

# UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y  
POSGRADO

FACULTAD DE POSGRADOS

INFORME DE INVESTIGACIÓN  
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGIA

TEMA:

**EFFECTO ANTAGÓNICO *IN VITRO* DE MICROORGANISMOS  
EFICIENTES FRENTE AL HONGO (*CURVULARIA PETERSONII*)  
CAUSANTE DE LESIONES FOLIARES EN CAÑA DE AZÚCAR**

Autores:

ROMERO SANDOVAL BORIS LENIN

SANCHEZ SANDOVAL CARLOS ENRIQUE

Director:

MV. VERA RODRIGUEZ JOSE HUMBERTO., MG.

Milagro, 28 de septiembre de 2024

## Derechos de autor

**Sr. Dr.**

**Fabricio Guevara Viejó**

Rector de la Universidad Estatal de Milagro  
Presente.

Nosotros, **Romero Sandoval Boris Lenin** y **Sanchez Sandoval Carlos Enrique** en calidad de autores y titulares de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de nuestro Grado, de Magisteren Biotecnología, como aporte a la Línea de Investigación **Agrobiotecnología** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedemos a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservamos a nuestro favor todos los derechos de autores sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizamos a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Informe de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Los autores declaran que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 28 de septiembre de 2024

**Romero Sandoval Boris Lenin**

**CI: 0705163723**

**Sanchez Sandoval Carlos Enrique**

**CI: 0706678869**

## Aprobación del director del Trabajo de Titulación

Yo, **José Humberto Vera Rodríguez** en mi calidad de director del trabajo de titulación, elaborado por **Romero Blanco Rosa Liliana** y **Sandoval Endara Ingrid Lourdes**, cuyo tema es **Efecto antagónico *in vitro* de microorganismos eficientes frente al hongo (*Curvularia petersonii*) causante de lesiones foliares en caña de azúcar** que aporta la Línea de Investigación **Agrobiotecnología**, previo a la obtención del Grado Magister en biotecnología, Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo APRUEBO, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 28 de septiembre de 2024

**José Humberto Vera Rodríguez**

CI: 131258756-9

## Aprobación del tribunal calificador



### VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO FACULTAD DE POSGRADO CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **ING. ROMERO SANDOVAL BORIS LENIN**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "EFECTO ANTAGÓNICO IN VITRO DE MICROORGANISMOS EFICIENTES FRENTE AL HONGO (CURVULARIA PETERSONII) CAUSANTE DE LESIONES FOLIARES EN LA CAÑA DE AZÚCAR", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	54.53
SUSTENTACIÓN	39.99
PROMEDIO	94.53
EQUIVALENTE	Muy Bueno



Msc GARCÉS MONCAYO MARÍA FERNANDA  
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Msc SARANGO ORTEGA YESSSENIA BEATRIZ  
VOCAL



Ing. SANCHEZ VASQUEZ VIVIANA LORENA  
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

## DEDICATORIA

A Dios, el todopoderoso, creador de nuestra vida, sin cuya ayuda hubiese sido imposible cumplir con este importante logro académico.

A nuestros queridos padres, por ser ese pilar fundamental en nuestras vidas, y por otorgarnos los valores y principios éticos y morales los cuales nos han sido muy útiles para nuestro desarrollo personal y formación académica.

A nuestra grandiosa familia, que siempre estuvieron a nuestro lado, dándome el apoyo moral necesario para culminar este logro profesional.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Estatal de Milagro, Sistema de Postgrado y al Programa de Maestría en Biotecnología por darnos la oportunidad de cursar esta nueva etapa académica, que sin duda será muy útil en nuestro desarrollo profesional.

Al Mg. Vera Rodríguez José Humberto por brindarnos el acompañamiento académico respectivo, sin el cual hubiese sido imposible poder culminar con esta investigación.

Al tribunal de sustanciación por darnos las facilidades para la exposición de nuestro trabajo investigativo, y por las sugerencias y aportes brindados al mismo.

## Resumen

El estudio de hongos patógenos en caña de azúcar es fundamental para proteger los cultivos, desarrollando métodos de control más efectivos. El estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto antagónico *in vitro* de microorganismos eficientes frente al hongo *Curvularia petersonii* causante de lesiones foliares en caña de azúcar. Se tomaron muestras de tejido vegetal con lesiones foliares en la caña de azúcar variedad ECU-08. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Microbiología de la FACI-UNEMI, donde fueron lavadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1% durante 5 min. Dentro de una cabina de seguridad se cortaron las muestras en pedazos de 5 cm<sup>2</sup> y se tomaron muestras del tejido lesionado para inocular en placas con PDA e incubar a 30°C durante 10 días, para su posterior purificación. Para el experimento se planteó evaluar el antagonismo mediante la confrontación dual entre 4 microorganismos eficientes (*T. asperellum*, *T. harzianum*, *P. fluorescens* y *B. subtilis*) y una cepa patógena (*C. petersonii*), con 5 réplicas y sus respectivos controles durante 15 días. Se realizó una caracterización macroscópica y microscópica tanto a las cepas patógenas como a los antagonistas, tinción con azul de lactofenol para caracterizar los hongos y tinción de Gram para observar las bacterias dentro de que grupo pertenecen (Gram+, o Gram-). Además, la cepa patógena fue caracterizada molecularmente prestando los servicios de un laboratorio externo IDgen. Utilizando el Modelamiento Matemático del Crecimiento Exponencial, para modelar el crecimiento de *C. petersonii* en condiciones controladas y en presencia de antagonistas, se utiliza la ecuación diferencial logística, las ecuaciones utilizadas para modelar las interacciones están basadas en el modelo de Lotka-Volterra para competencia. Los resultados indican que todos los microorganismos antagonistas evaluados tuvieron un efecto inhibitorio sobre *C. petersonii*, con variaciones en la magnitud de este efecto. La comparación de las tasas de crecimiento en ausencia y presencia de antagonistas permite concluir que estos microorganismos pueden ser utilizados como agentes de biocontrol efectivos contra *C. petersonii*. Se sugiere investigar la efectividad de los microorganismos antagonistas en condiciones de campo y su uso combinado con otros métodos antifúngicos para optimizar el biocontrol de *C. petersonii*.

**Palabras Clave:** Antagónico, caracterización, *in vitro*, lesiones foliares, microorganismos.

## Abstract

The study of pathogenic fungi in sugarcane is essential to protect crops by developing more effective control methods. The aim of the study was to evaluate the *in vitro* antagonistic effect of efficient microorganisms against the fungus *Curvularia petersonii*, which causes leaf lesions in sugarcane. Samples of plant tissue with leaf lesions were taken from the sugarcane variety ECU-08. The samples were processed in the Microbiology laboratory of FACI-UNEMI, where they were washed and disinfected with 1% sodium hypochlorite for 5 min. Inside a safety cabinet, the samples were cut into 5 cm<sup>2</sup> pieces and samples of the injured tissue were taken to inoculate on PDA plates and incubate at 30°C for 10 days, for later purification. For the experiment, it was proposed to evaluate the antagonism through dual confrontation between 4 efficient microorganisms (*T. asperellum*, *T. harzianum*, *P. fluorescens* and *B. subtilis*) and a pathogenic strain (*C. petersonii*), with 5 replicates and their respective controls for 15 days. A macroscopic and microscopic characterization was carried out on both pathogenic and antagonistic strains, lactophenol blue staining to characterize the fungi and Gram staining to observe the group within which the bacteria belong (Gram+ or Gram-). In addition, the pathogenic strain was molecularly characterized by providing the services of an external laboratory IDgen. Mathematical Modeling of Exponential Growth was used to model the growth of *C. petersonii* under controlled conditions and in the presence of antagonists, the logistic differential equation is used, the equations used to model the interactions are based on the Lotka-Volterra model for competition. The results indicate that all antagonistic microorganisms evaluated had an inhibitory effect on *C. petersonii*, with variations in the magnitude of this effect. The comparison of the growth rates in the absence and presence of antagonists allows us to conclude that these microorganisms can be used as effective biocontrol agents against *C. petersonii*. It is suggested that the effectiveness of antagonistic microorganisms be investigated under field conditions and their combined use with other antifungal methods to optimize the biocontrol of *C. petersonii*.

**Keywords:** Antagonistic, characterization, *in vitro*, foliar lesions, microorganisms.



## Lista de Figuras

Figura 1. Lesiones foliares en la caña de azúcar variedad ECU-08.....	29
Figura 2. Procesamiento de las muestras de tejido vegetal de caña de azúcar. ....	29
Figura 3. Caracterización de las cepas.....	31
Figura 4. Caracterización morfológica de <i>Curvularia petersonii</i> . ....	36
Figura 5. Caracterización morfológica de <i>Trichoderma asperellum</i> .....	37
Figura 6. Caracterización morfológica de <i>Trichoderma harzianum</i> .....	37
Figura 7. Caracterización morfológica de (a) <i>P. fluorescens</i> , (b) <i>B. subtilis</i> .....	38
Figura 8. Corrida de electroforesis en gel de agarosa al 1% con productos de PCR para el fragmento ITS.....	38
Figura 9. Antagonismo entre <i>C. petersonii</i> y <i>T. asperellum</i> .....	42
Figura 10. Antagonismo entre <i>C. petersonii</i> y <i>T. harzianum</i> .....	43
Figura 11. Antagonismo entre <i>C. petersonii</i> y <i>P. fluorescens</i> .....	44
Figura 12. Antagonismo entre <i>C. petersonii</i> y <i>B. subtilis</i> . ....	45

## Lista de Tablas

Tabla 1. Tabla de operacionalización de variables.....	6
Tabla 2. Distribución de los tratamientos y controles .....	30
Tabla 3. Promedios del crecimiento micelial (mm) de los hongos <i>C. petersonii</i> y <i>T. asperellum</i> .....	42
Tabla 4. Promedios del crecimiento micelial (mm) de los hongos <i>C. petersonii</i> y <i>T. harzianum</i> .....	43
Tabla 5. Promedios del crecimiento micelial (mm) del hongo <i>C. petersonii</i> y <i>P. fluorescens</i> (UFC).....	44
Tabla 6. Promedios del crecimiento micelial (mm) del hongo <i>C. petersonii</i> y <i>B. subtilis</i> (UFC).....	45

## Índice /Sumario

Derechos de autor .....	II
Aprobación del director del Trabajo de Titulación.....	III
Aprobación del tribunal calificador .....	IV
DEDICATORIA .....	V
AGRADECIMIENTOS.....	VI
Resumen .....	VII
Abstract .....	VIII
Lista de Figuras .....	—
Lista de Tablas .....	—
Índice /Sumario.....	—
Introducción .....	1
Capítulo I: El problema de la investigación .....	4
1.1 Planteamiento del problema .....	4
1.2 Delimitación del problema.....	5
1.3 Formulación del problema .....	5
1.4 Preguntas de investigación .....	5
1.5 Determinación del tema .....	5
1.6 Objetivo general.....	6
1.7 Objetivos específicos .....	6
1.8 Hipótesis .....	6
1.9 Declaración de las variables (operacionalización) .....	6
1.10 Justificación .....	7
1.11 Alcance y limitaciones.....	8
1.11.1. Alcance.....	8
1.11.2. Limitaciones.....	9

CAPÍTULO II: Marco teórico referencial.....	13
2.1 Antecedentes.....	13
2.2 Contenido teórico que fundamenta la investigación.....	14
2.2.1. Introducción al uso de microorganismos beneficiosos en la protección de cultivos	14
2.2.2. Importancia económica y agrícola de la caña de azúcar: una visión general de su cultivo.....	17
2.2.3. Características y clasificación de los microorganismos eficientes: una revisión de las especies <i>Trichoderma asperellum</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> y <i>Bacillus subtilis</i> .....	19
2.2.4. Propiedades antagónicas de los microorganismos eficientes: mecanismos de acción contra patógenos.....	21
2.2.5. Enfermedades foliares en Caña de Azúcar.....	23
2.2.6. Interacciones planta-microorganismo: el papel de los microorganismos beneficiosos en la salud y resistencia de las plantas.....	24
2.2.7. Aspectos económicos y ambientales del control biológico.....	26
2.2.8. Resistencia de los hongos patógenos en las plantaciones de caña de azúcar	27
CAPÍTULO III: Diseño metodológico.....	29
3.1 Tipo y diseño de investigación.....	29
3.2 La población y la muestra .....	30
3.2.2 Delimitación de la población.....	31
3.2.3 Tipo de muestra .....	31
3.2.4 Tamaño de la muestra.....	32
3.2.5 Proceso de selección de la muestra.....	32
3.3 Los métodos y las técnicas.....	32
3.4 Procesamiento estadístico de la información.....	34
CAPÍTULO IV: Análisis e interpretación de resultados .....	36
4.1 Análisis e interpretación de los resultados.....	36

CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones.....	47
5.1 Conclusiones .....	47
5.2 Recomendaciones .....	48
Bibliografía.....	49
Anexos.....	62
.....	63

## Introducción

La caña de azúcar es considerada uno de los productos más relevantes en América Latina para la generación de ingresos en varias naciones, desempeñando un papel crucial en la economía agrícola de Ecuador, no solo constituye un componente esencial en las cadenas productivas agrícolas, sino que también es el sustento de un gran número de familias, convirtiéndose en una fuente significativa de empleo y generación de ingresos para el sector agropecuario (Prado-Pérez de Corcho et al., 2018).

El cultivo de la caña de azúcar enfrenta múltiples desafíos debido a diversos factores agroecológicos y la presencia de numerosos patógenos, que provocan enfermedades impactando tanto la producción como la calidad industrial del producto (Blanco et al., 2020). Estas enfermedades son particularmente preocupantes dado que la propagación comercial de la caña se realiza de manera agámica, mediante "caña semilla", facilitando la rápida diseminación de enfermedades sistémicas (De la Fé Isaac et al., 2020).

Tanto este cultivo de azúcar como otros, se encuentran ante los efectos del cambio climático como el incremento de CO<sub>2</sub> atmosférico, cambios en los periodos estacionales y ciclos inestable de tormentas y huracanes, los cuales se ven influenciados en plagas que afectan los cultivos (Morales et al., 2021). Además, la modificación en los patrones de precipitación puede causar inundaciones repentinas afectando negativamente el suelo, alterando los ciclos de las plagas y enfermedades, ya que los patógenos y vectores de enfermedades pueden proliferar bajo estas condiciones climáticas, presentando desafíos significativos para la sostenibilidad del cultivo de caña de azúcar y otros productos agrícolas (García-González et al., 2017).

Se han detectado diferentes afecciones vinculadas con las etapas del ciclo vegetativo de la planta. Las principales enfermedades que afectan este cultivo son producidas enfermedades causadas por hongos, bacterias, virus y nematodos, afectando negativamente el crecimiento vegetal y el rendimiento del cultivo (Castro-Armijos et al., 2017). Entre lo el grupo de hongos identificados están el género *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Curvularia* y *Fusarium* (Ovalle & de Cengicaña, 2017). En la región ecuatoriana, se ha identificado un complejo de especies patógenas en cultivos

de caña, provocando pérdidas de producción de hasta un 50% (Iglesias, 2017).

Últimamente, se ha evidenciado la aparición de nuevas especies fúngicas que conllevan una amenazante preocupación para los productores de caña de azúcar, lo que ha impulsado a realizar investigaciones estratégicas al control y prevención de enfermedades en los cultivo (Salgado García et al., 2014). Siendo así, en Australia un estudio demuestra la presencia de *Curvularia petersonii* a partir de muestras de gramíneas exóticas, este hongo es el responsable de provocar lesiones foliares en cultivo de caña de azúcar, este hallazgo marca el primer reporte de esta especie de hongo, lo que enfatiza la importancia de identificar y comprender nuevos patógenos en diferentes especies vegetales para desarrollar medidas más efectivas de control (Tan et al., 2018).

*Curvularia* es un género con numerosas especies de patógenos y saprobios asociados con plantas, humanos y animales (Almaguer et al., 2013). Además, se han documentado especies de *Curvularia* en diversos sustratos como la atmósfera, entornos acuáticos y el suelo (Guarro & de Hoog, 2015). La delimitación de especies dentro de este género basada únicamente en la morfología es compleja, ya que muchas especies comparten características similares y presentan dimensiones conidiales superpuestas (Olivas-Peraza et al., 2022). El género *Curvularia*, tipificado por *C. lunata* pertenece a la familia *Pleosporaceae*, orden *Pleosporales* (Hernández-Navarro et al., 2023). Las especies fitopatógenas pueden afectar pastos silvestres y cultivos básicos como, maíz, arroz, trigo o sorgo, provocando pérdidas significativas en la producción agrícola (Iturrieta-González et al., 2020).

La aplicación de fungicidas como tiofanato metílico, carbendazim, oxiclورو de cobre y mancozeb representa el método predominante en el manejo de fitopatógenos debido a su alta efectividad y rapidez, derivadas de sus propiedades tóxicas, a pesar de su eficacia, la aplicación de estos fungicidas también conlleva efectos adversos significativos sobre organismos no objetivo y el medio ambiente, comprometiendo así los equilibrios ecológicos y la biodiversidad (Chaves-Bedoya et al., 2013). Además, la persistencia y acumulación de residuos químicos en el suelo y cuerpos de agua pueden llevar a la contaminación ambiental y la bioacumulación en la cadena trófica, lo que implica riesgos para la salud humana y la fauna silvestre (Rodríguez Tassé et al., 2019).

Por lo tanto, es imprescindible explorar alternativas para el control de fitopatógenos (Gamboa-Villa et al., 2020). Dentro del ámbito del control biológico, el uso de organismos antagónicos contra diversos fitopatógenos es un método común y la aplicación de diversos microorganismos tales como; *Trichoderma spp*, *Pseudomonas spp* y *Bacillus spp* en los cultivos de caña de azúcar proporciona un enfoque multifacético para mejorar la productividad y la resistencia a enfermedades, lo que resulta en un cultivo más sostenible y resiliente (Tejera et al., 2012).

Ante este contexto, la presente investigación evaluó el grado de antagonismo de diferentes cepas de microorganismos sobre la cepa de *Curvularia petersonii* en condiciones *in vitro*.



# Capítulo I: El problema de la investigación

## 1.1 Planteamiento del problema

La caña de azúcar es un cultivo de gran importancia económica a nivel mundial, sin embargo, es susceptible a diversas enfermedades que afectan su desarrollo y productividad. Entre estas enfermedades, el hongo *Curvularia petersonii* ha sido identificado como uno de los principales causantes de lesiones foliares en las plantas de caña de azúcar en el cantón La Troncal, Ecuador. Estas lesiones pueden tener un impacto significativo en la calidad y cantidad de la producción de caña de azúcar, lo que afecta directamente la rentabilidad de los agricultores y la industria azucarera.

Actualmente, se desconoce la presencia de *C. petersonii* en caña de azúcar, por ende, no se conoce su medida de control, la misma que por la forma convencional de manejo la realizarían principalmente mediante el uso de fungicidas químicos. Sin embargo, el uso excesivo de agroquímicos puede tener efectos negativos en el medio ambiente y la salud humana, además de generar resistencia en el hongo a largo plazo. Por lo tanto, es necesario buscar alternativas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente para el control de esta enfermedad.

En este contexto, surge la necesidad de investigar el efecto antagónico *in vitro* de microorganismos eficientes frente a *C. petersonii*. Estos microorganismos podrían ser utilizados como agentes de control biológico, es decir, aprovechando las interacciones naturales entre los microorganismos y el hongo para inhibir su crecimiento y desarrollo. Sin embargo, hasta el momento, existe una falta de conocimiento científico sobre qué microorganismos podrían ser eficientes en esta tarea específica. Por lo tanto, esta tesis tiene como objetivo principal investigar y evaluar el potencial de diferentes microorganismos para antagonizar a *C. petersonii* *in vitro*, con el fin de proporcionar una base científica sólida para el desarrollo de estrategias de control biológico más efectivas y sostenibles en los cultivos de caña de azúcar.

## 1.2 Delimitación del problema.

La delimitación del problema se centra en investigar el efecto antagónico *in vitro* de microorganismos eficientes frente al hongo *Curvularia petersonii*, con el objetivo de encontrar alternativas sostenibles y efectivas para el control de las lesiones foliares en las plantas de caña de azúcar.

## 1.3 Formulación del problema

¿Cuál es el efecto antagónico *in vitro* de microorganismos eficientes frente al hongo *Curvularia petersonii*, causante de lesiones foliares en las plantas de caña de azúcar?

## 1.4 Preguntas de investigación

¿Cuál es el efecto antagónico *in vitro* de microorganismos eficientes contra *Curvularia petersonii* en caña de azúcar?

¿Cuáles son los microorganismos más eficientes en inhibir el crecimiento de *Curvularia petersonii in vitro*?

¿Cuál es el mecanismo de acción de los microorganismos eficientes contra *Curvularia petersonii*?

¿Cuál es la duración del efecto antagónico de los microorganismos eficientes contra *Curvularia petersonii in vitro*?

## 1.5 Determinación del tema

El tema de la tesis propuesto es: "Efecto antagónico *in vitro* de microorganismos eficientes frente al hongo (*Curvularia petersonii*) causante de lesiones foliares en caña de azúcar".

Este tema se centra en investigar el efecto antagónico de microorganismos eficientes contra el hongo *Curvularia petersonii*, el cual es responsable de causar lesiones foliares en la caña de azúcar. El objetivo es estudiar cómo estos microorganismos pueden inhibir el crecimiento del hongo *in vitro* y determinar su mecanismo de acción, así como la concentración óptima y la duración de este efecto antagónico.

## 1.6 Objetivo general

Evaluar el efecto antagónico *in vitro* de microorganismos eficientes (*Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, *Pseudomona fluorescens* y *Bacillus subtilis*,) frente al hongo (*Curvularia petersonii*) causante de lesiones foliares en caña de azúcar.

## 1.7 Objetivos específicos

- ❖ Realizar una caracterización morfológica a los microorganismos antagónicos (*T. asperellum*, *T. harzianum*, *P. fluorescens* y *B. subtilis*) y hongo patógeno *C. petersonii*.
- ❖ Confirmar la identidad del hongo *C. petersonii* mediante un análisis molecular para el marcador ITS.
- ❖ Calcular la Tasas de Crecimiento de los microorganismos antagónicos y patógeno mediante un modelamiento matemático de Crecimiento Exponencial.

## 1.8 Hipótesis

Al menos uno de los microorganismos antagónicos (*T. asperellum*, *T. harzianum*, *P. fluorescens* y *B. subtilis*) tendrá un efecto inhibitorio *in vitro* sobre el hongo *Curvularia petersonii* causante de lesiones foliares en caña de azúcar.

## 1.9 Declaración de las variables (operacionalización)

Se detalla en la tabla 1 el cuadro de operacionalización de variables

Tabla 1. Tabla de operacionalización de variables.

Variables	Conceptualización	Dimensión	Técnica
Independiente	Antagonismo entre <i>T. asperellum</i> , <i>T. harzianum</i> , <i>P. fluorescens</i> y <i>B. subtilis</i> & <i>C. petersonii</i> .	Confrontación dual	En placa Petri
Dependiente	✓ Identidad de género.	Morfológica	Azul de Lactofenol

✓ Identificación molecular.	Secuenciación	Barcoding ITS
✓ Tasas de Crecimiento de los microorganismos.	Crecimiento Exponencial	Modelo de Lotka-Volterra

## 1.10 Justificación

La caña de azúcar es un cultivo de gran importancia económica a nivel mundial. Las lesiones foliares causadas por el hongo *Curvularia petersonii* pueden tener un impacto significativo en la productividad y rentabilidad de los cultivos de caña de azúcar.

El control efectivo de enfermedades en los cultivos es esencial para garantizar una producción saludable y sostenible. La identificación de microorganismos eficientes que pueden antagonizar a *C. petersonii* brinda una alternativa prometedora y respetuosa con el medio ambiente para el control de esta enfermedad. Esto se debe a que el uso excesivo de agroquímicos puede tener efectos negativos en el medio ambiente y la salud humana, con la utilización de microorganismos eficientes como una estrategia de control biológico puede reducir la dependencia de los agroquímicos y promover prácticas agrícolas más sostenibles.

El hongo *C. petersonii* puede desarrollar resistencia a los fungicidas utilizados comúnmente en el control de enfermedades en la caña de azúcar. La búsqueda de alternativas biológicas, como los microorganismos eficientes, puede ayudar a superar este problema y garantizar el control efectivo de la enfermedad.

A pesar de la importancia económica de la caña de azúcar y las lesiones foliares causadas por *C. petersonii*, existe una falta de investigación exhaustiva sobre el efecto antagónico *in vitro* de microorganismos eficientes contra este hongo en particular. Esta tesis contribuirá a llenar ese vacío de conocimiento. Los resultados de esta investigación pueden tener implicaciones prácticas directas en el manejo de enfermedades en los cultivos de caña de azúcar. Si se demuestra que ciertos microorganismos son eficientes en el control de *C. petersonii*, se podrían desarrollar productos biológicos que se utilicen en la agricultura.

La identificación de microorganismos eficientes que pueden antagonizar a *C. petersonii* puede proporcionar información valiosa para el desarrollo de variedades de caña de azúcar más resistentes a esta enfermedad. La caña de azúcar es un cultivo importante para la producción de azúcar y otros subproductos. La protección de los cultivos de caña de azúcar contra enfermedades es crucial para garantizar la seguridad alimentaria a nivel local y global.

Esta tesis puede fomentar el interés y la inversión en investigación agrícola y en el desarrollo de soluciones sostenibles para el control de enfermedades en los cultivos. El conocimiento generado a través de esta investigación puede ser utilizado por agricultores, investigadores y tomadores de decisiones para mejorar la producción agrícola y la seguridad alimentaria en general.

## 1.11 Alcance y limitaciones

### 1.11.1. Alcance

El efecto antagónico *in vitro* de microorganismos eficientes frente al hongo *Curvularia petersonii*, causante de lesiones foliares en caña de azúcar, ha sido objeto de estudio en la investigación científica. Los microorganismos antagonistas, como bacterias, levaduras y hongos, tienen la capacidad de ejercer un control biológico sobre diferentes patógenos, porque no incluir al hongo *C. petersonii*.

Se ha demostrado que estos microorganismos antagonistas pueden inhibir el crecimiento y desarrollo de hongos causante de las lesiones foliares en diferentes tipos de cultivos, incluido en la caña de azúcar. Por ejemplo, se ha observado que ciertas cepas de microorganismos como: *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. poseen un efecto inhibitor sobre el crecimiento de *C. petersonii*.

Además, se ha investigado el mecanismo de acción de estos microorganismos antagonistas. Se ha encontrado que algunos de ellos producen metabolitos secundarios, con efectos antifúngicos, antimicrobianos y enzimas, que podrían contribuir a su efecto antagónico

contra *C. petersonii*.

Es importante destacar que estos estudios se han realizado principalmente en condiciones de laboratorio, evaluando el efecto antagónico *in vitro* de los microorganismos. Sin embargo, es necesario realizar más investigaciones para evaluar la eficacia de estos microorganismos en condiciones de campo y determinar su viabilidad como estrategia de control biológico en la producción de caña de azúcar.

### 1.11.2. Limitaciones

El estudio del efecto antagónico *in vitro* de microorganismos eficientes frente al hongo *Curvularia petersonii* en la caña de azúcar podría presentar algunas limitaciones que deben tenerse en cuenta. A continuación, se mencionan algunas de estas limitaciones:

- La mayoría de los estudios se han realizado en condiciones de laboratorio, evaluando el efecto antagónico *in vitro* de los microorganismos. Es necesario realizar más investigaciones en condiciones de campo para evaluar la eficacia de estos microorganismos en un entorno más realista.
- Los resultados obtenidos en estudios *in vitro* pueden variar en comparación con los resultados en condiciones de campo. Las interacciones entre los microorganismos, el hongo y el ambiente pueden ser diferentes en un entorno natural, lo que puede afectar la eficacia del control biológico.
- El efecto antagónico de los microorganismos puede variar dependiendo de la cepa del hongo patógeno. Algunos microorganismos pueden ser eficientes contra ciertas cepas de *Curvularia petersonii*, pero no contra otras. Por lo tanto, es importante considerar la especificidad del control biológico en diferentes cepas del hongo.
- En un entorno natural, existen muchos factores que pueden influir en la eficacia del control biológico, como las condiciones climáticas,

la presencia de otros microorganismos y la interacción con otros agentes de control, como pesticidas. Estos factores pueden afectar la capacidad de los microorganismos antagonistas para controlar eficazmente el hongo.

- Aunque los estudios *in vitro* pueden proporcionar información valiosa sobre el efecto antagónico de los microorganismos, la aplicación práctica de estos resultados puede ser desafiante. Es necesario desarrollar métodos efectivos y prácticos para la aplicación de los microorganismos en el campo, considerando factores como la dosis, el momento de aplicación y la viabilidad de los microorganismos.
- Algunos microorganismos eficientes pueden ser difíciles de obtener y mantener en condiciones de laboratorio, lo que puede limitar su uso en la aplicación práctica. Además, es posible que se requieran condiciones específicas de cultivo y almacenamiento para mantener la viabilidad y la eficacia de los microorganismos.
- El uso continuo de los mismos microorganismos antagonistas puede llevar al desarrollo de resistencia por parte del hongo patógeno. Esto podría limitar la eficacia del control biológico a largo plazo y requerir la búsqueda de nuevos microorganismos o estrategias de control.
- La implementación del control biológico puede implicar costos adicionales, como la producción y aplicación de los microorganismos, la capacitación del personal y la adquisición de equipos e infraestructura necesarios. Estos costos pueden limitar la viabilidad económica del control biológico en comparación con otros métodos de control.
- El control biológico puede ser más efectivo en pequeñas áreas o en cultivos a pequeña escala. Sin embargo, puede ser más difícil de implementar en grandes extensiones de cultivo de caña de azúcar. La logística y la viabilidad de aplicar los microorganismos a gran escala deben ser consideradas.

- Los microorganismos eficientes pueden tener un efecto limitado en lesiones foliares avanzadas causadas por el hongo. En etapas avanzadas de la enfermedad, es posible que se requieran otros métodos de control, como el uso de fungicidas, para controlar eficazmente la enfermedad.
- Las condiciones ambientales, como la temperatura, la humedad y la disponibilidad de nutrientes, pueden influir en la eficacia del control biológico. Es importante considerar estas condiciones al evaluar la eficacia de los microorganismos en el control de *C. petersonii*.
- La identificación y selección de microorganismos eficientes puede ser un proceso complejo y requiere de técnicas de laboratorio especializadas. Además, la disponibilidad de información sobre la eficacia de diferentes microorganismos puede ser limitada, lo que dificulta la selección adecuada de los mismos.
- Los microorganismos antagonistas pueden interactuar con otros organismos beneficiosos presentes en el suelo o en la planta, lo que puede afectar su eficacia. Es importante considerar estas interacciones al evaluar el efecto antagónico de los microorganismos.
- La evaluación de la eficacia del control biológico puede ser un desafío. Se requieren métodos de evaluación precisos y confiables para determinar el impacto de los microorganismos en la reducción de las lesiones foliares causadas por *C. petersonii*.
- La transferencia de tecnología relacionada con el control biológico puede ser limitada. La falta de conocimiento y capacitación adecuada en el uso de microorganismos puede dificultar su adopción por parte de los agricultores y limitar su aplicación en la industria de la caña de azúcar.
- En algunas situaciones, puede ser necesario combinar el control biológico con otros métodos de control, como el uso de fungicidas.



Sin embargo, la interacción entre los microorganismos y los agentes químicos puede tener efectos impredecibles y limitar la eficacia del control biológico.

- La estandarización de los resultados obtenidos en diferentes estudios *in vitro* puede ser un desafío. Las diferencias en los métodos de investigación, las cepas utilizadas y las condiciones de cultivo pueden dificultar la comparación y generalización de los resultados.
- El control biológico puede tener una durabilidad limitada, ya que los microorganismos antagonistas pueden tener una vida útil limitada en el campo. Es posible que se requieran aplicaciones repetidas para mantener la eficacia del control biológico a lo largo del tiempo.
- La producción a gran escala de los microorganismos antagonistas puede ser un desafío. Se requieren instalaciones y equipos especializados, así como técnicas de producción eficientes, para garantizar la disponibilidad y viabilidad de los microorganismos en cantidades suficientes.
- La implementación del control biológico puede requerir recursos adicionales, como mano de obra especializada, tiempo y financiamiento. La disponibilidad limitada de estos recursos puede limitar la viabilidad y la adopción del control biológico en la producción de caña de azúcar.

Es importante tener en cuenta estas limitaciones al desarrollar y aplicar estrategias de control biológico para el manejo de *C. petersonii* en la caña de azúcar. Estas limitaciones resaltan la necesidad de investigaciones adicionales y el desarrollo de enfoques integrados para el control de enfermedades en los cultivos.

## CAPÍTULO II: Marco teórico referencial

### 2.1 Antecedentes

El cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, en términos de superficie sembrada, generación de empleos, relevancia económica y su papel fundamental en la producción de azúcar y biocombustibles (Figueroa Rodríguez et al., 2015). Sus residuos también son aprovechados por su alto contenido de nutrientes, siendo así Vera-Rodríguez et al., (2021); Vera Rodríguez, (2022) realizaron un análisis bromatológico a los residuos de la caña de azúcar en la variedad CC8592 en base a materia seca encontrando los siguientes resultados: La hoja verde 4.44% P.C., 1.46% grasa, 7.86% ceniza, 34.17% fibra, 52.07% E.L.N., 32.69% MS total, 59.78% F.D.N., 32.50% F.D.A., 4.39% L.D.A. y 4.44 Mcal/Kg E.B., con una degradación del 69,51 %; La hoja seca contiene 2.88% P.C., 1.82% grasa, 10.86% ceniza, 40.84% fibra, 43.60% E.L.N., 86.68% M.S. total, 62.67% F.D.N., 39.42% F.D.A., 5.24% L.D.A. y 4.30 Mcal/Kg E.B., con una degradación del 62,08%; El bagazo contiene 2.42% P.C., 1.40% grasa, 2.48% ceniza, 34.62% fibra, 59.08% E.L.N., 33.35% M.S. total, 68.03% F.D.N., 36.44% F.D.A., 7.10% L.D.A. y 4.67 Mcal/Kg E.B. y con una degradación del 58,13%, con un alto aprovechamiento en la alimentación animal (Vera et al., 2022).

En diversas regiones, la producción de caña de azúcar se ve afectada por una variedad de enfermedades fúngicas que pueden reducir significativamente el rendimiento (Pérez et al., 2018). Entre estas, las lesiones foliares causadas por un nuevo hongo identificado recientemente *Curvularia petersonii*, conocido por su capacidad para invadir los tejidos foliares de la planta, causando manchas necróticas que pueden coalescer y provocar la muerte del tejido afectado, representando un problema significativo para grandes productores (Mourão et al., 2017).

Según Álvarez-Cabrera (2017), el interés en el control biológico de patógenos vegetales ha aumentado notablemente como respuesta a la creciente preocupación de la sociedad sobre el uso de agroquímicos en la

agricultura. Tanto como; gobiernos, agricultores y consumidores de productos agrícolas de diferentes países están cada vez más conscientes de los problemas relacionados con los agros defensivos químicos en el sector agrícola, como su impacto en la seguridad alimentaria, el medio ambiente, los recursos naturales y la biodiversidad (Milián et al., 2018).

Desde el punto de vista de Villarreal-Delgado et al., (2018), el Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades (MIPE) es una alternativa crucial para el desarrollo de una agricultura sostenible que garantiza la seguridad alimentaria global, combinando métodos biológicos, culturales y químicos de forma complementaria. En el MIPE el uso de agentes de control biológico (ACB) se destaca como una alternativa sustentable para mitigar los efectos negativos de diversas enfermedades en la productividad y calidad de los cultivos agrícolas, disminuyendo la resistencia de organismos fitopatógenos y contaminación de suelos y mantos acuíferos, permitiendo la producción de alimentos inocuos y reducción de costos de producción agrícola (Vidal Martínez et al., 2021).

En los últimos años, se ha documentado el efecto que ejerce una gran diversidad de microorganismos rizosféricos en el control de patógenos vegetales, ya que la rizósfera actúa como la primera línea de defensa de la planta contra estos organismos (Chulze, 2023). Este incidente a derivado al estudio de varios mecanismos empleados por los ACB para inhibir el crecimiento, desarrollo e infección de organismos fitopatógenos en cultivos agrícolas de importancia económica, entre estos mecanismos destacan; el hiperparasitismo y predación, así como la producción de compuestos de bajo peso molecular, que afecta directamente el crecimiento del patógeno, incluido antibióticos, enzimas líticas, productos de residuos no regulados y mecanismos indirectos por competencia de espacio y nutrientes (Vinchira-Villarraga & Moreno-Sarmiento, 2019).

## **2.2 Contenido teórico que fundamenta la investigación**

### **2.2.1. Introducción al uso de microorganismos beneficiosos en la protección de cultivos**

EM es la abreviación de Effective Microorganisms (Microorganismos Eficaces, Efectivos o Eficientes), un cultivo mixto de microorganismos benéficos naturales, presentes en ecosistemas naturales y sin manipulación genética, que son fisiológicamente compatibles entre sí (Peralta-Antonio et al., 2019). Desde el punto de vista de Feijoo (2016) al ser inoculados estos organismos vivos en el medio natural, el efecto individual de cada microorganismo se amplifica significativamente de manera sinérgica debido a su acción en comunidad.

Tanya Morocho & Leiva-Mora (2019) resaltan que la creciente demanda de alimentos obliga a los productores a buscar métodos para acelerar los procesos de germinación, crecimiento y producción. El enfoque más comúnmente utilizado es el químico, el cual, aunque es efectivo en el corto plazo, puede ocasionar daños significativos a los suelos y, potencialmente, a los consumidores finales, originando consecuencias negativas como; degradación del suelo, la pérdida de biodiversidad y la acumulación de residuos químicos en los productos alimenticios, causando riesgo en la salud humana (Guzmán-Bejarano et al., 2020).

De acuerdo con Ferral Manresa et al (2019), es esencial considerar métodos alternativos y sostenibles, como la aplicación de microorganismos eficaces (EM), que pueden mejorar la salud del suelo y la calidad de los cultivos sin los efectos adversos asociados con los productos químicos.

Es por ello que surge la necesidad de emplear mecanismos biológicos, como el uso de microorganismos, en el proceso de germinación, como estimulantes foliares y en el tratamiento de plagas y enfermedades, en lugar de los métodos químicos tradicionales (Reinaldo, 2020). Esta estrategia no solo mejora la calidad de los alimentos, beneficiando así la salud del consumidor, sino que también reduce la contaminación del suelo y el aumento del rendimiento económico del productor, ya que estos métodos son

menos costosos comparados con la inversión necesaria para los fertilizantes químicos (Calero-Hurtado et al., 2018).

Calero-Hurtado et al., (2018) plantea que, las condiciones actuales de contaminación y el excesivo empleo de sustancias químicas sintéticas han conducido al aumento de microorganismos regeneradores, una manera de enfrentar estos desafíos es mediante el uso de microorganismos eficaces (EM).

Los microorganismos eficaces (EM) constituyen un amplio grupo de organismos que desempeñan diversas funciones vitales en el suelo, facilitando la regulación de múltiples ciclos de sustancias esenciales para el mantenimiento continuo de la vida en el suelo (Galecio-Julca et al., 2020). Estos organismos, que incluyen bacterias, hongos y actinomicetos, habitan naturalmente en el suelo y desempeñan roles fundamentales como la descomposición y transformación de diversos materiales, facilitando su uso en la nutrición de las plantas. Además, juegan un papel crucial en los ciclos biogeoquímicos que ocurren en la naturaleza (Quispe & Chávez, 2017).

Como afirma Calero-hurtado et al., (2019), los EM son un conjunto mixto de microorganismos benéficos como bacterias fotosintéticas, productoras de ácido láctico, levaduras, actinomicetos y hongos fermentadores, que pueden ser utilizados como inoculantes para enriquecer la diversidad microbiana del suelo, ya que, este enriquecimiento contribuye a mejorar la calidad y salud del suelo, lo cual resulta en un incremento del crecimiento, la calidad y la productividad de los cultivos.

Hurtado et al., (2020) argumenta que, al aplicar dichos organismos benéficos en suelos, aguas residuales y desechos orgánicos, se altera la población microbiana hacia una comunidad microbiológica que produce sustancias beneficiosas para la vida vegetal y animal. Esta tecnología se basa en la introducción de un grupo de microorganismos beneficiosos con el fin de mejorar las condiciones

del suelo, prevenir la putrefacción (incluyendo enfermedades) y aumentar la eficiencia en el uso de la materia orgánica por parte de las plantas (Vinchira-Villarraga & Moreno-Sarmiento, 2019).

Reinaldo (2020) señala que, estos organismos se agrupan en categorías funcionales amplias, como el grupo de ácido láctico, bacterias fotosintéticas, levaduras, actinomicetos y hongos. En el suelo, desempeñan diversas funciones como; fijación de nitrógeno atmosférico, descomposición de desechos orgánicos y residuos, control de patógenos, reciclaje y aumento de la disponibilidad de nutrientes en plantas, degradación de sustancias tóxicas como pesticidas, producción de antibióticos y otros compuestos bioactivos, síntesis de moléculas orgánicas simples utilizables por las plantas, formación de complejos con metales pesados para limitar su absorción por las raíces, solubilización de nutrientes insolubles y producción de polisacáridos que mejoran la estructura del suelo (Milián et al., 2018).

### **2.2.2. Importancia económica y agrícola de la caña de azúcar: una visión general de su cultivo**

La caña de azúcar fue introducida en República Dominicana por Cristóbal Colón en 1493 y posteriormente se expandió por todo el continente americano, adaptándose a las condiciones tropicales de la región (Pascual-Córdova et al., 2017). Esta adaptación permitió que Cuba liderara la producción mundial de azúcar durante más de dos décadas, puesto que en la actualidad Brasil ha asumido el primer puesto como principal productor y exportador mundial de caña de azúcar, con una producción que supera los 16 millones de toneladas al año (Figuroa Rodríguez et al., 2015).

Lagos-Burbano & Castro-Rincón (2019) afirman que esta gramínea tiene la capacidad de producir y almacenar en sus tallos el alimento más universal, ya que aproximadamente el cien por ciento de más de 7 mil 270 millones de habitantes del planeta consumen algún tipo

de azúcar todos los días, de manera directa o indirecta, ya que a pesar de que su manejo actualmente presenta desafíos significativos en términos de sostenibilidad ambiental, manteniendo una alta viabilidad económica y social.

Prácticamente este cultivo rentable, fue responsable de la introducción del comercio de esclavos africanos en el continente americano, utilizados como mano de obra en el proceso agroindustrial (Brito, 2015). Este período histórico involucró trabajos forzados y condiciones severas, aunque esta gramínea es un cultivo impresionante que, si se gestiona adecuadamente, puede contribuir a la protección del suelo, reducir la contaminación ambiental y generar beneficios significativos tanto para los productores de caña como para el país en general (Aguilar Rivera, 2014).

Según Quishpe et al., (2020) Ecuador cuenta con seis ingenios azucareros que cubren la demanda nacional y aseguran la exportación hacia Estados Unidos, además en la región andina, se cultiva caña de azúcar y se elabora panela y aguardiente de manera tradicional, lo que convierte a este cultivo en una importante fuente de empleo para más de 30.000 personas.

En términos económicos, es un cultivo de alto valor comercial, ya que es un componente fundamental en la industria alimentaria, utilizándose tanto para consumo directo como para la elaboración de una amplia gama de productos procesados, desde alimentos hasta bebidas y dulces (Pérez et al., 2018). Además del azúcar, esta gramínea se utiliza extensamente en la producción de etanol, un biocombustible importante que contribuye a la diversificación energética y a la reducción de la dependencia de los combustibles fósiles (Agüero-Rodríguez et al., 2015).

Desde el punto de vista agrícola, el cultivo de caña es intensivo y requiere cuidadoso manejo agronómico, puesto que se cultiva en grandes extensiones de tierra, especialmente en países como Brasil,

India, China y Tailandia, que son líderes mundiales en la producción de azúcar de caña (Piñeros-Lizarazo, 2019). El proceso de cultivo involucra técnicas avanzadas de manejo del suelo, riego y control de plagas para garantizar altos rendimientos y calidad del producto final. Dado que desempeña un papel crucial en la economía rural, proporcionando empleo a millones de personas en todo el mundo, desde trabajadores agrícolas hasta personal en plantas de procesamiento y transporte (Saucedo Castillo et al., 2015).

### 2.2.3. Características y clasificación de los microorganismos eficientes: una revisión de las especies *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis*

Para Calero-hurtado et al (2019), los microorganismos eficientes son una mezcla de especies microbianas beneficiosas que mejoran la salud del suelo y promueven el crecimiento de las plantas. Entre los más destacados se encuentran los hongos del género *Trichoderma* spp. y las bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus*, ya que estos microorganismos son ampliamente utilizados en la agricultura y en la gestión ambiental debido a su capacidad para controlar enfermedades, promover el crecimiento vegetal y mejorar la estructura del suelo (Venegas-Vera & Pincay-Menéndez, 2024).

***Trichoderma asperellum***: Es un hongo filamentoso conocido por su capacidad antagonista contra patógenos del suelo, este microorganismo eficiente actúa principalmente a través de mecanismos de competencia, micoparasitismo y producción de metabolitos antibióticos, ya que no solo inhibe el crecimiento de hongos patógenos, sino que también promueve el crecimiento de las plantas mediante la producción de hormonas vegetales y la solubilización de nutrientes, además su uso en biocontrol ha demostrado ser eficaz en cultivos de tomate, pimiento y pepino, proporcionando una alternativa ecológica a los fungicidas químicos



(Pineda-Cotrina et al., 2022).

***Trichoderma harzianum***: Segovia et al., (2019) plantea que este organismo comparte muchas características con *T. asperellum*, destacándose también por su capacidad para controlar enfermedades fúngicas del suelo, convirtiéndose en un hongo eficaz contra patógenos como *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Pythium*. Además, actúa mediante la colonización de raíces y la liberación de enzimas hidrolíticas que degradan las paredes celulares de los patógenos. Además, este microorganismo puede inducir la resistencia sistémica en las plantas, preparando su sistema inmunológico para responder más eficientemente a futuras infecciones (Cabrera et al., 2023).

***Pseudomonas fluorescens***: Para Álvarez-García et al., (2020), es una bacteria Gram-negativa que se destaca por su capacidad para promover el crecimiento vegetal, produce varios compuestos bioactivos, como sideróforos, antibióticos y hormonas vegetales, que contribuyen a la salud del suelo y de las plantas, siendo particularmente efectiva en la lucha contra patógenos bacterianos y fúngicos, y su capacidad para formar biopelículas en las raíces, además es utilizada en la biorremediación de suelos contaminados debido a su capacidad para degradar compuestos tóxicos.

***Bacillus subtilis***: Es uno de los microorganismos promotores del crecimiento de plantas (PGPR) más investigados y utilizados, además presenta un gran potencial para uso en la agricultura y se encuentra abundantemente en el suelo, es una bacteria grampositiva no patógena identificada en la rizosfera de varias plantas (Illa et al., 2020). González-León et al (2023) postula que *B. subtilis* se ha empleado como organismo modelo para estudiar la producción de metabolitos secundarios, la esporulación, el desarrollo de biopelículas y la interacción con las raíces de las plantas, sus beneficios para la salud vegetal, junto con su capacidad de formar esporas resistentes, lo hacen un candidato prometedor para aplicaciones agrícolas.

#### **2.2.4. Propiedades antagónicas de los microorganismos eficientes: mecanismos de acción contra patógenos**

Ferral Manresa et al., (2019) plantea que, los distintos tipos de microorganismos presentes en los suelos utilizan sustancias generadas por otros organismos para su funcionamiento y desarrollo. Las raíces de las plantas liberan compuestos que estos microorganismos aprovechan para crecer, lo que les permite sintetizar aminoácidos, ácidos nucleicos, vitaminas, hormonas y otras sustancias bioactivas, a medida que estos organismos aumentan su población en el entorno, se incrementa también la actividad de los microorganismos naturales, enriqueciendo la microflora, equilibrando los ecosistemas microbianos y suprimiendo los microorganismos patógenos (Paqui et al., 2018; Vera Rodríguez et al., 2024).

Según Calero Hurtado et al., (2020), las especies principales de microorganismos incluyen:

##### *Bacterias Ácido-Lácticas:*

Estas bacterias convierten azúcares y otros carbohidratos en ácido láctico, utilizando los compuestos sintetizados por bacterias fototróficas y levaduras (Viera-Arroyo et al., 2020). Diversos estudios indican que el ácido láctico actúa como un potente agente esterilizante, capaz de suprimir microorganismos perjudiciales y facilitar la descomposición de materiales como la lignina y la celulosa, fermentándolos y eliminando efectos no deseados de la materia orgánica sin descomponer, además tienen la capacidad de suprimir enfermedades, incluyendo patógenos como *Fusarium*, que tienden a surgir en cultivos continuos y en condiciones normales debilitan las plantas, haciéndolas más susceptibles a enfermedades y a plagas como los nemátodos (Castro-Barquero et al., 2020).

##### *Bacterias Fototróficas:*

Estas bacterias autótrofas sintetizan sustancias útiles a partir de secreciones de raíces, materia orgánica y gases dañinos, utilizando la luz solar y el calor del suelo como fuentes de energía, entre las sustancias sintetizadas se encuentran aminoácidos, ácidos nucleicos, sustancias bioactivas y azúcares, que promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas, los metabolitos son absorbidos directamente por las plantas y actúan como sustrato para incrementar la población de otros microorganismos eficientes (Torres Pérez et al., 2022).

#### *Levaduras:*

De acuerdo con Yáñez Yáñez et al., (2016), las levaduras son hongos unicelulares que actúan como un puente biológico entre las bacterias y los organismos superiores, combinando la fácil manipulación y rápido crecimiento de los microorganismos, sintetizan sustancias antimicrobianas y otros compuestos útiles para el crecimiento de las plantas, a partir de aminoácidos y azúcares secretados por bacterias fototróficas, materia orgánica y raíces de plantas, además las sustancias bioactivas, como hormonas y enzimas producidas por estos organismos vivos, promueven la división celular y el crecimiento radicular activo.

#### *Actinomicetos*

Quiñones-Aguilar et al., ( 2016) mencionan que los actinomicetos son una estructura intermedia entre bacterias y hongos, capaces de coexistir con bacterias fotosintéticas y de producir sustancias antimicrobianas a partir de los aminoácidos y la materia orgánica que estas secretan. Ambas especies, como actinomicetos y bacterias fotosintéticas, mejoran la calidad de los suelos al incrementar su actividad antimicrobiana, controlando hongos y bacterias patógenas y aumentan la resistencia de las plantas mediante la producción de antibióticos que inhiben patógenos del suelo, beneficiando así el crecimiento y la actividad de Azotobacter y micorrizas (Aguilar,

2013).

### **2.2.5. Enfermedades foliares en Caña de Azúcar**

Moyano et al., (2021) describe que actualmente existen diversas enfermedades foliares provocadas por hongos fitopatógenos que son las principales causantes de pérdida producción en este cultivo.

#### *Enfermedad del carbón:*

La enfermedad del carbón, causada por el hongo *Sporisorium scitamineum*, provoca la formación de una estructura negra y alargada conocida como "espadice", que emerge del tallo de la planta, mostrando una disminución en el crecimiento y una reducción en el contenido de sacarosa, lo que afecta negativamente la producción (Iglesias, 2017).

#### *Roya café:*

Causada por *Puccinia melanocephala*, afecta las hojas, formando pústulas de color marrón oscuro, la infección reduce la fotosíntesis y provoca la defoliación prematura de las plantas, ya que a pérdida de área foliar reduce el crecimiento y la producción impactando la cantidad y calidad del azúcar producido (Soto et al., 2016).

#### *Roya naranja:*

Teniendo en cuenta a Aday Díaz et al., (2017), es una enfermedad producida por *Puccinia kuehnii*, las pústulas de color naranja aparecen en las hojas, reduciendo la capacidad fotosintética de la planta, lleva a una disminución del crecimiento de las plantas y una reducción en el contenido de sacarosa.

#### *Cogollo retorcido:*

Medina-Osti et al., (2022) en su primer reporte menciona que, esta sintomatología es causado por hongos del género *Fusarium*, es una de las enfermedades fungosas más frecuentes y está prácticamente en todas las áreas productoras de caña de azúcar del mundo, los primeros síntomas de la enfermedad son áreas cloróticas en la base

de las hojas jóvenes, distorsión (arrugamiento y enrollamiento) y acortamiento de las hojas afectadas y en casos severos la pudrición del cogollo y muerte del tallo

*Mancha de anillo:*

La mancha de anillo, causada por *Leptosphaeria sacchari*, afecta las hojas de la caña de azúcar, produciendo lesiones circulares que empiezan con manchas amarillas y se vuelven marrones con un borde oscuro, se presentan de coloraciones similares a las lesiones causadas por roya, y son ocasionalmente confundidas por algunos técnicos con los síntomas de esta enfermedad (de la Caridad Aday Díaz et al., 2017).

*Muermo rojo:*

Sus larvas hacen galerías comenzando en los nudos para luego dirigirse al entrenudo, el daño viejo adquiere un tono rojo oscuro (muermo rojo) debido a la presencia del hongo *Colletotrichum falcatum*, ya que cuando el barrenador afecta la caña durante germinación, produce un síntoma denominado corazones muertos, que se caracteriza por la muerte de la hoja que forma el cogollo y la yema terminal (Ortiz-Martínez et al., 2013).

## **2.2.6. Interacciones planta-microorganismo: el papel de los microorganismos beneficiosos en la salud y resistencia de las plantas**

Según Cano (2011), la versatilidad de los microorganismos en los sistemas agrícolas se manifiesta a través de factores bióticos, incluyen la competencia con otros microorganismos, la composición biológica del suelo y las interacciones entre plantas y microorganismos, además los factores abióticos como el clima y las propiedades físicas y químicas del suelo juegan un papel crucial al influir en la naturaleza de estas interacciones, puesto que estos elementos determinan si los efectos de los microorganismos son beneficiosos o perjudiciales para el crecimiento de las plantas.

Como afirma Pedraza et al., (2020), la interacción de microorganismos que habitan en la rizosfera, como los hongos micorrícicos arbusculares (AMF), los hongos del género *Trichoderma* spp. y las bacterias del género *Pseudomonas* spp. comúnmente reconocidos como agentes de control biológico (BCA) y microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPM), depende de estos factores para mostrar sus posibles efectos positivos. Sin embargo, las interacciones entre estos microorganismos son complicadas y pueden resultar en efectos sinérgicos que amplifiquen los beneficios para la planta. Por el contrario, también pueden surgir efectos antagónicos o simplemente no manifestarse ningún efecto (Ríos Rocafull et al., 2016).

Prever el resultado de las interacciones entre plantas y microorganismos beneficiosos del suelo, y especialmente entre diferentes especies de microorganismos, es complejo (Torres Pérez et al., 2022). No obstante, se reconoce que las comunidades microbianas asociadas con el sistema radicular juegan un papel fundamental en el avance de prácticas agrícolas sostenibles (Cano, 2011). La reacción de las plantas a la inoculación está condicionada por la compatibilidad funcional en términos de fisiología y bioquímica de las interacciones entre los diversos componentes microbianos, lo que puede resultar en respuestas variadas dependiendo de la combinación de microorganismos (Quispe & Chávez, 2017).

De acuerdo con Ochoa et al., (2010), se atribuyen numerosos beneficios a estos microorganismos cuando se estudian de manera individual, ya que cada especie posee habilidades específicas para actuar como promotores del crecimiento vegetal (PGPM) y agentes de control biológico (BCA). Estas especies estudiadas muestran la versatilidad de sus capacidades en cuanto a los efectos beneficiosos, incluyendo la estimulación del crecimiento de las plantas y la protección directa contra patógenos del suelo, así como indirectamente contra patógenos aéreos (Guzmán Duchén & Montero Torres, 2021).

En lo que respecta a su impacto en el estado nutricional y en el estímulo del crecimiento y desarrollo de las plantas, ya sea mediante la provisión de agua y nutrientes, entre otros aspectos, como en el caso de los hongos micorrícicos arbusculares (AMF) que aumentan la exploración del suelo más allá de la zona de agotamiento de nutrientes y agua, o en la capacidad para solubilizar compuestos orgánicos y producir metabolitos secundarios que imitan la acción de las fitohormonas, esto afecta directamente la disponibilidad de nutrientes y fomenta el crecimiento vegetal (Guzmán Duchén & Montero Torres, 2021).

### **2.2.7. Aspectos económicos y ambientales del control biológico**

El control biológico ofrece una alternativa rentable a los métodos convencionales de manejo de plagas, como el uso de pesticidas químicos, al reducir la dependencia de estos productos químicos, los agricultores pueden disminuir significativamente los costos asociados con la compra de pesticidas y la aplicación recurrente de los mismos (Yáñez Yáñez et al., 2016). Además, el uso de agentes de control biológico, como depredadores naturales y microorganismos beneficiosos, puede prolongar la eficacia del manejo de plagas a largo plazo, ya que estos organismos pueden establecerse en el entorno y proporcionar un control continuo, minimizando la necesidad de aplicaciones repetidas y costosas (Pedraza et al., 2020).

Como afirma Guzmán Duchén & Montero Torres (2021), esta técnica fomenta la sostenibilidad ambiental al promover prácticas agrícolas que son más alineadas con los procesos naturales, estos agentes biológicos como los hongos micorrícicos y las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, mejoran la estructura del suelo, aumentan la eficiencia en el uso de nutrientes y promueven la resistencia de las plantas a estreses bióticos y abióticos.

Esta mejora en la salud del suelo y la biodiversidad no solo ayuda a

mantener la productividad agrícola a largo plazo, sino que también contribuye a la mitigación del cambio climático al aumentar la capacidad del suelo para secuestrar carbono, ya que en conjunto estos factores hacen del control biológico una pieza clave en la transición hacia sistemas agrícolas más sostenibles y resilientes (Aguilar, 2013).

El control biológico se originó a principios del siglo XIX, cuando naturalistas de varios países destacaron el papel crucial de los organismos entomófagos en la naturaleza, esta estrategia busca restablecer el equilibrio ecológico perturbado utilizando organismos vivos o sus metabolitos para eliminar o reducir los daños causados por organismos nocivos (Beltrán & de la Torre, 2016).

Galecio-Julca et al., (2020) plantea que la evolución natural de los sistemas de producción agrícola en los últimos años ha conducido a la adopción de métodos de control de plagas y enfermedades más racionales y respetuosos con el medio ambiente, puesto que estos métodos están alineados con la filosofía del desarrollo sostenible y promueven la conservación de los recursos, la biodiversidad y la ética ambiental.

### **2.2.8. Resistencia de los hongos patógenos en las plantaciones de caña de azúcar**

Lujan-Hidalgo et al., (2020) afirma que, la resistencia de los hongos patógenos en las plantaciones de caña de azúcar representa un desafío significativo para los productores, hongos como *Colletotrichum falcatum*, causante de la enfermedad del carbón, y *Fusarium sacchari*, responsable del marchitamiento, han desarrollado mecanismos de resistencia que dificultan su control. Esta resistencia no solo reduce la eficacia de los fungicidas, sino que también incrementa los costos de producción y amenaza la estabilidad económica de las regiones dependientes de este cultivo (Aguilar Rivera, 2014).



Los hongos patógenos desarrollan resistencia a través de diversas estrategias, incluyendo mutaciones genéticas que alteran los sitios de acción de los fungicidas y la producción de enzimas que descomponen estos compuestos, estos mecanismos permiten a los hongos sobrevivir a tratamientos químicos, proliferar y causar daños significativos en las plantaciones, el impacto de esta resistencia se manifiesta en una disminución de los rendimientos, calidad del producto y, en última instancia, en pérdidas económicas para los agricultores (Pascual-Córdova et al., 2017).

Para enfrentar la resistencia de los hongos patógenos, es crucial implementar estrategias de manejo integrado de plagas (MIP), estas estrategias incluyen la rotación de fungicidas con diferentes modos de acción, el uso de variedades de caña de azúcar resistentes a enfermedades, y la aplicación de prácticas culturales como la eliminación de residuos de cosecha y la mejora de la sanidad del suelo, además la introducción de agentes biológicos como antagonistas microbianos puede ayudar a controlar las poblaciones de hongos patógenos sin inducir resistencia (Clavero-Camacho et al., 2023).

La investigación continua es esencial para desarrollar nuevas soluciones frente a la resistencia a hongos patógenos (Arce-Araya et al., 2019). Estudios enfocados en la genética de la resistencia, el desarrollo de nuevos fungicidas y la identificación de variedades de caña de azúcar más resistentes son fundamentales (Viera-Arroyo et al., 2020). Además, la colaboración entre instituciones académicas, gubernamentales y la industria agrícola puede acelerar la adopción de tecnologías innovadoras y prácticas sostenibles que mitiguen el impacto de los hongos patógenos en las plantaciones de caña de azúcar (Milián et al., 2018).

## CAPÍTULO III: Diseño metodológico

### 3.1 Tipo y diseño de investigación

La investigación es de tipo experimental, descriptiva, cualitativa y cuantitativa. En la propiedad “Agrícola Cepeda”, ubicada en el sitio La Puntilla, La Troncal – Ecuador, se tomaron muestras de tejido vegetal con lesiones foliares en la caña de azúcar variedad ECU-08 ver figura 1.

Figura 1. Lesiones foliares en la caña de azúcar variedad ECU-08



Las muestras fueron trasladadas hasta el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias e Ingenierías de la Universidad Estatal de Milagro. Donde fueron lavadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1% durante 5 minutos. Dentro de una cabina de seguridad se cortaron las muestras en pedazos de 5 cm<sup>2</sup> y se tomaron muestras del tejido lesionado para inocular en placas con PDA e incubar a 30°C durante 10 días, para su posterior purificación, ver figura 2.

Figura 2. Procesamiento de las muestras de tejido vegetal de caña de azúcar.



Para el experimento se planteó evaluar el antagonismo mediante la confrontación dual entre 4 microorganismos eficientes (*Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, *Pseudomona fluorescens* y *Bacillus subtilis*) y una cepa patógena (*Curvularia petersonii*), con 5 réplicas y sus respectivos controles, sumando un total de 45 unidades experimentales, ver tabla 2.

Tabla 2. Distribución de los tratamientos y controles

Tratamientos	Enfrentamientos y Controles	Replicas
T1	<i>Trichoderma asperellum</i> & <i>Curvularia petersonii</i>	5
T2	<i>Trichoderma harzianum</i> & <i>Curvularia petersonii</i>	5
T3	<i>Pseudomona fluorescens</i> & <i>Curvularia petersonii</i>	5
T4	<i>Bacillus subtilis</i> & <i>Curvularia petersonii</i>	5
T5 (Control)	<i>Trichoderma asperellum</i>	5
T6 (Control)	<i>Trichoderma harzianum</i>	5
T7 (Control)	<i>Pseudomona fluorescens</i>	5
T8 (Control)	<i>Bacillus subtilis</i>	5
T9 (Control)	<i>Curvularia petersonii</i>	5
<b>Total</b>		<b>45</b>

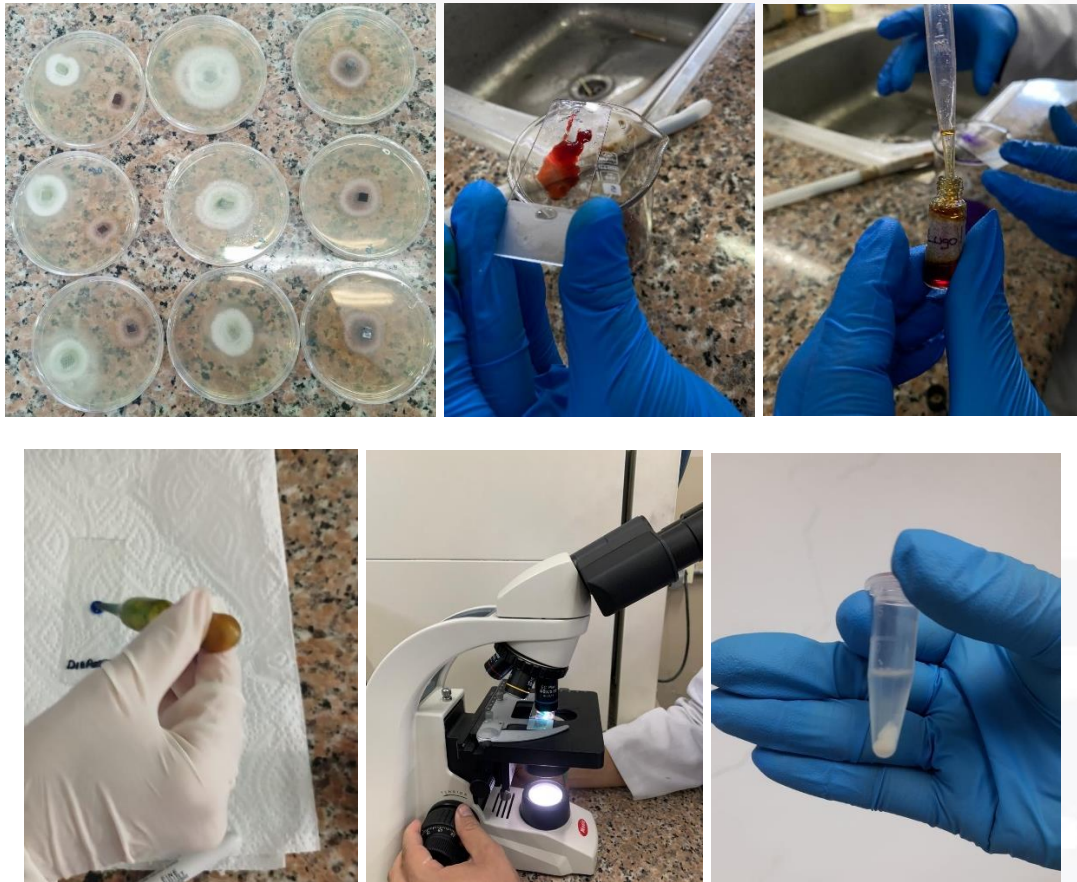
Fuente: Autores

## 3.2 La población y la muestra

### 3.2.1 Características de la población

Se realizó la caracterización a los diferentes microorganismos, por tanto, se efectuó una caracterización macroscópica y microscópica tanto a las cepas patógenas como antagonistas, es decir tinción con azul de lactofenol para caracterizar los hongos y tinción de Gram para observar las bacterias dentro de que grupo pertenecen (Gram +, o Gram -) como se observa en la figura 3. Además, la cepa patógena también fue caracterizada molecularmente prestando los servicios de un laboratorio externo IDgen de la ciudad de Quito.

Figura 3. Caracterización de las cepas.



### 3.2.2 Delimitación de la población

La población objeto de estudio en este experimento comprende de 4 microorganismos eficientes escogidos por su potencial antagonista contra hongos (*T. asperellum*, *T. harzianum*, *P. fluorescens*, *B. subtilis*) y 1 cepa patógena (*Curvularia petersonii*).

### 3.2.3 Tipo de muestra

La muestra inicial parte de tomar tejidos infectados desde las hojas de la caña de azúcar variedad ECU-08, donde fue aislado el hongo patógeno (*Curvularia petersonii*) responsable de causar lesiones en las hojas de gramíneas.

Los 4 microorganismos antagonistas se detallan a continuación:

- *T. asperellum*: Hongo eficiente para la inhibición de cepas fúngicas patógenas.

- *T. harzianum*: Hongo que posee un gran poder biocontrolador.
- *P. fluorescens*: Cepa Gram-, con capacidad de producir metabolitos secundarios con efectos antifúngicos.
- *B. subtilis*: Cepa Gram+ con propiedad antagonista de microorganismos.

### 3.2.4 Tamaño de la muestra

Con la finalidad de efectuar un diseño experimental más preciso desde el punto de vista estadístico y la validez de los resultados, las muestras fueron distribuidas *in vitro* dentro del experimentos de la siguiente manera:

Número de Replicados: Cada tratamiento (combinación de microorganismo antagonista con la cepa patógena) se realizó con 5 réplicas.

Los tratamientos controles del hongo patógeno *Curvularia petersonii* y positivos con microorganismo antagonista (*T. asperellum*, *T. harzianum*, *P. fluorescens*, *B. subtilis*) también se realizaron en 5 replicados cada uno.

Total de Muestras: Considerando los 4 microorganismos antagonistas, 1 tratamiento control del hongo patógeno y 4 positivos con microorganismos antagonista, con 5 replicados por tratamiento, se realizó un total de 45 placas Petri por experimento (20 placas de tratamiento + 25 placas de control= 45).

### 3.2.5 Proceso de selección de la muestra

Se seleccionaron cepas de microorganismos reconocidos por su capacidad biocontroladora y previamente estudiados en ensayos de antagonismo contra diversos fitopatógenos. Las cepas utilizadas provienen de colecciones microbiológicas del laboratorio de Microbiología de la FACI-UNEMI, mientras que la cepa patógena corresponde a una cepa secuenciada de *Curvularia petersonii* N° de Accesoión NR\_158448.1.

## 3.3 Los métodos y las técnicas

El medio de cultivo utilizado para la siembra de los microorganismos fue Agar Papa Dextrosa (PDA) en dosis de 39 g/L<sup>-1</sup> de agua, siendo esterilizado a calor

húmedo dentro de la autoclave marca Yamato modelo SM311 a 121°C durante 15 minutos. Se utilizaron placas Petri de 90 mm de diámetro. Dentro de una cámara de flujo laminar marca BIOBASE modelo FH1200 se procedió a dispensar el medio garantizando un aproximado de 22 mL por placa.

Para el confrontamiento dual de los hongos *T. asperellum* y *T. harzianum* frente al hongo *C. petersonii* se realizaron cortes de 0,5 cm<sup>2</sup> de las cepas madres y ubicados a extremos de la placa a una separación de 2 cm del borde, posteriormente se sellan las cajas con papel plástico film. La siembra de bacterias *P. fluorescens* y *B. subtilis* se realizó diluyendo una muestra de cada cepa en agua peptona dentro de un tubo de ensayo de vidrio y con una micropipeta calibrada a 10 µL se vierte dentro de la placa y se dispersó por toda la superficie del agar con la ayuda de un asa de siembra de acero Digrafsky y en el punto central de la placa se sembró la cepa de *C. petersonii*. Los tratamientos controles de hongos fueron sembrados en el punto central de las placas, mientras que las bacterias sobre toda la cobertura del agar en toda la placa.

Una vez sembrada todas las cepas, fueron incubadas a 30°C. La toma de datos correspondió a mediciones diarias durante 10 días, efectuando las mediciones con un calibrador mecánico vernier.

La caracterización molecular del hongo patógeno se efectuó bajo el siguiente procedimiento:

- Extracción de ADN bajo métodos convencionales, tomando 100 mg de la muestra del hongo.
- Se evaluó la integridad y calidad del ADN mediante espectrofotometría de microvolúmenes y observación en gel de agarosa al 1%.
- Fue diluido el ADN a una concentración de 20ng/uL para amplificación mediante (PCR) usando primers ITS1/ITS4 (White et al., 1990).
- El producto de la PCR fue purificados previo a la secuenciación por el método SANGER.
- Mediante programas informáticos fueron limpiadas las secuencias

obtenidas.

- Fueron comparadas las secuencias ensambladas con la base de datos de nucleótidos de GenBank del NCBI para su identificación taxonómica.

### **Evaluación de Microorganismos Antagonistas**

Se realizaron experimentos para medir el crecimiento de *Curvularia petersonii* en condiciones controladas, sin competencia (control), y en presencia de diferentes microorganismos antagonistas. Los tratamientos se realizaron en placas de Petri de 90 mm con medio de cultivo PDA, donde se inoculó el patógeno junto con cada antagonista en condiciones estériles.

El crecimiento del micelio de *C. petersonii* se midió diariamente en milímetros (mm) hasta los 15 días, en todos los tratamientos. Las bacterias se midieron en unidades formadoras de colonias (UFC) para este punto se evaluó la capacidad inhibitoria y la cobertura de las bacterias en el medio de cultivo. Los datos de crecimiento se utilizaron para calcular las tasas de crecimiento intrínsecas de cada organismo y el impacto de los antagonistas en la reducción del crecimiento del patógeno.

Las tablas incluyen los datos de crecimiento diario de *C. petersonii* en condiciones de control y en presencia de cada microorganismo antagonista. Los gráficos muestran las curvas de crecimiento del patógeno y los antagonistas a lo largo del tiempo.

Las tasas de crecimiento se calculan utilizando la ecuación de crecimiento logístico en condiciones controladas y bajo competencia. Las ecuaciones utilizadas incluyen términos para la tasa de crecimiento intrínseca, la capacidad de carga, y los coeficientes de competencia entre especies.

### **3.4 Procesamiento estadístico de la información.**

En esta investigación fue utilizado el Modelamiento Matemático del Crecimiento Exponencial.

Para modelar el crecimiento de *Curvularia petersonii* en condiciones controladas y en presencia de antagonistas, se utiliza la ecuación diferencial logística. Esta

ecuación describe cómo cambia el tamaño de una población en el tiempo bajo ciertas condiciones.

Las ecuaciones utilizadas para modelar las interacciones están basadas en el modelo de Lotka-Volterra para competencia. La forma general de la ecuación para la población de una especie  $N_i$  está dada por:

$$\frac{dN_i}{dt} = r_i N_i \left( 1 - \frac{N_i + \sum_{j \neq i} \alpha_{ij} N_j}{K_i} \right)$$

Donde:

- $N_i$  es la densidad poblacional de la especie  $i$  (en mm de micelio para hongos y UFC para bacterias).
- $r_i$  es la tasa de crecimiento intrínseca de la especie  $i$ .
- $K_i$  es la capacidad de carga de la especie  $i$ .
- $\alpha_{ij}$  es el coeficiente de competencia que mide el efecto de la especie  $j$  sobre la especie  $i$ .

La forma general de la ecuación diferencial para el crecimiento de una población sin competencia es:

$$dN/dt = r * N * (1 - N/K)$$

Donde:

- $N$  es la densidad poblacional de *C. petersonii* en el tiempo  $t$ .
- $r$  es la tasa de crecimiento intrínseca de *C. petersonii*.
- $K$  es la capacidad de carga para *C. petersonii*.

En presencia de un antagonista, la ecuación se modifica para incluir un término de competencia:

$$dN/dt = r * N * (1 - (N + \alpha * N_{ant})/K)$$

Donde:

- $\alpha$  es el coeficiente de competencia que mide el efecto del antagonista sobre *C. petersonii*.
- $N_{ant}$  es la densidad poblacional del antagonista.



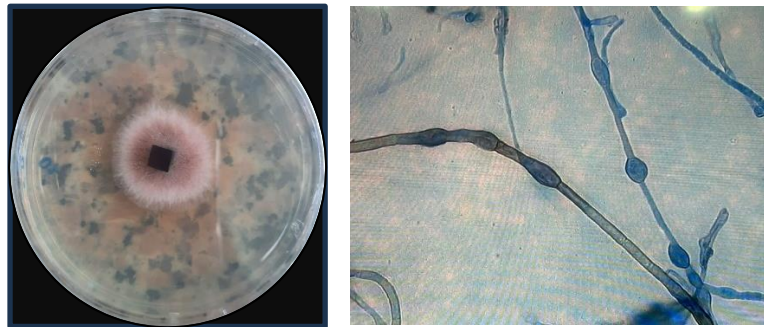
## CAPÍTULO IV: Análisis e interpretación de resultados

### 4.1 Análisis e interpretación de los resultados

#### Caracterización Morfológica

La cepa de *Curvularia petersonii* se incubó a 30°C en medio PDA, donde se tomaron en consideración las siguientes características: color de su colonia oscura, textura del micelio algodonosa, presencia de conidios, formación de anillos concéntricos, septos, fiálides y conidióforos, Fig. 4. Confirmada estas características por Iturrieta-González et al., (2020) al indagar las características del género *Curvularia*.

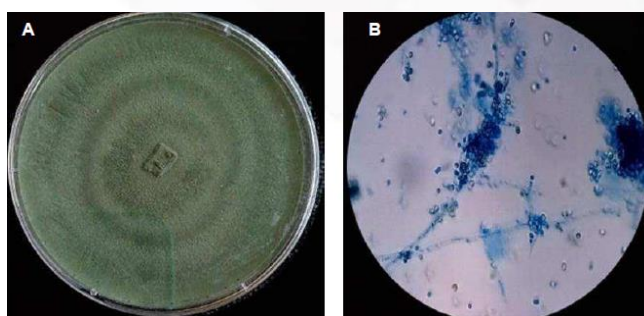
Figura 4. Caracterización morfológica de *Curvularia petersonii*.



La figura 5 muestra la cepa de *Trichoderma asperellum* se subcultivo en medio PDA a 28 °C durante 9 días, donde se tomaron en consideración las siguientes características: color, textura del micelio, presencia de conidios, formación de anillos concéntricos, septos, fiálides y conidióforos. se pueden observar las estructuras macro y micromorfológicas de la colonia, la cual muestra un micelio de color verde oscuro, con una textura uniforme polvosa, presentando un crecimiento liso y controlado de los anillos concéntricos hasta el borde de la placa.

En las características microscópicas, se observaron conidióforos con ramificaciones sencillas en pares, hifas hialinas y septadas. Las fiálides son irregulares, con ápices sinuosos y conidios agrupados de forma elipsoidal dispuestos en roseta. Las características antes descritas concuerdan con las reportadas por Sánchez et al., (2021), donde caracterizó la estructura de *Trichoderma asperellum* en PDA por su rápido crecimiento.

Figura 5. Caracterización morfológica de *Trichoderma asperellum*.



La figura 6 muestra la cepa de *Trichoderma asperellum* se subcultivo en medio PDA a 28 °C durante 9 días, donde se tomaron en consideración las siguientes características: color, textura del micelio, presencia de conidios, formación de anillos concéntricos, septos, fiálides y conidióforos. se puede observar la forma de crecimiento de la cepa, presentando un micelio aéreo blanquecino con pústulas planadas de color verde oliva. Muestra también una esporulación que cubre toda la superficie del medio. En el centro, la colonia presentó un color verde más oscuro, con el centro denso y se tornó ondulatoria en los anillos concéntricos hasta el borde.

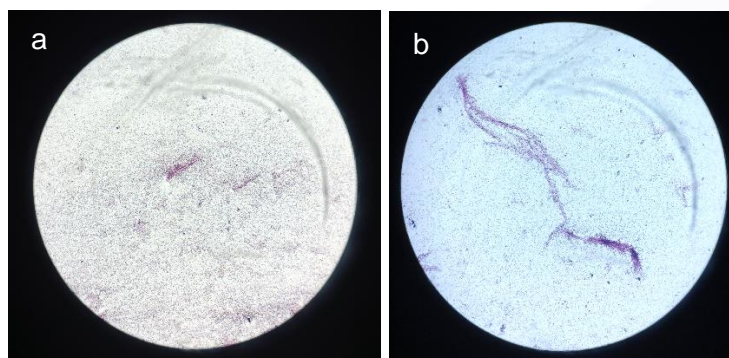
En la estructura micromorfológica, se pueden observar hifas hialinas septadas de paredes finas. Los conidióforos son hialinos y ramificados, formándose a partir de las hifas en un ángulo de 90°. Muestra conidios y fiálides hialinas en forma de botella, dispuestas en verticilos. Todas las características observadas fueron comparadas con las descripciones realizadas y descritas por Acurio y España (2017), mismas que conciernen a la especie *Trichoderma harzianum*

Figura 6. Caracterización morfológica de *Trichoderma harzianum*.



La figura 7 muestra la caracterización morfológica para *P. fluorescens*, *B. subtilis* donde *P. fluorescens* es una especie bacteriana Gram negativa, con forma de bacilo, mientras *B. subtilis* es una bacteria Gram positiva, catalasa-positiva. Similares resultados encontraron Bossis et al (2000) y Tasaki et al., (2017) al caracterizar estas especies bacterianas.

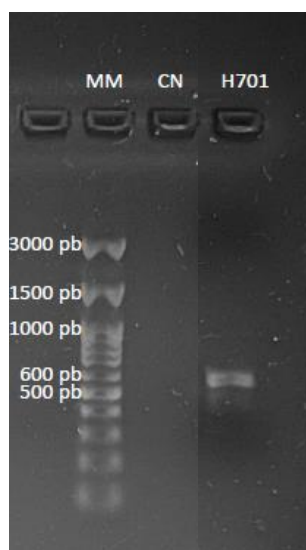
Figura 7. Caracterización morfológica de (a) *P. fluorescens*, (b) *B. subtilis*.



### Caracterización Molecular

El resultado de la PCR obtuvo un ADN de alta calidad para el proceso de amplificación, se visualiza bandas de aproximadamente 600 pb al marcador ITS, ver figura 8.

Figura 8. Corrida de electroforesis en gel de agarosa al 1% con productos de PCR para el fragmento ITS.



Se observan amplicones de aproximadamente 600pb. MM= Marcador de peso molecular; CN= Control negativo y H701= *Curvularia petersonii*.

## Cálculo de las Tasas de Crecimiento

Para determinar la tasa de cambio de la población de *Curvularia petersonii* en un momento específico, se utilizan los valores de N, r, y K en las ecuaciones anteriores. Sin competencia se establece el momento de crecimiento de N = 10 mm de micelio, r = 0.5, y K = 75 mm, la tasa de cambio:

$$dN/dt = 0.5 * 10 * (1 - 10/75)$$

$$dN/dt = 5 * (1 - 0.1333)$$

$$dN/dt = 5 * 0.8667$$

$$dN/dt = 4.3335 \text{ mm/día R//}$$

Como muestra la tabla 4, en presencia de *Trichoderma harzianum*, con un coeficiente de competencia  $\alpha = 0.01$  y una población de antagonista  $N_{ant} = 70$  mm, la tasa de cambio se calcula como:

- ✓ **Tasa de crecimiento de *C. petersonii* ( $r_{cp}$ ):** 0.5
- ✓ **Capacidad de carga de *C. petersonii* ( $K_{cp}$ ):** 45 mm de micelio
- ✓ **Efecto de *T. harzianum* sobre *C. petersonii* ( $\alpha_{cp,ta}$ ):** Aproximadamente 0.01 (asumiendo un bajo efecto inhibitorio)

$$dN/dt = 0.5 * 10 * (1 - (10 + 0.01 * 70) / 45)$$

$$dN/dt = 5 * (1 - 10.7/45)$$

$$dN/dt = 5 * (1 - 0.239)$$

$$dN/dt = 5 * 0.761$$

$$dN/dt = 3.805 \text{ mm/día R//, figura 10.}$$

La tabla 3 indica que, en presencia de *Trichoderma asperellum*, con un coeficiente de competencia  $\alpha = 0.03$  y una población de antagonista  $N_{ant} = 70$  mm, la tasa de cambio se calcula como:

- ✓ **Tasa de crecimiento de *C. petersonii* ( $r_{cp}$ ):** 0.5
- ✓ **Capacidad de carga de *C. petersonii* ( $K_{cp}$ ):** 14 mm de micelio

- ✓ Efecto de *T. asperellum* sobre *C. petersonii* ( $\alpha_{cp,ta}$ ): Aproximadamente 0.03 (asumiendo un fuerte efecto inhibitorio)

$$dN/dt = 0.5 * 10 * (1 - (10 + 0.03 * 70) / 14)$$

$$dN/dt = 5 * (1 - 12/14)$$

$$dN/dt = 5 * (1 - 0.857)$$

$$dN/dt = 5 * 0.143$$

**$dN/dt = 0.715$  mm/día, ver figura 9.**

La tabla 5 da a entender que, en presencia de *Pseudomonas fluorens*, con un coeficiente de competencia  $\alpha = 0.03$  y una población de antagonista  $N_{ant} = 32$  mm, la tasa de cambio se calcula como:

- ✓ Tasa de crecimiento de *C. petersonii* ( $r_{cp}$ ): 0.5
- ✓ Capacidad de carga de *C. petersonii* ( $K_{cp}$ ): 14 mm de micelio
- ✓ Efecto de *P. fluorens* sobre *C. petersonii* ( $\alpha_{cp,ta}$ ): Aproximadamente 0.03 (asumiendo un fuerte efecto inhibitorio)

$$dN/dt = 0.5 * 10 * (1 - (10 + 0.03 * 32) / 14)$$

$$dN/dt = 5 * (1 - 11/14)$$

$$dN/dt = 5 * (1 - 0.795)$$

$$dN/dt = 5 * 0.205$$

**$dN/dt = 1.025$  mm/día, ver figura 11.**

En presencia de *Bacillus subtilis*, ver tabla 6, con un coeficiente de competencia  $\alpha = 0.03$  y una población de antagonista  $N_{ant} = 10$  mm, la tasa de cambio se calcula como:

- ✓ Tasa de crecimiento de *C. petersonii* ( $r_{cp}$ ): 0.5
- ✓ Capacidad de carga de *C. petersonii* ( $K_{cp}$ ): 25 mm de micelio

- ✓ Efecto de *B. subtilis* sobre *C. petersonii* ( $\alpha_{cp,ta} \alpha_{cp,ta}$ ):

Aproximadamente 0.02 (asumiendo un efecto inhibitorio)

$$dN/dt = 0.5 * 10 * (1 - (10 + 0.02 * 10) / 25)$$

$$dN/dt = 5 * (1 - 10/25)$$

$$dN/dt = 5 * (1 - 0.408)$$

$$dN/dt = 5 * 0.592$$

**$dN/dt = 2.96$  mm/día, ver figura 12.**

Tabla 3. Promedios del crecimiento micelial (mm) de los hongos *C. petersonii* y *T. asperellum*.

Día	<i>Curvularia petersonii</i> (mm de micelio)	<i>Trichoderma asperellum</i> (mm de micelio)
Día 0	0	0
Día 1	0,7	1
Día 2	1	1,15
Día 3	1,25	1,44
Día 4	1,93	1,93
Día 5	1,74	2,74
Día 6	3	3,95
Día 7	5	5,68
Día 8	8	8,13
Día 9	12,0	11,57
Día 10	12,5	16,33
Día 11	12,6	22,79
Día 12	13,0	31,31
Día 13	13,3	42,13
Día 14	13,6	55,17
Día 15	13,9	69,85

Figura 9. Antagonismo entre *C. petersonii* y *T. asperellum*.

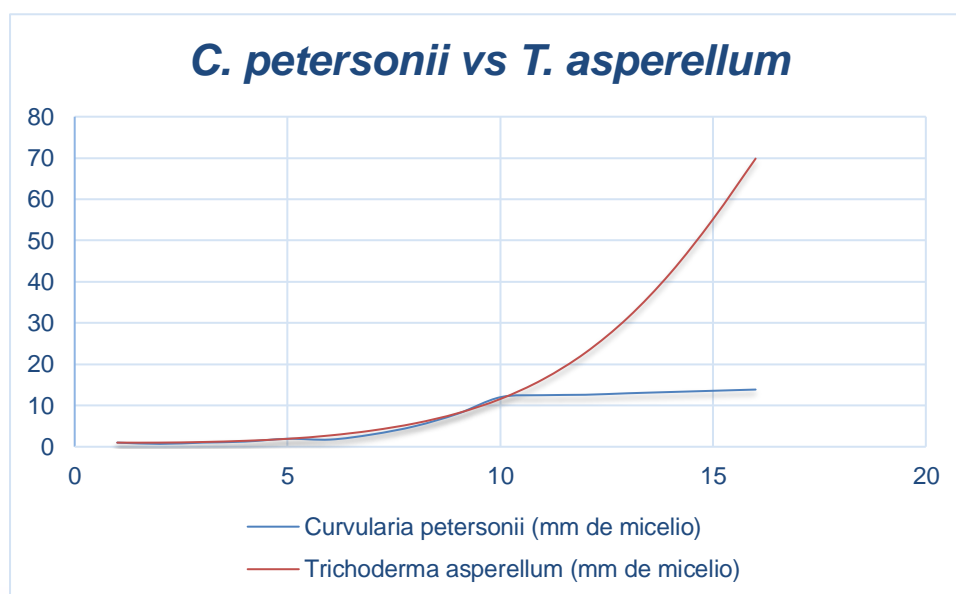


Tabla 4. Promedios del crecimiento micelial (mm) de los hongos *C. petersonii* y *T. harzianum*.

Día	<i>Curvularia petersonii</i> (mm de micelio)	<i>Trichoderma harzianum</i> (mm de micelio)
Día 0	0	0
Día 1	0,7	1
Día 2	0,59	1,15
Día 3	0,53	1,44
Día 4	1,9	1,93
Día 5	1,97	2,74
Día 6	3	3,95
Día 7	5	5,68
Día 8	8	8,13
Día 9	11,6	11,57
Día 10	16,3	16,33
Día 11	22,8	22,79
Día 12	28,1	31,31
Día 13	33,7	42,13
Día 14	39,3	55,17
Día 15	44,9	69,85

Figura 10. Antagonismo entre *C. petersonii* y *T. harzianum*.

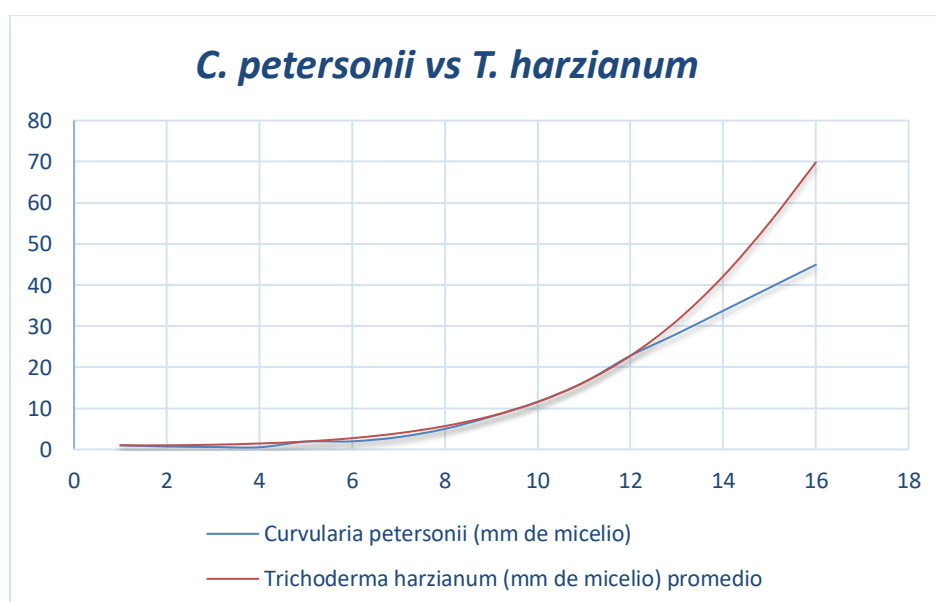




Tabla 5. Promedios del crecimiento micelial (mm) del hongo *C. petersonii* y *P. fluorescens* (UFC).

Día	<i>Curvularia petersonii</i> (mm de micelio)	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (UFC)
Día 0	0	0
Día 1	0,7	1
Día 2	1	1,08
Día 3	1,25	1,23
Día 4	1,93	1,48
Día 5	1,74	1,86
Día 6	3	2,44
Día 7	5	3,3
Día 8	8	4,46
Día 9	12,0	6,01
Día 10	12,5	8,08
Día 11	12,6	10,81
Día 12	13,0	14,39
Día 13	13,3	19,02
Día 14	13,6	24,9
Día 15	13,9	32,21

Figura 11. Antagonismo entre *C. petersonii* y *P. fluorescens*.

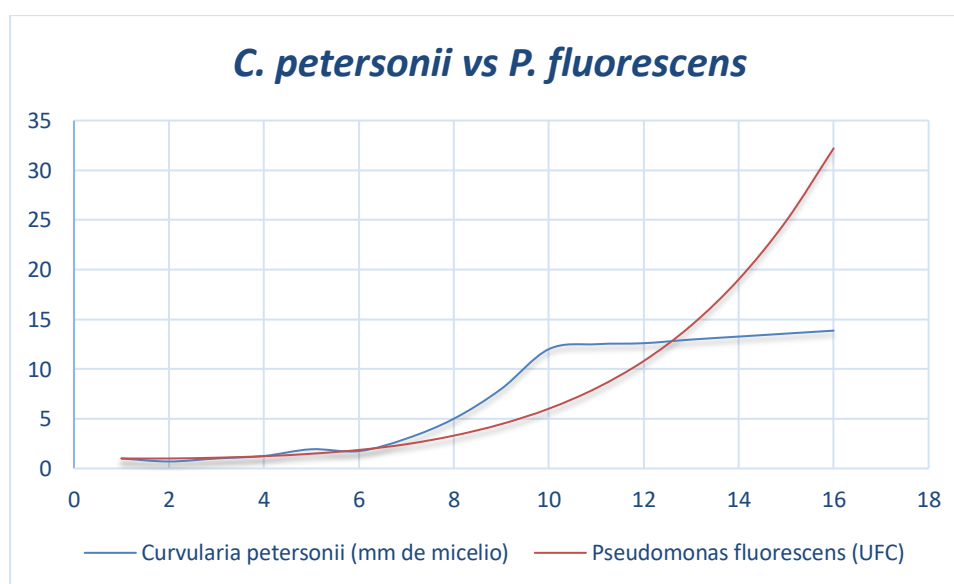
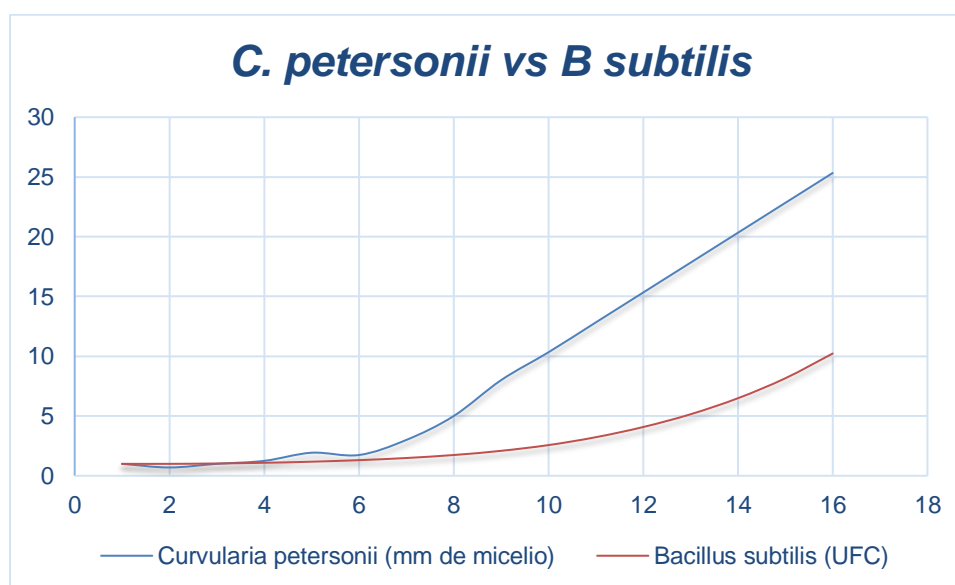


Tabla 6. Promedios del crecimiento micelial (mm) del hongo *C. petersonii* y *B. subtilis* (UFC).

Día	<i>Curvularia petersonii</i> (mm de micelio)	<i>Bacillus subtilis</i> (UFC)
Día 0	0	0
Día 1	0,7	1
Día 2	1	1,03
Día 3	1,25	1,09
Día 4	1,93	1,18
Día 5	1,74	1,31
Día 6	3,0	1,49
Día 7	5,0	1,74
Día 8	8,0	2,09
Día 9	10,3	2,57
Día 10	12,8	3,23
Día 11	15,3	4,08
Día 12	17,8	5,15
Día 13	20,3	6,49
Día 14	22,8	8,16
Día 15	25,3	10,23

Figura 12. Antagonismo entre *C. petersonii* y *B. subtilis*.



Resultando que todos los microorganismos antagonistas evaluados (*T. asperellum*, *T. harzianum*, *P. fluorescens*, *B. subtilis*) tienen un efecto inhibitorio sobre *Curvularia petersonii*, con variaciones en la magnitud de este efecto.

Estos resultados concuerdan con Calero-hurtado et al (2019), quienes sostienen que los microorganismos eficientes son una mezcla de especies microbianas beneficiosas que mejoran la salud del suelo y promueven el crecimiento de las plantas.

Así mismo, Venegas-Vera & Pincay-Menéndez, (2024) destacan a los hongos del género *Trichoderma* spp. y las bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus*, por su aporte en la agricultura y en la gestión ambiental debido a su capacidad para controlar enfermedades, promover el crecimiento vegetal y mejorar la estructura del suelo.

Los microorganismos antagonistas *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* inhiben *Curvularia petersonii*, lo que sugiere su efectividad en el manejo de enfermedades en caña de azúcar. La investigación resalta un cambio hacia el uso de fungicidas, promoviendo prácticas agrícolas sostenibles. Las perspectivas futuras son prometedoras, con la utilización de microorganismo antagónicos efectivos y una integración en el manejo de hongos patógenos, ofreciendo soluciones sostenibles para la agricultura.

## CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones

### 5.1 Conclusiones

Se observó las características macroscópicas y microscópicas del micelio de la cepa patógena *Curvularia petersonii* y se confirma su identidad mediante PCR con bandas de aproximadamente 600 pb al marcador ITS.

Los resultados indican que todos los microorganismos antagonistas evaluados tuvieron un efecto inhibitorio sobre *C. petersonii*, con variaciones en la magnitud de este efecto. El hongo *Trichoderma asperellum* mostró la mayor capacidad inhibidora, reduciendo significativamente la tasa de crecimiento del patógeno en comparación con el control.

En presencia de *Trichoderma asperellum*, el crecimiento de *C. petersonii* se redujo a aproximadamente 28.97 mm, comparado con 75 mm en el control. Esto indica una alta efectividad de este antagonista.

Las bacterias *Pseudomonas fluorescens* tuvo un efecto similar sobre el patógeno y *Bacillus subtilis* también mostraron capacidades inhibidoras, *Trichoderma harzianum* presentó una menor magnitud que los demás microorganismos. La comparación de las tasas de crecimiento en ausencia y presencia de antagonistas permite concluir que estos microorganismos pueden ser utilizados como agentes de biocontrol efectivos contra *Curvularia petersonii*.

## 5.2 Recomendaciones

Dado que el hongo *T. asperellum* mostró la mayor capacidad inhibidora sobre *C. petersonii*, se recomienda su uso como un agente de biocontrol prioritario. La reducción significativa en la tasa de crecimiento del patógeno en presencia de *T. asperellum*, sugiere que su aplicación podría ser altamente efectiva en el manejo de esta enfermedad fúngica.

Además, las bacterias *P. fluorescens* y *B. subtilis* también demostraron capacidades inhibidoras sobre *C. petersonii*. Se sugiere considerar la combinación de estos microorganismos en estrategias de control biológico, ya que su efecto sinérgico podría potenciar la eficacia en la reducción del crecimiento del patógeno.

Aunque *T. harzianum* presentó una menor magnitud de inhibición en comparación con los otros microorganismos, su inclusión en ensayos de biocontrol no debe ser descartada. Se recomienda realizar estudios adicionales para evaluar su potencial en combinación con otros agentes antagonistas, lo que podría resultar en un enfoque más robusto para el control de *Curvularia petersonii*.

## Bibliografía

- Acurio, R. y España, C. (2017). Aislamiento, caracterización y evaluación de *trichoderma spp.* como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). *La Granja*, 25(1), 53-61. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>
- Aday Díaz, O. de la C., Alfonso Terry, I., Rodríguez Lema, E., Díaz Mujica, F. R., Gil Cruz, Y., Valdés Ávalos, B. L., & Barroso Melillo, J. (2017). Caracterización de los síntomas de la roya naranja (*Puccinia kuehnii* (W. Kruger) EJ Butler) en cuatro cultivares de caña de azúcar en Cuba. *Centro Agrícola*, 44(2), 61–67. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852017000200008&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852017000200008&script=sci_arttext&tlng=pt)
- Agüero-Rodríguez, J. C., Tepetla-Montes, J., & Torres-Beristáin, B. (2015). Producción de biocombustibles a partir de la caña en Veracruz, México: perspectivas y riesgos socio-ambientales. *CienciaUAT*, 9(2), 74–84. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-78582015000100074&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-78582015000100074&script=sci_arttext)
- Aguilar, E. E. Q. (2013). Actinomicetos del suelo para el control biológico del hongo fitopatógeno *Fusarium solani*. *Revista Terra Latinoamericana, Suplemento Especial*, 3(1), 271–276. [https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/309/1/13. Quiñones-Aguilar et al.%2C 2013 %28Fs vs actinos%29.pdf](https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/309/1/13.Quiñones-Aguilar%20et%20al.%202013%20Fs%20vs%20actinos.pdf)
- Aguilar Rivera, N. (2014). Reconversión de la cadena agroindustrial de la caña de azúcar en Veracruz México. *Nova Scientia*, 6(12), 125–161. <https://www.scielo.org.mx/pdf/ns/v6n12/v6n12a7.pdf>
- Almaguer, M., Rojas, T. I., Dobal, V., Batista, A., & Aira, M. J. (2013). Effect of temperature on growth and germination of conidia in *Curvularia* and *Bipolaris* species isolated from the air. *Aerobiologia*, 29, 13–20.
- Álvarez-Cabrera, G. M. (2017). Propuesta de Ichneumonídeos (Hymenoptera) para el control biológico de insectos plaga en México. *Agro Productividad*, 10(9). <https://mail.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/979/837>

- Álvarez-García, J.-A., Santoyo, G., & del Carmen Rocha-Granados, M. (2020). *Pseudomonas fluorescens*: Mecanismos y aplicaciones en la agricultura sustentable. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 16(1), 1–10. [https://www.itson.mx/publicaciones/rlrn/Documents/v16-n1-1\\_Pseudomonas fluorescens Mecanismos y aplicaciones en la \(1\).pdf](https://www.itson.mx/publicaciones/rlrn/Documents/v16-n1-1_Pseudomonas fluorescens Mecanismos y aplicaciones en la (1).pdf)
- Arce-Araya, C., Varela-Benavides, I., & Torres-Portuguez, S. (2019). Inhibición del crecimiento micelial de hongos asociados a antracnosis en ñame (*Dioscorea alata*). *Agronomía Mesoamericana*, 381–393. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v30n2/2215-3608-am-30-02-00381.pdf>
- Beltrán, E. G., & de la Torre, F. N. (2016). La coevolución como un sistema de defensa en la interacción planta-patógeno. *Encuentros En La Biología*, 9(157), 79–81. <https://www.revistas.uma.es/index.php/enbio/article/view/17976/17929>
- Blanco, J. D. S., Piedra, E. C., & Fuentes, F. G. (2020). Monitoreo de *Spodoptera* spp. en caña de azúcar: uso de trampas con feromonas sexuales. *Agronomía Mesoamericana*, 31(2), 445–459. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v31n2/2215-3608-am-31-02-00445.pdf>
- Brito, A. del C. V. (2015). El cultivo de la caña de azúcar en Canarias en los inicios de la colonización. *Estudios Canarios: Anuario Del Instituto de Estudios Canarios*, 59, 239–264. <https://dx.doi.org/10.1051/agro:2000112>
- Bossis, E., Lemanceau, P. P., Latour, X., & Gardan, L. (2000). The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie*, 20(1), 51-63.
- Cabrera, G. L. J., Paredes, N. D. V., Guerrero, J. N. Q., & Batista, R. M. G. (2023). Evaluación de la supervivencia de Microorganismos eficientes aplicados en el suelo del cultivo Banano orgánico. *Revista Científica Agroecosistemas*, 11(3), 68–75. <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/648/615>
- Calero-Hurtado, A., Quintero-Rodríguez, E., Olivera-Viciedo, D., Pérez-Díaz, Y., Castro-Lizazo, I., Jiménez, J., & López-Dávila, E. (2018). Respuesta de dos cultivares de frijol común a la aplicación foliar de microorganismos eficientes. *Cultivos Tropicales*, 39(3), 5–10. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362018000300001&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362018000300001&script=sci_arttext&tlng=pt)

- Calero-hurtado, A., Quintero-Rodríguez, E., Pérez-Díaz, Y., OLIVERA-VICIEDO, D., Peña-Calzada, K., & Jiménez-Hernández, J. (2019). Efecto entre microorganismos eficientes y fitomas-e en el incremento agroproductivo del frijol. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 17(1), 25–33. <https://doi.org/https://doi.org/10.18684/bsaa.v17n1.1201>
- Calero Hurtado, A., Olivera Viciado, D., Pérez Díaz, Y., González-Pardo Hurtado, Y., Yáñez Simón, L. A., & Peña Calzada, K. (2020). Manejo de diferentes densidades de plantación y aplicación de microorganismos eficientes incrementan la productividad del arroz. *Idesia (Arica)*, 38(2), 109–117. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292020000200109>
- Cano, M. A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, Trichoderma spp. y Pseudomonas spp. Una revisión. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 15–31. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-42262011000200003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-42262011000200003&script=sci_arttext)
- Castro-Armijos, C. J., Prado-Carpio, E., Paladines-Romero, J. R., & Cervantes-Álava, A. (2017). Factores que afectan al cultivo de caña de azúcar para producción de bioetanol en Ecuador. *European Scientific Journal, ESJ*, 13(24), 58.
- Castro-Barquero, L., Martínez-Vargas, V., Castro-Zuñiga, O., & Blanco-Meneses, M. (2020). Abono Orgánico, Microorganismos de Montaña (MM) y Fertibiol para el control biológico de la hernia de las crucíferas (*Plasmodiophora brassicae* wor.) en el cultivo de mostaza china (*Brassica rapa* sp. *pekinensis* var. Taranko F1). *Agronomía Costarricense*, 44(2), 31–49. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15517/rac.v44i2.43088>
- Chaves-Bedoya, G., Ortíz-Moreno, M. L., & Ortiz-Rojas, L. Y. (2013). Efecto de la aplicación de agroquímicos en un cultivo de arroz sobre los microorganismos del suelo. *Acta Agrónomica*, 62(1), 66–72. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-28122013000100010&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-28122013000100010&script=sci_arttext)
- Chulze, S. N. (2023). Agentes de control biológico de origen microbiano para reducir el impacto de hongos patógenos y toxicogénicos. *Revista Argentina de*



*Microbiología*, 55(1), 1–3. [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-75412023000100001&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-75412023000100001&script=sci_arttext)

Clavero-Camacho, I., Castillo, P., Moreno Sánchez, M. Á., Gramaje, D., Abad-Campos, P., Beluzán, F., Armengol, J., & Palomares Rius, J. E. (2023). *Enfermedades de patógenos de suelo en plantaciones de Prunus. Datos actuales y avances en la investigación sobre su control.*

de la Caridad Aday Díaz, O., González Hernández, R., Díaz Mujica, F. R., Reyes Esquirol, C., Gil Cruz, Y., Reyes Pérez, S., & Barroso Melillo, J. (2017). Aplicación del software ImageJ® 1.43 u en la caracterización de los síntomas de la mancha anular de la caña de azúcar. *Centro Agrícola*, 44(2), 83–88. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852017000200011&script=sci\\_arttext&lng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852017000200011&script=sci_arttext&lng=pt)

De la Fé Isaac, J. A., Puchades Izaguirre, Y., Hechavarría, L. O., Zardón Navarro, M. de los Á., Arencibia Rodríguez, A., & Serrat Díaz, M. (2020). Inducción de respuestas defensivas en caña de azúcar frente a Sugarcane mosaic virus con dos bioproductos. *Biotecnología Vegetal*, 20(3), 211–223. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2074-86472020000300211&script=sci\\_arttext&lng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2074-86472020000300211&script=sci_arttext&lng=en)

Feijoo, M. A. L. (2016). Microorganismos eficientes y sus beneficios para los agricultores. *Revista Científica Agroecosistemas*, 4(2), 31–40.

Ferral Manresa, C., Fuentes Chaviano, P. F., & Calderón Amézaga, D. M. (2019). Uso de microorganismos eficientes autóctonos, en el manejo de Meloidogyne incognita en el cultivo del tomate. *Centro Agrícola*, 46(4), 38–43. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852019000400038&script=sci\\_arttext&lng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852019000400038&script=sci_arttext&lng=en)

Figueroa Rodríguez, K. A., García García, A. M. T., Mayett Moreno, Y., Hernández Rosas, F., & Figueroa Sandoval, B. (2015). Factores que explican el rendimiento de caña de azúcar a nivel municipal en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(6), 1345–1358.

Galecio-Julca, M., León-Huamán, K. L., & Aguilar-Ancota, R. (2020). Efecto de fuentes orgánicas y microorganismos eficientes en el rendimiento del cultivo de

- banano orgánico (*Musa* spp. L.). *Manglar*, 17(4), 301–306.  
<https://erp.untumbes.edu.pe/revistas/index.php/manglar/article/viewFile/195/332>
- Gamboa-Villa, L. C., Fernández, E. M., Jaimes, P. M., Rodríguez, R. S., & Trujillo, J. A. R. (2020). Biocontrol de *Trichoderma* spp. hacia patógenos de la raíz de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). *Agrociencia*, 54(7), 955–966.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.47163/agrociencia.v54i7.2245>
- García-González, J. C., López-Collado, J., García-García, C. G., Villanueva-Jiménez, J. A., & Nava-Tablada, M. E. (2017). Factores bióticos, abióticos y agronómicos que afectan las poblaciones de adultos de mosca pinta (Hemiptera: Cercopidae) en cultivos de caña de azúcar en Veracruz, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 33(3), 508–517.
- González-León, Y., Ortega-Bernal, J., Anducho-Reyes, M. A., & Mercado-Flores, Y. (2023). *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: Características generales y su aplicación en la agricultura. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 25(1), 1–14. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revespciequibio/cqb-2022/cqb221ae.pdf>
- Guarro, J., & de Hoog, S. (2015). *Curvularia*, *Exophiala*, *Scedosporium*, *Sporothrix*, and other melanized fungi. *Manual of Clinical Microbiology*, 2153–2172.
- Guzmán-Bejarano, D., Figueroa-Del-Castillo, L., & Cabezas, L. (2020). Análisis de los efectos generados en el suelo a causa de la inadecuada disposición de envases de agroquímicos en la vereda Lavadero, Fómeque, Cundinamarca, Colombia. *Gestión y Ambiente*, 23(2), 250–272.
- Guzmán Duchén, D., & Montero Torres, J. (2021). Interacción de bacterias y plantas en la fijación del nitrógeno. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 8(2), 87–101.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.53287/uyxf4027gf99e>
- Hernández-Navarro, E., Agustín-Maravilla, G. Á., Sánchez-Rangel, J. C., Valadez-Ramírez, P., & Chan-Cupul, W. (2023). In vitro evaluation of biological fungicides against *Curvularia eragrostidis*, a phytopathogenic fungus of pineapple crop. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 41(1), 93–111.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2206-4>

- Hurtado, A. C., Díaz, Y. P., Hurtado, Y. G.-P., Simón, L. A. Y., Calzada, K. P., Viciado, D. O., & Rodríguez, J. F. M. (2020). Respuesta agroproductiva de la habichuela a la aplicación de vermicompost lixiviado y microorganismos eficientes. *Revista de La Facultad de Ciencias*, 9(1), 112–124. <https://doi.org/https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v9n1.82584>
- Iglesias, H. I. P. (2017). Control fitosanitario en agroecosistemas de la caña de azúcar. *Cumbres*, 3(1), 101–109. <https://investigacion.utmachala.edu.ec/revistas/index.php/Cumbres/article/view/163/59>
- Illa, C., Torassa, M., Pérez, M. A., & Pérez, A. A. (2020). Efecto de biocontrol y promoción del crecimiento en maní por *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en condiciones controladas y campo. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 38(1), 119–131. <https://doi.org/https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1910-6>
- Iturrieta-González, I., Gené, J., Wiederhold, N., & García, D. (2020). Three new *Curvularia* species from clinical and environmental sources. *MycologyKeys*, 68, 1. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.68.51667>
- Lagos-Burbano, E., & Castro-Rincón, E. (2019). Caña de azúcar y subproductos de la agroindustria azucarera en la alimentación de rumiantes. *Agronomía Mesoamericana*, 917–934. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v30n3/2215-3608-am-30-03-00917.pdf>
- Lujan-Hidalgo, M. C., Jiménez-Aguilar, L. A., Ruiz-Lau, N., Reyes-Zambrano, S. J., & Gutiérrez-Miceli, F. A. (2020). Cambios bioquímicos en respuesta al ataque de roya en plantaciones de café. *Polibotánica*, 49, 149–160. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-27682020000100149&script=sci\\_abstract&tlng=pt](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-27682020000100149&script=sci_abstract&tlng=pt)
- Medina-Osti, F., Gutiérrez-Díez, A., Ochoa-Ascencio, S., & Sánchez-González, E. I. (2022). Primer reporte de pokkah boeng en caña de azúcar de la Huasteca Potosina. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(7), 1307–1313. <https://doi.org/https://doi.org/10.29312/remexca.v13i7.2998>
- Milián, J. R. P., Pérez, Y. P., Álvarez, J. F., & Rossil, J. M. R. (2018). Control Biológico del Salivazo de la Caña de Azúcar *Aeneolamia* sp. con el Nematodo

Heterorhabditis bacteriophora y los Hongos Entomopatógenos Metarhizium anisopliae y Beauveria bassiana como Opción Económica y Sostenible. *Ceiba*, 55(1), 21–27. <https://doi.org/https://doi.org/10.5377/ceiba.v55i1.5447>

Morales, C. del C., Hamada, E., Madariaga, H. L., & Rago, A. M. (2021). *Impacto del cambio climático sobre la enfermedad roya marrón de la caña de azúcar de Argentina*. 12(1), 28–37. [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/211576/CONICET\\_Digital\\_Nro.65f9cc47-43ff-4cd3-9710-2450c3e93562\\_E.pdf?sequence=5&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/211576/CONICET_Digital_Nro.65f9cc47-43ff-4cd3-9710-2450c3e93562_E.pdf?sequence=5&isAllowed=y)

Mourão, D. de S. C., Ságio, S. A., Souza, M. R. de, & Santos, G. R. dos. (2017). *Morphological and molecular identification of Curvularia sp. causal agent of corn leaf stain*. 16(1), 1–12. <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v16n1p1-12>

Moyano, E. M., Rojas, L. T. P., Cuellar, A. S., & Duarte, J. D. H. (2021). Intensidad de los síntomas de las principales patologías foliares presentes en 10 variedades de caña panelera (*Saccharum* spp) en dos zonas agroecológicas del Departamento de Caquetá. *Scientia et Technica*, 26(03), 343–353. <https://doi.org/https://doi.org/10.22517/23447214.22231>

Ochoa, M. S., Madrigal, R. P., Martínez, M. T., & Carreón, A. (2010). Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. *Biológicas*, 12(1), 65–71. [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/106873105/La\\_20importancia\\_20del\\_20uso\\_20de\\_20HAMPI\\_20en\\_20la\\_20multiplicacion\\_20microbiana\\_20libre.pdf?1698092779=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPlantas\\_hongos\\_micorrizicos\\_y\\_bacterias.pdf&Expires](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/106873105/La_20importancia_20del_20uso_20de_20HAMPI_20en_20la_20multiplicacion_20microbiana_20libre.pdf?1698092779=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPlantas_hongos_micorrizicos_y_bacterias.pdf&Expires)

Olivas-Peraza, D. D., Leyva-Madrigal, K. Y., Maldonado-Mendoza, I. E., & Félix-Gastélum, R. (2022). *Curvularia muehlenbeckiae* causing leaf spot on Johnson grass in Mexico. *Mycological Progress*, 21(5), 50. <https://doi.org/10.1007/s11557-022-01805-0>

Ortiz-Martínez, J., Hernández-Ramírez, G., Cruz-Tobón, M., Figueroa-Rodríguez, K. A., Figueroa-Sandoval, B., & Hernández-Rosas, F. (2013). Inhibición in vitro de aislamientos nativos de *Trichoderma* en presencia de la cepa comercial T22.

*Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(1), 126–136.

- Ovalle, W., & de CENGICANA, F. (2017). Hongos asociados con la enfermedad Caña seca de la Caña de azúcar. *Memoria Presentación de Resultados de Investigación Zafra*, 2018, 196–206. <https://cengicana.org/files/20180919082614208.pdf>
- Paquí, C. S., Vásquez, E., Morales, M. C., & Mora, M. (2018). Evaluación química de bocashi con aplicación de microorganismos eficientes en el cantón Saraguro, provincia de Loja. *Bosques Latitud Cero*, 8(1), 85–95. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9349950>
- Pascual-Córdova, G., Obrador-Olán, J. J., Carrillo-Ávila, E., García-López, E., Sánchez-Soto, S., Guerrero-Peña, A., & Ortiz-García, C. F. (2017). Indicadores de calidad del suelo en el agroecosistema caña de azúcar (*Saccharum* spp.). *Revista de La Facultad de Agronomía de La Universidad Del Zulia*, 35(1), 1–25.
- Pedraza, L. A., López, C. E., & Uribe-Vélez, D. (2020). Mecanismos de acción de *Bacillus* spp.(Bacillaceae) contra microorganismos fitopatógenos durante su interacción con plantas. *Acta Biológica Colombiana*, 25(1), 112–125. <https://doi.org/https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.75045>
- Peralta-Antonio, N., Bernardo de Freitas, G., Watthier, M., & Silva Santos, R. H. (2019). Compost, bokashi y microorganismos eficientes: sus beneficios en cultivos sucesivos de brócolis. *Idesia (Arica)*, 37(2), 59–66. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292019000200059>
- Pérez, A., Figueredo, L., De Sousa-Vieira, O., & Aza, G. (2018). Hidrotermoterapia: técnica para el manejo de algunas enfermedades sistémicas en caña de azúcar. *INIA Divulga*, 39(39), 50–52. <http://www.publicaciones.inia.gob.ve/index.php/iniadivulga/article/view/543/430>
- Pineda-Cotrina, M. N., Ramírez-Rojas, C. G., Pineda-Reyes, L. E., Gonzales-Medina, H. K., Zenobio-Tolentino, Y. Y., Rimac-Torres, O. F., Agurto-Isidro, J. A., & Arone-Gaspar, G. J. (2022). Efecto de aplicaciones de ácidos húmicos, microorganismos eficaces y *Trichoderma asperellum*, *T. viride* y *T. harzianum* en *Capcicum annun.* *QuantUNAB*, 1(1), e12–e12. <https://doi.org/https://doi.org/10.52807/qunab.v1i1.12>

- Piñeros-Lizarazo, R. (2019). Cultivos flexibles y juventud rural trabajadora: de la caña de azúcar en Brasil al aceite de palma en Colombia. *Íconos. Revista de Ciencias Sociales*, 63, 75–100. <https://doi.org/10.17141/iconos.63.2019.3426>
- Prado-Pérez de Corcho, R., Herrera-Suárez, M., Ramírez-Moreira, K. R., Lucas-Grzelczyk, M. M., Jarre-Cedeño, C., & Pérez de Corcho-Fuentes, J. S. (2018). Factores limitantes para la mecanización de la caña de azúcar en la provincia Manabí, Ecuador. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 27(4). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2071-00542018000400010&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2071-00542018000400010&script=sci_arttext)
- Quiñones-Aguilar, E. E., Evangelista-Martínez, Z., & Rincón-Enríquez, G. (2016). Los actinomicetos y su aplicación biotecnológica. *Elementos*, 101, 59–64.
- Quishpe, J., Carrión, L. V., & Heredia, M. (2020). Evaluación financiera de los pequeños productores de caña de azúcar en el Sur del Ecuador. *Axioma*, 23, 61–67. <https://doi.org/https://www.scielo.org.mx/pdf/ns/v6n12/v6n12a7.pdf>
- Quispe, Y. C., & Chávez, C. M. F. (2017). Evaluación del efecto que tienen los microorganismos eficientes (EM), en el cultivo de pepinillo (*Cucumis sativus* L.), municipio de Achocalla: Yoselin Callisaya Quispe, Celia María Fernández Chávez. *Apthapi*, 3(3), 652–666. <https://apthapi.umsa.bo/index.php/ATP/article/view/182/172>
- Reinaldo, J. R. M. (2020). Microorganismos eficientes y su empleo en la protección fitosanitaria de los cultivos. *Revista Científica Agroecosistemas*, 8(2), 102–109. <https://doi.org/https://orcid.org/0000-0001-5987-4528>
- Ríos Rocafull, Y., Dibut Álvarez, B., Rojas Badía, M., Ortega García, M., Arozarena Daza, N., & Rodríguez Sánchez, J. (2016). Interacción de la bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* y hortalizas de raíz. *Cultivos Tropicales*, 37, 28–32. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362016000500004&script=sci\\_arttext&lng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362016000500004&script=sci_arttext&lng=en)
- Rodríguez Tassé, D., Barbosa García, R. N., & Rodríguez Vicente, E. (2019). Manejo de arvenses en caña de azúcar, impacto ambiental, efectividad económica y de control. *Centro Agrícola*, 46(2), 64–71. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852019000200064&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852019000200064&script=sci_arttext)

- Salgado García, S., Castelán Estrada, M., Jiménez Jerónimo, R., Gómez Leyva, J. F., & Osorio Miranda, M. (2014). Diversidad de hongos micorrícicos arbusculares en suelos cultivados con caña de azúcar en la región de la Chontalpa, Tabasco. *Revista Mexicana de Micología*, 40, 7–16. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-31802014000200003&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-31802014000200003&script=sci_arttext)
- Sánchez, M., Moreno, L. y Paramo, L. (2021). Identificación morfológica y molecular de especies autóctonas trichoderma spp., aisladas de suelos de importancia agrícola. *Revista Ciencia y Tecnología El Higo*, 11(1), 26-42. <https://doi.org/10.5377/elhigo.v11i1.11715>
- Saucedo Castillo, O., de Mello Prado, R., Castellanos González, L., Ely, N., Silva Campos, C. N., Pereira Da Silva, G., & Assis, L. C. (2015). Efecto de la fertilización fosfatada con cachaza sobre la actividad microbiana del suelo y la absorción de fósforo en caña de azúcar (*Saccharum* spp.). *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 47(1), 33–42. [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1853-86652015000100003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1853-86652015000100003&script=sci_arttext)
- Segovia, C. S. J., Quintana, Y. G., Rubio, J. P. G., Crespo, Y. A., Pérez, Y. L., & Morales, A. (2019). Efecto de *Trichoderma harzianum* como bioestimulante en el crecimiento de plántulas de *Swietenia macrophylla* en condiciones de vivero. *Revista Amazónica. Ciencia y Tecnología*, 8(1), 40–51. <https://doi.org/10.59410/RACYT-v08n01ep04-0106>
- Soto, E. C., Mora, J. C. B., Méndez, C. L. V., & Araya, W. V. (2016). Actualización de la reacción a la roya naranja (*Puccinia kuehnii*) de las principales variedades comerciales y promisorias de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) en ciclo de caña planta en Costa Rica. *Revista Entre Cañeros*, 4, 36–52. [https://www.researchgate.net/profile/Erick-Chavarria/publication/304013300\\_Actualizacion\\_de\\_la\\_reaccion\\_a\\_la\\_roya\\_naranja\\_Puccinia\\_kuehnii\\_de\\_las\\_principales\\_variedades\\_comerciales\\_y\\_promisorias\\_de\\_cana\\_de\\_azucar\\_Saccharum\\_spp\\_en\\_ciclo\\_de\\_cana\\_planta\\_en\\_C](https://www.researchgate.net/profile/Erick-Chavarria/publication/304013300_Actualizacion_de_la_reaccion_a_la_roya_naranja_Puccinia_kuehnii_de_las_principales_variedades_comerciales_y_promisorias_de_cana_de_azucar_Saccharum_spp_en_ciclo_de_cana_planta_en_C)
- Tan, Y. P., Crous, P. W., & Shivas, R. G. (2018). Cryptic species of *Curvularia* in the culture collection of the Queensland Plant Pathology Herbarium. *MycKeys*, 35,

1. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.35.25665>

Tanya Morocho, M., & Leiva-Mora, M. (2019). Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. *Centro Agrícola*, 46(2), 93–103.

Tejera, B., Heydrich, M., & Rojas, M. M. (2012). Antagonismo de *Bacillus* spp. frente a hongos fitopatógenos del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Revista de Protección Vegetal*, 27(2), 117–122. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1010-27522012000200008&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1010-27522012000200008&script=sci_arttext)

Torres Pérez, J. C., Aguilar Jiménez, C. E., Vázquez Solís, H., Solís López, M., Gómez Padilla, E., & Aguilar Jiménez, J. R. (2022). Evaluación del uso de microorganismos de montaña activados en el cultivo de rosas, Zinacantán, Chiapas, México. *Siembra*, 9(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.29166/siembra.v9i1.3500>

Tasaki, S., Nakayama, M., & Shoji, W. (2017). Morphologies of *Bacillus subtilis* communities responding to environmental variation. *Development, Growth & Differentiation*, 59(5), 369-378. <https://doi.org/10.1111/dgd.12383>

Venegas-Vera, J. J., & Pincay-Menéndez, J. D. (2024). Efectos del lixiviado de vermicompost de estiércol bovino, *Trichoderma* sp y microorganismo eficiente en crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en semillero. *MQRInvestigar*, 8(1), 3493–3508. <https://doi.org/https://doi.org/10.56048/MQR20225.8.1.2024.3493-3508>

Vera, J., Lazo, R., Barzallo, D., & Gavin, C. (2022). Caracterización química y degradabilidad in situ de residuos orgánicos como alternativa alimenticia para bovinos. *Ecuadorian Science Journal*, 2021, 5(4), 1-14. <https://doi.org/10.46480/esj.5.4.166>

Vera-Rodríguez, J. H., Medranda-Parraga, T. L., Siguencia-Chuya, J. A., Mendieta-Franco, R. A., & Pérez-Guallpa, M. J. (2021). Caracterización nutricional de los residuos orgánicos en la caña de azúcar del cantón La Troncal. *Hombre, Ciencia y Tecnología*, 25(2), 110-119. <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/441/4412286013/index.html>

Vera Rodríguez, J. H. (2022). Caracterización química y degradabilidad in situ de residuos orgánicos del cantón La Troncal - Ecuador. *Revista Científica*



*Sinapsis*, 2(21). <https://doi.org/10.37117/s.v2i21.580>

Vera Rodríguez, J. H., Barzallo, D., Villamar Aveiga, M. del R., & Barcia-Anchundia, J. X. (2024). Efecto bioestimulante de los microorganismos sobre la germinación in vitro de semillas híbridas de pimiento. *Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, 25(1). [https://doi.org/10.21930/rcta.vol25\\_num1\\_art:3306](https://doi.org/10.21930/rcta.vol25_num1_art:3306)

Vidal Martinez, N. A., Sánchez Pale, J. R., Sanchez Viveros, G., Argumedo Aelira, R., Chiquito Contreras, R. G., & Gonzalez Mendoza, D. (2021). *Microorganismos antagonistas: una alternativa para el control biológico de enfermedades fúngicas presentes en el cultivo de café (Coffea arabica L.)*. 117(3), 214–226. Vidal Martinez, Nayelli Ayatzol%0ASánchez Pale, Jesús Ricardo%0ASanchez Viveros, Gabriela%0AArgumedo Aelira, Rosalba%0AChiquito Contreras, Roberto Gregorio%0AGonzalez Mendoza, Daniel%0A

Viera-Arroyo, W. F., Tello-Torres, C. M., Martínez-Salinas, A. A., Navia-Santillán, D. F., Medina-Rivera, L. A., Delgado-Párraga, A. G., Perdomo-Quispe, C. E., Pincay-Verdezoto, A. K., Báez-Cevallos, F. J., & Vásquez-Castillo, W. A. (2020). Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 128–149. <https://doi.org/https://doi.org/10.36610/j.jsab.2020.080200128>

Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & Santos-Villalobos, S. de los. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1), 95–130. <https://doi.org/https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>

Vinchira-Villarraga, D. M., & Moreno-Sarmiento, N. (2019). Control biológico: Camino a la agricultura moderna. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), 2–5. <https://doi.org/https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.80860>

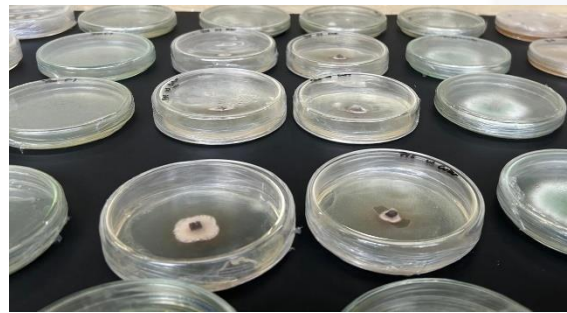
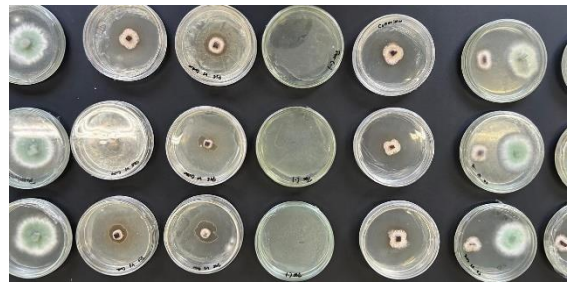
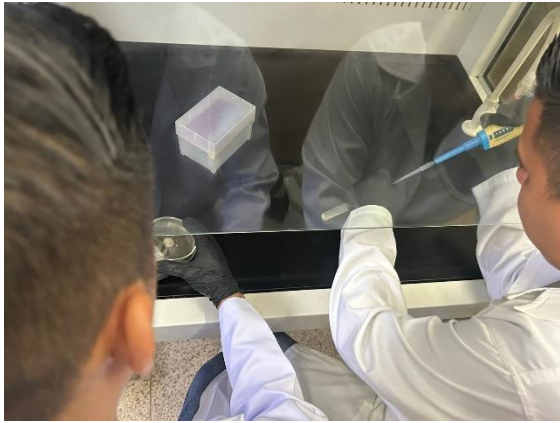
White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, 18(1), 315–322. <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=Z5jwZ2rbVe8C&oi=fnd&pg=PA315&dq=Amplification+and+direct+sequencing+of+fungal+ribosomal+RNA+genes+f>

or+phylogenetics.+PCR+protocols:+a+guide+to+methods+and+applications&ots  
=ICG-Jh-

SaA&sig=gWxod3GMXnHvJuVgHZ2irYax7e8#v=onepage&q=Amplification and  
direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR  
protocols%3A a guide to methods and applications&f=false

Yáñez Yáñez, W., Villacís-Aldaz, L. A., León-Gordón, O. A., Velástegui-Espín, G. P.,  
López-Villacís, I. C., & Cruz-Tobar, S. E. (2016). Efectos de un compost  
enriquecido con microorganismos eficientes sobre la germinación de semillas  
recalcitrantes de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg y *Theobroma cacao* L.  
*Journal of the Selva Andina Biosphere*, 4(2), 100–108.  
[http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2308-  
38592016000200007&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2308-38592016000200007&script=sci_arttext)

## Anexos



# UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

*¡Evolución académica!*

@UNEMIEcuador

