisis de varianza del diseño experimental utilizado en la fase de laboratorio del ensayo se presente en la Tabla 4:

Tabla 4 Esquema del ADEVA del diseño experimental utilizado en la fase de laboratorio

Fuentes de variación	Grados de libertad
Tratamientos	7
Error	40
Total	47

El esquema del análisis de varianza del diseño experimental utilizado en la fase de invernadero del ensayo se presente en la Tabla 5:

Tabla 5 Esquema del ADEVA del diseño experimental utilizado en la fase de laboratorio

Fuentes de variación	Grados de libertad
Repeticiones	2
Variedades	1
Medios de control	5
Variedades* Medios de control	5
error	22
Total	35

3.6 Instrumentos de Investigación

3.6.1 Material de Siembra

Como material de siembra se empleó semilla de Maracuyá de las variedades Amarilla y Roja, recolectada en la finca del señor Freddy Carpio, del recinto Cuatro Mangas, km 5 vía Quevedo – Santo Domingo de los Tsáchilas.

3.6.2 Factores en Estudio

La presente investigación comprendió dos etapas: Un ensayo en fundas plásticas con plántulas de las dos variedades para determinar el efecto de los tratamientos sobre la enfermedad y un experimento de laboratorio confrontando in vitro el efecto de cada uno de los tratamientos contra cultivo puro del hongo. En el ensayo en macetas se utilizaron dos factores: el factor A estuvo compuesto por 2 variedades de Maracuyá (Amarilla y Roja). El factor B lo constituyeron los medios de control: *Trichoderma* (antagonista), Ortiga (*U. dioica*), Ruda (*R. minuta*), Captan (nombre químico del fungicida). Se usaron dos Testigos uno con aplicación de inóculo y otro sin inoculación del hongo a fin de observar el comportamiento del hongo en Maracuyá bajo condiciones controladas.

Tabla 6 Descripción de los factores en estudio

Factores	Características/Propiedades	Principios Activos
Variedades		
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Amarilla	-----
<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>	Púrpura	-----
Medios de control		
MC₁ <i>Trichoderma</i> spp	Antagonista biológico	
MC₂ Ruda de gallinazo (<i>Ruta minuta</i>)	Rutina, inulina	Flavonoide
MC₃ Ortiga (<i>Urtica dioica</i>)	Rutina, isoquercitrina	Flavonoide
MC₄ Control químico (Captan)	Ftalimidas	N-triclorometiltio-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximida
MC₅ Control absoluto (H ₂ O)		
MC₆ Control relativo (Inoculado)		

*TRICHOEB Compuesto de Conidias de *Trichoderma* spp.....5% casa comercial y composición

Naveda, 2010; * (Alvarado & Rodas, 2000); **** (Alfonso & Sandoval, 2008)

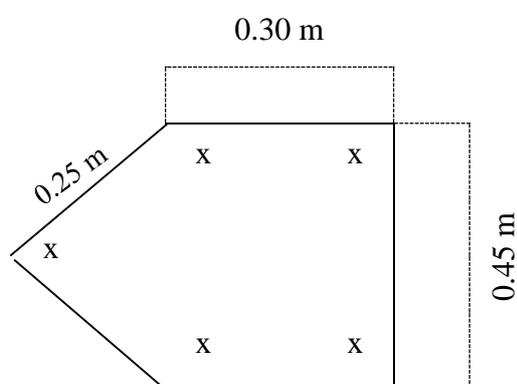
3.6.3 Tratamientos Estudiados

Con la combinación de estos dos factores se obtuvieron 12 tratamientos, los cuales se presentan en la Tabla 5:

Tabla 7 Descripción de los tratamientos estudiados

N°	Tratamientos	Dosis	Simbología
T ₁	Variedad Roja + Trichoderma	50 ml/plt 2k/ha	VR-TRICH
T ₂	Variedad Roja + Extracto de Ruda	50 ml/plt 10%	VR-ER
T ₃	Variedad Roja + Extracto de Ortiga	50 ml/plt.25%	VR-EO
T ₄	Variedad Roja + Captan	1.0 g/plt 1k/ha	VR-C
T ₅	Variedad Roja sin Inocular	50 ml/plt	VR-TASI
T ₆	Variedad Roja Inoculado	50 ml/plt	VR-TI
T ₇	Variedad amarilla + Trichoderma	50 ml/plt 2k/ha	VA-TRICH
T ₈	Variedad amarilla + Extracto de Ruda	50 ml/plt 10%	VA-ER
T ₉	Variedad amarilla + Extracto de Ortiga	50 ml/plt 25%	VA-EO
T ₁₀	Variedad amarilla + Captan	1.0 g/plt 1k/ha	VA-C
T ₁₁	Variedad amarilla sin Inocular	50 ml/plt	VA- TASI
T ₁₂	Variedad amarilla inoculado	50 ml/plt	VA-TI

El croquis de campo del experimento se presenta en el anexo 1.



Distancia entre fundas: 10 cm

Diámetro de las fundas: 10 cm

Área útil: 0.13 m²

3.6.4 Especificaciones del Experimento

Este experimento se realizó en la azotea del laboratorio de microbiología, a plena exposición. Las plantas de las variedades “Amarilla” y “Roja”, se trasplantaron a los 45 días de edad

en fundas de plástico negro (10 x 5 cm) y distribuidos en el área del ensayo manteniendo 0.50m entre plantas en todas direcciones.

3.6.4.1 Preparación del Sustrato y Desinfección

El sustrato a usarse, consistió en una mezcla de suelo fértil procedente de huertos frutales con abundante materia orgánica y aparentemente libre de enfermedades, arena de río, tamo de arroz y zeolita, en proporciones de 2:1:1:0.5 respectivamente. El sustrato se desinfecto por solarización, cubriéndolo con plástico negro y exponiéndolo al sol por 24 horas, seguidamente se procedió a llenar fundas (plástico negro 10 x 8 cm) hasta la mitad para dejarlas listas para el trasplante.

3.6.4.2 Semilleros

Las semillas de Maracuyá a utilizar en el ensayo, se pusieron a germinar en el sustrato preparado a fin de evitar el estrés y la contaminación de las plántulas con el patógeno.

3.6.4.3 Trasplante

Esta actividad se realizó a los 45 días de la siembra, cuando las plantitas alcanzaron una altura promedio de 15 cm y tenían un sistema radicular bien formado y vigoroso.

3.6.4.4 Riego

Con el fin de mantener buenas condiciones en las plantas, se aplicó riego manual 2 a 3 veces por semana, dependiendo de las condiciones climáticas.

3.6.4.5 Control de Malezas

Las fundas con las plántulas de Maracuyá se mantuvieron libres de malezas, para el efecto, se removió cualquier planta voluntaria manualmente, con la frecuencia conveniente para mantenerlas limpias.

3.6.4.6 Preparación del Inóculo

- **Obtención del patógeno *Fusarium oxysporum***

En una plantación de Maracuyá, en la hacienda Pabón de la parroquia San Carlos, se recolectaron dos muestras de plantas enfermas con la sintomatología de la enfermedad bajo estudio, de donde se obtuvieron sendas cepas de *F. oxysporum* (SCr1 y SCt2); otra cepa se obtuvo de la finca experimental La María de la UTEQ (LMt1); con las debidas precauciones, se trasladaron las muestras al laboratorio de Fitopatología, donde se procedió a cortar trozos pequeños aproximadamente de 0.5 cm³, del tejido enfermo, se colocaron en un vaso de precipitación con solución acuosa de hipoclorito de sodio al 1%, se agitó por 30 segundos, se enjuagaron por tres veces con agua estéril, para finalmente trasladarlos procediendo a aislar el hongo en medio de cultivo estéril. Con este fin se utilizó medio de cultivo PDA (agar papa dextrosa al 2% - DIFCO), usando 35g del medio deshidratado en un litro de agua para mantener mayor humedad en el medio. Los fragmentos de tejido infectado se colocaron en los platos con PDA y se incubaron a temperatura ambiente durante 10 días, período en el cual el hongo cubrió totalmente las cajas Petri.

- **Multiplicación de los cultivos puros**

Una vez obtenidas colonias, se realizaron repiques de la colonia SCt1 en el mismo medio PDA al 2%, se incubaron a 25°C durante 10 días, estas colonias se usaron para realizar las diferentes prueba del ensayo.

- **Preparación de inóculo**

Terminada la incubación (10 días), se seleccionaron las cajas que presentaron mejor crecimiento y con ellas se preparó una suspensión de conidias para obtener la suspensión del inóculo para el ensayo. Se agregó 10 ml de agua purificada estéril (La Mana) a los repiques del hongo en las cajas Petri del paso anterior, y raspar luego la superficie del medio con un triángulo de vidrio estéril para desprender las conidias. Obtenida así esta suspensión de conidios, se filtró con una gasa estéril para separar restos del medio de cultivo; el filtrado se recogió en un vaso mediano. Se calibró la concentración de esporas contando las Conidias (macro y micro) observadas en las cinco cuadrículas del hemacitómetro empleando un lente

de 40X en el microscopio. El promedio del número de conidias contadas se multiplica por 50.000. Considerando que se necesitaban 3 ml de inóculo, se calculó la concentración final del inóculo que se aplicó al suelo aplicando la siguiente fórmula:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

Donde:

V_1 = volumen inicial

C_1 = concentración inicial

V_2 = volumen final

C_2 = Concentración final

3.6.4.7 Inoculación en las Raíces

Al momento del trasplante, se realizó una poda de las raíces para asegurar presencia de heridas; seguidamente se colocaron 10 ml por funda de la suspensión de esporas preparada (concentración: 2×10^5 esporas/ml). Enseguida se colocaron las plantitas sobre el sustrato inoculado y se completó el llenado de la funda con el sustrato, hasta el cuello de la planta. Finalmente se aplicó riego para permitir contacto íntimo de la planta con el sustrato inoculado y asegurar el crecimiento del hongo.

3.6.4.8 Preparación de los Extractos Vegetales

El material vegetal utilizado para la biofumigación fue la parte aérea (hojas) de plantas silvestres de *R. minuta* antes de producir flores y *U. dioica* en floración, las plantas cosechadas se dejaron colgadas en un umbráculo por siete días, luego se llevaron al laboratorio de microbiología. El material se lavó profusamente con agua de grifo, se enjuagaron tres veces con agua purificada estéril y se dejaron escurrir durante 24 horas sobre papel periódico a temperatura ambiente de un umbráculo, seguidamente, se pesaron en una proporción 1:1000 (P/V) y colocados en agua caliente para la infusión. Se dejó reposar la solución durante 24 horas, se filtraron en un paño y se colocaron en frasco de color ámbar. Para este estudio se utilizó infusión fresca cada vez que se aplicaba al tratamiento, siguiendo la metodología de Yugcha (2015).

3.6.4.9 Aplicación de los Tratamientos

Los extractos vegetales se aplicaron en dosis de 50cc por planta. La primera aplicación se realizó un día antes de la inoculación/trasplante y posteriormente se hizo una segunda aplicación a los 4 meses después de la primera inoculación.

La aplicación del Captan se realizó al suelo antes de la siembra, cubriéndolo totalmente por espolvoreo o vía húmeda, y se lo aplicó cada 15 días después de la siembra utilizando una 1.0g/plt, durante el tiempo que duró la investigación.

El Trichoeb se lo aplicó al suelo el día antes del trasplante/inoculación y luego se hicieron cuatro aplicaciones cada 15 días.

Para el Testigo Absoluto se aplicó agua purificada estéril sobre el sustrato, el resto del procedimiento fue igual a los demás tratamientos.

Este experimento se realizó en la azotea del laboratorio de microbiología, a plena exposición. Las plantas de las variedades “Amarilla y Roja”, se trasplantaron, a los 45 días de edad en fundas plástica negra y distribuidos en el área útil del ensayo manteniendo 0.50m entre plantas en todas direcciones. Para evitar el efecto de los bordes, el área de ensayo se rodeó con una hilera de las dos especies de Maracuyá.

3.6.5 Datos Registrados y Metodología de Evaluación

3.6.5.1 Plantas Muertas

Por cada tratamiento se contabilizó el número de plantas muertas al final del ensayo.

3.6.5.2 Tamaño de las Lesiones vasculares

Al final del experimento y en cada una de las plantas que se morían antes, se disectaron las plántulas cortándolas longitudinalmente para observar la lesión vascular que causa el hongo, en caso de estar presente, se midió la longitud de la necrosis.

3.6.5.3 Pesos de la Raíz

Al final del experimento, o cuando se moría una planta, se retiraba de la funda, se lavaba el sistema radicular, se cortaba a nivel del coello y se pesaba en una balanza eléctrica (Echo).

3.6.5.4 Inhibición del Crecimiento Micelial

Cada uno de los extractos se mezcló por separado con el medio agar papa dextrosa (PDA), después de la esterilización, en concentraciones de 10, 25 y 50% v/v; el fungicida Captan se mezcló en dosis de 0.375 g/l. La mezcla se vertió en cápsulas de Petri y una vez solidificado el medio, se colocó un disco de micelio de 5 mm diámetro de un cultivo de *F. oxysporum* (cepa CPt1) de 10 días de edad. Cada tratamiento se repitió 5 veces y se incubo a temperatura ambiente (27 ± 2 °C).

Se midió el diámetro de la colonia cada 2 días, durante 8 días, cuando el tratamiento Testigo casi había alcanzado el borde de la cápsula. En casos de crecimiento irregular de la colonia, se consideró para cálculos el promedio de dos diámetros (Largo y corto) de cada colonia. Con estos valores, se calculó el índice de inhibición del crecimiento radial (ICM) mediante la fórmula:

$$\text{ICM} = [(D_0 - D_C) / D_0] \times 100$$

Donde:

- ICM= Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial
- D_0 = diámetro de colonia con la concentración 0%
- D_C =diámetro de colonia con la concentración prueba

3.6.5.5 Porcentaje de Inhibición de Esporas

Se cuantificó el porcentaje de inhibición de esporulación (PIE) de los tratamientos sobre el hongo, en este caso, se tomaron 5 discos del área central de cada una de las repeticiones (6) de los tratamientos, utilizando un sacabocado de 5 mm diámetro; se colocaron en 10 ml de agua destilada estéril, se agitó por 60 seg y se determinó la concentración de esporas/ml, utilizando la cámara de Newbauer. Estos valores fueron convertidos a esporas/cm² de cultivo, para finalmente calcular el porcentaje PIE mediante la fórmula:

$$\text{PIE} = [(E_0 - E_C)/E_0] \times 100$$

Dónde:

- PIE=Porcentaje de Inhibición de la Esporulación.
- D_0 =cantidad de esporas en la concentración 0%.
- D_C =cantidad de esporas en la concentración prueba.

3.6.5.6 Observaciones de la Evolución de Síntomas de la Enfermedad

Las plantas inoculadas se mantuvieron en constante observación de modo que se registró el momento en que se presentaba cualquiera de los siguientes síntomas propios de la infección por *Fusarium oxysporum*:

- Clorosis de las Venas (CV)
- Marchitamiento General (MG)
- Flacidez (F)
- Amarrillamiento en las Hojas (AH)
- Diámetro del tallo en mm (DDT-mm)
- Altura de planta (AP-cm)
- Número total de hojas (NH)

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

4.1.1 Plantas Muertas por *F. oxysporum* en Maracuyá (*Passiflora edulis*)

En la Tabla 8 se puede observar según la prueba de Duncan al 95% de probabilidad que la variedad amarilla alcanzo alta significancia estadística con un promedio de 1,67 diferenciándose de la variedad Roja que presento mayor número de plantas muertas dentro del ensayo con un promedio de 2.11, demostrando cierto grado de resistencia a *F. oxysporum*.

El tratamiento que alcanzo el menor número de Plantas Muertas fue la Ortiga con 1.52 Plantas Muertas, promedio estadísticamente igual al Captan con un promedio de 1.56 plantas muertas, diferenciándose de los demás tratamientos excepto el Testigo Absoluto que sin duda no presento infección por cuanto no fue tratado con el inóculo del hongo.

En cuanto a las interacciones de los medios de control con las variedades el tratamiento de la variedad Amarrilla tratada con Ortiga con 0.33 Plantas Muerta presenta el menor promedio con significancia estadística igual al tratamiento Testigo Absoluto que interactuó con las 2 variedades el mismo que no fue inóculado estadísticamente superior a los demás siendo el Testigo Relativo interactuando con las 2 variedades el que presento el mayor número de Plantas Muertas con promedio entre 1.00 y 4.00 Plantas Muertas.

Tabla 8 Promedios de Plantas Muertas por *F. oxysporum* en Maracuyá (*Passiflora edulis*) a nivel de invernadero, 2016.

Tratamientos	Plantas muertas	
Variedades		
Amarilla	1.67	a
Roja	2.11	a
Significancia estadística.		*
Medios de control		
<i>Trichoderma spp</i>	2.50	b
Ruda de gallinazo (<i>Ruta minuta</i>)	2.17	bc
Ortiga (<i>Urtica dioica</i>)	1.50	c
Control químico (Captan)	1.50	c
Control absoluto (H ₂ O)	0.00	d
Control relativo (Inoculado)	3.67	a
Significancia estadística.		**
Interacciones		
Variedad amarilla + <i>Trichoderma spp</i>	2.33	b
Variedad amarilla + Ruda de gallinazo (<i>Ruta minuta</i>)	2.33	b
Variedad amarilla + Ortiga (<i>Urtica dioica</i>)	0.33	d
Variedad amarilla + Control químico (Captan)	1.00	cd
Variedad amarilla + Control absoluto (H ₂ O)	0.00	d
Variedad amarilla + Control relativo (Inoculado)	4.00	a
Variedad roja + <i>Trichoderma spp</i>	2.67	b
Variedad roja + Ruda de gallinazo (<i>Ruta minuta</i>)	2.00	bc
Variedad roja + Ortiga (<i>Urtica dioica</i>)	2.67	b
Variedad roja + Control químico (Captan)	2.00	bc
Variedad roja + Control absoluto (H ₂ O)	0.00	d
Variedad roja + Control relativo (Inoculado)	3.33	a
Significancia estadística.		*
Coefficiente de variación (%)	12.02	

* Medias con la misma letra en cada grupo de datos no son significativamente diferentes según la Prueba de Duncan al 95% de probabilidad ($p > 0.05$)

4.1.2 Tamaño de Lesión (cm)

En la Tabla 9 se muestran los valores promedio de la Longitud de la Lesión a Nivel del Tallo en plantas de maracuyá, bajo el efecto de los tratamientos estudiados. El análisis de varianza determinó significancia estadística a nivel de 0.05 para los medios de control, mientras que dicho análisis no registró significancia estadística para las variedades e interacciones. El coeficiente de variación fue de 29.81 %.

No hubo diferencia entre variedades de maracuyá, aunque la variedad amarilla registró mayor longitud de necrosis con un promedio de 1.31 cm, mientras que la Roja registró necrosis con una longitud de 0.91 cm. Esta mayor lentitud en el desarrollo de la Lesión podría considerarse tendencia a la resistencia, sin embargo, no concuerda con la mayor mortalidad de Plantas presentadas por esta última variedad.

Al comparar el control negativo (inoculado), que registró mayor longitud de Necrosis (3.33 cm), significativamente diferente de los otros medios de control y el Testigo Absoluto (Necrosis promedio entre 0.00 y 1.42 cm), se evidencia que todos los métodos utilizados tienen efecto sobre el hongo, aunque no es suficiente para reducir significativamente el ataque de aquel.

La interacción de la variedad Roja con el Extracto de Ruda alcanzó el menor promedio de Longitud de la Necrosis a nivel del Tallo con un promedio de 0.00 estadísticamente igual a la interacción de la misma variedad con el Captan, *Trichoderma* e interacciones con la variedad amarilla de los tratamientos antes mencionados, difiriendo de los tratamientos, evidenciando diferencias significativas con las demás interacciones que registraron valores entre 0.07 y 4.00 cm. El Testigo Absoluto interactuando con las 2 variedades presentó alta significancia estadística por cuanto no fue inoculado con *F. oxysporum*.

Tabla 9 Promedios de la longitud de Necrosis a nivel de Tallo en Plantas Maracuyá (*Passiflora edulis*) causada por *F. oxysporum* a nivel de invernadero, 2016.

Tratamientos	Longitud de necrosis a nivel del tallo (cm)*	
Variedades		
Amarilla	1.31	a
Roja	0.91	a
Significancia estadística.		ns
Medios de control		
<i>Trichoderma spp</i>	0.45	a
Ruda de gallinazo (<i>Ruta minuta</i>)	0.98	a
Ortiga (<i>Urtica dioica</i>)	1.42	a
Control químico (Captan)	0.47	a
Control absoluto (H ₂ O)	0.00	a
Control relativo (Inoculado)	3.33	b
Significancia estadística.		*
Interacciones		
Variedad amarilla + <i>Trichoderma spp</i>		
Variedad amarilla + Ruda de gallinazo (<i>Ruta minuta</i>)	1.97	abc
Variedad amarilla + Ortiga (<i>Urtica dioica</i>)	0.07	c
Variedad amarilla + Control químico (Captan)	0.93	bc
Variedad amarilla + Control absoluto (H ₂ O)	0.00	c
Variedad amarilla + Control relativo (Inoculado)	4.00	a
Variedad roja + <i>Trichoderma spp</i>	0.00	c
Variedad roja + Ruda de gallinazo (<i>Ruta minuta</i>)	0.00	c
Variedad roja + Ortiga (<i>Urtica dioica</i>)	2.77	ab
Variedad roja + Control químico (Captan)	0.00	c
Variedad roja + Control absoluto (H ₂ O)	0.00	c
Variedad roja + Control relativo (Inoculado)	2.67	abc
Significancia estadística.		*
Coefficiente de variación (%)	29.81	

* Medias con la misma letra en cada grupo de datos no son significativamente diferentes según la Prueba de Duncan al 95% de probabilidad (p>0.05)

4.1.3 Peso de la Raíz (g)

En la Tabla 10 se presentan los promedios del peso de Raíz (g) de las Plantas de Maracuyá utilizadas en el ensayo.

La variedad amarilla registró mayor peso de raíz con un promedio de 6.20 g, valor que no difirió significativamente de la variedad Roja cuya Raíz presento un peso de 5.99 g.

El antagonista *Trichoderma spp* registró mayor peso de Raíz con un promedio de 7.20 g, encontrándose en igualdad estadística con el Testigo Absoluto, Captan y el Extracto de Ortiga que registraron valores de 7.17, 6.11 y 6.01 g, superiores estadísticamente a la Ruda y Testigo Relativo que presentaron promedios de 5.18 y 4.90 g, respectivamente.

Mayor peso de Raíz a nivel de interacciones se evidencio al aplicar el Antagonista *Trichoderma spp*. A la variedad Roja con un promedio de 8.02 g, en igualdad estadística con El Testigo Abolsuto de la variedad Roja, Captan, Testigo Absoluto, Ortiga, *Trichoderma spp*. Y Ruda en la variedad Amarilla, y a la Ortiga aplicada a la variedad Roja que presentaron promedio entre 5.58 y 7.72 g, superiores estadísticamente a las demás interacciones que presentaron promedios entre 4.66 y 5.01 g.

Tabla 10 Peso de Raíz (g) en el desarrollo de estrategias MIPE para el manejo de *F. oxysporum* en Maracuyá (*Passiflora edulis*) a nivel de invernadero, 2016.

Tratamientos	Peso de la raíz (g)*	
Variedades		
Amarilla	6.20	a
Roja	5.99	a
Significancia estadística.	ns	
Medios de control		
<i>Trichoderma spp</i>	7.20	a
Ruda de gallinazo (<i>Ruta minuta</i>)	5.18	b
Ortiga (<i>Urtica dioica</i>)	6.01	ab
Control químico (Captan)	6.11	ab
Control absoluto (H ₂ O)	7.17	a
Control relativo (Inoculado)	4.90	b
Significancia estadística.	*	
Interacciones		
Variedad amarilla + <i>Trichoderma spp</i>	6.38	abcd
Variedad amarilla + Ruda de gallinazo (<i>Ruta minuta</i>)	5.58	abcd
Variedad amarilla + Ortiga (<i>Urtica dioica</i>)	6.28	abcd
Variedad amarilla + Control químico (Captan)	7.55	abc
Variedad amarilla + Control absoluto (H ₂ O)	6.62	abcd
Variedad amarilla + Control relativo (Inoculado)	4.79	cd
Variedad roja + <i>Trichoderma spp</i>	8.02	a
Variedad roja + Ruda de gallinazo (<i>Ruta minuta</i>)	4.79	cd
Variedad roja + Ortiga (<i>Urtica dioica</i>)	5.74	abcd
Variedad roja + Control químico (Captan)	4.66	d
Variedad roja + Control absoluto (H ₂ O)	7.72	ab
Variedad roja + Control relativo (Inoculado)	5.01	bcd
Significancia estadística.	ns	
Coefficiente de variación (%)	10.04	

* Medias con la misma letra en cada grupo de datos no son significativamente diferentes según la Prueba de Duncan al 95% de probabilidad (p>0.05)

4.1.4 Inhibición Crecimiento Micelial (ICM) e Inhibición Esporas (PIE) (%)

En la Tabla 11 se presentan promedios porcentuales de inhibición del crecimiento micelio en relación a la ICM y PIE de *F. oxysporum* el mismo que presento un crecimiento micelial de 3712.45 mm² y esporulación de 71.03x10⁻¹.

El antagonista *Trichoderma sp.* con el 67.81 y 57.26 respectivamente para cada una de las variables antes mencionadas, muestra que es un antagonista que limita la actividad del hongo en todos los aspectos. En cuanto a los Extractos la Ruda al 50 % inhibió en un 45,28% el crecimiento micelio, no siendo así en el caso de inhibición de espora (PIE) determinándose que los Extractos parece que estimulan la producción de esporas de *F. oxysporum*; si consideramos que estos organismos aseguran su supervivencia este aumento puede ser una reacción a la amenaza que presentaron los extractos para *Fusarium*. Aparentemente se observa relación negativa entre el PIE y el ICM como puede observarse para Ruda que al 50% de concentración, provoca un 45, 28% de inhibición del crecimiento micelial y a la vez es el tratamiento con el menor PIE en realidad hay un 260,29% de aumento en la producción de esporas. En cuanto al Captan la Inhibición del crecimiento micelial (ICM) en 95.45% fue realizada por el tratamiento a base de Captan el cual alcanzo el mayor porcentaje comparado con los demás.

Tabla 11 Promedios de porcentaje inhibición crecimiento micelial (ICM) e inhibición espora (PIE) de la cepa de *Fusarium oxysporum*

Tratamiento	Porcentaje Inhibición crecimiento micelial (ICM)	Porcentaje inhibición espora (PIE)
Captan	95,45	-----
Trichoderma/ <i>Fusarium</i>	67,81	57,26
Ruda 50 %	45,28	-260,29
Testigo <i>Fusarium</i> (sin tratar)	0,00	0,00
Ruda 25 %	-2,02	-137,78
Ortiga50 %	-11,52	-127,24
Ortiga 25 %	-13,77	-62,65
Ortiga10 %	-22,48	-69,83
Ruda 10 %	-48,02	-118,62

4.1.5 Comportamiento de la Resistencia de 2 Variedades para el Manejo de *Fusarium oxysporum* en Maracuyá (*Passiflora edulis*)

En la Tabla 12 se muestran el comportamiento de las dos variedades, la Amarilla presentó una leve resistencia con un promedio de 3.06 de todas las variables registradas, mientras que en la variedad Roja alcanzó 3.00, lo que hace presumir que esta variedad muestra un patrón de susceptibilidad de *Fusarium oxysporum*.

Tabla 12 Comportamiento de la resistencia de 2 variedades en el desarrollo de estrategias MIPE para el manejo de *F. oxysporum* en Maracuyá (*Passiflora edulis*)

Variedades	Promedio plantas muertas	Promedio de longitud de necrosis(cm)	Peso de la raíz	Índice de resistencia
Amarilla	1.67 b	1.31 a	6.20 a	3.06 a
Roja	2.11 a	0.91 b	5.99 a	3.00 a

4.2 Discusión

La mayor cantidad de plantas muertas se obtuvo con los tratamientos de Captan y Ortiga, con un promedio de 1.5 plantas muertas, cada uno, diferenciándose de los demás tratamientos excepto el testigo absoluto que sin duda no presentó infección por cuanto no fue tratado con el inóculo del hongo. (Estupiñán & Ossa, 2007), mencionan que al aplicar ciertos extractos estos tienen un efecto desbloqueante de los vasos conductores de nutrientes el cual evita la muerte definitiva de las Plantas por *F. oxysporum*.

En a la variedad Amarilla tratada con Ortiga con 0.33 Plantas Muertas presenta el menor promedio con significancia estadística igual al tratamiento Testigo Absoluto que interactuó con las 2 variedades el mismo que no fue inoculado estadísticamente superior a los demás siendo el Testigo Relativo interactuando con las 2 variedades el que presentó el mayor número de Plantas Muertas. Cabrera (2009), quien al evaluar la actividad de Extractos vegetales frente a *Fusarium oxysporum* determinó que los Extractos de borraja, Menta poleo, guarní poleo, Hierba luisa, cedrón y Ruda presentaron un nivel de control total. (Espinoza, 2013), utilizando la variedad *P. flavicarpa* en su experimento no encontró plantas muertas.

Al comparar el Control Negativo (inoculado), que registró mayor longitud de Necrosis (2.33 cm), significativamente diferente de los otros medios de control y el Testigo Absoluto (Necrosis promedio entre 0.00 y 1.42 cm), se evidencia que todos los métodos utilizados tienen efecto sobre el hongo, aunque no es suficiente para reducir significativamente el ataque de aquel. Este comportamiento que es igual al encontrado por (Rosas, 2015), quien realizó trabajo de investigación con Extractos vegetales para el control de *Fusarium oxysporum* en tomate donde el Extracto de Ruda y Ortiga además del químico Captan mantiene los promedios bajos en cuanto al número y Tamaño de lesiones del Tallo.

La interacción de la variedad Roja con el Extracto de Ruda alcanzó el menor promedio de longitud de la Necrosis a nivel del Tallo con un promedio de 0.00 estadísticamente igual a la interacción de la misma variedad con el Captan, *Trichoderma* e interacciones con la variedad Amarilla de los tratamientos antes mencionados, difiriendo de los demás tratamientos, evidenciando diferencias significativas con las demás interacciones que registraron valores entre 0.07 y 4.00 cm. Sangeetha (2013) y Yugcha, (2015) manifiestan que los Extractos vegetales de Ortiga (*Urtica dioica*) y de Ruda (*P. ruderale*), contienen propiedades Fungiestáticos y Biostáticos, afectando el metabolismo celular de *F. oxysporum*, lo cual produce una reducción en el número y Tamaño de lesiones internas.

Con *Trichoderma* se obtuvo mayor peso de Raíz con un promedio de 7.20 g, sin embargo este valor no presentó diferencia significativa con el Testigo Absoluto, Captan y el Extracto de Ortiga que presentaron peso de Raíz entre 6.01 y 7.17 g, superando estadísticamente al Extracto de Ruda y Testigo Relativo con promedios de 5.18 y 4.90 g, respectivamente. (Rodríguez, 2002), manifiestan que los Extractos son compuestos absorbidos principalmente por las Raíces y conducidos por los vasos del floema, mostrando efectos primarios sobre la misma. Espinoza (2013), quien utilizó *Trichoderma harzianum* y *T. viridae* alcanzó los promedios más altos con estos, los mismos que superaron al Testigo.

Cubillos *et al.*, (2011) observaron que a pesar de la utilización de *Trichoderma* para el manejo de *Fusarium oxysporum* hubo pudrición parcial en los tratamientos inoculados siendo presumible que hay cepas dentro de la misma especie que no presentan la misma capacidad y Antagonismo debido a la variabilidad genética de *Trichoderma*.

Mayor peso de Raíz a nivel de interacciones se evidenció al aplicar el Antagonista *Trichoderma spp.* A la variedad Roja con un promedio de 3.00 g, en igualdad estadística con

El Testigo Absoluto de la variedad Roja, Captan, Testigo Absoluto, Ortiga, *Trichoderma spp.* Y Ruda en la variedad Amarilla, y a la Ortiga aplicada a la variedad Roja que presentaron promedio entre 5.58 y 8.02 g. Estupiñan & Ossa (2007), mencionan que al aplicar ciertos Extractos estos tienen un efecto desbloqueante de los vasos conductores de nutrimentos lo cual evita la muerte de las Raíces causada por *F. oxysporum*.

González *et al.*, (2009) afirma que existe control del patógeno con concentraciones de 106 UFC/ml de *Trichoderma* pero en concentraciones menores, todas las plantas presentan daños y retraso en el crecimiento.

El *F. oxysporum* que presento un crecimiento micelial de 3712,45 mm² y esporulación de 71,03x10⁻¹. El Antagonista *Trichoderma sp.* Con el 67,81 y 57,26 respectivamente para el ICM y PIE, muestra que es un Antagonista que limita la actividad del hongo en todos los aspectos. (Cubillos Hinojosa, et al., 2011), quienes evaluaron el efecto biocontrolador de la cepa nativa TCN-014 y la cepa comercial TCC-005 de *Trichoderma harzianum* contra *Fusarium solani* en tomate bajo condiciones de invernadero, hubieron buenos resultados, por lo que lo recomiendan para el establecimiento de estrategias biocontroladoras para este hongo que está presente en muchos cultivares alrededor del mundo.

Fernández y Suárez (2009), quienes observaron que en tratamientos *in vitro* con *Trichoderma harzianum* frente a *Fusarium oxysporum*, todos los aislamientos del antagonista superaron al crecimiento del Testigo *Fusarium oxysporum*. Folgueras *et al.*, (2007). A su vez estos resultados confirmaron el Antagonismo de *Trichoderma* sobre *F. oxysporum*. Espinoza (2013), muestra en su investigación que el *Trichoderma harzianum* reduce significativamente el crecimiento de *F. oxysporum* en un 41.31%

En cuanto a los Extractos la Ruda al 50 % inhibió en un 45.28% el crecimiento micelio, no siendo así en el caso de inhibición de espora (PIE) aparentemente los extractos estimularon la producción de esporas de *F. oxysporum*; si consideramos que estos organismos aseguran de esta forma su supervivencia, este aumento puede ser una reacción a la amenaza que presentaron los extractos para *Fusarium*. Por otra parte se observó relación negativa entre el PIE y el ICM como puede observarse para Ruda que al 50% de concentración, provoca un 45.28% de inhibición del crecimiento micelial y a la vez es el tratamiento con el mayor PIE en realidad hay un 260.29% de aumento en la producción de esporas. (Chavez & Aquino,

2012), mencionan que los Extractos vegetales fueron eficientes para el control de hongos del suelo en cuanto al crecimiento micelial. Uscategui, (2013) y Yugcha, (2015) presentan resultados en los cuales los Extractos de Ruda y Ortiga reducen el crecimiento micelial de *F. oxysporum* en concentraciones a partir del 25% al igual que Politeo *et al.*, (2007) y Fernandez *et al.*, (2007) quienes encontraron resultados similares con Extracto de ruda.

En esta investigación podemos presumir que la actividad antiesporulante e inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* dependerá de los compuestos activos que se encuentren en las propiedades de las Plantas como el caso del uso de Extractos acuosos de ruda y ortiga coincidiendo por lo expresado por Ochoa *et al.*, (2013) al usar compuestos vegetales metanolicos. Quisi (2013); Ramos de León *et al.*, (2012); Garcia (2010), quienes menciona que son muchos y diferentes los compuestos que les dan las propiedades fungistáticas a estas especies de plantas utilizadas para el control de *F. oxysporum*.

En cuanto al Captan la inhibición del crecimiento micelial (ICM) en 95.45% fue realizada por el tratamiento a base de Captan el cual alcanzo el mayor porcentaje comparado con los demás.

El comportamiento de las dos variedades, la Amarilla presentó una leve resistencia con un promedio de 3.00 de todas las variables registradas, mientras que en la variedad Roja alcanzó 3.06, lo que hace presumir que esta variedad muestra un patrón de susceptibilidad de *Fusarium oxysporum*. (Navarrete & Acosta, 1999), expresan que las plantas de variedades tolerantes, afectadas por *Fusarium spp.* Emitieron raíces adventicias, lo que les permitió tener rendimientos aceptables. Aunque la variedad Amarilla registró mayor longitud de Necrosis con un promedio de 1.31 cm, mientras que la Roja registró Necrosis con una longitud de 0.91 cm. Esta mayor lentitud en el desarrollo de la lesión podría considerarse tendencia a la resistencia, sin embargo, no concuerda con la mayor mortalidad de Plantas presentadas por esta última variedad. Esta sería una área que mayor selectividad y estudio ya que el origen de la semilla usada en esta investigación no garantiza pureza varietal evitando que la resistencia genética se manifieste posiblemente, posiblemente esa es la razón de esta investigación discrepe de lo que encontró Londoño (2012), quien al inocular especies de *Pasifloras* con *Fusarium oxysporum* no obtuvo infección alguna en la variedad Roja (*passiflora edulis*).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se encontró diferencia de respuesta a la inoculación entre las variedades de *Passifloras* usadas, favoreciendo a la variedad Amarilla.
- El antagonista *Trichoderma* tiene un amplio control sobre *Fusarium oxysporum F. Sp. Passifloraceae*, inhibiendo su actividad tanto la actividad de crecimiento y reproducción del mismo.
- La concentración de Ruda y Ortiga entre el 25% y 50 %, demuestran resultados significativos para ser componentes del manejo integrado.
- El Extracto Vegetal a base de Ortiga (*Urtica dioica*) mostro el mejor control sobre la infección causado por *Fusarium oxysporum F. Sp. Passifloraceae*, en la Maracuyá, en cuanto al crecimiento micelial, lo cual podemos concluir que tiene un potencial prometedor para ser utilizado como alternativa de control para la enfermedad fungosa.
- En definitiva este estudio necesita que los 3 factores (variedad, hongo *trichoderma* y Extractos Vegetales) son potenciales componentes para integrar una estrategia de manejo integrado de este patógeno.

5.2 Recomendaciones

- Continuar estudios de manejo integrado de *Fusarium oxysporum* en Maracuyá combinando los factores que destacan en esta investigación.
- Ejecutar un plan de manejo de la enfermedad usando Ruda, Ortiga y *Trichoderma spp.* dentro de las alternativas de control y manejo de *Fusarium oxysporum*.
- Aplicar dosis de los Extractos Vegetales al 25% y 50% de concentración de la solución madre (proporción 1:10 (P/V) aplicando 100ml a cada Planta
- Desarrollar investigaciones caracterizando propiedades antifúngicas de otras Especies Vegetales que por alelopatía permitan recuperar suelos contaminados con *Fusarium*
- Realizar trabajos similares que correlaciones dosis más altas para determinar la concentración óptimas de los Extractos Vegetales utilizados en esta investigación y eviten que la supervivencia del *Fusarium*.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6.1 Bibliografía Citada

- Acurio, R. (2010). Técnicas de Prevención y Control de *Fusarium oxysporum* f.sp. dianthi en clavel *Dianthus caryophyllus* y su incidencia en la productividad. Tesis. Universidad Técnica de Ambato. 114 p.
- Agrios, G. (2005). Fitopatología. Department of Plant Pathology. University of Florida. 5ta Ed. Estados Unidos. 838 p.
- Alarcón, J. (2011). Plantas Aromáticas y Medicinales en Enfermedades de Importancia y sus Usos Terapéuticos. Medidas para la temporada invernal. Bogotá D.C. Colombia. 48 p.
- Alfonso, D., & Sandoval, E. (2008). Evaluación “in vitro” de fungicidas para el control de hongos patógenos en esquejes de clavel durante la etapa de enraizamiento. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 1-113 p.
- Altieri, M. A. (2010). Agroecología: Principios y Estrategias para Diseñar Sistemas Agrarios Sustentables. Libro Ediciones Científicas Americanas ISBN. 8 p.
- Alvarado, M., & Rodas, G. (2000). Influencia de la altitud sobre la actividad antibacteriana de extractos de malva olorosa, ortiga y ajeno mediante el método de dilución seriada en tubo de ensayo. Universidad de Cuenca. Cuenca - Ecuador. 130 p.
- Álvarez, E. (2010). Guía Técnica del cultivo de la maracuyá. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. Santa Ana-La Libertad. 1-36 p.
- Arbeláez, G. (1989). Control de las enfermedades vasculares del clavel en Colombia. Agronomía Colombiana. 6: 3- 9 pp.
- Ayala, A., & Cevallos, E. (2013). Plan de Exportación de Concentrado de Maracuyá Ecuatoriano al Mercado Japonés. Tesis de Grado. Universidad Politécnica Salesiana. Guayaquil-Ecuador. 164 p.
- Baayen, R. (1989). *Fusarium* wilt of carnation. Disease development, resistance mechanism of the host and taxonomy of the pathogen. Thesis. University of Utrecht, Holland.
- Baker. (1960). Control of vascular wilt diseases of carnation by culture-indexing. Phytopathology. 50(15), 356-360 pp.
- Baker, R. 1. (1980). Inoculum potential. p. Measures to control *Fusarium* and *Phialophora* wilt of carnations., 137- 157 pp.
- Bejarano, J., & Hernández, M. (2011). Manejo integrado en producción y sanidad de maracuyá. Universidad Nacional Agraria la Molina. Oficina académica de extensión y proyección social Agro banco, -Piura -Perú .37 p.

- Belalcazar, S. (1984). Untersuchungen zur differenzierung verachidener rassen und formae speciales *Fusarium oxysporum* und anderen Fusarium artea anhand der muster multipler esterase- fermen pach elektrophorelischer trenting. Doklortitel these. Institut fur Pflanzen pathologie und Pflanzen schutz der Goorg AugustUniversital Gottingen Gottingen.
- Booth, C. (1970). *Fusarium oxysporum* CMI descriptions of plant pathogenic fungi and bacteria. Commonwealth Agricultural Bureaux.
- Borrero, C., Ordovas, J., Trillas, M., & Aviles, M. (2006). Tomato *Fusarium* wilt suppressiveness. The relationship between the organic plant growth media and their microbial communities as characterized by biolog. Soil Biology and Biochemistry (38): 1631-1637 pp.
- Bosland, P. (1988). *Fusarium oxysporum* a pathogen of many plant species. Advances in plant pathology, 281- 289 pp.
- Cadena Frutícola del Huila. (2006). Manual técnico del cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis*) en el Departamento de Huila. Neiva. 1a Ed. Colombia. 32 p.
- Calle, A., & Cobos, L. (2005). Producción y comercialización de aceite esencial de maracuyá en Ecuador. Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/5057/2/8163.doc>.
- Cárdenas, E., Lugo, L., & Roza, A. (2010). Efecto tóxico del extracto acuoso de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) sobre larvas de *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 y *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae), en Condiciones Experimentales. Universidad de La Salle. Bogotá, Colombia. Vol. 25(1): 11-18 pp.
- Castaño, J. (2009). Enfermedades importantes en las pasifloráceas en Colombia. Colombia. 244 p.
- Chavez, A., & Aquino, A. (2012). Control de los hongos del suelo *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Sclerotium* sp. con extractos vegetales. Investigacion agrarias, 14(1), 17 -23.
- Chávez, M. P. (2006). Producción de *Trichoderma* sp., y Evaluación de su Efecto en Cultivo de Crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). Producción de *Trichoderma* sp., y Evaluación de su Efecto en Cultivo de Crisantemo. Bogotá, Colombia: Pontifica Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Microbiología Industrial. 113 p.
- Contento, A. (2013). Deber de Biología. Nomenclaturas y Taxonomias de Plantas y Animales. 15 p.
- Cubillos Hinojosa, J. G., Pàez Redondo, A., & Mejìa Doria, L. (2011). Evaluaciòn de la Capacidad Biocontroladora de *Thichoderma harzianum* Rifai contra *Fusarium solani*

- (Mart.) Sacc. Asociado al complejo "Secadera" en Maracuyà, Bajo Condiciones de Invernadero. Bogotá: Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín 64 (1).
- Cyclamen. (2015). Los hongos. *Fusarium*. 1 p. Obtenido de <http://www.cyclamen.com/es/profesional/enfermedades/8/25#anchor-7>
- Das, A. (2011). Antidiabetic activity of ethno medicinal plant *Scoparia dulcis* L. (family: Scrophulariaceae): a review. Assam University journal of Science and technology: biological and environmental sciences. Vol. 7. Núm. 1. (India). Pp. 173-180.
- Di Pietro, A., Madrid, M., Caracuel, Z., Delgado, J., & Roncero, I. (2003). *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. Molecular Plant Pathology. Volume 4 (5): 315–325 pp.
- Domínguez, L. (2012). Efecto de la aplicación del extracto hidroalcohólico de flores de caléndula (*Caléndula officinalis*) en la estabilización del color y vida útil en pulpa de frutas. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá - Colombia. p 19.
- Duarte, Y., Pino, O., Infante, D., Sanchez, Y., & Travieso, M. (2013). Efecto in vitro de acetite esenciales sobre *Alternaria solani* Sorauer. Portecion vegetal, 28(01), 54-59.
- Elías, K., Zamir, D., Lichtman, T., & Katan, T. (1993). Population structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici: restriction fragment length polymorphisms provide genetic evidence that vegetative compatibility group is an indicator of evolutionary origin. Mol. Plant-Microbe Interact. 6: 565- 572.
- Espinoza, R. (2013). Evaluación de tres cepas de *Trichoderma* para el control de *Fusarium oxysporum* en el cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis* var flavicarpa). Tesis de Grado. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Guayas - Ecuador. p 80.
- Estupiñan, H., & Ossa, J. (2007). Efecto del agente causal de la marchitez vascular de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) el hongo *Fusarium oxysporum* Schlecht, sobre algunas solanáceas y otras especies cultivadas afectadas por formas especiales del microorganismo. Ponticia Universidad Javeriana. Bogotá-Colombia
- Ezziyyani, M., Pérez, C., Sid, A., Emilia, R. M., & Emilia, C. M. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30100 Espinardo, Murcia, España. p 35-45.
- Fernandez, K., Viña, A., Murilli, E., & Mendez, J. (2007). Actividad antioxidante y antimicrobiana de los volátiles de cuatro variedades de albahaca cultivadas en el departamento de Tolima. Scientia et Technica.(33), 339 - 341.
- Fisher, I., & Rezende, J. (2008). Diseases of Passion Flower (*Passiflora* sp.). Revista Pest Technology. 2a Ed. Brasil. 1-19. Obtenido de [http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/0812/PT_2\(1\)1-19o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/0812/PT_2(1)1-19o.pdf)

- Fletcher, J., & Martin, J. (1972). Spread and control of Fusarium wilt in carnation. Plant Pathology.
- Funes, F. (1997). Experiencias cubanas en agroecología. Revista Agricultura Orgánica, 10-18.
- Garcés, E., Orozco, M., Bautista, G., & Valencia, F. (2001). *Fusarium oxysporum* el hogo que nos falta de conocer. Acta biologia Colombiana, 6(1), 7-25.
- García, A. I. (2006). Plan de Negocios Para la Producción y Exportación de Concentrado de Maracuyá a la Comunidad Europea (Holanda). Universidad Tecnológica Equinoccial Dirección General de Posgrados p.1-65 Quito - Ecuador. Obtenido de repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/12241/1/27844_1.pdf
- García, C., Mier, G., Alzate, D., Mora, A., & Afanador, K. (2006). Evaluación de la actividad biológica de aceites esenciales contra *Collectotrichum acutatum* y su acción fitotóxica sobre *Solanum betacea* (Cav). Memorias XXVI Congreso Ascolfi, Bogotá, 8-31.
- García, M. (2002). Cultivo de Maracuya amarillo. Guia Tecnica. Centro Nacional de Tecnologia Agropecuaria y Forestal. Ciudad Arce, La Libertad, El Salvador. p 33.
- García, M. (2010). Guia Tecnica del Cultivo de la Maracuya. Centro Nacional de Tecnologia Agropecuaria y Forestal Enrique Alvarez Córdova. la libertad- El Salvador. p 36.
- Garret, S. (1977). Pathogenic root- infecting fungi. Cambridge press.
- Gomez, E. (2008). Caracterización de cepas toxigenicas del género *Fusarium* mediante técnicas de biología molecular. Tesis doctoral. 62a Ed. España. 115 – 120 pp.
- Gómez, M. (2005). Mercado mundial de la maracuyá. Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial CIESTAAM, Universidad Autónoma Chapingo. México. 1 p. Obtenido de http://vinculando.org/mercado/mercado_maracuya.html
- Guerrero, E., & Carvajal, L. (2011). Manejo Agronómico de Gulupa (*Passiflora edulis* Sims) en el Marco de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA). Universidad Nacional de Colombia. Colombia. p 123-144. Obtenido de Colombia. 43.
- Gutiérrez, J. (1991). Como cultivar clavel *Dianthus caryophyllus* es para exportación; Manual practico del cultivador. Riobamba Ecuador, Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. 169 p.
- Harborne, J. (1993). Phytochemical Dictionary. Handbook of bioactive compound from plants. Taylor and Francis. 791 p.
- Hernandez, E., & Vasquez, J. (2007). Evaluación de tres extractos vegetales para el control de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporoides* (Penz) & Sacc.) en tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae*). 86 p.

- INEC. (2010). III Censo Nacional Agropecuario. Instituto Nacional de Estadística y Censo.
- Infante, R. (2015). Conocimientos y usos del Paico en Trastornos Digestivos en la Población Adulta de la Parroquia de Salasaca en el período Diciembre 2014 – Febrero 2015. Universidad Técnica de Ambato. Ambato – Ecuador. P 47-51.
- Jacobson, D., & Gordon, T. (1988). Vegetative compatibility and self-incompatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. melonis. *Phytopathology*. 78: 668- 672.
- Jiménez, W. (2009). El maracuyá producción y comercialización caso: canton Quinindé 2008-2009. Tesis de grado, Universidad de Guayaquil. 1-54 p. Guayaquil - Ecuador.
- Kato, & Beraldo. (2010). Morfoanatomía de folhas e caules de *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae. *Brasileira de Farmacognosia*, 20(2), p. 1.
- Kistler, H. (1997). Genetic diversity in the plant- pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 474-479 pp.
- Leslie, J. (1993). Fungal vegetative compatibility. *Annu. Review. Phytopathol.* 31: 127- 150.
- Li-Jun, M., Geiser, D., Proctor, R., Rooney, A., O'Donnell, K., Trail, F., Kazan, K. (2013). *Fusarium* Pathogenomics. *Annual Review of Microbiology*. Vol. 67: 399-416 pp.
- Londoño, J. (2012). Evaluación de la resistencia genética de especies de *Passiflora* spp A *Fusarium* spp, agente causal de la “Secadera” Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias Coordinación general de Postgrados PALMIRA. p 22-119.
- Londoño, V. (2000). Aplicación de *Fusarium oxysporum* en cultivos de coca. (*Erythroxylum coca*). Memorias (Panel). Marzo 3. Santafé de Bogotá. 14- 17 .
- MAG. (1991). Aspectos técnicos sobre cuarenta y cinco cultivos agrícolas de Costa Rica. . MAG. San José-Costa Rica. 8 p.
- Magallanes, C. (2013). Identificación e incidencia de hongos en semillar de *Jatropha curcas* durante el almacenamiento. Instituto Politécnico Nacional. Guansave, Sinaloa, México. 1-61 p.
- Manicom, B., & Bayen, P. (1993). Restriction fragment length polymorphisms in *Fusarium oxysporum* f. sp. dianthi and other fusaria from *Dianthus* species. *Plant pathology*. 42: 851- 857.
- Martinez, A. (2012). Evaluación y selección de cepas de *Trichoderma* sp para control biológico de *Fusarium* sp. En maracuyá (*Passiflora edulis*, variedad. flavicarpa), en condiciones in vitro. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica. Universidad Técnica de Ambato, Ecuador. p 1 - 127.

- Martínez, G. (2008). Estudio de factibilidad para la exportación de concentrado de maracuyá al mercado de Alemania. Tesis de Grado. Escuela Politécnica Nacional. Quito - Ecuador. 1-178 p.
- Mártinez, J. M. (2015). Mastranto (*Hyptis suaveolens*). Universidad de Oriente. Escuela de Ingeniería Agronómica. Maturín/Monagas/Venezuela. 1-6 p.
- Masuma, S., & Lazuma, N. (2011). In vitro antibacterial, antifungal and cytotoxic activity of *Scoparia Dulcis* L. International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. Vol.3. Núm. 1. (España). pp. 57-68 .
- Molina, N. (2001). Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 59 p. 76-77. Obtenido de <http://www.sidalc.net/repdoc/a1752e/a1752e.pdf>
- Mora, J. (2001). Control biológico de la Pudrición radicular por *Fusarium oxysporum* en semilleros de café usando endomicorriza y *Trichoderma harzianum* .carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria, Zamorano, Honduras. p 1-26.
- Morales, I., & Garnica, M. (2011). Estudio de la Fisiología de la Competencia en Albahaca (*Ocimum basilicum* l) bajo Condiciones de Invernadero en la Sabana de Bogotá, Colombia. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales – UDCA. p 25.
- Muñoz, F. (1996). Plantas Medicinales y Aromáticas; estudio, cultivo y procesado. 2 da Reimpresión. Editorial Mundi Prensa S.A, Madrid España. pp 15, 247, 267, 311, 312, 316, 320.
- Murti, K. (2012). Propiedades farmacológicas de *Scoparia Dulcis*. Pharmacología a Science Magazine. Vol. 3. Núm. 8. (Mexico). pp.87-90.
- Navarrete, & Acosta, G. J. (1999). Reacción de variedades de frijol común a *Fusarium* spp. Y *Rhizoctonia solani* en el altiplano de México.
- Naveda, G. (2010). Establecimiento de un Proceso de Obtención de Extracto de Ruda (*Ruta graveolens*), con Alto Contenido de Polifenoles. Escuela Politécnica Nacional. Quito – Ecuador. 1-98 p.
- Nelson, A. J. (1997). Genetic characterization by RAPD analysis of isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *erythroxyli* associated with and emerging epidemic in Peru. Phytopathology, 1220-1225.
- Ortiz, E., Lilliana, M., & Hoyos, C. (2012). Descripción de la Sintomatología Asociada a Fusariosis y Comparación con otras Enfermedades en Gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) en la Región del Sumapaz (Colombia). Facultad de Agronomía, Programa de Maestría en Ciencias Agrarias con énfasis en Fitopatología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá (Colombia). Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas - Vol. 6 - No. 1 - p 110-116.

- Ortiz, P., & Navas, D. (2000). Proyecto de instalación de una planta de jugo y concentrado de frutas. Proyecto de graduación. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil-Ecuador. 1-242 p.
- Pawar, V., & Thaker, S. (2007). Evaluacion de los anti-fusarium oxysporum f. sp. Cicer y anti-Alternaria porri, los efectos de algunos aceites esenciales. *Microbiologia*, 23, 10-11.
- Pereira, V. (2015). Estudio a la aplicación de tres frecuencias y dos dosis de N-P-K más una fórmula de fertilizante foliar en el cultivo de maracuyá. Tesis de Grado. Universidad de Guayaquil. Guayas- Ecuador. p 91.
- Pumisacho, M., & Sherwood, S. (2002). El cultivo de la papa en el Ecuador. Quito-Ecuador. 85-97.
- Pupo, Y., Kalombo, D., Herrera, L., Malherios, D., & Varga, B. (2011). Efecto de extractos vegetales en el crecimiento y germinación de esporas de *Alternaria solani* (E. & M.) J. & G. en condiciones in vitro. *Micologia*, 28(01), 1-2.
- Quilambaqui, M. (2005). Aislamiento e Identificación de Especies de *Fusarium* spp Asociadas al Declinamiento del Espárrago (*Asparagus officinalis* L.) en Cinco Municipios de Guanajuato, México. *Revista Tecnológica ESPOL*, Vol. 18, N. 1, p 135-140.
- Ramos de León, N., Sanabria, M., Rodríguez, D., & Ulacio, D. (2012). Efecto del extracto etanólico de albahaca genovesa (*Ocimum basilicum* var. *Genovese*) sobre *Cercospora apii* Fressen y el tizón temprano del celery (*Apium graveolens*). Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola* 12 (2): 472-478.
- Ríos, & Dorado. (2010). Mnejo del Riego y la Nutricion del Maracuya (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*).. sur del Valle del Cauca.: Obtenido de http://asohofrucol.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca_156_Manejo_maracuy%C3%A1.pdf
- Roble, & Julio. (2009). El cultivo del Maracuyá *Passiflora edulis* form.*flavicarpa*. Manual del Cultivo de Maracuyá. Trujillo - Perú. .
- Rodríguez, A., Morales, D., & Ramírez, M. (2000). Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos. *Cultivos Tropicales* Vol 2 (2), 79-82 pp.
- Rodriguez, D. &. (2002). Disminucion de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de *Citrus paradisi*. Universidad Centrooccidental "Lisandro Alvarado".
- Rodríguez, J., Castaño-Piamba, D., González, L., Estrada-Cely, G., & Ramírez, K. (2012). Estudio de la eficacia del paico (*Chenopodium ambrosioides*) como antihelmíntico, en especímenes silvestres mantenidos en cautiverio en el Hogar de Paso de Fauna

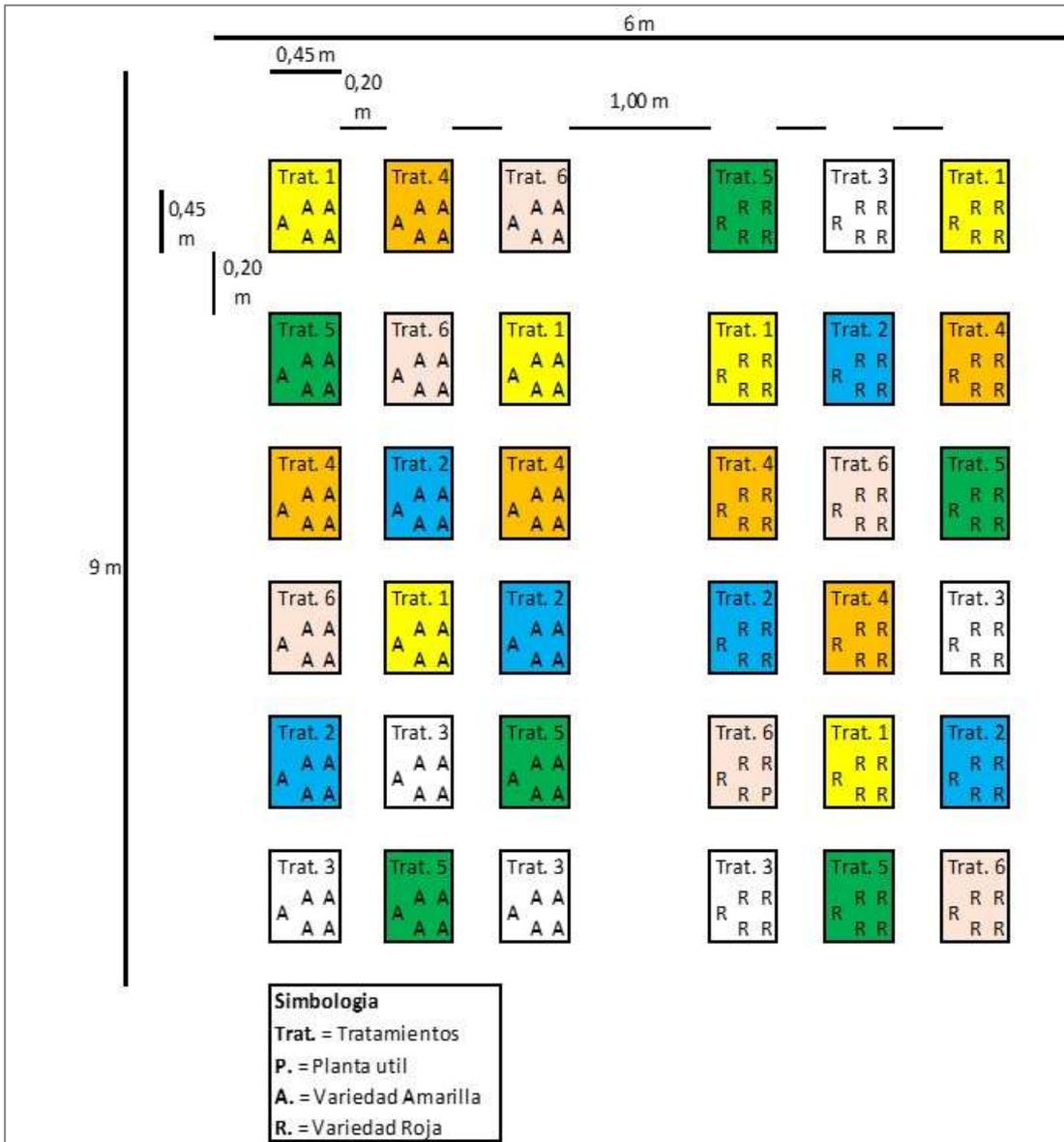
- Silvestre de la Universidad de la Amazonía. Medellín, Colombia . Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. Vol. 7, núm. 2, pp. 31-36 pp.
- Rojas, N. (2014). Efecto de *Trichoderma harzianum* sobre el Fruto de Tomate. Universidad Rafael Landívar. p 6-7.
- Rosas, J. (2015). Integración de extractos fitotoxícos en la estrategia de manejo y control de *Fusarium oxysporum* en tomate (*Lycopersicon esculentum* P. Mill) en invernadero. Quevedo: Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
- Rubio, D. (2014). Efecto de la Radiación UV-C Sobre la Flora Nativa y la Capacidad Antioxidante de la Mezcla para Té Compuesto por Toronjil (*Melissa officinalis*), Ortiga (*Urtica dioica*), Perejil (*Petroselinum sativum*) y Paico (*Chenopodium ambrosioides*). Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito, Ecuador. 104 p.
- Sandoval, P. (2006). Búsqueda de plantas con propiedades fungicida/fungistáticas para el control in vitro de *Botrytis cinerea* Pers. Tesis . Chile.
- Scholaen, S. (2005). Manejo integrado de plagas en hortalizas. 24-31.
- Sepúlveda, F. (2005). Aspectos Relevantes del Biocontrol de Enfermedades del Suelo. Universidad de Tarapacá. Volumen 23, N° 2, p 49-54.
- Srivastava, A., & Bihari, B. (1997). Estudios sobre propiedades biofungicidas de extractos de hoja de algunas plantas. *Fitopatología*, 50(3), 40 - 411.
- Sun, Q., Rost, T., & Matthews, M. (2008). Wound-induced vascular occlusions in *Vitis vinifera* (vitaceae): tyloses in summer and gels in winter. *American Journal of Botany*. 95a Ed. Estados Unidos. Pág. 1498 – 1505. Obtenido de <http://matthews.ucdavis.edu/publications-1/wound-induced-vascular-occlusions-in-vitis-vinifera-vitaceae-tyloses-in-summer-and-gels-in-winter/view>
- Taborda, N. (2013). Fruto de la pasión, Maracuyá. Instituto Superior Particular Incorporado N° 4044 Sol. p 7.
- Tipanluisa, S. (2011). Evaluación de dos métodos de control (práctica cultural y microorganismos) contra *Fusarium oxysporum* en el cultivo de naranjilla (*Solanum tomatense*). Chaco–Napo. Universidad Técnica de Cotopaxi. Latacunga–Ecuador. 1-146 p.
- Tonguino, M. (2010). Determinación de las Condiciones Óptimas para la Deshidratación de dos Plantas Aromáticas; Menta (*Mentha piperita* L) y Orégano (*Origanum vulgare* L) Universidad Técnica del Norte. Ibarra-Ecuador. 7-9 p.
- Torres. (2002). Cultivo de Maracuyá Amarillo. Guía Técnica. Centa. El Salvador. 1-33 p.
- Villalobos, M. (1996). Plaguicidas de origen vegetal. INIA. Madrid - España.

Yugcha, W. (2015). Efecto Toxicológico de Extractos Vegetales Sobre *Fusarium oxysporum* bajo Condiciones Controladas. Quevedo - Los Ríos. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. p 1-46.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo 1 Croquis de campo del experimento de maracuyá en invernadero



Superficie del experimento: 36.00 m²



Anexo 2 Aislamiento de *F. oxysporum* en Maracuyá



Anexo 3 Repique de *F. oxysporum* en Maracuyá



Anexo 4 Conteo de esporas de *F. oxysporum*



Anexo 5 Aislamiento de *F. oxysporum* puro



Anexo 6 Tierra para sustrato



Anexo 7 Zeolita para sustrato



Anexo 8 Mezcla de sustrato



Anexo 9 Corte de fundas



Anexo 10 Raíces quitadas de la tierra



Anexo 11 Lavado de raíces



Anexo 12 Lavado de plantas



Anexo 13 Raspando el micelio del *F. oysporum*



Anexo 14 Agitación de inóculo



Anexo 15 Licuado el medio de cultivo con *F oxysporum*



Anexo 16 Plantas inoculadas



Anexo 17 Plantas de ruda (*Ruta minuta*)



Anexo 18 Planta de ortiga (*Urtica dioica*)



Anexo 19 Banco de especies



Anexo 20 Agua purísima del páramo utilizada en el ensayo



Anexo 21 Elaboración de los extractos vegetales por el método de infusión



Anexo 22 Desinfectando los extractos vegetales



Anexo 23 Peso del material vegetal para la elaboración de los extracto



Anexo 24 Filtrado de los extractos



Anexo 25 Planta muerta por *Fusarium oxysporum*



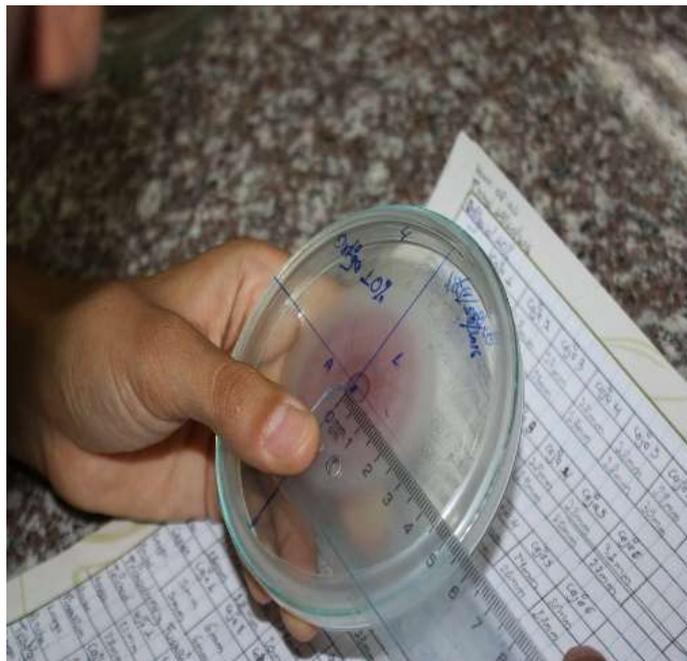
Anexo 26 Medición de las lesiones vascular por *Fusarium oxysporum*



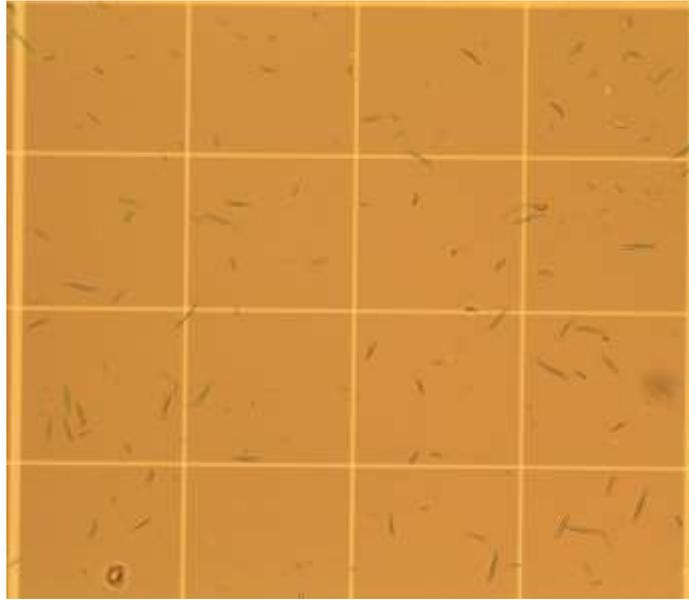
Anexo 27 Evaluación del peso de raíz (g)



Anexo 28 Cajas Petri con los tratamientos



Anexo 29 Evaluación del crecimiento micelial (L/A) de *Fusarium oxysporum*



Anexo 30 Esporas de *Fusarium oxysporum* vistas en microscopio.