UNIVERSIDAD REGIONAL AMAZÓNICA IKIAM

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y AGUA

CARRERA DE AGROECOLOGÍA

EVALUACIÓN DE ESPORAS DE *TRICHODERMA* SP., SU BIOMASA Y COMBINACIÓN EN BIOCONTROL DE *ALTERNARIA* SP. SOBRE *SELENICEREUS MEGALANTHUS* BAJO CONDICIONES DE INVERNÁCULO

Proyecto de investigación previo a la obtención del Título de:

INGENIERA EN AGROECOLOGÍA

AUTOR: MILENA STEFANIA LADINES JIMÉNEZ

TUTOR: MSC. LUIS PATRICIO MONCAYO LEMA

Tena – Ecuador

2024

Carrera de Agroecología

Declaración de derecho de autor, autenticidad y responsabilidad

Tena, 02 de septiembre de 2024

De mi consideración:

Yo, Milena Stefania Ladines Jiménez con documento de identidad 0953159779, declaro que los resultados obtenidos en la investigación que presento en este documento final, previo a la obtención del título Ingeniera en Agroecología, son absolutamente inéditos, originales, auténticos y personales.

En virtud de lo cual, el contenido, criterios, opiniones, resultados, análisis, interpretaciones, conclusiones, recomendaciones y todos los demás aspectos vertidos en el presente documento, son de mi autoría y de mi absoluta responsabilidad.

Por la favorable atención a la presente, suscribo de usted,

Milena Stefania Ladines Jiménez

CI: 0953159779

Carrera de Agroecología

Autorización de publicación en el repositorio institucional

Tena, 02 de septiembre de 2024

Yo, Milena Stefania Ladines Jiménez, con documento de identidad 0953159779 en calidad de autor/a y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Evaluación de esporas de *Trichoderma* sp., su biomasa y combinación en biocontrol de *Alternaría* sp. sobre *Selenicereus megalanthus* bajo condiciones de invernáculo", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN, reconozco a favor de la Universidad Regional Amazónica Ikiam una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Así mismo autorizo a la Universidad Regional Amazónica Ikiam para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Milena Stefania Ladines Jiménez

CI: 0953159779

Carrera de Agroecología

Certificado de dirección de trabajo de titulación

Tena, 02 de septiembre de 2024

Certifico que el trabajo de titulación: "Evaluación de esporas de *Trichoderma* sp., su biomasa y combinación en biocontrol de *Alternaría* sp. sobre *Selenicereus megalanthus* bajo condiciones de invernáculo", aprobado bajo el mecanismo de titulación de: Articulo original en español y de manera optativa en inglés, adaptado a los parámetros y normas de una revista indexada fue realizado por Milena Stefania Ladines Jiménez, bajo mi dirección.

El mismo ha sido revisado en su totalidad y analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto, cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad Regional Amazónica Ikiam, para su entrega y defensa.

Luis Patricio Moncayo Lema

C.I: 0920360898

Escaneado con CamScanner

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi familia por guiarme en esta etapa que estoy por culminar, siempre voy a tener presente las palabras de mi mami Lupita hablándome de irme a buscar mi camino así sea lejos de casa, a mi mami Palmira por siempre recordarme que debía seguir estudiando para conseguir mi título, a mi papá por estar presente a su manera, a mis hermanos por ser ellos a pesar de los problemas y a mi orejita fiel compañero en las madrugadas de trabajo y presente siempre a la hora de comer. A toda mi familia por siempre estar pendiente de mi les agradezco.

Quiero mencionar a mis compañeros y amigos de la carrera y universidad Mahe, Tany, Javi y Pau con los cuales todavía sigo manteniendo una buena amistad y hermandad desde hace 6 años y aunque no hemos estado todo el tiempo justo sabemos que podemos contar los unos con los otros. Una gratitud especial para mi mejor amiga Gloris que supo cuidarme, alimentarme, aconsejarme y acompañarme cuando no sabía que lo necesitaba y claro a Preciosa por robar mi cojín de hueso y saludarme cuando llegaba a casa.

Gracias totales para mi Tutor MSc. Luis Moncayo por ser una persona paciente y acolitar con el trabajo en campo, laboratorio y corrección de este apreciado trabajo de titulación.

DEDICATORIA

Dedico esto a mí, a mi tutor y a mi espalda por las horas que estuve trabajando en el laboratorio y campo, por el financiamiento para hacer realidad el laboratorio de la carrera de Agroecología y el día que terminé la fase de recolección de datos.

TABLA DE CONTENIDO

PORTADA

DECLARACIÓN DE DERECHO DE AUTOR, AUTENTICIDAD Y RESPONSABILIDAD ii

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL..... iii

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN.....iv

AGRADECIMIENTO.....v

DEDICATORIA.....vi

ÍNDICE DE TABLA.....viii

ÍNDICE DE FÍGURAS.....ix

ÍNDICE DE ANEXOS.....x

RESUMEN xi

ABSTRACT.....xii

INTRODUCCIÓN 2

MATERIALES Y MÉTODOS 4

DISCUSIÓN.....14

CONCLUSIONES.....16

AGRADECIMIENTO.....17

CONFLICTOS DE INTERÉS 17

FINANCIACIÓN.....17

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Descripción de tratamientos de *Trichoderma sp.* aplicados en esquejes de pitahaya amarilla en invernáculo 8

Tabla 2. Descripción de variables de severidad e incidencia 10

Tabla 3. Porcentaje de incidencia y cuantificación de lesiones activas para severidad 12

ÍNDICE DE FÍGURAS

Figura 1: Localización del área de estudio en la granja de Agroecología de la Universidad Regional Amazónica Ikiam, parroquia Muyuna, cantón Tena, Napo, Ecuador 5

Figura 2: Porcentaje de incidencia en pencas de pitahaya amarilla por tratamientos 11

Figura 3: Niveles de severidad por cuantificación de lesiones (Logaritmo natural) activas de *Alternaria* sp. en pencas de pitahaya amarilla. 13

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A: Script de Test de normalidad y homogeneidad para incidencia de *Alternaria sp*.

Anexo B: Tabla de valores individuales de materiales para producción. A: fermentación líquida. B: fermentación sólida.

Anexo C: Tabla con valores de cálculo de costo de producción inicial y aplicación de Trichoderma líquida y sólida.

Anexo D: Script de Test de normalidad y homogeneidad para variable severidad de *Alternaria sp*.

RESUMEN

La pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) es una planta trepadora perenne valorada por sus usos alimentarios y medicinales. Su cultivo se ha expandido en Ecuador y otros países, enfrentando desafíos como enfermedades fúngicas, entre ellas *Alternaria* sp., que afecta severamente la productividad y calidad del fruto. El control biológico con microorganismos como *Trichoderma* sp. se presenta como una alternativa sostenible a los agroquímicos, mejorando la salud del suelo y reduciendo el impacto ambiental. El estudio se llevó a cabo en la granja de la Universidad Regional Amazónica Ikiam, utilizando cepas de *Trichoderma* sp. y *Alternaria* sp. suministradas por Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Se prepararon tratamientos con esporas y biomasa líquida de *Trichoderma* sp. en medios sólido y líquido. La incidencia y severidad de la enfermedad se evaluaron en un diseño de bloques completamente al azar. Los tratamientos con *Trichoderma* sp. no mostraron diferencias significativas en la incidencia de la enfermedad, aunque hubo una tendencia a menor incidencia en los tratamientos respecto al testigo. En cuanto a la severidad, se observó una diferencia significativa, con menores síntomas en tratamientos con *Trichoderma* sp., especialmente en el tratamiento combinado de esporas y biomasa líquida. Los resultados indican que *Trichoderma* sp. es efectivo en reducir la severidad de *Alternaria* sp., aunque no significativamente en la incidencia. La combinación de esporas y biomasa líquida mostró ser la más efectiva, sugiriendo que el uso de ambos puede potenciar el biocontrol. Estos hallazgos coinciden con estudios previos que demuestran la capacidad de *Trichoderma* sp. para inhibir patógenos fúngicos y promover la salud del cultivo. El uso de *Trichoderma* sp. es una estrategia prometedora para el biocontrol de *Alternaria* sp. en pitahaya amarilla, reduciendo la severidad de la enfermedad y alineándose con prácticas agroecológicas y manejo integrado de plagas y enfermedades.

Palabras clave: Control biológico, pitahaya amarilla, agroecología, bioinsumos, enfermedades fungosas.

ABSTRACT

The yellow pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) is a perennial climbing plant valued for its nutritional and medicinal uses. Its cultivation has expanded in Ecuador and other countries, facing challenges such as fungal diseases, including *Alternaria* sp., which severely affects the fruit's productivity and quality. Biological control with microorganisms like *Trichoderma* sp. is presented as a sustainable alternative to agrochemicals, improving soil health and reducing environmental impact. The study was conducted at the farm of the Universidad Regional Amazónica Ikiam, using strains of *Trichoderma* sp. and *Alternaria* sp. provided by Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Pitahaya cuttings were planted and maintained semi-controlled conditions. Treatments with spores and biomass of *Trichoderma* sp. in solid and liquid media were prepared. The incidence and severity of the disease were evaluated in a completely randomized block design. Treatments with *Trichoderma* sp. did not show significant differences in disease incidence, although there was a trend towards lower incidence in the treatments compared to the control. Regarding severity, a significant difference was observed, with fewer symptoms in treatments with *Trichoderma* sp., especially in the combined treatment of spores and biomass. The results indicate that *Trichoderma* sp. is effective in reducing the severity of *Alternaria* sp., although not significantly in incidence. The combination of spores and biomass proved to be the most effective, suggesting that using both can enhance biocontrol. These findings align with previous studies demonstrating *Trichoderma* sp.'s ability to inhibit fungal pathogens and promote crop health. The use of *Trichoderma* sp. is a promising strategy for the biocontrol of *Alternaria* sp. in yellow pitahaya, reducing disease severity and aligning with agroecological practices and integrated pest and disease management.

Keyword: Biological control, yellow pitahaya, agroecology, agricultural products, fungal diseases.

Nombre de la revista: AGROSAVIA

Enlace de revista: https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista

Evaluación de esporas de *Trichoderma* sp., su biomasa y combinación en biocontrol de *Alternaria* sp. sobre *Selenicereus megalanthus* bajo condiciones de invernáculo

Evaluation of *Trichoderma sp.* spores, their biomass and combination in the biocontrol of *Alternaria* sp. on *Selenicereus megalanthus* under greenhouse conditions

Milena Stefania Ladines Jiménez [1]

[1] Universidad Regional Amazónica Ikiam, Tena, Ecuador.

INTRODUCCIÓN

La pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) es una planta trepadora perenne de la familia Cactaceae que puede alcanzar hasta dos metros de altura, desarrollándose mejor en altitudes de 800 a 1850 msnm, en suelos bien drenados con pH entre 5.5 y 6.5, y temperaturas de 18°C a 25°C, prefiriendo climas tropicales húmedos y con buena luminosidad (Huachi et al., 2015). La fruta se consume fresca o se utiliza en gelatinas, refrescos, helados y productos con esencias florales. Medicinalmente, mejora la digestión y trata problemas estomacales y endocrinológicos (Vargas et al., 2020). El cultivo de pitahaya amarilla ha ganado interés internacional y nacional, con Ecuador destacándose en provincias como Los Ríos, Pichincha, Loja, Pastaza y Morona Santiago, y países como Colombia, México, Tailandia, Nicaragua y Vietnam liderando la producción (Jiménez, 2022). Las exportaciones ecuatorianas generaron $1.7 millones en los primeros meses de 2016, impulsando la expansión agrícola y el empleo (Cabrera et al., 2018). La pitahaya amarilla se está consolidando como un cultivo clave para la economía, aunque requiere atención a problemas como las enfermedades fúngicas.

La productividad de los cultivos de pitahaya amarilla puede verse afectada por enfermedades fúngicas como *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., y *Alternaria* sp., siendo esta última especialmente perjudicial en tallo y fruto (Valencia et al., 2016). *Alternaria* sp. provoca pudrición del tallo en plantas jóvenes y síntomas de color marrón con esporas y micelio en los frutos (Astuti et al., 2020; Hernández et al., 2007). Este patógeno altera la morfología de las pencas y frutos, causando manchas café rojizas y afectando el crecimiento de aristas y aureolas, lo que perjudica la apariencia y exportación del fruto (Jiménez, 2022). Las fitotoxinas de *Alternaria* sp. impactan negativamente el ciclo vegetativo y rendimiento de las cosechas, generando pérdidas económicas (Pavón, 2016). Por ello, es crucial obtener más información sobre este patógeno y aplicar prácticas agroecológicas para manejar plagas y enfermedades de manera sostenible.

El uso de microorganismos en el control de enfermedades agrícolas se ha destacado como una alternativa sostenible al uso de productos químicos. Los microorganismos beneficiosos, como bacterias y hongos, pueden actuar como agentes de control biológico, compitiendo con patógenos, produciendo antibióticos naturales o induciendo resistencia sistémica en las plantas (Vargas et al., 2020). Por ejemplo, bacterias del género *Bacillus* y hongos como *Trichoderma* sp. han demostrado ser efectivos contra una variedad de patógenos fúngicos, reduciendo la incidencia de enfermedades y mejorando la salud del suelo (Keswani et al., 2013; Mukherjee et al., 2013). El control biológico no solo ayuda a minimizar el impacto ambiental de los agroquímicos, sino que también promueve la biodiversidad y la resiliencia de los agroecosistemas (Harman, 2011). Además, estas prácticas son parte del programa de manejo integrado de plagas (MIP), proporcionando una solución holística y ecológica para la gestión de enfermedades agrícolas (Chandler et al., 2011). Por lo tanto, el uso de microorganismos para el control biológico representa una estrategia prometedora para lograr una agricultura más sostenible y ecológicamente equilibrada.

El uso de *Trichoderma* sp. constituye una medida ecológica eficaz para el control de enfermedades, encontrándose en suelos y materia orgánica y adaptándose rápidamente a condiciones controladas en laboratorio, invernadero y campo. Este microorganismo antagoniza otros hongos mediante competencia por nutrientes y espacio, antibiosis, micoparasitismo, y, además, estimula el crecimiento vegetal e induce resistencia en las plantas. *Trichoderma* sp. inhibe la germinación de esporas y altera la estructura celular de los hongos patógenos (Harman, 2011; Mukherjee et al., 2013; Keswani et al., 2013). Estudios han demostrado que *Trichoderma* sp. puede inhibir *Alternaria* sp. entre un 50% y 93%, destacando su potencial como alternativa a los agroquímicos (Matas et al., 2022). En investigaciones con tallos de pitahaya, *Trichoderma harzianum* mostró un control significativo tanto *in vitro* como in planta contra *Alternaria* sp. (Astuti et al., 2021).

Dentro del control biológico ejercido por *Trichoderma* sp., el uso de la biomasa podría llegar a ser un potencial producto utilizado en el control de plagas y enfermedades, tal y como explica Cantrell et al., 2012, como se citó en Mesa et al. (2019):

> La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) tiene en sus registros información donde se demuestra que no solo el organismo biológico es empleado para el control, sino también los extractos, aceites esenciales y MS (materia solida) obtenidos a partir de este, que juegan un papel importante en el descubrimiento y desarrollo de nuevos productos para la protección de cultivos bajo el concepto del Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades (IPDM) (p. 34).

Con esta información se busca evaluar las esporas de *Trichoderma* sp., su biomasa líquida y su combinación en el biocontrol de *Alternaria* sp. sobre *Selenicereus megalanthus* bajo condiciones de invernáculo, además se espera obtener mejores resultados con la biomasa líquida a comparación del uso de esporas al ser la biomasa líquida un fermentado con microorganismos activos, para comprobar el efecto esperado se evalúan las variables de incidencia y severidad. Se realizó bioinsumo de *Trichoderma* sp. en fase sólida y liquida para obtener esporas y biomasa líquida para luego ser aplicados de forma preventiva y comprobar el biocontrol hacia *Alternaria* sp. en las pencas de pitahaya amarilla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La fase experimental de invernáculo se llevó a cabo en las instalaciones de la granja de la carrera de Agroecología ubicada en el anexo de la Universidad Regional Amazónica Ikiam, en la parroquia Muyuna, Cantón Tena, Provincia de Napo, Ecuador. A una latitud

de 0°57'00.9"S, longitud de 77°51'50.4"W y altitud de 665 msnm. (Figura 1). Durante el estudio la temperatura promedio fue de 29.76 °C, humedad relativa 79,31%, concentración de dióxido de carbono 444 ppm y radiación solar 62 watt/m^2.

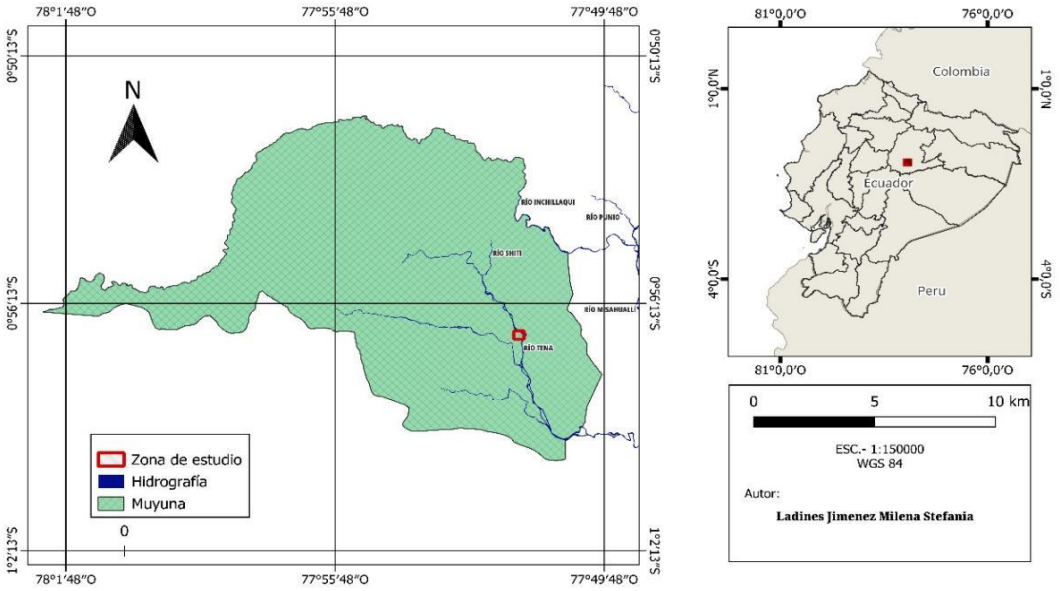


Figura 1. Localización del área de estudio en la granja de Agroecología de la Universidad Regional Amazónica Ikiam, parroquia Muyuna, cantón Tena, Napo, Ecuador

Material biológico proporcionado

El material se identificó como *Trichoderma* sp. con código MS-P-07-1 y *Alternaria* sp. identificada como *Alternaria* Blanca, material proporcionado bajo convenio con la Universidad Regional Amazónica Ikiam por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias – INIAP, recolectadas y aisladas dentro de sus propias parcelas de cultivos de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) en el cantón de Palora, provincia de Morona Santiago. En el caso del material vegetal se obtuvo de una parcela con monocultivo de pitahaya amarilla ubicada en la ciudad de Palora.

Manejo de esquejes e instalación de experimento

Los esquejes maduros de pitahaya amarilla tenían un largo de 50 cm, primero fueron curados con pasta bordelesa para evitar infecciones en los cortes de poda, se dejó secar por 6 días bajo sombra después se realizó la plantación dentro del invernáculo con un área de 72 m^2 se delimitaron 4 camas experimentales con 40 esquejes por cama, cada unidad experimental compuesta por 10 esquejes de pitahaya amarilla con sustrato de formulación propia con arena fina, ripio, bocashi y suelo del invernáculo en proporciones del 30 % a excepción del ripio que se utilizó un 20%. Se plantaron a una profundidad de 10 cm y se procedió a realizar un riego por semana a razón de 8 litros por unidad experimental utilizando agua pluvial recolectada. El control fitosanitario se llevó a cabo durante 5 meses, hasta obtener brotes nuevos de más de 10 cm. Se planificaron controles preventivos utilizando agua de vidrio, infusión de manzanilla, infusión de cola de caballo, caldo sulfocálcico, extracto de ortiga y caldo bordelés, aplicando semanalmente bioinsumos agroecológicos.

En el estudio preventivo con esporas y biomasa líquida de *Trichoderma* sp. se utilizó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), con 3 repeticiones, en total 16 unidades experimentales cada una con 10 esquejes de pitahaya amarilla.

Activación de *Trichoderma* sp. y *Alternaria* sp.

El material con esporas de *Trichoderma* sp. se mantenía conservado en micro tubos Eppendorf de 1.5 ml en medio con glicerol y *Alternaria* sp. en semillas de cebada colonizadas con el hongo en criovial de 2 ml, ambos en cámaras de refrigeración en el laboratorio de Biología molecular de la Universidad Regional Amazónica Ikiam. Siguiendo el protocolo de García et al., (2006) la activación de la cepa de *Trichoderma sp.* se inició mediante el descongelamiento el material a temperatura ambiente, en una zona estéril con ayuda de un mechero de Bunsen se procedió agitar el micro tubo con esporas del hongo conservado en glicerol, con un asa de siembra se inocula por estrías en la caja Petri con medio PDA artesanal más antibiótico, se incuba a temperaturas

ambiente < 30 °C por 7 días. Para las cepas del patógeno se procedió a seguir el protocolo de Nahir et al., (2022) luego de descongelar la alícuota a temperatura ambiente, en un área estéril se procedió a tomar de la alícuota seis semillas colonizadas con esporas de *Alternaria* sp., luego inocular 2 por caja Petri con PDA sin antibiótico, se almacenó a una temperatura 21 °C por 10 días para obtener el mayor crecimiento del patógeno en la caja Petri.

Multiplicación de *Trichoderma* sp. en medio sólido

La metodología empleada es una adaptación de Agamez et al. (2008) para la multiplicación de *Trichoderma* sp. en medio sólido se utilizó granos de arroz blanco triturados hasta obtener partículas de 0.5 - 0.3 mm de diámetro, se colocó en un recipiente 3 lb, se añadió 3 l de agua mezclada previamente con melaza al 1% y urea al 1%, Después de un remojo de 2 horas (pH 5.5), se procedió a filtrar y llenar un tercio de la capacidad de cada fundas transparente de polietileno de 15 x 25 cm con arroz triturado. Se realizaron dos nudos no ajustados en las fundas de polietileno para evitar su ruptura durante la esterilización en autoclave a 120 °C y 0.75 PSI durante 30 minutos. Una vez enfriado el sustrato se procede a inocular un cubo de agar colonizado por *Trichoderma* sp. con 8 días de crecimiento en caja Petri. La colonización de *Trichoderma* sp. tomó 18 días en incubación a temperatura ambiente de 25-28°C, en un lugar seco y en sombra.

Multiplicación de *Trichoderma* sp. en medio líquido

Para la multiplicación en medio líquido se siguió el protocolo de García et al., (2006) donde se utilizó solución acuosa de melaza al 5% y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) al 5%, se procedió a distribuir 200 mL de solución de melaza en los frascos de vidrio de 1000 mL, el aforo se realizó con agua destilada hasta los 400 mL manteniendo un pH de 5,5, luego se añadieron 15 g de levadura seca a cada frasco. Los frascos de vidrio con medio pasaron a ser autoclavados a 121°C a 15 PSI por 25 min, para luego ser mandados a enfriar a temperatura ambiente. En lo siguiente, se utilizó un proceso propio para

inocular y oxigenar los frascos de multiplicación líquida, es una cámara de flujo laminar se abrieron los frascos uno a uno y se inocularon con un cubo de 1 x 1 cm de PDA colonizado con esporas de *Trichoderma* sp., los frascos fueron cerrados con tapones de algodón y aluminio dejando una apertura para la manguera de oxigenación y por último se conectó cada manguera a una bomba de oxígeno para pecera SC-7500 marca JAD.

Tabla 1. Descripción de tratamientos de *Trichoderma* sp. aplicados en esquejes de pitahaya amarilla en invernáculo

Tratamiento	Detalles	Concentración	Dosis de aplicación
T1	*Trichoderma* sp. por fermentación líquida (biomasa)	4.32x 10^8 UFC/mL	20 mL/L
T2	*Trichoderma* sp. por fermentación sólida (esporas/ conidios)	2.88 x10^8 UFC/mL	20 mL/L
T3	*Trichoderma* sp. líquida + *Trichoderma* sp. sólida	T1+T2	40 mL/L
T4	Esporas de *Alternaria* sp.	1.5 x10^6 UFC/mL	20 mL/ L

Nota aclaratoria: UFC: Unidad Formadora de Colonia. Fuente: elaboración propia

Preparación de inóculos y aplicación de tratamientos

Se realizó la cosecha del material sólido con 18 días de multiplicación, retirando de las fundas de polietileno todo el material y poniendo a secar por 12 días en bandejas plástica bajo sombra a temperatura ambiente (21-28 °C). Pasado el tiempo de secado se pesó 1 lb y se puso a remojó en un litro de agua estéril para el desprendimiento de las esporas del sustrato seguido de la filtración del material con una gasa sujetada a un vaso de precipitación para recolectar el líquido con los conidios, el resto de material sobrante se pasó a fundas herméticas para su conservación. Con el Trichoderma sp. líquido se

recolectó el material con una pipeta de 5 ml del frasco de vidrio a un vaso de precipitación para previamente mezclar con agua estéril en la bomba de fumigación de 4 L, lo mismo para el inoculó del Trichoderma sp. sólido. Para la parte de la inoculación de biomasa líquida y esporas de Trichoderma sp. teniendo listos los inóculos de suspensión conidial para los brotes jóvenes siguiendo un control preventivo, se aplicó Trichoderma sp. pasado dos días se inocula Alternaria sp. por suspensión de esporas según dosis de la Tabla 1. La aplicación se realizó con una bomba de fumigación de 4L para cada unidad experimental una única vez. La etapa fenológica en la que se encontraban los esquejes de pitahaya es vegetativa. Además, para la fase de inoculación del patógeno se optó por colocar mallasombra de polipropileno (sarán negro) solo en las camas experimentales para generar un ambiente de menor temperatura junto con la aspersión diaria dos veces al día con agua pluvial.

Análisis estadístico

Se usó Test de normalidad por Shapiro-Wilk y homogeneidad por Test de Levene previamente se realizó una trasformación logarítmica para ajustar la normalidad y homogeneidad de los datos de incidencia y severidad. Se procesaron los datos trasformados por un análisis de varianzas por Welch ANOVA (P-valor < 0.05), el análisis de separación de medias se realizó por Test de Dunn para la comprobación de hipótesis y para identificar la significancia de los tratamientos. Todos los datos se analizan bajo el programa estadístico Rstudio versión 2024 (Rstudio Team, 2024).

Variables de evaluación severidad e incidencia

Para determinar los valores de severidad se cuantificó el número de lesiones activas en las pencas jóvenes con síntomas de *Alternaria* sp. (Tabla 2), el monitoreo en el invernáculo se realizará cada 24 horas durante 12 días, en cada uno de los 10 esquejes por cada unidad experimental. Por cada cama se evaluó 40 esquejes, esto nos da un total de 160 pencas jóvenes de pitahaya amarilla. En este estudio se propone una caracterización cualitativa de acuerdo a un rango de lesiones considerando los datos

recolectados como se detalla en Tabla 2. Para la incidencia se calculó el porcentaje de incidencia del patógeno por tratamiento, tomada de Agrios (2005) se utilizó la siguiente formula: I= (A/B) *100.

Tabla 2. Descripción de variables de severidad e incidencia

Variables	Detalles	Formula
Incidencia	0= penca sin presencia de patógeno 1=penca con presencia de patógeno	I= (A/B) *100
Severidad	Cuantificación de lesiones activas: Baja: 1-20 Media: 21-40 Alta: 41-80 Rango de tamaño de lesión: 0.1 - 1.2 mm	S=Suma de síntomas de 0-12 días

Nota aclaratoria: I representa la incidencia, A representa el número de individuos afectados y B representa el número total de plantas. Fuente: elaboración propia

Comparación de costos para producción de *Trichoderma* sp. en medio sólido y líquido

Se tomó registro de los costos de los materiales y equipos utilizados en la producción de *Trichoderma* sp. por fermentación en medio sólido y líquido. Para determinar el costo de producción de *Trichoderma* sp. líquido y sólido en cultivos de pitahaya amarilla, se realizaron varios cálculos basados en datos proporcionados. Primero, se sumaron los costos individuales de los materiales involucrados para calcular el costo total de producción de cada tipo de Trichoderma. Se consideró el volumen total producido para el *Trichoderma* sp. líquido y sólido. Los costos de producción por litro se obtuvieron dividiendo el costo total de producción por la cantidad de producto producido. Estos cálculos permitieron comparar la eficiencia económica del *Trichoderma* sp. líquido y sólido en la producción.

RESULTADOS

Para la variable de incidencia de *Alternaria* sp. se representa por el porcentaje de incidencia para cada unidad experimental. El Welch ANOVA realizado sobre los datos transformados mostró con un valor p de 0.02316, indicando diferencias significativas entre los tratamientos. Posteriormente, se realizó el Test de Dunn para comparaciones múltiples utilizando el método de Bonferroni. Los resultados del Test de Dunn mostraron que no hay diferencias significativas entre los tratamientos T1, T2 y T3, ya que los valores p ajustados fueron superiores a 0.05. Sin embargo, el tratamiento T4 mostró tendencias de diferencias con los otros tratamientos, aunque no fueron suficientemente significativas después del ajuste de Bonferroni (p-ajustado > 0.05). Estos resultados sugieren que la transformación logarítmica mejoró la homogeneidad y la normalidad de los datos Anexo A, pero las diferencias entre la mayoría de los tratamientos no fueron estadísticamente significativas.

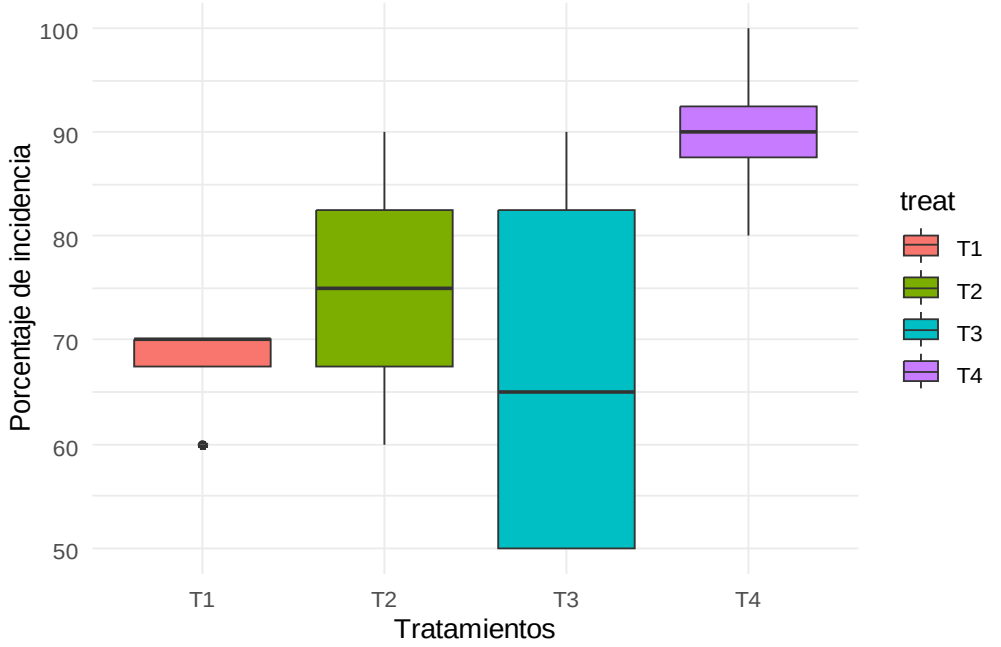


Figura 2. Porcentaje de incidencia en pencas de pitahaya amarilla por tratamientos.
Fuente: elaboración propia.

En la Figura 2 se observa la representación de los valores de las medias donde se nos indica como se distribuyen los valores de incidencia en los cuatro tratamientos. Se

menciona la existencia en el T1 de un valor atípico que sale del promedio de valores, pero no representa significancia.

Tabla 3. Porcentaje de incidencia y cuantificación de lesiones activas para severidad

Tratamientos	Incidencia	Severidad
Comparación	P-Ajustado	
T1 vs T2	1.000	0.706
T1 vs T3	1.000	1.000
T2 vs T3	1.000	1.000
T1 vs T4	0.069	0.000
T2 vs T4	0.419	0.000
T3 vs T4	0.134	0.000
ESM	0.080	0.132
P-valor		
Tratamiento	0.0232	0.00008
Bloque	1.000	0.947

Nota aclaratoria: ESM significado Error Estándar de la Media. Fuente: elaboración propia

En el análisis realizado se obtuvo un resultado significativo con el Welch ANOVA, el cual se utilizó para comparar los tratamientos aplicados a la variable transformada logarítmicamente. El resultado del Welch ANOVA mostró un estadístico F de 38.318 con grados de libertad numéricos y denominadores de 3 y 83.278 respectivamente, y un valor p extremadamente bajo (1.171e-15), indicando diferencias significativas entre los tratamientos. Posteriormente, se llevó a cabo un Test de Dunn para realizar comparaciones múltiples con ajuste Bonferroni. Este test reveló que el Tratamiento 4 (T4) presentó diferencias significativas con los otros tres tratamientos (T1, T2 y T3), con valores p ajustados menores a 0.05. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre T1, T2 y T3, ya que los valores p ajustados fueron superiores a 0.05. Estos resultados sugieren que T4 tiene un efecto significativamente diferente en la severidad logarítmica en comparación con los otros tratamientos.

La variable de severidad de Alternaria sp. da como resultado global una diferencia significativa entre el uso de tratamientos con *Trichoderma* sp. y Testigos (p-*valor* < 0.05). La Tabla 3 presenta los valores trasformados con logaritmo natural con lo cual se obtuvo la comparación entre tratamientos, indicando que solo el Testigo (T4) muestra niveles de severidad alta (41-80 lesiones activas) en comparación con los tratamientos que emplean Trichoderma sp., ya sea por fermentación líquida o sólida (0-40 lesiones activas) se considera como severidad media a baja. La figura 3 demuestra la similitud de niveles de severidad entre los tratamientos T1, T2 y T3; sin embargo, existe una menor cuantificación de síntomas en las pencas que tuvieron el tratamiento combinado con esporas y biomasa líquida de *Trichoderma* sp.

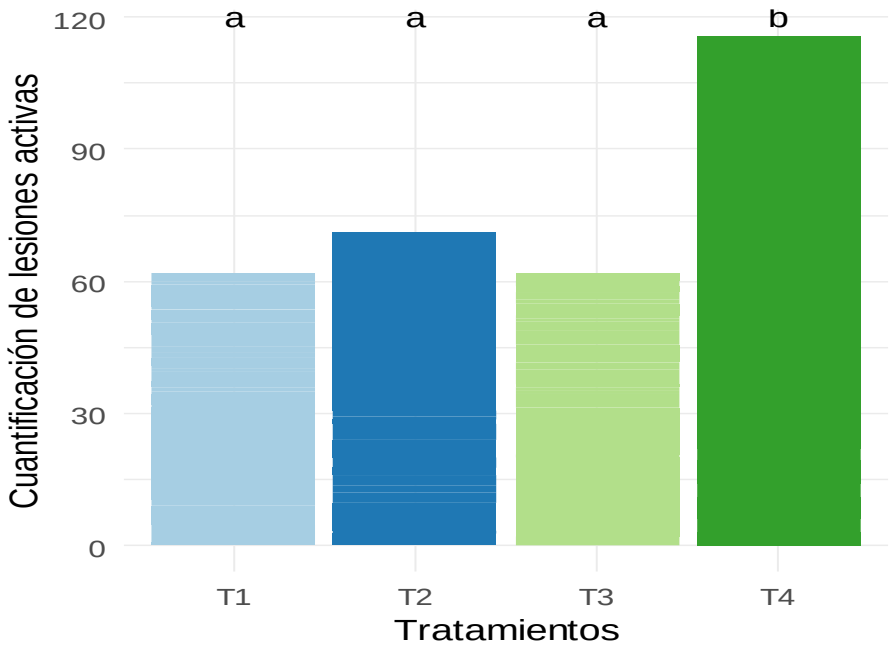


Figura 3. Niveles de severidad por cuantificación de lesiones activas de *Alternaria* sp. en pencas de pitahaya amarilla.
Fuente: elaboración propia.

En el análisis comparativo de costos de producción de *Trichoderma* líquida y sólido para cultivos de pitahaya amarilla, se encontró que el *Trichoderma* sólida es significativamente más económico que el *Trichoderma* líquida. El costo de producción por litro del *Trichoderma* líquida es de $54.16, mientras que el del *Trichoderma* sólida

es de $28.82. Estos resultados sugieren que el *Trichoderma* sólida no solo es más barato de producir, sin embargo, solo es un costo inicial para comenzar en la producción de Trichoderma sp., por lo tanto, se podría considerar el uso de ambos métodos combinados para mayor beneficio, representando una opción más rentable para los cultivadores de pitahaya amarilla Anexo C.

DISCUSIÓN

Los tratamientos con *Trichoderma* sp., tanto en su forma líquida como sólida, y su combinación, no mostraron diferencias significativas entre tratamientos por fermentación sólida y líquida para mitigar la incidencia de *Alternaria* sp. presentes en las pencas de pitahaya amarilla, sin embargo, si existe diferencia significativa en la comparación entre pencas inoculadas con tratamientos de Trichoderma sp. y pencas solo inoculadas con el patógeno Alternaría sp, por lo tanto, este resultado sugiere que, aunque los tratamientos no redujeron significativamente la incidencia, podrían tener algún efecto moderador que a pesar de no ser suficientemente fuerte para ser estadísticamente significativo genera un efecto biocontrolador comprobado en este estudio. Estudios previos han demostrado que *Trichoderma* sp. puede reducir la incidencia de enfermedades en otros cultivos, aunque los resultados pueden variar según el contexto y las condiciones específicas (Harman et al., 2004; Vinale et al., 2008). La severidad de la enfermedad mostró diferencias significativas entre los tratamientos. En particular, el tratamiento control (T4) mostró una severidad significativamente mayor en comparación con los tratamientos con *Trichoderma* sp. Tanto los tratamientos con *Trichoderma* en su forma líquida como sólida (T1, T2, y T3) mostraron valores de severidad menores y similares entre sí, lo que indica que la aplicación de *Trichoderma*, ya sea en forma de esporas o biomasa líquida, reduce efectivamente la severidad de la enfermedad. El tratamiento combinado (T3) mostró los menores valores de severidad, sugiriendo un posible efecto sinérgico entre las formas de esporas y biomasa líquida de *Trichoderma* sp. Estos hallazgos son consistentes con investigaciones anteriores que han

encontrado que *Trichoderma* sp. puede reducir la severidad de diversas enfermedades de plantas al actuar como un agente de biocontrol (Woo et al., 2014; Mukherjee et al., 2013).

Estos resultados tienen importantes implicaciones prácticas para el manejo de *Alternaria* sp. en la pitahaya amarilla. Aunque los tratamientos no redujeron significativamente la incidencia, la reducción en la severidad es crucial para el manejo de la enfermedad, ya que una menor severidad puede traducirse en menos daño a la planta y posiblemente en una mayor productividad. La aplicación preventiva de *Trichoderma* sp., especialmente en su forma combinada, podría ser una estrategia efectiva para reducir la severidad de *Alternaria* sp. en las pencas de pitahaya amarilla. La eficacia de *Trichoderma* sp. como agente de biocontrol ha sido documentada en varios estudios, indicando su potencial para ser utilizado en prácticas agrícolas sostenibles (Hermosa et al., 2012; Lorito et al., 2010).

Sería beneficioso realizar estudios adicionales con un mayor tamaño de muestra o en diversas condiciones ambientales para validar estos hallazgos y explorar más a fondo cómo *Trichoderma sp.* puede reducir la severidad de la enfermedad. Además, investigar la resistencia potencial de *Alternaria sp.* a distintos tratamientos podría proporcionar una comprensión más completa y mejorar las estrategias de manejo integrado de enfermedades. Según la literatura, la combinación de agentes de biocontrol con otras prácticas de manejo podría ser una estrategia efectiva y sostenible para el control de enfermedades de plantas (Köhl, Kolnaar, & Ravensberg, 2019).

El análisis comparativo de costos de producción de *Trichoderma* líquida y sólida para cultivos de pitahaya amarilla revela que el *Trichoderma* sólido es significativamente más económico que su contraparte líquida. Específicamente, el costo de producción por litro del *Trichoderma* líquida es de $54.16, mientras que el del *Trichoderma* sólida es de $28.82. Esta diferencia se debe a los equipos necesarios y los procesos involucrados en la fermentación líquida, que generalmente requieren condiciones más controladas y específicas para la producción a gran escala (Gangadharan & Jeyarajan, 1990; Flodman

& Noureddini, 2013). A pesar del mayor costo inicial, la producción líquida ofrece ventajas en términos de facilidad de aplicación y uniformidad del producto final, lo cual es crucial para ciertos usos agrícolas. Por otro lado, la producción sólida es más económica y utiliza sustratos comunes como el arroz, lo que simplifica su manejo y puede ser más accesible para los productores locales (Kumar, Manibhushan, & Archana, 2014; Ramanujam et al., 2010). En resumen, la elección entre bioinsumos líquidos y sólidos de *Trichoderma* sp. depende tanto de las consideraciones económicas como de las necesidades específicas del cultivo y las condiciones de aplicación (Jeyarajan, Nakkeeran, & Kumar, 2006; Singh & Nautiyal, 2012).

CONCLUSIONES

El uso de *Trichoderma* sp. manifiesta una mejora en la técnica de manejo de enfermedades en cultivos con importancia económica para el país. La utilización de microorganismos biocontroladores como *Trichoderma* sp. marca una diferencia significativa para poder tener una agricultura ecológica, aunque los resultados no muestran una diferencia en un efecto más potencial en el uso combinado de esporas y biomasa líquida si se puede utilizar como un método de manejo preventivo contra *Alternaria* sp en cultivos de pitahaya amarilla. Además, el análisis de costos de producción inicial revela que el *Trichoderma* sólido es más económico y eficiente en su aplicación comparado con el *Trichoderma* líquido. Es necesaria una mayor investigación en posibles efectos exógenos, control de dosis o formas de aplicación para llegar a tener un bioinsumo exitoso.

AGRADECIMIENTO

A la Agroecología por permitirme conocer un nuevo mundo en la investigación, en la ciencia y la vida.

CONFLICTOS DE INTERÉS

No existen conflictos de interés.

FINANCIACIÓN

Autofinanciado.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Huachi, L., Yugsi, E., Paredes, M., Daniel, C., Verdugo, K., & Santamaría, P. Desarrollo de la Pitahaya (*Cereus* sp.) en Ecuador. (2015). La Granja: Revista de Ciencias de La Vida, 22(2), 50–58. Recuperado de https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/13849

Vargas, Y., Pico, J., Díaz, A., Sotomayor, D., Burbano, A., Caicedo, C.,Viera, W. Manual técnico del cultivo de pitahaya. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. (2020). Manual N° 117 x. Joya de los Sachas, Ecuador, 39p. Recuperado de https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5551

Jiménez, J. Evaluación in vitro de aislados de *Trichoderma* sp. Sobre el crecimiento de *Alternaria* sp., en *Selenicereus* sp. (pitahaya), en la Joya de los Sachas. 2022. [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5826

Cabrera Verdesoto, C., Cabrera Verdezoto, R. P., Morán Morán, J. J., Terán Macías, J. S., Molina Triviño, H. M., Meza Bone, G. A., & Tamayo Lema, C. L. (2018). Evaluación de dos abonos orgánicos líquidos en la producción del cultivo de pitahaya (*hylocereus undatus*) en el litoral ecuatoriano. Revista de las Agrociencias. ISSN 2477-8982 (Issue 20, p. 29). Empresa Pública de Servicios Generales e Ingenieria Utm. https://doi.org/10.33936/la_tecnica.v0i20.738

Valencia, S., Paéz, D., Guevara, J. & Vilaplana, R. (2016). Hongos patógenos aislados de frutos de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) durante la poscosecha en Ecuador. Vitae, 23(Supl. 1), S810-S814. Recuperado de https://revistas.udea.edu.co/index.php/vitae/article/view/323396

Astuti, A., Muftiyatunnisa, S., & Trisnawati, D. W. (2021). Evaluation of Antagonistic Activity of *Trichoderma harzianum* Against Various Pathogenic Fungi Infecting Dragon Fruit Stem. En Proceedings of the 4th International Conference on Sustainable Innovation 2020–Technology, Engineering and Agriculture (ICoSITEA 2020). 4th International Conference on Sustainable Innovation 2020–Technology, Engineering and Agriculture (ICoSITEA 2020). Atlantis Press. https://doi.org/10.2991/aer.k.210204.040

Pavón, M., Martín de Santos, I. & García, T. (2012). Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y [jb]. nutricion hospitalaria, 6, 1772–1781. https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.6.6017

Matas, M., Urías, C., Pérez, S., Flores, M., Escobedo, C., Magallanes, M., & Sánchez, E. (2022). Morphological and molecular characterization of a new autochthonous *Trichoderma* sp. isolate and its biocontrol efficacy against Alternaria sp. En Saudi Journal of Biological Sciences (Vol. 29, Issue 4, pp. 2620–2625). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.12.052

Mesa, A.., Álvarez, J., & Peña, C. (2019). Revisión sobre el género *Trichoderma* y sus múltiples beneficios en el control biológico de enfermedades en cultivos. Actualidades Biológicas, 41(111), 32-44. http://dx.doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02

Nahir Basso, C., Sosa, M. C., & Lutz, M. C. (2022). Infecciones tempranas de *botrytis cinerea* y *Alternaria* spp. y su relación con pudriciones de postcosecha en pera d´anjou. En Chilean journal of agricultural & animal sciences (Vol. 38, Issue 3, pp. 234–240). Universidad de Concepcion. https://doi.org/10.29393/chjaa38-30jubf10030

García, R., Durán, M. A., & Riera, R. (2006). Producción de biomasa de *Trichoderma* harzianum por fermentación líquida. Fitosanidad, 10(4), 295-298. Recuperado de http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209116183008

Agamez Ramos, Elkin Yabid, Zapata Navarro, Raúl Ignácio, Oviedo Zumaqué, Luis Eliécer, & Barrera Violeth, José Luis. (2008). Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma* sp. Revista Colombiana de Biotecnología, 10(2), 23-34. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752008000200004&lng=en&tlng=es.

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species — opportunistic, avirulent plant symbionts. En Nature Reviews Microbiology (Vol. 2, Issue 1, pp. 43–56). Springer Science and Business Media LLC. https://doi.org/10.1038/nrmicro797

Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., & Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. En Microbiology (Vol. 158, Issue 1, pp. 17–25). Microbiology Society. https://doi.org/10.1099/mic.0.052274-0

Köhl, J., Kolnaar, R., & Ravensberg, W. J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: Relevance beyond efficacy. *Frontiers in Plant Science*, 10, 845. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845

Lorito, M., Woo, S. L., Harman, G. E., & Monte, E. (2010). Translational Research on *Trichoderma*: From 'Omics to the Field. En Annual Review of Phytopathology (Vol. 48, Issue 1, pp. 395–417). Annual Reviews. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114314

Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Herrera-Estrella, A., Schmoll, M., & Kenerley, C. M. (2013). *Trichoderma* Research in the Genome Era. En Annual Review of Phytopathology (Vol. 51, Issue 1, pp. 105–129). Annual Reviews. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102353

Sharma, S., Kour, D., Rana, K. L., Dhiman, A., Thakur, S., Thakur, P., Thakur, S., Thakur, N., Sudheer, S., Yadav, N., Yadav, A. N., Rastegari, A. A., & Singh, K. (2019). *Trichoderma*: Biodiversity, Ecological Significances, and Industrial Applications. En Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi (pp. 85–120). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-10480-1_3

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Barbetti, M. J., Li, H., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. En Physiological and Molecular Plant Pathology (Vol. 72, Issues 1–3, pp. 80–86). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2008.05.005

Woo, S. L., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Lanzuise, S., Manganiello, G., & Lorito, M. (2014). *Trichoderma*-based Products and their Widespread Use in Agriculture. En

The Open Mycology Journal (Vol. 8, Issue 1, pp. 71–126). Bentham Science Publishers Ltd. https://doi.org/10.2174/1874437001408010071

Gangadharan, K., & Jeyarajan, R. (1990). Mass multiplication of Trichoderma spp. Journal of Biological Control, 4, 70-71. Recuperado de http://informaticsjournals.com/index.php/jbc/article/download/15346/13124

Flodman, H. R., & Noureddini, H. (2013). Effects of intermittent mechanical mixing on solid-state fermentation of wet corn distillers grain with Trichoderma reesei. En Biochemical Engineering Journal (Vol. 81, pp. 24–28). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.09.011

Jeyarajan, R., Nakkeeran, S., & Kumar, S. (2006). Prospects of indigenous mass production and formulation of Trichoderma. In Rabindra, R. J., & Ramanujam, B. (Eds.), Current status of biological control of plant diseases using antagonistic organisms in India (pp. 74-80). Bangalore: Project Directorate of Biological Control. Recuperado de https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20063184976

Kumar, S., Manibhushan, T., & Archana, R. (2014). Trichoderma: mass production, formulation, quality control, delivery and its scope in commercialization in India for the management of plant diseases. African Journal of Agricultural Research, 9(53), 3838-3852. Recuperado de https://academicjournals.org/journal/AJAR/article-full-text-pdf/CC4D79D50124

Ramanujam, B., Prasad, R. D., Sriram, S., & Rangeswaran, R. (2010). Mass production, formulation, quality control and delivery of Trichoderma for plant disease management. Journal of Plant Protection Sciences, 2(2), 1-8. Recuperado de http://www.aappbckv.org/journal/abs.php?id=42

Singh, P. C., & Nautiyal, C. S. (2012). A novel method to prepare concentrated conidial biomass formulation ofTrichoderma harzianumfor seed application. En Journal of Applied Microbiology (Vol. 113, Issue 6, pp. 1442–1450). Oxford University Press (OUP). https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05426.x

RStudio Team. (2024). *RStudio: Integrated Development Environment for R* (Version 2024.04.2) [Computer software]. RStudio, PBC. https://www.rstudio.com/

Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology* (5th ed.). Academic Press. ISBN 978-0120445653. DOI: 10.1016/B978-0120445653/50000-0.m

Hernández, A., Bautista, S., Velázquez-del Valle, M., & Hernández, A. (2007). Uso de Microorganismos Antagonistas en el Control de Enfermedades Postcosecha en Frutos. *Revista mexicana de fitopatología*, *25*(1), 66-74. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092007000100009&lng=es&tlng=es.

ANEXOS

ANEXO A: Script de Test de normalidad y homogeneidad para incidencia de Alternaria sp.

```
> #INCIDENCIA DE PITAHAYA
> #Test de normalidad
> shapiro.test(INCIDENCIA$INC)

        Shapiro-Wilk normality test

data:  INCIDENCIA$INC
W = 0.93927, p-value = 0.3401

> #Test de homogeneidad
> with(INCIDENCIA, leveneTest(INC,treat))
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
      Df F value   Pr(>F)
group  3       6 0.009731 **
      12
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1
```

ANEXO B: Tabla de valores individuales de materiales para producción. A: fermentación líquida. B: fermentación sólida.

A

DESCRIPCIÓN/RUBRO	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO UNITARIO ($)	COSTO TOTAL ($)
Levadura	paquete (190 gr)	1	3	$ 3,00
Azúcar	kilogramo	1	1.30	$ 1,30
Papa	libra	1	1.25	$ 1,25
Agar	paquete (200 gr)	1	7	$ 7,00
Melaza	litro	1	0.50	$ 0,50
Frascos de vidrio de 1L	unidad	12	0.69	$ 8,30
Papel aluminio	rollo	1	0.90	$ 0,90
Algodón	funda	1	0.80	$ 0,80
Asa de siembra	unidad	1	5	$ 5,00
Mechero de alcohol	unidad	1	7,68	$ 7,68
Cinta de pH	caja	1	7	$ 7,00
Cajas Petri	unidad	4	1.00	$ 4,00
Oxigenador de	unidad	6	10.00	$ 60,00
Alcohol	litro	2	3,5	$ 7,00
			TOTAL	$ 113,73

B

DESCRIPCIÓN/ RUBRO	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO UNITARIO ($)	COSTO TOTAL ($)
Amoxicilina	unidad	2	0.25	$ 0,50
Azúcar	kilogramo	1	1.30	$ 1,30
Papa	libra	1	1.25	$ 1,25
Agar	paquete (200 gr)	1	7	$ 7,00
Melaza	litro	1	0.50	$ 0,50
Arrocillo	libra	3	0.50	$ 1,50
Papel toalla	rollo	1	3.00	$ 3,00
Bandeja plastica	unidad	1	2.00	$ 2,00
Cajas petri	unidad	5	1	$ 5,00
Fundas plásticas trasparentes	rollo	1	1.50	$ 1,50
Mechero de alcohol	unidad	1	7,68	$ 7,68
Asa de siembra	unidad	1	5	$ 5,00
Alcohol 90°	litro	2	3,5	$ 7,00
			TOTAL	$ 43,23

ANEXO C: Tabla con valores de cálculo de costo de producción inicial y aplicación de *Trichoderma* líquida y sólida.

Costos de producción obtenidos

	Valor	Unidad
Trichoderma líquido	113,73	4200 ml
Trichoderma sólido	43,23	3000 ml

Costos de producción por litro

	Valor	Unidad
Trichoderma líquido	54,16	1000 ml
Trichoderma sólido	28,82	1000 ml

ANEXO D: Script de Test de normalidad y homogeneidad para variable severidad de *Alternaria* sp.

```
> shapiro.test(SEVERIDAD2$SEV12)

        Shapiro-Wilk normality test

data:  SEVERIDAD2$SEV12
W = 0.66885, p-value < 2.2e-16

> # Realizar el Test de Levene para homogeneidad de varianzas
> # Levene's Test requiere que el paquete 'car' esté instalado
> leveneTest(SEV12 ~ Tratamiento, data = SEVERIDAD2)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
       Df F value Pr(>F)
group   3  0.9266 0.4295
      156
```