



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA INGENIERIA FORESTAL

**SENSIBILIDAD *in vitro* DE SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* A
FUNGICIDAS Y A BIOPRODUCTOS DE DIFERENTE MODO DE
ACCIÓN**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA FORESTAL

AUTORA:

CINDY MARIBEL MIRANDA BENITES

Riobamba – Ecuador

2023



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA INGENIERIA FORESTAL

**SENSIBILIDAD *in vitro* DE SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* A
FUNGICIDAS Y A BIOPRODUCTOS DE DIFERENTE MODO DE
ACCIÓN**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA FORESTAL

AUTORA: CINDY MARIBEL MIRANDA BENITES

DIRECTOR: Dr. PABLO ISRAEL ÁLVAREZ ROMERO

Riobamba – Ecuador

2023

© 2023, **Cindy Maribel Miranda Benites**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, CINDY MARIBEL MIRANDA BENITES, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

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

Riobamba, 06 de diciembre de 2023.



Cindy Maribel Miranda Benites

0931053912

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA INGENIERIA FORESTAL

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación, **SENSIBILIDAD *in vitro* DE SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* A FUNGICIDAS Y A BIOPRODUCTOS DE DIFERENTE MODO DE ACCIÓN**, realizado por la señorita: **CINDY MARIBEL MIRANDA BENITES**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

FIRMA

FECHA

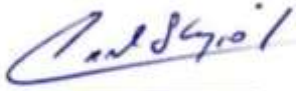
Dra. Rosa del Pilar Castro Gómez
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL


2023-12-06

Dr. Pablo Israel Álvarez Romero.
**DIRECTOR DEL TRABAJO DE
INTEGRACIÓN CURRICULAR**


2023-12-06

Ing. Carlos Francisco Carpio Coba MSc.
**ASESOR DEL TRABAJO DE
INTEGRACIÓN CURRICULAR**


2023-12-06

DEDICATORIA

En primer lugar, quiero agradecer a Dios que es el motivo por el cual existo. Le dedico el resultado de este trabajo a toda mi familia. Principalmente, a mis padres que me apoyaron y contuvieron los momentos malos y en los menos malos. Gracias por enseñarme a afrontar las dificultades sin perder nunca la cabeza ni morir en el intento. A mi amada madre Lupita Benites mi heroína de capa larga, quien con su fortaleza, sabiduría y amor incondicional me ha guiado en cada paso de mi vida. y mi padre Gustavo Miranda por su sacrificio grande por confiar en mí y darme la oportunidad de estudiar muy lejos de casa enseñarme a la distancia a nunca rendirme ante los obstáculos de la vida. Me han enseñado a ser la persona que soy hoy, mis principios, mis valores, mi perseverancia y mi empeño. Todo esto con una enorme dosis de amor y sin pedir nada a cambio. También quiero dedicarle este trabajo a mi hermana Diana Orrala por su apoyo emocional y económico, por su comprensión, por su empeño, por su fuerza, por su amor, porque la quiero. Debo pedirle perdón porque ha sufrido el impacto directo de ser la primera hija la cual le toco ser más fuerte. Realmente, ella me ayuda a alcanzar el equilibrio que me permite dar todo mi potencial. Nunca dejaré de estar agradecido por esto, a mi hermana menor María José Miranda por darme el último empujón que me faltaba para terminar el proyecto ya que soy su ejemplo a seguir. Y a mi querido José Eduardo Paredes gracias por ser mi confidente y mi mejor amigo. y siempre sacarme una sonrisa con tus ocurrencias en mis momentos más oscuros. Por último y no menos importante a mi amada gata Chichita que me espera en casa. y finalmente aquellos que pensaron que no lo lograría, dedico esta tesis.

Maribel

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi gratitud a mi director de tesis Dr. Pablo Israel Álvarez Romero cuya guía y sabiduría han sido fundamentales en cada etapa de esta investigación. Sus consejos y comentarios han enriquecido significativamente mi trabajo. Además, quiero expresar mi profundo agradecimiento a mi asesor de tesis Ing. Carlos Francisco Carpio Coba por su paciencia, dedicación y el tiempo que ha invertido en brindarme asesoría. Ha sido más que un maestro; ha sido un amigo en quien siempre pude confiar. Su disposición constante para ayudar a quienes necesitan ha marcado una gran diferencia en mi experiencia. Gracias por las risas compartidas, por la amistad genuina y ayudarme a superar los obstáculos presentados durante mi etapa universitaria, tanto académicos como personales. Me llevo conmigo los mejores recuerdos de alguien que fue mi maestro y mi amigo. Su influencia ha sido invaluable para mí. Quiero reconocer a mi instructor de laboratorio, Ing. Álvaro Rivera cuya orientación experta y paciencia han sido fundamentales en la realización de este trabajo y por los consejos que se me han impartido, los llevaré grabados para siempre en la memoria en mi futuro profesional y por aconsejarme no solo en el ámbito académico sino en el ámbito personal. Agradezco al equipo de laboratorio de Fitopatología por crear un ambiente estimulante y colaborativo donde pude aprender y crecer como profesional. A mis queridos profesores forestales que ayudaron durante toda mi formación académica, Ing. Vilma Noboa, Ing. Eduardo Salazar, Ing. Víctor Espinoza, Ing. Miguel Guallpa, Ing. Norma Lara y demás docentes que me los llevaré para siempre en mi corazón Dr. Rosa Castro, Ing Patricia Tierra, Ing. Hernán Chamorro, Ing. Daniel Román, Ing. Eduardo Muñoz. Cada uno de ustedes ha dejado una huella en mi camino.

Maribel

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|--|-------|
| ÍNDICE DE TABLAS..... | xi |
| ÍNDICE DE ILUSTRACIONES..... | xiv |
| ÍNDICE DE ANEXOS | xv |
| RESUMEN..... | xvii |
| ABSTRACT | xviii |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| CAPÍTULO I..... | 2 |
| 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN | 2 |
| 1.1 Planteamiento del problema | 2 |
| 1.2 Objetivos..... | 2 |
| 1.3 Justificación..... | 3 |
| 1.4 Hipótesis..... | 3 |
| CAPÍTULO II | 5 |
| 2. MARCO TEÓRICO | 5 |
| 2.1 Pino | 5 |
| 2.1.1 <i>Taxonomía</i> | 5 |
| 2.1.2 <i>Descripción general de Pino</i> | 5 |
| 2.2 <i>Pinus radiata</i> | 6 |
| 2.2.1 <i>Descripción botánica</i> | 6 |
| 2.3 <i>Pinus patula</i> | 6 |
| 2.3.1 <i>Descripción botánica</i> | 7 |
| 2.4 El Pino en el ámbito económico en el Ecuador | 7 |
| 2.5 <i>Fusarium circinatum</i> | 9 |
| 2.5.1 <i>Taxonomía</i> | 9 |
| 2.5.2 <i>Descripción</i> | 9 |
| 2.5.3 <i>Síntomas</i> | 11 |
| 2.5.4 <i>Interacción Fusarium spp. – planta</i> | 11 |

| | | |
|---------------------------|--|----|
| 2.5.5 | <i>Fusarium circinatum</i> en vivero | 12 |
| 2.6 | Fungicidas | 13 |
| 2.6.1 | <i>Clasificación de los fungicidas</i> | 13 |
| 2.6.2 | <i>Clasificación de los fungicidas de acuerdo con los modos de acción según el comité de acción para la resistencia de fungicidas (FRAC)</i> | 14 |
| 2.6.3 | <i>Fungicidas utilizados</i> | 21 |
| 2.7 | Sensibilidad <i>in vitro</i> | 25 |
| 2.7.1 | <i>In vitro</i> | 25 |
| 2.7.2 | <i>Sensibilidad in vitro de Fusarium circinatum</i> | 25 |
| 2.8 | Estudio de sensibilidad de fungicidas | 26 |
| 2.8.1 | <i>Resistencia cruzada</i> | 26 |
| 2.8.2 | <i>Sensibilidad y Resistencia a Fungicidas</i> | 26 |
| 2.9 | Concentración Letal | 27 |
| CAPÍTULO III | | 28 |
| 3. | Marco metodológico | 28 |
| 3.1 | Características del lugar | 28 |
| 3.1.1 | <i>Localización</i> | 28 |
| 3.1.2 | <i>Ubicación geográfica</i> | 28 |
| 3.2 | Materiales y equipos | 29 |
| 3.2.1 | <i>Oficina</i> | 29 |
| 3.2.2 | <i>Laboratorio</i> | 29 |
| 3.3 | Principios activos utilizados | 31 |
| 3.4 | Metodología de la investigación | 32 |
| 3.4.1 | <i>Operacionalización de las variables</i> | 32 |
| 3.4.2 | <i>Diseño experimental</i> | 33 |
| 3.4.3 | <i>Cálculos para determinar las concentraciones de los productos de fungicidas y bioproductos</i> | 34 |
| 3.5 | Fase de laboratorio | 35 |
| 3.5.1 | <i>Reactivación de cepas</i> | 35 |

| | | |
|--------------------------|---|----|
| 3.5.2 | <i>Enmendado del medio cultivo</i> | 36 |
| 3.5.3 | <i>Preparación de la solución stock</i> | 36 |
| 3.5.4 | <i>Crecimiento micelial</i> | 36 |
| 3.5.5 | <i>Variables evaluadas</i> | 37 |
| CAPÍTULO IV | | 39 |
| 4. | MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS | 39 |
| 4.1 | Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial | 39 |
| 4.1.1 | <i>Tasa de crecimiento micelial de Fusarium circinatum en PDA enmendado con diferentes dosis de Pyraclostrobin.</i> | 39 |
| 4.1.2 | <i>Tasa de crecimiento micelial de Fusarium circinatum en PDA enmendado con diferentes dosis de Metil tiofanato.</i> | 40 |
| 4.1.3 | <i>Tasa de crecimiento micelial de Fusarium circinatum en PDA enmendado con diferentes dosis de Tebuconazol</i> | 41 |
| 4.1.4 | <i>Tasa de crecimiento micelial de Fusarium circinatum en PDA enmendado con diferentes dosis de Boscalid.</i> | 43 |
| 4.1.5 | <i>Tasa de crecimiento micelial de Fusarium circinatum en PDA enmendado con diferentes dosis de extracto de tomillo</i> | 44 |
| 4.1.6 | <i>Tasa de crecimiento micelial de Fusarium circinatum en PDA enmendado con diferentes dosis de extracto de té</i> | 45 |
| 4.2 | Inhibición de crecimiento micelial | 46 |
| 4.2.1 | <i>Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de Pyraclostrobin</i> | 46 |
| 4.2.2 | <i>Test de Tukey para la variable Dosis del fungicida Pyraclostrobin</i> | 47 |
| 4.2.3 | <i>Test de Tukey para la variable Cepas del fungicida Pyraclostrobin</i> | 47 |
| 4.2.4 | <i>Test de Tukey para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Pyraclostrobin</i> | 48 |
| 4.2.5 | <i>Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de Metil tiofanato</i> | 49 |
| 4.2.6 | <i>Test de Tukey para la variable Dosis del fungicida Metil tiofanato</i> | 49 |
| 4.2.7 | <i>Test de Tukey para la variable Cepas del fungicida Metil tiofanato</i> | 50 |
| 4.2.8 | <i>Test de Tukey para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Metil tiofanato</i> | 50 |
| 4.2.9 | <i>Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de Tebuconazol</i> | 51 |

| | | |
|-------------------------|---|----|
| 4.2.10 | <i>Test de Tukey para la variable Dosis del fungicida Tebuconazol</i> | 52 |
| 4.2.11 | <i>Test de Tukey para la variable Cepas del fungicida Tebuconazol</i> | 52 |
| 4.2.12 | <i>Test de Tukey para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Tebuconazol</i> | 53 |
| 4.2.13 | <i>Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de Boscalid</i> | 54 |
| 4.2.14 | <i>Test de Tukey para la variable Dosis del fungicida Boscalid</i> | 54 |
| 4.2.15 | <i>Test de Tukey para la variable Cepas del fungicida Boscalid</i> | 54 |
| 4.2.16 | <i>Test de Tukey para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Boscalid</i> | 55 |
| 4.2.17 | <i>Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de extracto de tomillo</i> | 56 |
| 4.2.18 | <i>Test de Tukey para la variable Dosis del fungicida extracto de tomillo</i> | 57 |
| 4.2.19 | <i>Test de Tukey para la variable Cepas del fungicida extracto de tomillo</i> | 57 |
| 4.2.20 | <i>Test de Tukey para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida extracto de tomillo</i> | 58 |
| 4.2.21 | <i>Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de extracto de té</i> | 59 |
| 4.2.22 | <i>Test de Tukey para la variable Dosis del fungicida extracto de té</i> | 59 |
| 4.2.23 | <i>Test de Tukey para la variable Cepas del fungicida extracto de té</i> | 59 |
| 4.2.24 | <i>Test de Tukey para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida extracto de té</i> | 60 |
| 4.3 | CL₅₀ de los aislados de <i>Fusarium circinatum</i> enmendados con los diferentes fungicidas | 61 |
| 4.4 | Discusión de resultados | 65 |
| CAPÍTULO V | | 69 |
| 5. | CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 69 |
| 5.1 | CONCLUSIONES | 69 |
| 5.2 | RECOMENDACIONES | 70 |
| GLOSARIO | | |
| BIBLIOGRAFÍA | | |
| ANEXOS | | |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 2-1: Clasificación taxonómica de <i>Pinus</i> spp. | 5 |
| Tabla 2-2: Taxonómica de <i>Fusarium circinatum</i> | 9 |
| Tabla 2-3: Clasificación de los fungicidas de acuerdo con su modo de acción (MdA) | 14 |
| Tabla 2-4: Clasificación de los fungicidas de acuerdo con su modo de acción y grupo químico | 15 |
| Tabla 2-5: Fungicidas utilizados en el presente estudio..... | 21 |
| Tabla 3-1: Información de los aislados de <i>F. circinatum</i> utilizados en el presente estudio..... | 31 |
| Tabla 3-2: Listado de ingredientes activos y nombres comerciales que fueron utilizados. | 31 |
| Tabla 3-3: Escala de sensibilidad propuesta por Liu (2020)..... | 37 |
| Tabla 4-1: Porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de <i>F. circinatum</i> en PDA enmendado con diferentes dosis de Pyraclostrobin..... | 39 |
| Tabla 4-2: Porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de <i>F. circinatum</i> en PDA con diferentes dosis de Metil tiofanato | 40 |
| Tabla 4-3: Porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de <i>F. circinatum</i> en PDA enmendado con diferentes dosis de Tebuconazol. | 42 |
| Tabla 4-4: Porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de <i>F. circinatum</i> en PDA enmendado con diferentes dosis de Boscalid..... | 43 |
| Tabla 4-5: Porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de <i>F. circinatum</i> en PDA enmendado con diferentes dosis de extracto de tomillo..... | 44 |
| Tabla 4-6: Porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de <i>F. circinatum</i> en PDA enmendado con diferentes dosis de extracto de té. | 46 |
| Tabla 4-7: Análisis de Varianza para la inhibición del crecimiento micelial de <i>F. circinatum</i> en medio enmendado con Pyraclostrobin | 46 |
| Tabla 4-8: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes dosis del fungicida Pyraclostrobin | 47 |
| Tabla 4-9: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes cepas del fungicida Pyraclostrobin..... | 47 |
| Tabla 4-10: Prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Pyraclostrobin | 48 |
| Tabla 4-11: Análisis de Varianza para la inhibición del crecimiento micelial de <i>F. circinatum</i> en medio enmendado con Metil tiofanato. | 49 |

| | |
|--|----|
| Tabla 4-12: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes dosis del fungicida Metil tiofanato | 49 |
| Tabla 4-13: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes cepas del fungicida Metil tiofanato | 50 |
| Tabla 4-14: Prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Metil tiofanato | 50 |
| Tabla 4-15: Análisis de Varianza para la inhibición del crecimiento micelial de <i>F. circinatum</i> en medio enmendado con Tebuconazol | 51 |
| Tabla 4-16: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes dosis del fungicida Tebuconazol | 52 |
| Tabla 4-17: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes cepas del fungicida Tebuconazol..... | 52 |
| Tabla 4-18: Prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Tebuconazol | 53 |
| Tabla 4-19: Análisis de Varianza para la inhibición del crecimiento micelial de <i>F. circinatum</i> en medio enmendado con Boscalid..... | 54 |
| Tabla 4-20: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes dosis del fungicida Boscalid..... | 54 |
| Tabla 4-21: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes cepas del fungicida Boscalid | 55 |
| Tabla 4-22: Prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Boscalid..... | 55 |
| Tabla 4-23: Análisis de Varianza para la inhibición del crecimiento micelial de <i>F. circinatum</i> en medio enmendado con extracto de tomillo | 56 |
| Tabla 4-24: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes dosis del fungicida extracto de tomillo | 57 |
| Tabla 4-25: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes cepas del fungicida extracto de tomillo | 57 |
| Tabla 4-26: Prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida extracto de tomillo | 58 |
| Tabla 4-27: Análisis de Varianza para la inhibición del crecimiento micelial de <i>F. circinatum</i> en medio enmendado con extracto de té..... | 59 |
| Tabla 4-28: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes dosis del fungicida extracto de té | 59 |
| Tabla 4-29: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes cepas del fungicida extracto de té..... | 60 |
| Tabla 4-30: Prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida extracto de té | 60 |
| Tabla 4-31: CL ₅₀ de los aislados de <i>Fusarium circinatum</i> enmendados con los diferentes fungicidas | 61 |

| | |
|--|----|
| Tabla 4-32: CL ₅₀ de cada cepa y fenotipo detectados para Pyraclostrobin..... | 62 |
| Tabla 4-33: CL ₅₀ de cada cepa y fenotipo detectados para Metil tiofanato | 62 |
| Tabla 4-34: CL ₅₀ de cada cepa y fenotipo detectados para Tebuconazol | 62 |
| Tabla 4-35: CL ₅₀ de cada cepa y fenotipo detectados para Boscalid | 63 |
| Tabla 4-36: CL ₅₀ de cada cepa y fenotipo detectados para extracto de tomillo..... | 63 |
| Tabla 4-37: CL ₅₀ de cada cepa y fenotipo detectados para extracto de té..... | 64 |

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

| | |
|---|----|
| Ilustración 3-1: Ubicación del laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales - ESPOCH..... | 28 |
| Ilustración 4-1: TCM de <i>F. circinatum</i> en medio PDA enmendado con Pyraclostrobin en diferentes dosis..... | 39 |
| Ilustración 4-2: TCM de <i>F. circinatum</i> en medio PDA enmendado con Metil tiofanto en diferentes dosis..... | 40 |
| Ilustración 4-3: TCM de <i>F. circinatum</i> en medio PDA enmendado con Tebuconazol en diferentes dosis..... | 42 |
| Ilustración 4-4: TCM de <i>F. circinatum</i> en medio PDA enmendado con Boscalid en diferentes dosis. | 43 |
| Ilustración 4-5: TCM de <i>F. circinatum</i> en medio PDA enmendado con extracto de tomillo en diferentes dosis..... | 44 |
| Ilustración 4-6: TCM de <i>F. circinatum</i> en medio PDA enmendado con extracto de té en diferentes dosis..... | 45 |

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: CRECIMIENTO DE LAS SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* EN LAS CAJAS PETRI ENMENDADO CON PYRACLOSTROBIN

ANEXO B: CRECIMIENTO DE LAS SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* EN LAS CAJAS PETRI ENMENDADO CON METIL TIOFANATO

ANEXO C: CRECIMIENTO DE LAS SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* EN LAS CAJAS PETRI ENMENDADO CON TEBUCONAZOL

ANEXO D: CRECIMIENTO DE LAS SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* EN LAS CAJAS PETRI ENMENDADO CON BOSCALID

ANEXO E: CRECIMIENTO DE LAS SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* EN LAS CAJAS PETRI ENMENDADO CON EXTRACTO DE TOMILLO

ANEXO F: CRECIMIENTO DE LAS SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* EN LAS CAJAS PETRI ENMENDADO CON EXTRACTO DE TÉ

ANEXO G: PREPARACIÓN DEL MEDIO PDA POTATO DEXTROSE AGAR

ANEXO H: PRODUCTOS DE FUNGICIDAS UTILIZADOS

ANEXO I: PREPARACION DE LA SOLUCION STOCK

ANEXO J: METODOLOGÍA *in vitro*

ANEXO K: SENSIBILIDAD *in vitro*

ANEXO L: GRAFICAS DE PORCENTAJE DE INHIBICIÓN PARA FACTOR A Y FACTOR B DE PYRACLOSTROBIN

ANEXO M: GRAFICAS DE PORCENTAJE DE INHIBICIÓN PARA FACTOR A Y FACTOR B DE METIL TIOFANATO

ANEXO N: GRAFICAS DE PORCENTAJE DE INHIBICIÓN PARA FACTOR A Y FACTOR B DE BOSCALID

ANEXO O: GRAFICAS DE PORCENTAJE DE INHIBICIÓN PARA FACTOR A Y FACTOR B DE TEBUCONAZOL

ANEXO P: GRAFICAS DE PORCENTAJE DE INHIBICIÓN PARA FACTOR A Y FACTOR B DE EXTRACTO DE TOMILLO

ANEXO Q: GRAFICAS DE PORCENTAJE DE INHIBICIÓN PARA FACTOR A Y FACTOR B DE EXTRACTO DE ÀRBOL DE TÈ

**ANEXO R: TABLA RESUMEN DEL FACTOR INTERACCIÓN DOSIS:CEPA DE LOS
DIFERENTES PRODUCTOS UTILIZADOS**

RESUMEN

El incremento de enfermedades en plantas causadas por fitopatógenos ha sido preámbulo para que se busque maneras de controlarlas, *Fusarium circinatum* es un patógeno de las especies de *Pinus* spp produciendo cancro y *damping-off*. Este estudio tuvo como objetivo determinar la sensibilidad *in vitro* de *Fusarium circinatum* asociado a muerte de plántulas de *Pinus radiata* y *Pinus patula* en vivero a fungicidas y bioproductos de diferente modo de acción. Se estableció la tasa de crecimiento micelial y la concentración letal 50 (CL₅₀) para los principios activos: Pyraclostrobin, Metil tiofanato, Boscalid y Tebuconazol y para los bioproductos de extracto de tomillo y árbol de té, los cuales utilizados en dosis de 0; 0,1 ;1 ;10 y 100 ppm. Se realizó la medición de crecimiento micelial de *Fusarium circinatum* cada 24 h, hasta que el ensayo testigo complete su crecimiento en toda la caja Petri. Acto seguido se utilizó un diseño completo al azar bifactorial con tres repeticiones utilizando por cada repetición cajas Petri y la interpretación fue realizada mediante gráficos de caja y bigote (box-plot). Los resultados demostraron que *Fusarium circinatum* resultó muy sensible según la escala de Liu ante Tebuconazol y Pyraclostrobin como principio activo ya que generó el mayor efecto inhibitorio en el crecimiento micelial con la concentración 1 ppm en comparación a los demás productos utilizados en este estudio, además que alcanzó la menor concentración letal 50 (CL₅₀) con un promedio de 0,0024 mg/L con el aislado FC1P y FC3R de *Fusarium circinatum*. Por lo que se recomienda el uso de Tebuconazol y Pyraclostrobin en vivero resultando una alternativa conveniente para el control de *Fusarium circinatum* asimismo, realizar estudios de sensibilidad diferentes a los principios activos de este estudio para el control de hongos causantes de enfermedades en especies forestales.

Palabras clave: <*Fusarium circinatum*> <CANCRO RESINOSO> <SENSIBILIDAD *in vitro*> <CRECIMIENTO MICELIAL> <CONCENTRACIÓN LETAL 50>.

2276-DBRA-UPT-2023




ABSTRACT

The increase in plant diseases caused by phytopathogens has been a preamble to seeking ways to control them. *Fusarium circinatum* is a pathogen of *Pinus* spp. species, producing canker and damping-off. This study aimed to determine the *in vitro* sensitivity of *Fusarium circinatum* associated with the death of *Pinus radiata* and *Pinus patula* seedlings in the nursery to fungicides and bioproducts with different modes of action. The mycelial growth rate and lethal concentration 50 (LC₅₀) were established for the active ingredients: Pyraclostrobin, Methyl thiophanate, Boscalid, and Tebuconazole and for the bioproducts of thyme and tea tree extract, which were used in doses of 0; 0.1; 1; 10 and 100 ppm. The mycelial growth measurement of *Fusarium circinatum* was carried out every 24 hours until the control test completed its growth in the entire Petri dish. Next, a bifactor complete randomized design was used with three repetitions using Petri dishes for each repetition, and the interpretation was carried out using box-and-whisker plots (box-plot). The results showed that *Fusarium circinatum* was very sensitive according to Liu's scale to Tebuconazole and Pyraclostrobin as the active ingredient since it generated the most significant inhibitory effect on mycelial growth with the one ppm concentration compared to the other products used in this study, in addition, that reached the lowest lethal concentration 50 (LC₅₀) with an average of 0.0024 mg/L with the isolate FC I P and FC3R of *Fusarium circinatum*. Therefore, using Tebuconazole and Pyraclostrobin in the nursery is recommended, resulting in a convenient alternative for controlling *Fusarium circinatum*. Likewise, different sensitivity studies must be carried out to the study's active ingredients to control fungi that cause diseases in forest species.

Keywords: <*Fusarium circinatum*> <RESIN CANCER> <SENSITIVITY in vitro>
<MYCELIAL GROWTH> <LETAL CONCENTRATION 50>.

Riobamba, January 2nd, 2024



Ph.D. Dennys Tenelanda López
ID number: 0603342189

INTRODUCCIÓN

Fusarium circinatum es un hongo específico de pino causante de enfermedades a nivel de vivero y de campo. En campo la enfermedad se denomina chancro resinoso. A nivel de vivero causa la enfermedad denominada *damping-off*. Hasta el 2021 no existían reportes oficiales en el Ecuador de dicho patógeno (Tixi, 2022, p.24). En este estudio y debido a la importancia de este patógeno en el sector forestal y particularmente para el pino, se hicieron estudios de sensibilidad *in vitro*, para validar diferentes productos con el afán de tener alternativas para el manejo sostenible de *Fusarium circinatum* en pino en el Ecuador

Los problemas de *F. circinatum* en pino se pueden reflejar tanto en vivero donde puede existir pérdida total de las plántulas, o a nivel de campo en donde las plantas que están enfermas y luego se trasplantan en el campo tienen una probabilidad reducida de sobrevivir y pueden convertirse en puntos de origen o fuentes de inóculo (Campbell., et al. 1990, p.28).

Es notoria la insuficiente disponibilidad de información acerca de esta patología de pino que afecta profundamente el ciclo inicial de vida de los pinos. Esto es especialmente relevante considerando que en el Ecuador hay vastas extensiones de tierra reforestadas con esta especie, principalmente debido a su alta demanda en el mercado (Cibrián & García, 2008, p.6).

Por otro lado, los principales productos fitosanitarios disponibles en el mercado ecuatoriano están registrados para especies agrícolas y no existen productos registrados o validados para el control de *F. circinatum* en pino, entonces no se posee información para especies forestales, por lo que el presente trabajo aporta con información relevante para el manejo integrado de enfermedades en el área forestal.

Ante esta situación, se propuso abordar esta problemática de *F. circinatum* en pino a través de una investigación orientada a validar un método de control eficaz frente a la pérdida de plántulas a nivel de vivero. Este enfoque involucró la implementación de experimentos *in vitro* usando seis cepas distintas de *F. circinatum* obtenidas tanto de *Pinus radiata* como de *P. patula*, con seis diferentes productos de diferente modo de acción, las cuales fueron Tiofanato metil, Pyraclostrobin, Tebuconazol, Boscalid, extracto de té y extracto de tomillo

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

El incremento de enfermedades en plantas causadas por fitopatógenos ha sido preámbulo para que se busque maneras de controlarlas. *Fusarium circinatum* es un patógeno de las especies de *Pinus* spp. produciendo cancro y *damping-off*, la problemática del presente estudio se centró en determinar una opción de control *in vitro* de *Fusarium circinatum* siendo un agente causal de pérdidas económicas a nivel de vivero y en plantaciones forestales.

En la actualidad no se dispone de información relacionada sobre la sensibilidad *in vitro* de cepas de *Fusarium circinatum* a fungicidas de diferente modo de acción y a bioproductos, lo que imposibilita la integración de estas dos formas en el manejo integrado de enfermedades en especies forestales y en particular de *F. circinatum* en pino.

A nivel de vivero *Fusarium circinatum* se reporta como el principal agente patogénico fungoso causante de *damping-off* en pino y empresas productoras de pino en el Ecuador debido a la falta de información se ven con problemas para enfrentar este patógeno.

1.2 Objetivos

Objetivo General

Analizar la sensibilidad *in vitro* de seis cepas de *Fusarium circinatum* a fungicidas y a bioproductos de diferente modo de acción.

Objetivos Específicos

- Determinar la tasa de crecimiento micelial de seis cepas de *Fusarium circinatum* en medios de cultivo enmendados con fungicidas y bioproductos de diferente modo de acción.
- Calcular la concentración letal 50 (CL₅₀) de fungicidas y bioproductos de diferentes modos de acción a seis cepas de *Fusarium circinatum*.

1.3 Justificación

El cancro resinoso del pino es una enfermedad provocada por el hongo del Phylum Ascomycota *Fusarium circinatum*. Este patógeno tiene un impacto especialmente en especies pertenecientes al género *Pinus* (Nirenberg & Donnell, 1998, p.4). Las especies de *Fusarium* son las principales causantes del damping-off en los viveros, lo que resulta en una disminución en la calidad de las plantas y conlleva a pérdidas que pueden alcanzar hasta el 40% en la producción (Cibrián & García, 2008, p.6).

Considerando las problemáticas asociadas a la producción de plántulas en los viveros, este estudio reúne una amplia gama de información esencial que puede respaldar decisiones eficaces para contrarrestar las pérdidas que podrían afectar a los nuevos individuos destinados a futuras plantaciones forestales, específicamente en los casos de *Pinus radiata* y *P. patula*. La meta principal es mitigar las posibles pérdidas económicas que podrían recaer sobre las empresas forestales.

Para alcanzar este objetivo, se propuso investigar la sensibilidad *in vitro* de *Fusarium* spp. a fungicidas con diversos modos de acción. Esto conllevó a la exploración de alternativas viables para el control de la enfermedad y, en última instancia, a identificar la mejor opción en términos del manejo de este patógeno en el entorno de los viveros. A través de este análisis, se busca no solamente proteger la salud de las plántulas, sino también optimizar el aspecto económico para las empresas forestales al reducir las posibles pérdidas que podrían surgir de los ataques de *Fusarium circinatum*.

Mediante los resultados obtenidos, se buscó proponer enfoques de manejo alternativos con el objetivo de prevenir pérdidas de consideración. Este estudio tuvo como fin proporcionar pautas valiosas para la protección y cuidado de estas especies forestales, minimizando los impactos negativos de la enfermedad y garantizando así un futuro más saludable y productivo para la industria forestal.

1.4 Hipótesis

Nula

Ninguno de los fungicidas y bioproductos presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial de las cepas de *Fusarium circinatum* evaluadas.

Alterna

Al menos uno de fungicidas y bioproductos presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial de las cepas de *Fusarium circinatum*.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Pino

2.1.1 Taxonomía

Tabla 2-1: Clasificación taxonómica de *Pinus* spp.

| TAXONOMÍA | |
|---------------------|---|
| Reino | Plantae |
| División | Pinophyta |
| Clase | Pinopsida |
| Orden | Pinales |
| Familia | Pinaceae |
| Género | <i>Pinus</i> |
| Especie | <i>Pinus patula</i> y <i>P. radiata</i> |
| Nombre Común | Pino |

Fuente: D. Don, 1836

2.1.2 Descripción general de Pino

El pino es una especie maderable que se emplea en una variedad de usos. Su madera es utilizada en construcciones de gran importancia, siendo apta como material estructural para edificaciones y para la carpintería arquitectónica. Además, encuentra uso en construcciones ligeras, en la fabricación de embarcaciones y en la carpintería interior. También es valorada en ebanistería para la creación de paneles, pasamanos, barandas, molduras, postes y mangos para herramientas (Rodríguez, 2019, p.16).

El pino es un árbol que puede alcanzar una altura de hasta 60 m y un diámetro de 100 cm a la altura del pecho (DAP). Se caracteriza por tener un tronco cónico y recto, con una corteza interna de tonos café y crema a rosáceos, que segrega resina. Sus hojas tienen una forma acicular y crecen en grupos de tres. En cada grupo de hojas, se encuentran 12 flores masculinas con estambres en disposición peltada. Por otro lado, las flores femeninas se localizan en conos o estróbilos (Ecuador forestal, 2010, p.1).

Las semillas de pino son consideradas ortodoxas, lo que significa que pueden ser almacenadas durante varios años manteniendo un contenido de humedad del 8% y almacenadas a una temperatura de 4°C. Para mejorar la germinación de estas semillas, es común dejarlas en inmersión de agua durante un período de 24 h. Aproximadamente, en 1 kg de semillas de pino se pueden encontrar alrededor de 22000 unidades. El proceso de germinación de estas semillas se inicia alrededor del noveno día y llega a su culminación aproximadamente en el día vigésimo (Salazar et al., 2001, p.29).

Los frutos del pino se presentan en la forma de piñas que crecen en agrupaciones de hasta 4 o 5 unidades, con una apariencia que recuerda a una corona. Estos frutos carecen de un pedúnculo notable y parecen estar adheridos a la rama. En su base, se nota una marcada asimetría, ya que las escamas en el lado opuesto a la rama son más prominentes. Estas piñas pueden permanecer en el árbol durante varios años sin abrirse, manteniendo esta característica durante un período de tiempo prolongado (Galán, 2007, p.1).

2.2 *Pinus radiata*

2.2.1 *Descripción botánica*

Este árbol tiene una altura que puede variar entre 13 y 33 m, con un diámetro normal que oscila de 30 a 60 cm. Presenta una copa densa, estrecha y redondeada. La corteza es áspera y hundida, con escamas de tonalidad café oscuro. Las ramas son robustas y se extienden, con un brillo característico cuando son jóvenes. Las hojas crecen en grupos de tres o incluso en grupos de dos en ciertos conjuntos. Los amentos, que son estructuras florales, son de color amarillento y los conos, que son las estructuras que contienen las semillas, tienen una forma amplia y ovoide. Estos conos son asimétricos y resistentes, y permanecen cerrados durante varios años (Martínez, 1948, p.366).

El pino fue introducido en Ecuador en 1905 y la primera plantación a gran escala tuvo lugar en el páramo del volcán Cotopaxi. Su uso se extendió de manera más amplia a partir de 1960, convirtiéndose en la segunda especie forestal más cultivada en la región andina, después del eucalipto (Minga, et al., 2016, p.61). En Ecuador, esta especie se encuentra ampliamente distribuida en la mayoría de la Cordillera de los Andes (Vinueza, 2013, pag.5).

2.3 *Pinus patula*

2.3.1 Descripción botánica

Se trata de un árbol que exhibe un tronco directo y cilíndrico. Su altura puede variar de 20 a 40 m y su diámetro abarca desde 40 hasta 150 cm. Posee una copa con forma cónica y su corteza, ubicada en la parte superior del tronco y en las ramas, es papirácea, escamosa y de tonalidad rojiza (Vinueza, 2013, párr.3).

Sus hojas se presentan en agrupaciones de tres, ocasionalmente cuatro y en raras ocasiones cinco, en ciertos fascículos. Estas hojas son aciculares, delgadas y cuelgan verticalmente. Tienen un color verde claro brillante y bordes finamente aserrados. Las flores crecen en inflorescencias, y las flores femeninas son particularmente llamativas debido a su color amarillo cremoso o anaranjado. Sus frutos se asemejan a conos largamente cónicos, miden entre 7 y 9 centímetros, y en algunas instancias llegan a medir hasta 12 cm. Estos frutos son sésiles, ligeramente curvados y puntiagudos, generalmente agrupados de tres a seis, conteniendo semillas con alas (Vinueza, 2013, párr.5).

Esta especie muestra una notable adaptación a las condiciones de los bosques húmedos y muy húmedos de montaña en niveles bajos (bh-MB) (Vinueza, 2013, párr.6).

2.4 El Pino en el ámbito económico en el Ecuador

El pino juega un papel significativo en la economía ecuatoriana debido a su amplio rango de aplicaciones y a la demanda tanto a nivel nacional como internacional.

Carrión en el año 2011 p. 7 expone que, en Ecuador, el país tiene un total de 9.599.678,7 hectáreas de bosques. Esta extensión forestal representa alrededor del 34,7% de la superficie total del país. De ese gran porcentaje, aproximadamente el 98,5% corresponde a bosques naturales, lo que significa que son áreas de bosque que han crecido y se han desarrollado de manera natural en el entorno. Por otro lado, el restante 1,5% se dedica a plantaciones comerciales gestionadas por razones económicas. Esto destaca la importancia de conservar y gestionar adecuadamente los valiosos bosques naturales del país.

Algunos aspectos que destacan su importancia económica en Ecuador son:

Industria Maderera: La madera de pino se utiliza en diversos sectores de la industria maderera, como la construcción, carpintería, fabricación de muebles, embarcaciones y otros productos de

madera. Esta industria genera empleo y contribuye a la cadena de valor en el país (Salvarria, 2023, p. 20).

Exportaciones: Ecuador exporta productos de madera, como tableros y madera aserrada, principalmente a mercados internacionales. El pino es una de las especies más cultivadas y cosechadas para estas exportaciones, lo que genera ingresos para el país (Salvarria, 2023, p. 20).

Generación de Ingresos: La comercialización de productos de pino, tanto a nivel local como internacional, contribuye a la generación de ingresos tanto para los productores como para el Estado, a través de impuestos y aranceles (Salvarria, 2023, p. 20).

Sector Forestal: La plantación y manejo de pino crea empleos directos e indirectos en el sector forestal, incluyendo actividades de siembra, cuidado de cultivos, cosecha y procesamiento de madera (Mendiola, 2016, p. 9 párr.5).

Desarrollo Rural: La producción de pino puede ser una fuente importante de ingresos para comunidades rurales y pequeños propietarios de tierras, contribuyendo al desarrollo económico local (Mendiola, 2016, p. 9 párr.9).

Sostenibilidad: La producción de pino puede ser gestionada de manera sostenible, contribuyendo a la conservación de los recursos naturales y al mismo tiempo satisfaciendo las demandas de la industria (Mendiola, 2016, p.11).

Inversiones y Tecnología: La inversión en plantaciones de pino y tecnologías de cultivo y procesamiento pueden impulsar la modernización del sector forestal y promover el desarrollo de capacidades técnicas (Mendiola, 2016, p.11, párr.1).

Mercados Internacionales: La demanda de productos de pino en mercados extranjeros proporciona una oportunidad para diversificar las exportaciones y fortalecer la posición de Ecuador en el comercio internacional (Mendiola, 2016, p.11, párr.3).

En la región de la sierra ecuatoriana, el cultivo de pino ha experimentado un notable crecimiento, especialmente en la parte norte de la provincia de Cotopaxi. Esta especie maderable demuestra una alta adaptabilidad a las condiciones climáticas y edáficas presentes en esta provincia (Hofstede et al., 1998, p.76).

La compañía Aglomerados Cotopaxi S.A. se dedica principalmente al cultivo de pino, con enfoque en las especies *Pinus patula* y *P. radiata*. A partir de estas plantaciones, se obtiene una amplia gama de tableros que gozan de una alta demanda tanto a nivel nacional como internacional. Esta empresa ha logrado destacar en el sector por la calidad de sus productos, lo que les permite mantener un posicionamiento favorable en los mercados nacionales e internacionales (Toapanta et al., 2014, p.94).

2.5 *Fusarium circinatum*

2.5.1 Taxonomía

Tabla 2-2: Taxonómica de *Fusarium circinatum*.

| TAXONOMÍA | |
|------------------|-------------------|
| Reino | Fungi |
| Sub-reino | Diario |
| Filo | Ascomycota |
| Sub-filo | Pezizomycotina |
| Clase | Sordariomycetes |
| Sub-clase | Hypocreomycetidae |
| Orden | Hypocreales |
| Familia | Nectriaceae |
| Género | <i>Fusarium</i> |

Fuente: Britz Et Al., 1991

2.5.2 Descripción

El hongo *Fusarium circinatum* y su papel como agente causante de una enfermedad altamente virulenta que afecta a los árboles coníferos. Lo que lo hace particularmente dañino es su habilidad para infectar estos árboles a través de múltiples vías. En primer lugar, el hongo puede infectar directamente a los árboles a través de vías como heridas. Además, *Fusarium circinatum* también puede propagarse de manera indirecta a través de factores como el viento y el agua. Esto implica que las esporas del hongo pueden ser transportadas por el aire o el agua a áreas donde los árboles aún no están infectados, lo que amplía la propagación de la enfermedad (Romeralo, Carmen, et al., 2018, p. 356).

Se ha observado que tanto las semillas como las piñas pueden ser afectadas por este patógeno, lo que constituye una vía de dispersión del mismo (Flores, 2017, p. 23).

Dentro de los síntomas típicos y características de esta enfermedad:

- Cambios en la coloración de las acículas: Se menciona que esta enfermedad provoca cambios en la coloración de las hojas en forma de agujas de los árboles. Estos cambios pueden incluir tonos que van desde el amarillo hasta el rojo. Este es un síntoma visible de la enfermedad (Aegerter et al., 2003, p. 13; D. Bezos et al., 2017, p. 282).
- Caída de las acículas (puntisecado): Además de afectar el color, la enfermedad también puede llevar a la caída de las hojas en forma de agujas (Aegerter et al., 2003, p. 13; D. Bezos et al., 2017, p. 282).
- Desarrollo de lesiones exudantes de resina en el tronco central: En la parte central del tronco de los árboles infectados, se forman heridas o lesiones que liberan resina. Estas lesiones son visibles y dan lugar al nombre común de "chancro resinoso" (Aegerter et al., 2003, p. 13; D. Bezos et al., 2017, p. 282).
- Síntomas en ramas primarias y secundarias: La enfermedad también afecta las ramas principales y secundarias de los árboles, aunque es menos común que se manifieste en las ramas más pequeñas, conocidas como ramas terciarias (Aegerter et al., 2003, p. 13; D. Bezos et al., 2017, p. 282).

Esta enfermedad tiene un amplio impacto en las coníferas, ya que se ha observado en numerosas especies. En la actualidad, se considera como una enfermedad forestal de importancia debido a que su control se vuelve complicado debido a las variaciones ambientales y climáticas. Estas condiciones pueden favorecer la dispersión de la enfermedad, lo que agrega una capa de desafío a su manejo (Flores, 2017, p.17).

Esta enfermedad se considera como la más significativa a nivel global en las coníferas, incluyendo tanto a las especies silvestres como a las comerciales. Es importante destacar que no existe un tratamiento curativo eficiente disponible para esta patología, por lo que los enfoques y esfuerzos se centran en estrategias preventivas para su manejo (Flores, 2017, p.19).

2.5.3 *Síntomas*

Los síntomas de esta enfermedad son más perceptibles en las acículas jóvenes, aunque también pueden manifestarse en las acículas maduras. Estos síntomas se manifiestan a través de un cambio de color en las acículas, que en primera instancia suele ser amarillo y posteriormente puede tornarse grisáceo o marrón, e incluso una combinación de ambos colores. Es importante señalar que la especie *Pinus radiata* es aquella que presenta una sintomatología más evidente en relación con esta enfermedad (Dvorak, 2007, p.128).

Cada uno de los huéspedes de este hongo patógeno presenta peculiaridades en la presentación de los síntomas de la infección. A pesar de esto, es posible establecer ciertas características generales que simplifican su identificación visual (Gordon & Wingfield, 2015, p.32).

La infección comienza en una rama que tiende a decaer, lo que da lugar a un estrechamiento y una especie de herida conocida como chancro o cáncer en esa región. El crecimiento del chancro puede ser en ambas direcciones, tanto en sentido distal como proximal. Mayormente, este crecimiento tiende a extenderse hacia la parte superior del árbol, lo que resulta en la muerte de ramas en la copa. Sin embargo, también se ha documentado que la afectación puede propagarse hacia la base del tronco (Flores, 2017, p.23).

2.5.4 *Interacción Fusarium spp. – planta*

Los hongos del género *Fusarium* son responsables de enfermedades que se caracterizan por ocasionar marchitez, tizones y pudriciones en cultivos tanto ornamentales como forestales, en entornos agrícolas y naturales (Villa et al., 2015, párr.4). Al igual que otros fitopatógenos, este hongo despliega diversas estrategias de infección. La especificidad del huésped varía según cada especie de *Fusarium* spp. El hongo puede sobrevivir en el suelo en forma de micelio o en forma de esporas en ausencia de sus anfitriones. Cuando una planta hospedera se encuentra en las cercanías, la infección puede iniciar en las raíces, en partes de la planta que están por encima del suelo, a través del aire o incluso mediante el agua (Villa et al., 2015, párr.4).

Para que la infección sea exitosa, la interacción entre el hongo y la planta sigue un proceso que implica la activación de diferentes conjuntos de genes. Este proceso abarca la señalización temprana por parte del hospedero, la adhesión del hongo a la superficie de la planta, la ruptura enzimática de barreras físicas, la contraprestación de compuestos antifúngicos producidos por la planta, así como la liberación de micotoxinas que causan la inactivación y muerte de las células huésped (Agrios, 2005, p.44).

2.5.5 *Fusarium circinatum* en vivero

En el caso de las infecciones en el pino Oregón, se distinguen por la muerte progresiva de las partes apicales de la planta, sin la emisión excesiva de resina que suele observarse en el género *Pinus*. Además, es posible que se desarrolle tejido calloso en las áreas afectadas por la infección (SAG, 2006, p.1).

Los síntomas que exhiben las plantas en vivero afectadas por *Fusarium circinatum* no difieren significativamente de aquellas que fallecen debido a la pudrición de las raíces causada por hongos presentes en el suelo. En este caso, se observa un marchitamiento progresivo de la planta, lo que finalmente desemboca en su fallecimiento (SAG, 2006, p. 2).

Tiene un impacto tanto antes como después de que las plantas emerjan, y provoca el estrechamiento de los tallos y el deterioro de las raíces en plantas en desarrollo en viveros forestales (García, Silvia E., et al., 2017, p. 896).

En los viveros se realiza una fase importante en el proceso de producción de plantas, que debe garantizar la calidad y sanidad de los árboles, previa a su plantación (Solano y Brenes, 2012, p.63).

La Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) estableció un ambicioso plan de restauración que abarca un período de cinco años, desde 2013 hasta 2018. Este plan implicaba la reforestación de un millón de hectáreas y la plantación de un total de 180 millones de árboles en diversos tipos de ecosistemas, que incluyen áreas de clima templado-frío, tropical y árido-semiárido (CONAFOR, 2015). A pesar de estos esfuerzos loables, los viveros se enfrentan a un importante desafío fitosanitario. Esta amenaza se manifiesta en una enfermedad que se conoce con varios nombres, como el complejo *Damping-off*, mal del semillero, secadera de la planta, mal del talluelo, ahogamiento y pudrición de raíces. Este problema puede tener un impacto significativo en la salud y el crecimiento de las plantas que se producen en los viveros (García, Silvia E., et al., 2017, p. 897).

Se presenta en pre-emergencia, donde el hongo daña al embrión antes de germinar y hay necrosis de hipocótilo y cotiledones, o en postemergencia, cuando el hongo causa estrangulamiento del tallo, a nivel del suelo, y muerte de la planta. El daño tardío se manifiesta durante el desarrollo de la planta, principalmente cuando el tallo aún no está lignificado, causa pudrición de raíz y doblamiento de la plántula, se manifiesta como un color rojizo en las acículas y en raíz presenta un color café (Peterson, 2008, p. 123; Solano y Brenes, 2012, p. 65).

2.6 Fungicidas

Los compuestos fungicidas son responsables de la eliminación y la prevención del crecimiento de hongos y sus esporas. Estos agentes se emplean para controlar la acción de hongos que resultan dañinos para las plantas, incluyendo enfermedades como las royas y el mildiú, así como para combatir plagas fungosas. Además, estos compuestos pueden ser utilizados para gestionar la proliferación de moho y hongos en otros entornos. Los mecanismos de acción de estos compuestos varían, pero en su mayoría afectan las membranas celulares de los hongos o interrumpen la producción de energía en el interior de las células fúngicas (National Pesticide Information Center, 2019, párr.1).

2.6.1 Clasificación de los fungicidas

2.6.1.1 Fungicidas translaminares

Los fungicidas translaminares se caracterizan por su modo de movimiento, que es opuesto al de los fungicidas sistémicos. Estos fungicidas pueden moverse de una parte específica de una hoja a otra (FRAC, 2019: pp.3-5). Para lograr rendimientos óptimos en los cultivos, es esencial aplicar estas sustancias en plantas bien cubiertas (FRAC, 2019: pp.3-5). Estos fungicidas actúan al inhibir el crecimiento y la producción de esporas de los patógenos fúngicos, y al igual que algunos fungicidas protectores, pueden ser eliminados por la lluvia (Bhale et al., 2013: p. 797-801).

A partir de la información presentada, es posible llegar a la conclusión de que la actividad terapéutica de los fungicidas translaminares es restringida, por lo general operando en un lapso de 24 a 72 h desde el inicio de la infección. Además, estos fungicidas tienden a perder efectividad una vez que los síntomas de la enfermedad comienzan a manifestarse (Almacellas y Marín 2013, p. 33).

2.6.1.2 Fungicidas sistémicos

Son aquellos que se absorben dentro de la planta. Esto significa que, cuando se aplica a la planta, la planta los toma y los distribuye a través de sus hojas y raíces. La ventaja de esto es que estos fungicidas pueden llegar a todas las partes de la planta, incluyendo aquellas que no están directamente expuestas al tratamiento (McGrath, 2014, p. 5).

Los fungicidas sistémicos tienen impacto en diversas fases del ciclo de vida de los hongos (FRAC, 2019: pp. 3-5). No obstante, exhiben variados niveles de acción o movimiento en el sistema vegetal,

como desplazamiento, acción en el xilema, migración, o una acción sistémica real (Bhale et al., 2013: p. 797-801).

2.6.1.3 *Fungicidas de contacto*

También llamados fungicidas protectores, estos fungicidas se ubican en la superficie de las plantas o árboles (McGrath, 2014: p. 5). **Función Protectora:** Su función principal es crear una especie de barrera defensiva en la superficie de la planta. Esta barrera actúa como un escudo que previene que los patógenos, como hongos u otros agentes causantes de enfermedades, penetren en la planta o formen esporas en ella. Al evitar que los patógenos entren o se desarrollen, estos fungicidas ayudan a detener la propagación de enfermedades (Almacellas y Marín 2013, p.33). Con respecto al momento de la aplicación es esencial que estos fungicidas se los aplique antes de que ocurra la enfermedad, como medida preventiva, y durante el desarrollo de la planta. Además, es importante considerar las condiciones ambientales, ya que ciertas condiciones pueden favorecer la propagación de patógenos (Bhale et al., 2013: p. 797-801).

2.6.2 *Clasificación de los fungicidas de acuerdo con los modos de acción según el comité de acción para la resistencia de fungicidas (FRAC)*

Los fungicidas actúan bloqueando el crecimiento de los hongos, lo cual interfiere con los procesos celulares más esenciales (FRAC, 2019: pp. 3-5).

Tabla 2-3: Clasificación de los fungicidas de acuerdo con su modo de acción (Mda)

| Modo de acción | Descripción |
|---|---|
| A. Metabolismo de ácidos nucleicos | Dificultan la síntesis de ácidos nucleicos de ADN y ARN al reducir la producción de enzimas como la ARN polimerasa I, la adenosina deaminasa o la ADN topoisomerasa. Afectan en la división celular. |
| B. Proteínas motoras y del citoesqueleto | La tubulina (microtúbulos-citoesqueleto), es una molécula esencial para la formación y segregación de los cromosomas durante la división celular; la alteración de la tubulina perjudica los niveles posteriores de la mitosis. |
| C. Respiración | La respiración es un proceso de oxidación complejo que conserva la energía liberada durante la descomposición de las moléculas (por ejemplo, los hidratos de carbono) mediante la producción de ATP y ADP. |
| D. Síntesis de aminoácidos y proteínas | Inhibición de la biosíntesis de la metionina (gen cgs) y de la secreción de las enzimas implicadas en la transferencia de información del ARN en la síntesis de una secuencia de aminoácidos. |

| | |
|--|---|
| E. Transducción de señales | Está formado por sustancias que alteran la transducción de señales e inhiben los mecanismos metabólicos que permiten a las células adaptarse a su entorno. MAP/histidina-quinasa en la transducción de señales osmótica (OS-2, HOG1). |
| F. Transporte o síntesis de lípidos/función o integridad de la membrana | Alteran la síntesis de lípidos y la integridad de las membranas celulares. Afectan a la permeabilidad de la membrana al influir en la formación de glicolípidos. |
| G. Biosíntesis de esterol en las membranas | Inhibidor de enzimas o procesos enzimáticos en la biosíntesis de esteroides. Los esteroides están presentes en las membranas celulares de algunos hongos (ascomycetos y basidiomycetos, pero no bacterias ni oomicetos) y confieren estabilidad y control de permeabilidad. |
| H. Biosíntesis de la pared celular. | Evitan que la glucosamina se una a la quitina de la pared celular. La glucosamina es el principal componente estructural de la pared celular de los hongos; la inhibición de este componente conduce a una ruptura de la integridad de la pared celular. |
| P. Inducción de defensas en la planta huésped | |
| U. Modo de acción desconocido | |
| NC. No clasificado | |
| M. Productos químicos con actividad multi-sitio | |
| BM. Productos biológicos con múltiples modos de acción | |

Fuente: FRAC, 2019: pp. 12-18

Tabla 2-4: Clasificación de los fungicidas de acuerdo con su modo de acción y grupo químico

| MdA | Código y punto de acción | Nombre grupo | Grupo químico | Nombre común | Código FRAC |
|---|---|---|--|--|-------------|
| A: Metabolismo de ácidos nucleicos | A1: ARN polimerasa I | fungicidas PA (fenilamidas) | acilalaninas | benalaxil benalaxil-M (=kiralaxil) metalaxil metalaxil-M (=mefenoxam) | 4 |
| | A2: adenosin desaminasa | hidroxi- (2- amino-) pirimidinas | hidroxi- (2- amino-) pirimidinas | bupirimato | 8 |
| | A3: síntesis de ADN/ ARN (propuesto) | heteroaromáticos | isoxazoles | himexazo | 32 |
| B: Proteínas motoras y del citoesqueleto | B1: ensamblaje de la β -tubulina en mitosis | fungicidas MBC (Metil Benzimidazol Carbamatos) | benzimidazoles tiofanatos | tiabendazol metil tiofanato | 1 |

| | | | | | |
|---|--|---|--|------------------------|----|
| C. Respiración | B2: ensamblaje de la β -tubulina en mitosis | N-fenil carbamatos | N-fenil carbamatos | dietofencarb | 10 |
| | B3: ensamblaje de la β -tubulina en mitosis | benzamidas | toluamidas | zoxamida | 22 |
| | B4: división celular (sitio desconocido) | fenilureas | fenilureas | pencicuron | 20 |
| | B5: deslocalización de proteínas tipo espectrina | benzamidas | Piridinilmetil-benzamidas | fluopicolida | 43 |
| | B6: función de la actina/miosina/fimbrina | aryl-fenil-cetonas | Benzofenonas | metrafenona | 50 |
| | | | benzoilpiridinas | (<i>piriofenona</i>) | |
| | C2: complejo II: succinato deshidrogenasa | SDHI (Inhibidores de la Succinato deshidrogenasa) | fenil-benzamidas | flutolanil | 7 |
| | | | fenil-oxi-etil tiofeno amidas | (<i>isofetamid</i>) | |
| | | | piridinil-etilbenzamidas | fluopiram | |
| | | | Oxatin-carboxamidas | carboxina | |
| pirazol-4-carboxamidas | | | benzovindiflupyr bixafen fluxapyroxad isopirazam pentiopirad | | |
| piridincarboxamid as | | | boscalida | | |
| C3: complejo III: citocromo bc1 (ubiquinol oxidasa) en el sitio Qo (gen cit b) | fungicidas QoI (Inhibidores externos de la Quinona) | metoxi-acrilatos | azoxistrobin | 11 | |
| | | metoxi-carbamatos | piraclostrobin | | |
| | | oximino-acetatos | kresoxim-metil trifloxistrobin | | |
| | | oxazolidina-dionas | amoladona | | |
| | | dihidro-dioxazinas | fluoxastrobin | | |
| | | imidazolinonas | fenamidona | | |
| C4: complejo III: citocromo bc1 (ubiquinona reductasa) en el sitio Qi | fungicidas QiI (Inhibidores internos de la Quinona) | ciano-imidazoles | ciazofamida | 21 | |
| | | sulfamoil-triazoles | amisulbrom | | |

| | | | | | |
|---|--|---|-----------------------------|--|----|
| | C5: desacopladores de la fosforilación oxidativa | | dinitrofenil crotonatos | meptildinocap | 29 |
| | | | 2,6-dinitroanilinas | fluazinam | |
| | C7: transporte de ATP (propuesto) | tiofeno- carboxamidas | tiofeno- carboxamidas | siltiofam | 38 |
| | C8: complejo III: citocromo bc1 (ubiquinona reductasa) en el sitio Qo, subsitio de unión de estigmatelina | fungicidas QoSI (Inhibidores externos de la Quinona, unión tipo estigmatelina) | triazolopirimidila mina | ametoctradin | 45 |
| D: síntesis de aminoácidos y proteínas | D1: biosíntesis de metionina (propuesto) (gen cgs) | fungicidas AP (Anilino- Pirimidinas) | anilino- pirimidinas | ciprodinil mepanipirim pirimetanil | 9 |
| | | | | | |
| E: transducción de señales | E1: transducción de señales (mecanismo desconocido) | aza-naftalenos | ariloxiquinolinas | quinoxifen | 13 |
| | | | quinazolinonas | proquinazid | |
| | E2: MAP/Histidinaquin asa en la transducción de señales osmótica (os-2, HOG1) | fungicidas PP (fenilpirroles) | fenilpirroles | fludioxonil | 12 |
| F: transporte o síntesis de lípidos/ función o integridad de la membrana | F1: | anteriormente dicarboximidias | | | |
| | F3: peroxidación de la célula (propuesto) | fungicidas AH (Hidrocarburos Aromáticos) (clorofenoles, nitroanilinas) | hidrocarburos aromáticos | metil tolclofos | 14 |
| | | heteroaromáticos | 1,2,4-tiadiazol | etridiazol | |
| | F4: Permeabilidad de la membrana celular, ácidos grasos | carbamatos | carbamatos | propamocarb | 28 |

| | | | | |
|--|---|---|---|----|
| (propuesto) | | | | |
| F5: anteriormente fungicidas CAA | | | | |
| F6: disruptores microbianos de las membranas celulares del patógeno | microbiano (<i>Bacillus</i> sp.) | <i>Bacillus</i> sp. y los fungicidas lipopéptidos producidos | <i>Bacillus subtilis</i> syn. <i>B. amyloliquefaciens</i> * cepa QST 713 <hr/> B. <i>amyloliquefaciens</i> cepa D747 | 44 |
| F7: disrupción de la membrana celular (propuesto) | extracto vegetal | hidrocarburos terpénicos, alcoholes terpénicos y fenoles terpénicos | Extracto de <i>Melaleuca alternifolia</i> (árbol del té) <hr/> Aceites vegetales (mezclas): Eugenol, geraniol y timol | 46 |
| G1: C14- demetilasa en la biosíntesis de esteroles (erg11/cip51) | fungicidas DMI (Inhibidores de la demetilación) (SBI: Clase I) | imidazoles <hr/> triazoles | imazalil procloraz <hr/> bromuconazol ciproconazol difenoconazol epoxiconazol fenbuconazol flutriafol ipconazol metconazol miclobutanil penconazol propiconazol tebuconazol tetraconazol triadimenol triticonazol <hr/> protioconazol | 3 |
| G2: Δ 14-reductasa y | aminas (“morfolinas”) | morfolinas | fenpropimorf | 5 |

| | | | | | |
|---|---|--|-------------------------------|---|--------------|
| | $\Delta 8 \rightarrow \Delta 7$ - isomerasa en la biosíntesis de esteroides (erg24, erg2) | (SBI: Clase II) | piperidinas | fenpropidin | |
| | | | spiroketal-aminas | spiroxamina | |
| | G3: 3-ceto reductasa, desmetilación C4 (erg27) | fungicidas KRI (Inhibidores de la ceto Reductasa) (SBI: Clase III) | hidroxianilidas | fenhexamida | 17 |
| | | | Amino- pirazolinona | fenpirazamina | |
| H: biosíntesis de la pared celular | H5: celulosa sintasa | fungicidas CAA (Amidas del Ácido Carboxílico) | amidas del ácido cinámico | dimetomorf | 40 |
| | | | valinamida | bentiavalicarb | |
| | | | carbamatos | iprovalicarb valifenalato | |
| | | | amidas del ácido mandélico | mandipropamida | |
| P: inducción de defensas en la planta huésped | P1: asociado al salicilato | benzo-tiadiazol BTH | benzo-tiadiazol BTH | acibenzolar-S- metil | P 01 |
| | P4: polisacáridos elicitors | compuesto natural | polisacáridos | laminarin | P 04 |
| | P7: fosfonatos | fosfonatos | etil fosfonatos | fosetil-Al ácido fosforoso y sus sales (fosfonato potásico) | P 07 (33) |
| Modo de acción desconocido (los números U que no aparecen en la lista derivan de | Desconocido | cianoacetamidaox ima | cianoacetamidaox ima | cimoxanilo | 27 |
| | | anteriormente fosfonatos (código 33), reclasificado a P07 en 2018 | | | |
| | Desconocido | fenil-acetamida | fenil-acetamidas | ciflufenamid | U 06 |

| | | | | | |
|--|---|---|--|---|---|
| | disrupción de la membrana celular (propuesto) | guanidinas | guanidinas | dodina | U 12 |
| NC: no clasificado | Desconocido | diversos | diversos | aceites minerales, aceites orgánicos, sales inorgánicas, material de origen biológico | NC |
| M: Productos químicos con actividad multi-sitio | actividad de contacto multi-sitio | inorgánico (electrófilos) | inorgánico | cobre (diferentes sales) | M 01 |
| | | inorgánico (electrófilos) | inorgánico | azufre | M 02 |
| | | ditiocarbamatos y relacionados (electrófilos) | ditiocarbamatos y relacionados | mancozeb metiram tiram ziram | M 03 |
| | | ftalimidias (electrófilos) | ftalimidias | captan folpet | M 04 |
| | | cloronitrilos (ftalonitrilos) (mecanismo inespecífico) | cloronitrilos (ftalonitrilos) | clortalonil | M 05 |
| | | quinonas (antraquinonas) (electrófilos) | quinonas (antraquinonas) | ditianona | M 09 |
| | | BM: Productos biológicos con múltiples modos de acción | Competencia, micoparasitismo, antibiosis, enzimas líticas y resistencia inducida | Microbiano (<i>Trichoderma</i> spp.) | <i>Trichoderma</i> spp. y los metabolitos fungicidas producidos |

Trichoderma
harzianum rifai
Cepa: T22

Fuente: FRAC, 2019: pp. 12-18

2.6.3 Fungicidas utilizados

Tabla 2-5: Fungicidas utilizados en el presente estudio

| Fungicida | Modo de acción | Mecanismo de acción | Ingrediente activo |
|---|---|--|---|
| <p>Nombre común: Pyraclostrobin Nombre químico: N-[2-[1-(4-chlorophenyl)-1H-pyrazol-3yloxymethyl]phenyl}(N methoxy) carbamate</p> | <p>El fungicida Pyraclostrobin presenta efectos preventivos, curativos y erradicantes. Específicamente, Pyraclostrobin actúa como un agente protectante, curativo y translaminar. Por otro lado, Epoxiconazole ejerce una acción sistémica y de prolongada persistencia (Brunke et al., 2015: pp. 425-446).</p> | <p>El mecanismo por el cual Pyraclostrobin ejerce su efecto involucra la inhibición de la respiración mitocondrial del hongo. Esta acción conlleva a la reducción de la energía necesaria para los procesos metabólicos del hongo, finalizando en la muerte del patógeno. Por su parte, Epoxiconazole interfiere en la síntesis de ergosterol en la membrana celular del hongo. Esta interrupción provoca la acumulación de esteroides intermedios tóxicos, que a su vez incrementa la permeabilidad de la membrana y detiene el crecimiento del hongo (Brunke et al., 2015: pp. 425-446).</p> | <p>La estrobirulina posee una amplia actividad fungicida, abarcando Ascomicetos, Basidiomicetos, Deuteromicetos y Oomicetos en su control, principalmente. Su acción es múltiple, incluyendo propiedades preventivas, curativas, translaminar y local sistémicas. El mecanismo de acción se centra en la respiración mitocondrial, bloqueando la formación de ATP y obstaculizando la formación y penetración de las esporas, lo que se traduce en su función preventiva. Además, interfiere con el desarrollo del micelio en las hojas, brindando una acción curativa. Aunque su capacidad de transporte acrópeto, basípeto y por vapor es limitada, su acción translaminar es particularmente robusta (Brunke et al., 2015: pp. 425-446).</p> |
| <p>Nombre común: Tiofanato Metil. Nombre químico: Dimetil 4,4'-o-fenilenbis (3-tioalofanato)</p> | <p>El iprodione actúa como un fungicida de contacto, con efectos tanto protectores como curativos, ya que interfiere con la germinación de las esporas y el crecimiento del micelio (Kim et al., 2016: pp.254-259).</p> | <p>Su modo de acción se basa en la inhibición de la proteína kinasa, lo que perturba las señales intracelulares responsables de controlar diversas funciones celulares, entre ellas la incorporación de carbohidratos en los componentes celulares del hongo (Kim et al., 2016: pp.254-259).</p> | <p>El mecanismo de acción de este fungicida involucra la inhibición del crecimiento del micelio del hongo y la germinación de sus esporas. En la superficie de la planta, se transforma en un compuesto conocido como benzimidazol metilcarbamate, o carbendazim. Este último compuesto es absorbido más eficientemente y se transporta a través de la savia bruta de la planta, mostrando una alta efectividad en el control de los hongos patógenos. Es especialmente más eficaz que el tiofanato, otro tipo de fungicida (Kim et al., 2016: pp.254-259). Además de su acción sobre los hongos, este fungicida también muestra cierta actividad sobre los cloroplastos de las células</p> |

| | | | | |
|----------------------------------|---|---|---|--|
| | | | | vegetales y sobre la fotosíntesis, lo que mejora el color verde de las hojas. También se utiliza en la desinfección de semillas y bulbos para prevenir la propagación de enfermedades fúngicas (Kim et al.,2016: pp.254-259). |
| Nombre común: Boscalid | Nombre químico: 2-cloro-N-(4'clorobifenil-2-il)-nicotinamida | El fungicida en cuestión presenta un modo de acción sistémico-translaminar. | Su mecanismo de acción radica en la inhibición de la respiración celular de los hongos, lograda al interferir con el funcionamiento del complejo II en la mitocondria, una organela clave en el metabolismo celular. Además de esta inhibición, el fungicida también tiene la capacidad de reducir la síntesis de aminoácidos y otros compuestos celulares que se originan en el ciclo de Krebs, una serie de reacciones químicas esenciales para la generación de energía en la célula (Aguilera, 2023: p. 42-43). Esta acción se extiende a múltiples fases del ciclo biológico del hongo. Por ejemplo, la capacidad de inhibir la germinación de esporas, que son la forma inicial de propagación del hongo, resulta en la prevención de su desarrollo. Asimismo, el fungicida interrumpe el crecimiento del tubo germinativo, que es la estructura que la espora forma para penetrar en los tejidos de la planta. También tiene un efecto sobre la formación de apresorios, estructuras que permiten al hongo adherirse a la planta y facilitar la infección (Aguilera, 2023: p. 42-43). El fungicida, por tanto, influye en múltiples aspectos del ciclo vital del hongo, lo que conlleva a la detención del crecimiento micelial y, por ende, al control de la enfermedad que causa. Su naturaleza sistémica y translaminar significa que puede ser | Anilida con actividad fungicida sistémica y translaminar de efectos preventivos: inhibe la germinación de esporas, y curativos: impide el desarrollo del tubo germinativo y la formación de apresorios. En algunos hongos también tiene efectos sobre el crecimiento micelial y el desarrollo de las esporas. Aplicado sobre la superficie foliar, se absorbe y se mueve en dirección acrópeta hacia las puntas y los bordes de las hojas, el movimiento translaminar es del haz al envés de la hoja. Inhibe la enzima succinato ubiquinona reductasa, conocida como complejo citocrómico II, en la cadena de transporte de electrones en la membrana mitocondrial. El complejo citocrómico II no sólo contribuye a la producción de energía, sino que regula la formación de bloques para los aminoácidos y los lípidos. Por inhibición del complejo citocrómico II, impide el desarrollo del hongo privando a las células de su fuente de energía y elimina la formación de bloques para la síntesis de los componentes esenciales de las células. Por su modo de acción tan particular, es eficaz contra hongos resistentes a los inhibidores de los esteroides, dicarboximidias, benzimidazoles, anilino pirimidinas, fenilamidas y estrobilurinas. Sin embargo, si se usa repetida y exclusivamente puede hacer que las cepas menos sensibles desarrollen resistencias, por lo que deben seguirse las recomendaciones para evitar resistencias como la de utilizar otros fungicidas alternativos de diferentes modos de acción. |

| | | |
|-------------------------------------|---|---|
| | | absorbido por la planta y distribuido a través de sus tejidos, mejorando su eficacia en el control de los patógenos fúngicos en varias etapas de su ciclo biológico (Aguilera, 2023: p. 42-43). |
| Nombre común: Tebuconazol | Nombre químico: (RS)-1-p-clorofenil-4,4-dimetil-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil) pentan-3-ol | <p>El modo de acción de este fungicida se basa en la inhibición de la síntesis del ergosterol en el hongo parásito que afecta a la planta huésped. El ergosterol es un componente esencial de la membrana celular de los hongos, y su presencia es crucial para mantener la integridad y la función normal de la membrana. Al interferir con la síntesis del ergosterol, este fungicida provoca una serie de efectos perjudiciales en el hongo (FRAC, 2020; Klix et al., 2007; citados en Odintsova et al., 2020: p.3).</p> <p>Específicamente, al inhibir la biosíntesis del ergosterol, el fungicida conduce a la acumulación de un compuesto llamado lanosterol en la membrana celular del hongo. Esta acumulación altera la permeabilidad y la funcionalidad normal de la membrana, lo que afecta la capacidad del hongo para regular el paso de moléculas esenciales dentro y fuera de la célula. Esta disrupción en la membrana celular interfiere con procesos vitales para el hongo, incluido el transporte de nutrientes y la excreción de desechos (FRAC, 2020; Klix et al., 2007; citados en Odintsova et al., 2020: p.3). El resultado final de este proceso es la detención del crecimiento del patógeno. Al no poder sintetizar ergosterol y mantener una membrana celular funcional, el hongo es incapaz de multiplicarse y desarrollarse normalmente. Como resultado, su ciclo de vida se ve interrumpido, lo que a su vez conlleva a una reducción en la infección y daño a la planta huésped (FRAC, 2020; Klix et al., 2007; citados en Odintsova et al., 2020: p.3). En resumen, este fungicida actúa a nivel molecular, perturbando la síntesis del ergosterol y causando una desestabilización en la membrana celular del hongo, lo que finalmente detiene su crecimiento y desarrollo (FRAC,</p> <p>Es un triazol sistémico que exhibe actividades fungicidas preventivos, curativas y erradicativas. Su acción se basa en su influencia sobre el proceso de biosíntesis del ergosterol en los hongos patógenos, lo que a su vez afecta la formación de las paredes celulares del hongo (FRAC, 2020; Klix et al., 2007; citados en Odintsova et al., 2020: p.3). Los hongos necesitan ergosterol para construir y mantener la integridad de sus membranas celulares, que son esenciales para su funcionamiento y supervivencia. El mecanismo de acción del benzimidazol involucra la interferencia con la síntesis normal de ergosterol en el hongo. Al hacerlo, el fungicida interrumpe la formación adecuada de las membranas celulares, debilitando la estructura de las células fúngicas (FRAC, 2020; citados en Odintsova et al., 2020: p.4). Específicamente, el benzimidazol impide la desmetilación del C14 del lanosterol, un precursor en la síntesis del ergosterol. Esto da como resultado la acumulación de trimetilesteroles en lugar del ergosterol deseado en la membrana celular del hongo. Esta alteración en la composición lipídica de la membrana afecta negativamente su integridad y función (FRAC, 2020; Klix et al., 2007; citados en Odintsova et al., 2020: p.4). En el caso específico del tebuconazol, que es un fungicida triazol, se interrumpe un paso posterior en la síntesis de esteroides. Esta interrupción lleva a la acumulación de trimetilesteroles y otros esteroides en la membrana celular del hongo. Esta acumulación causa una disfunción en la membrana, lo que compromete su capacidad para mantener la estructura y la funcionalidad normales (FRAC, 2020; Klix et</p> |

| | | | |
|---|--|---|---|
| | | 2020; Klix et al., 2007; citados en Odintsova et al., 2020: p.3). | al., 2007; citados en Odintsova et al., 2020: p.5). En conjunto, el efecto acumulativo de estas alteraciones en la síntesis de esteroides resulta en la debilitación de la membrana celular del hongo, lo que afecta negativamente su viabilidad y capacidad para crecer y reproducirse. Como resultado, se reduce la infección fúngica en las plantas tratadas con este fungicida (FRAC, 2020; Klix et al., 2007; citados en Odintsova et al., 2020: p.5). Benzimidazol se centra en interferir con la síntesis del ergosterol y otros esteroides en los hongos patógenos. Esto afecta la integridad y la función de las membranas celulares, debilitando la estructura de las células fúngicas y reduciendo su capacidad para crecer y causar infecciones en las plantas (FRAC, 2020; Klix et al., 2007; citados en Odintsova et al., 2020: p.5). |
| Nombre común: Extracto de tomillo Nombre químico: <i>Thymus vulgaris</i> | Transporte o síntesis de lípidos/función o integridad de la membrana. Disrupción de la membrana celular (propuesto). Movilidad: Contacto. | El tomillo tiene una alta capacidad antibacteriana, utilizada para prevenir microorganismos, y esto no deja un efecto químico en el cuerpo del receptor (Preparación de extracto de tomillo como fungicida y bactericida, 2018, par. 2). La actividad iónica que poseen los extractos vegetales le permite penetrar la pared celular de los microorganismos y destruirlos sin afectar la planta (Preparación de extracto de tomillo como fungicida y bactericida, 2018, par. 12). | 8% Aceite esencial de tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>) lo cual nos garantiza un 3% de timol además de otros componentes activos propios de este aceite esencial. |
| Nombre común: Aceite de árbol de té (<i>Melaleuca alternifolia</i>) | Es un fungicida de acción multisitio. Cuando es aplicado intercalado en programas fitosanitarios ayuda a disminuir la resistencia que algunos patógenos han desarrollado a los fungicidas o bactericidas de síntesis química. MODO DE ACCIÓN: El novedoso modo de acción de TIMOREX GOLD® hace que el producto penetre y se adhiera | El mecanismo de acción del ingrediente activo de TIMOREX GOLD® es el rompimiento de la barrera permeable de las estructuras de la pared y membrana celular del hongo, acción seguida por una pérdida del control respiratorio de la células del hongo dejando libre el transporte de electrones y anulando la actividad | TIMOREX GOLD® es un fungicida natural de amplio espectro que tiene como ingrediente activo el extracto del árbol del té (<i>Melaleuca alternifolia</i>). |

cuticularmente ocasionando un efecto residual, entrando en contacto directo con las células del hongo.

de la respiración mitocondrial.

TIMOREX GOLD® es un fungicida biológico que actúa en forma preventiva y curativa, mediante la inhibición del desarrollo de la germinación de esporas, inhibición del crecimiento del micelio y lesión expansiva; inhibición en la producción de esporangios, mediante supresión y erradicación de colonias de los patógenos presentes en los frutos y hojas.

FRAC: El Comité de Acción de Resistencia a Fungicidas –FRAC- incluye el extracto de *Melaleuca alternifolia*, ingrediente activo de TIMOREX GOLD® en el grupo F7, como disruptor de la membrana y pared celular de los hongos y bacterias, lo ubica dentro del grupo de extractos de plantas, sin resistencia conocida.

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

2.7 Sensibilidad *in vitro*

2.7.1 *In vitro*

El término *in vitro* se utiliza para describir experimentos, pruebas o procesos que se llevan a cabo en un entorno controlado de laboratorio, generalmente fuera del organismo vivo o del sistema biológico al que se refieren (Pérez et al., 2019: p:2).

Por ejemplo, en el contexto de la biología, cuando se realiza un experimento *in vitro*, significa que se está realizando en un ambiente artificial, como una placa de Petri o un tubo de ensayo, en lugar de en un organismo vivo. Esto permite un control más preciso de las condiciones y variables del experimento (Pérez et al., 2019: p:2).

2.7.2 Sensibilidad *in vitro* de *Fusarium circinatum*

La sensibilidad *in vitro* se refiere a la reacción o respuesta de un organismo, generalmente un microorganismo como bacterias o hongos, cuando se expone a diferentes agentes como fármacos, productos químicos o compuestos biológicos, en un entorno de laboratorio controlado (Flores et al., 2015: p. 21).

En el contexto de esta investigación sobre *Fusarium circinatum* y su sensibilidad *in vitro* a fungicidas y bioproductos, estás evaluando cómo estas cepas de hongos reaccionan a diferentes sustancias diseñadas para controlar su crecimiento y propagación. Este enfoque ayuda a comprender qué tratamientos son más efectivos para controlar o prevenir la enfermedad que causa este hongo en los árboles de pino.

2.8 Estudio de sensibilidad de fungicidas

2.8.1 Resistencia cruzada

Es la capacidad de un organismo para resistir los efectos de un antibiótico después de haber desarrollado resistencia a otro antibiótico que sea de la misma clase o que comparta un mecanismo de acción similar. En otras palabras, cuando un organismo se vuelve resistente a un tipo de antibiótico, es posible que también muestre resistencia a otros antibióticos relacionados o que funcionen de manera similar. Esta resistencia puede hacer que sea más difícil tratar infecciones con esos antibióticos y presenta un desafío importante en la lucha contra las enfermedades infecciosas (Luna et al., 2012: pp.844-853).

El excesivo uso y la gestión inadecuada de los fungicidas pueden incrementar la probabilidad de que los patógenos fúngicos desarrollen resistencia cruzada, lo cual tiene como consecuencia un aumento en los gastos para los productores (Luna et al., 2012: pp.844-853).

Para enfrentar esta problemática, es necesario adoptar un enfoque global que englobe una gestión apropiada de los fungicidas, el fortalecimiento de la resistencia en las plantas y la implementación de prácticas agrícolas sostenibles (Fisher & Gollan, 2018: p.82).

2.8.2 Sensibilidad y Resistencia a Fungicidas

Cuando los microorganismos son expuestos a sustancias tóxicas, desarrollan estrategias defensivas como la sensibilización y la inmunidad. Similarmente, cuando se aplica un fungicida, el organismo fúngico responderá ante su acción supresora del crecimiento, logrando así el objetivo previsto. No obstante, si el hongo adquiere inmunidad, el fungicida no será eficaz para

su propósito (Maldonado, 2018: p. 19).

Se ha indicado que la resistencia a un fungicida específico suele derivar de una alteración a nivel celular que no afecta al sitio de acción del fungicida (Koller, 2000; Damicon, 2004; citados en Escudero et al., 2009, p. 4774).

Este cambio es ocasionado por un rasgo heredable, es decir, está presente en el mismo ADN, y la resistencia a los fungicidas se manifiesta a través de la alteración genética del hongo. Esto resulta en una menor sensibilidad a la molécula química, lo que disminuye la rapidez con la que el fungicida penetra en la célula del patógeno o interacciona químicamente con su molécula objetivo, incluso puede involucrar la desactivación del compuesto fúngico. Estas modificaciones a menudo están asociadas con la aparición de mutaciones genéticas que pueden surgir de manera natural o ser inducidas por factores externos, sometiendo al organismo a una presión de selección a nivel molecular (Koller, 2000; Damicon, 2004; citados en Escudero et al., 2009, p. 4774).

2.9 Concentración Letal

Estos ensayos se centran en evaluar cómo los patógenos responden cuando se les exponen a fungicidas que tienen diferentes ingredientes activos y concentraciones. Un aspecto crítico en este estudio es determinar la concentración a la cual se observa que el crecimiento del micelio del hongo se inhibe, y en este contexto, se utiliza el valor del 50% como un punto de referencia importante, lo que se conoce como la "concentración inhibidora media". Este valor representa la cantidad de fungicida necesaria para detener el crecimiento (CL_{50}) (Lovato et al., 2017: p. 71).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Características del lugar

3.1.1 Localización

Este trabajo de investigación fue realizado en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

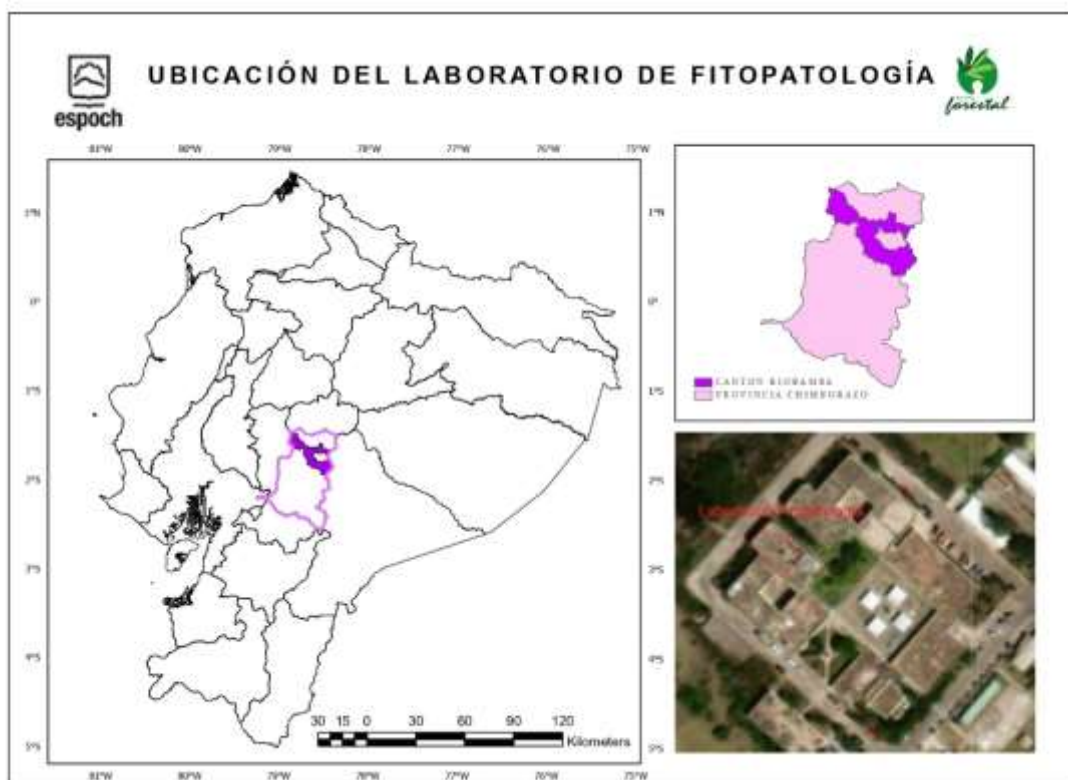


Ilustración 3-1: Ubicación del laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales - ESPOCH

3.1.2 Ubicación geográfica

Lugar: Riobamba- Chimborazo

Altitud: 2850 m. s. n. m

Coordenadas:

Longitud: 78° 40' 59'' W

Latitud: 01° 38' 51'' S

Fuente: Estación meteorológica ESPOCH, 2021

3.2 Materiales y equipos

3.2.1 Oficina

- Calculadora
- Cinta de papel.
- Computadora
- Cuaderno de apuntes
- Esfero
- Flash memory
- Impresora
- Internet
- Marcadores de doble punta para cd
- Papelería en general
- Regla
- Tijera

3.2.2 Laboratorio

3.2.2.1 Materiales

- Botellas de vidrio de tapa roscable (500 mL y 1000 mL)
- Cajas Petri de vidrio (90 mm Ø)
- Cinta masking
- Fundas plásticas transparente de polietileno (20 x 30 cm)
- Gafas
- Gradilla para puntas azules de micropipeta
- Gradilla para tubos de ensayo
- Guantes de nitrilo
- Jeringas (10 mL)
- Mascarilla
- Matraz de Erlenmeyer de 100 mL
- Micropipeta de 1000 µL

- Palillos
- Papel aluminio
- Papel film
- Papel toalla absorbente
- Probeta (500 mL)
- Puntas para micropipetas de 1000 μ L
- Sorbetes
- Tubos de ensayo de 10 mL.
- Vasos de precipitación (50 mL y 100 mL)

3.2.2.2 *Reactivos e insumos*

- Agua destilada estéril
- Alcohol al 70%
- Chloramphenicol
- Medio de cultivo Papa dextrosa agar al 3.9% (PDA Difco™)

3.2.2.3 *Equipos de laboratorio*

- Autoclave (BIOBASE BKQ-B100II)
- Balanza de precisión (RADWAG AS220.R2)
- Balanza de precisión (RADWAG AS220.R2)
- Calibrador digital (VERNIER)
- Cámara de flujo laminar (OASIS 48)
- Cámara de flujo laminar vertical (BIOBASE BSC1500IIA2-X)
- Cámara fotográfica (CANNON)
- Destilador de agua (BOECO WS 8000)
- Incubadora (J.P. SELECTA 2001249)
- Mechero de Bunsen
- Microondas (PANASONIC 900W)
- Micropipeta (Eppendorf)
- Secador de vidrio (SELECTA 200038)
- Secador de vidrio (SELECTA 200038)

3.2.2.4 Material biológico

Tabla 3-1: Información de los aislados de *F. circinatum* utilizados en el presente estudio.

| Código | Especie | Recolector | Método conservación | Año | Hospedero | Localidad |
|--------|--------------------------------|---------------|------------------------|------|--------------------------|-----------|
| FC1P | <i>Fusarium circinatum</i> | Pablo Álvarez | Castellani | 2019 | <i>Pinus patula</i> | Cotopaxi |
| FC2P | <i>Fusarium circinatum</i> | Pablo Álvarez | Castellani | 2019 | <i>Pinus patula</i> | Cotopaxi |
| FC3P | <i>Fusarium circinatum</i> | Pablo Álvarez | Castellani | 2019 | <i>Pinus patula</i> | Cotopaxi |
| FC1R | <i>Fusarium circinatum</i> | Pablo Álvarez | Castellani | 2019 | <i>Pinus radiata</i> | Cotopaxi |
| FC2R | <i>Fusarium circinatum</i> | Pablo Álvarez | Castellani | 2019 | <i>Pinus radiata</i> | Cotopaxi |
| FC3R | <i>Fusarium circinatum</i> | Pablo Álvarez | Castellani | 2019 | <i>Pinus radiata</i> | Cotopaxi |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023

- 3 aislados fúngicos de *Fusarium circinatum* de la especie *Pinus patula* con códigos: FC1P, FC2P y FC3P.
- 3 aislados fúngicos de *Fusarium circinatum* de la especie *Pinus radiata* con códigos: FC1R, FC2R y FC3R.

3.3 Principios activos utilizados

Tabla 3-2: Listado de ingredientes activos y nombres comerciales que fueron utilizados.

| Nombre comercial | Ingrediente activo | Modo de acción | Concentración del ingrediente activo |
|---------------------|---|-----------------------------|--|
| Bh.B | Extracto de tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>) | Grupo BM: Productos | 80 % |
| Timorex Gold | Aceite de árbol de té (<i>Melaleuca alternifolia</i>) | biológicos con múltiples | 223 g/L |

| | | modos de acción | | |
|--------|------------------|-------------------|--|----------|
| | | Fungicidas | | |
| TACORA | Tebuconazol | Grupo G: | Inhiben la biosíntesis de esterol en las membranas | 250 g/L |
| COMET | Pyraclostrobin | C: | Inhibe la respiración | 250 g/L |
| CANTUS | Boscalid | C: | Inhibe la respiración | 500 g/Kg |
| NOVAK | Tiofanato Metil. | Grupo B: | Inhiben las proteínas motoras y del citoesqueleto | 500 g/L |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023

3.4 Metodología de la investigación

3.4.1 Operacionalización de las variables

3.4.1.1 Variables dependientes

Sensibilidad *in vitro*

Indicadores:

Inhibición del crecimiento micelial.

Concentración letal C₅₀

3.4.1.2 Variables independientes

Fungicidas sitio- específicos: Tiofanato de metil, Pyraclostrobin, Tebuconazol y Boscalid.

Bioproductos: Extracto de té, Extracto de tomillo.

Aislados:

- 3 aislados fúngicos de *Fusarium circinatum* de la especie *Pinus patula* con códigos: FC1P, FC2P y FC3P.
- 3 aislados fúngicos de *Fusarium circinatum* de la especie *Pinus radiata* con códigos: FC1R, FC2R y FC3R.

Dosis Fungicidas: 0; 0,1; 1; 10; 100 ppm.

3.4.2 *Diseño experimental*

3.4.2.1 *Sensibilidad a fungicidas*

Se hizo un diseño experimental para cada producto:

Se utilizó un Diseño completamente al azar DCA bifactorial con tres repeticiones.

Factor A: Dosis (5)

Factor B: Cepas (6)

Numero de tratamientos: 30

Número de unidades experimentales: 90

(Fungicidas sitio- específico y Bioproductos)

-Bioproductos: extractó de árbol té y extractó de tomillo.

-Fungicidas sitio- específicos: Tiofanato metil, Pyraclostrobin, Tebuconazol, y Boscalid.

Factos A:

Se utilizaron diferentes dosis de fungicidas para conocer su efecto.

- Dosis Fungicidas: 0; 0,1; 1; 10; 100 ppm.

Factor B:

Dentro del diseño experimental se tomó en consideración 6 cepas:

- 3 aislados fúngicos de *Fusarium circinatum* de la especie *Pinus patula* con códigos: FC1P, FC2P y FC3P.
- 3 aislados fúngicos de *Fusarium circinatum* de la especie *Pinus radiata* con códigos: FC1R, FC2R y FC3R.

Se hizo un análisis de varianza (Anova) y para la separación de medias se hizo un test de Tukey al 5%. Programa informático R, interface Rstudio versión 4.2.2, library(ec50estimator): Effective control to 50% of growth inhibition (EC50). Otras Librerías: library(readxl) library(ggplot2) library(drc) library(magrittr) library(cowplot)

3.4.3 Cálculos para determinar las concentraciones de los productos de fungicidas y bioproductos

Tebuconazol 250 g/L

La preparación de la solución madre se llevó a cabo en conformidad con la concentración de los principios activos presentes en cada producto fungicida. A continuación, se detallan los cálculos efectuados:

Cálculo de Tebuconazol 250 g/L (concentración del ingrediente activo):

1000 g/L 100 %
250 g/L ? = 25%

Concentración inicial:

1% 10 000 ppm
25 % ? = 250 000 ppm

Después de obtener la concentración inicial, se procedió a calcular el volumen necesario del producto biológico para obtener una solución stock de 10 mL. Para este propósito, se utilizó la fórmula propuesta por Descroizilles (Bueno et al., 1824; citado en Dialnet, 2018, pp. 185-203):

$$C_i * V_i = C_f * V_f$$

$$V_i = \frac{C_f * V_f}{C_i}$$

$$V_i = \frac{10\,000\text{ ppm} * 10\text{ ml}}{250\,000\text{ ppm}} = 0,4\text{ ml de producto de fungicida}$$

Dónde:

C_i = Concentración inicial

V_i = Volumen inicial

Cf = Concentración final

Vf = Volumen final

Una vez determinada la cantidad de producto biológico requerida para la solución stock, se procedió a determinar la cantidad de solvente necesaria para la preparación. Para este propósito:

$$V_T = V_f + V_s$$

$$10 \text{ mL} = 0,4 \text{ mL} + V_s$$

$$V_s = 10 \text{ mL} - 0,4 \text{ mL}$$

$$V_s = 9,6 \text{ mL de agua destilada estéril}$$

Dónde:

V_T = Volumen total

V_f = Volumen del fungicida

V_s = Volumen del solvente

La solución obtenida se denominó solución stock, caracterizada por tener una concentración de 10 000 ppm. Para conseguir dosis más reducidas, se llevó a cabo la dilución de esta solución, de la siguiente manera:

10 000 ppm = 9,6 mL de agua destilada estéril y 0,4 mL del producto de fungicida.

1000 ppm = 9 mL de agua destilada estéril y 1 mL de la solución 10 000 ppm.

100 ppm = 9 mL de agua destilada estéril y 1 mL de la solución 1000 ppm.

10 ppm = 9 mL de agua destilada estéril y 1 mL de la solución 100 ppm.

1 ppm = 9 mL de agua destilada estéril y 1 mL de la solución 10 ppm.

0,1 ppm = 9 mL de agua destilada estéril y 1 mL de la solución 1 ppm.

0 ppm = control

3.5 Fase de laboratorio

3.5.1 Reactivación de cepas

Dentro de la cámara de flujo laminar, luego de esterilizar las cajas Petri y el medio PDA en el autoclave, se procedió a verter el medio en cada caja y permitir su solidificación. Con el propósito

de reactivar el crecimiento de las cepas, se añadió un disco de micelio de las seis cepas en cada caja. Esto permitió que las cepas se reactivaran y crecieran como cultivos puros.

3.5.2 Enmendado del medio cultivo

El proceso de enmendado del medio se llevó a cabo de acuerdo con la metodología propuesta por Salazar et al. (2012, p. 57). Para esto, se procedió a disolver 0,918 mL de la solución de fungicida correspondiente a cada dosis en 45 mL de medio PDA. Esta operación se repitió en tres ocasiones para cada una de las dosis analizadas (100; 10; 1; 0,1; 0 ppm). Posteriormente, se dispusieron 15 mL del medio enmendado en cada placa de Petri, a excepción del control donde se utilizó únicamente medio sin fungicida.

En las fases posteriores del experimento, se llevó a cabo la medición del crecimiento del micelio y se registrarán los datos obtenidos.

3.5.3 Preparación de la solución stock

La preparación de la solución stock se llevó a cabo en la cámara de flujo laminar. En el caso de fungicidas líquidos, se tomó una pequeña cantidad con una micropipeta y se transfirió a un vaso de precipitación. Si se trata de fungicidas en estado sólido, se pesó utilizando una balanza analítica, se añadió agua destilada estéril hasta alcanzar un volumen total de 10 mL, que correspondió a la concentración de la solución final. De esta manera, se obtuvo la solución stock con una concentración de 100 ppm.

3.5.4 Crecimiento micelial

Se recortaron discos de micelio de *Fusarium circinatum* utilizando sorbetes estériles con un diámetro de 5,13 mm. Estos discos fueron colocados en las cajas de Petri que contenían el medio de cultivo PDA enmendado. Cada caja fue identificada con una etiqueta, sellada con papel film y luego se trasladó a una incubadora en condiciones de oscuridad, manteniendo una temperatura constante de 27 ± 2 °C.

Se realizaron mediciones del crecimiento del micelio de los hongos *Fusarium circinatum*, a intervalos de 24 h. Estas mediciones se llevaron a cabo en milímetros (mm) en los ejes x (ecuatorial) e y (polar) utilizando un calibrador digital. Los valores obtenidos se registraron en una hoja de cálculo de Excel previamente configurada para este propósito.

3.5.5 Variables evaluadas

3.5.5.1 Tasa de crecimiento micelial (TCM)

Para establecer la (TCM) de las cepas de *Fusarium circinatum* en respuesta a cada principio activo, se utilizó el valor de crecimiento micelial registrado al final del experimento (en mm). Este valor se dividió por el número de días que el hongo necesitó para llenar completamente la caja Petri del tratamiento control (dosis 0) en cuestión. De esta manera, se obtuvieron los datos necesarios para determinar la TCM frente a los diferentes principios activos.

$$TCM = \frac{\text{Medida final}}{\text{Número de días}}$$

Fuente: Benítez et al., 2007.

3.5.5.2 Estimación de la concentración letal 50 (CL₅₀).

Se utilizó la librería EC₅₀ estimator en el programa RStudio versión 4.2.2 para determinar la Concentración Letal 50 (CL₅₀) a partir de las mediciones de la tasa de crecimiento de los ensayos de crecimiento micelial de los hongos y las diferentes dosis.

3.5.5.3 Rango de sensibilidad

Para la estimación del rango de sensibilidad se usó la escala de Liu et,al (2020) con la que se evaluó todos los fungicidas tebuconazol, pyraclostrobin, tiofanato de metil, boscalid, tebuconazol, extracto de tomillo y extracto de té.

Tabla 3-3: Escala de sensibilidad propuesta por Liu (2020)

| Sensibilidad | Rango |
|---------------------------|---------------|
| Muy sensible | <10 µg/ml |
| Sensible | 10-20 µg/ml |
| Moderadamente resistentes | 20-100 µg/ml |
| Resistencia alta | 100-500 µg/ml |
| Muy alta resistencia | > 500 µg / ml |

Fuente: Liu, 2020.

3.5.5.4 *Diagrama de caja y bigote (box-plot)*

Se emplearon diagramas de caja y bigote para visualizar de manera gráfica los resultados obtenidos en el análisis cuantitativo de la inhibición, como la Concentración Mínima de Tratamiento (TCM) y la Concentración Letal 50 (CL₅₀) para cada una de las concentraciones estudiadas.

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial

4.1.1 Tasa de crecimiento micelial de *Fusarium circinatum* en PDA enmendado con diferentes dosis de Pyraclostrobin.

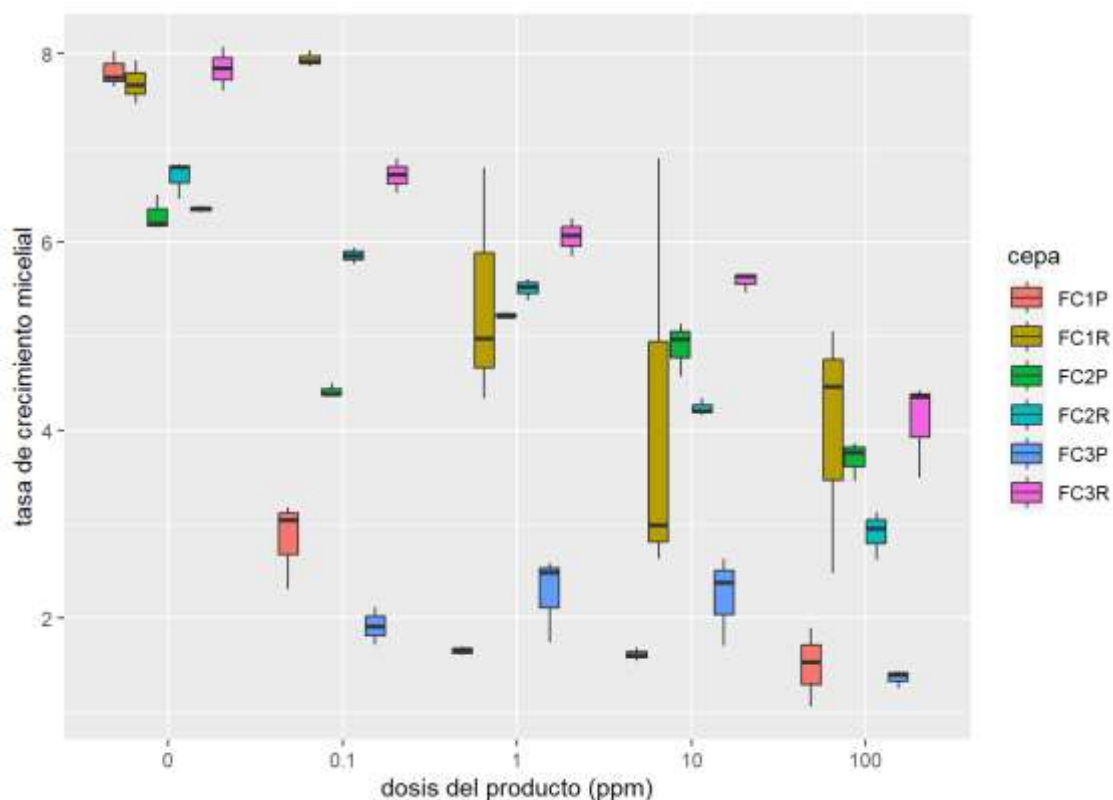


Ilustración 4-1: TCM de *F. circinatum* en medio PDA enmendado con Pyraclostrobin en diferentes dosis.

Tabla 4-1: Porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de *F. circinatum* en PDA enmendado con diferentes dosis de Pyraclostrobin.

| Cepa | % de inhibición del crecimiento | | | |
|-------------|---------------------------------|-------|-------|-------|
| | 0,1 | 1 | 10 | 100 |
| FC1P | 63,66 | 78,85 | 79,35 | 80,95 |
| FC1R | 0,29 | 30,04 | 45,27 | 48,26 |
| FC2P | 29,66 | 16,80 | 22,05 | 41,16 |
| FC2R | 12,54 | 17,79 | 36,75 | 56,71 |

| | | | | |
|-------------|-------|-------|-------|-------|
| FC3P | 69,84 | 64,28 | 64,77 | 78,54 |
| FC3R | 14,49 | 22,78 | 28,75 | 47,94 |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

La TCM menor fue para la dosis de 100 ppm en la cepa de FC1P con el 80,95% de inhibición, por otro lado, la mayor TCM para la dosis de 100 ppm correspondió a la cepa de FC2P ya que el producto inhibió en un 41,16%. En cuanto a la dosis de 10 ppm la menor TCM fue para la cepa FC1P con una inhibición del 79,35 %. Para la dosis de 1 ppm la cepa de FC1P presentó menor crecimiento con una inhibición del producto del 78,85% y FC2P y por último para la dosis de 0,1 ppm la inhibición registrada fue del 63,66% (Tabla 4-1).

4.1.2 Tasa de crecimiento micelial de *Fusarium circinatum* en PDA enmendado con diferentes dosis de Metil tiofanato.

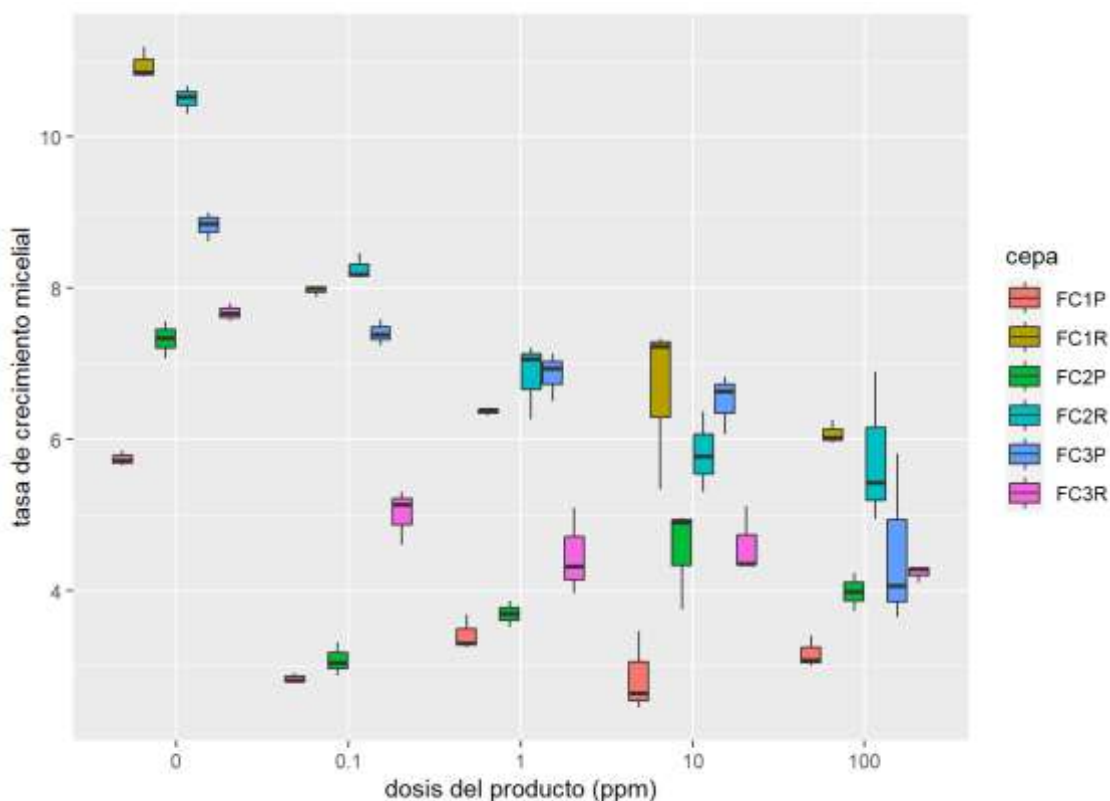


Ilustración 4-2: TCM de *F. circinatum* en medio PDA enmendado con Metil tiofanato en diferentes dosis.

Tabla 4-2: Porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de *F. circinatum* en PDA con diferentes dosis de Metil tiofanato

| Cepa | % de inhibición del crecimiento |
|------|---------------------------------|
|------|---------------------------------|

| | 0,1 | 1 | 10 | 100 |
|-------------|------------|----------|-----------|------------|
| FC1P | 50,60 | 40,53 | 50,25 | 44,97 |
| FC1R | 27,17 | 41,83 | 39,24 | 44,47 |
| FC2P | 57,99 | 49,57 | 37,81 | 45,53 |
| FC2R | 21,33 | 34,76 | 44,61 | 45,07 |
| FC3P | 16,06 | 22,34 | 26,14 | 49,05 |
| FC3R | 34,67 | 41,89 | 39,95 | 44,83 |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

Las TCMs de todas las cepas de *F. circinatum* fueron inhibidas en un porcentaje promedio de 46% en la dosis de 100 ppm de metil tiofanato. En cuanto a la dosis de 10 ppm el crecimiento fue inhibido en 50,25% para la cepa de FC1P, sin embargo, la cepa de FC3P presentó la mayor tasa de crecimiento con un porcentaje de inhibición del 26,14% con respecto al control en la dosis mencionada anteriormente. Para la dosis de 1 ppm de metil tiofanato se inhibió el crecimiento de todas las cepas en un 38,49% promedio con respecto al control. Finalmente, las cepas FC1P y FC2P en la dosis de 0,1 ppm de metil tiofanato se mostraron más sensibles que el resto de las cepas ya que presentaron una inhibición promedio en la TCM de 54,30% (Tabla 4-2).

4.1.3 Tasa de crecimiento micelial de *Fusarium circinatum* en PDA enmendado con diferentes dosis de Tebuconazol.

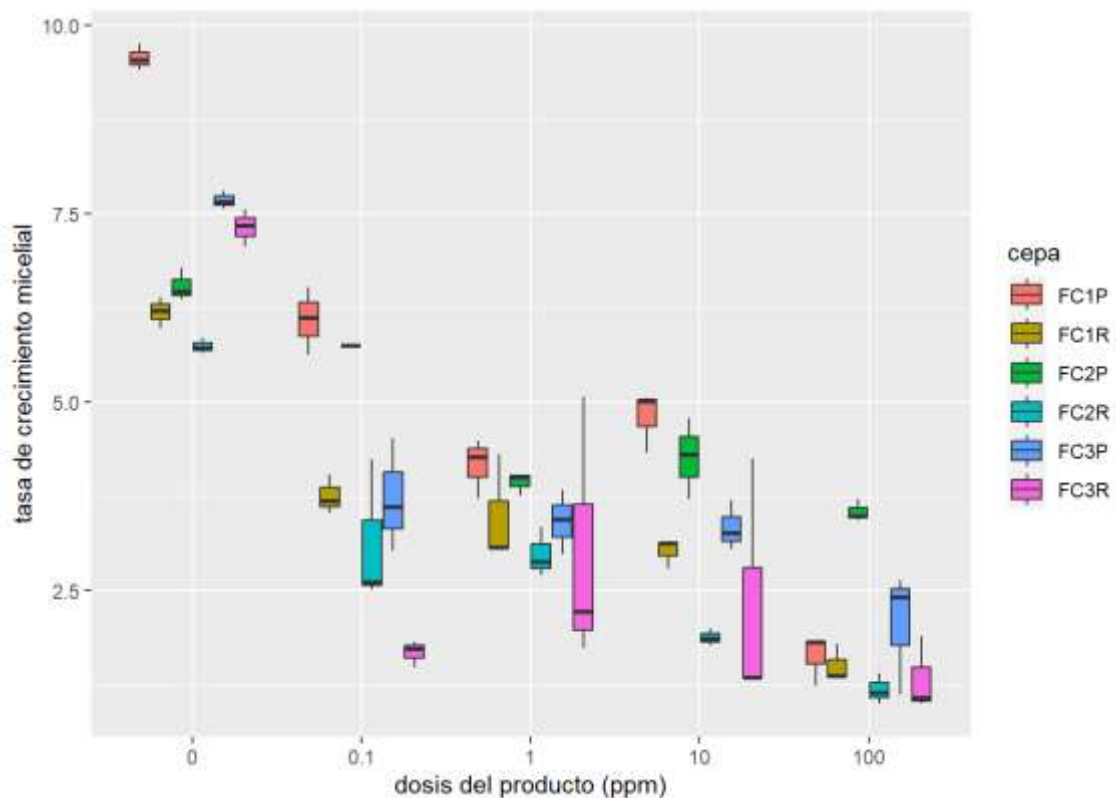


Ilustración 4-3: TCM de *F. circinatum* en medio PDA enmendado con Tebuconazol en diferentes dosis.

Tabla 4-3: Porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de *F. circinatum* en PDA enmendado con diferentes dosis de Tebuconazol.

| Cepa | % de inhibición del crecimiento | | | |
|-------------|---------------------------------|-------|-------|-------|
| | 0,1 | 1 | 10 | 100 |
| FC1P | 36,35 | 56,42 | 49,79 | 83,02 |
| FC1R | 39,20 | 43,89 | 51,13 | 75,65 |
| FC2P | 11,87 | 39,78 | 34,53 | 45,69 |
| FC2R | 45,35 | 48,13 | 67,24 | 79,35 |
| FC3P | 51,39 | 55,39 | 56,45 | 73,25 |
| FC3R | 76,98 | 58,28 | 68,69 | 81,73 |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

La TCM para la dosis de 100 ppm de tebuconazol fue mayor en la cepa de FC2P con un porcentaje de inhibición del 45,69%, mientras que para la cepa de FC1P se inhibió el 83,02% del crecimiento a esa misma dosis de tebuconazol. Por el contrario, en este caso para la dosis de 10 ppm la cepa de FC2P tuvo el mayor porcentaje de TCM inhibiéndose su crecimiento solamente en el 34,53%. Por otra parte, las cepas de *F. circinatum* FC3R y FC2R fueron las más sensibles presentando un porcentaje promedio de inhibición del 68%. Para la dosis de 1 ppm la cepa FC2P de *F. circinatum* presentó la mayor TCM con un porcentaje de inhibición del 39,78%, mientras que la cepa FC3R presentó la menor inhibición del crecimiento con un 58,28%. Para la dosis 0,1 ppm la menor TCM la tuvo la cepa FC2P con un porcentaje de inhibición del 76,98%, y la mayor TCM la presentó la cepa FC2P con un porcentaje de inhibición del 11,87% (Tabla 4-3).

4.1.4 Tasa de crecimiento micelial de *Fusarium circinatum* en PDA enmendado con diferentes dosis de Boscalid.

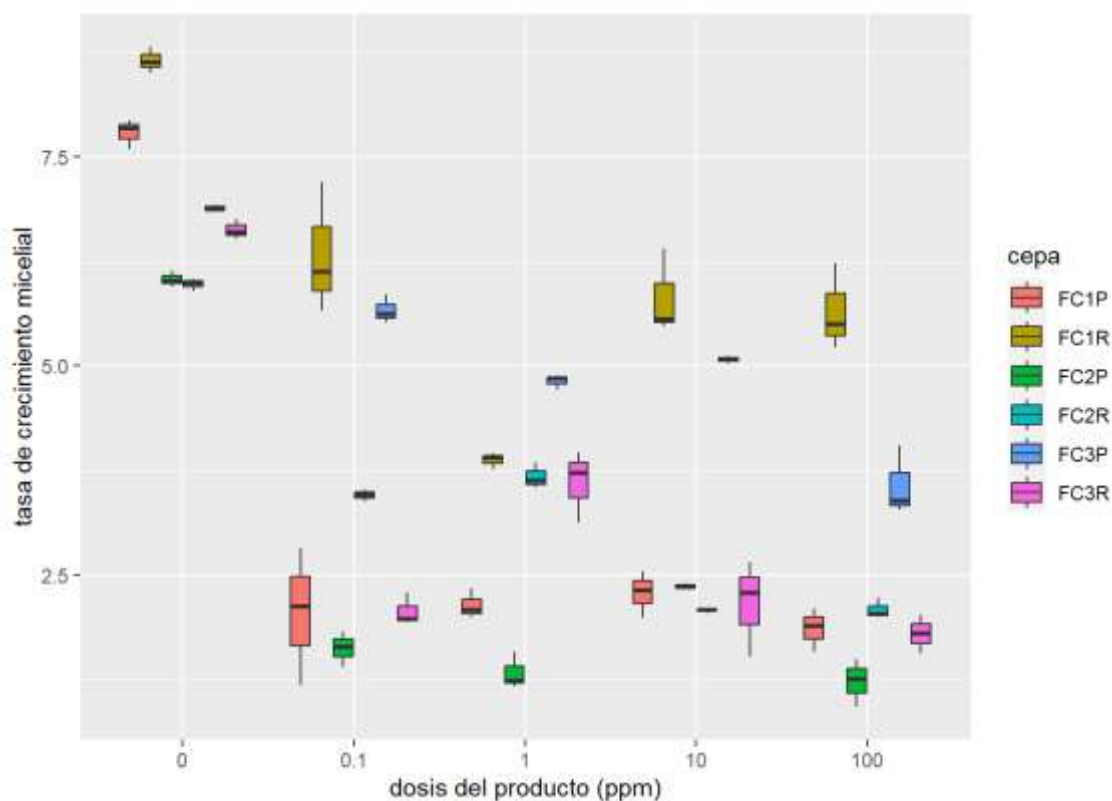


Ilustración 4-4: TCM de *F. circinatum* en medio PDA enmendado con Boscalid en diferentes dosis.

Tabla 4-4: Porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de *F. circinatum* en PDA enmendado con diferentes dosis de Boscalid.

| Cepa | % de inhibición del crecimiento | | | |
|-------------|---------------------------------|-------|-------|-------|
| | 0,1 | 1 | 10 | 100 |
| FC1P | 73,61 | 72,54 | 70,66 | 76,09 |
| FC1R | 26,88 | 55,22 | 32,73 | 34,64 |
| FC2P | 73,04 | 77,96 | 60,74 | 79,66 |
| FC2R | 42,22 | 38,56 | 65,26 | 65,06 |
| FC3P | 17,77 | 30,15 | 26,35 | 48,17 |
| FC3R | 68,83 | 45,61 | 67,54 | 72,86 |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

La dosis de 100 ppm del principio activo boscalid inhibió el crecimiento de las cepas de *F. circinatum* FC1P, FC2P y FC3R en un promedio de 76,20%. Por otra parte, la dosis de 10 ppm

de boscalid inhibió el crecimiento de la cepa de FC1P en un 70,66%, mientras que la cepa FC3P obtuvo la mayor TCM con un 26,35% de inhibición. Para la dosis 1 ppm de boscalid la mayor tasa de crecimiento correspondió a la cepa FC3P con un 30,15% de inhibición de crecimiento, mientras que la menor TCM correspondió a la cepa FC2P con un porcentaje de inhibición del 77,96%. La cepa FC3P a la dosis de 0,1 ppm de boscalid tuvo la mayor TCM que las demás cepas con un porcentaje de inhibición en su crecimiento del 17,77%, mientras que la menor TCM a la misma dosis fue para las cepas FC1P y FC2P de *F. circinatum* con una inhibición del crecimiento del 73,61% y 73,04% respectivamente (Tabla 4-4).

4.1.5 Tasa de crecimiento micelial de *Fusarium circinatum* en PDA enmendado con diferentes dosis de extracto de tomillo

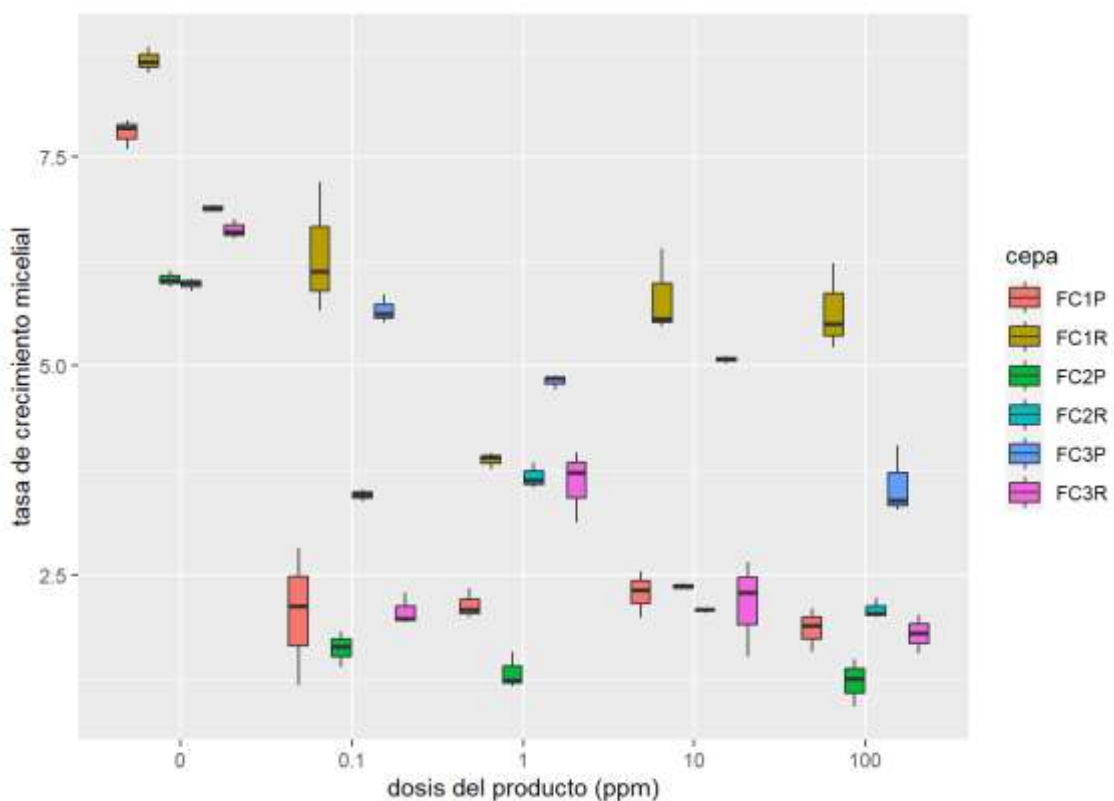


Ilustración 4-5: TCM de *F. circinatum* en medio PDA enmendado con extracto de tomillo en diferentes dosis.

Tabla 4-5: Porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de *F. circinatum* en PDA enmendado con diferentes dosis de extracto de tomillo

| Cepa | % de inhibición del crecimiento |
|------|---------------------------------|
|------|---------------------------------|

| | 0,1 | 1 | 10 | 100 |
|-------------|------------|----------|-----------|------------|
| FC1P | 20,44 | 33,51 | 36,72 | 36,07 |
| FC1R | 48,88 | 46,49 | 49,04 | 42,27 |
| FC2P | 33,07 | 49,55 | 23,54 | 27,92 |
| FC2R | 54,87 | 45,56 | 54,17 | 46,40 |
| FC3P | 26,11 | 41,54 | 46,23 | 10,86 |
| FC3R | 29,19 | 44,01 | 49,65 | 18,59 |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

La TCM de todas las cepas de *F. circinatum* fue inhibida en un 30,35% promedio para todos los aislados a una dosis de 100 ppm de extracto de tomillo. Sin embargo, para la dosis de 10 ppm el crecimiento fue inhibido en un promedio de 43,23% para todas las cepas con relación al control. Para la dosis de 1ppm de extracto de tomillo la TCM fue inhibida en un promedio de 43,44%. Para la dosis 0,1ppm, la TCM de todas las cepas se inhibió en un promedio de 35,43% con respecto al control (Tabla 4-5).

4.1.6 Tasa de crecimiento micelial de *Fusarium circinatum* en PDA enmendado con diferentes dosis de extracto de té

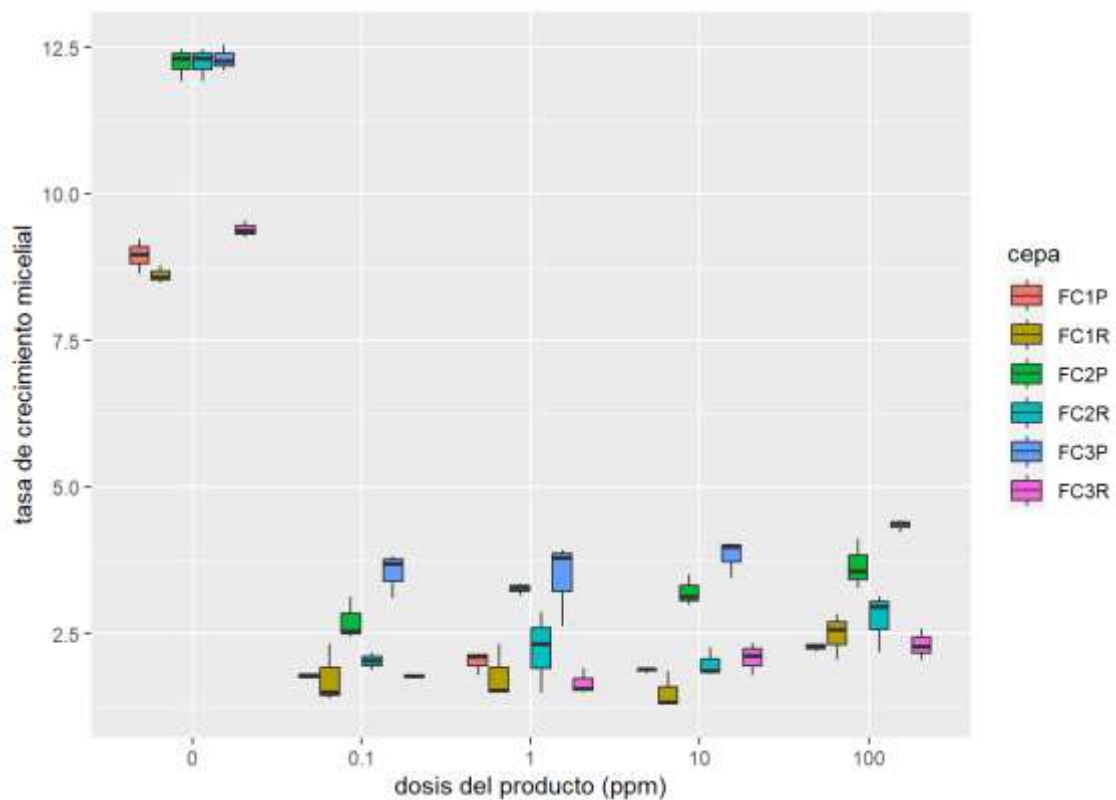


Ilustración 4-6: TCM de *F. circinatum* en medio PDA enmendado con extracto de té en diferentes dosis.

Tabla 4-6: Porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de *F. circinatum* en PDA enmendado con diferentes dosis de extracto de té.

| Cepa | % de inhibición del crecimiento | | | |
|-------------|---------------------------------|-------|-------|-------|
| | 0,1 | 1 | 10 | 100 |
| FC1P | 80,04 | 77,49 | 79,07 | 74,61 |
| FC1R | 79,77 | 79,31 | 82,66 | 71,10 |
| FC2P | 77,87 | 73,37 | 73,76 | 70,14 |
| FC2R | 83,41 | 81,87 | 83,78 | 77,44 |
| FC3P | 71,27 | 71,89 | 68,88 | 64,68 |
| FC3R | 81,17 | 82,37 | 77,76 | 75,42 |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

La TCM fue inhibida en un promedio de 72,23% para todos las cepas de *F. circinatum* a una dosis de 100 ppm de extracto de té. Para la dosis 10 ppm el crecimiento fue mayor para la cepa de FC3P con una inhibición en el crecimiento de 68,88% y la menor TCM observada en las cepas FC1R y FC2R con una inhibición del crecimiento en promedio de 83,22%. Para la dosis 1 ppm de extracto de té la mayor TCM se observó en la cepa FC3P de *F. circinatum* con una inhibición del 71,89% del crecimiento. Por otra parte, para la dosis 0,1 ppm de extracto de té la mayor TCM correspondió a la cepa FC3P de *F. circinatum* con un porcentaje de inhibición del 71,27% y la menor correspondió a la cepa FC2R de *F. circinatum* con un 83,41% de inhibición (Tabla 4-6).

4.2 Inhibición de crecimiento micelial

4.2.1 Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de Pyraclostrobin

El análisis de varianza para la variable inhibición del crecimiento micelial para el fungicida Pyraclostrobin, determinó efecto de los tratamientos para el factor dosis ($P < 0,05$), efecto de los tratamientos para el factor cepas ($P < 0,05$) y para la interacción dosis por cepas ($P < 0,05$), con un coeficiente de variación de 20,52%.

Tabla 4-7: Análisis de Varianza para la inhibición del crecimiento micelial de *F. circinatum* en medio enmendado con Pyraclostrobin.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor | Sig. |
|--------------|------|----|------|--------|---------|------|
| Dosis | 7354 | 3 | 2451 | 30,308 | <0,0001 | *** |

| | | | | | | |
|--------------------|-------|-------|------|--------|--------|-----|
| Cepas | 30040 | 5 | 6008 | 74,284 | <0,001 | *** |
| Dosis*Cepas | 4420 | 15 | 295 | 3,643 | 0,0003 | *** |
| Error | 3882 | 48 | 81 | | | |
| Total | | 71 | | | | |
| C.V. | | 20,52 | | | | |

p-valor > 0,01 y > 0,05 = ns/ p-valor > 0,01 y < 0,05 = */ p-valor < 0,01 y < 0,05 = **

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

4.2.2 Test de Tukey para la variable Dosis del fungicida Pyraclostrobin

Tabla 4-8: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes dosis del fungicida Pyraclostrobin

| Dosis | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|--------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 100 | 58,92 | a |
| 10 | 46,15 | b |
| 1 | 38,42 | bc |
| 0,1 | 31,74 | c |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable dosis se identificaron 3 grupos a, b y c, la dosis que mayor inhibición presentó fue la dosis de 100 ppm con un promedio de 58,92% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la dosis de 0,1 ppm con un promedio de 31,74% ubicándose en el grupo c.

4.2.3 Test de Tukey para la variable Cepas del fungicida Pyraclostrobin

Tabla 4-9: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes cepas del fungicida Pyraclostrobin

| Cepa | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------------|---------------------------------|-------------------------------|
| FC1P | 75,69 | a |
| FC3P | 69,35 | a |
| FC1R | 30,96 | b |
| FC2R | 30,95 | b |
| FC3R | 28,48 | b |
| FC2P | 27,41 | b |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable cepa se identificaron 2 grupos a y b, la cepa que mayor inhibición presentó fue la cepa FC1P con un promedio de 75,69% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la cepa FC2P con un promedio de 27,41% ubicándose en el grupo b.

4.2.4 Test de Tukey para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Pyraclostrobin

Tabla 4-10: Prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Pyraclostrobin

| Dosis:Cepa | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 100:FC1P | 80,94 | a |
| 10:FC1P | 79,34 | a |
| 1:FC1P | 78,84 | a |
| 100:FC3P | 78,53 | a |
| 0,1:FC3P | 69,83 | ab |
| 10:FC3P | 64,76 | abc |
| 1:FC3P | 64,28 | abc |
| 0,1:FC1P | 63,65 | abc |
| 100:FC2R | 56,71 | abcd |
| 100:FC1R | 48,25 | bcde |
| 100:FC3R | 47,93 | bcde |
| 10:FC1R | 45,27 | bcdef |
| 100:FC2P | 41,15 | cdefg |
| 10:FC2R | 36,75 | cdefgh |
| 1:FC1R | 30,03 | defgh |
| 0,1:FC2P | 29,66 | defgh |
| 10:FC3R | 28,75 | defgh |
| 1:FC3R | 22,78 | efghi |
| 10:FC2P | 22,04 | efghi |
| 1:FC2R | 17,79 | fghi |
| 1:FC2P | 16,79 | ghi |
| 0,1:FC3R | 14,48 | ghi |
| 0,1:FC2R | 12,54 | hi |
| 0,1:FC1R | 0,28 | i |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepa se identificaron 9 grupos a, b, c, d, e, f, g, h e i, la interacción Dosis*Cepa que mayor inhibición presentó fue la interacción 100:FC1P con un promedio de 80,94% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la interacción 0,1:FC1R con un promedio de 0,28% ubicándose en el grupo i.

4.2.5 Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de Metil tiofanato

El análisis de varianza para la variable inhibición del crecimiento micelial para el fungicida Metil tiofanato, determinó efecto de los tratamientos para el factor dosis ($P < 0,05$), efecto de los tratamientos para el factor cepas ($P < 0,05$) y para la interacción dosis por cepas ($P < 0,05$), con un coeficiente de variación de 15,88%.

Tabla 4-11: Análisis de Varianza para la inhibición del crecimiento micelial de *F. circinatum* en medio enmendado con Metil tiofanato.

| F.V. | SC | Gl | CM | F | p-valor | Sig. |
|-------------|------|-------|-------|--------|---------|------|
| Dosis | 1126 | 3 | 375,2 | 9,47 | <0,0001 | *** |
| Cepas | 3035 | 5 | 607 | 15,326 | <0,001 | *** |
| Dosis*Cepas | 3386 | 15 | 225,7 | 5,700 | <0,001 | *** |
| Error | 1901 | 48 | 39,6 | | | |
| Total | | 71 | | | | |
| C.V. | | 15,88 | | | | |

p-valor > 0,01 y > 0,05 = ns/ p-valor > 0,01 y < 0,05 = */ p-valor < 0,01 y < 0,05 = **

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

4.2.6 Test de Tukey para la variable Dosis del fungicida Metil tiofanato

Tabla 4-12: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes dosis del fungicida Metil tiofanato

| Dosis | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------|--------------------------|------------------------|
| 100 | 45,65 | a |
| 10 | 39,66 | b |
| 1 | 38,48 | b |
| 0,1 | 34,63 | b |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable dosis se identificaron 2 grupos a y b, la dosis que mayor inhibición presentó fue la dosis de 100 ppm con un promedio de 45,65% ubicándose en el

grupo a y la que menor inhibición presentó fue la dosis de 0,1 ppm con un promedio de 34,63% ubicándose en el grupo b.

4.2.7 *Test de Tukey para la variable Cepas del fungicida Metil tiofanato*

Tabla 4-13: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes cepas del fungicida Metil tiofanato

| Cepa | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------------|---------------------------------|-------------------------------|
| FC2P | 47,72 | a |
| FC1P | 46,58 | a |
| FC3R | 40,33 | ab |
| FC1R | 38,17 | b |
| FC2R | 36,44 | b |
| FC3P | 28,39 | c |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable cepa se identificaron 3 grupos a, b y c, la cepa que mayor inhibición presentó fue la cepa FC2P con un promedio de 47,72% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la cepa FC3P con un promedio de 28,39% ubicándose en el grupo c.

4.2.8 *Test de Tukey para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Metil tiofanato*

Tabla 4-14: Prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Metil tiofanato

| Dosis:Cepa | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 0,1:FC2P | 57,99 | a |
| 0,1:FC1P | 50,60 | ab |
| 10:FC1P | 50,25 | ab |
| 1:FC2P | 49,56 | ab |
| 100:FC3P | 49,05 | ab |
| 100:FC2P | 45,53 | abc |
| 100:FC2R | 45,07 | abc |
| 100:FC1P | 44,97 | abc |
| 100:FC3R | 44,82 | abc |
| 10:FC2R | 44,61 | abc |

| | | |
|-----------------|-------|-------|
| 100:FC1R | 44,47 | abc |
| 1:FC3R | 41,88 | abcd |
| 1:FC1R | 41,82 | abcd |
| 1:FC1P | 40,53 | abcde |
| 10:FC3R | 39,95 | abcde |
| 10:FC1R | 39,24 | abcde |
| 10:FC2P | 37,80 | bcde |
| 1:FC2R | 34,75 | bcdef |
| 0,1:FC3R | 34,67 | bcdef |
| 0,1:FC1R | 27,17 | cdef |
| 10:FC3P | 26,13 | cdef |
| 1:FC3P | 22,33 | def |
| 0,1:FC2R | 21,33 | ef |
| 0,1:FC3P | 16,05 | f |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepa se identificaron 6 grupos a, b, c, d, e y f, la interacción Dosis*Cepa que mayor inhibición presentó fue la interacción 0,1:FC2P con un promedio de 57,99% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la interacción 0,1:FC3P con un promedio de 16,05% ubicándose en el grupo f.

4.2.9 Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de Tebuconazol

El análisis de varianza para la variable inhibición del crecimiento micelial para el fungicida Tebuconazol, determinó efecto de los tratamientos para el factor dosis ($P < 0,05$) y efecto de los tratamientos para el factor cepas ($P < 0,05$) y para la interacción dosis por cepas ($P < 0,05$), con un coeficiente de variación de 17,32%.

Tabla 4-15: Análisis de Varianza para la inhibición del crecimiento micelial de *F. circinatum* en medio enmendado con Tebuconazol

| F.V. | SC | G1 | CM | F | p-valor | Sig. |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|-------------|
| Dosis | 8664 | 3 | 2888 | 31,36 | <0,0001 | *** |
| Cepas | 9654 | 5 | 1930 | 20,96 | <0,001 | *** |
| Dosis*Cepas | 3274 | 15 | 218 | 2,37 | 0,0121 | * |
| Error | 4421 | 48 | 92,1 | | | |
| Total | | 71 | | | | |

| | |
|-------------|-------|
| C.V. | 17,32 |
|-------------|-------|

p-valor > 0,01 y > 0,05 = ns/ p-valor > 0,01 y < 0,05 = */ p-valor < 0,01 y < 0,05 = **

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

4.2.10 Test de Tukey para la variable Dosis del fungicida Tebuconazol

Tabla 4-16: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes dosis del fungicida Tebuconazol

| Dosis | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|--------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 100 | 73,11 | a |
| 10 | 54,63 | b |
| 1 | 50,31 | bc |
| 0,1 | 43,51 | c |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable dosis se identificaron 3 grupos a, b y c, la dosis que mayor inhibición presentó fue la dosis de 100 ppm con un promedio de 73,11% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la dosis de 0,1 ppm con un promedio de 43,51% ubicándose en el grupo c.

4.2.11 Test de Tukey para la variable Cepas del fungicida Tebuconazol

Tabla 4-17: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes cepas del fungicida Tebuconazol

| Cepa | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------------|---------------------------------|-------------------------------|
| FC3R | 71,41 | a |
| FC2R | 60,01 | ab |
| FC3P | 59,12 | b |
| FC1P | 56,39 | b |
| FC1R | 52,46 | b |
| FC2P | 32,96 | c |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable cepa se identificaron 3 grupos a, b y c, la cepa que mayor inhibición presentó fue la cepa FC3R con un promedio de 71,41% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la cepa FC2P con un promedio de 32,96% ubicándose en el grupo c.

4.2.12 Test de Tukey para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Tebuconazol

Tabla 4-18: Prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Tebuconazol

| Dosis:Cepa | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 100:FC1P | 83,01 | a |
| 100:FC3R | 81,72 | a |
| 100:FC2R | 79,34 | ab |
| 0,1:FC3R | 76,98 | abc |
| 100:FC1R | 75,65 | abcd |
| 100:FC3P | 73,25 | abcde |
| 10:FC3R | 68,68 | abcdef |
| 10:FC2R | 67,24 | abcdef |
| 1:FC3R | 58,28 | abcdefg |
| 10:FC3P | 56,45 | abcdefg |
| 1:FC1P | 56,41 | abcdefg |
| 1:FC3P | 55,39 | abcdefg |
| 0,1:FC3P | 51,38 | bcdefg |
| 10:FC1R | 51,12 | bcdefg |
| 10:FC1P | 49,79 | bcdefg |
| 1:FC2R | 48,13 | cdefg |
| 100:FC2P | 45,69 | defg |
| 0,1:FC2R | 45,34 | efg |
| 1:FC1R | 43,88 | efg |
| 1:FC2P | 39,78 | fgh |
| 0,1:FC1R | 39,20 | fgh |
| 0,1:FC1P | 36,34 | gh |
| 10:FC2P | 34,53 | gh |
| 0,1:FC2P | 11,86 | h |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepa se identificaron 8 grupos a, b, c, d, e, f, g y h, la interacción Dosis*Cepa que mayor inhibición presentó fue la interacción 100:FC1P con un promedio de 83,01% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la interacción 0,1:FC2P con un promedio de 11,86% ubicándose en el grupo h.

4.2.13 Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de Boscalid

El análisis de varianza para la variable inhibición del crecimiento micelial para el fungicida Boscalid, determinó efecto de los tratamientos para el factor dosis ($P < 0,05$) y efecto de los tratamientos para el factor cepas ($P < 0,05$) y para la interacción dosis por cepas ($P < 0,05$), con un coeficiente de variación de 8,82%.

Tabla 4-19: Análisis de Varianza para la inhibición del crecimiento micelial de *F. circinatum* en medio enmendado con Boscalid

| F.V. | SC | Gl | CM | F | p-valor | Sig. |
|--------------------|-------|------|------|--------|---------|------|
| Dosis | 1534 | 3 | 511 | 21,66 | <0,0001 | *** |
| Cepas | 19649 | 5 | 3930 | 166,44 | <0,001 | *** |
| Dosis*Cepas | 5236 | 15 | 349 | 14,78 | 0,0121 | *** |
| Error | 1133 | 48 | 24 | | | |
| Total | | 71 | | | | |
| C.V. | | 8,82 | | | | |

p-valor > 0,01 y > 0,05 = ns/ p-valor > 0,01 y < 0,05 = */ p-valor < 0,01 y < 0,05 = **

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

4.2.14 Test de Tukey para la variable Dosis del fungicida Boscalid

Tabla 4-20: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes dosis del fungicida Boscalid

| Dosis | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|------------|--------------------------|------------------------|
| 100 | 62,74 | a |
| 10 | 53,87 | b |
| 1 | 53,34 | b |
| 0,1 | 50,39 | b |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable dosis se identificaron 2 grupos a y b, la dosis que mayor inhibición presentó fue la dosis de 100 ppm con un promedio de 62,74% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la dosis de 0,1 ppm con un promedio de 50,39% ubicándose en el grupo b.

4.2.15 Test de Tukey para la variable Cepas del fungicida Boscalid

Tabla 4-21: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes cepas del fungicida Boscalid

| Cepa | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------------|---------------------------------|-------------------------------|
| FC1P | 73,22 | a |
| FC2P | 72,85 | a |
| FC3R | 63,71 | b |
| FC2R | 52,77 | c |
| FC1R | 37,36 | d |
| FC3P | 30,60 | e |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable cepa se identificaron 5 grupos a, b, c, d y e, la cepa que mayor inhibición presentó fue la cepa FC1P con un promedio de 73,22% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la cepa FC3P con un promedio de 30,60% ubicándose en el grupo e.

4.2.16 Test de Tukey para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Boscalid

Tabla 4-22: Prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida Boscalid

| Dosis:Cepa | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 100:FC2P | 79,66 | a |
| 1:FC2P | 77,96 | a |
| 100:FC1P | 76,09 | a |
| 0,1:FC1P | 73,61 | ab |
| 0,1:FC2P | 73,04 | ab |
| 100:FC3R | 72,85 | ab |
| 1:FC1P | 72,53 | ab |
| 10:FC1P | 70,65 | ab |
| 0,1:FC3R | 68,83 | abc |
| 10:FC3R | 67,53 | abc |
| 10:FC2R | 65,25 | abc |
| 100:FC2R | 65,06 | abc |
| 10:FC2P | 60,73 | bcd |
| 1:FC1R | 55,22 | cde |
| 100:FC3P | 48,17 | def |

| | | |
|-----------------|-------|------|
| 1:FC3R | 45,61 | defg |
| 0,1:FC2R | 42,22 | efgh |
| 1:FC2R | 38,55 | fghi |
| 100:FC1R | 34,63 | fghi |
| 10:FC1R | 32,72 | ghij |
| 1:FC3P | 30,14 | hij |
| 0,1:FC1R | 26,87 | ij |
| 10:FC3P | 26,34 | ij |
| 0,1:FC3P | 17,76 | j |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepa se identificaron 10 grupos a, b, c, d, e, f, g, h, i, j la interacción Dosis*Cepa que mayor inhibición presentó fue la interacción 100:FC2P con un promedio de 79,66% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la interacción 0,1:FC3P con un promedio de 17,76% ubicándose en el grupo j.

4.2.17 Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de extracto de tomillo

El análisis de varianza para la variable inhibición del crecimiento micelial para el fungicida extracto de tomillo, determinó efecto de los tratamientos para el factor dosis ($P < 0,05$) y efecto de los tratamientos para el factor cepas ($P < 0,05$) y para la interacción dosis por cepas no hubo significancia estadística, con un coeficiente de variación de 4,61%.

Tabla 4-23: Análisis de Varianza para la inhibición del crecimiento micelial de *F. circinatum* en medio enmendado con extracto de tomillo

| F.V. | SC | Gl | CM | F | p-valor | Sig. |
|--------------------|------|------|-------|-------|---------|------|
| Dosis | 2197 | 3 | 732,3 | 19,08 | <0,0001 | *** |
| Cepas | 4062 | 5 | 812,4 | 21,17 | <0,001 | *** |
| Dosis*Cepas | 3915 | 15 | 261 | 6,80 | 0,0121 | *** |
| Error | 1841 | 48 | 38,4 | | | |
| Total | | 71 | | | | |
| C.V. | | 8,82 | | | | |

p-valor > 0,01 y > 0,05 = ns/ p-valor > 0,01 y < 0,05 = */ p-valor < 0,01 y < 0,05 = **

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

4.2.18 Test de Tukey para la variable Dosis del fungicida extracto de tomillo

Tabla 4-24: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes dosis del fungicida extracto de tomillo

| Dosis | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------|--------------------------|------------------------|
| 1 | 43,44 | a |
| 10 | 43,22 | a |
| 0,1 | 35,42 | b |
| 100 | 30,35 | b |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable dosis se identificaron 2 grupos a y b, las dosis que mayor inhibición presentó fue la dosis de 1 ppm y 10 ppm con un promedio de 43,44% y 43,22% respectivamente ubicándose en el grupo a y las que menor inhibición presentó fue la dosis de 0,1 ppm y 100 ppm con un promedio de 35,42% y 30,35% respectivamente ubicándose en el grupo b.

4.2.19 Test de Tukey para la variable Cepas del fungicida extracto de tomillo

Tabla 4-25: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes cepas del fungicida extracto de tomillo

| Cepa | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|------|--------------------------|------------------------|
| FC2R | 50,24 | a |
| FC1R | 46,66 | a |
| FC3R | 35,36 | b |
| FC2P | 33,52 | b |
| FC1P | 31,68 | b |
| FC3P | 31,18 | b |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable cepa se identificaron 2 grupos a y b, la cepa que mayor inhibición presentó fue la cepa FC2R con un promedio de 50,24% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la cepa FC3P con un promedio de 31,18% ubicándose en el grupo b.

4.2.20 Test de Tukey para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida extracto de tomillo

Tabla 4-26: Prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida extracto de tomillo

| Dosis:Cepa | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 0,1:FC2R | 54,86 | a |
| 10:FC2R | 54,16 | a |
| 10:FC3R | 49,65 | ab |
| 1:FC2P | 49,54 | ab |
| 10:FC1R | 49,04 | ab |
| 0,1:FC1R | 48,87 | ab |
| 1:FC1R | 46,48 | abc |
| 100:FC2R | 46,39 | abc |
| 10:FC3P | 46,23 | abc |
| 1:FC2R | 45,56 | abcd |
| 1:FC3R | 44,01 | abcd |
| 100:FC1R | 42,26 | abcde |
| 1:FC3P | 41,54 | abcde |
| 10:FC1P | 36,72 | abcdef |
| 100:FC1P | 36,06 | abcdef |
| 1:FC1P | 33,50 | bcdef |
| 0,1:FC2P | 33,07 | bcdef |
| 0,1:FC3R | 29,18 | cdefg |
| 100:FC2P | 27,92 | cdefg |
| 0,1:FC3P | 26,10 | defg |
| 10:FC2P | 23,54 | efg |
| 0,1:FC1P | 20,43 | fg |
| 100:FC3R | 18,59 | fg |
| 100:FC3P | 10,85 | g |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepa se identificaron 7 grupos a, b, c, d, e, f y g, la interacción Dosis*Cepa que mayor inhibición presentó fue la interacción 0,1:FC2R con un promedio de 54,86% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la interacción 100:FC3P con un promedio de 10,85% ubicándose en el grupo g.

4.2.21 Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de extracto de té

El análisis de varianza para la variable inhibición del crecimiento micelial para el fungicida extracto de té, determinó efecto de los tratamientos para el factor dosis ($P < 0,05$) y efecto de los tratamientos para el factor cepas ($P < 0,05$) con un coeficiente de variación de 4,61%.

Tabla 4-27: Análisis de Varianza para la inhibición del crecimiento micelial de *F. circinatum* en medio enmendado con extracto de té

| F.V. | SC | Gl | CM | F | p-valor | Sig. |
|-------------|--------|------|--------|-------|---------|------|
| Dosis | 482,9 | 3 | 160,97 | 12,88 | <0,0001 | *** |
| Cepas | 1187,4 | 5 | 237,47 | 19 | <0,001 | *** |
| Dosis*Cepas | 143,6 | 15 | 9,57 | 0,76 | 0,706 | ns |
| Error | 599,8 | 48 | 12,50 | | | |
| Total | | 71 | | | | |
| C.V. | | 4,61 | | | | |

p-valor > 0,01 y > 0,05 = ns/ p-valor > 0,01 y < 0,05 = */ p-valor < 0,01 y < 0,05 = **

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

4.2.22 Test de Tukey para la variable Dosis del fungicida extracto de té

Tabla 4-28: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes dosis del fungicida extracto de té

| Dosis | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------|--------------------------|------------------------|
| 0,1 | 78,92 | a |
| 1 | 77,71 | a |
| 10 | 77,65 | a |
| 100 | 72,23 | b |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable dosis se identificaron 2 grupos a y b, las dosis que mayor inhibición presentó fue la dosis de 0,1 ppm con un promedio de 78,92% ubicándose en el grupo a y las que menor inhibición presentó fue la dosis de 100 ppm con un promedio de 72,23% ubicándose en el grupo b.

4.2.23 Test de Tukey para la variable Cepas del fungicida extracto de té

Tabla 4-29: Prueba de Tukey al 5% para las diferentes cepas del fungicida extracto de té

| Cepa | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------------|---------------------------------|-------------------------------|
| FC2R | 81,62 | a |
| FC3R | 79,18 | a |
| FC1R | 78,20 | a |
| FC1P | 77,80 | ab |
| FC1P | 73,78 | b |
| FC3P | 69,17 | c |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable cepa se identificaron 3 grupos a y b, la cepa que mayor inhibición presentó fue la cepa FC2R con un promedio de 81,62% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la cepa FC3P con un promedio de 69,17% ubicándose en el grupo c.

4.2.24 Test de Tukey para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida extracto de té

Tabla 4-30: Prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepas del fungicida extracto de té

| Dosis:Cepa | Porcentaje de Inhibición | Rango de significancia |
|-------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 10:FC2R | 83,77 | a |
| 0,1:FC2R | 83,40 | a |
| 10:FC1R | 82,65 | ab |
| 1:FC3R | 82,37 | abc |
| 1:FC2R | 81,87 | abcd |
| 0,1:FC3R | 81,17 | abcde |
| 0,1:FC1P | 80,04 | abcde |
| 0,1:FC1R | 79,77 | abcdef |
| 1:FC1R | 79,31 | abcdef |
| 10:FC1P | 79,07 | abcdef |
| 0,1:FC2P | 77,86 | abcdef |
| 10:FC3R | 77,76 | abcdef |
| 1:FC1P | 77,48 | abcdef |
| 100:FC2R | 75,41 | abcdefg |
| 100:FC3R | 74,61 | abcdefg |

| | | |
|-----------------|-------|---------|
| 100:FC1P | 73,75 | abcdefg |
| 10:FC2P | 73,36 | abcdefg |
| 1:FC2P | 73,36 | abcdefg |
| 1:FC3P | 71,88 | bcdefg |
| 0,1:FC3P | 71,26 | cdefg |
| 100:FC1R | 71,09 | defg |
| 100:FC2P | 70,14 | efg |
| 10:FC3P | 68,88 | gf |
| 100:FC3P | 64,67 | g |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

En la prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepa se identificaron 7 grupos a, b, c, d, e, f y g, la interacción Dosis*Cepa que mayor inhibición presentó fue la interacción 10:FC2R con un promedio de 83,77% ubicándose en el grupo a y la que menor inhibición presentó fue la interacción 100:FC3P con un promedio de 64,67,85% ubicándose en el grupo g.

4.3 CL₅₀ de los aislados de *Fusarium circinatum* enmendados con los diferentes fungicidas

Tabla 4-31: CL₅₀ de los aislados de *Fusarium circinatum* enmendados con los diferentes fungicidas

| Fungicidas | CL ₅₀ (ug mL ⁻¹) | | |
|----------------------------|---|--------|--------|
| | N ^a | Mínimo | Máximo |
| Pyraclostrobin | 6 | 0,0036 | 119 |
| Metil tiofanato | 6 | 8,65 | >1000 |
| Tebuconazol | 6 | 0,0024 | 82,60 |
| Boscalid | 6 | 0,0059 | >1000 |
| Extracto de tomillo | 6 | 0,23 | >1000 |
| Extracto de té | 6 | 1020 | >1000 |

^a: número de cepas utilizadas para cada uno de los cálculos de la CL₅₀

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

La menor de todas las CL₅₀ en promedio correspondido para el fungicida Tebuconazol con una CL₅₀ mínima de 0,0024 µg/ml seguido del fungicida Pyraclostrobin 0,0036 µg/ml y las mayores CL₅₀ promedio correspondieron para los productos Y las mayores CL₅₀ corresponden a los fungicidas Metil tiofanato, Boscalid y los bioproductos de extracto de tomillo y extracto de té. con valores que superaron los 1000 µg/ml (Tabla 4-31).

Tabla 4-32: CL₅₀ de cada cepa y fenotipo detectados para Pyraclostrobin

| Cepa | CL₅₀ promedio | Fenotipo |
|-------------|---------------------------------|--------------------------------|
| FC1P | 0,004 | Muy sensible (MS) |
| FC2P | 47 | Moderadamente resistentes (MR) |
| FC3P | 0,005 | Muy sensible (MS) |
| FC1R | 51 | Moderadamente resistentes (MR) |
| FC2R | 51 | Moderadamente resistentes (MR) |
| FC3R | 119 | Resistencia alta (RA) |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

La menor CL₅₀ (0,004 ug/mL) correspondió a la cepa FC1P que proviene de la especie *Pinus patula* y la mayor CL₅₀ (119 ug/mL) correspondió a la cepa FC3R proveniente de la especie *Pinus radiata*. Para este principio activo de Pyraclostrobin se encontraron 3 cepas moderadamente resistentes (FC2P, FC1R y FC2R), con resistencia alta una cepa (FC3R) y muy sensibles con dos cepas (FC1P y FC3P), como se muestra en la (tabla 4-32), según la escala de sensibilidad propuesta por Liu (2020).

Tabla 4-33: CL₅₀ de cada cepa y fenotipo detectados para Metil tiofanato

| Cepa | CL₅₀ promedio | Fenotipo |
|-------------|---------------------------------|--------------------------------|
| FC1P | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |
| FC2P | 84 | Moderadamente resistentes (MR) |
| FC3P | 73 | Moderadamente resistentes (MR) |
| FC1R | 20 | Sensible (S) |
| FC2R | 34 | Moderadamente resistentes (MR) |
| FC3R | 9 | Muy sensible (MS) |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

La menor CL₅₀ (9 ug/mL) correspondió a la cepa FC3R que proviene de la especie *Pinus radiata* y la mayor CL₅₀ (>1000 ug/mL) correspondió a la cepa FC1P proveniente de la especie *Pinus patula*. Para este principio activo de Metil tiofanato se encontraron 3 cepas moderadamente resistentes (FC2P, FC3P y FC2R), con muy alta resistencia una cepa (FC1P), sensibles una cepa (FC1R) y muy sensible una cepa (FC3R), como se muestra en la (tabla 4-33), según la escala de sensibilidad propuesta por Liu (2020).

Tabla 4-34: CL₅₀ de cada cepa y fenotipo detectados para Tebuconazol

| Cepa | CL ₅₀ promedio | Fenotipo |
|------|---------------------------|--------------------------------|
| FC1P | 1,0 | Muy sensible (MS) |
| FC2P | 82,6 | Moderadamente resistentes (MR) |
| FC3P | 0,6 | Muy sensible (MS) |
| FC1R | 2,2 | Muy sensible (MS) |
| FC2R | 0,5 | Muy sensible (MS) |
| FC3R | 0,002 | Muy sensible (MS) |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

La menor CL₅₀ (0,002 ug/mL) correspondió a la cepa FC3R que proviene de la especie *Pinus radiata* y la mayor CL₅₀ (82,6 ug/mL) correspondió a la cepa FC2P proveniente de la especie *Pinus patula*. Para este principio activo de Tebuconazol se encontraron 5 cepas muy sensibles (FC1P, FC3P, FC1R, FC2R y FC3R), y la cepa que se mostró moderadamente resistente fue una cepa (FC2P), como se muestra en la (tabla 4-34), según la escala de sensibilidad propuesta por Liu (2020).

Tabla 4-35: CL₅₀ de cada cepa y fenotipo detectados para Boscalid

| Cepa | CL ₅₀ promedio | Fenotipo |
|------|---------------------------|----------------------------|
| FC1P | 941 | Muy alta resistencia (MAR) |
| FC2P | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |
| FC3P | 128 | Resistencia alta (RA) |
| FC1R | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |
| FC2R | 1,63 | Muy sensible (MS) |
| FC3R | 0,006 | Muy sensible (MS) |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

La menor CL₅₀ (0,006 ug/mL) correspondió a la cepa FC3R que proviene de la especie *Pinus radiata* y la mayor CL₅₀ (>1000 ug/mL) correspondió a la cepa FC2P proveniente de la especie *Pinus patula*. Para este principio activo de Boscalid se encontraron 3 cepas con muy alta resistencia (FC1P, FC2P y FC1R), la cepa que se mostró con resistencia alta fue una cepa (FC3P), además se presentaron dos cepas como muy sensible (FC2R y FC3R) como se muestra en la (tabla 4-35), según la escala de sensibilidad propuesta por Liu (2020).

Tabla 4-36: CL₅₀ de cada cepa y fenotipo detectados para extracto de tomillo

| Cepa | CL ₅₀ promedio | Fenotipo |
|------|---------------------------|----------|
|------|---------------------------|----------|

| | | |
|-------------|-------|----------------------------|
| FC1P | 0,23 | Muy sensible (MS) |
| FC2P | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |
| FC3P | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |
| FC1R | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |
| FC2R | 281 | Resistencia alta (RA) |
| FC3R | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

La menor CL_{50} (0,23 ug/mL) correspondió a la cepa FC1P que proviene de la especie *Pinus patula* y la mayor CL_{50} (>1000 ug/mL) correspondió a la cepa FC3R proveniente de la especie *Pinus radiata*. Para este principio activo de extracto de tomillo se encontraron 4 cepas con muy alta resistencia (FC2P, FC3P, FC1R y FC3R), una cepa se mostró con resistencia alta fue la cepa (FC2R), y la única cepa que se mostró como muy sensible fue la cepa (FC1P), como se muestra en la (tabla 4-36), según la escala de sensibilidad propuesta por Liu (2020).

Tabla 4-37: CL_{50} de cada cepa y fenotipo detectados para extracto de té

| Cepa | CL_{50} promedio | Fenotipo |
|-------------|--------------------------------------|----------------------------|
| FC1P | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |
| FC2P | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |
| FC3P | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |
| FC1R | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |
| FC2R | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |
| FC3R | >1000 | Muy alta resistencia (MAR) |

Realizado por: Miranda Maribel, 2023.

La menor CL_{50} (1020 ug/mL) correspondió a la cepa FC2P que proviene de la especie *Pinus patula* y la mayor CL_{50} ($1,71 \times 10^{42}$ ug/mL) correspondió a la cepa FC2R proveniente de la especie *Pinus radiata*. Para este principio activo de extracto de té todas las cepas se categorizan como muy alta resistencia debido a que todos los valores de la CL_{50} van más allá de 1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$ como se muestra en la (tabla 4-37), según la escala de sensibilidad propuesta por Liu (2020).

4.4 Discusión de resultados

En el presente estudio se comprobó la sensibilidad de los aislados de *F. circinatum* de 3 especies de *Pinus patula* y de 3 especies de *Pinus radiata* ante los principios activos fúngicos Pyraclostrobin, Metil tiofanato, Boscalid, Tebuconazol, extracto de tomillo y extracto de té, los cuales aciertan en los ingredientes activos más utilizados para el control de enfermedades según su modo de acción (Frac, 2019, párr. 3).

Con respecto al porcentaje de inhibición de crecimiento de los aislados de *F. circinatum* en PDA enmendado con diferentes dosis para el principio activo de **Pyraclostrobin**, la TCM menor fue para la dosis de 100 ppm en la cepa de FC1P con el 80,95% de inhibición, por otro lado, la mayor TCM fue para la dosis de 0,1 ppm correspondió a la cepa de FC1R ya que el producto inhibió en un 0,29% lo cual está corroborado con la prueba de Tuckey al 5% para el crecimiento micelial (Tabla 4-8) en la prueba de Tukey al 5% para la variable dosis, la dosis que mayor inhibición presentó fue la dosis de 100 ppm con un promedio de 58,92% y la que menor inhibición presentó fue la dosis de 0,1 ppm con un promedio de 31,74%, en la prueba de Tukey al 5% para la variable cepa, la cepa que mayor inhibición presentó fue la cepa FC1P con un promedio de 75,69% y la que menor inhibición presentó fue la cepa FC2P con un promedio de 27,41% (Tabla 4-9). En la prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepa, la interacción Dosis*Cepa que mayor inhibición presentó fue la interacción 100:FC1P con un promedio de 80,94% y la que menor inhibición presentó fue la interacción 0,1:FC1R con un promedio de 0,28% (Tabla 4-10). En el principio activo **Pyraclostrobin** siendo este un fungicida que pertenece al grupo de los **metoxicarbamatos** y cuyo modo de acción actúa en la respiración en el **complejo 3** inhibiendo la quinona externa lo cual concuerda con Andrade y Mata (2018) que mencionó el crecimiento lento con el tiempo de *Fusarium oxysporum* ante la presencia de **Azoxystrobin**. Se discrepa con lo encontrado por Herrera, et al., (2011), quienes observaron un mínimo efecto inhibitorio de **Azoxystrobin** con dosis del ingrediente activo en un rango de 0-10 ppm. contra *A. alternata* en el desarrollo micelial *in vitro*. Cordero et al., (2010) establecen relación entre *A. alternata* y *Fusarium* spp. siendo responsables de la pudrición y necrosis en diferentes especies vegetales.

Para el principio activo de **Metil tiofanato**, la TCM menor fue para la dosis de 0,1 ppm en la cepa de FC2P con el 57,99% de inhibición, por otro lado, la mayor TCM fue para la misma dosis de 0,1 ppm la cual correspondió a la cepa de FC3P ya que el producto inhibió en un 16,06% lo cual está corroborado con la prueba de Tuckey al 5% para el crecimiento micelial (Tabla 4-12) en la prueba de Tukey al 5% para la variable dosis, la dosis que mayor inhibición presentó fue la dosis de 100 ppm con un promedio de 45,65% y la que menor inhibición presentó fue la dosis de 0,1

ppm con un promedio de 34,63%. En la prueba de Tukey al 5% para la variable cepa, la cepa que mayor inhibición presentó fue la cepa FC2P con un promedio de 47,72% y la que menor inhibición presentó fue la cepa FC3P con un promedio de 28,39% (Tabla 4-13). En la prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepa, la interacción Dosis*Cepa que mayor inhibición presentó fue la interacción 0,1:FC2P con un promedio de 57,99% y la que menor inhibición presentó fue la interacción 0,1:FC3P con un promedio de 16,05%. En el principio activo **metil tiofanato** no tuvo efecto inhibitorio sobre las cepas de *F. circinatum*, por lo cual, fueron categorizadas como moderadamente resistente, esto concuerda con los resultados de susceptibilidad de las cepas (González et al., 2022, p. 19). Santamaria et al., (2005, p. 1) que determinó y comparó el efecto del metil tiofanato sobre el crecimiento *in vitro* de *F. oxysporum* spp. a diversas **concentraciones** con una CL_{50} para *F. oxysporum* a partir de 61,32 ppm a 82,8 ppm, la resistencia de otras especies de *Fusarium* a metil tiofanato no es conferido por una **mutación puntual** de la secuencia codificante de β -tubulina, podría deberse a la ausencia de motivos proteicos, no existió una variación en el **gen GPDH** con la resistencia.

Para el principio activo de **Tebuconazol**, la TCM menor fue para la dosis de 100 ppm en la cepa de FC1P con el 83,02% de inhibición, por otro lado, la mayor TCM fue para la dosis de 0,1 ppm la cual correspondió a la cepa de FC2P ya que el producto inhibió en un 11,87% lo cual está corroborado con la prueba de Tuckey al 5% para el crecimiento micelial (Tabla 4-16) en la prueba de Tukey al 5% para la variable dosis, la dosis que mayor inhibición presentó fue la dosis de 100 ppm con un promedio de 73,11% y la que menor inhibición presentó fue la dosis de 0,1 ppm con un promedio de 43,51%, en la prueba de Tukey al 5% para la variable cepa, la cepa que mayor inhibición presentó fue la cepa FC3R con un promedio de 71,41% y la que menor inhibición presentó fue la cepa FC2P con un promedio de 32,96% (Tabla 4-17), en la prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepa, la interacción Dosis*Cepa que mayor inhibición presentó fue la interacción 100:FC1P con un promedio de 83,01% y la que menor inhibición presentó fue la interacción 0,1:FC2P con un promedio de 11,86% (Tabla 4-18). En el principio activo de **Tebuconazol** se encontró la menor CL_{50} que correspondió para el aislado de **FC1P** el cual es un fungicida que pertenece al grupo de los **triazoles** y cuyo modo de acción es inhibir la biosíntesis del **esterol** en las membranas. Un comportamiento similar ha sido observado cuando este fungicida fue utilizado para el control en granos de cereales de *Fusarium* spp. (Kang et al., 2001; Heinze and Dutzman, 2004). Otros **triazoles** como **fluconazol**, **itraconazol**, **posaconazol** han mostrado elevada efectividad para controlar *Fusarium* spp. en diferentes cultivos de soya y orégano (Kopacki et al., 2006; Deepak and Lal, 2009; Jahanshir, 2010).

Para el principio activo de **Boscalid**, la TCM menor fue para la dosis de 100 ppm en la cepa de FC2P con el 79,66% de inhibición, por otro lado, la mayor TCM fue para la dosis de 0,1 ppm la cual correspondió a la cepa de FC3P ya que el producto inhibió en un 17,77% lo cual está corroborado con la prueba de Tuckey al 5% para el crecimiento micelial (Tabla 4-20) en la prueba de Tukey al 5% para la variable dosis, la dosis que mayor inhibición presentó fue la dosis de 100 ppm con un promedio de 62,74% y la que menor inhibición presentó fue la dosis de 0,1 ppm con un promedio de 50,39%. En la prueba de Tukey al 5% para la variable cepa, la cepa que mayor inhibición presentó fue la cepa FC1P con un promedio de 73,22% y la que menor inhibición presentó fue la cepa FC3P con un promedio de 30,60% (Tabla 4-21). En la prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepa, la interacción Dosis*Cepa que mayor inhibición presentó fue la interacción 100:FC2P con un promedio de 79,66% y la que menor inhibición presentó fue la interacción 0,1:FC3P con un promedio de 17,76% (Tabla 4-22). En el principio activo **Boscalid** no tuvo efecto inhibitorio sobre todas las cepas de *Fusarium* estudiadas la tasa de crecimiento micelial fue alta para todas las mayorías de las dosis y la **CL₅₀** fue de >1000 al ser clasificados en la escala de sensibilidad propuesta por **Liu, (2020)** la mayoría de las cepas fueron **MAR Y RA**, estos resultados no concuerdan con Masiello et al.(2019, p. 5) en especies de *Fusarium* se vieron ligeramente influenciadas por la concentración más altas valor de **inhibición** de hasta el 30%, después de 10 días de **incubación**, todas las especies de *Fusarium* pudieron crecer en presencia de Boscalid incluso a las concentraciones más altas (valores de inhibición de 0 a 7%).

Para el principio activo de **extracto de tomillo**, la TCM menor fue para la dosis de 0,1 ppm en la cepa de FC2R con el 54,87% de inhibición, por otro lado, la mayor TCM fue para la dosis de 100 ppm la cual correspondió a la cepa de FC3P ya que el producto inhibió en un 10,86% lo cual está corroborado con la prueba de Tuckey al 5% para el crecimiento micelial (Tabla 4-24) en la prueba de Tukey al 5% para la variable dosis, las dosis que mayor inhibición presentó fue la dosis de 1 ppm con un promedio de 43,44% y las que menor inhibición presentó fue la dosis de 100 ppm con un promedio de 30,35%. En la prueba de Tukey al 5% para la variable, la cepa que mayor inhibición presentó fue la cepa FC2R con un promedio de 50,24% y la que menor inhibición presentó fue la cepa FC3P con un promedio de 31,18% (Tabla 4-25). En la prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepa, la interacción Dosis*Cepa que mayor inhibición presentó fue la interacción 0,1:FC2R con un promedio de 54,86% y la que menor inhibición presentó fue la interacción 100:FC3P con un promedio de 10,85% (Tabla 4-26). En el caso del **extracto vegetal** no tiene efecto inhibitorio sobre las cepas de *Fusarium* estudiadas, la tasa de crecimiento micelial fue alta para todas las especies y en todas las dosis, la **CL₅₀** fueron **resistentes**, los resultados realizados no concuerdan con los estudios realizados extracto de

tomillo (*Thymus vulgaris*) inhibe el crecimiento en mayor **proporción** a *Fusarium oxysporum in vitro* con un porcentaje de inhibición en el día 7 de 74% (Liscano, 2007, p. 56).

Para el principio activo de **extracto de té**, la TCM menor fue para la dosis de 10 ppm en la cepa de FC2R con el 83,78% de inhibición, por otro lado, la mayor TCM fue para la dosis de 100 ppm la cual correspondió a la cepa de FC3P ya que el producto inhibió en un 64,68% % lo cual está corroborado con la prueba de Tuckey al 5% para el crecimiento micelial (Tabla 4-28) en la prueba de Tukey al 5% para la variable dosis, las dosis que mayor inhibición presentó fue la dosis de 0,1 ppm con un promedio de 78,92% y las que menor inhibición presentó fue la dosis de 100 ppm con un promedio de 72,23%. En la prueba de Tukey al 5% para la variable cepa, la cepa que mayor inhibición presentó fue la cepa FC2R con un promedio de 81,62% y la que menor inhibición presentó fue la cepa FC3P con un promedio de 69,17% (Tabla 4-29). En la prueba de Tukey al 5% para la variable interacción Dosis*Cepa, la interacción Dosis*Cepa que mayor inhibición presentó fue la interacción 10:FC2R con un promedio de 83,77% y la que menor inhibición presentó fue la interacción 100:FC3P con un promedio de 64,67,85% (Tabla 4-30). En el caso del **extracto vegetal árbol de té** no tiene efecto inhibitorio sobre las cepas de *Fusarium* estudiadas, la tasa de crecimiento micelial fue alta para todas las especies y en todas las dosis, la **CL₅₀** fueron resistentes, los resultados realizados no concuerdan con los estudios realizados por Valencia et al., 2018 ya que en este estudio presentaron mayor porcentaje de inhibición contra los diferentes tipos de *Fusarium* evaluados por el método de **dilución** en agar. Los extractos de aceite de árbol de té (*Melaleuca alternifolia*) inhibieron a *F. verticillioides* entre 62 y 91 %. Las especies de hongos **inhibidas** por el extracto de té fueron: *F. verticillioides* y *F. oxysporum*.

El cálculo de la concentración letal 50 (CL₅₀) en cada uno de los productos en análisis corrobora con los resultados del estudio, La menor de todas las CL₅₀ en promedio correspondido para el fungicida Tebuconazol con una CL₅₀ de 14,49 µg/ml y la mayor CL₅₀ fue para el fungicida Boscalid con una CL₅₀ >1000, y las mayores CL₅₀ promedio correspondieron para los productos Metil tiofanato, Extracto de tomillo y Extracto de té con valores que superaron los 1000 µg/ml (Tabla 4-31).

Mediante el estudio realizado se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna que menciona al menos uno de fungicidas y bioproductos presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial de las cepas de *Fusarium circinatum*.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Para el principio activo de Pyraclostrobin se encontraron 3 cepas moderadamente resistentes (FC2P, FC1R y FC2R), con resistencia alta una cepa (FC3R) y muy sensibles con dos cepas (FC1P y FC3P).

Para el principio activo de Metil tiofanato se encontraron 3 cepas moderadamente resistentes (FC2P, FC3P y FC2R), con muy alta resistencia una cepa (FC1P), sensibles una cepa (FC1R) y muy sensible una cepa (FC3R).

Para el principio activo de Tebuconazol se encontraron 5 cepas muy sensibles (FC1P, FC3P, FC1R, FC2R y FC3R), y la cepa que se mostró moderadamente resistente fue una cepa (FC2P).

Para el principio activo de Boscalid se encontraron 3 cepas con muy alta resistencia (FC1P, FC2P y FC1R), la cepa que se mostró con resistencia alta fue una cepa (FC3P), además se presentaron dos cepas como muy sensible (FC2R y FC3R).

Para el principio activo de extracto de tomillo se encontraron 4 cepas con muy alta resistencia (FC2P, FC3P, FC1R y FC3R), una cepa se mostró con resistencia alta fue la cepa (FC2R), y la única cepa que se mostró como muy sensible fue la cepa (FC1P).

Para el principio activo de extracto de té todas las cepas se categorizan como muy alta resistencia debido a que todos los valores de la CL_{50} van más allá de 1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$.

La mínima CL_{50} de todos los productos ensayados fue el fungicida Tebuconazol, seguido del fungicida Pyraclostrobin. Y las mayores CL_{50} corresponden a los fungicidas Metil tiofanato, Boscalid y los bioproductos de extracto de tomillo y extracto de té.

5.2 RECOMENDACIONES

- Realizar más estudios de sensibilidad *in vitro* utilizando principios activos diferentes a los utilizados en este estudio para el control de *Fusarium circinatum* tales como: Azoxystrobin, Cyprodinil, Difenconazol, Tiabendazol y Sulfato de cobre pentahidratado.
- Realizar estudios a nivel de vivero aplicando Pyraclostrobin y Tebuconazol que fueron los productos que mejor funcionaron *in vitro* para poder observar su efecto en condiciones de campo.
- Utilizar, más aislados de *F. circinatum* de otros sectores diferentes utilizados en estudio.

GLOSARIO

Agente causal: microorganismo del ambiente que, por sus propiedades, puede causar problemas fitosanitarios al hospedero (Massalimov et al., 2017: p.307).

Cepas: son el material básico para el desarrollo de cualquier especie de hongo a nivel de laboratorio (Mata y Salmones, 2021: p.29).

Concentración: magnitud que expresa la cantidad de una sustancia por unidad de volumen, y cuya unidad en el sistema internacional es el mol por metro cúbico (mol/m^3) (RAE, 2021).

Crecimiento micelial: desarrollo del micelio por el contacto entre esporas con un entorno favorable y con suficientes nutrientes (Dulay et al., 2020: p.2).

Diluciones: reducción de la concentración de sustancias químicas en una solución (Bolívar, 2021).

Dispensado: llenado de recipientes con el volumen necesario de medio (Merck, 2022).

Concentración Letal 50 (CL₅₀): es la dosis de una sustancia, que se espera que produzca un determinado efecto en el 50% de los organismos de experimentación de una población dada, bajo un conjunto de condiciones definidas (Espinoza et al., 2017, p.194).

Efecto inhibitorio: capacidad de una sustancia para inhibir o controlar las funciones de un organismo a través de un estímulo determinado (Cognifit, 2021).

Esporas: es una célula reproductiva de los hongos que tiene la capacidad de dividirse y formar un nuevo individuo (MedlinePlus, 2022).

Inhibición: suspender transitoriamente una función o actividad del organismo mediante la acción de un estímulo adecuado (RAE, 2022).

In vitro: referente que se encuentra en medio de cultivo (Peña y Páez, 2014).

Medio enmendado: es la mezcla de medio de cultivo con cualquier sustancia ajena a este (Arce, 2019: p.385)

Micelio: es una red de hifas o filamentos que se conforman de filas de células dispuestas en hilera (Droppelmann, 2022).

Principio activo: cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinada a ser utilizada en la fabricación de un producto (Barrantes, 2022).

Sensibilidad: el cambio de una variable frente a la variación en un factor que pueda impactar en su valor ya sea positiva o negativamente (Westreicher, 2020).

Solución stock: es una solución de concentración conocida, que sirve como base para preparar para la dilución otras soluciones en concentraciones más pequeñas (Kripkit, 2020).

Tasa de crecimiento micelial: determinado por las condiciones ambientales como nutrientes, temperatura y humedad. Si las condiciones ambientales son correctas, las esporas que se adhieren a las superficies germinarán y los micelios comenzarán a crecer (Suconel, 2013: p.3).

BIBLIOGRAFÍA

1. **AEGERTER, B. & WOOD, D. L.** *Pitch Canker* [en línea] A Technical Review. University of California. Agriculture and Natural Resources, 2003. [Consulta: 02 de mayo de 2023]. Disponible en: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=F8I_iGGQNwC&oi=fnd&pg=PA1&dq=AEGERTER,+B.++%26++WOOD,+D.++L.++P+itch++Canker.++A++Technical+Review.+University+of+California.+Agriculture+and+Natural+Resources,+2003.+P.+13.&ots=iHPaSiG62C&sig=fpZFUvyOOj07dQLy8HgyEYLeeFs#v=onepage&q=AEGERTER%2C%20B.%20%20%26%20%20WOOD%2C%20%20D.%20%20L.%20%20Pitch%20%20Canker.%20%20A%20%20Technic al%20Review.%20University%20of%20California.%20Agriculture%20and%20Natural%20Resources%2C%202003.%20P.%2013.&f=false
2. **AGRIOS, GEORGE.** *Plant Pathology* [en línea] 1aed. United States of America: Elsevier Academic Press, 2005. [Consulta: 19 julio 2023]. Disponible en: ISBN 0-12-044565-4
3. **AGUILERA BLANCO, Ana María.** *Sensibilidad de aislados de Neopestalotiopsis spp.* Obtenidos de fresa a fungicidas de diferente modo de acción [en línea] Tesis Doctoral. Universidad Autónoma Chapingo, 2023. [Consulta: 19 julio 2023].
4. **ALMACELLAS, J.; & MARÍN, J.** “¿Tenemos resistencias a fungicidas? Situación en España y su manejo” *Phytoma* [en línea] (España) (237), pp. 32 – 38. 2013. [Consulta: 23 mayo 2023]. Disponible en: https://www.phytoma.com/images/247_fungicidas.pdf
5. **BRITZ, H., et al.** *Fusarium subglutinans* sp. nov. represents a distinct mating population in the *Gibberella fujikuroi* species complex. (1991). *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3), pp.1198–1201.
6. **CAMPBELL, SALLY J., et al.** *Target seedling symposium: Proceedings, combined meeting of the Western Forest Nursery Associations* [en línea] Roseburg, Oregon. Fort Collins. August 13-17, 1990. [Consulta: 16 abril 2023]. Disponible en: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=FtZRAQAAMAAJ&oi=fnd&pg=PA9&dq=Landis,+Thomas,+Rose,+Robin+y+Campbell,+Sally.+Target+Seedling+Symposium :+Proceedings,+Combined+Meeting+of+the+Western+Forest+Nursery+Associations.+>

Fort+Collins:+s.n.,+1990&ots=YABV3NV-
dj&sig=mG9rbYAiK1JmVbYLtchOcNqe1-U#v=onepage&q&f=false

7. **CARRIÓN, D Y M. CHÍU.** *Documento del Programa Nacional REDD. Sexta reunión de la Junta Normativa del Programa ONU-REDD* [en línea] 2011 [Consulta: 04 de mayo de 2023]. Disponible en: <http://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5922/1/Informe%20Anual%20Programa%20Forester%C3%ADa%202021.pdf>
8. **CIBRIÁN, T.; & GARCÍA.** *Manual de identificación y manejo de plagas y enfermedades en germoplasma y planta producida en viveros* [en línea] CONAFOR, 2008, p. 6. [Consulta: 21 abril 2023]. Disponible en: https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/15374/mod_resource/content/0/Enfermedades_2013/Lectura_obligatoria_yo_complementaria/Vol_5_cap_1.pdf
9. **CONAFOR,** La CONAFOR incrementa la calidad de la producción de planta. [en línea] 2015. Boletín informativo 154. [Consulta: 04 de mayo de 2023]. Disponible en: www.conafor.gob.mx:8080/documentos/download.aspx?articulo=6426
10. **DON, D.** *Descriptions of Five new Species of the Genus Pinus, discovered* [en línea] by Dr. Coulter in California. Transactions of the Linnean Society of London, 1836, no 3, p. 439-444. [Consulta: 01 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.gbif.org/dataset/046bbc50-cae2-47ff-aa43-729fbf53f7c5>
11. **DVORAK, W., ET AL.** *Genetic variation in survival, growth, and stem form of Pinus leiophyllain Brazil and South Africa and provenance resistance to pitch canker* [en línea] Southern Hemisphere Forestry Journal, 69(3), 2007. Pp 125–135. [Consulta: 21 abril 2023]. Disponible en: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2989/SHFJ.2007.69.3.1.351?casa_token=0pJhGeMLcQwAAAAA:CBxv3DR-moUS8QiTzbXdlzu6z8X394kvxniCNYZrF8lc-JKGse78sL3Sa-BrDUN4GDoz_IpBcO0FGI
12. **ECUADOR FORESTAL.** *Ficha técnica nº 13 de Pino radiata. Ecuador foresta* [en línea] 2010, pp. 1-2 [Consulta: 22 de julio de 2023] Disponible en: <http://ecuadorforestal.org/wpcontent/uploads/2010/08/PINO.pdf>

13. **FISHER, R. A., & GOLLAN, B.** *Cross-resistance and collateral sensitivity in bacteria: implications for antibiotic therapy.* *Antibiotics*, 2018.
14. **FLORES PACHECO, Juan Asdrúbal, et al.** *Evaluación de la susceptibilidad de procedencias europeas de Pinus sylvestris frente al chancro resinoso del pino (Fusarium circinatum).* 2015.
15. **FLORES-PACHECO, J. A.** *Chancro resinoso del pino (Fusarium circinatum) historia, evolución, dispersión y estrategias de manejo* [en línea] Barcelona- España, 2017, p. 23. [Consulta: 02 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://revistasnicaragua.cnu.edu.ni/index.php/nexo/article/view/4728>
16. **GALAN, P.** *Pinus radiata D. Don. Arboles ibéricos* [en línea] 2007. [Consulta: 22 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.arbolesibericos.es/genre/pinus/species/pinusradiata>
17. **GARCÍA-DÍAZ, Silvia E., et al.** Efecto de *Fusarium circinatum* en la germinación y crecimiento de plántulas de *Pinus greggii* en tres sustratos. *Agrociencia*, 2017, vol. 51, no 8, p. 895-908.
18. **GORDON, T. & WINGFIELD.** "Management of *Fusarium* diseases affecting conifers". *Crop Protection*, [en línea] (United State of America), 73, pp. 28–39, 2015. [Consulta: 10 de julio 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.018>
19. **HOFSTEDE, ROBERT GERARDUS MARIA; LIPS, JOHANNA M.; JONGSMA, WIBOLD.** *Geografía, ecología y forestación de la Sierra Alta del Ecuador* [en línea] 1998. [Consulta: 20 de julio de 2023]. Disponible en: http://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://digitalrepository.unm.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1445&context=abya_yala
20. **LIU, J., HUANG, X., CHEN, F., CHENG, H., & WANG, X.** *Antifungal activity of copper-based compounds against six species of fruit rot fungi* [en línea] *Journal of Fungi*, 6(1), 18, 2020. [Consulta: 20 de julio de 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof6010018>

21. **LIU, Z., LI, X., LI, C., LI, L., CHEN, X., & CHEN, Y.** *Fungicide resistance management in crop pathogens: current status and future perspectives* [en línea] 2020 Plant Disease, 104(4), 1024-1034. [Consulta: 20 de julio de 2023].
22. **LOVATO, A.; GUTIÉRREZ, S.; & CARMONA, M.** “Sensibilidad in vitro de *Trichoconiella padwickii* a diversos principios activos usados como fungicidas en el cultivo del arroz”. Revista Argentina de Microbiología [en línea] (Argentina) 49(1), pp. 70-74, 2017. [Consulta: 29 marzo 2023]. ISSN: 0325 – 7541. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2130/213050529011.pdf>
23. **MALDONADO GUERRÓN.** *Pruebas de sensibilidad de dos fungicidas unisitio para el control de Botrytis sp.* [en línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. 2018. p. 19. [Consulta: 22 de mayo 2023]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/16094/1/T- UCE-0001-CAG- 017.pdf>
24. **MARTÍNEZ, M.** *Los Pinos Mexicanos* [en línea] 2da. ed. Ediciones Botas, México, D.F. pp 366. 1948. [Consulta: 22 de julio de 2023]. Disponible en: <https://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15943/1/33T00324.pdf>
25. **McGrath, M.** *¿Qué son los fungicidas?* [en línea] EEUU. APS: Cornell University. p. 5. 2014. [Consulta: 30 mayo 2023]. Disponible en: https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/23852/mod_resource/content/1/Que%20son%20los%20fungicidas.pdf
26. **MENDIOLA, ALFREDO, et al.** *Estructuración económica y financiera de un instrumento de participación en negocios forestales: el caso de la teca en la región San Martín* [en línea] ESAN/Cendoc ediciones. 2016. [Consulta: 20 de julio de 2023]. Disponible en: http://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://repositorio.esan.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12640/102/Gerencia_para_el_desarrollo_58.pdf?sequence=1&isAllowed=y

27. **MINGA, DANILO Y VERDUGO, ADOLFO.** *ÁRBOLES Y ARBUSTOS DE LOS RÍOS DE CUENCA* [en línea] Cuenca: Don Bosco pp. 168, 2016 [Consulta: 22 de julio de 2023] Disponible en: <https://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/8784>
28. **NATIONAL PESTICIDE INFORMATION CENTER.** *Fungicides* [en línea] 2019. [Consulta: 9 de julio de 2023.] Disponible en: <http://npic.orst.edu/ingred/ptype/fungicide.html>.
29. **NIRENBERG, H. I., & O'DONNELL, K.** "New *Fusarium* Species and Combinations within the *Gibberella fujikuroi* Species Complex. *Mycologia*" [en línea] 90(3), p.434. 1998. [Consulta: 01 de julio de 2023]. Disponible en: <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/5170Texto%20del%20art%C3%ADculo-17796-2-10-20170913.pdf>
30. **PÉREZ ROBLES, Jesús Adrian.** *Extractos vegetales y Beauveria bassiana como control biológico en plantas de tomate (Solanum lycopersicum L.)* [en línea] (Trabajo de Titulación). (Ingeniería) Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. p. 39. 2020. [Consulta: 22 de abril 2023]. Disponible en: <https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/TecNM/773/1/Tesis%20MCIBQ%202018-2020%20FINAL.pdf>
31. **PÉREZ-RODRÍGUEZ, Luis Roberto, et al.** *Sensibilidad in vitro de hongos fitopatógenos causantes de enfermedades en fresa a controladores biológicos y fungicidas, en el estado de Guanajuato, México* [en línea] Acta universitaria, vol. 29, 2019.
32. **Peterson, M.** *Fusarium species. A British Columbia perspective in forest seedling production.* In: Dumroese, R. K., Riley L. E. (technical coordinators) [en línea] 2008. National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations 2007. Fort Collins (CO): USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station. Proceedings RMRS-P-57: 109-125.
33. **RIVERA, GERMÁN.** *Conceptos Introductorios a la Fitopatología* [en línea] 1aed. Costa Rica. Universidad Estatal a distancia, 2007. [Consulta: 21 junio 2023]. Disponible en:

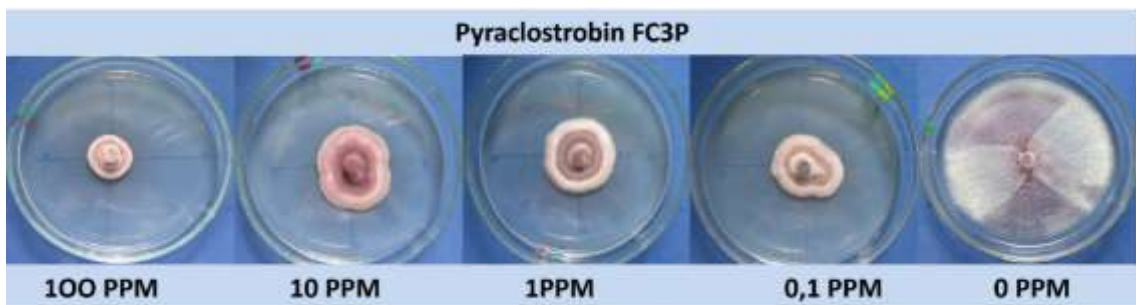
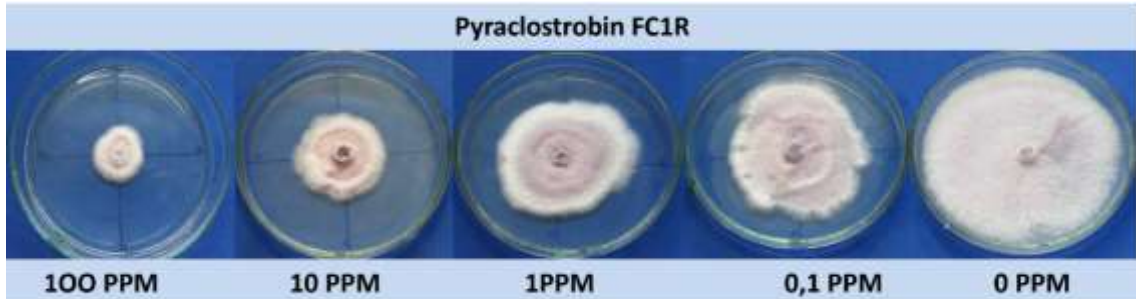
https://books.google.com.ec/books?id=xpTHXEWG_t8C&printsec=frontcover&dq=Conceptos#v=onepage&q=Conceptos&f=false

34. **RODRÍGUEZ RUIZ, Asier.** *Caracterización mecánica, física y térmica de la madera pino Radiata D Don.* [en línea] 2019. [Consultado el 01 de julio de 2023] Disponible en: <https://addi.ehu.es/handle/10810/32238>
35. **ROMERALO, Carmen, et al.** *Vertical transmission of Fusarium circinatum mitoviruses FcMV1 and FcMV2-2 via microconidia. Forests* [en línea] vol. 9, no 6, p. 356. 2018. [Consulta: 26 mayo 2023]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1999-4907/9/6/356>
36. **SAG.** *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell (Hypocreales: Nectriaceae) [en línea] Servicio Agrícola y Ganadero-Chile. 2006, p.1. [Consulta: 26 mayo 2023]. Disponible en: <http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/fusarium-circinatum-nirenberg-odonnell-hypocrealesnectriaceae>
37. **SALAVARRIA MORENO, GISELA TATIANA.** *Exportación de la madera y su impacto en el empleo del Ecuador, un análisis retrospectivo* [en línea] Tesis de Licenciatura. Universidad técnica de Ambato. Ecuador. 2023. [Consulta: 20 de julio de 2023]. Disponible en: <http://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/37976/1/T5786e.pdf>
38. **SALAZAR, RODOLFO; SOIHET, CAROLINA.** *Manejo de semillas de 75 especies forestales de América Latina* [en línea] CATIE, 2001. P 29. [Consulta: 22 de julio de 2023]. Disponible en: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=gUYxSnfIE5AC&oi=fnd&pg=PA57&dq=Las+semillas+de+pino+son+consideradas+ortodoxas,+lo+que+significa+que+pueden+ser+almacenadas+durante+varios+a%C3%B1os+manteniendo+un+contenido+de+humedad+del+8%25+y+almacenadas+a+una+temperatura+de+4%C2%B0C.+&ots=xIDVz7_YIC&sig=Eg8daaXdEfvVj4upXmgh-Uln6xw#v=onepage&q=Pino&f=false
39. **Solano, B. M., y C. D. Brenes.** Evaluación de métodos de curación de sustratos para la prevención del mal de talluelo. [en línea] 2012. Rev. For. Mesoam. Kurú 9: 63-65.

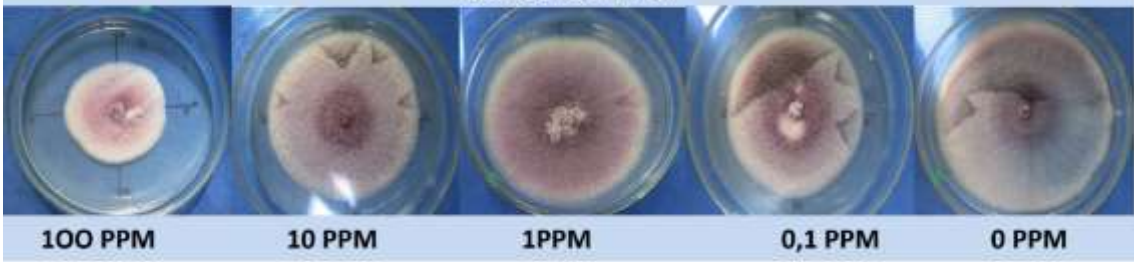
40. **TIXI ÑAMIÑA, Mónica Alexandra.** *Patogenicidad y agresividad de seis aislados de Fusarium circinatum a Pinus spp.* [en línea] 2022. [Consulta: 22 de julio de 2023]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/18195/1/33T00410.pdf>
41. **TOAPANTA, ANA Y JÁCOME, EMERSON.** *Investigación ITC. Caracterización del minador del brote de pino (Clarkeulia sp.) en condiciones de laboratorio* [en línea] 2014. [Consulta: 02 de mayo de 2023]. Disponible en: <http://investigacion.utc.edu.ec/revistasutc/index.php/utciencia/article/view/11/13>
42. **VILLA-MARTÍNEZ, ALEJANDRA, et al.** *Situación actual en el control de Fusarium spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales* [en línea] Acta agronómica, 2015, vol. 64, no 2, p. 194-205. [Consulta: 10 de julio 2023]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-28122015000200011&script=sci_arttext
43. **VINUEZA, MARCO.** *Ecuador forestal. Ficha Técnica No. 14 Pino (Pinus patula)* [en línea] 2013 [Consulta: 04 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://ecuadorforestal.org/fichas-tecnicas-de-especies-forestales/ficha-tecnica-no-14-pino-pinus-patula/#:~:text=El%20Pino%20p%C3%A1tula%2C%20es%20una,de%20plantaciones%20con%20fines%20industriales.&text=Los%20%C3%A1rboles%20maduros%20de%20esta,del%20tro>

ANEXOS

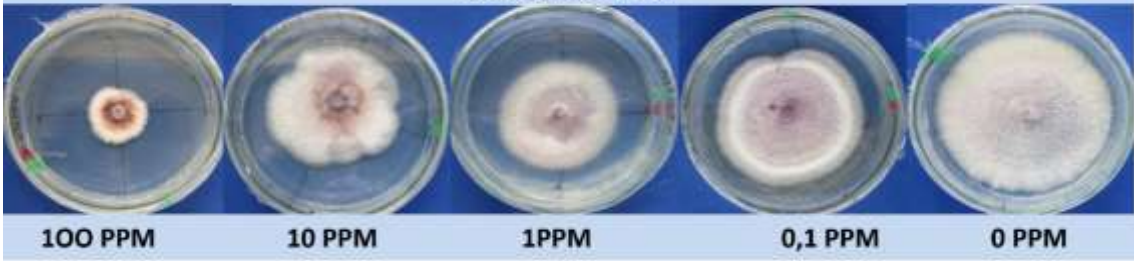
ANEXO A: CRECIMIENTO DE LAS SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* EN LAS CAJAS PETRI ENMENDADO CON PYRACLOSTROBIN



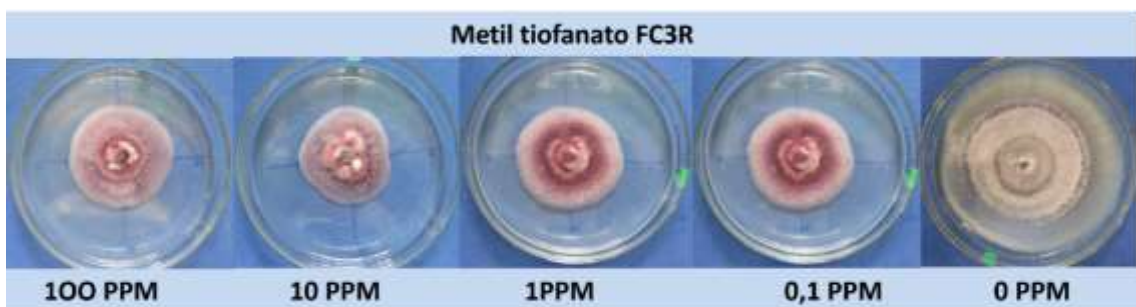
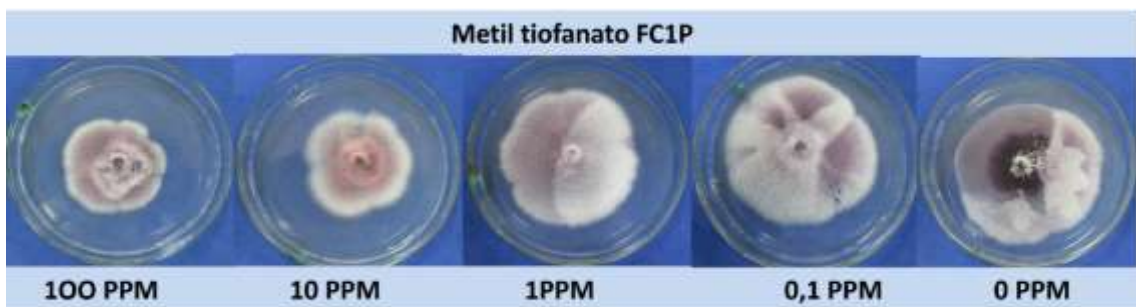
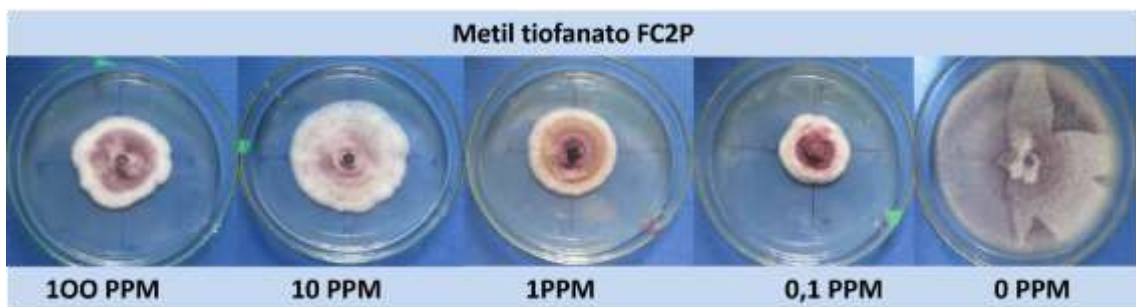
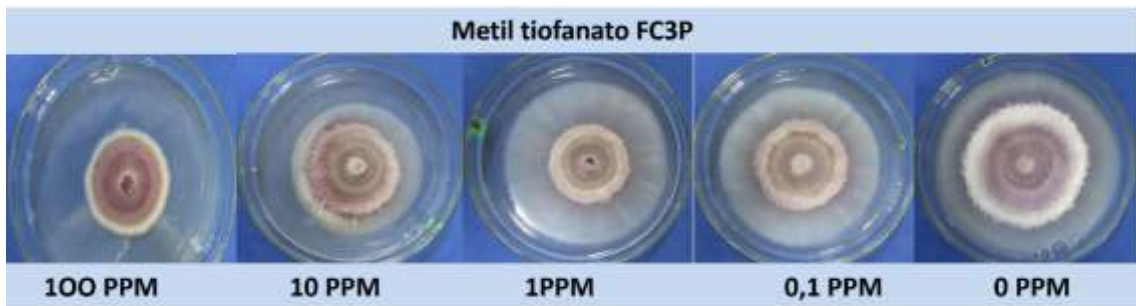
Pyraclostrobin FC2P



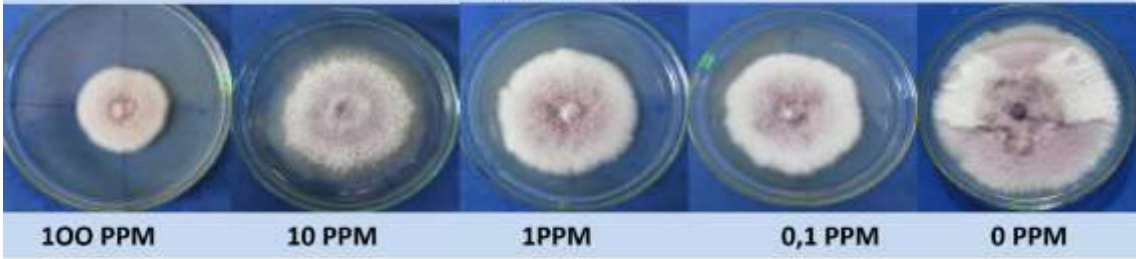
Pyraclostrobin FC1P



ANEXO B: CRECIMIENTO DE LAS SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* EN LAS CAJAS PETRI ENMENDADO CON METIL TIOFANATO



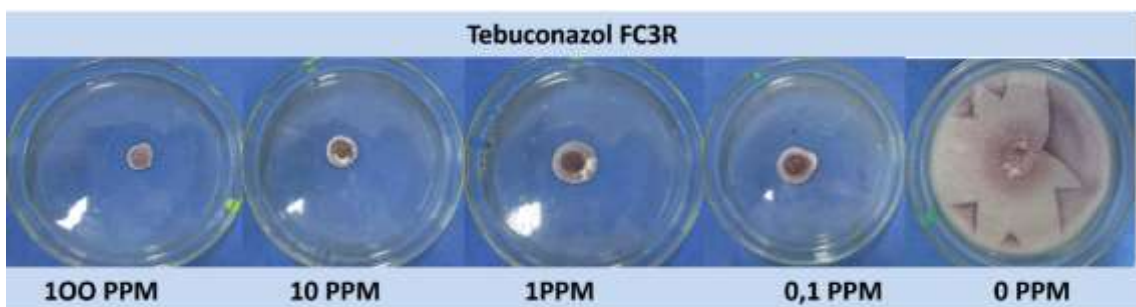
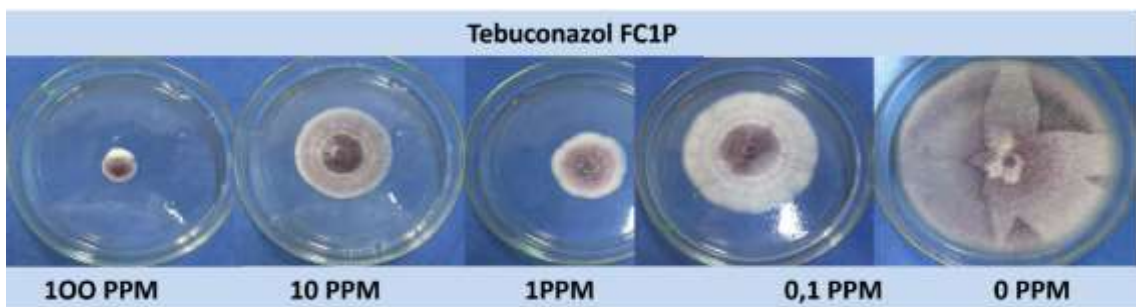
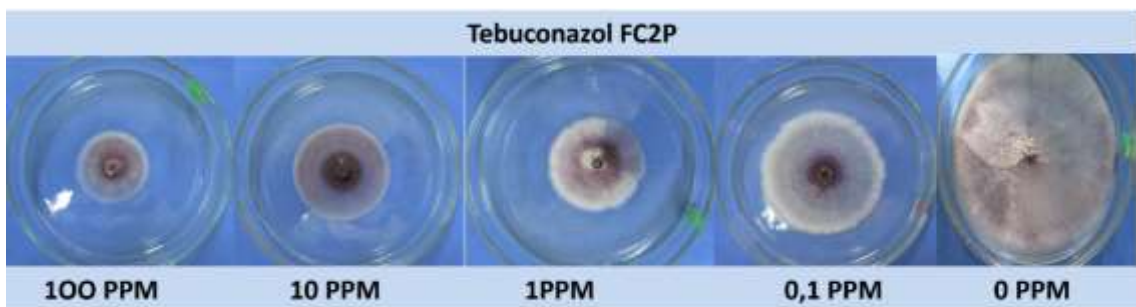
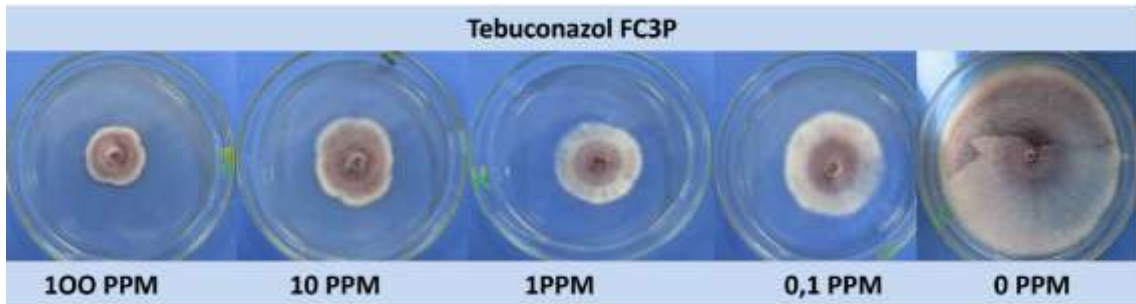
Metil tiofanato FC2R



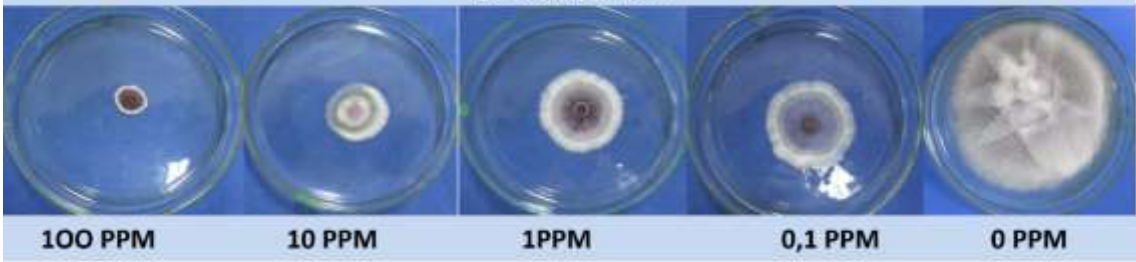
Metil tiofanato FC1R



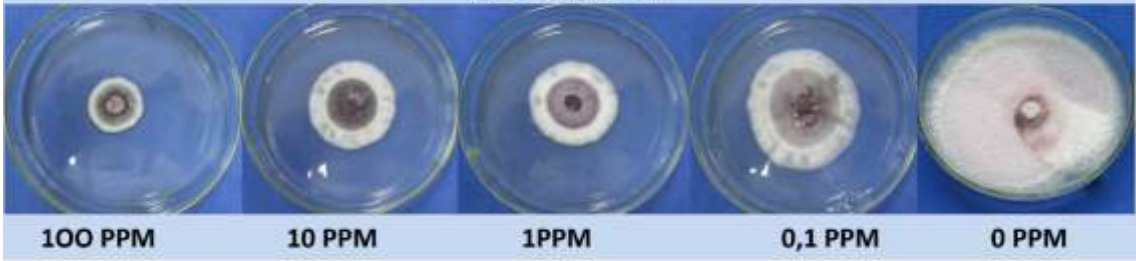
ANEXO C: CRECIMIENTO DE LAS SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* EN LAS CAJAS PETRI ENMENDADO CON TEBUCONAZOL



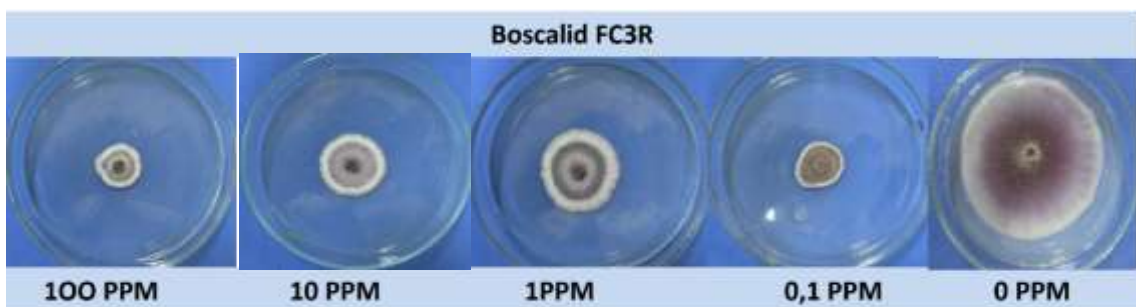
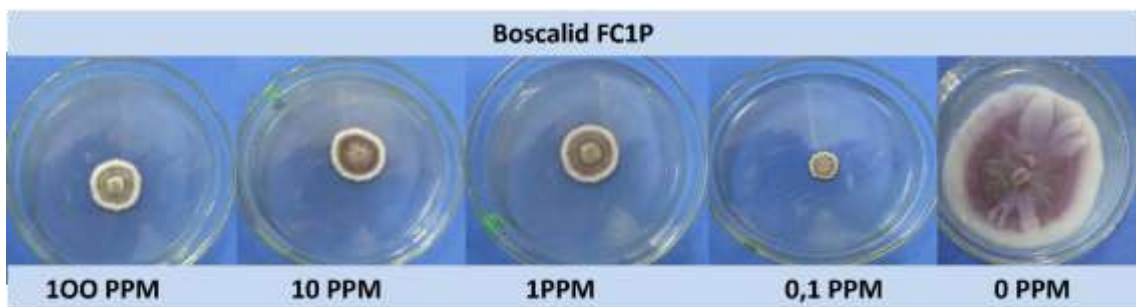
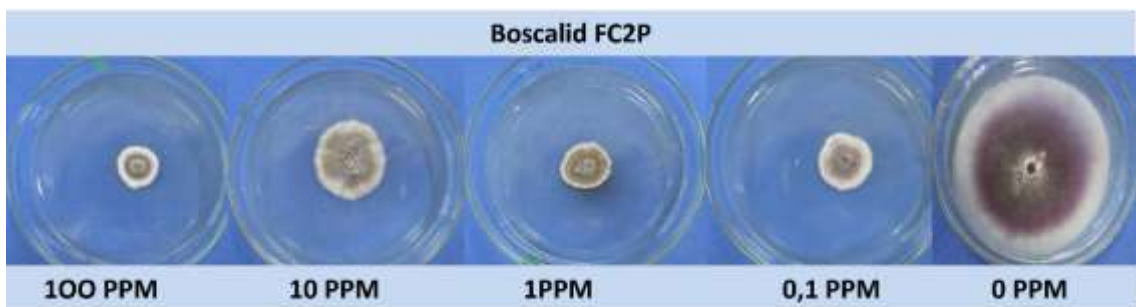
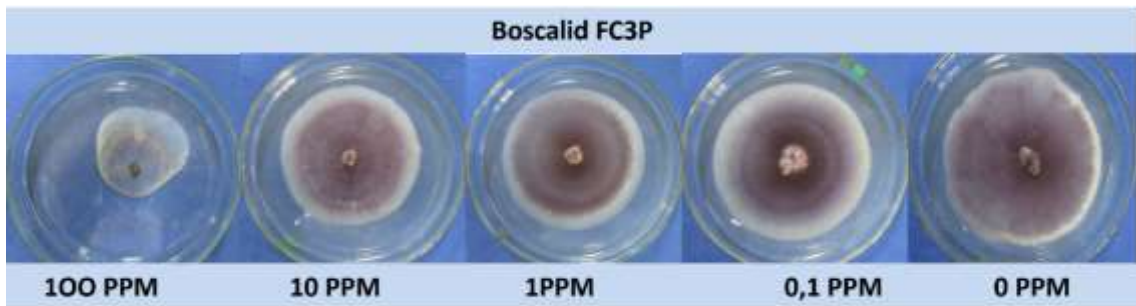
Tebuconazol FC2R



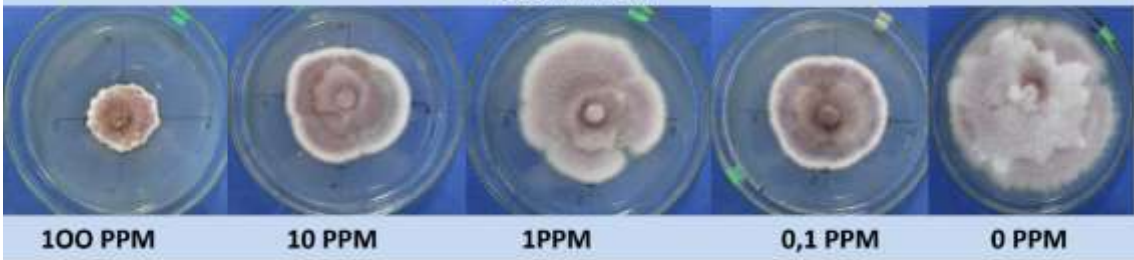
Tebuconazol FC1R



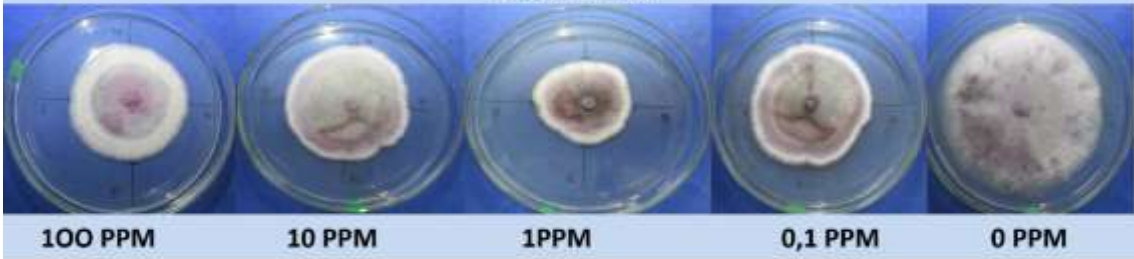
ANEXO D: CRECIMIENTO DE LAS SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* EN LAS CAJAS PETRI ENMENDADO CON BOSCALID



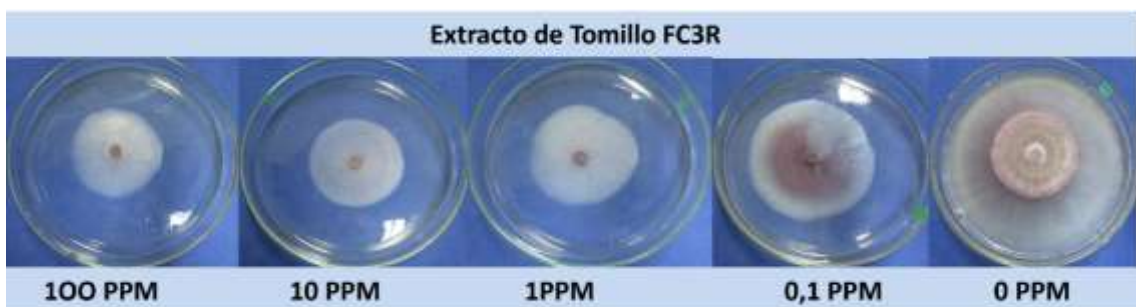
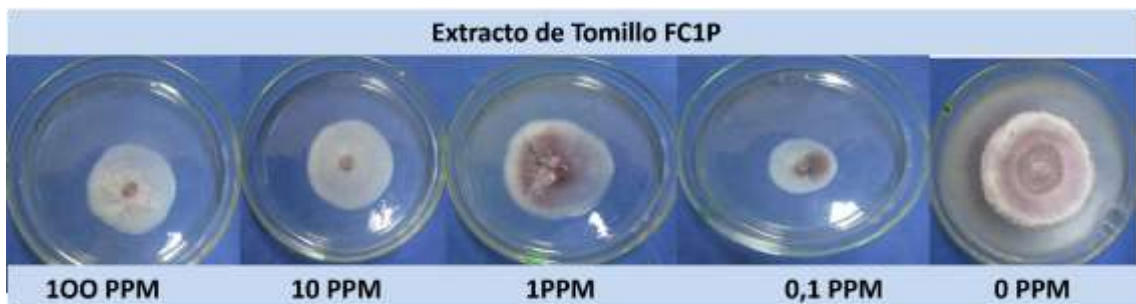
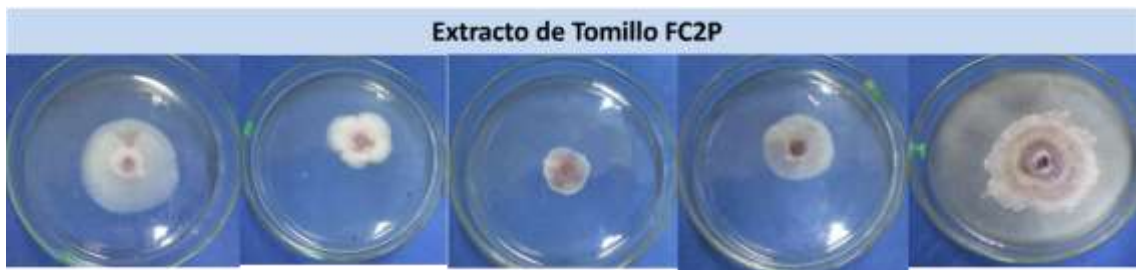
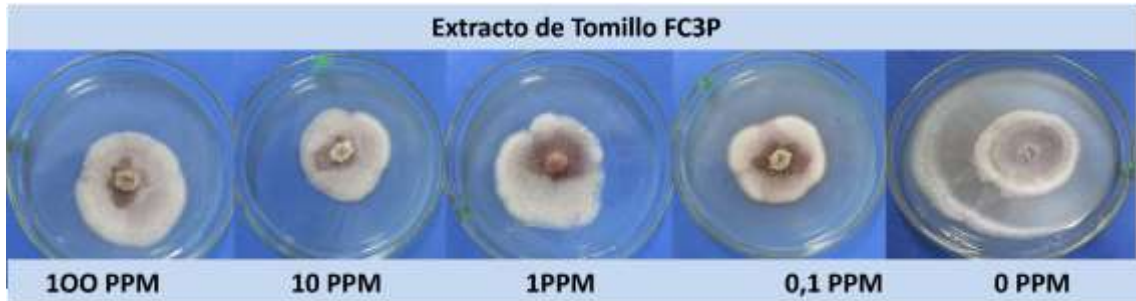
Boscalid FC2R



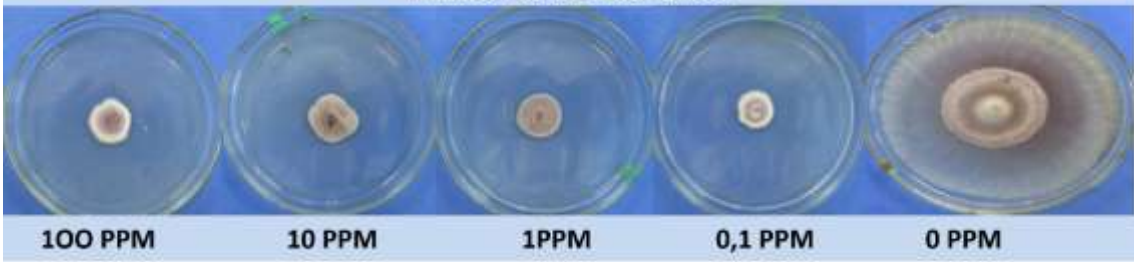
Boscalid FC1R



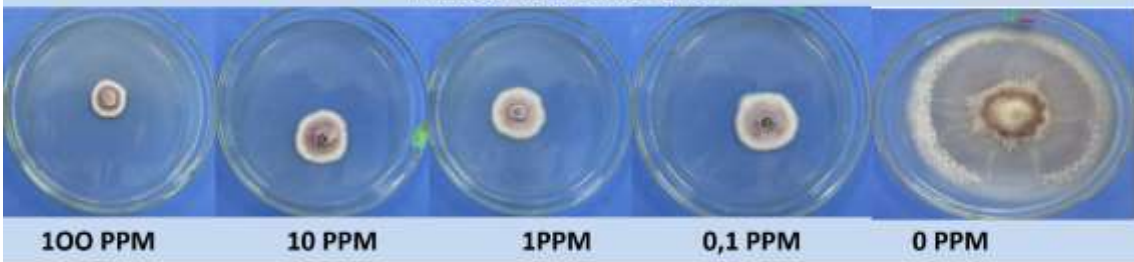
ANEXO E: CRECIMIENTO DE LAS SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* EN LAS CAJAS PETRI ENMENDADO CON EXTRACTO DE TOMILLO



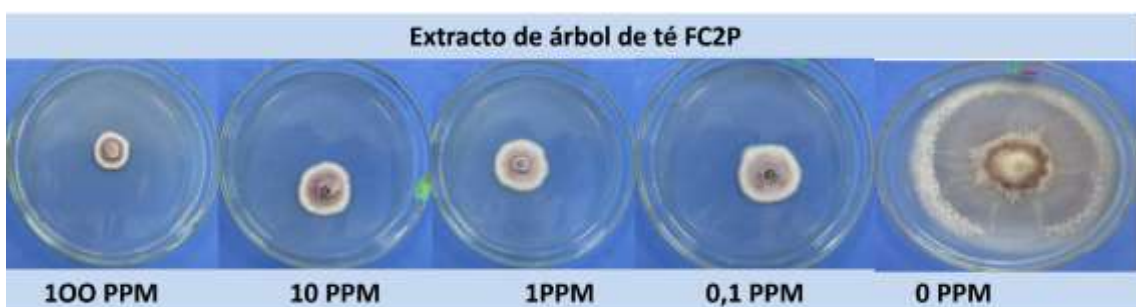
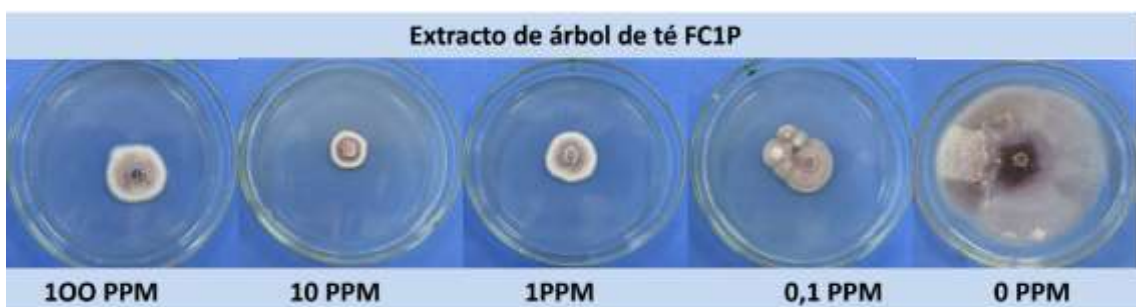
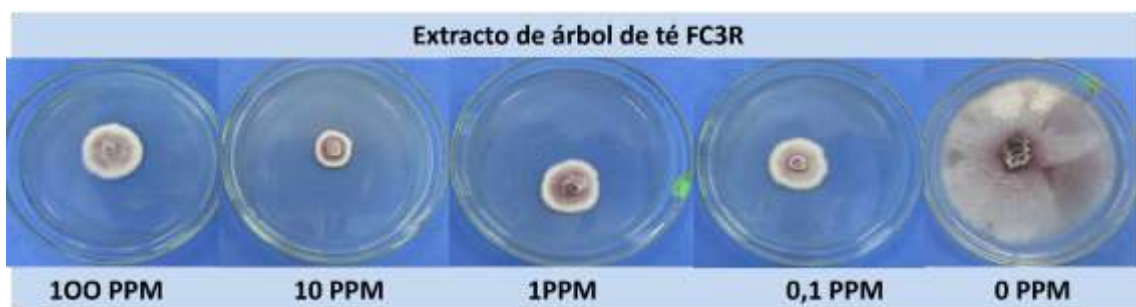
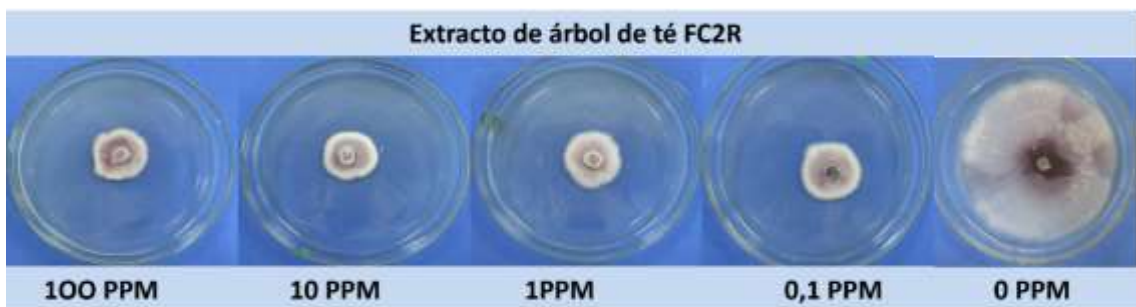
Extracto de árbol de té FC3P



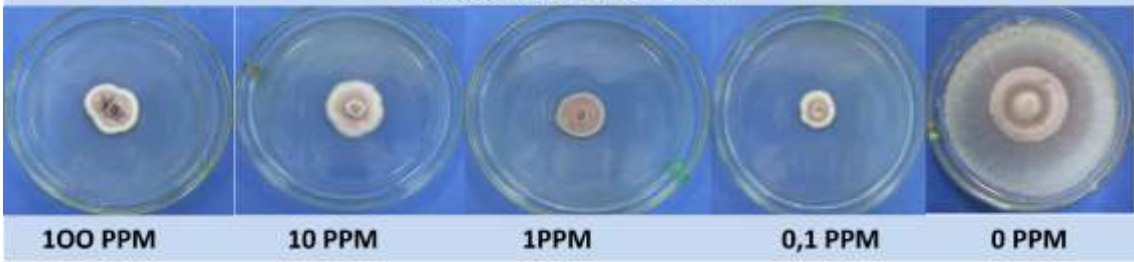
Extracto de árbol de té FC2P



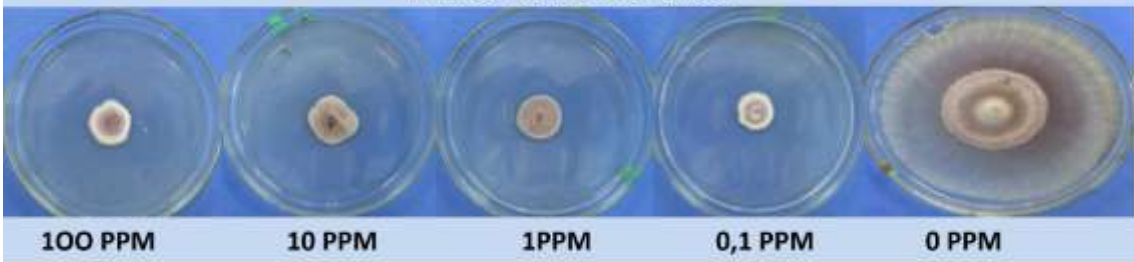
ANEXO F: CRECIMIENTO DE LAS SEIS CEPAS DE *Fusarium circinatum* EN LAS CAJAS PETRI ENMENDADO CON EXTRACTO DE TÉ



Extracto de árbol de té FC1R



Extracto de árbol de té FC3P



ANEXO G: PREPARACIÓN DEL MEDIO PDA POTATO DEXTROSE AGAR



los gramos a utilizar Peso de del medio PDA,

En la balanza digital peso en gramos.

Traspaso del medio PDA en gramos a la botella de vidrio.

Traspaso del agua destilada para disolver el medio PDA.

Enfundado de las botellas de vidrio para enviar autoclavar.

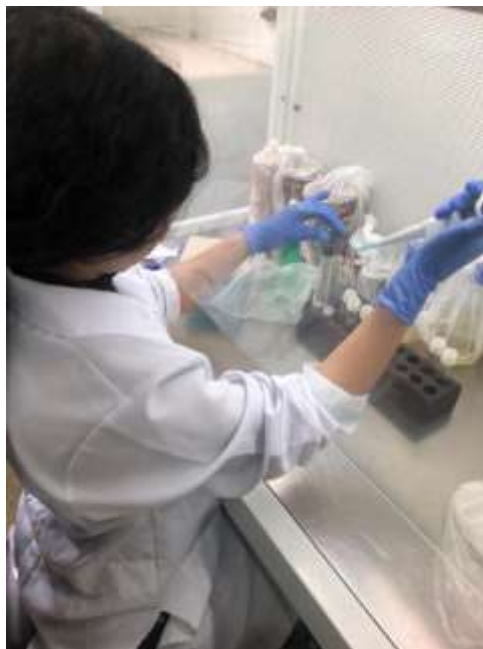
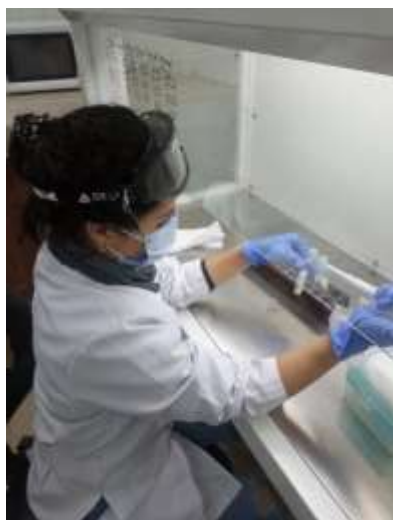
Las botellas de vidrio en la autoclave para el proceso de esterilización.

Producto PDA utilizado.

ANEXO H: PRODUCTOS DE FUNGICIDAS UTILIZADOS



ANEXO I: PREPARACION DE LA SOLUCION STOCK



ANEXO J: METODOLOGÍA *in vitro*

METODOLOGÍA

AISLADOS

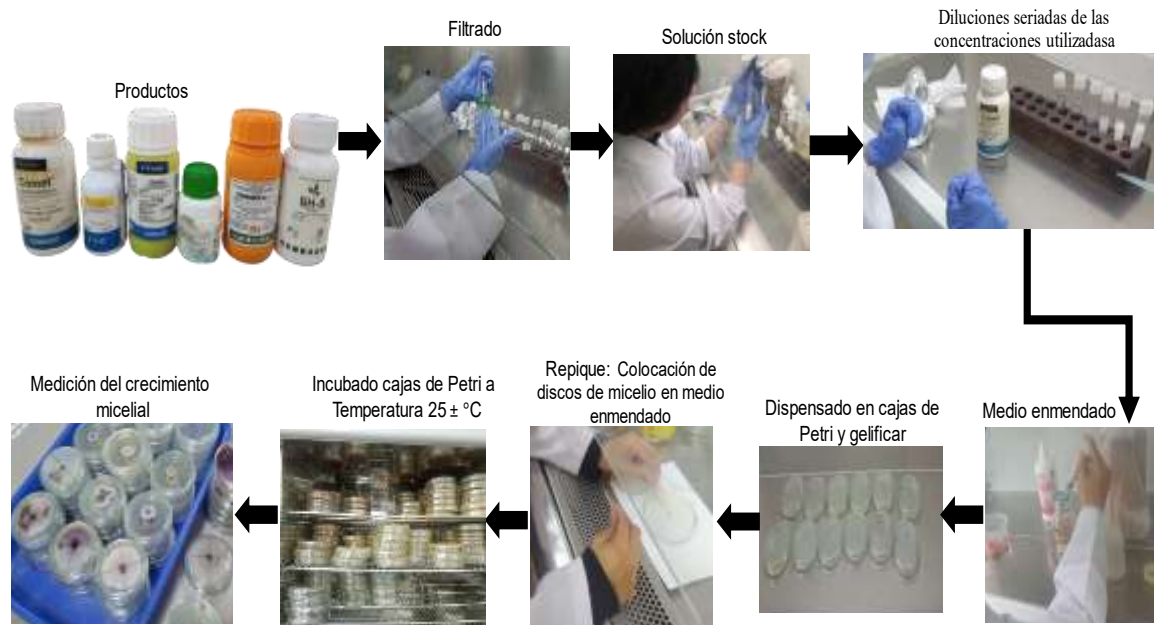
| Código | Especie | Año | Hospedero | Localidad |
|--------|----------------------------|------|----------------------|-----------|
| FC1P | <i>Fusarium circinatum</i> | 2019 | <i>Pinus patula</i> | Cotopaxi |
| FC2P | <i>Fusarium circinatum</i> | 2019 | <i>Pinus patula</i> | Cotopaxi |
| FC3P | <i>Fusarium circinatum</i> | 2019 | <i>Pinus patula</i> | Cotopaxi |
| FC1R | <i>Fusarium circinatum</i> | 2019 | <i>Pinus radiata</i> | Cotopaxi |
| FC2R | <i>Fusarium circinatum</i> | 2019 | <i>Pinus radiata</i> | Cotopaxi |
| FC3R | <i>Fusarium circinatum</i> | 2019 | <i>Pinus radiata</i> | Cotopaxi |

MATERIALES

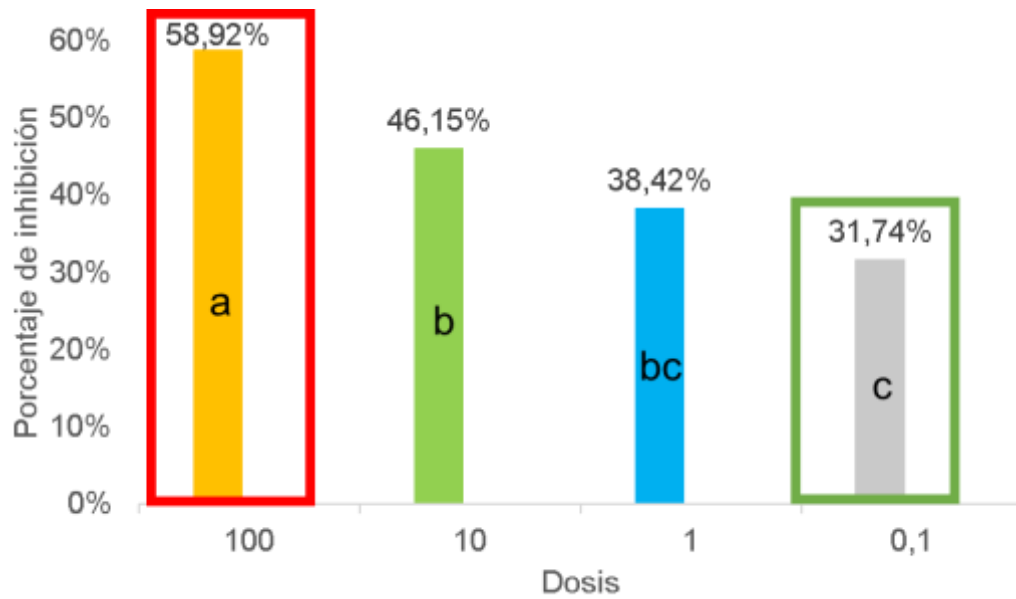
- Agua destilada estéril
- Papa Dextrose Agar al 3.9% (PDA Difco™)
- Balanza de precisión (RADWAG AS220.R2)
- Autoclave (BIOBASE BKQ-B100II)
- Cámara de flujo laminar (OASIS 48)
- Cámara fotográfica (CANNON)
- Micropipeta (Eppendorf)
- Calibrador digital (VERNIER).
- Cajas Petri
- Vasos de precipitación



ANEXO K: SENSIBILIDAD *in vitro*



ANEXO L: GRAFICAS DE PORCENTAJE DE INHIBICIÓN PARA FACTOR A Y FACTOR B DE PYRACLOSTROBIN

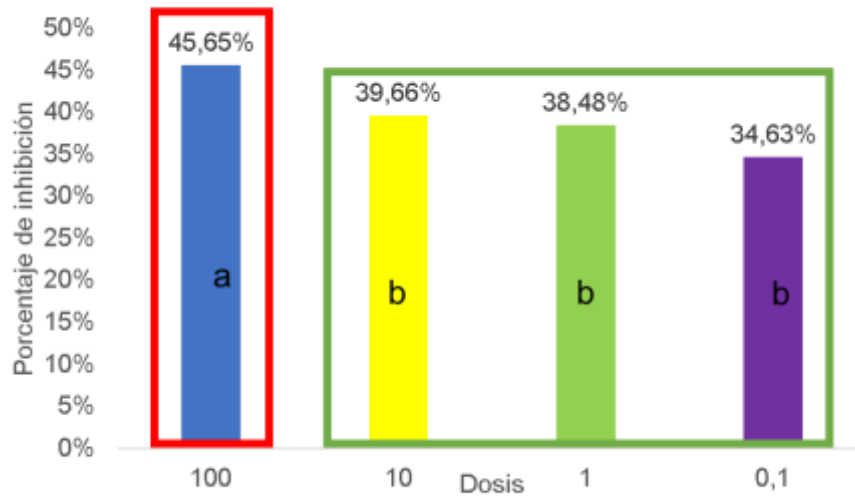


¹Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

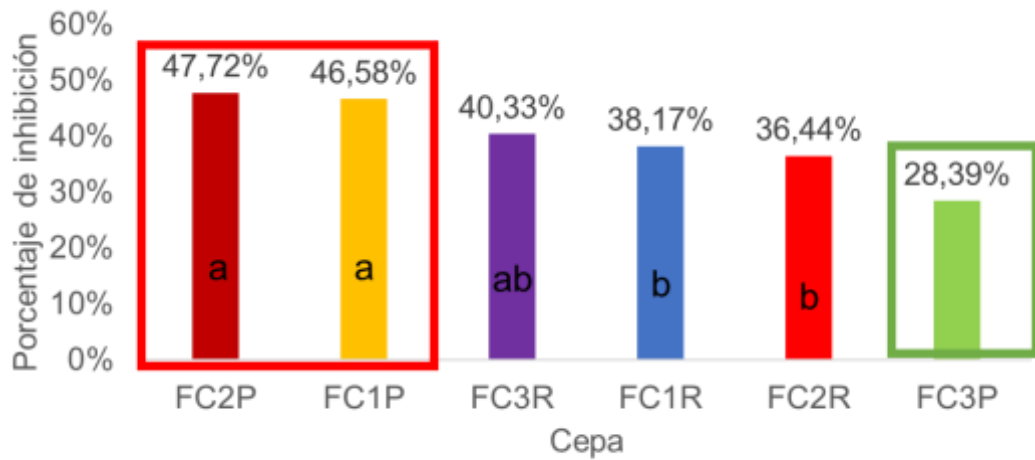


¹Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

**ANEXO M: GRAFICAS DE PORCENTAJE DE INHIBICIÓN PARA FACTOR A Y
FACTOR B DE METIL TIOFANATO**

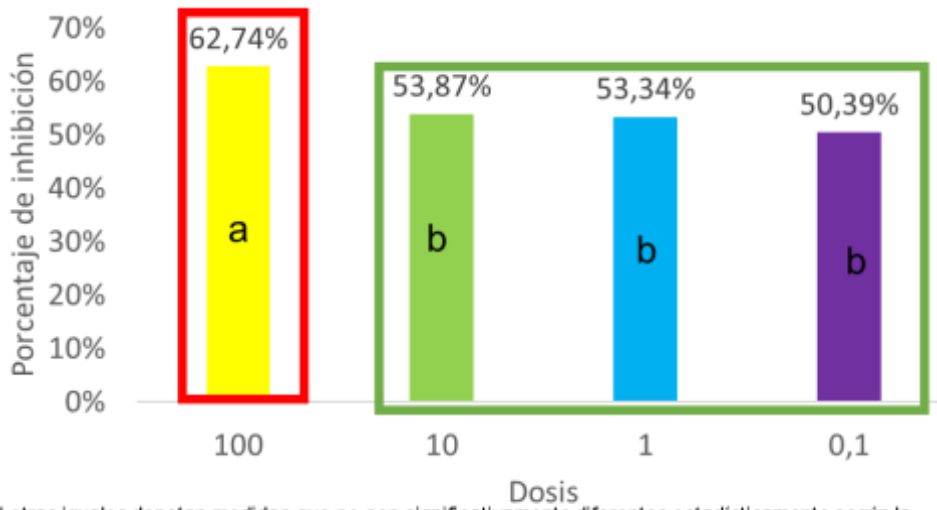


¹Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

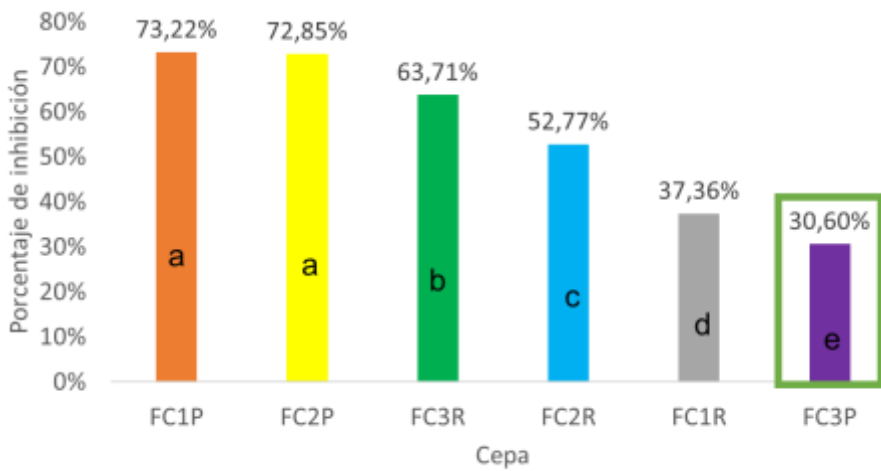


¹Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

ANEXO N: GRAFICAS DE PORCENTAJE DE INHIBICIÓN PARA FACTOR A Y FACTOR B DE BOSCALID

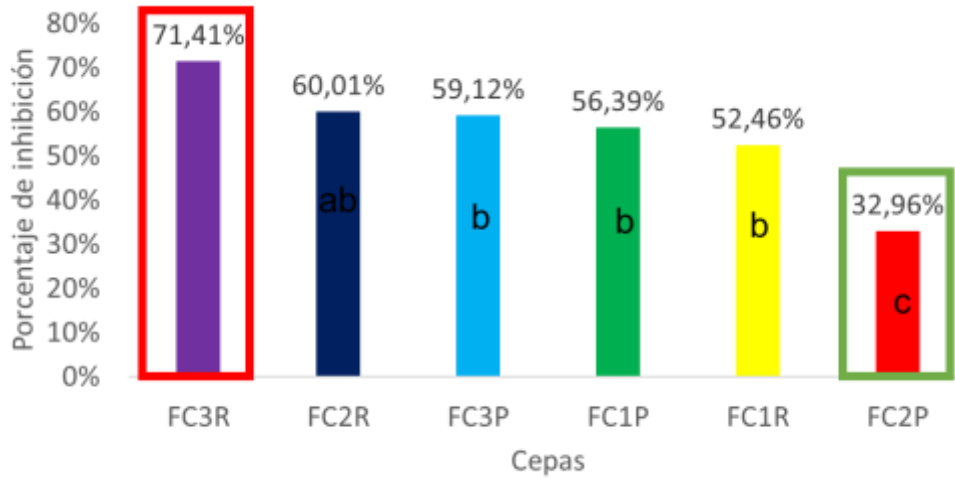


¹Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

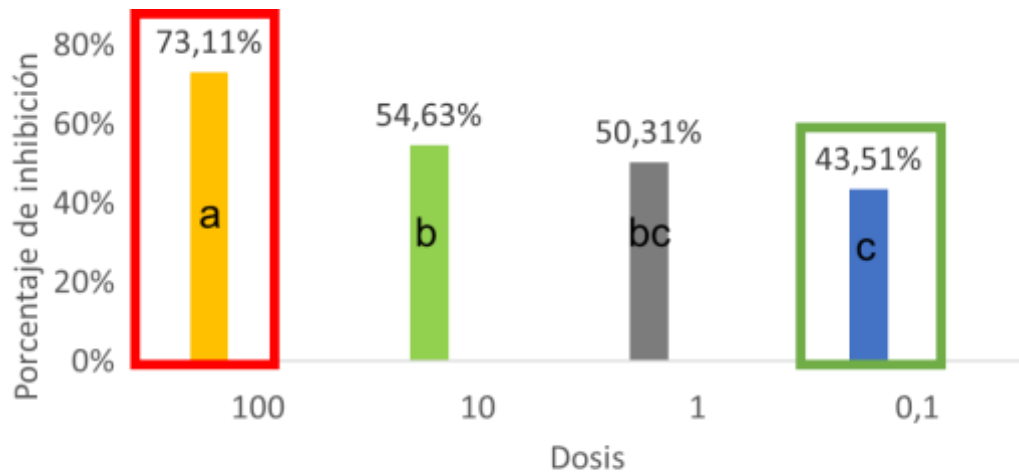


¹Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

ANEXO O: GRAFICAS DE PORCENTAJE DE INHIBICIÓN PARA FACTOR A Y FACTOR B DE TEBUCONAZOL

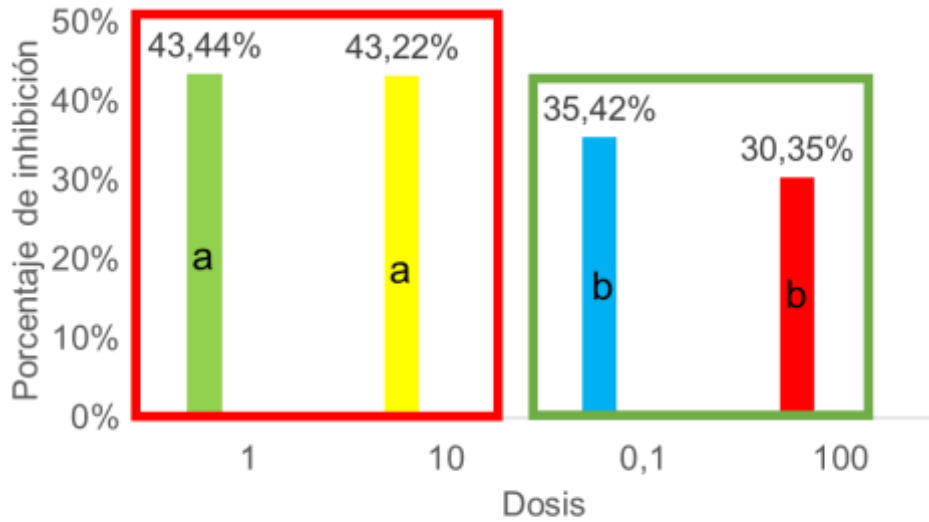


¹Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

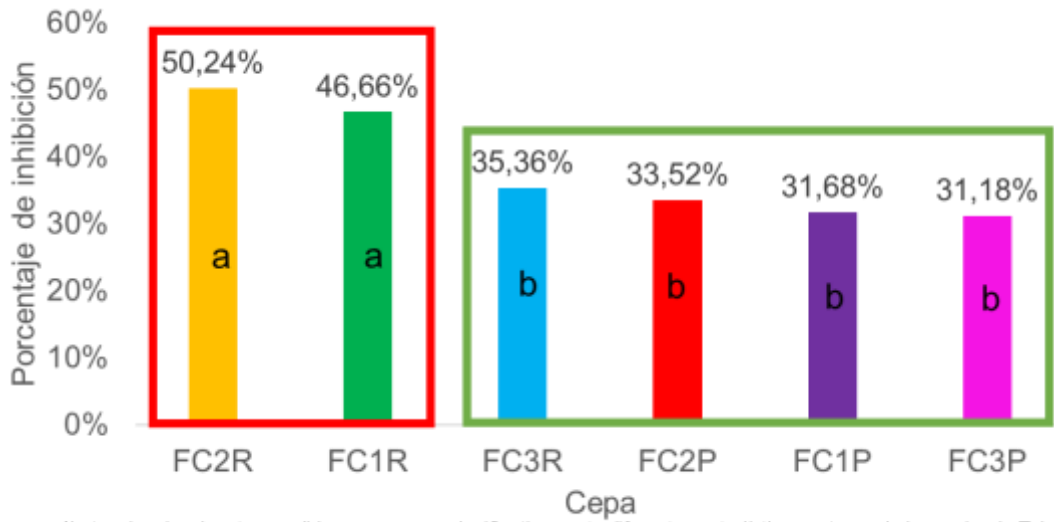


¹Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

ANEXO P: GRAFICAS DE PORCENTAJE DE INHIBICIÓN PARA FACTOR A Y FACTOR B DE EXTRACTO DE TOMILLO

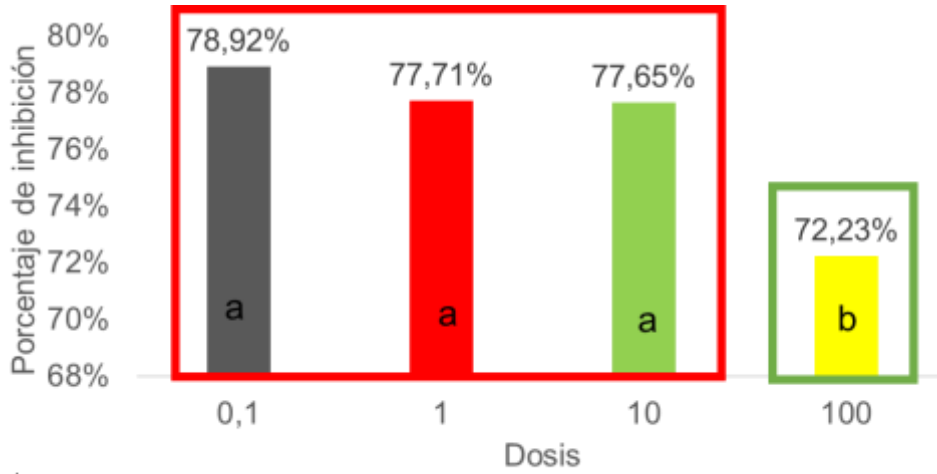


¹Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

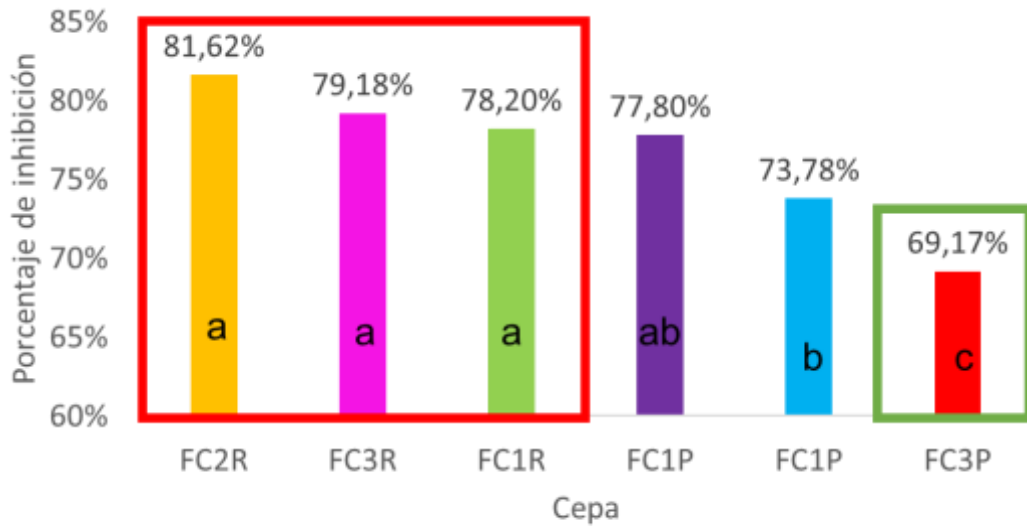


¹Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

ANEXO Q: GRAFICAS DE PORCENTAJE DE INHIBICIÓN PARA FACTOR A Y FACTOR B DE EXTRACTO DE ÀRBOL DE TÈ



¹Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%



¹Letras iguales denotan medidas que no son significativamente diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

**ANEXO R: TABLA RESUMEN DEL FACTOR INTERACCIÓN DOSIS:CEPA DE LOS
DIFERENTES PRODUCTOS UTILIZADOS**

| Dosis:Cepa | Porcentaje de inhibición % | Rango de significancia | Producto |
|-------------------|-----------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| 1:FC1P | 80,94 | a | Pyraclostrobin |
| 0,1:FC1R | 0,28 | i | |
| 0,1:FC2P | 57,99 | a | Metil tiofanato |
| 0,1:FC3P | 16,05 | f | |
| 1:FC1P | 83,01 | a | Tebuconazol |
| 0,1:FC2P | 11,86 | h | |
| 100:FC2P | 79,66 | a | Boscalid |
| 0,1:FC3P | 17,76 | j | |
| 0,1:FC2R | 54,86 | a | Extracto de Tomillo |
| 100:FC3P | 10,85 | g | |
| 10:FC2R | 83,77 | a | Extracto de árbol de té |
| 100:FC3P | 64,67 | g | |

El análisis de varianza para la variable interacción dosis:cepa para todos los productos se dio un efecto significativo a excepción del bioproducto extracto de árbol de té ya que su p-valor fue mayor a $> 0,05$.



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 18 / 01 / 2024

| |
|---|
| INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S) |
| Nombres – Apellidos: CINDY MARIBEL MIRANDA BENITES |
| INFORMACIÓN INSTITUCIONAL |
| Facultad: RECURSOS NATURALES |
| Carrera: INGENIERIA FORESTAL |
| Título a optar: INGENIERA FORESTAL |
| f. Analista de Biblioteca responsable: Lcdo. Holger Ramos, MSc. |

2276-DBRA-UPT-2023

