



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ  
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**CARRERA INGENIERÍA AGRÍCOLA**

**INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A  
LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGÍCOLA**

**MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:**

**INCIDENCIA, SENSIBILIDAD *IN VITRO* Y PATOGENICIDAD DE  
*Bipolaris* spp EN PITAHAYA ROJA**

**AUTORES:**

**ELIO ANTONIO PÁRRAGA MORALES  
DARIO JAVIER ZAMBRANO GARCÍA**

**TUTOR:**

**ING. SERGIO MIGUEL VÉLEZ ZAMBRANO MG.**

**CALCETA, OCTUBRE DE 2024**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo Elio Antonio Párraga Morales, con cédula de ciudadanía 131646105-0 y Darío Javier Zambrano García, con cédula de ciudadanía 131174549-9, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Integración Curricular titulado: **INCIDENCIA, SENSIBILIDAD *IN VITRO* Y PATOGENICIDAD DE *Bipolaris* spp EN PITAHAYA ROJA** es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, concedemos a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a mi favor todos los derechos patrimoniales de autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación.



---

**ELIO ANTONIO PÁRRAGA MORALES**  
CC: 131646105-0



---

**DARIO JAVIER ZAMBRANO GARCÍA**  
CC: 131174549-9

## AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Elio Antonio Párraga Morales, con cédula de ciudadanía 131646105-0 y Dario Javier Zambrano García, con cédula de ciudadanía 131174549-9, autorizamos a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, la publicación en la biblioteca de la institución del Trabajo de Integración Curricular titulado: **INCIDENCIA, SENSIBILIDAD *IN VITRO* Y PATOGENICIDAD DE *Bipolaris* spp EN PITAHAYA ROJA**, cuyo contenido, ideas y criterios son nuestra exclusiva responsabilidad y total autoría.

---

**ELIO ANTONIO PÁRRAGA MORALES**  
CC: 131646105-0

---

**DARIO JAVIER ZAMBRANO GARCÍA**  
CC: 131174549-9

## CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Ing. Sergio Miguel Vélez Zambrano, certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: **INCIDENCIA, SENSIBILIDAD *IN VITRO* Y PATOGENICIDAD DE *Bipolaris* spp EN PITAHAYA ROJA**, que ha sido desarrollado por Elio Antonio Párraga Morales y Darío Javier Zambrano García, previo a la obtención del título de Ingeniero Agrícola, de acuerdo al REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

**ING. SERGIO MIGUEL VÉLEZ ZAMBRANO, MG.**  
**CC: 1310476773**  
**TUTOR**

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL**

Los suscritos integrantes del Tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el Trabajo de Integración Curricular titulado: **INCIDENCIA, SENSIBILIDAD *IN VITRO* Y PATOGENICIDAD DE *Bipolaris* spp EN PITAHAYA ROJA**, que ha sido desarrollado por **ELIO ANTONIO PÁRRAGA MORALES Y DARIO JAVIER ZAMBRANO GARCÍA**, previo a la obtención del título de **INGENIERO AGRÍCOLA**, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

**ING. GONZALO BOLÍVAR CONSTANTE TUBAY MG.**  
**CC: 130457998-8**  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

---

**ING. FREDDY MESÍAS GALLO, MG.**  
**CC: 120202849-2**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

**ING. LEONARDO LEÓN CASTRO, Ph.D.**  
**CC: 091867676-8**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios principalmente por ilustrar y orientarnos en nuestro desarrollo personal y profesional, asimismo por permitirnos alcanzar una nueva meta gracias a sus bendiciones y propósitos;

A nuestros familiares que durante todo este camino nos apoyaron con su aliento, comprensión y ánimo fueron la principal motivación para seguir adelante en los momentos de dificultad y duda;

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López y la Carrera de Ingeniería Agrícola que me brindó la oportunidad de llevar a cabo esta investigación, a todos sus docentes quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos nos hicieron crecer día a día como profesionales;

También queremos agradecer especialmente al Ing. Sergio Miguel Vélez Zambrano, al Ing. Gonzalo Constante Tubay, al Ing. Freddy Mesías Gallo y al Ing. Leonardo León Castro, principales colaboradores y guías durante todo este proceso, quienes con su paciencia, conocimientos y enseñanzas fueron fundamentales para nuestra formación, ha sido un honor poder compartir con ustedes la culminación de nuestro trabajo de tesis.

**ELIO ANTONIO PÁRRAGA MORALES**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios principalmente por ilustrar y orientarnos en nuestro desarrollo personal y profesional, asimismo por permitirnos alcanzar una nueva meta gracias a sus bendiciones y propósitos;

A nuestros familiares que durante todo este camino nos apoyaron con su aliento, comprensión y ánimo fueron la principal motivación para seguir adelante en los momentos de dificultad y duda;

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López y la Carrera de Ingeniería Agrícola que nos brindó la oportunidad de llevar a cabo esta investigación, a todos sus docentes quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos nos hicieron crecer día a día como profesionales;

También queremos agradecer especialmente al Ing. Sergio Miguel Vélez Zambrano, al Ing. Gonzalo Constante Tubay, al Ing. Freddy Mesías Gallo y al Ing. Leonardo León Castro, principales colaboradores y guías durante todo este proceso, quienes con su paciencia, conocimientos y enseñanzas fueron fundamentales para nuestra formación, ha sido un honor poder compartir con ustedes la culminación de nuestro trabajo de tesis.

**DARIO JAVIER ZAMBRANO GARCÍA**

## **DEDICATORIA**

Dedico cada paso, cada trayectoria que he dado en esta carrera principalmente a Dios por la oportunidad de vida que me brindó, por llegar hasta aquí, este triunfo se la dedico a mi papá, mi mamá, mi esposa y mi hija, que con su permanencia absoluta hicieron mis días más prósperos y me impulsan cada día a superarme como persona y profesionalmente.

**ELIO ANTONIO PÁRRAGA MORALES**

## **DEDICATORIA**

A Dios por darme su refugio en cada momento de la vida y por guiarme en este arduo pero gratificante camino, que me ha brindado la oportunidad de alcanzar esta meta, gracias padre celestial por tu infinita misericordia y amor;

A mis amados padres Jorge David Zambrano Carranza, aunque ya esté en la gloria cerca de nuestro Dios padre siempre honro su memoria y recuerdo sus enseñanzas las cuales me han brindado la oportunidad de superarme, seguidamente a mi madre María Luisa García Zambrano por apoyarme incondicionalmente y por ser un ejemplo de sacrificio y perseverancia;

A mis queridos abuelos Griselda Carranza, Dolly Zambrano y Andrés Gracia quienes con su dedicación, esfuerzo y sacrificio me han ayudado a cumplir este objetivo, a mis hermanos tíos y demás familiares que de alguna u otro forma me acompañaron en todos mis proyectos;

A la familia Vera Basurto quienes estimo mucho, en lo personal a mi novia Rosa Vera Basurto por su amor, paciencia y apoyo incondicional que ha sido fundamental en este proceso, por ser esa persona que dios ha puesto en mi camino, gracias por creer en mí, por alentarme en los momentos difíciles y por ser mi compañera de vida.

**DARIO JAVIER ZAMBRANO GARCÍA**

## CONTENIDO GENERAL

DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN .....	iii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR .....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
DEDICATORIA.....	viii
DEDICATORIA.....	ix
CONTENIDO GENERAL.....	x
CONTENIDO DE TABLAS .....	xii
CONTENIDO DE FIGURAS .....	xiii
RESUMEN .....	xiv
ABSTRACT .....	xv
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES .....	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN .....	2
1.3. OBJETIVOS .....	3
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	3
1.4. HIPÓTESIS .....	3
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. CULTIVO DE PITAHAYA.....	4
2.1.1. TAXONOMÍA DEL CULTIVO DE PITAHAYA.....	4
2.2. PRINCIPALES ENFERMEDADES DE LA PITAHAYA .....	4
2.2.1. EL CHANCRO DEL TALLO ( <i>Neoscytalidium dimidiaste</i> ).....	4
2.2.2. ENFERMEDAD VIRAL ( <i>Virus de cactus x</i> ) .....	5
2.2.3. ANTRACNOSIS ( <i>Colletotrichum spp</i> ) .....	5
2.2.4. PUDRICIÓN DE FRUTOS Y TALLOS ( <i>Bipolaris cactivora</i> ).....	5
2.3. CONTROL CON FUNGICIDAS .....	6
2.3.1. SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO .....	6
2.3.2. CLOROTALONIL.....	6

2.3.3. AZOXYSTROBIN + TRIDEMORPH .....	6
2.3.4. DIFENOCONAZOL .....	7
2.3.5. METIRAM + PYROCLOSTRABIN.....	7
2.4. PARÁMETROS DE MEDICIÓN.....	7
2.4.1. TABLA DE ABBOTT.....	7
2.4.2. CRECIMIENTO RADIAL .....	8
2.4.3. PRUEBA DE PATOGENICIDAD.....	8
2.4.4. SENSIBILIDAD <i>in vitro</i> .....	8
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO .....	9
3.1. UBICACIÓN.....	9
3.1.1. CARACTERÍSTICAS CLIMATOLÓGICAS .....	9
3.2. DURACIÓN.....	10
3.3. TIPO, ALCANCE Y ENFOQUE DE INVESTIGACIÓN.....	10
3.3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	10
3.3.2. ALCANCE DE LA INVESTIGACIÓN.....	10
3.3.3. ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN .....	10
3.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS .....	11
3.4.1. MÉTODOS .....	11
3.4.2. TÉCNICAS .....	11
3.5. UNIDAD EXPERIMENTAL .....	12
3.6. VARIABLES A MEDIR .....	12
3.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO.....	12
3.7.1. DETERMINACIÓN DE LA INCIDENCIA DE <i>BIPOLARIS</i> SSP EN EL CULTIVO DE PITAHAYA .....	13
3.7.2. ESTABLECIMIENTO DE LA SENSIBILIDAD <i>IN VITRO</i> A FUNGICIDAS COMRCIALES SOBRE <i>BIPOLARIS</i> SPP.....	14
3.7.2. COMPROBACIÓN DE LA PATOGENECIDAD DE LOS AISLADOS DE <i>BIPOLARIS</i> SSP.....	16
3.8. DISEÑOS EXPERIMENTALES .....	17
3.8.1 DISEÑO EXPERIMENTAL 1: SENSIBILIDAD <i>IN VITRO</i> .....	17
3.8.2. DISEÑO EXPERIMENTAL 2: PATOGENICIDAD Y AGRESIVIDAD...	19
3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	20
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
4.1. INCIDENCIA DE <i>Bipolaris</i> spp EN EL CULTIVO DE PITAHAYA. ....	21

4.2. SENSIBILIDAD <i>In Vitro</i> A FUNGICIDAS COMERCIALES SOBRE <i>Bipolaris</i> spp.....	22
4.2.1. ANÁLISIS DE LA VARIANZA DE LOS AISLADOS EVALUADOS .....	22
4.2.2. VARIACIÓN DE MEDIAS DE LOS FACTORES Y SU INTERACCIÓN .....	23
4.3. PATOGENICIDAD Y AGRESIVIDAD DE LOS AISLADOS DE <i>BIPOLARIS</i> SPP. ....	26
4.3.1. PATOGENICIDAD.....	26
4.3.2. AGRESIVIDAD.....	27
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	30
5.1. CONCLUSIONES .....	30
5.2. RECOMENDACIONES.....	30
BIBLIOGRAFÍA .....	31
.....	38
ANEXOS.....	38
ANEXO 1. TOMA DE FRUTOS Y DATOS PARA DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA.....	39
ANEXO 2. INCUBACIÓN DE AISLADOS DE <i>Biporis</i> Spp A FRUTOS DE PITAHAYA PARA VISUALIZACIÓN DE PAGOGENECIDAD Y AGRESIVIDAD. ....	39
ANEXO 2. ALMACENAMIENTO DE LOS FRUTOS CON LOS AISLADOS .....	40
ANEXO 3. LA PATOGENECIDAD DE LOS AISLADO <i>Bipolaris</i> ssp. ....	40
ANEXO 4. ENSAYO DE SENSIBILIDAD IN VITRO DE LOS AISLADOS DE <i>BIPOLARIS</i> SPP PROVENIENTES DE FRUTOS DE PITAHAYA ROJA.....	41
ANEXO 5. SENSIBILIDAD INVITRO: AISLADOS CULTIVADOS EN DISTINTAS DOSIS DE FUNGICIDA CON MEDIO DE CULTIVO PAPA DEXTROSA AGAR .....	42

## CONTENIDO DE TABLAS

<b>Tabla 3.1.</b> Datos climatológicos de localidad. Enero a Junio del 2023.	9
<b>Tabla 3.2.</b> Tratamientos de sensibilidad.	18
<b>Tabla 3.3.</b> Esquema ANOVA para sensibilidad.	18
<b>Tabla 3.4.</b> Tratamientos de Patogenicidad y Agresividad.	19
<b>Tabla 3.5.</b> Esquema ANOVA para Patogenicidad y Agresividad	19

<b>Tabla 4.1.</b> Significancia estadística de la sensibilidad de los Aislados de <i>Bipolaris</i> spp	22
<b>Tabla 4.2.</b> Variación Tukey para la interacción entre factores A*B sobre la sensibilidad in vitro del <i>Bipolaris</i> spp.	23
<b>Tabla 4.3.</b> Variación de medias del grado de agresividad (cm) del <i>Bipolaris</i> spp en frutos de Pitahaya.	27

### CONTENIDO DE FIGURAS

<b>Figura 3.1.</b> Ubicación del área de estudio.	9
<b>Figura 3.2.</b> Puntos horizontal y vertical en la base de la caja Petri.	15
<b>Figura 4.1.</b> Incidencia del <i>Bipolaris</i> spp en frutos de pitahaya	20

### CONTENIDO DE FORMULAS

<b>Fórmula 3.1.</b> Incidencia	14
<b>Fórmula 3.2.</b> Crecimiento radial vertical y horizontal	16
<b>Fórmula 3.3.</b> Eficacia del tratamiento	16

## RESUMEN

El presente estudio planteo evaluar la incidencia, sensibilidad *in vitro*, patogenicidad y agresividad de los aislados de *Bipolaris* spp en frutos de Pitahaya, Para su cumplimiento, se midió la incidencia con el conteo de frutas con lesiones del patógeno evaluado, adicional, se desarrolló una investigación experimental con un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial A (Fungicidas) x B (Dosis), 18 tratamientos, 4 réplicas y 72 unidades experimentales para evaluar la sensibilidad a fungicidas comerciales, conjuntamente se planteó DCA para contrastes ortogonales con 8 tratamientos, 7 réplicas y 56 unidades experimentales para la determinación del grado de patogenicidad y agresividad del *Bipolaris* spp. Los resultados muestran que el *Bipolaris* spp tiene incidencia sobre los frutos de Pitahaya en la temporada de invierno. En cuanto a la sensibilidad a fungicidas comerciales, se determinó que el Trifloxystrobin + Tebuconazol, Metiram + Pyroclostrabin, Difenconazol y Azoxystrobin + Tridemorph fueron altamente efectivos con el 100% de inhibición *in vitro*, no obstante, el Clorotalonil en dosis bajas y el Sulfato de Cobre en general no lograron una efectividad completa. Por último, Los aislados de *Bipolaris* spp demuestran una patogenicidad y agresividad que se intensifican progresivamente en los frutos de pitahaya roja, incrementándose significativamente en los frutos inoculados a lo largo del tiempo. En general, el estudio reveló que *Bipolaris* spp tiene una mayor incidencia durante el invierno y es sensible a la mayoría de los fungicidas evaluados, además de mostrar una patogenicidad y agresividad progresiva en los frutos inoculados.

## PALABRAS CLAVE

Evaluación fitosanitaria, inhibición fúngica, prevención y control

## ABSTRACT

The present study proposed to evaluate the incidence, *in vitro* sensitivity, pathogenicity and aggressiveness of the isolates of *Bipolaris* spp in Pitahaya fruits. For its fulfillment, the incidence was measured with the count of fruits with lesions of the evaluated pathogen, additionally, an experimental research was developed with a completely randomized design (DCA) with factorial arrangement A (Fungicides) x B (Dose), 18 treatments, 4 replicates and 72 experimental units to evaluate the sensitivity to commercial fungicides, together with a DCA for orthogonal contrasts with 8 treatments, 7 replicates and 56 experimental units for the determination of the degree of pathogenicity and aggressiveness of *Bipolaris* spp. Results show that *Bipolaris* spp has incidence on Pitahaya fruits in the winter season. Regarding the sensitivity to commercial fungicides, it was determined that Trifloxystrobin + Tebuconazole, Metiram + Pyroclostrabin, Difenoconazole and Azoxystrobin + Tridemorph were highly effective with 100% inhibition *in vitro*, however, Chlorothalonil at low doses and Copper Sulphate in general did not achieve complete effectiveness. Finally, *Bipolaris* spp isolates demonstrate progressively intensifying pathogenicity and aggressiveness on red pitahaya fruits, increasing significantly on inoculated fruits over time. Overall, the study revealed that *Bipolaris* spp has a higher incidence during winter and is sensitive to most of the fungicides evaluated, as well as showing progressive pathogenicity and aggressiveness on inoculated fruits.

## KEYWORDS

Phytosanitary assessment, fungal inhibition, prevention and control.

# CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

## 1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La pitahaya (*Hylocereus* spp.), conocida también como "fruta del dragón", es caracterizada por ser una fruta exótica, que debido a sus beneficios está incrementando su consumo en diversos países del mundo (Verona *et al.*, 2020). En el Ecuador la producción de pitahaya se ha desarrollado de forma exitosa a lo largo de los últimos 20 años. A medida que este cultivo crece de manera intensiva es inevitable que se desarrollen patologías que emerjan con mayor frecuencia lo cual ocasiona un enorme efecto sobre la calidad del fruto y disminuyendo la producción de este cultivo (Yumbra, 2022). De acuerdo con Menéndez y Cobeña (2022) Manabí es la segunda provincia que contribuye a las exportaciones nacionales, aportando el cantón Rocafuerte con el 40% de la producción provincial de pitahaya.

Según Suarez (2013) la incidencia depende del momento de la aparición del patógeno y muchas veces sin los respectivos cuidados fitosanitarios, lo cual constituye un riesgo potencial por la presencia de enfermedades que afectan de manera significativa al cultivo. Por otra parte, Yumbo (2022) indica que la carencia de estudios de pruebas de sensibilidad *in vitro* de los hongos fitopatógeno a fungicidas ha ocasionado un alto costo para el sector agropecuario, los mismos fabricantes y el resto de la sociedad. Con base a lo expuesto por Almaraz *et al.* (2016) la patogenicidad depende del tipo de cepa y adaptación de los patógenos en la planta, y puede ser estimada por la rapidez del patógeno en dañar al hospedante.

Actualmente en la Provincia de Manabí no existen estudios sobre la pudrición de fruto originada por *Bipolaris* spp y cómo afecta a este cultivo la misma que provoca daños como la baja producción de frutas y por ende también pérdidas económicas considerables. Por otra parte, se desconoce la eficacia que tiene cada uno los fungicidas que puedan ser aplicados sobre el control de este fitopatógeno, otro factor importante que se debe considerar al momento de diseñar una estrategia de manejo es tener conocimiento sobre los aislados de la *Bipolaris* spp debido a que cada uno de esto pueden comportarse de manera diferente y provocar

infestaciones en la plantación de pitahaya. Con lo anteriormente mencionado se realiza la siguiente interrogante: ¿Cómo influyen los fungicidas comerciales sobre *Bipolaris spp* en condiciones *in vitro*?

## 1.2. JUSTIFICACIÓN

Para potenciar la producción de pitahaya es importante explicar la identificación de la patogenicidad debido a que es uno de los enfoques de investigación indispensables porque ayudan en la búsqueda de estrategias agronómicas de control y manejo de las enfermedades, tales como la aplicación de pesticidas, fungicidas, aplicaciones químicas específicas, y mejora en la productividad en el cultivo (Salazar *et al.*, 2016).

Trujillo (2014) manifiesta que según estudios realizados en pitahaya roja se observó que el hongo *Bipolaris* es el agente causal de lesiones con o sin herida en flores y frutos, además este patógeno en tallos maduros puede provocar lesiones solo en inoculaciones con herida, pero el hongo no esporula en los tallos. Sin embargo, los avances tecnológicos, principalmente en el uso de fungicidas no han contribuido al control de estas enfermedades; en donde el uso de variedades tolerantes o resistentes a este complejo de patógenos foliares es el método de control más adecuado desde el punto de vista ambiental y ecológico (Leyva *et al.*, 2019).

El presente estudio buscará principalmente la evaluación de la incidencia de las enfermedades, sensibilidad *in vitro* y patogenicidad de los aislados de *Bipolaris spp* el cual permitirá de forma considerable mejorar la calidad de los cultivos de pitahaya, siendo así un aporte para que los agricultores tengan una mayor información sobre el manejo del hongo.

Este proyecto de investigación se adapta a los Objetivos de Desarrollo Sostenible “objetivo doce” Producción y consumo responsables, el mismo que propone reducir a la mitad el desperdicio de alimentos per cápita mundial en la venta al por menor y a nivel de los consumidores y reducir las pérdidas de alimentos en las cadenas de producción y suministro, incluidas las pérdidas posteriores a la cosecha (Bárcena *et al.*, 2018).

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la incidencia, sensibilidad *in vitro*, patogenicidad y agresividad de los aislados de *Bipolaris* spp.

#### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la incidencia de *Bipolaris* spp en el cultivo de pitahaya.
- Establecer la sensibilidad *in vitro* a fungicidas comerciales sobre *Bipolaris* spp.
- Comprobar la patogenicidad y agresividad de los aislados de *Bipolaris* spp.

### **1.4. HIPÓTESIS**

- Al menos uno de los fungicidas funcionará en el control *in vitro* de *Bipolaris* spp entre los aislados en el cultivo de pitahaya.
- Al menos uno de los aislados de *Bipolaris* será patogénico sobre pitahaya roja

## CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. CULTIVO DE PITAHAYA

Moreira y Murillo (2022) mencionan que a conquistadores españoles en Colombia, México, las Antillas y Centroamérica se les atribuye el descubrimiento de la pitahaya, la denominaron con este término el que hace referencia a la apariencia escamosa de dicha fruta, en el momento que estos exploradores observaban el estado silvestre de la planta y las características de sus frutos.

En torno al conocimiento, Muñoz (2018) sostiene que esta planta tiene dos tipos de raíces, las primarias que se ubican en el suelo y las secundarias que se desarrolla principalmente fuera del suelo. Sus tallos conocidos también como penca son triangulares verdes. Sus flores son de forma de trompetas de color blanco o rosado. El fruto es una baya de diferentes tamaños y formas, ovoide, redondeado y alargado.

#### 2.1.1. TAXONOMÍA DEL CULTIVO DE PITAHAYA

De acuerdo con Vargas *et al.* (2020) la taxonomía del cultivo de pitahaya es:

Tabla 2.1. Taxonomía del cultivo de pitahaya.

TAXONOMÍA	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Equisetopsida C. Agardh
Orden	Caryophyllales Juss. ex Bercht& J. Presl
Familia	Cactaceae Juss.
Género	Selenicereus (A. Berger) Britton & Rose
Especie	Selenicereus sp. (K. Schum. ex Vaupel) Moran

Fuente: Vargas *et al.*, (2020).

### 2.2. PRINCIPALES ENFERMEDADES DE LA PITAHAYA

#### 2.2.1. EL CHANCRO DEL TALLO (*Neoscytalidium dimidiaste*)

El hongo del chanco del tallo tiene un mecanismo de ingreso a la planta por medio de heridas en los tallos sanos. Genera síntomas en tejido lignificado y causa la

muerte de los brotes, también existe la presencia de varias esporas negras que están ubicadas por debajo de la corteza. En la pitahaya roja ya amarilla este microorganismo crea pequeños puntos de color anaranjado y de forma circular, que luego se vuelven chancros y por último causan la pudrición de los tallos de la pitahaya (Retana *et al.*, 2018).

### **2.2.2. ENFERMEDAD VIRAL (*Virus de cactus x*)**

De acuerdo con las afirmaciones de Peña (2022) sobre el virus de cactus x, expone que, en la última década, se detectó en muestras de pitahaya síntomas similares a virus (Cactus X) que consistían en manchas cloróticas irregulares, algunas con mosaicos verde amarillo pálido, márgenes rojo marrón, necrosis y espinas deformadas. El virus de cactus X se ha detectado en la fruta del dragón en los EE. UU., Taiwán, Corea, Japón, China y se distribuye ampliamente en Malasia. Este virus afecta principalmente a las variedades *H. megalanthus*, *H. monacanthus* y *H. undatu*.

### **2.2.3. ANTRACNOSIS (*Colletotrichum spp*)**

La enfermedad de la antracnosis muestra signo de lesiones necróticas con una apariencia de chancro, con un halo de coloración rojiza alrededor y partes amarillas en el exterior. Esta enfermedad se produce en el fruto y su forma de manifestarse en mediante lesiones amarillas con una consistencia blanda. Según estudios la pitahaya en Ecuador esta sienta afectada por este patógeno causando serios daños en los frutos y en la penca de la planta (García, 2022).

### **2.2.4. PUDRICIÓN DE FRUTOS Y TALLOS (*Bipolaris cactivora*)**

En el cultivo de la pitahaya roja (*Hylocereus undatus*) se encontró el patógeno causante de la pudrición del fruto y que los tallos se pongan de una coloración amarillenta, era el *Bipolaris cactivora* (Salazar *et al.*, 2016). Este hongo produce mucho micelio negro y las lesiones se ponen acuosas. Este microorganismo se clasifica dentro de los hongos imperfectos en la familia de los Dematiaceae (Trujillo, 2014).

## **2.3. CONTROL CON FUNGICIDAS**

### **2.3.1. SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO**

El fungicida bactericida funciona de forma sistemática, protector de contacto y curativo se absorbe por hojas y raíces, se traslada vía floema y xilema forma óxido de cobre y es estable en medios alcalinos, estos fungicidas desactivan los sistemas enzimáticos de los organismos patógenos cuando son atraídos por esporas de hongos y bacterias (Cajas, 2016; Carreño & Sánchez, 2021). Su mecanismo de acción es actuar como un agente bactericida y fungicida al interferir con la actividad enzimática y la síntesis de proteínas en el hongo, lo que lleva a la inhibición de su crecimiento y reproducción, sin embargo, puede causar fitotoxicidad en altas concentraciones (Sinkovic *et al.*, 2008).

### **2.3.2. CLOROTALONIL**

Este producto fúngico contiene ingrediente activo el clorotalonil, y sirve para el control de enfermedades en los cultivos, el ingrediente activo está dentro del grupo químico de los cloronitrilos. Para poder eliminar la enfermedad de pudrición del cuello en el proceso de almacenamiento se debe realizar una dosis de 1.3 a 2.0 L por ha, en 3 aplicaciones mínimas y realizarlas antes de la cosecha (American Vanguard, s.f.). Su mecanismo de acción es interferir en el sistema de transporte de electrones en la cadena respiratoria de los hongos, bloqueando la producción de adenosín trifosfato (ATP) esencial para su crecimiento, lo que conlleva a la muerte celular del hongo (Jiang *et al.*, 2022; Scariot *et al.*, 2022).

### **2.3.3. AZOXYSTROBIN + TRIDEMORPH**

El fungicida Azoxystrobin tiene una actividad traslaminar, se distribuye en toda la hoja y este producto causa un efecto curativo y preventivo. Se caracteriza por tener una buena actividad fúngica y ataca a microorganismos como ascomicetos, basidiomicetos, deuteromicetos y comicitos. También se describe por ser un agente fuerte en cuanto a inhibir la germinación de esporas, logra impedir el crecimiento micelial e impide la respiración mitocondrial (TecnoAgricola, s.f.). Su aplicación permite inhibir la síntesis de ergosterol, un componente crucial de la

membrana celular del hongo, mientras que Tridemorph actúa en la etapa de esporulación y crecimiento micelial (Baćmaga *et al.*, 2024)

#### **2.3.4. DIFENOCONAZOL**

Este producto fúngico se aplica directamente en las hojas, tiene una acción sistémica y residual, para ayudar en el control de distintas enfermedades en los cultivos, siendo rápido para que las plantas lo puedan absorber. Este fungicida actúa de forma que impide que el hongo termine su proceso de infección y así también logra reducir que se formen conidias en daños ya existentes (VECOL, s.f.). Por su parte, Liu *et al.* (2021) sostiene que este antifúngico bloquea la enzima lanosterol 14 $\alpha$ -desmetilasa, que es crucial en la formación de ergosterol, una molécula esencial para la integridad de la membrana celular del hongo.

#### **2.3.5. METIRAM + PYROCLOSTRABIN**

BASF (2018) describe las características del fungicida Pyraclostrobin que es una estrobilurina sistémica translaminar que inhibe la respiración mitocondrial interrumpiendo el transporte de electrones. Metiram es un fungicida perteneciente al grupo de los EBDC's (ditiocarbamatos) que actúa por contacto, interrumpe procesos bioquímicos (respiración, biosíntesis, y transporte de energía) inhibiendo la actividad enzimática. Por otro lado, La piraclostrobina se dirige al sitio de oxidación del ubiquinol en el complejo del citocromo bc1, deteniéndose efectivamente la cadena de transporte de electrones en los fungi (Xiong *et al.*, 2020).

### **2.4. PARÁMETROS DE MEDICIÓN**

#### **2.4.1. TABLA DE ABBOTT**

La Tabla de Abbott es una herramienta crucial en microbiología, especialmente empleada para interpretar los resultados de pruebas de sensibilidad *in vitro*, estas pruebas permiten determinar la eficacia de antimicrobianos contra organismos específicos, como los hongos fitopatógenos, su uso radica en calcular el porcentaje de inhibición del crecimiento microbiano bajo diferentes tratamientos, lo que

proporciona información vital para la selección de métodos de control y tratamiento en la agricultura (Martínez, 2019).

#### **2.4.2. CRECIMIENTO RADIAL**

El crecimiento radial se refiere a la expansión de estructuras como colonias de microorganismos o el desarrollo de tejidos en un organismo multicelular, en el caso específico de las colonias fúngicas, como las de *Bipolaris* spp., implica la propagación del hongo en todas las direcciones desde el punto inicial de inoculación, por ejemplo, al cultivar *Bipolaris* spp en una caja de Petri, se observa su expansión tanto vertical como horizontalmente (Tuesta, 2023).

#### **2.4.3. PRUEBA DE PATOGENICIDAD**

La prueba de patogenicidad implica la inoculación controlada de un microorganismo para evaluar su capacidad de causar daño, en el caso del hongo *Bipolaris* spp., se realiza la inoculación utilizando herramientas estériles como palillos, junto con alcohol, mecheros y frutas de pitahaya, después de crecer en medio de cultivo PDA durante al menos 10 días, se realiza 2 lesiones de forma vertical en una misma dirección de la fruta, con el palillo esterilizado se colocó una porción del micelio. Luego, se elaboró cámaras húmedas con gavetas de plástico para favorecer el desarrollo del hongo y se monitorea el daño causado por el patógeno (Rahim *et al.*, 2022).

#### **2.4.4. SENSIBILIDAD *in vitro***

Se trata de evaluar la respuesta de un microorganismo, como un hongo fitopatógeno previamente replicado en medio de cultivo en caja Petri, ante diferentes fungicidas para determinar su sensibilidad en condiciones de laboratorio. Este proceso permite identificar la dosis y el fungicida más efectivo que muestra sensibilidad contra el hongo evaluado, utilizando un calibrador vernier para medir los resultados (Sartorato, 2006).

# CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

## 3.1. UBICACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular, Investigación y Vinculación de la Carrera de Medicina Veterinaria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Este se encuentra en el sitio "El Limón" del Cantón Bolívar, situado geográficamente entre las coordenadas 0°49'23" latitud sur y 80°11'01" longitud oeste, a una altitud de 15 metros sobre el nivel del mar (msnm).

Figura 3.1. Ubicación del área de estudio.



Fuente: Google Earth Pro v.22

### 3.1.1. CARACTERÍSTICAS CLIMATOLÓGICAS

En la zona de estudio ubicada en el sitio el Limón del Cantón Bolívar de la Provincia de Manabí se tiene las siguientes características climatológicas, correspondiente a los datos de la media obtenidos en la evaluación.

Tabla 3.1. Datos climatológicos de localidad. Enero a Junio del 2023.

Parámetros	Valores
Humedad relativa (%)	83
Temperatura máxima (°C)	32
Temperatura mínima (°C)	20.6
Temperatura media (°C)	27
Evaporación (mm)	356.9
Precipitación (mm)	1034.9
Recorrido del viento (Km/hora)	495
Heliofanía (Horas sol)	494.2

Fuente: Estación Meteorológica de la ESPAM MFL (2023).

## **3.2. DURACIÓN**

La presente investigación se extendió durante aproximadamente 34 semanas a partir de la aprobación de la planificación del trabajo de integración curricular, llevando a cabo un proceso ordenado y sistemático para el cumplimiento de los objetivos propuestos en este estudio.

## **3.3. TIPO, ALCANCE Y ENFOQUE DE INVESTIGACIÓN**

### **3.3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

El estudio se desarrolló como una investigación experimental con un enfoque cuantitativo, ya que se centró en la recolección y análisis de datos numéricos para evaluar la incidencia, sensibilidad in vitro, patogenicidad y agresividad de los aislados de *Bipolaris* spp en frutos de pitahaya roja. Este tipo de investigación permitió la manipulación controlada de variables independientes a través de un diseño completamente al azar (DCA) y un arreglo factorial, proporcionando datos precisos y replicables. Además, se emplearon análisis estadísticos, como el análisis de varianza (ANOVA) y contrastes ortogonales, para determinar la significancia de los resultados y validar las hipótesis planteadas.

### **3.3.2. ALCANCE DE LA INVESTIGACIÓN.**

El alcance de este estudio abarca la identificación y análisis de la incidencia estacional del hongo *Bipolaris* spp en frutos de pitahaya roja, la evaluación de su sensibilidad in vitro a distintos fungicidas comerciales, y la determinación de la patogenicidad y agresividad de sus aislados, mediante el estudio, se pretende proporcionar una comprensión integral de la presencia y comportamiento de *Bipolaris* spp en diferentes condiciones climáticas y su respuesta a tratamientos fungicidas, con el objetivo de desarrollar estrategias efectivas para el manejo de la enfermedad en el cultivo de pitahaya roja.

### **3.3.3. ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN**

El enfoque de esta investigación es cuantitativo, puesto que se basa en la recolección y análisis de datos numéricos para evaluar la incidencia, sensibilidad in

vitro, patogenicidad y agresividad de *Bipolaris* spp en frutos de pitahaya roja. A través de la metodología implementada, se busca establecer relaciones y patrones claros, ofreciendo una comprensión objetiva y precisa del comportamiento del hongo y la efectividad de distintos fungicidas comerciales.

### **3.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS**

#### **3.4.1. MÉTODOS**

Para la presente investigación, se utilizó el método descriptivo, mismo que permitió el determinar la incidencia de *Bipolaris* spp en el cultivo de pitahaya, mediante este se describió la frecuencia estacional del hongo en los frutos de pitahaya roja, proporcionando un análisis detallado de cómo varía la prevalencia del hongo durante diferentes estaciones del año.

Por otro lado, se aplicó el método experimental, que permitió evaluar la sensibilidad *in vitro* a fungicidas comerciales sobre *Bipolaris* spp y la patogenicidad y agresividad de los aislados del hongo, mediante la implementación de experimentos controlados. Por último, se aplicó el método analítico para analizar los datos obtenidos de los experimentos, este admitió realizar un análisis estadístico para interpretar los resultados, comparando la eficacia de los fungicidas y la progresión de la enfermedad a lo largo del tiempo y entre diferentes tratamientos.

#### **3.4.2. TÉCNICAS**

Inicialmente, se aplicó una técnica de muestreo aleatorio simple para recolectar muestras representativas de frutos de pitahaya a lo largo de diferentes estaciones del año, este enfoque permitió realizar una evaluación exhaustiva de la incidencia estacional del hongo *Bipolaris* spp en el cultivo. Posteriormente, se utilizaron técnicas de laboratorio para evaluar la sensibilidad *in vitro* de los aislados de *Bipolaris* spp a varios fungicidas comerciales. Estas técnicas incluyeron el cultivo de los aislados en condiciones controladas para determinar la efectividad de los fungicidas comerciales. Además, se inocularon frutos de pitahaya con los aislados

de *Bipolaris* spp en condiciones controladas de laboratorio para evaluar su patogenicidad y agresividad.

Finalmente, se emplearon técnicas analíticas avanzadas para el procesamiento y análisis de datos, que incluyeron análisis estadísticos descriptivos para examinar la incidencia estacional del *Bipolaris* spp en los frutos de pitahaya. Además, se llevaron a cabo pruebas de medias y contrastes ortogonales para evaluar la efectividad de los fungicidas comerciales y la progresión de la patogenicidad del hongo en condiciones de laboratorio.

### **3.5. UNIDAD EXPERIMENTAL**

La unidad experimental en este estudio se definió de manera específica para cada objetivo de investigación. Para la evaluación de la incidencia, se realizó un muestreo aleatorio simple de pitahayas procedentes de la finca Maveka ubicada en la parroquia Canuto del Cantón Chone. En cuanto a la evaluación de la sensibilidad, se definieron 72 unidades experimentales, cada unidad experimental consistió en una caja Petri de 90 mm, conteniendo el aislado de *Bipolaris* spp medio de cultivo agar PDA (Papa Dextrosa Agar) junto con el fungicida correspondiente según el tratamiento asignado. Para el estudio de la patogenicidad y agresividad del *Bipolaris* spp., se utilizaron 56 unidades experimentales que consistieron en frutos sanos de pitahaya inoculados con el hongo para observar su desarrollo y efecto patogénico.

### **3.6. VARIABLES A MEDIR**

- Incidencia del *Bipolaris* spp
- Sensibilidad *in vitro* de *Bipolaris* spp
- Patogenicidad de *Bipolaris* spp
- Agresividad de *Bipolaris* spp

### **3.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO**

El manejo del experimento se ha estructurado para asegurar un enfoque sistemático hacia los objetivos establecidos en este estudio. Cada fase está

orientada hacia aspectos particulares, facilitando una exploración exhaustiva de cada aspecto del tema de investigación, además, garantiza una secuencia lógica de actividades que promueve la coherencia y la eficiencia en la ejecución del estudio

### **3.7.1. DETERMINACIÓN DE LA INCIDENCIA DE *BIPOLARIS* SSP EN EL CULTIVO DE PITAHAYA**

#### **1. Área a muestrear**

- Se realizó un muestreo en un área aproximada de 2000 m<sup>2</sup> de cultivo de pitahaya, sembrada con un espaciamiento de 4x3 y 3x3 metros entre plantas e hileras.
- Se evaluaron 50 plantas distribuidas en zigzag. Los datos fueron registrados fotográficamente para identificar frutos afectados por enfermedades principales,
- El muestreo se llevó a cabo cada 15 días durante 8 meses, abarcando tanto la estación de invierno como la de verano.

#### **2. Recolección de frutos infectados**

- Se recolectaron frutos en la finca Maveka de la parroquia Canuto, cantón Chone, ubicada entre las coordenadas 0°48'40.0" latitud sur, 80°08'25.6" latitud oeste y a una altitud de 54.6 msnm. La determinación de frutos infectados por *Bipolaris* spp, se realizó mediante una inspección visual detallada de los frutos en el campo para identificar síntomas característicos de la infección, estas incluyen manchas necróticas de color marrón oscuro o negro, generalmente de forma ovalada o irregular.

#### **3. Incidencia**

La incidencia de la enfermedad se calculó en cada planta contando todas las frutas sanas y enfermas, utilizando la fórmula de Cárdenas *et al.* (2017):

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{\text{Número de frutas con síntomas y signos}}{\text{Número total de frutas colectadas}} * 100 [1]$$

### **3.7.2. ESTABLECIMIENTO DE LA SENSIBILIDAD *IN VITRO* A FUNGICIDAS COMERCIALES SOBRE *BIPOLARIS* SPP.**

#### **1. Selección de Aislados:**

- Se eligieron tres aislados de *Bipolaris* spp con mayor agresividad.

#### **2. Prueba de Sensibilidad:**

- Se sometieron los aislados a una prueba de sensibilidad con seis fungicidas comerciales, se midió el crecimiento del hongo con un calibrador Vernier para identificar la presencia de sensibilidad a los ingredientes activos, y se lo fue comparado con un testigo (aislado del hongo sin fungicida).

#### **3. Preparación del Medio de Cultivo:**

- Se preparó el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) y se esterilizó en autoclave.
- Una vez estéril, se dejó enfriar hasta que la temperatura fuera tolerable al tacto.

#### **4. Mezcla del Medio de Cultivo con Fungicidas:**

- En la cabina de flujo, se trasladaron todos los materiales, incluyendo el medio de cultivo y los fungicidas.
- Con una micro pipeta y puntas plásticas, se prepararon las dosis recomendadas en la etiqueta del producto (dosis media), y se establecieron las dosis baja y alta en  $\mu\text{L}$  a partir de esta.
- Se agitó el recipiente para mezclar bien el fungicida con el medio de cultivo.
- Se vertió la mezcla en cada caja de Petri (100 ml para las cuatro réplicas de cada tratamiento con su dosis).

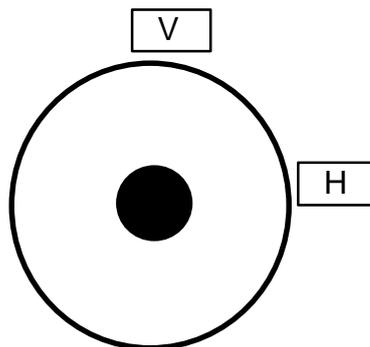
### 5. Inoculación de Discos de Hongo:

- Se hicieron discos del aislado de hongo *Bipolaris* spp con un sorbete esterilizado.
- Se colocaron los discos en el centro de cada caja de Petri que contenía la mezcla de medio de cultivo y fungicida.
- Con un palillo estéril, se transfirieron los discos a las cajas.
- Se envolvió la tapa de las cajas con Parafilm y se rotuló el código del tratamiento en una cinta adhesiva de papel.

### 6. Evaluación del Crecimiento Micelial:

- La inhibición del crecimiento micelial se midió en centímetros (cm) con un calibrador Vernier cada 24 horas.
- Al final del periodo de medición, se calculó el promedio del crecimiento radial diario y el porcentaje de inhibición.
- Cada placa fue marcada en cuatro puntos tanto horizontal como verticalmente en la parte inferior de la caja de Petri para trazar los radios.

Figura 3.1. Puntos horizontal y vertical en la base de la caja Petri.



### 7. Cálculo del Crecimiento Radial:

- Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el crecimiento radial total (Tuesta, 2023):

$$\text{Crecimiento radial total} = \frac{(A + B)}{2} [2]$$

**Donde:**

**A** = Medida del crecimiento radial en el punto A (en cm)

**B** = Medida del crecimiento radial en el punto B (en cm)

### **8. Cálculo de la Eficacia del Tratamiento:**

- Se midió diariamente el diámetro del crecimiento micelial del control (Dt) y del tratamiento (Dx), expresado en centímetros (cm).
- Los resultados para cada tratamiento se calcularon con la fórmula de Abbott para evaluar la eficacia del tratamiento (Abbott, 1925; citado por Martínez, 2019):

$$\text{Eficacia de Tratamiento} = \frac{Dt - Dx}{Dt} \times 100 [3]$$

**Donde:**

**Et** = Eficacia del tratamiento

**Dt** = Diámetro del control

**Dx** = Diámetro del tratamiento

### **3.7.2. COMPROBACIÓN DE LA PATOGENECIDAD DE LOS AISLADOS DE *BIPOLARIS SSP.***

#### **1. Selección de Frutos:**

- Se utilizaron frutos sanos de pitahaya, empleando siete tratamientos de aislados obtenidos y un testigo.
- En total, se emplearon 56 frutos inoculados, incluyendo los testigos (frutos sin inoculación del hongo).

## 2. Inoculación del Micelio:

- La inoculación consistió en extraer una pequeña porción de micelio de los hongos aislados de *Bipolaris* spp obtenidos, utilizando palillos de dientes.
- Se colocó la porción micelial en ambos extremos de la fruta y en una misma dirección.
- Para mantener la humedad del hongo se elaboraron 8 cámaras húmedas con gavetas de plástico y por dentro papel humedecido con agua destilada, donde fueron colocados los 7 tratamientos y el testigo
- A los frutos testigo se les realizó el mismo procedimiento sin inocular el disco micelial.

## 3. Evaluación de la Patogenicidad:

- Transcurrida las 24 horas de la inoculación se procedió a sacar los palillos delicadamente de los orificios quedando el hongo en esta lesión causada por el palillo incrustado en la fruta.
- En las 48, 72 y 96 horas (Día 1, 2 y 3) se midieron las heridas causadas por el hongo con un calibrador vernier y se determinó la agresividad de la patogenicidad en centímetros (cm).
- Los síntomas en los frutos inoculados se compararon con los frutos del testigo (sin inocular el hongo).

## 3.8. DISEÑOS EXPERIMENTALES

Para el presente estudio se plantearon dos diseños experimentales para dar cumplimiento al análisis de la sensibilidad *in vitro* de los aislados de *Bipolaris* spp, y la patogenicidad y agresividad de aislados de este hongo.

### 3.8.1 DISEÑO EXPERIMENTAL 1: SENSIBILIDAD *IN VITRO*

Se implementó un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial A x B en el estudio. Este diseño contempló un total de 18 tratamientos replicados en

4 bloques, lo que resultó en 72 unidades experimentales distribuidas de manera equitativa para asegurar la validez y la robustez de los resultados obtenidos.

### 3.8.1.1. FACTORES DE ESTUDIO

En esta sección se describen los factores de estudio seleccionados y los tratamientos aplicados para evaluar la eficacia de diferentes fungicidas comerciales en diversas dosis. Los fungicidas seleccionados incluyen una variedad de ingredientes activos utilizados comúnmente en la protección de cultivos de hongos, cada uno aplicado en tres niveles de dosificación: alta, media y baja. Las dosis recomendadas en la etiqueta del producto (dosis media) se tomaron como referencia, y se establecieron las dosis baja y alta en  $\mu\text{L}$  a partir de esta (Ver tabla 3.2).

A. Fungicidas comerciales (Clorotalonil, Sulfato de Cobre Pentahidratado, Azoxystrobin + Tridemorph, Trifloxystrobin + Tebuconazol, Difenconazol, Metiram + Pyroclostrabin)

B. Dosis: (Alta, Media Baja)

### 3.8.1.2. TRATAMIENTOS

Tabla 3.2. Tratamientos de sensibilidad.

Tratamientos	Código	Factores	
		Fungicida	Dosis $\mu\text{L}$
1	F1D1	Clorotalonil	750
2	F1D2	Clorotalonil	500
3	F1D3	Clorotalonil	250
4	F2D1	Sulfato de Cobre Pentahidratado	450
5	F2D2	Sulfato de Cobre Pentahidratado	300
6	F2D3	Sulfato de Cobre Pentahidratado	150
7	F3D1	Azoxystrobin + Tridemorph	375
8	F3D2	Azoxystrobin + Tridemorph	250
9	F3D3	Azoxystrobin + Tridemorph	125
10	F4D1	Trifloxystrobin + Tebuconazol	375
11	F4D2	Trifloxystrobin + Tebuconazol	250
12	F4D3	Trifloxystrobin + Tebuconazol	125
13	F5D1	Difenconazol	375
14	F5D2	Difenconazol	250
15	F5D3	Difenconazol	125
16	F6D1	Metiram + Pyroclostrabin	0,27g
17	F6D2	Metiram + Pyroclostrabin	0,25g
18	F6D3	Metiram + Pyroclostrabin	0,22g

### 3.8.1.3 ESQUEMA DEL ANOVA

Tabla 3.3. Esquema ANOVA para sensibilidad.

Fuente de Variación		Grados de libertad (G.L.)
Total	rt-1	71
Tratamientos	t-1	17
Fungicidas comerciales (A)	(A-1)	5
Dosis (B)	(B-1)	2
AxB	(A-1)(B-1)	10
Error experimental	t(r1)	12

### 3.8.2. DISEÑO EXPERIMENTAL 2: PATOGENICIDAD Y AGRESIVIDAD

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) con disposición ortogonal, donde se evaluaron 8 tratamientos distribuidos en 7 réplicas, totalizando así 56 unidades experimentales. En este se analizó de manera precisa los efectos de los tratamientos sobre la patogenicidad y agresividad del *Bipolaris* spp en los frutos de pitahaya roja.

#### 3.8.2.1. FACTOR DE ESTUDIO

- Aislados de *Bipolaris* spp

#### 3.8.2.2. TRATAMIENTOS

Tabla 3.4. Tratamientos de Patogenicidad y Agresividad.

Tratamientos	Aislados de <i>Bipolaris</i>	Códigos
1	A1	T1A1
2	A2	T2A2
3	A3	T3A3
4	A4	T4A4
5	A5	T5A5
6	A6	T6A6
7	A7	T7A7
8	A8	T8A8

#### 3.8.2.3. ESQUEMA DEL ANOVA

Tabla 3.5. Esquema ANOVA para Patogenicidad y Agresividad

Fuente de Variación		Grados de libertad (G.L.)
Total	rt-1	23
Tratamientos	t-1	7
Error	t(r-1)	56

### 3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

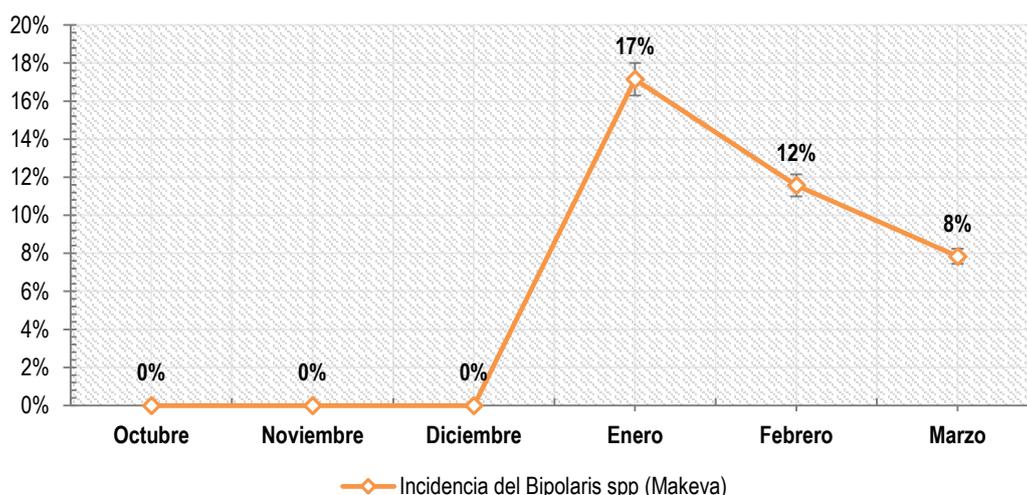
El análisis estadístico del estudio incluyó diversas pruebas para evaluar diferentes aspectos de la investigación. Se utilizaron estadísticas descriptivas para analizar la incidencia del *Bipolaris* spp, el test de Shapiro-Wilk se empleó para verificar la normalidad de los datos, el análisis de sensibilidad in vitro se realizó mediante el análisis de la varianza (ANOVA) factorial, mientras que para evaluar la patogenicidad y agresividad del hongo se utilizó ANOVA con contrastes ortogonales y las comparaciones de medias entre tratamientos se llevaron a cabo utilizando el test de Tukey al 5%. Los datos fueron tabulados en Microsoft Excel vLTSC y posteriormente analizados con el paquete estadístico InfoStat v21, los resultados se presentaron en gráficos y tablas para facilitar la comprensión de los lectores.

## CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. INCIDENCIA DE *Bipolaris* spp EN EL CULTIVO DE PITAHAYA.

El gráfico 4.1 evidencia que la incidencia de *Bipolaris* spp en frutos de pitahaya aumenta considerablemente en los meses de la época lluviosa. Según los parámetros expresados, en los meses de época seca (octubre, noviembre y diciembre) no se detecta la presencia de este fitopatógeno en los frutos. Sin embargo, durante el invierno, se observa un aumento significativo en la incidencia del hongo, en enero, la incidencia es de un 17%, el punto más alto en todo el período analizado, luego, en febrero, disminuye a un 12%, y en marzo sigue descendiendo hasta un 8%.

Figura 4.1. Incidencia del *Bipolaris* spp en frutos de pitahaya



Pese a la existencia de *Bipolaris* spp en los frutos de pitahaya, la incidencia de este fitopatógeno tiende a ser descendente, lo cual puede atribuirse a los controles implementados en las fincas mediante el uso de fungicidas, puesto que estos productos fitosanitarios, ayudan a disminuir la proliferación de *Bipolaris* spp. al atacar diferentes etapas del ciclo de vida del hongo, tales como la esporulación y el crecimiento en los tejidos de la planta (Noosheen, 2014; Zhao & Huang, 2023).

Sin embargo, si no se mantiene la tendencia a la baja observada en el gráfico, es posible que la incidencia aumente en los meses subsiguientes, ya que las

condiciones climáticas favorables para el desarrollo y proliferación de las esporas del hongo como la temperatura, humedad y la precipitación continúan presentes en los meses posteriores (Couture & Sutton, 1978). Lo que puede afectar la eficacia total del control aplicado, permitiendo que el hongo continúe desarrollándose (Singh *et al.*, 2021).

Estudios como los de Tarnowski *et al.* (2010), Ben *et al.* (2011), Oeurn (2015) y Qiu *et al.* (2021) han demostrado que el hongo *Bipolaris* spp. tiene una incidencia notable en los cultivos de pitahaya, con una afectación promedio del 15%, un valor comparable con los resultados obtenidos en este estudio. Además, su impacto es aún más significativo en los frutos, ya que provoca su pudrición tanto en la planta como en la postcosecha.

Por otro lado, hongos como *Colletotrichum gloeosporioides*, puede presentar una incidencia del 16% en los cultivos de pitahaya (Peña, 2024). Este hongo, al igual que *Bipolaris* spp, muestra una mayor prevalencia durante la época lluviosa, lo que sugiere una relación directa con las condiciones climáticas, que favorecen su desarrollo (Trujillo, 2014). Además, *Fusarium oxysporum* Schltdl. causa un daño considerablemente mayor, con una incidencia del 29,3% en los frutos de pitahaya (Samboní & Ariza, 2017; Peña, 2024).

Esta característica convierte a *Bipolaris* en una amenaza significativa para la producción y calidad de ciertos frutos de pitahaya, impactando negativamente la rentabilidad y viabilidad de los cultivos (Qiu *et al.*, 2021). Además, su distribución se está expandiendo a nivel mundial, habiéndose detectado en países como Vietnam, Israel, Estados Unidos, Japón y Taiwán (He *et al.*, 2012; Ben *et al.*, 2011; Tarnowski *et al.*, 2010; Taba *et al.*, 2007; Wang & Lin, 2005).

## **4.2. SENSIBILIDAD *In Vitro* A FUNGICIDAS COMERCIALES SOBRE *Bipolaris* spp.**

### **4.2.1. ANÁLISIS DE LA VARIANZA DE LOS AISLADOS EVALUADOS**

Los resultados de la tabla 4.1 muestra que el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial presentó diferencias significativas en las fuentes de variación

fungicidas, dosis y tratamientos para los tres aislados de *Bipolaris* spp estudiados en este ensayo. Los resultados exponen que tanto el Factor A (Fungicida) como el Factor B (Dosis) y su interacción tienen un efecto altamente significativo ( $p < 0,0001$ ) en la sensibilidad de los tres aislamientos evaluados.

**Tabla 4.1.** Significancia estadística de la sensibilidad de los Aislados de *Bipolaris* spp

Fuente de variación	Aislado 1	Aislado 2	Aislado 3
Factor A (Fungicida)	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
Factor B (Dosis)	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
Factor A (Fungicida)*B(Dosis)	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
C.V %	2,18	2,12	2,23

Significancia 95%

\*\* Altamente significativo

C.V. Error Coeficiente de Variación

De acuerdo con el análisis de las varianzas anteriormente determinadas, se observa una notable consistencia en la efectividad de los factores en estudio contra *Bipolaris* spp. Sin embargo, es crucial identificar qué fungicidas y en qué dosis específicas provocaron este comportamiento; esta información es esencial para comprender las variaciones en las medias de los factores evaluados.

#### 4.2.2. VARIACIÓN DE MEDIAS DE LOS FACTORES Y SU INTERACCIÓN

Los fungicidas Azoxystrobin+Tridemorph, Trifloxystrobin+Tebuconazol, Difenconazol, y Metiram + Pyroclostrabin mantuvieron una eficacia del 100% en todas las dosis y aislados. En contraste, se observa que, el Clorotalonil a dosis altas y medias, mantuvo una eficacia del 100% para todos los aislados, mientras que a dosis bajas la incidencia disminuyó a 70,87%, 77,13% y 73,05% para los aislados 1, 2 y 3, respectivamente, por otro lado, el Sulfato de Cobre Pentahidratado mostró variaciones dependiendo de la dosis, con promedios que variaron desde 35,07% a 63,59% para el aislado 1, 28,59% a 76,57% para el aislado 2, y 55,73% a 79,89% para el aislado 3 (tabla 4.2).

**Tabla 4.2.** Variación Tukey para la interacción entre factores A\*B sobre la sensibilidad in vitro del *Bipolaris* spp.

Tratamiento	Factor A (Fungicidas)	Factor B (Dosis)	Aislado 1	Aislado 2	Aislado 3
1	Clorotalonil	Alta	100 e	100 e	100 e
2	Clorotalonil	Media	100 e	100 e	100 e
3	Clorotalonil	Baja	70,87 d	77,13 c	73,05 b
4	Sulfato de Cobre Pentahidratado	Alta	63,59 c	76,57 c	79,89 c
5	Sulfato de Cobre Pentahidratado	Media	58,13 b	56,22 b	74,30 b
6	Sulfato de Cobre Pentahidratado	Baja	35,07 a	28,59 a	55,73 a
7	Azoxystrobin + Tridemorph	Alta	100 e	100 e	100 e
8	Azoxystrobin + Tridemorph	Media	100 e	100 e	100 e
9	Azoxystrobin + Tridemorph	Baja	100 e	100 e	100 e
10	Trifloxystrobin + Tebuconazol	Alta	100 e	100 e	100 e
11	Trifloxystrobin + Tebuconazol	Media	100 e	100 e	100 e
12	Trifloxystrobin + Tebuconazol	Baja	100 e	100 e	100 e
13	Difenoconazol	Alta	100 e	100 e	100 e
14	Difenoconazol	Media	100 e	100 e	100 e
15	Difenoconazol	Baja	100 e	100 e	100 e
16	Metiram + Pyroclostrabin	Alta	100 e	100 e	100 e
17	Metiram + Pyroclostrabin	Media	100 e	100 e	100 e
18	Metiram + Pyroclostrabin	Baja	100 e	100 e	100 e

<b>Variación de medias para el Factor A (Fungicidas) sobre el <i>Bipolaris</i> spp</b>				
Factor A (Fungicida)	Aislado 1	Aislado 2	Aislado 3	
Sulfato de Cobre	52,27 a	53,80 a	69,97 a	
Clorotalonil	90,29 b	92,38 b	91,02 b	
Trifloxystrobin + Tebuconazol	100 c	100 c	100 c	
Metiram + Pyroclostrabin	100 c	100 c	100 c	
Difenoconazol	100 c	100 c	100 c	
Azoxystrobin + Tridemorph	100 c	100 c	100 c	

<b>Variación de medias para el Factor B (Dosis) sobre el <i>Bipolaris</i> spp</b>				
Factor B (Dosis)	Aislado 1	Aislado 2	Aislado 3	
Alta	93,93 b	96,10 c	96,65 b	
Media	93,02 b	92,70 b	95,72 b	
Baja	84,32 a	84,29 a	88,13 a	

Los resultados destacan que Trifloxystrobin + Tebuconazol, Metiram + Pyroclostrabin, Difenconazol, y Azoxystrobin + Tridemorph son altamente efectivos contra *Bipolaris* spp, mostrando una inhibición del 100% independientemente del aislado y la dosis. El Clorotalonil es efectivo en dosis altas y medias, pero su efectividad disminuye a dosis bajas. El Sulfato de Cobre es el menos efectivo, con una variabilidad significativa en su incidencia dependiendo de la dosis. En general, las dosis altas de fungicidas son más efectivas que las bajas, pero la efectividad específica varía según el fungicida utilizado.

Los resultados obtenidos en este estudio son en gran medida consistentes con los de Stolde (2006), quien clasificó varios aislados de *Bipolaris sorokiniana* como altamente sensibles a una gama de fungicidas, incluyendo procloraz y propiconazol, lo cual es similar a la alta eficacia del 100% de sensibilidad observada en este estudio para los fungicidas Azoxystrobin + Tridemorph, Trifloxystrobin + Tebuconazol, Difenconazol y Metiram + Pyroclostrabin. Además, el estudio de Domínguez (2019) identificó que la triple mezcla de fluxapyroxad + piraclostrobina + epoxiconazol controló eficientemente al 100% los aislados *in vitro* de *Bipolaris* spp

De manera similar, Khan *et al.* (2021) identificó que los fungicidas Propiconazol, Tebuconazol, Azoxistrobin y la combinación de Azoxistrobin + Difenconazol inhibieron completamente el crecimiento del micelio de *Bipolaris sorokiniana* a una concentración de 200 ppm en condiciones *in vitro*. Este hallazgo es consistente con nuestros resultados, donde Azoxistrobin + Tridemorph y Trifloxystrobin + Tebuconazol también mostraron una eficacia del 100% en todas las dosis evaluadas. Asimismo, Verma *et al.* (2023) observó un porcentaje máximo del 100% de inhibición de *B. sorokiniana* con Propiconazol, seguido de Hexaconazol y Folicure en condiciones *in vitro*, lo que refuerza la eficacia de estos fungicidas contra *Bipolaris* spp. reportada en la experimentación aplicada.

En este sentido, Castell *et al.* (2021) identificaron que los fungicidas a base de Propiconazol y/o Azoxistrobin redujeron las enfermedades foliares en el arroz causado por el *Bipolaris* spp. Por su parte Kongcharoen *et al.* (2020) determinó que el Azoxystrobin, Difenconazol + Propiconazol, y Flutriafol son los más efectivos en reducir la incidencia del *B. oryzae* *in vitro* con mejores resultados observados con

dos aplicaciones de cada fungicida. Estos hallazgos son consistentes en la inhibición del hongo bajo diferentes condiciones, sugiriendo que las combinaciones fungicidas evaluadas en el estudio son efectivas en el control de *Bipolaris* spp en diversos escenarios y cultivos.

En contraste, Arce *et al.* (2019) identificaron que los aislados de *Bipolaris* spp son moderadamente sensibles al Benzotiazol, pero no al Mancozeb + oxiclورو de cobre ni al Clorotalonil, lo cual es semejante a los resultados obtenidos en esta investigación, ya que el Clorotalonil no mantuvo una efectividad del 100% en dosis bajas. En general, estudios *in vitro* han demostrado la eficacia de varios fungicidas contra *Bipolaris* spp., destacando el propiconazol, hexaconazol, difenoconazol, mancozeb, carbendazim, fludioxonil y difenoconazol para inhibir el crecimiento micelial de este patógeno (Magar *et al.*, 2020; Tiwari *et al.*, 2022; Kekuda *et al.*, 2016; Wei *et al.*, 2021).".

Es importante señalar que el único antifúngico comercial que mostró una eficacia inferior en la inhibición de *Bipolaris* spp *in vitro* fue el Sulfato de Cobre Pentahidratado. Investigaciones como las de Albuquerque y Gusqui (2018) han documentado una menor sensibilidad de este compuesto frente a patógenos como *Lasiodiplodia teobromae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum* y *Penicillium* spp, en comparación con fungicidas como el Carbendazim, Azoxystrobin y Tiabendazol. Del mismo modo, Carrasco *et al.* (2023) han reportado una acción fungicida moderada del Sulfato de Cobre Pentahidratado frente a *Moniliophthora roreri*.

### **4.3. PATOGENICIDAD Y AGRESIVIDAD DE LOS AISLADOS DE *BIPOLARIS* SPP.**

#### **4.3.1. PATOGENICIDAD.**

La patogenicidad del hongo se identificó mediante la observación de síntomas iniciales de tejido necrótico en el punto de inoculación en ciertos frutos, estos indicios consistieron en manchas oscuras y áreas hundidas que aparecieron en el lugar donde se aplicó el inóculo. En algunos casos, la manifestación de estos signos fue evidente a las 48 horas, indicando una respuesta rápida a la infección.

Sin embargo, en otros aislados, tales manifestaciones sintomáticas no se observaron hasta al tercer día posterior a la inoculación, momento en el cual los frutos mostraban una expansión notable de las áreas necróticas, confirmando la patogenicidad de todos los aislados evaluados en este ensayo.

La patogenicidad de *Bipolaris* spp en tejidos vegetal se manifiesta a través de la entrada del hongo en heridas provocadas por manipulación y por la propagación de insectos o causas naturales (Amorío, 2017). El hongo *Bipolaris* spp invade los tejidos de la fruta, avanzando por delante de los síntomas visibles (presencia de necrosis) (Banerjee *et al.*, 2014). En este estudio, se observó una mayor incidencia de *Bipolaris* spp durante los meses de invierno, lo que sugiere que la patogenicidad del hongo se ve exacerbada por las condiciones invernales, aspectos que son consistentes con lo fundamentado por Rodrigues *et al.* (2023) y Yashwant *et al.* (2017) quienes indican que el *Bipolaris* spp. se favorece en condiciones de bajas temperaturas y alta humedad, características comunes de meses de invierno.

Pese a que generalmente el *Bipolaris* spp se asocia con un alto nivel de patogenicidad en gramíneas, algunos estudios han reportado que ciertas especies de *Bipolaris* también pueden afectar a algunos frutos (González *et al.*, 2020). Esto mantiene una relación directa con las Investigaciones de Qiu *et al.* (2021) y Tarnowski *et al.* (2010) estableciendo que este hongo mantiene una patogenicidad progresiva acelerada en los frutos de pitahaya, iniciando como manchas bronceadas en la superficie y progresando como una macha marrón. He *et al.* (2012) observaron síntomas similares con *Bipolaris cactivora*, incluyendo manchas pulverulentas y pudrición blanda, a los 5 días de inoculación. Moura (2020) y Santos (2019) también reportaron lesiones negruzcas en el punto de inoculación después de seis a diez días.

#### **4.3.2. AGRESIVIDAD**

Todos los aislados inoculados, demostraron un desarrollo similar de la lesión, entre ellos al ser inoculados sobre los frutos de pitahaya, con medias que oscilaron entre 0,78 cm y 1,06 cm a las 24 horas posteriores a la inoculación, consecuentemente estos valores aumentaron entre 2,16 cm y 2,33 cm a las 48 horas, y alcanzaron

promedios entre 3,16 cm y 3,76 cm. a las 72 horas de haber sido inoculados. Este incremento progresivo indica la intensificación notable de la agresividad de *Bipolaris* spp en frutos de pitahaya a lo largo de los días evaluados. Por otro lado, el tratamiento testigo no manifestó síntomas ni incremento de la lesión, durante los días de la evaluación.

**Tabla 4.3.** Variación de medias del grado de agresividad (cm) del *Bipolaris* spp en frutos de Pitahaya.

Tratamientos	24 h.	48 h.	72 h.
1	1,00	2,30	3,46
2	0,85	2,25	3,16
3	0,88	2,33	3,64
4	1,06	2,31	3,51
5	0,99	2,16	3,76
6	0,78	2,31	3,55
7	0,98	2,24	3,64
8	0,00	0,00	0,00
<b>E.E</b>	0,08	0,09	0,16
<b>P valor</b>	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Los resultados de este estudio muestran un incremento progresivo y significativo en la agresividad de *Bipolaris* spp en frutos de pitahaya a lo largo de los días evaluados, siendo similares a los observados por Wang y Lin, (2005); Taba *et al.* (2007); Tarnowski *et al.* (2010); Ben *et al.* (2011); He *et al.* (2012), quienes indican que *Bipolaris* spp, es altamente agresivo, mostrando un desarrollo acelerado de las heridas de los frutos de pitahaya.

La agresividad del *Bipolaris* spp aumenta significativamente en condiciones de humedad y con temperaturas elevadas, lo cual acelera el crecimiento del hongo y la expansión de las lesiones necróticas en los tejidos vegetales (Banerjee *et al.*, 2014). En esta experimentación se observa que la progresión de las lesiones en los frutos de pitahaya a lo largo del tiempo, presenta un incremento notable en el tamaño de las lesiones, este comportamiento es similar a los hallazgos de Ben *et al.* (2011) y He *et al.* (2012), quienes reportaron que las lesiones necróticas inducidas por *Bipolaris* spp pueden variar considerablemente en tamaño, desde unos pocos milímetros hasta varios centímetros de diámetro en casos más severos, afectando tanto las hojas como los frutos.

En otros tipos de cultivos, como las gramíneas, la agresividad de *Bipolaris* spp.

también se acelera, como lo señala Cipollone (2017) y Santoyo *et al.* (2018) que registraron un aumento significativo en la agresividad del patógeno en producciones de trigo. Este patrón de agresividad acelerada es similar con los frutos de pitahaya evaluados, donde la progresión de las lesiones mostró un incremento notable al paso de los días de evaluación. Es de destacar que este patógeno muestran variabilidad en agresividad y patrones de transmisión, en dependencia de las estaciones y de las regiones geográficas, dado que en general muestran diversas características morfológicas y genéticas (Da Silva *et al.*, 2022; Burgos *et al.*, 2013).

Los resultados de este estudio confirmaron las hipótesis de investigación planteadas. Primero, se comprobó que varios fungicidas fueron efectivos en el control *in vitro* de *Bipolaris* spp entre los diferentes aislados, validando la hipótesis de que al menos uno de los fungicidas funcionaría en este contexto. Y segundo, la investigación mostró que los aislados de *Bipolaris* spp eran patogénicos y agresivos en pitahaya roja, cumpliendo así la hipótesis de que al menos uno de los aislados sería patogénico.

# **CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## **5.1. CONCLUSIONES**

-El hongo *Bipolaris* spp presenta una incidencia máxima del 17% en el cultivo de pitahaya

-Los fungicidas Trifloxystrobin+Tebuconazol, Metiram+Pyroclostrabin, Difenconazol y Azoxystrobin+Tridemorph, fueron altamente sensibles contra *Bipolaris* spp, en condiciones *in vitro*.

-Todos los aislados de *Bipolaris* spp. fueron patogénicos y mostraron agresividad en frutos de pitahaya roja.

## **5.2. RECOMENDACIONES**

-Evaluar el comportamiento de la incidencia de *Bipolaris* spp durante la época de lluvias en otras localidades productoras de pitahaya, para poder estimar de mejor forma el progreso temporal de la enfermedad.

-Aplicar los fungicidas Trifloxystrobin + Tebuconazol, Metiram + Pyroclostrabin, Difenconazol y Azoxystrobin + Tridemorph en condiciones de campo, para evaluar su eficacia en estas condiciones.

## BIBLIOGRAFÍA

- Albuquerque, D., & Gusqui, M. (2018). Eficacia de fungicidas químicos para el control *in vitro* de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas. *Arnaldoa*, 25(2). <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.252.25209>
- Almaraz, A., Alvarado, D., Leyva, G., Equihua, A., Aranda, S., & Hernández, J. (2016). Pruebas de patogenicidad de *Phytophthora cinnamomi* Rands. en *Pseudotsuga mensiezii*. *Revista mexicana de fitopatología*, 34(2), 142-157. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1509-2>
- American Vanguard. (s.f.). *Clorotalonil/Fungicida. Suspensión acuosa*. [https://www.amvac.com.mx/sites/default/files/\\_media/content/FT-Bravo%20720.pdf](https://www.amvac.com.mx/sites/default/files/_media/content/FT-Bravo%20720.pdf)
- Amorío, D. (2017). Pathogenicity and cytological examination of adapted and nonadapted *Bipolaris* species on resistant and susceptible cultivars of rice and corn. *Mycosphere*, 8(3), 377–391. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/8/3/3>
- Arce, C., Varela, I., & Torres, S. (2019). Inhibición del crecimiento micelial de hongos asociados a antracnosis en ñame (*Dioscorea alata*). *Revista Agronomía Mesoamericana*, 381–393. <https://doi.org/10.15517/am.v30i2.32653>
- Baćmaga, M., Wyszowska, J., & Kucharski, J. (2024). Response of soil microbiota, enzymes, and plants to the fungicide azoxystrobin. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(15), 8104. <https://doi.org/10.3390/ijms25158104>
- Banerjee, S., Poswal, R., Gupta, S., Sharma, S., Bashyal, B., & Aggarwal, R. (2014). Molecular characterization of *Bipolaris* spp. using universal rice primer (URP) markers. *Indian Phytopathology/Indian Phytopathology*, 67(1), 49–54. <http://epubs.icar.org.in/ejournal/index.php/IPPJ/article/download/39586/17835>
- Bárcena, A., Cimoli, M., Garcia, L., Fidel, L., y Pérez, L. (2018). La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible Una oportunidad para América Latina y el Caribe Gracias por su interés en esta publicación de la CEPAL. Naciones Unidas, 21–24. [https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/40155/24/S1801141\\_es.pdf](https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/40155/24/S1801141_es.pdf)
- BASF (Badische Anilin- y Sodafabrik). (2018). Cabrio Top. <https://agriculture.basf.com/ec/es/proteccion-de-cultivo-y-semillas/productos-para-proteccion-de-cultivos/bactericida-cabrio-top.html>
- Ben, I., Assouline, I., Levy, E., & Elkind, G. (2011). First report of *Bipolaris cactivora* causing fruit blotch and stem rot of dragon fruit (pitaya) in Israel.

- Phytoparasitica*, 39(2), 195–197. <https://doi.org/10.1007/s12600-011-0143-y>
- Burgos, M., Katimbang, M., Paz, M., Beligan, G., Goodwin, P., Ona, I., Mauleon, R., Ardales, E., & Cruz, C. (2013). Genotypic variability and aggressiveness of *Bipolaris oryzae* in the Philippines. *European Journal of Plant Pathology*, 137(2), 415–429. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0256-x>
- Carrasco, T., Olivo, Z., Sánchez, J., & Mendoza, P. (2023). Evaluación del efecto antifúngico del sulfato de cobre (II) pentahidratado en *Moniliophthora roreri*. *Journal of Basic Sciences*, 9(25), 8-18. <https://revistas.ujat.mx/index.php/jobs/article/view/6133>
- Carreño, J., & Sánchez, I. (2021). *Caracterización morfo-cultural, patogenicidad y sensibilidad in vitro de hongos asociados a antracnosis*. [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.espam.edu.ec/xmlui/handle/42000/1318>
- Castell, C., Schlatter, D., & Samac, D. (2021). Efficiency and profitability of fungicides in controlling *Bipolaris* diseases and enhancing grain yield in cultivated wild rice (*Zizania palustris*). *Crop Protection*, 141, 105455. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105455>
- Cipollone, M. (2016). *Manchado del grano de trigo candeal: incidencia, micoflora y estudios bioquímicos en material del SE de la Pcia de Bs. As.* [Tesis de Pregrado, Universidad de la Plata]. Repositorio Institucional. <http://meran.fcv.unlp.edu.ar/meran/opac-detail.pl?id1=8676>
- Couture, L., & Sutton, J. (1978). Relation of weather variables and host factors to incidence of airborne spores of *Bipolaris sorokiniana*. *Canadian Journal of Botany*, 56(17), 2162–2170. <https://doi.org/10.1139/b78-258>
- Da Silva, W., Moreira, V., Gaviria, V., Gonçalves, V., De Barros, D. & De Farias, C. (2022). Morphogenetic variability, cultural characteristics, aggressiveness, and transmission of *Bipolaris oryzae* isolates in Rio Grande do sul. *Brazilian Journal of Development*, 8(9), 60886–60906. <https://doi.org/10.34117/bjdv8n9-032>
- Domínguez, J. (2019). *Determinación de la sensibilidad a fungicidas de aislados de Bipolaris sorokiniana, agente causal de la Mancha Borrosa en cebada*. [Tesis de Postgrado, Universidad de Buenos Aires]. Repositorio Institucional. <http://ri.agro.uba.ar/greenstone3/library/collection/tesis/document/2019dominguezsanabriajorgeandres>
- Estación meteorológica de la ESPAM-MFL. (2010-2023). Ubicación geográfica proporcionada por el Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. 1/.
- García, A. (2022). *Evaluación de la eficiencia de nematicidas, sobre el control de poblaciones de Meloidogyne incognita en el cultivo de pitahaya amarilla (Selenicereus megalanthus), a nivel de invernadero en el cantón Joya de*

Los Sachas. [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Institucional.

- González, L., De Mello, R., Campos, C., & Da Silva, G. (2020). Desarrollo de la mancha foliar por *Bipolaris maydis* (teleomorfo: *Cochliobolus heterostrophus*) en maíz dulce, en función de nitrógeno, potasio y silicio en invernadero. *Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, 21(3), 1–15. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol21\\_num3\\_art:1508](https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1508)
- He, P. (2012). *Bipolaris cactivora* causing fruit rot of dragon fruit imported from Vietnam. *Plant Pathology & Quarantine Journal of Fungal Biology*, 2(1), 31–35. <https://doi.org/10.5943/ppq/2/1/5>
- Jiang, J., Yang, Y., Wang, L., Cao, S., Long, T., & Liu, R. (2022). Effects of chlorothalonil application on the Physio-Biochemical properties and microbial community of a Yellow–Brown loam soil. *Agriculture*, 12(5), 608. <https://doi.org/10.3390/agriculture12050608>
- Kekuda, T., Akarsh, S., Nawaz, A., Ranjitha, M., Darshini, S., & Vidya, P. (2016). In vitro Antifungal Activity of Some Plants Against *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(6), 331–337. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.506.037>
- Khan, J., Katiyar, S., Kanchan, C., Kumar, J., & Gupta, P. (2021). Comparative Evaluation of Different Fungicides and Bio-agents for Management of Spot Blotch of Barley Caused by *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. Ex Sorok). *Journal of Cereal Research*, 13(2). <https://doi.org/10.25174/2582-2675/2021/114191>
- Kongcharoen, N., Kaewsalong, N., & Dethoup, T. (2020). Efficacy of fungicides in controlling rice blast and dirty panicle diseases in Thailand. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73222-w>
- Leyva, S., Villaseñor, H., Tovar y García, E. (2019). Respuesta de genotipos de avena a la infección por *Bipolaris victoriae* y *Bipolaris sorokiniana*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(5), 1023-1034. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i5.179>
- Liu, R., Li, J., Zhang, L., Feng, T., Zhang, Z., & Zhang, B. (2021). Fungicide Difenconazole Induced Biochemical and Developmental Toxicity in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plants*, 10(11), 2304. <https://doi.org/10.3390/plants10112304>
- Magar, P., Baidya, S., Koju, R., & Adhikary, S. (2020). In-vitro evaluation of botanicals and fungicides against *Bipolaris sorokiniana*, causing spot blotch of wheat. *Journal of Agriculture and Natural Resources*, 3(2), 296–305. <https://doi.org/10.3126/janr.v3i2.32534>
- Martínez, M. (2019). *Identificación morfológica y molecular y sensibilidad a fungicidas in vitro del agente causal de la muerte descendente de Ficus benjamina L. en el oriente del Estado de Morelos*. [Tesis de grado,

Universidad Autónoma del Estado de Morelos]. Repositorio Institucional <http://www.riaa.uaem.mx/xmlui/bitstream/handle/20.500.12055/3158/MALMPR00T.pdf>

- Menéndez, R., & Cobeña, X. (2022). Factores críticos de la gestión de la gestión de la calidad de la pitahaya ecuatoriana de exportación. Estudio de caso Ecuador Divine-El Okaso S.A. *Revista Dominio de las Ciencias*, 8(3), 573-615. <https://doi.org/10.23857/dc.v8i3.2946>
- Moreira, A., & Murillo, D. (2022). *Análisis del sistema de producción de pitahaya roja (*hylocereus undatus*) en la provincia de Manabí*. [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López]. Repositorio Institucional. [https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1708/1/TIC\\_A02D.pdf](https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1708/1/TIC_A02D.pdf)
- Moura, N. (2020). *Doenças fúngicas da cultura da pitaiá*. [Dissertação, mestrado académico, Universidade Federal de Lavras]. Biblioteca Universitária da UFLA. <http://repositorio.ufla.br/handle/1/45572>
- Muñoz, N. (2018). *Estudio de factibilidad para la producción de pitahaya (*Hylocereus undatus*, Britt and Rose) de exportación, en la comuna Julio Moreno, Provincia de Santa Elena*. [Tesis de Grado, Universidad Estatal Península de Santa Elena]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/4489/1/UPSE-TAA-2018-0022.pdf>
- Noosheen, Z. (2014) *Developing chitosan based green fungicides to control pre- and postharvest anthracnose of dragon fruit*. [PhD thesis, University of Nottingham]. Nottingham eTheses. <https://eprints.nottingham.ac.uk/14357/>
- Oeurn, E. (2015). Fungi on dragon fruit in Loei province, Thailand and the ability of *Bipolaris cactivora* to cause post-harvest fruit rot. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*, 20(4), 405–418. <https://doi.org/10.14456/kkurj.2015.34>
- Peña, A. (2022). *Enfermedades que afectan al cultivo de pitahaya (*Selenicereus undatus*)*. [Tesis de Grado, Universidad Técnica de Babahoyo]. <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/11353/E-UTB-FACIAG-ING%20AGROP-000193.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Peña, A. (2024). *Enfermedades que afectan al cultivo de pitahaya (*Selenicereus undatus*)*. [Tesis de Pregrado, Universidad Técnica de Babahoyo]. Repositorio Institucional. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/11353>
- Qiu, F., Yang, J., Li, X., Xie, C., Li, J., & Zheng, F. (2021). First Report of *Bipolaris cactivora* Causing Flower Rot of Pitaya (*Hylocereus costaricensis*) in China. *Plant Disease*, 105(4), 1205. <https://doi.org/10.1094/pdis-09-20-2055-pdn>
- Rahim, A., Shakirah, H., Mohd, N., Mohamed, I., Leong, Y., y Mohd, M. (2022). *Lasiodiplodia theobromae* como patógena causal del tizón de cancro del tallo y pudrición de la vaina de *Theobroma cacao* en Malasia. *Natura*

- Portfolio*, 12(8966), 1–14. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.068>
- Retana, K., Blanco, M., & Castro, O. (2018). Etiología del cáncer del tallo provocado por *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz) en *Hylocereus costaricensis*, en Costa Rica. *Revista Agronomía Costarricense*, 43(1), 21-33.
- Rodrigues, P., Angelotti, P., Feksa, H., Seron, G., & Tessmann, D. (2023). DNA barcoding, aggressiveness of *Bipolaris sorokiniana* isolates, and pathogenicity of emerging *B. gossypina* in barley in subtropical southern Brazil. *Trop. plant pathol.* 49, 268–278. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2849203/v1>
- Salazar, C., Serna, L., & Gómez, E. (2016). Caracterización molecular de *Fusarium* asociado a pudrición basal del fruto en pitahaya (*Selenicereus megalanthus*). *Revista Agronomía Mesoamericana*, 27(2), 277-285.
- Samboní, C., y Ariza, F. (2018). *Disminución de pérdidas en producción de pitahaya amarilla (Selenicereus megalanthus (K. Schum. ex Vaupel) Moran) causadas por pudrición del pedúnculo de la fruta mediante fertilización balanceada en Palestina (Huila)*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD]. Repositorio Institucional UNAD. <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/17515>
- Santos R. (2019). *Enfermedades fungosas en frutos de Mango (Mangífera indica L.) en Post-Cosecha en Piura, 2017*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Piura]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.unp.edu.pe/handle/UNP/2156?locale-attribute=es>.
- Santos, J., Júnior, A., Vivas, M., Vivas, J., Kurosawa, R., & Da Silveira, S. (2016). Características culturais e patológicas de *Bipolaris maydis* em diferentes meios de cultura. *Revista Brasileira De Milho E Sorgo*, 15(3), 461. <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v15n3p461-469>
- Santoyo, C., Leyva, S., Camacho, M., Tovar, J., Huerta, J., Villaseñor, H., & García, E. (2018). Agresividad de aislados de *Bipolaris sorokiniana* y *Alternaria alternata* en variedades de trigo en México. *Revista Mexicana De Fitopatología* 36(3). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1803-3>
- Sartorato, A. (2006). Sensibilidade “in Vitro” de Isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a fungicidas. *Pesquisa Agropecuaria Tropical*, 36(3), 211–213. <https://www.redalyc.org/pdf/2530/253020206011.pdf>
- Scariot, F. J., Delamare, A. P. L., & Echeverrigaray, S. (2022). The effect of chlorothalonil on *Saccharomyces cerevisiae* under alcoholic fermentation. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 182, 105032. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.105032>
- Singh, K., Aggarwal, R., Sharma, S., Gurjar, M., Manjunatha, C., & Choudhary, M. (2021). Molecular and phenotypic analysis reveals cross infection of *Bipolaris* species in wheat and rice. *Indian Phytopathology*, 74(4), 929–938. <https://doi.org/10.1007/s42360-021-00405-4>

- Sinkovic, A., Strdin, A., & Svensek, F. (2008). Severe acute Copper sulphate poisoning: a case report. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 59(1), 31–35. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-59-2008-1847>
- Stolde, R. (2006). *Sensibilidade de Bipolaris sorokiniana e de drechslera tritici-repentis a fungicidas 'in vitro'*. [Dissertação, Universidade de Passo Fundo]. TEDE UPF. <http://tede.upf.br/jspui/handle/tede/1178>
- Suarez, C. (2013). *Comportamiento de quince cultivares de arroz biofortificado frente a las principales enfermedades presentes en la zona del cauca, El Oro*. [Tesis de Grado, Universidad de Guayaquil]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/5187>
- Taba, S., Miyahira, N., Nasu, K., Takushi, T., & Moromizato, Z. (2007). Fruit rot of Strawberry pear (pitaya) caused by *Bipolaris cactivora*. *Journal of General Plant Pathology*, 73(5), 374–376. <https://doi.org/10.1007/s10327-007-0032-x>
- Tarnowski, T., Palmateer, A., & Crane, J. (2010). First Report of Fruit Rot on *Hylocereus undatus* Caused by *Bipolaris cactivora* in South Florida. *Plant Disease*, 94(12), 1506. <https://doi.org/10.1094/pdis-06-10-0406>
- Tecno Agrícola. (s.f.). Productos Agrícolas convencionales. <https://www.buscador.portalteconoagricola.com/vademecum/mex/producto-tecnico/8393/AZOXYSTROBIN>
- Tiwari, P., Shukla, D., Singh, R., & Tiwari, R. (2022). Efficacy of Fungicides against *Bipolaris sorokiniana* under in vitro and in vivo Conditions. *International Journal of Environment and Climate Change*, 31–40. <https://doi.org/10.9734/ijecc/2022/v12i530672>
- Trujillo, D. (2014). *Microorganismos asociados a la pudrición blanda del tallo y manchado del fruto en el cultivo de pitahaya amarilla en Ecuador*. [Tesis de Pregrado, Universidad Central del Ecuador]. Repositorio Institucional. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/2494>
- Tuesta, D. (2023). Eficiencia *in vitro* de fungicidas con distinto modo de acción en el control de *Lasiodiplodia theobromae*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Piura]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12676/4480/AGRO-TUE-BER-2023.pdf>
- Vargas, Y., Pico, J., Díaz, A., Sotomayor, D., Burbano, A., Caicedo, C., Paredes, N., Congo, C., Tinoco, L., Bastidas, S., Chuquimarca, J., Macas, J., Viera, W. (2020). *Manual Técnico del cultivo de pitahaya. INIAP. Manual N° 117 x. Joya de los Sachas, Ecuador*, 39p. <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5551/1/INIAPMANUAL117-2020.pdf>
- VECOL. (s.f.) Propineb Vecol 70% WP. <https://www.vecol.com.co/producto/propineb/>
- Verma, B., Biswas, S., Pratap, G., Kumar, N., Kumar, S., & Singh, V. (2023).

- Inhibitory Effect of Nano-Fungicides and Fungicides on Radial Mycelial Growth of *Bipolaris sorokiniana* Causing Spot Blotch of Wheat under *in vitro* Condition. *International Journal of Plant & Soil Science*, 35(20), 1069–1075. <https://doi.org/10.9734/ijpss/2023/v35i203903>
- Verona, A., Urcia, J., & Paucar, L. (2020). Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Culture, physicochemical characteristics, nutritional composition, and bioactive compounds. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 439–453.
- Wang, C., & Lin, C. (2005). Fruit rot of pitaya and stem rot of cacti in Taiwan. *Zhíwù Bīnglǐxué Huikān*, 14(4), 269–274. <https://www.cabdirect.org/abstracts/20063123443.html>
- Wei, X., Xu, Z., Zhang, N., Yang, W., Liu, D., & Ma, L. (2021). Synergistic Action of Commercially Available Fungicides for Protecting Wheat from Common Root Rot Caused by *Bipolaris sorokiniana* in China. *Plant Disease*, 105(3), 667–674. <https://doi.org/10.1094/pdis-03-20-0627-re>
- Xiong, H., Liu, X., Xu, J., Zhang, X., Luan, S., & Huang, Q. (2020). Fungicidal Effect of Pyraclostrobin against *Botrytis cinerea* in Relation to Its Crystal Structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(39), 10975–10983. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04908>
- Yashwant, C., Rao, G., & Singh, S. (2017). Hosts of *Bipolaris sorokiniana*, the major pathogen of spot blotch of wheat in uttar pradesh. *Paripex Indian Journal of Research*, 6(3). <https://doi.org/10.36106/paripex>
- Yumbla, J. (2022). *Aislamiento, caracterización e identificación de hongos filamentosos asociados con síntomas de cáncer en plantaciones de pitahaya (Hylocereus spp)*. [Trabajo de Integración Curricular, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Institucional. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/17816/1/13T01037.pdf>
- Yumbo, Y. (2022). *Sensibilidad in vitro de Neoscytalidium spp. agente causal del cáncer de la pitahaya a fungicidas de diferentes modos de acción*. [Trabajo de Integración Curricular, Escuela Superior de Chimborazo]. Repositorio Institucional. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/16551/1/13T00983.pdf>
- Zhao, J., & Huang, M. (2023). Characterization and In Vitro Fungicide Sensitivity of Two *Fusarium* spp. Associated with Stem Rot of Dragon Fruit in Guizhou, China. *Journal of Fungi*, 9(12), 1178. <https://doi.org/10.3390/jof9121178>

## **ANEXOS**

**ANEXO 1. TOMA DE FRUTOS Y DATOS PARA DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA.**



**ANEXO 2. INCUBACIÓN DE AISLADOS DE *Biporis* Spp A FRUTOS DE PITAHAYA PARA VISUALIZACIÓN DE PAGOGENECIDAD Y AGRESIVIDAD.**



**ANEXO 2. ALMACENAMIENTO DE LOS FRUTOS CON LOS AISLADOS****ANEXO 3. LA PATOGENECIDAD DE LOS AISLADO *Bipolaris* ssp.**



**ANEXO 4. ENSAYO DE SENSIBILIDAD IN VITRO DE LOS AISLADOS DE *BIPOLARIS* SPP PROVENIENTES DE FRUTOS DE PITAHAYA ROJA**



**ANEXO 5. SENSIBILIDAD INVITRO: AISLADOS CULTIVADOS EN DISTINTAS DOSIS DE FUNGICIDA CON MEDIO DE CULTIVO PAPA DEXTROSA AGAR**

