

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN AGROECOLOGÍA Y AMBIENTE

TEMA:

Calidad sanitaria del material vegetal utilizado como semilla
y su relación con la productividad del cultivo de ajo (*Allium
sativum* L.)

Trabajo de Investigación, previo a la obtención del Grado Académico de
Magister en Agroecología y Ambiente

Autor: Ingeniero Raúl Fernando Jácome Espinosa

Director: Ingeniero Segundo Euclides Curay Quispe Mg

Ambato – Ecuador

2016

A la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias

El Tribunal receptor del Trabajo de Investigación presidido por Ingeniero Hernán Zurita Vásquez, Mg., e integrado por los señores Ingeniero Marco Pérez Salinas, Mg., Ingeniero Jorge Dobronski Arcos, Mg., Ingeniero Luciano Valle Velástegui, Mg., designados por la *Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias*, de la Universidad Técnica de Ambato, para receptor el Trabajo de Titulación con el tema: “CALIDAD SANITARIA DEL MATERIAL VEGETAL UTILIZADO COMO SEMILLA Y SU RELACIÓN CON LA PRODUCTIVIDAD DEL CULTIVO DE AJO (*Allium sativum* L.)”, elaborado y presentado por el señor Ingeniero Raúl Fernando Jácome Espinosa, para optar por el Grado Académico de Magister en Agroecología y Ambiente; una vez escuchada la defensa oral del Trabajo de Investigación el Tribunal aprueba y remite el trabajo para uso y custodia en las bibliotecas de la UTA.

Ing. Hernán Zurita Vásquez, Mg.

Presidente del Tribunal

Ing. Marco Pérez Salinas, Mg.

Miembro del Tribunal

Ing. Jorge Enrique Dobronski Arcos, Mg.

Miembro del Tribunal

Ing. Edgar Luciano Valle Velástegui, Mg.

Miembro del Tribunal

AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el Trabajo de Investigación presentado con el tema: “CALIDAD SANITARIA DEL MATERIAL VEGETAL UTILIZADO COMO SEMILLA Y SU RELACIÓN CON LA PRODUCTIVIDAD DEL CULTIVO DE AJO (*Allium sativum* L.)”, le corresponde exclusivamente a: Ingeniero Raúl Fernando Jácome Espinosa, Autor(a) bajo la Dirección de Ingeniero Segundo Euclides Curay Quispe, Mg., Director(a) del Trabajo de Investigación; y el patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.

Ingeniero Raúl Fernando Jácome Espinosa

c.c.0502441124

AUTOR(A)

Ingeniero Segundo Euclides Curay Quispe, Mg.

c.c. 1802942936

DIRECTOR(A)

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que el Trabajo de Investigación, sirva como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos de mi trabajo, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad.

Ingeniero Raúl Fernando Jácome Espinosa

c.c.0502441124

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación lo dedico a mi Dios quién supo guiarme y darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin desfallecer.

A mis padres por el apoyo incondicional en cada etapa de mi vida.

A mis hermanas, sobrinas (o), abuelitos, tíos, primos y todos los miembros de mi familia.

A mis amigos, y a todas aquellas personas que han estado a mi lado siempre apoyándome directa o indirectamente para la culminación del presente trabajo fruto de esfuerzos y sacrificios.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato y principalmente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, por la oportunidad de continuar con mis estudios. A todos y cada uno de los miembros, docentes y amigos quienes compartieron conocimientos y aportaron para culminar con éxito esta nueva etapa de mi vida ayudándome a ser una mejor persona.

Al Ing. Segundo Euclides Curay Quispe Mg., Director del trabajo de investigación, quien con sus consejos y entrega constante permitió desarrollar y llevar a un feliz término la presente investigación.

Agradezco la colaboración de Fundación Futuro, COCAP, al grupo Juventud Luchadora, a sus miembros y directivos quienes me apoyaron y permitieron realizar el presente trabajo de investigación, para de esta forma contribuir con el desarrollo del sector agrícola de esta región del país.

ÍNDICE GENERAL

Portada.....	i
Aprobación de la investigación.....	ii
Autoría de la investigación.....	iii
Derechos de autor.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
Índice general.....	vii
Índice de tablas.....	xi
Resumen ejecutivo.....	xii
Summary.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN.....	3
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.2.1. Contextualización.....	3
1.2.1.1. Contexto macro.....	3
1.2.1.2. Contexto meso.....	4
1.2.1.3. Contexto micro.....	4
1.2.2. Análisis crítico.....	5
1.2.2.1. Árbol de problemas.....	5
1.2.2.2. Relación causa-efecto.....	5
1.2.3. Prognosis.....	6
1.2.4. Formulación del problema.....	6
1.2.5. Preguntas directrices.....	6
1.2.6. Delimitación.....	7
1.3. Justificación.....	7
1.4. Objetivos.....	9
1.4.1. Objetivo general.....	9
1.4.2. Objetivos específicos.....	9

CAPÍTULO II.....	10
MARCO TEÓRICO.....	10
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	10
2.2. FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA.....	11
2.3. FUNDAMENTACIÓN LEGAL.....	11
2.4. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES.....	13
2.4.1. Marco conceptual variable independiente.....	13
2.4.2. Marco conceptual variable dependiente.....	14
2.5. HIPÓTESIS.....	16
2.6. SEÑALAMIENTO VARIABLES DE LA HIPÓTESIS.....	16
CAPÍTULO III.....	17
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	17
3.1. ENFOQUE.....	17
3.2. MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	17
3.2.1. Investigación de campo.....	17
3.2.2. Investigación bibliográfica-documental.....	18
3.2.3. Investigación experimental.....	18
3.3. NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	18
3.3.1. Investigación explicativa.....	18
3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	19
3.4.1. Diseño experimental.....	19
3.5 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	21
3.5.1. Operacionalización de la variable independiente.....	21
3.5.2 Operacionalización de la variable dependiente.....	22
3.6. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.....	23
3.6.1. Identificación de patógenos presentes en la semilla.....	23
3.6.2. Identificación de microorganismos existentes en el suelo.....	23
3.6.3. Identificación de microorganismos benéficos presentes en el caldo de cultivo de EMAs.....	24
3.6.4. Aplicación de microorganismos eficientes autónomos (EMAs).....	24
3.6.5. Porcentaje de ajo infectado por patógenos.....	24
3.6.6. Productividad del cultivo de ajo.....	25

3.6.7. Presencia de microorganismos en el suelo luego del cultivo.....	25
3.7. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS.....	26
3.7.1. Plan de procesamiento de la información.....	26
3.7.2. Plan de análisis e interpretación de resultados.....	26
CAPÍTULO IV	28
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	28
4.1. IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS PRESENTES EN LA SEMILLA Y SUELO UTILIZADOS PARA LA INVESTIGACIÓN.....	28
4.2. DESCRIPCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS FITOPATÓGENOS IDENTIFICADOS EN LAS MUESTRAS DE SEMILLA Y SUELO.....	29
4.2.1. <i>Aspergillus niger</i>	29
4.2.2. <i>Penicillium sp. (hirsutum; aurantiogriseum; expansum)</i>	29
4.2.3. <i>Fusarium sp. (oxysporum; roseum)</i>	30
4.2.4. <i>Cladosporium allí-cepae</i>	30
4.2.5. <i>Rhizopus microsporus</i>	30
4.2.6. <i>Rhizoctonia solani</i>	31
4.2.7. <i>Pythium sp.</i>	31
4.2.8. <i>Pyrenochaeta terrestris (Phoma terrestris)</i>	31
4.2.9. <i>Sclerotium cepivorum</i>	32
4.2.10. <i>Pseudomonas sp.</i>	32
4.3. IDENTIFICACIÓN DE NEMATODOS PRESENTES EN LAS MUESTRAS DE SEMILLA DE AJO Y SUELO PREVIO AL CULTIVO.....	32
4.4. IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS PRESENTES EN EL CALDO DE EMAs.....	34
4.5. PORCENTAJE DE PLANTAS DE AJO INFECTADAS POR PATÓGENOS Y RENDIMIENTO DEL CULTIVO EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS.....	35
4.6. PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN EL SUELO LUEGO DEL CULTIVO.....	38
4.7. Comprobación de la hipótesis.....	40

CAPÍTULO V.....	41
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	41
4.1. CONCLUSIONES.....	41
4.2. RECOMENDACIONES.....	43
CAPÍTULO VI.....	44
PROPUESTA.....	44
6.1. Datos Informativos.....	44
6.2. Antecedentes de la propuesta.....	44
6.3. Justificación.....	45
6.4. OBJETIVOS.....	46
6.4.1. Objetivo General.....	46
6.4.2. Objetivos Específicos.....	46
6.5. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD.....	46
6.6. FUNDAMENTACIÓN.....	47
6.7. METODOLOGÍA.....	47
6.7.1. Captura y propagación de microorganismos eficientes autóctonos (EMAs).....	47
6.7.1.1. Captura.....	48
6.7.1.2. Propagación.....	48
6.8. ADMINISTRACIÓN.....	49
6.11 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN.....	49
BIBLIOGRAFÍA.....	50
Anexos.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.	Esquema de los factores de estudio.....	19
TABLA 2.	Esquema ADEVA.....	20
TABLA 3.	Procedimiento de recolección de información.....	25
TABLA 4.	Análisis microbiológico de las muestras de semilla de ajo y suelo previo a la implantación del ensayo.....	27
TABLA 5.	Análisis de población de nematodos en las muestras de ajo desgranado, ajo en bulbo y suelo.....	33
TABLA 6.	Análisis microbiológico de la muestra del caldo de cultivo de microorganismos eficientes autóctonos (EMAs).....	34
TABLA 7.	Porcentaje de plantas infectadas y rendimiento del cultivo de ajo...36	
TABLA 8.	Comparación de testigos versus el resto de tratamientos en el porcentaje de infección y rendimiento del cultivo de ajo.....	37
TABLA 9.	Presencia de microorganismos en el suelo luego del cultivo.....	39

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN AGROECOLOGÍA Y AMBIENTE

Tema: “Calidad sanitaria del material vegetal utilizado como semilla y su relación con la productividad del cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)”

Autor: Ingeniero Raúl Fernando Jácome Espinosa

Director: Ingeniero Segundo Euclides Curay Quispe Magister

Fecha: 21 de noviembre del 2016

RESUMEN EJECUTIVO

El objetivo de esta investigación fue determinar la calidad sanitaria de la semilla de ajo (*Allium sativum* L.) que se utiliza para las siembras en la provincia de Tungurahua y su relación con la productividad del cultivo, para lo cual se realizaron análisis microbiológico de dos lotes de semilla identificándose: *Aspergillus niger*; *Penicillium aurantiogriseum*; *P. expansum*; *P. hirsutum*; *Fusarium roseum*; *Cladosporium allí-cepae*; *Rhizopus microsporus*; *Rhizoctonia solani*, cepas fitopatógenas que comprueban la hipótesis de una semilla con mala calidad fitosanitaria.

Otro aspecto que se analizó es la existencia de patógenos en el suelo de las comunidades que cultivan ajo, para esto también se realizaron análisis microbiológicos a una muestra de suelo en condiciones naturales (pajonal) de la zona en el que no se registró cepas patógenas; sin embargo en otra muestra de un suelo listo para el cultivo se registraron cepas de *Fusarium oxysporum*; *Phytium sp.*; *Pyrenochaeta terrestres*; *Sclerotium cepivorum*; *Pseudomonas cepacia*, las que presumimos se diseminaron de cultivos aledaños a través de la maquinaria agrícola, herramientas, agua de riego y el viento. En lo que se refiere a nematodos fitoparásitos se encontraron especies como *Meloidogyne sp.*; *Pratylenchus sp.*; *Tylenchus sp.*, tanto en suelo como semilla.

Como una alternativa para combatir los patógenos antes citados se evaluó la aplicación de un caldo de EMA (frecuencia de aplicación 0, 30, 60, 90 y 120 días) capturados y propagados en la misma zona de cultivo, (dosis de 10, 30 y 50cc EMA/Lt agua), en este caldo se identificaron cepas de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* hongos considerados como antagonistas de fitopatógenos. La efectividad de los EMA se comprobó al encontrar diferencias estadísticas significativas entre todos los tratamiento en relación a los testigos tanto en porcentaje de plantas infectadas como en el rendimiento de las parcelas, identificando a S1D1 y S2D2 con los mejores resultados mientras que TS1y TS2 son los que registran los menores rendimientos con alta incidencia de fitopatógenos.

Descriptor: fitopatógenos, fitoparásitos, EMAs, frecuencia, dosis, antagonistas, porcentaje de infección, productividad.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN AGROECOLOGÍA Y AMBIENTE

Topic: "Health quality of the plant material used as seed and its relation to the productivity of the garlic (*Allium sativum* L.) crop"

Autor: Ingeniero Raúl Fernando Jácome Espinosa

Director: Ingeniero Segundo Euclides Curay Quispe Magister

Fecha: 21 de noviembre del 2016

SUMMARY

The objective of this research was to determine the sanitary quality of the garlic (*Allium sativum* L.) seed that is used for sowing in the province of Tungurahua and its relation with the productivity of the crop, for which a microbiological analysis of two Seed lots identified: *Aspergillus niger*; *Penicillium aurantiogriseum*; *Penicillium expansum*; *Penicillium hirsutum*; *Fusarium roseum*; *Cladosporium theae-cepae*; *Rhizopus microsporus*; *Rhizoctonia solani*, phytopathogenic strains that test the hypothesis of a seed with poor phytosanitary quality.

Another aspect that is analyzed is the existence of pathogens in the soil of the communities that grow garlic. Microbiological analyzes were also carried out on a sample of soil in natural conditions (pajonal) of the area where no pathogenic strains were registered. However, in another sample of a ready-to-grow soil, strains of *Fusarium oxysporum* were recorded; *Phytium* sp.; *Pyrenochaeta* terrestrial; *Sclerotium cepivorum*; *Pseudomonas cepacia*, which we presumed were disseminated from neighboring crops through agricultural machinery, tools, irrigation water and wind. In terms of plant parasitic nematodes, species such as *Meloidogyne* sp.; *Pratylenchus* sp.; *Tylenchus* sp. both in soil and seed.

As an alternative to combat the aforementioned pathogens, the application of a broth of EMAs (application frequency 0, 30, 60, 90 and 120 days) captured and propagated in the same growing areas (doses of 10, 30 and 50 cc EMAs / Lt water), strains of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* fungi were identified as phytopathogen antagonists in this broth. The effectiveness of the EMA was verified by finding statistically significant differences between all treatments in relation to the controls in both percentage of infected plants and in the yield of the plots, identifying S1D1 and S2D2 with the best results while TS1 and TS2 are the Which show the lowest yields with high incidence of phytopathogens.

Descriptors: phytopathogens, phytopathies, EMAs, frequency, doses, antagonists, percentage of infection, productivity.

INTRODUCCIÓN

Según los resultados del tercer censo nacional agrícola (2000), la producción de ajo en el Ecuador se concentra en tres provincias principalmente, Chimborazo, Tungurahua y Azuay con un rendimiento promedio de 1,3 Tm/ha muy por debajo de los rendimientos en otros países latinoamericanos, por ejemplo el Perú registra un rendimiento promedio por hectárea de ajo cercano a 10 toneladas.

En la provincia de Tungurahua la zona alta de la parroquia Pilahuín es la principal productora de ajo con un rendimiento promedio de 1,2 Tm/ha. Según los agricultores que se dedican a la producción de este bulbo la semilla que se utiliza proviene del Perú, por lo que la gran diferencia citada anteriormente en la productividad del cultivo, presumimos se debe, a la contaminación con agentes fitopatógenos que sufren los bulbos utilizados para semilla durante el proceso de almacenamiento desde la importación del ajo fresco hasta que el agricultor lo utiliza como semilla. Este periodo de almacenamiento es de aproximadamente 120 días, en los que la yema terminal de cada diente deja su estado de dormancia vegetativa y emite un nuevo brote, el mismo que debe tener un desarrollo de entre el 50 y 70% del diámetro del diente. En esta etapa si el agricultor o comerciante no toma las medidas adecuadas de prevención para evitar la contaminación y proliferación de agentes patógenos se puede apreciar lotes de semilla con un deterioro de hasta el 50% de los bulbos.

Para la conservación de los lotes de semilla el agricultor de la zona emplea dos técnicas; la primera es conservar “desgranar el bulbo”, separando de esta manera los dientes de ajo que conforman la cabezuela y la segunda es mantener el bulbo integro como lo adquieren en el

mercado. Posteriormente y previo a la siembra los agricultores realizan la desinfección de la semilla empleando agroquímicos, sin embargo debido al poco conocimiento que tienen acerca del uso, dosis y mecanismos de acción de los agroquímicos esta actividad no produce los resultados esperados, provocando grandes pérdidas por la infestación del cultivo, contaminación de suelos sanos con patógenos, resistencia de los patógenos a los agroquímicos, problemas de salud de los agricultores y sus familias por la exposición constante e inadecuada a los agroquímicos, elevados costos de producción, degradación del ecosistema, todo esto incide finalmente en una baja productividad del cultivo y mala calidad de vida de las personas que en estos sectores basan su modo de vida en la producción de ajo ya que es el único vegetal que se ha adaptado a las condiciones agroclimáticas adversa de estas zonas.

En el presente trabajo se pretende evaluar las dos formas de almacenamiento del ajo que se utilizara para semilla y al mismo tiempo emplear microorganismos eficientes autóctonos (EMAs) como una alternativa de control de fitopatógenos en el cultivo, capacitando de esta manera a los agricultores en nuevas técnicas fitosanitarias más amigables con el medio ambiente, que no requieren de muchos recursos económicos y que finalmente contribuyan a mejorar el nivel de vida de las familias dedicadas a esta actividad agrícola.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN

“Calidad sanitaria del material vegetal utilizado como semilla y su relación con la productividad del cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)”

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1. Contextualización

1.2.1.1. Contexto macro

Según Aljaro, Monardes, Urbina, Martín, y Muños (2009), en su trabajo “Manual de cultivo del ajo (*Allium sativum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.)”, indica que el ajo a nivel mundial ha tomado gran importancia en su cultivo debido a sus propiedades como condimento y al mismo tiempo por sus propiedades medicinales que contribuyen a mejorar la salud de las personas que lo consumen habitualmente.

“La producción mundial de ajos y el comercio internacional han venido experimentando un sostenido aumento, como consecuencia del cambio de los hábitos de consumo hacia una alimentación más saludable y del reconocimiento de sus propiedades terapéuticas, como las de prevenir el cáncer, entre otras.

Los principales países productores son, en su mayoría, países asiáticos que son consumidores tradicionales: China, India, Corea y Tailandia. Éstos, junto a otros 12 países, entre los cuales se

encuentran España, EE.UU., Brasil, Argentina, Chile y Perú concentran el 90% de la superficie cultivada a nivel mundial.

El comercio internacional de ajos frescos es muy dinámico y en los últimos años muchos países exportadores han aumentado drásticamente su nivel de exportaciones. China y Argentina son los principales exportadores mundiales.”

1.2.1.2. Contexto meso

Tomando como referencia a Pinto, M. (2013), en su publicación “El Cultivo del Ajo y el Clima en el Ecuador”, podemos anotar que en el país las condiciones geográficas y climáticas favorables han contribuido para su cultivo exitoso.

“El tradicional cultivo del ajo (*Allium sativum* L.) en el Ecuador, esta favorecido pues el país posee características geográficas y climáticas adecuadas para su desarrollo, sembrándose en la Sierra, en especial en las provincias de Chimborazo, Tungurahua, Carchi, Cotopaxi, Azuay, Cañar y Loja, donde el clima, la altitud y el suelo es propicio. En el país, tiene un ciclo vegetativo entre la siembra y la cosecha de 4 a 6 meses.”

1.2.1.3. Contexto micro

Ecuador On Line (S/Año) indica que:

“La agricultura constituye la actividad de mayor relevancia en la economía de la provincia, pues concentra en esta actividad a un 40% de la población económicamente activa y además, cerca del 50% de las tierras se destinan a la actividad agropecuaria. La variedad de suelos permite que Tungurahua cuente con una producción agrícola

diversificada y abundante especialmente de tubérculos, raíces, hortalizas y frutas.

En tubérculos y raíces como haba, melloco, ocas y papas, la producción de la provincia se encuentra entre el 13 y 29% de la producción nacional. En hortalizas como ajo, cebolla en rama, cebolla paiteña y coliflor, la producción se sitúa entre el 20 y 48% de la producción total del país.”

1.2.2. Análisis crítico

1.2.2.1. Árbol de problemas

EFFECTOS	- Deficiente rentabilidad - Reducción en el rendimiento del cultivo - Infestación del suelo - Uso indiscriminado de agroquímicos
PROBLEMA	Baja calidad fitosanitaria de la semilla de ajo (<i>Allium sativum</i> L.)
CAUSAS	- Limitada información sobre los patógenos presentes en el material vegetal utilizado como semilla para el cultivo de ajo - Desconocimiento de hongos antagónicos que pueden ser utilizados para el control de enfermedades en el cultivo de ajo - Poco uso de métodos de control biológico para el control de patógenos

1.2.2.2. Relación causa-efecto

En la provincia de Tungurahua la semilla de ajo que se utiliza para la siembra es de muy mala calidad, esta llega infectada con un gran porcentaje de patógenos, los que al encontrarse con un medio ambiente favorable para su desarrollo en el campo, proliferan rápidamente ocasionando grandes pérdidas de áreas cultivadas, esto influye directamente en la reducción de su rendimiento.

1.2.3. Prognosis

El incremento de enfermedades fungosas en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) ocasiona la reducción progresiva del rendimiento, dejando de ser rentable para el agricultor que en su afán de combatir a los patógenos incrementa el uso de agro-tóxicos, los que a su vez causan contaminación del suelo, fuentes de agua y problemas en la salud de los agricultores. También los patógenos con cada ciclo de cultivo generan mayor resistencia a los agroquímicos por lo que los suelos infectados no se los puede volver a utilizar por un lapso de aproximadamente 12 años, esto hace que los agricultores amplíen cada vez más la frontera agrícola en busca de suelos sanos destruyendo flora y fauna endémica del páramo.

1.2.4. Formulación del problema

¿Es el uso de material vegetal de baja calidad sanitaria como semilla lo que genera la proliferación de agentes patógenos en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.), ocasiona la reducción de su rendimiento, durante el año 2015, en la comunidad La Esperanza, parroquia Pilahuín, cantón Ambato, provincia Tungurahua?

1.2.5. Preguntas directrices

- ¿Cuál es el nivel de infección de la semilla de ajo?
- ¿Es el uso de semilla infectada el principal limitante para el bajo rendimiento del ajo?
- ¿Es la presencia de agentes patógenos lo que el rendimiento del cultivo?
- ¿Cuál es el nivel de rentabilidad del cultivo de ajo?
- ¿Qué alternativas de controles fitosanitarios podrían utilizarse en el cultivo de ajo?

- ¿Cuál es la procedencia de la semilla de ajo utilizada por los agricultores?

1.2.6. Delimitación

- **Campo:** Agroecología y Ambiente
- **Área:** Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades (MIP)
- **Aspecto:** El uso de semilla sanas y de buena calidad reducirá la proliferación de agentes patógenos en el cultivo de ajo (*Allium sativum*) mejorando su productividad.
- **Temporal:** La infección de la semilla se viene presentando desde el año 2014, por lo que la investigación se realizará durante los años 2015 y 2016.
- **Espacial:** La presente investigación se llevará a cabo en la comunidad La Esperanza de la parroquia Pilahuín, cantón Ambato, provincia de Tungurahua, ubicada al sur – oeste de la ciudad de Ambato, en las coordenadas geográficas 1°22'10" Sur; 78°52' 45" Oeste, a 3899 m.s.n.m. de altura en las estribaciones del nevado Chimborazo y límites con la provincia de Bolívar.

1.3. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de ajo en la zona alta de la provincia de Tungurahua es de gran importancia debido a que se ha adaptado con gran éxito a las condiciones ambientales extremas de esta localidad, ya que, resiste bastante bien a las bajas temperaturas y prolongadas sequías reinantes en estas localidades. Es por estos motivos que los agricultores de sector mantienen al ajo como su principal cultivo, sin embargo, a lo largo del

tiempo se han presentado problemas fitosanitarios que limitan su producción.

Inicialmente las parcelas de ajo se encontraban situadas en la parte baja de la parroquia Pilahuín, pero la presencia de pudrición blanca (*Sclerotium sepivorum*) asociada a nematodos y la resistencia generada por estos patógenos fueron contaminando los suelos, esto condicionó a que la siembra del ajo se la realice por una sola ocasión, debido a que una segunda siembra se ve infectada por los patógenos antes mencionados los mismo que pueden ocasionar pérdidas de hasta el 100% del producto.

Para evitar la perdida de su inversión los agricultores cada vez buscan nuevos suelos donde sembrar ajo lo que ha ocasionado que se siga subiendo hacia el páramo andino, incrementado la frontera agrícola, y destruyendo flora y fauna endémica de estas localidades. Esto sin embargo no ha sido suficiente para luchar contra las enfermedades que atacan al cultivo, actualmente la productividad del cultivo ha disminuido drásticamente por pudriciones del bulbo, como mencionamos anteriormente la siembra se está realizando siempre en terrenos “nuevo” por lo que no hay la posibilidad de que los patógenos se encuentre en el suelo y actualmente se considera que los focos de infección son los lotes de semilla utilizados por su baja calidad fitosanitaria, es así que, la única forma de mejorar los rendimientos y la productividad se basan en una buena selección de semilla y desinfección de la misma, previo a la siembra.

Pero para lograr un control efectivo de las enfermedades es necesario primero identificar exactamente que patógeno infecta la semilla y el método de control efectivo y ambientalmente amigable para de esta manera sugerir un protocolo eficaz de desinfección de bulbos con el fin de mantener un cultivo sano que finalmente alcance los niveles de productividad óptimos y no contamine nuevos lotes de cultivo.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

- Determinar la calidad sanitaria del material vegetal utilizado como semilla y su relación con el rendimiento del cultivo de ajo (*Allium sativum* L.).

1.4.2. Objetivos específicos

- Identificar los agentes patógenos presentes en el material vegetal utilizado para semilla en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)
- Utilizar microorganismos benéficos como una alternativa de control fitosanitario para reducir el uso indiscriminado de agroquímicos.
- Identificar los microorganismos benéficos presentes en los caldos a utilizarse como alternativa de control fitosanitario en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)
- Sugerir un método de control microbiológico como parte de un plan de manejo integrado para el control de agentes patógenos en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Torres, E. (2012), en su tesis “Metodología para la propagación masiva de semilla de ajo (*Allium sativum* L.) libre de enfermedades, mediante cultivo de tejidos” menciona que:

“La semilla de ajo, representada por el mismo bulbo, constituye un reservorio de diferentes especies de microorganismos que actúan en forma saprófita y/o parásita, causando daños en las diferentes fases de desarrollo del cultivo, en postcosecha y a nuevas siembras; situación que ha afectado la producción del país por reducción de la superficie sembrada y caída de los rendimientos al introducir semilla de baja calidad fitosanitaria, que trae consigo contaminación de los suelos potencialmente productivos.

Dentro de las principales enfermedades que afectan este cultivo se señalan la podredumbre blanca causada por el hongo *Sclerotium cepivorum* y la hinchazón de los bulbos provocada por el nematodo *Dytilenchus dipsaci*, ambos presentes de forma persistente en gran parte de las unidades de producción, causando los mayores niveles de pérdida de cosechas, en ausencia de un adecuado control de plagas y enfermedades” (Román y Núñez, 2008).

2.2. FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA

La presente investigación se fundamenta en el paradigma positivista, porque el enfoque de la investigación es cuantitativo – cualitativo, con un predominio del enfoque cuantitativo, ya que se basa en el uso de técnicas estadísticas con las que pretendemos validar la eficiencia de los tratamientos planteados como alternativas de control microbiológico en la producción de ajo.

En la presente investigación, este paradigma guiará la relación a establecerse entre el incremento de patógenos en el cultivo de ajo por el uso de semilla de baja calidad fitosanitaria y la reducción de su productividad

2.3. FUNDAMENTACIÓN LEGAL

Esta investigación se fundamenta en los planes y programas establecidos en la república del Ecuador, con el fin de contribuir en la búsqueda del “Buen Vivir” (Sumak Kawsay), estableciendo de esta manera nuevas alternativas de control fitosanitario respetando a la naturaleza y contribuyendo al cambio de la matriz productiva del país mediante la aplicación de técnicas innovadoras para la solución de problemas en el agro ecuatoriano, teniendo como referencia el siguiente marco legal vigente en el país:

En codificación de la Ley de semillas 2014 – 012 dice: **Art. 1.-** Se regirán por las disposiciones de la presente Ley y sus reglamentos, todas las actividades concernientes a la certificación de semillas, en lo referente a investigación, registro, producción, procesamiento, distribución y comercialización.

Art. 2.- A efectos de la presente Ley, se considera como "semilla", todo grano, bulbo, tubérculo y en general toda estructura botánica, destinada a la reproducción sexual o asexual de una especie vegetal.

Art. 11.- Toda semilla que se introduzca al país, para fines de multiplicación y/o comercialización, deberá reunir los requisitos de la presente Ley, así como también los de la Ley de Sanidad Vegetal y sus reglamentos.

En la LORSA, Registro oficial el lunes 27 de Diciembre del 2010. En el Capítulo II, Protección de la Agro biodiversidad, Capítulo III. Investigación, Asistencia Técnica y Diálogos de Saberes, Título IV Consumo y Nutrición.

Artículo 7. Protección de la agrobiodiversidad.- El Estado así como las personas y las colectividades protegerán, conservarán los ecosistemas y promoverán la recuperación, uso, conservación y desarrollo de la agrobiodiversidad y de los saberes ancestrales vinculados a ella. Las leyes que regulen el desarrollo agropecuario y la agrobiodiversidad crearán las medidas legales e institucionales necesarias para asegurar la agrobiodiversidad, mediante la asociatividad de cultivos, la investigación y sostenimiento de especies, la creación de bancos de semillas y plantas y otras medidas similares así como el apoyo mediante incentivos financieros a quienes promuevan y protejan la agrobiodiversidad.

Artículo 9. Investigación y extensión para la soberanía alimentaria.-

El Estado asegurará y desarrollará la investigación científica y tecnológica en materia agroalimentaria, que tendrá por objeto mejorar la calidad nutricional de los alimentos, la productividad, la sanidad alimentaria, así como proteger y enriquecer la agrobiodiversidad.

Además, asegurará la investigación aplicada y participativa y la creación de un sistema de extensión, que transferirá la tecnología generada en la investigación, a fin de proporcionar una asistencia técnica, sustentada en un diálogo e intercambio de saberes con los pequeños y medianos productores, valorando el conocimiento de mujeres y hombres. Cumbre

de la ley, registro oficial, fecha de promulgación, sección con título, capítulo, artículo, literales, numerales.

El Estado velará por el respeto al derecho de las comunidades, pueblos y nacionalidades de conservar y promover sus prácticas de manejo de biodiversidad y su entorno natural, garantizando las condiciones necesarias para que puedan mantener, proteger y desarrollar sus conocimientos colectivos, ciencias, tecnologías, saberes ancestrales y recursos genéticos que contienen la diversidad biológica y la agrobiodiversidad.

Se prohíbe cualquier forma de apropiación del conocimiento colectivo y saberes ancestrales asociados a la biodiversidad nacional.

Artículo 27. Incentivo al consumo de alimentos nutritivos.- Con el fin de disminuir y erradicar la desnutrición y malnutrición, el Estado incentivará el consumo de alimentos nutritivos preferentemente de origen agroecológico y orgánico, mediante el apoyo a su comercialización, la realización de programas de promoción y educación nutricional para el consumo sano, la identificación y el etiquetado de los contenidos nutricionales de los alimentos, y la coordinación de las políticas públicas.

2.4. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

2.4.1. Marco conceptual variable independiente

- Calidad sanitaria del material vegetal utilizado como semilla.

Según Ávila, G. (2007), en su trabajo “Factores de manejo del cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) que determinan la calidad del producto a la cosecha”, indica que para alcanzar una alta productividad del cultivo de ajo en Argentina se ha trabajado mucho para generar semilla de calidad libre de plagas y enfermedades.

“Si se pretende alcanzar los mejores resultados, ya no se puede hablar de producir ajos “rosados”, “blancos” o “colorados”, empleando semilla de mala calidad y de origen poco conocido.

Es preciso hablar de cultivares de ajo cuidadosamente elegidas, en función de las características del ambiente en que serán cultivadas y del mercado hacia el cual serán dirigidas, con la certeza de la pureza y el conocimiento de su origen (14).

La homogeneidad en el calibrado de los bulbos semilla, aumentará la eficiencia de la clasificación de dientes antes de la plantación y esto contribuirá con una mayor uniformidad a la cosecha.

Las condiciones mínimas de calidad de una buena semilla son: que provenga de bulbos medianos a grandes, sin deformaciones, que esté exenta de nematodos, no presente malformaciones ni podredumbres causadas por el “moho verde”(*Penicillium* sp.) ni “podredumbre blanca” (*Sclerotium cepivorum*) y que posea un IVD (Índice Visual de superación de la Dormición) del 75 %”

2.4.2. Marco conceptual variable dependiente

- Rendimiento del cultivo de ajo.

De acuerdo a Ávila, G. (2007), en su trabajo “Factores de manejo del cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) la productividad del cultivo de ajos”, se basa en dos aspectos: la baja calidad del material de propagación y la limitada inserción de las investigaciones y transferencia de las mismas en lo que se refiere a mejoramiento y manejo del cultivo.

“Para obtener rendimientos elevados de productos de alta calidad, todos los factores (climatológicos o no), deben encontrarse en su nivel óptimo. Cualquier factor que

afecte a la planta de manera invariable, influye en la calidad del producto que se coseche. Sin embargo, existe la necesidad de analizar cada factor en forma independiente para establecer su nivel óptimo y después realizar las correlaciones correspondientes.

Esto quiere decir que si un determinado factor es manejado en forma óptima, no necesariamente el cultivo va a producir un alto rendimiento en cantidad y calidad. Esto es debido a la compleja interrelación que se da entre todos los factores que influyen en la calidad final del producto y que determinan que producir adecuadamente un cultivo como el ajo, sea aún hoy, con todos los elementos tecnológicos que se disponen, realmente un verdadero desafío para nuestros productores.

Lo cierto es que se presenta una gama de rangos de variación entre los diferentes niveles de factores climatológicos y de cultivo. Por lo tanto, es difícil determinar con precisión el nivel óptimo para la mayoría de los elementos que afectan al rendimiento y la calidad del cultivo. Sin embargo podemos llegar a realizar una priorización de factores que inciden en la caída de los rendimientos cualitativos (calidad exportable):

Baja calidad del material de propagación: Esto se evidencia tanto desde el punto de vista genético como sanitario; y limitada inserción de las investigaciones y transferencia de las mismas en lo que se refiere a mejoramiento y manejo del cultivo.”

2.5. HIPÓTESIS

La aplicación de EMAs en el material vegetal de baja calidad sanitaria utilizado como semilla, mejora la productividad del cultivo de ajo (*Allium sativum* L.).

2.6. SEÑALAMIENTO VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

- **Variable independiente:** Calidad sanitaria del material vegetal utilizado como semilla
- **Variable dependiente:** productividad del cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)
- **Unidad de observación:** Ajo

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. ENFOQUE

La presente investigación es predominantemente cuantitativa, porque busca relacionar la calidad sanitaria del material vegetal utilizado como semilla con la disminución del rendimiento en el cultivo de ajo, mediante el uso de un modelo estadístico.

3.2. MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN

3.2.1. Investigación de campo

La investigación que se realiza en el lugar de los hechos *“in situ”*, utilizando fuentes primarias de información. Esto permite al investigador contar con información directamente de la fuente objeto de la investigación, logrando desarrollar un conocimiento más a fondo de las variables objeto de nuestro estudio.

La investigación de campo se basa en la recolección sistemática de datos los que posteriormente fueron sometidos a procesos estadísticos de interpretación y según los resultados obtenidos tenemos la capacidad de generar nuevos conocimientos que contribuyen a la solución del problema planteado en la investigación.

3.2.2. Investigación bibliográfica-documental

Es la investigación que se realiza en depositarios de información, utilizando fuentes secundarias de información. Nos permite obtener resultados de investigaciones previas sobre el tema de nuestro estudio, para de esta manera realizar análisis comparativos coherentes a fin de establecer hipótesis, redescubrir hechos y presentar posibles soluciones a al problema objeto del estudio.

3.2.3 Investigación experimental

Es experimental, ya que el investigador está en capacidad de manipular intencionalmente factores de la variable independiente (calidad sanitaria del material vegetal usado como semilla) en condiciones rigurosamente controladas, con el objetivo de observar lo que sucede con la variable dependiente (productividad del cultivo de ajo) y explicar los resultados positivos o negativos en esta variable.

3.3. NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN

3.3.1. Investigación explicativa

La investigación explicativa permite establecer una relación causal, con el fin de encontrar las causas del problema a través de diseños experimentales que permiten manipular la variable independiente para medir su efecto sobre la variable dependiente.

Para el presente trabajo el nivel de investigación explicativa, es el que permite comprobar si existe relación entre la calidad sanitaria del material vegetal utilizado como semilla y la reducción en la productividad del cultivo de ajo mediante la aplicación de un diseño experimental.

3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.4.1. Diseño experimental

Se aplicó el diseño experimental de bloques completos al azar, con arreglo factorial $2 \times 3 + 2$, con tres repeticiones. Para las diferencias estadísticas entre los tratamientos se aplicó la prueba de Tukey al 5% para determinar cuál fue el mejor.

Los factores de estudio en los diferentes tratamientos son los siguientes:

TABLA 1. Esquema de los factores de estudio.

Tratamientos	
S) Semillas	
S1	Lote de semilla 1 (Dientes del bulbo)
S2	Lote de semilla 2 (Bulbo completo)
D) Dosis EMA	
D1	10 cc/lt agua
D2	30 cc/lt agua
D3	50 cc/lt agua
TS1	Testigo (Dientes del bulbo)
TS2	Testigo (Bulbo completo)

Fuente: Investigación de campo

Elaborador por: Raúl Jácome (2015)

TABLA 2. Esquema ADEVA.

F de V	G.L.
Repeticiones	2
Tratamientos	7
Tipos de semilla (S)	1
Dosis de EMAs (D)	2
S * D	2
T1 vs Resto	1
T2 vs Resto	1
Error Experimental	14
TOTAL	23

Fuente: Investigación de campo

Elaborador por: Raúl Jácome (2015)

3.5. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

3.5.1. Operacionalización de la variable independiente

VARIABLE INDEPENDIENTE: Calidad sanitaria del material vegetal utilizado como semilla				
CONCEPTUALIZACIÓN	CATEGORIAS	INDICADORES	ITEMS BÁSICOS	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN
Material vegetal utilizado como “semilla”, contaminada de patógenos que al encontrar condiciones adecuadas para su desarrollo infectan rápidamente al cultivo.	Agentes patógenos presentes en la semilla	Especies fungosas	¿Existen cepas de hongos fitopatógenos?	Identificación y Caracterización de los patógenos (análisis de laboratorio)
		Especies bacterianas	¿Existen colonias de bacterias patógenas?	
		Especies entomológicas	¿Existen especies entomológicas patógenas?	
	Carga microbiológica	Especies fungosas	¿Existe una alta carga microbiológica de los diferentes agentes patógenos en la semilla de ajo?	UFC/g semilla (análisis de laboratorio)
		Especies bacterianas		
		Especies entomológicas		

3.5.2. Operacionalización de la variable dependiente

VARIABLE INDEPENDIENTE: Reducción de la productividad				
CONCEPTUALIZACIÓN	CATEGORIAS	INDICADORES	ITEMS BÁSICOS	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN
Cantidad de producto cosechado expresado en kg/ha como consecuencia de la aplicación de diferentes dosis de EMAs.	EMAs	Dosis 1 (10cc/lit)	¿Aumentó o disminuyó la incidencia de problemas fitosanitarios en el cultivo?	Observación % de plantas infectadas a los 45, 90, 180 días después de la siembra
		Dosis 2 (30cc/lit)		
		Dosis 3 (50cc/lit)		
	Agentes patógenos presentes en el suelo	Especies fungosas	¿Existe diferencia entre los resultados de la muestra inicial y final?	UFC/g suelo (análisis de laboratorio)
		Especies bacterianas		
		Especies entomológicas		
	Kg de ajo cosechados	La producción promedio al 2014 es de 1Tm /ha	¿Antes de 2015 la productividad era mayor o menor?	Rendimiento Kg/parcela.

3.6. RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Durante el desarrollo del trabajo de investigación se recolectaron los datos necesarios para validar la hipótesis planteada, basándonos en las categorías de la operacionalización de las variables.

3.6.1. Identificación de patógenos presentes en la semilla

Una vez que contamos con la semilla de ajo (adquirida en el mercado mayorista de la ciudad de Ambato) lista para la siembra, se recolectó una muestra de cada lote (1kg), esta se envió al laboratorio (Plantsphere Laboratories) para realizar un análisis microbiológico e identificar la presencia y población de microorganismos fitopatógenos que podrían afectar al cultivo durante su ciclo de vida. Una vez identificadas las colonias de patógenos realizamos la caracterización de estos basándonos en la descripción propuesta en la Fitopatología de Agrios (1995).

En el presente trabajo se utilizaron dos fuentes de semilla, la primera fue almacenada desgranado el bulbo (dientes de ajo) y la segunda se almacenó el bulbo entero como se lo consigue en el mercado, con el objetivo de verificar si existen diferencias en el grado de infestación que presenta la semilla antes de la siembra.

3.6.2. Identificación de microorganismos existentes en el suelo

Previo a la siembra del cultivo se recolectó una muestra de suelo (1kg), la que se envió al laboratorio (Plantsphere Laboratories) para realizar el respectivo análisis microbiológico e identificar los microorganismos presentes en el suelo ya sean estos fitopatógenos o no.

3.6.3. Identificación de microorganismos benéficos presentes en el caldo de cultivo de EMA

Recolectamos una muestra de 500cc del caldo de cultivo de EMA (metodología de preparación pág. 47) el mismo que fue enviado al laboratorio (Plantsphere Laboratories), identificando de esta manera los diferentes microorganismos presentes en la solución mediante un análisis microbiológico, esto nos ayuda a establecer que microorganismos actúan como antagonistas de los patógenos que atacan al cultivo de ajo durante su ciclo de vida en el campo.

3.6.4. Aplicación de microorganismos eficientes autóctonos (EMA).

Con el fin de mejorar la calidad fitosanitaria de la semilla utilizada para la siembra del ajo se realizaron inoculaciones de microorganismos eficientes autóctonos (EMA). Las inoculaciones fueron hechas a la semilla 24 horas antes de la siembra (día 0) y posteriormente al cultivo a los 30, 60, 90 y 120 días contados a partir de la siembra.

Los EMA se aplicaron en tres dosis 10cc, 30cc y 50cc de solución por litro de agua, para la aplicación se utilizó una bomba fumigadora estacionaria.

3.6.5. Porcentaje de ajo infectado por patógenos

Se realizó muestreos del porcentaje de plantas infectadas por patógenos en cada parcela a los 45, 90 y 180 días después de la siembra, para determinar si existieron diferencias entre los tratamientos planteados. La fórmula utilizada para determinar el porcentaje de infección es: (número de plantas infectadas / número de plantas sanas) * 100

3.6.6. Productividad del cultivo de ajo

Al momento de la cosecha se registró el peso del ajo recolectado (sin clasificar) estableciendo de esta manera el rendimiento del cultivo (kg/parcela 15m²) en cada tratamiento.

3.6.7. Presencia de microorganismos en el suelo luego del cultivo.

Luego de que se cosecho el ajo nuevamente se recolectaron muestras de suelo (1kg) por cada parcela, estas se sometieron a un nuevo análisis microbiológico con el fin de verificar si existen diferencias en las colonias de microorganismos en relación con el análisis realizado previo a la implantación del ensayo.

TABLA 3. Procedimiento de recolección de información

TÉCNICAS	PROCEDIMIENTO
Observación	Observación directa de la incidencia de los tratamientos aplicados al cultivo en estudio Formula: (número de plantas infectadas / número de plantas sanas) * 100
	Laboratorio y campo
	Durante todo el proceso de investigación en laboratorio y campo

Fuente: Investigación de campo

Elaborador por: Raúl Jácome (2015)

3.7. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS

3.7.1. Plan de procesamiento de información

- **Revisión crítica de la información recogida.** Es decir limpieza de información defectuosa: contradictoria, incompleta, no pertinente.
- **Tabulación o cuadros según variables de cada hipótesis: manejo de información, estudio estadístico de datos para presentación de resultados.**

Los datos recolectados durante el proceso de investigación, se la realizó, mediante la utilización del programa estadístico Info Stat (versión libre descargado el 10 de mayo del 2014), de acuerdo al diseño experimental planteado.

3.7.2. Plan de análisis e interpretación de resultados

- **Análisis de los resultados estadísticos.** Destacando tendencias o relaciones fundamentales de acuerdo con los objetivos e hipótesis (lectura de datos).
- **Interpretación de los resultados.** Con apoyo del marco teórico, en el aspecto pertinente, se realiza la respectiva interpretación de los resultados obtenidos durante el proceso de investigación.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS PRESENTES EN LA SEMILLA Y SUELO UTILIZADOS PARA LA INVESTIGACIÓN

TABLA 4. Análisis microbiológico de las muestras de semilla de ajo y suelo previo a la implantación del ensayo

MICROORGANISMOS	Log ufc g ⁻¹			
	Desgranado (S1)	Bulbo (S2)	Suelo para cultivo de ajo	Suelo con pajonal
<i>Aspergillus niger</i>	0,90225513	0,2354554	-	-
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	2,09332546	1,3245552	-	-
<i>Penicillium expansum</i>	1,08025855	0,2125545	-	-
<i>Penicillium oxalicum</i>	2,0432541	0,5689452	-	-
<i>Penicillium hirsutum</i>	1,2232122	0,2235654	-	-
<i>Fusarium roseum</i>	1,8506655	0,6528545	-	-
<i>Cladosporium allí-cepae</i>	0,6695778	0	-	-
<i>Rhizopus microsporus</i>	1,2354648	0,3326654	-	-
<i>Rhizoctonia solani</i>	0,5222544	1,2688846	-	-
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	2,225545	0,2635853	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	-	-	1,1224536	-
<i>Phytium sp.</i>	-	-	0,9950452	-
<i>Pyrenochaeta terrestres</i>	-	-	1,4032687	-
<i>Sclerotium cepivorum</i>	-	-	1,3224573	-
<i>Pseudomonas cepacia</i>	-	-	0,5206624	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	-	1,2254664	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	1,0106998	0,9955611

La Tabla 4 muestra el resultado del análisis microbiológico de la semilla de ajo que se utilizó en el establecimiento del cultivo, identificando varias cepas fitopatógenas (*Aspergillus niger*; *Penicillium aurantiogriseum*; *Penicillium expansum*; *Penicillium hirsutum*; *Fusarium roseum*; *Cladosporium allí-cepae*; *Rhizopus microsporus*; *Rhizoctonia solani*), las mismas que son responsables de grandes pérdidas en la producción de ajo.

En los resultados del análisis podemos apreciar que al almacenar el ajo durante el tiempo que tarda en romper su estado de dormancia desgranado (4 meses aproximadamente), este presenta un mayor número de UFC de microorganismos, que si se lo almacena en bulbo, desgranándolo únicamente cuando está listo para ser sembrado. El incremento de los microorganismos se debe a que al realizar la labor de desgrane del ajo el agricultor disemina las esporas o micelios que se encuentran en bulbos infectados a todo el lote, además durante esta actividad los dientes de ajo sufren daños mecánicos (heridas) que facilitan el desarrollo de los fitopatógenos pudiendo llegar a destruir por completo el lote de semilla.

También se realizó el análisis microbiológico al suelo en el que se implantó el cultivo de ajo, la muestra fue tomada del lote una vez que se realizaron las labores pre-culturales respectivas (arado y rastra), en dicho espacio no se había realizado cultivos anteriores de ajo sin embargo junto al lote ya existían siembras de este vegetal en diferentes etapas fenológicas de desarrollo. Esto explicaría la razón de que se identificaron cinco cepas de organismos fitopatógenos (*Fusarium oxysporum*; *Phytium sp.*; *Pyrenochaeta terrestres*; *Sclerotium cepivorum*; *Pseudomonas cepacia*), las mismas que pueden diseminarse en lotes cercanos a través del agua de riego, viento, herramientas y residuos de cosechas.

Junto a la muestra de suelo preparado para la siembra de ajo se envió otra muestra de suelo tomada de un área aledaña que aún se mantenía como pajonal, dicha muestra también fue sometida al análisis microbiológico y en esta no se encontraron rastros de cepas de hongos fitopatógenos, con este resultado podemos afirmar que en condiciones naturales el suelo en este sector no presenta contaminación con fitopatógenos.

En las muestras de suelo encontramos cepas nativas de *Bacillus subtilis* el mismo que es un hongo antagónico citado por varios autores, en varios trabajos para el control biológico de fitopatógenos.

4.2. DESCRIPCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS FITOPATÓGENOS IDENTIFICADOS EN LAS MUESTRAS DE SEMILLA Y SUELO

4.2.1. *Aspergillus niger*

Hongos superiores imperfectos de la división: Eumycota, subdivisión: Deuteromycotina, clase: Hyphomycetes, orden: Hyphales (Moniliales), género: *Aspergillus*, que carecen de reproducción sexual, forman esporas asexuales sobre o en el interior de las hifas del hongo, (Agrios, 2005; Agrios, 1995), ocasiona pudrición en los bulbos almacenados en ataques severos se observan micelios blancos que posteriormente se tornan negros por lo que se conoce a esta enfermedad como moho negro.

4.2.2. *Penicillium* sp. (*hirsutum*; *aurantiogriseum*; *expansum*)

Son hongos superiores imperfectos de la división: Eumycota, subdivisión: Deuteromycotina, clase: Hyphomycetes, orden: Hyphales (Moniliales), género: *Penicillium*, que carecen de reproducción sexual, forman esporas asexuales sobre o en el interior de las hifas del hongo, ocasionando marchites de la planta y pudrición del bulbo (Agrios, 2005; Agrios, 1995),

este género de hongos es el causante de una de la enfermedad conocida como moho azul responsable de grandes pérdidas en los cultivos de la zona de estudio.

4.2.3. *Fusarium sp. (oxysporum; roseum)*

Hongos superiores imperfectos de la división: Eumycota, subdivisión: Deuteromycotina, clase: Hyphomycetes, orden: Hyphales (Moniliales), género: *Fusarium*, carecen de reproducción sexual, formas esporas asexuales sobre o en el interior de las hifas del hongo, ocasionando marchites de la planta y pudrición del bulbo (Agrios, 2005; Agrios, 1995). Se lo identifica por formar pústulas de color castaño rojizo al inicio de la infección si esta continúa produce una pudrición seca de color pardo.

4.2.4. *Cladosporium allí-cepae*

Hongos superiores imperfectos de la división: Eumycota, subdivisión: Deuteromycotina, clase: Hyphomycetes, orden: Hyphales (Moniliales), género: *Fulvia* (*Cladosporium*), carecen de reproducción sexual, formas esporas asexuales sobre o en el interior de las hifas del hongo, produciendo moho foliar (Agrios, 2005; Agrios, 1995).

4.2.5. *Rhizopus microsporus*

Hongos inferiores que pertenecen a la división: Eumycota, subdivisión: Zygomycotina, clase: Zygomycetes, orden: Mucorales, género: *Rhizopus*, no forman zooporas, producen esporas asexuales no móviles que se forman en esporangios terminales, provocan pudriciones blandas (Agrios, 2005; Agrios, 1995).

4.2.6. *Rhizoctonia solani*

Hongos superiores imperfectos de la división: Eumycota, subdivisión: Deuteromycotina, clase: Agonomycetes (Mycelia Sterilia), orden: Agonomycetales, género: Rhizoctonia, es muy poco frecuente la formación de esporas asexuales o sexuales, su etapa sexual o perfecta corresponde a Thanatephorus, provocando la pudrición de las raíces y corona de las plantas (Agrios, 2005; Agrios, 1995).

4.2.7. *Pythium sp.*

Hongos inferiores de la división: Eumycota, subdivisión: Mastigomycotina, clase: Oomycetes, orden: Peronosporales, familia: Pythiaceae, género: Pythium, producen zoosporas y zoosporangios en las puntas de las hifas, presentan esporas sexuales en reposo llamadas oosporas formadas por la fusión de gametos morfológicamente distintos, causan pudriciones blandas en los bulbos de ajo (Agrios, 2005; Agrios, 1995).

4.2.8. *Pyrenochaeta terrestris (Phoma terrestris)*

Hongos superiores imperfectos de la división: Eumycota, subdivisión: Deuteromycotina, clase: Coelomycetes, orden: Sphaeropsidales, género: Pyrenochaeta (Phoma), carecen de reproducción sexual, forman esporas asexuales sobre o en el interior de las hifas del hongo, ocasionando pudrición del sistema radicular de la planta (Agrios, 2005; Agrios, 1995). Se presenta inicialmente con un color rosa tenue que se intensificará hasta rojo conforme avanza la infección.

4.2.9. *Sclerotium cepivorum*

Hongos superiores imperfectos de la división: Eumycota, subdivisión: Deuteromycotina, clase: Agonomycetes (Mycelia Sterilia), orden: Agonomycetales, género: Sclerotium, es muy poco frecuente la formación de esporas asexuales o sexuales, su reproducción se realiza mediante esclerocios que pueden permanecer en estado de dormancia por varios años hasta que se presenten las condiciones favorables para su desarrollo (Agrios, 2005; Agrios, 1995), estos hongos producen la enfermedad conocida como pudrición blanca que afecta al bulbo del ajo generando pérdidas importantes en la productividad del cultivo.

4.2.10. *Pseudomonas sp*

Bacterias pertenecientes al reino: Prokaryotae, familia: Pseudomonadaceae, género: Pseudomonas, presentan formas de bacilo con uno o más flagelos que les sirven para desplazarse, producen generalmente manchas foliares y marchites en los vegetales aunque también pueden producir pudriciones blandas con importantes reducciones en la productividad de los cultivos (Agrios, 2005; Agrios, 1995).

4.3. IDENTIFICACIÓN DE NEMATODOS PRESENTES EN LAS MUESTRAS DE SEMILLA DE AJO Y SUELO PREVIO AL CULTIVO.

Al igual que el análisis microbiológico de los lotes de semilla y de suelo que se emplearon en esta investigación, también se realizó el análisis poblacional de nematodos de las mismas muestras, esta identificación de nematodos es importante debido a que contribuyen a que el ataque de los hongos

fitopatógenos sea más severo al facilitarles la colonización del bulbo mediante las heridas que dejan en su sistema radicular.

TABLA 5. Análisis de población de nematodos en las muestras de ajo desgranado, ajo en bulbo y suelo

Especie Localizada	Número/g tejido		Número/g suelo
	Ajo Bulbo	Ajo desgranado	
<i>Meloidogyne incognita</i>	4	-	2
<i>Pratylenchus sp.</i>	10	-	14
<i>Dorylaimus spp.</i>	5	-	3
<i>Tylenchus sp.</i>	-	-	10
<i>Scutellonema sp.</i>	-	-	3
<i>Chiloplacus sp</i>	-	-	2
<i>Seleborca sp.</i>	-	-	1
<i>Aporcelaimella sp.</i>	-	-	6

Como podemos observar en la Tabla 5, en la muestra de ajo en bulbo encontramos tres especies de nematodos presentes, de las cuales *Meloidogyne incognita* y *Pratylenchus sp*; se han reportado como fitoparásitos del ajo causando la destrucción del sistema radicular de la planta esto se evidencia al observar plantas pequeñas, marchitas y finalmente mueren en las etapas iniciales de vida del cultivo. Si el ataque se desarrolla cuando el bulbo se ha formado, este se blando, esponjoso, muy liviano, llegando a la pudrición total del bulbo que se ha quedado sin sistema radicular.

En la muestra de ajo desgranado en cambio no se encontró ninguna especie de nematodo, por lo que concluimos que en esta forma de almacenamiento de ajo contribuye a mitigar los efectos negativos que puedan causar los nematodos al implantar los nuevos lotes de cultivo.

En el suelo se identificaron 3 especies de nematodos fitoparásitos: *Tylenchus sp.*; *Meloidogyne sp.*; *Pratylenchus sp.*; como se mencionó anteriormente los nematodos además de causar daños directos al cultivo generan problemas asociados ya que las heridas que producen en el sistema radicular de las plantas son la ventana perfecta para el desarrollo de las cepas de hongos fitopatógenos.

4.4. IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS PRESENTES EN EL CALDO DE CULTIVO DE EMA

TABLA 6. Análisis microbiológico de la muestra del caldo de cultivo de microorganismos eficientes autóctonos (EMA)

MICROORGANISMO	CFU ml-1	Biocatalización
<i>Lactobacillus vulgaricus</i>	2,265498840	Acidificador del medio orgánico
<i>Lactobacillus sp.</i>	3,116885564	Catalizador de azúcares
<i>Schizosaccharomyces sp.</i>	1,622543794	Desdoblador de azúcares
<i>Saccharomyces boluartii</i>	1,555646884	Desdoblador de azúcar
<i>Echerichia coli</i>	0,326555440	Patogénico
<i>Torula sp.</i>	1,226465230	Saprofito
<i>Trichoderma harzianum</i>	1,013111320	Metabolitos fungales
<i>Bacillus subtilis</i>	1,565644420	Antagonista de fitopatógenos
<i>Penicillium expansum</i>	0,629542190	Saprofito, ocasionalmente fitopatógeno

En la Tabla 6 podemos identificar tres cepas de hongos saprofitos (*Torula sp.*; *Trichoderma harzianum*; *Bacillus subtilis*); presentes en el caldo de cultivo de microorganismos eficientes autóctonos, capturados en la misma zona en la que se realizó el cultivo de ajo para esta investigación.

Vera, Moreno, Acevedo y Trujillo (2004) mencionan que *Trichoderma spp* es una alternativa para el control de *Sclerotium cepivorum* en ajo debido a que este hongo tiene la capacidad de parasitar las hifas del patógeno y producir enzimas que degradan su pared celular.

Bacillus subtilis presenta un gran potencial como antagonista de patógenos como *Alternaria porri*; *Pyrenochaeta terrestris*; *Fusarium sp.*; *Fusarium moniliforme*; *Stemphyllium solani*; *Alternaria solani*; *Dydimella lycopersici* y *P. infestans*; al inhibir el crecimiento micelial de estos hongos (Castellanos et al. 2008).

4.5. PORCENTAJE DE PLANTAS DE AJO INFECTADAS POR PATÓGENOS Y RENDIMIENTO DEL CULTIVO EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS

La primera toma de datos para porcentaje de plantas infectadas con agentes fitopatógenos se realizó a los 45 días de haberse sembrado el ajo, en este muestreo no se encontró ataque de fitopatógenos en ninguno de los tratamientos, por lo tanto al no existir datos no se considera para el análisis estadístico. En esta etapa del cultivo no se aprecia el ataque de patógenos debido a que la planta esta apenas emergiendo del suelo y aun no se observa síntomas de problemas fitosanitarios.

A los 90 días después de sembrado el ajo se determinó que el tratamiento con menor porcentaje de plantas infectadas fue **S2D3** (ajo bulbo/dosis 30cc/lit) con una media de 2.33%, mostrando diferencia ($P= 0.0010$) con respecto a **TS1** (15.67%) y **TS2** (17.00%), siendo este último (testigo semilla bulbo) el que presento el mayor porcentaje de plantas infectadas con fitopatógenos (Tabla 7).

TABLA 7. Porcentaje de plantas infectadas y rendimiento del cultivo de ajo

Variables	S1D1	S1D2	S1D3	S2D1	S2D2	S2D3	TS1	TS2	E.E.	C.V.	P. Valor
% de infección 90 días	5.00ab	2.67a	6.67abc	3.67a	3.33a	2.33a	15.67bc	17.00c	2.22	54.60	0,0010
% de infección 180 días	14.33ab	5.00a	15,00ab	13.33ab	17.67ab	5.67a	44.33ab	46.67b	8,06	68,94	0.0125
rendimiento (Kg/parcela)	5.32abc	6.67a	5.77ab	5.20abc	5.45abc	6.30a	2.37bc	2.17c	0.71	25.11	0.0028
abc Medias con letras distintas entre columnas son diferentes significativamente (P<0.05).											

El porcentaje de cultivo infectado a los 180 días (Tabla 7), determinó que el mejor tratamiento fue **S1D2** (ajo desgranado/dosis 30cc/lit), media 5.00% y **S2D3** (ajo bulbo/dosis 30cc/lit), media 5.67%, mostrando diferencia (P= 0.0125) con respecto a **TS1** (44.33%) y **TS2** (46.67%) manteniéndose la tendencia de que el testigo semilla bulbo presenta el mayor porcentaje de cultivo infectado.

En la Tabla 7 también se determina que los mejores rendimientos se obtuvieron los tratamientos **S1D2** (ajo desgranado/dosis 30cc/lit), media 6,67 kg/parcela y **S2D3** (ajo bulbo/dosis 30cc/lit), media 6,30 kg/parcela, mostrando diferencia ($P= 0.0028$) con respecto a **TS1** (2,37 kg/parcela) y **TS2** (2,17 kg/parcela), ratificándonos que testigo semilla bulbo es el de menor rendimiento de Kg/ajo al momento de la cosecha.

En lo referente a las variables tipos de semilla y dosis de EMAs y su respectiva interrelación al aplicar el respectivo análisis de varianza no se encontraron diferencias estadísticas significativas.

TABLA 8. Comparación de testigos versus el resto de tratamientos en el porcentaje de infección y rendimiento del cultivo de ajo

Variables	Contraste	E.E.	SC	CM	P. Valor
TS1 vs Resto (% de infección 90 días)	-70.33	14.38	353.34	353.34	0.0002
TS1 vs Resto (% de infección 180 días)	-195.00	52,23	2716.07	2716.07	0,0022
TS2 vs Resto (% de infección 90 días)	-78.33	14,38	438.29	438.29	0.0001
TS2 vs Resto (% de infección 180 días)	-209.00	52.23	3120.07	3120.07	0.0013
TS1 vs Resto (Kg) Rendimiento	20.50	4.61	30.02	30.02	0.0005
TS2 vs Resto (Kg) Rendimiento	21.70	4.61	33.64	33.64	0.0003

E.E.: error experimental, **SC:** suma de cuadrados, **CM:** cuadrado medio.

La Tabla 8 indica una comparación entre los testigos versus el resto de tratamientos, lo que nos demostró que existe diferencia ($P= 0.0002$) en el porcentaje de cultivo infectado por fitopatógenos a los 90 días, ($P= 0.0022$) a los 180 días para **TS1** (testigo semilla desgranada). El porcentaje de plantas infectadas mostro también diferencia ($P= 0.0001$) a los 90 días y ($P= 0.0013$) a los 180 días para **TS2** (testigo semilla bulbo).

La comparación de rendimiento entre testigos versus el resto de tratamientos (Tabla 8) nos dio como resultado diferencias ($P= 0,0005$) para **TS1** (testigo semilla desgranada) y ($P= 0.0003$) para **TS2** (testigo semilla bulbo).

4.6. PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN EL SUELO LUEGO DEL CULTIVO

Los datos de la Tabla 9 nos indican que al realizar un análisis de suelo para cada tratamiento y sus respectivos testigos luego de cosechar el cultivo de ajo, las cepas de *Sclerotium cepivorum* desaparecieron en los lotes de todos los tratamientos excepto en los testigos donde incremento el número de unidades formadoras de colonia. Aparecen también cepas de *Trichoderma harzianum* y *T. Koningii*, el primero proviene del caldo EMAs inoculado en los tratamientos, mientras que el segundo pudo haber estado presente en el suelo y no fue identificado en el análisis inicial.

Metcalf y Wilson (citados en Granados y Wang, 2008) indican que la cepa de *T. koningii* produjo un 40% de supresión de *S. cepivorum* en ensayos de campo. *T. harzianum* presenta un gran potencial como antagonista ya que al ser aplicado solo, logro disminuir la densidad y

viabilidad de los esclerocios (Rojas et al., 2010).

TABLA 9. Análisis microbiológico de las muestras de suelo tomadas luego del cultivo de ajo por tratamiento.

MICROORGANISMOS	Log ufc g ⁻¹							
	S1D1	S1D2	S1D3	S2D1	S2D2	S2D3	TS1	TS2
<i>Actinomyces sp.</i>	1,2104	1,1205	1,1254	1,5654	1,5477	1,1214	1,1122	1,1542
<i>Alternaria alternata</i>	1,1458	1,1480	0,5421	1,2112	0,9556	1,1084	2,0455	1,2155
<i>Cladosporium cepae</i>	0,6985	0,6548	0,7875	0,6985	1,4574	0,6578	1,1452	1,3254
<i>Bacillus subtilis</i>	1,2004	0,9775	1,1205	0,9856	0,9659	0,3659	2,0305	1,7454
<i>Cladosporium herbarum</i>	1,1302	0,6959	0,3990	0,8454	1,1025	1,1546	0,9984	1,5454
<i>Fusarium oxysporum</i>	0,3255	1,1454	0,6689	1,1454	1,1475	1,1305	1,1401	0,6685
<i>Phytium spp.</i>	1,1458	0,8896	0,7480	0,9854	0,8586	1,1478	0,6848	1,1478
<i>Pyrenochaeta terrestris</i>	0,8895	1,1458	0,6855	0	0,4784	1,1478	1,1222	0,9557
<i>Trichoderma harzianum</i>	1,2305	0,6329	1,1457	0,5984	1,1455	0,3655	1,1546	0,9998
<i>T. koningii</i>	0,9895	1,1475	0,8788	1,1549	0,2315	1,1325	1,9858	1,1215
<i>Sclerotium cepivorum</i>	0	0	0	0	0	0	1,6734	1,5424

4.7. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Aceptamos la hipótesis al demostrar que inoculando EMAs al cultivo de ajo (*Allium sativum*) obtuvimos diferencias estadísticas significativas en los porcentajes de incidencia de patógenos presentes en semilla y suelo, incrementando de manera significativa el rendimiento en los diferentes tratamientos con respecto a los testigos.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

En los lotes de semilla utilizados para la siembra de ajo (*Allium sativum* L.) se identificaron especies de microorganismos fitopatógenos como: *Aspergillus niger*; *Penicillium aurantiogriseum*; *Penicillium expansum*; *Penicillium hirsutum*; *Fusarium roseum*; *Cladosporium allí-cepae*; *Rhizopus microsporus*; *Rhizoctonia solani*, esto comprueba que la semilla adquirida por los agricultores es de mala calidad fitosanitaria, lo que finalmente ocasiona baja productividad del cultivo, uso indiscriminado e inadecuado de agroquímicos, contaminación de los suelos y avance de la frontera agrícola hacia el páramo andino.

Las cepas de *Fusarium oxysporum*; *Phytium sp.*; *Pyrenochaeta terrestres*; *Sclerotium cepivorum*; *Pseudomonas cepacia*, fueron encontradas en la muestra de suelo previo a la siembra de ajo (*Allium sativum* L.); presumimos que estos fitopatógenos se diseminaron de los cultivos aledaños en los que ya se había cultivado ajo a través de la maquinaria agrícola, herramientas, agua de riego y viento, ya que se pudo comprobar que el suelo en su estado natural (pajonal) no contenía cepas de ninguna especie fitopatógena.

Mediante una análisis cito-histoquímica y de población de nematodos a las muestras de semilla y de suelo se identificaron especies como: *Meloidogyne sp.*; *Pratylenchus sp.*; *Tylenchus sp.*, que además de ser considerados

fitoparásitos que afectan directamente al cultivo, también ayudan a que otros microorganismos fitopatógenos se diseminen rápidamente en el cultivo al colonizar las plantas a través de las lesiones que los nematodos causan en el sistema radicular del ajo.

El caldo de microorganismos eficientes autóctonos (EMAs), utilizado como una alternativa de control biológico de los fitopatógenos presentó cepas de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* hongos considerados como antagonistas de patógenos y que han sido empleados con mucho éxito en el combate de plagas y enfermedades agrícolas.

Pudimos comprobar que se puede emplear caldo de EMAs para el control de fitopatógenos en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) a nivel de campo, ya que existieron diferencias estadísticas significativas entre los lotes a los que se inoculó diferentes dosis de EMAs y los testigos manejados de manera tradicional, siendo el tratamiento S1D1 (5%) y S2D3 (5,67%) los que menor porcentaje de incidencia de enfermedades tuvieron al momento de la cosecha (180 días a partir de la siembra); mientras que TS1 (44,33%) y TS2 (46,67%) presentaron el mayor grado de contaminación del cultivo.

Manteniendo la tendencia del porcentaje de plantas contaminadas con fitopatógenos en las parcelas, se determinó que los tratamientos S1D2 (6,67 kg/parcela) y S2D3 (6,30 kg/parcela) presentaron mayores rendimientos a la cosecha, mientras que TS1 (2,37kg/parcela) y TS2 (2,17 kg/parcela) nuevamente fueron los que reportaron menores rendimientos.

4.2. RECOMENDACIONES

Continuar realizando análisis microbianos patológicos a los lotes de semilla de ajo (*Allium sativum* L.) con el fin de verificar su calidad fitosanitaria y a la vez identificar nuevas cepas de patógenos que podrían contaminar los suelos de cultivo.

Utilizar microorganismos eficientes autóctonos como una alternativa de control biológico, amigable con el medio ambiente, y con un gran potencial, en el combate de microorganismos patógenos en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.).

Continuar con el estudio de las cepas de hongos saprofitos (*Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii* y *Bacillus subtilis*) que se encuentran presentes de manera natural en los suelos andinos y han demostrado un gran potencial antagónico.

CAPÍTULO V

PROPUESTA

6.1. DATOS INFORMATIVOS

Tema: “Uso de microorganismos eficientes autóctonos (EMAs) como alternativa de control biológico de patógenos en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)”

6.2. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

La producción de ajo a nivel mundial y particularmente en el Ecuador enfrenta graves problemas por el ataque de microorganismos fitopatógenos como *Sclerotium cepivorum*, *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Pythium* sp., entre otros, bastante agresivos y difíciles de controlar a través de la agricultura convencional con el uso de agroquímicos que no han mostrado niveles óptimos de control patogénico en el cultivo.

En la provincia de Tungurahua el ajo es el producto agrícola de mayor importancia en la zona alta de la parroquia Pilahuín, los agricultores de esta zona se han dedicado a su cultivo desde hace varias décadas atrás, basando su economía en la comercialización de este producto debido a que las condiciones climáticas no permite la siembra comercial de ninguna otra especie vegetal. Sin embargo en los últimos años los problemas fitosanitarios del cultivo se les han ido incrementando y al ver que los agroquímicos ya no surten efecto sobre los patógenos han optado por desplazar el cultivo hacia el páramo andino en busca de suelos “sanos” (sin presencia de cepas patogénicas), destruyendo de esta manera una gran área de pajonal,

degradando suelos frágiles, contaminando fuentes de agua, comprometiendo el hábitat de flora y fauna propia de la zona; por estas razones es necesario buscar alternativas que brinden a los agricultores la posibilidad de recuperar suelos infestados por patógenos y alternativas eficientes y económicas para mejorar la productividad del cultivo de ajo (*Allium sativum* L.).

6.3. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años el uso de alternativas para el control de microorganismos fitopatógenos amigables con el medio ambiente han tomado una gran importancia, es por esto que en varios países de América y el mundo se investiga la eficiencia del uso de microorganismos saprofitos en la agricultura. Demostrando que microorganismos autóctonos como *Trichoderma sp.* y *Bacillus subtilis* han demostrado un gran potencial como antagonista de diversos fitopatógenos, en el caso particular del ajo se ha comprobado su eficiencia en el control de *Sclerotium cepivorum* y *Penicillium sp.*

Otro aspecto que vuelve interesante el uso de microorganismos eficientes autóctonos, es la facilidad de capturarlos y reproducirlos ya que se encuentran en suelos aledaños a los cultivos, no es necesario de técnicas o tecnología avanzada y su producción es económica, por lo que los agricultores pueden aplicar estas técnicas en sus cultivos sin mayores dificultades.

El empleo de alternativas amigables con el medio ambiente para la producción agrícola también brinda la posibilidad de que los agricultores puedan ingresar a mercados especializados en los que obtiene mayor rentabilidad económica al comercializar sus productos.

6.4. OBJETIVOS

6.4.1. Objetivo general

Aplicar microorganismos eficientes autóctonos (EMAs) al cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) como un método alternativo en el control de microorganismos fitopatógenos.

6.4.2. Objetivos específicos

Determinar la frecuencia de aplicación de los EMAs al cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)

Evaluar la eficiencia de los EMAs en diferentes condiciones agroclimáticas.

6.5. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

La factibilidad de este proyecto está demostrada por las diferentes investigaciones previas que se han realizado en diferentes países, además el desarrollo de tecnología alternativas como esta contribuye de manera importante en la protección medioambiental, reducen la utilización de agroquímicos que causan problemas en la salud tanto del consumidor como del productor por su uso indiscriminado, en el aspecto económico también brinda beneficios al agricultor ya que no es necesario fuertes inversiones para implementar estas técnicas en los cultivos, los microorganismos saprofitos son recolectados en las mismas localidades y la mayoría de los recursos serán propios de los agricultores.

6.6. FUNDAMENTACIÓN

Se demostró que es posible la captura y reproducción de microorganismos eficientes autóctonos (EMAs) en las zonas de cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) con técnicas básicas que pueden ser adoptadas fácilmente por los agricultores. Las cepas de los principales microorganismos saprofitos identificados en el caldo de EMAs son *Trichoderma sp.* y *Bacillus subtilis*, considerados como un gran potencial en el control de patógenos por diversa investigaciones alrededor del mundo.

La eficiencia de los EMAs como organismos antagonistas está demostrada para el control de fitopatógenos en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) al haberse encontrado diferencias estadísticas significativas entre la aplicación de todos los tratamientos con EMAs y sus respectivos testigos, evidenciando la reducción en el porcentaje de plantas infectado por patógenos y una mayor productividad del cultivo al momento de la cosecha.

6.7. METODOLOGÍA.

6.7.1. Captura y propagación de microorganismos eficientes autóctonos (EMAs)

Esta actividad se la puede realizar en lugares cercanos a las parcelas de cultivo (matorrales, bosquetes, fuentes a agua, pajonal, etc) que no tengan una fuerte intervención agrícola.

Materiales:

Tarrinas plásticas de 1 litro.

5 libras de arroz.

Trozos de nailon.

Tanque plástico de 200 litros.

1 galón de yogurt natural (sin sabor).

4 litros de leche.

2 galones de melaza.

Agua

6.7.1.1. Captura

Cocinamos el arroz (5 libras) sin aceite o manteca, hasta que se esté listo para consumirlo.

Colocamos el arroz en las tarrinas plásticas hasta llenarlas y las tapamos con los pedazos nailon.

Llevamos las tarrinas a lugares húmedos que no tengan una fuerte intervención agrícola, en donde realizamos un pequeño agujero para colocamos la tarrina, la cubrimos con material vegetal en descomposición recogido en el lugar.

Identificamos los sitios y dejamos las tarrinas dos semanas, luego de las cuales recogeremos los recipientes con el arroz impregnados de EMAs.

6.7.1.2. Propagación

Al recoger las tarrinas vamos a observar sobre el arroz una especie de algodón de varios colores, estos son los microorganismos capturados.

En un sitio protegido cerca de la vivienda del agricultor colocamos el tanque plástico, añadimos agua hasta la mitad del mismo, aquí colocamos el arroz de las tarrinas agitando constantemente hasta que el arroz se mezcle muy bien en el tanque, luego de lo cual añadimos la melaza, leche y yogurt, sin dejar de agitar la mezcla.

Finalmente completamos el agua hasta llenar el tanque, lo tapamos y dejamos fermentar (proceso aeróbico) por un periodo de tres semanas, luego de las cuales el producto está listo para su aplicación en los cultivos.

6.8. ADMINISTRACIÓN

La administración de la investigación estará a cargo de los pequeños productores de ajo en coordinación con el investigador y con el apoyo técnico – científico de la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

6.9. PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

La evaluación del presente trabajo se deberá realizar periódicamente, sometiéndolos a análisis estadísticos con el fin de demostrar su efectividad. Los resultados serán publicados y difundidos entre los pequeños agricultores para que ellos puedan adoptarlos como una alternativa dentro de su sistema de producción.

BIBLIOGRAFÍA.

Agrios, G. (2005). Plant Pathology. 5th Edition. Printed in the United States of America: Department of Plant Pathology University of Florida

Agrios, G. (1995). Fitopatología. 2^{da} Edición. México D.F.: LIMUSA. S.A. de C.V. UTEHA.

Rodríguez, F., Velasteguí, J.R., Cruz, E.; Martínez, A. (2009). Empleo de sustancias activadoras de esclerocios para el control orgánico de la “Pudrición Blanca” (*Sclerotium cepivorum* Berk.) en cultivos comerciales de cebolla de bulbo *Allium cepa* L. Ambato.

INTERNET

Aljaro, A., Monardes, H., Urbina, C., Martin, A., y Muñoz, E. (2009). Manual de cultivo del ajo (*Allium sativum* L.) Y cebolla (*Allium cepa* L.). (En línea). Consultado el 22 de abril del 2015. Disponible en: http://www.cepoc.uchile.cl/pdf/Manual_Cultivo_cebolla_ajo.pdf

Arias, E. L., y Piñeros, P. A. (2008). Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. (En línea). Consultado el 22 de octubre del 2016. Disponible en <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf>

Astorga, K., Meneses, K., Zúñiga, C., Brenes, J., Rivera, W. (2013, 21 de Diciembre). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma sp.* y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. (En línea). Consultado el 24 de abril del 2015. Disponible en <http://www.scielo.sa.cr/pdf/tem/v27n2/a08v27n2.pdf>

Astorga, K., Zúñiga, C., Rivera, W. (2013, 13 de Septiembre). Aislamiento e identificación de patógenos de la estirpe silvestre del ajo (*Allium sativum* L.). (En línea) Consultado el 24 de abril del 2015. Disponible en <http://www.scielo.sa.cr/pdf/tem/v27n1/a08v27n1.pdf>

Ávila, G. (2007). Factores de manejo del cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) que determinan la calidad del producto a la cosecha. (En línea). Consultado el 22 de abril del 2015. Disponible en http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CC4QFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.horticulturaar.com.ar%2Fbajar.php%3Farchivo%3D2007*07-Avila.pdf%26nombre%3DFactores%2520de%2520manejo%2520del%2520cultivo%2520de%2520ajo%2520que%2520determinan%2520la%2520calidad%2520del%2520producto%2520a%2520la%2520cosecha&ei=4AVJU8miDPOnsASV74DoCA&usg=AFQjCNGPQsSHnyO3a77pyRm1d243hcYlfg

Besoain, X. A., Véjar, R., y Piontelli, E. (2002). Principales hongos fitopatógenos asociados a bulbos almacenados de ajo elefante (*Allium ampeloprasum* var. *holmense*) de la zona de Quillota y Nogales (Chile). (En línea). Consultado el 10 de noviembre del 2016. Disponible en <http://micologia.uv.cl/index.php/Bolmicol/article/viewFile/433/395>

Castellanos, J. J., Ortiz, L., Oliva, P., Dueñas, J. M., Buides, J. F., Ruíz, S. F., y Meléndez, O. (2008). Estudios relacionados con el uso de *Bacillus subtilis*

en el control de hongos fitopatógenos. (En línea). Consultados el 10 de noviembre del 2016. Disponible en http://www.actaf.co.cu/revistas/agrotecnia_05_2008/agrot2005-1/EPRO65.pdf

Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur (2007, Junio). Estrategias para el manejo de enfermedades de cebolla. (En línea). Consultado el 10 de noviembre 2016. Disponible en <http://www.agronomia.criba.edu.ar/revista/archivos/AgroUNSNro7.pdf#page=5>

Ecuador On Line. (S/Año), Tungurahua (En línea). Consultado el 23 de abril del 2015. Disponible en <http://www.explored.com.ec/ecuador/continue/tung3.htm>

France, A., Merino, L., y Gonzáles, M.I. (2001). Pudrición blanca del ajo antigua problema con nuevas alternativas de control. (En línea). Consultado el 23 de abril del 2015. Disponible en <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/ta/NR26952.pdf>

Fuselli, S.R., Filsinger, B., Fritz, R., y Yeannes, M.I. (2004, 03 de Marzo). Estudio microbiológico de ajo (*Allium sativum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.) deshidratados. (En línea). Consultado el 22 de octubre del 2016. Disponible en http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-75412004000300009&script=sci_arttext&lng=en

García, C. (1998). El ajo, Segunda Edición (En línea). Consultado el 22 de abril del 2015. Disponible en http://books.google.com.ec/books?id=AX1QS83UE1gC&pg=PA19&lpg=PA19&dq=Cultivo+de+ajo+importancia&source=bl&ots=dhxVSzdAny&sig=Ar8a2_wZFQthS-CNPOJRhDeuhwU&hl=es-419&sa=X&ei=2t1IU-_fHqfKsQTigoLADQ&ved=0CDcQ6AEwAg#v=onepage&q=Cultivo%20de%20ajo%20importancia&f=false

García, M., De Cara, M., Gálvez, L., Iglesias, C., Vares, L., y Palmero, D. (2011). Especificidad parasitaria de aislados de *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg sobre especies del género *Allium*. (En línea). Consultado el 10 de noviembre del 2016. Disponible en http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_Plagas/B_SVP_37_02_195_206.pdf

Guédez, C., Castillo, C., Cañizales, L., y Olivar, R. (2009, 13 de Noviembre). Control biológico: una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. (En línea). Consultado el 24 de abril del 2015. Disponible en <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/29752/1/articulo5.pdf>

Guía de tesis. (2013) Acerca de la investigación bibliográfica y documental (En línea). Consultado de 22 de abril del 2015. Disponible en <http://guiadetesis.wordpress.com/2013/08/19/acerca-de-la-investigacion-bibliografica-y-documental/>

Guiñez, A. (S/Año). Nematodos en cebolla. (En línea). Consultado el 10 de noviembre del 2016. Disponible en <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/seriesinia/NR15337.pdf>

Granados, M., y Wang, A. (2008, 16 de enero). Efecto de biocontroladores aislados en fincas productoras de cebolla sobre la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum*). (En línea). Consultado el 10 de noviembre del 2016. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2737802>

Granados, M. (2005, 30 de Marzo). Pudrición blanca de la cebolla: una enfermedad difícil de combatir. (En línea). Consultado el 24 de abril del 2015. Disponible en https://www.researchgate.net/profile/Maria_del_Granados/publication/26459585_Pudricin_blanca_de_la_cebolla_Una_enfermedad_difcil_de_combatir/links/0fcfd512f997457458000000.pdf

Granados, M. (2004). Aislamiento, identificación y evaluación del efecto antagonista de hongos asociados a esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk. causante de la pudrición blanca de la cebolla, en la zona alta de Cartago, Costa Rica. (En línea). Consultado el 24 de abril del 2015. Disponible en https://www.researchgate.net/profile/Maria_del_Granados/publication/235962012_Aislamiento_identificacion_y_evaluacion_del_efecto_antagonista_de_hongos_asociados_a_esclerocios_de_Sclerotium_cepivorum_Berk_causante_de_la_pudricion_blanca_de_la_cebolla_en_la_zona_alta_de_Cartago_C/links/56be12f208aee5caccf2ef65.pdf

Hueso, A. y Cascant M.J. (2012), Metodología y técnicas cuantitativas de investigación (En línea). Consultado el 22 de abril del 2015. Disponible en: http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/17004/Metodolog%C3%ADa%20y%20t%C3%A9cnicas%20cuantitativas%20de%20investigaci%C3%B3n_6060.pdf?sequence=3

Hernández, M. (2012). Tipos y niveles de investigación (En línea). Consultado el 22 de abril del 2015. Disponible en <http://metodologiadeinvestigacionmarisol.blogspot.com/2012/12/tipos-y-niveles-de-investigacion.html>

Hernández, A.M., Juárez, G., Fucikovsky, L., Zavaleta, E. y González, V.A. (2006, enero). Impacto del almacenamiento en la brotación de bulbos de ajo y especies patogénicas de *Penicillium* Y *Erwinia* asociadas. (En línea). Consultado el 21 de octubre del 2016. Disponible en https://www.researchgate.net/profile/Emma_Zavaleta-Mejia/publication/26478226_Impacto_del_almacenamiento_en_la_brotacin_de_bulbos_de_ajo_y_especies_patognicas_de_Penicillium_y_Erwinia_asociadas/links/00b49518c612ebaa9f000000.pdf

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA (2007, 11 de Abril). Enfermedades micológicas y bacterianas del ajo (*Allium sativum*). (En línea). Consultado el 22 de octubre del 2016. Disponible en http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-enfermedades_del_ajo.pdf

Instituto Tecnológico superior de Champotón ITESCHAM, (2014). La investigación de campo (En línea). Consultado el 22 de abril del 2015. Disponible en www.itescham.com/Syllabus/Doctos/r88.DOC

Jiménez, M. A., Asdrubal, A., Ulacio, D., y Hernández, A. (2012, Agosto). Evaluación de *Trichoderma spp.* y Acibenzolar-S-Metil (Bion®) como inductores de resistencia a la pudrición blanca *Sclerotium cepivorum* Berk. en ajo (*Allium sativum* L.) bajo Condiciones de campo. (En línea). Consultado el 10 de noviembre del 2016. Disponible en http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-92942012000100003

Jiménez, M. A., Ulacio, D., Perdomo, W., y Briceño, E. (2009). Micobiota y nematodos asociados con la rizósfera y raíz en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.). (En línea). Consultado el 10 de noviembre del 2016. Disponible en http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612009000300010

Lanzavechia, S. B., (2007). Contribución al conocimiento para la producción de ajo elefante (*Allium ampeloprasum complex*). (En línea). Consultado el 24 de abril del 2015. Disponible en http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-tesis_ajo_elefante.pdf

LORSA. Ley Orgánica de Seguridad Alimentaria en su Capítulo II, III Título IV (En línea). Consultado el 22 de abril del 2015. Disponible en www.soberaniaalimentaria.gob.ec

Maranhão, E. H. A. y Maranhão, E. A. A. (2008). Factores que determinan el desarrollo de la “raíz rosada” de la cebolla causada por *Pyrenochaeta*

terrestris. (En línea). Consultado el 10 de noviembre del 2016. Disponible en <http://www.ead.codai.ufrpe.br/index.php/apca/article/view/182>

Leiva, M., Leiva, R., Acosta, M., Alvarado, Y., y Cruz, M. (2006). *Phoma terrestris*, causante de la pudrición rosada en raíces de *Allium sativum* L. cv “criollo” cultivado en vertisuelos. (En línea). Consultado el 10 de noviembre del 2016. Disponible en http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V33-Numero_4/cag164061521.pdf

Ochoa, Y. M., Cerna, E., Gallegos, G., Landeros, J., Delgado, J. C., Hernández, S., Rodríguez, R., y Olalde, V. (2012, 14 de Noviembre). Identificación de especies de *Fusarium* en semilla de ajo en Aguascalientes, México. (En línea). Consultado el 10 de noviembre del 2016. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=88326197006>

Pinto, M. (2013). “El Cultivo del Ajo y el Clima en el Ecuador” (En línea). Consultado el 23 de abril del 2015. Disponible en <http://es.scribd.com/doc/125628628/El-cultivo-del-Ajo-y-el-clima-en-el-Ecuador-14-2-2013-doc>

Quiroz, V. F., Ferrera, R., Alarcón, A., y Lara, M. E. (2008, 20 de Junio). Antagonismo in vitro de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo del ajo. (En línea). Consultado el 22 de octubre 2016. Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-31802008000100005&script=sci_arttext&lng=es

Rivera, W., Zúñiga, C., Brenes, J. Control biológico del hongo *Sclerotium cepivorum* utilizando *Trichoderma asperellum* en el cultivo del ajo en Costa Rica. (En línea). Consultado el 10 de noviembre del 2016. Disponible en http://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/viewFile/2704/2400

Rojas, V., Ulacio, D., Jiménez, M.A., Perdomo, W., y Pardo, A., (2010). Análisis epidemiológico y control de *Sclerotium cepivorum* Berk. y la pudrición blanca en ajo. (En línea). Consultado el 24 de abril del 2015. Disponible en <http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev22%283%29/3.%20An%C3%A1lisis%20epidemiol%C3%B3gico.pdf>

Rojas, V., Ulacio, D., Sanabria, M.E., y Jiménez, M.A. (2009). Efecto del calcio, *Trichoderma* y brócoli en la pared y área celular del ajo para el control de la pudrición blanca. (En línea). Consultado el 24 de abril del 2015. Disponible en <http://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/viewFile/150/150>

Salvalaggio, A. E., (2009). Morfología, grupos de compatibilidad vegetativa, patogenicidad y patrones moleculares de *Fusarium spp.* aislados de ajo y cebolla. (En línea). Consultado el 10 de noviembre del 2016. Disponible en https://www.researchgate.net/profile/Andrea_Salvalaggio/publication/283090435_MORFOLOGIA_GRUPOS_DE_COMPATIBILIDAD_VEGETATIVA_PATOGENICIDAD_Y_PATRONES_MOLECULARES_DE_Fusarium_spp_AISLADOS_DE_AJO_Y_CEBOLLA_Orientacion_Fitopatologia_Area_Ciencias_de_las_Plantas_y_Recursos_Naturale/links/562a75d708ae22b17031bd42.pdf

Torres, E. (2012). Metodología para la propagación masiva de semilla de ajo (*Allium sativum* L.) libre de enfermedades, mediante cultivo de tejidos (En línea). Consultado el 22 de abril del 2015. Disponible en: http://saber.ucv.ve/xmlui/bitstream/123456789/3245/1/T026800002594-0-TESIS_COMPLETA_ELIANA-000.pdf

Torres, M. (S/Año). Métodos de recolección de datos para una investigación (En línea). Consultado el 23 de abril del 2015. Disponible en http://www.tec.url.edu.gt/boletin/URL_03_BAS01.pdf

Van Dalen, de Debold y Meyer, W. (2014). La Investigación Experimental (En línea). Consultado el 22 de abril del 2015. Disponible en <http://noemagico.blogia.com/2006/092201-la-investigacion-experimental.php>

Vares, F., J.R. Esteban., Del Estal, P., Mijares, A., Vares, L. (1987). Algunas enfermedades y plagas del ajo en la zona productora castellano-manchega de la provincia de Cuenca (En línea). Consultado el 23 de abril de 2015. Disponible en http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_plagas%20FBSVP-13-01-021-052.pdf

Vera, R., Moreno, B., Acevedo, R., y Trujillo, E. (2005, 16 de Noviembre). Caracterización de aislamientos de *Trichoderma spp.* por tipo de antagonismo y electroforesis de isoenzimas. (En línea). Consultado el 23 de abril del 2015. Disponible en <http://www.ovefit.com.ve/boletines/18-1/Documento1.pdf>

ANEXOS

Anexos 1. Porcentaje de plantas de ajo infectadas a los 90 días

Tratamientos	Repeticiones		
	I	II	III
S1D1	10	5	0
S1D2	6	0	2
S1D3	10	10	0
S2D1	4	5	2
S2D2	5	0	5
S2D3	5	2	0
TS1	60	50	30
TS2	20	19	12

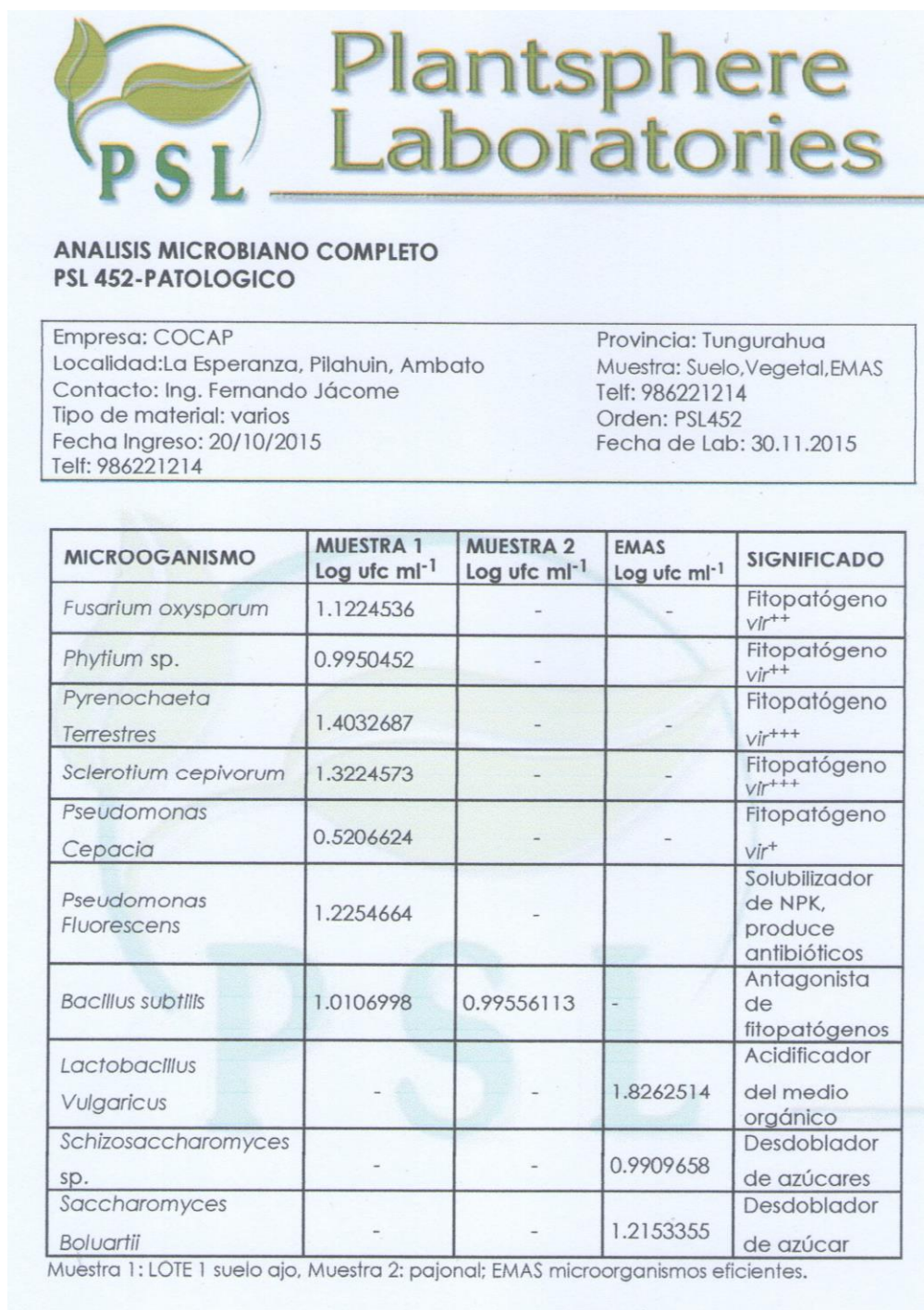
Anexos 2. Porcentaje de plantas de ajo infectadas a los 180 días

Tratamientos	Repeticiones		
	I	II	III
S1D1	30	10	3
S1D2	10	0	5
S1D3	20	25	0
S2D1	10	15	15
S2D2	20	3	30
S2D3	10	5	2
TS1	23	40	70
TS2	10	17	20

Anexos 3. Rendimiento del cultivo de ajo (kg de bulbo cosechado).

Tratamientos	Repeticiones		
	I	II	III
S1D1	3,35	5,50	7,10
S1D2	5,00	8,80	6,20
S1D3	5,00	4,00	8,30
S2D1	5,10	5,00	5,50
S2D2	4,50	6,40	5,45
S2D3	5,50	6,25	7,15
TS1	2,70	2,60	1,80
TS2	2,10	2,00	2,40

Anexos 4. Análisis microbiológico de las muestras de suelo previo a la siembra de ajo



Anexos 5. Análisis microbiológico de las muestras de semilla de ajo.

ANALISIS DEL AJO EN BULBO Y DESGRANADO			
MICROORGANISMO	LOTE 1 Log ufc gl ⁻¹	LOTE 2 Log ufc g ⁻¹	SIGNIFICADO
<i>Aspergillus niger</i>	0.90225513	0.2354554	Saprofito, secundario.
<i>Penicillium</i>			Fitopatógeno de la
<i>Aurantiogriseum</i>	2.09332546	1.3245552	podrición del bulbo
<i>P. expansum</i>	1.08025855	0.2125545	Saprofito, ocasional
<i>P. oxalicum</i>	2.0432541	0.5689452	Fitopatógeno
<i>P. hirsutum</i>	1.2232122	0.2235654	Saprofito
<i>Fusarium roseum</i>	1.8506655	0.6528545	Fitopatógeno
<i>Cladosporium allii-</i> <i>Cepae</i>	0.6695778	-	Fitopatógeno
<i>Rhizopus microsporus</i>	1.2354648	0.3326654	Fitopatógeno
<i>Rhizoctonia solani</i>	0.5222544	1.2688846	Fitopatógeno
<i>Kluyveromyces</i> <i>marxianus</i>	2.225545	0.2635853	Fitopatógeno de la podredumbre blanda

Lote 1: Ajo desgranado, Lote 2: ajo en bulbo.

Anexos 6. Análisis de población de nematodos en las muestras de suelo previo a la siembra del cultivo.

ANALISIS DE POBLACIONES DE NEMATODOS Y CITO-HISTOQUIMICA				
Muestra analizada	Especie localizada	Fitoespecia- lización	Numero g tejido	Numero g suelo
MUESTRA 1	<i>Tylenchus sp.</i>	S-Pf	-	10
	<i>Meloidogyne sp.</i>	Fend	-	2
	<i>Pratylenchus sp.</i>	Fexp	-	14
	<i>Scutellonema sp.</i>	S	-	3
	<i>Chiloplacus sp</i>	S	-	2
	<i>Seleborca sp.</i>	S	-	1
	<i>Dorylaimus spp.</i>	Prd.	-	3
	<i>Aporcelaimella sp.</i>	S	-	6
MUESTRA 2.	<i>Meloidogyne incognita</i>	Fen	-	n.r.
	<i>Tylenchus sp.</i>	S-Pf	-	n.r.
	<i>Dytilenchus dipsaci</i>	Pf	-	n.r.
	<i>Pratylenchus sp.</i>	Fex	-	n.r.
	<i>Scutellonema sp.</i>	S	-	n.r.
	<i>Chiloplacus sp</i>	S	-	n.r.
	<i>Dorylaimus spp.</i>	S	-	n.r.
	<i>Aporcelaimella sp.</i>	Bind.	-	n.r.
	<i>Rhabditis sp.</i>	S	-	n.r.
	<i>Ecphyadophora sp.</i>	P	-	n.r.

Lote 1: Ajo desgranado, Lote 2: ajo en bulbo.

Anexos 7. Análisis de población de nematodos en las muestras semilla de ajo.

ANALISIS DE POBLACIONES DE NEMATODOS Y CITO-HISTOQUIMICA

Muestra analizada	Especie localizada	Fitoespecia- lización	Numero g tejido	Numero g suelo
BULBO AJO	<i>Meloidogyne incognita</i>	Fend	4	-
	<i>Ecphyadophora sp.</i>	S	-	-
	<i>Scutellonema sp.</i>	S	-	-
	<i>Pratylenchus sp.</i>	S	10	-
	<i>Scutellonema sp.</i>	S	-	-
	<i>Chiloplacus sp</i>	S	-	-
	<i>Seleborca sp.</i>	S	-	-
	<i>Dorylaimus spp.</i>	S	5	-
	<i>Aporcelaimella sp.</i>	Bind.	-	-
DESGRANADO AJO	<i>Meloidogyne incognita</i>	Fend	-	-
	<i>Ecphyadophora sp.</i>	S	----	-
	<i>Scutellonema sp.</i>	S	----	-
	<i>Pratylenchus sp.</i>	S	-	-
	<i>Scutellonema sp.</i>	S	----	-
	<i>Chiloplacus sp</i>	S	----	-
	<i>Seleborca sp.</i>	S	-	-
	<i>Dorylaimus spp.</i>	S	-	-
	<i>Aporcelaimella sp.</i>	Bind.	-	-

Muestra 1: LOTE 1 suelo ajo, **Muestra 2:** pajonal.

Nemátodos saprófitos (S); fitoparásitos ecto y endoparasitos (Fexp, Fen); predadores (P); (S-Pf) Saprofito ocasionalmente puede ser parásito facultativo; (Ns-S) Nemátodo de suelo con hábitos saprófito; considerado para este estudio como bioindicador. n.r. no requerida.

Dr. Carlos Falconi Borja Ph.D.
LABORATORIOS Psl-LABS
0999796977 – 0988087239 - 6023531

plantsphaerelab@biosoftware.de
psl@biosoftware.de
www.bdkie.eu

Anexos 8. Análisis microbiológico de la muestra del caldo que contiene microorganismos eficientes autóctonos EMAs.



Plantsphere Laboratories

ANÁLISIS MICROBIANO COMPLETO PSL 325-PATOLOGICO

Empresa: COCAP
Localidad: La Esperanza, Pilahuin, Ambato
Contacto: Ing. Fernando Jácome
Tipo de material: semilla de ajo
Fecha Ingreso: 20/10/2015
Telf: 2848416

Provincia: Tungurahua
Muestra: Vegetal, EMAS
Telf: 986221214
Orden: PSL574
Fecha de Lab: 09.05.2016

MICROBIANO COMPLETO

MUESTRA

ANÁLISIS DE EMAS

MICROORGANISMO	CFU ml ⁻¹	Blocatallización
<i>Lactobacillus vulgaricus</i>	2.265498840	Acidificador del medio orgánico
<i>Lactobacillus</i> sp.	3.116885564	Catalizador de azúcares
<i>Schizosaccharomyces</i> sp.	1.622543794	Desdoblador de azúcares
<i>Saccharomyces boluaitii</i>	1.555646884	Desdoblador de azúcar
<i>Echerichia coli</i>	0.32655544	Patogénico
<i>Torula</i> sp.	1.22646523	Saprophyto
<i>Trichoderma harzianum</i>	1.01311132	Metabolitos fungales.
<i>Bacillus subtilis</i>	1.56564442	Antagonista de fitopatógenos
<i>Penicillium expansum</i>	0.62954219	Saprophyto

Dr. Carlos Falconi Borja Ph.D.
LABORATORIOS Psl-LABS
0999796977 – 0988087239 - 6023531

plantsphaerelab@biosoftware.de
psl@biosoftware.de
www.bdkl.eu

Anexos 9. Análisis microbiológico de las muestras de suelo luego de la cosecha del ajo.

Plantsphere Laboratories

ANÁLISIS MICROBIANO DE SUELO

MICROORGANISMOS	MUESTRA BT1	MUESTRA BT2	MUESTRA BT3	MUESTRA DT1	MUESTRA DT2	MUESTRA DT3	MUESTRA IT1	MUESTRA IT2
	log cfu g ⁻¹							
<i>Actinomyces</i> sp.	1,56544	1,54774	1,12144	1,21042	1,12054	1,125443	1,112214	1,154234
<i>Alternaria alternata</i>	1,21122	0,95564	1,10843	1,14575	1,14798	0,542131	2,045512	1,615455
<i>Cladosporium cepae</i>	0,69854	1,45744	0,65784	0,69854	0,65479	0,787476	1,145213	1,325446
<i>Bacillus subtilis</i>	0,98564	0,96586	0,36585	1,20043	0,97748	1,120546	2,030544	1,745444
<i>Cladosporium herbarum</i>	0,84544	1,10245	1,15462	1,13024	0,69587	0,398987	0,998445	1,545446
<i>Fusarium oxysporum</i>	1,14544	1,14754	1,13046	0,32545	1,14542	0,668898	1,401221	1,668454
<i>Pythium</i> spp.	0,98541	0,85856	1,14784	1,14575	0,88956	0,748046	1,684789	1,478451
<i>Pyrenochaeta terrestris</i>	-	0,47844	1,14784	0,88947	1,14578	0,685454	1,522195	1,955654
<i>Trichoderma harzianum</i>	0,59844	1,14548	0,36547	1,23045	0,63287	1,145733	1,154554	0,999785
<i>T. koningii</i>	1,15487	0,23151	1,13247	0,98947	1,14754	0,878761	1,985754	1,121454
<i>Sclerotium cepivorum</i>	-	-	-	-	-	-	1,673423	1,542361

Fecha de Muestreo: 29.04.2016

Fecha de Laboratorio: 27.05.2016

Solicitado por: Ing. Raun Jacome Espinoza

Localidad: La Esperanza Pílahun

Cultivo: Ajo

Tipo de Análisis: MICROBIANO

Finca:

Localización Geográfica: Ambato Tungurahua

METODOLOGIA

Observación directa (OD).

Colorimetría de muestras de estados inducidos (CMES).

Análisis en Microplots (AMP: MA, APD, NA, KB, KA).

Microscopía N/CO.

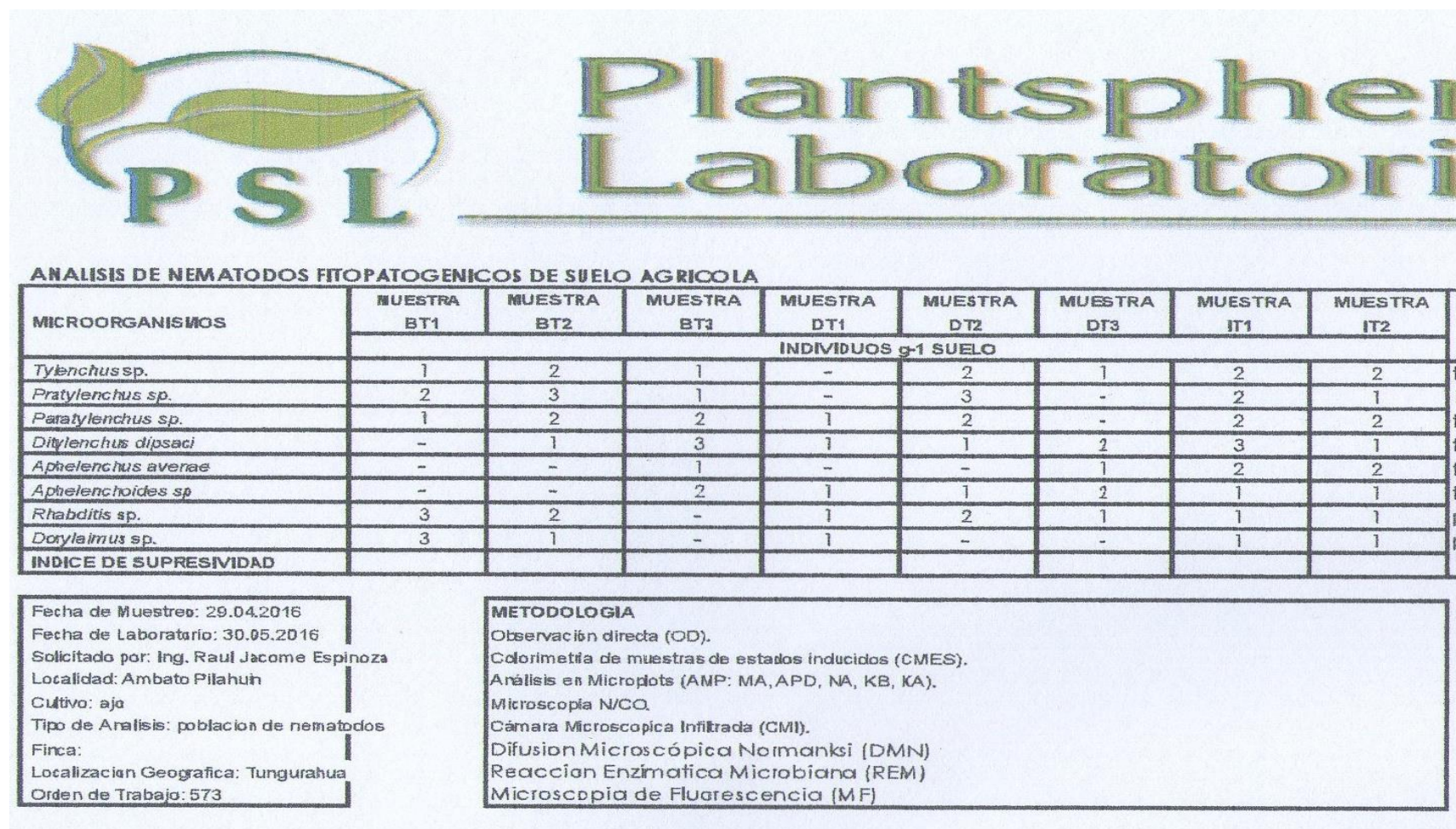
Cámara Microscópica Infiltrada (CMI).

Difusión Microscópica Normanski (DMN)

Reacción Enzimática Microbiana (REM)

Microscopía de Fluorescencia (MF)

Anexos 10. Análisis de la población de nematodos en las muestras de suelo luego de la cosecha del ajo.



Anexos 11. Captura y propagación de microorganismos eficientes autóctonos
EMAs





Anexos 12. Inoculación de EMAs a la semilla (día 0).





Anexos 13. Siembra.



Anexos 14. Inoculación de EMAs a la semilla (día 30).



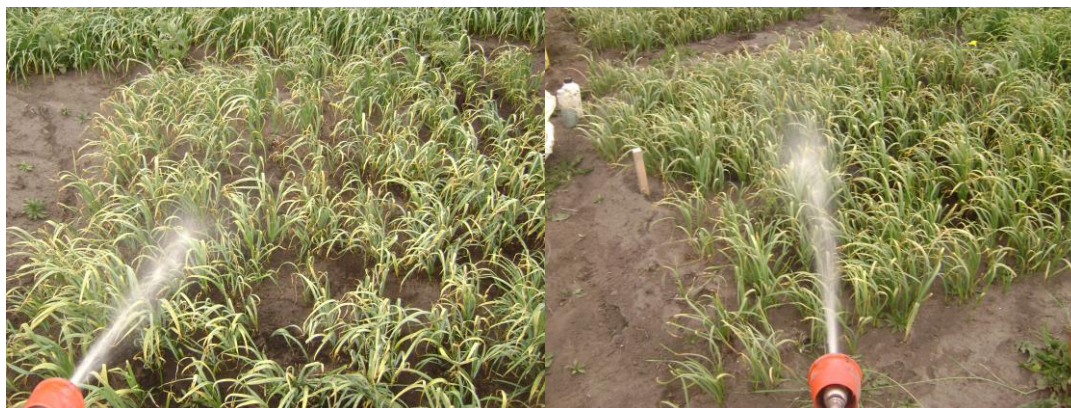
Anexos 15. Inoculación de EMAs a la semilla (día 60).



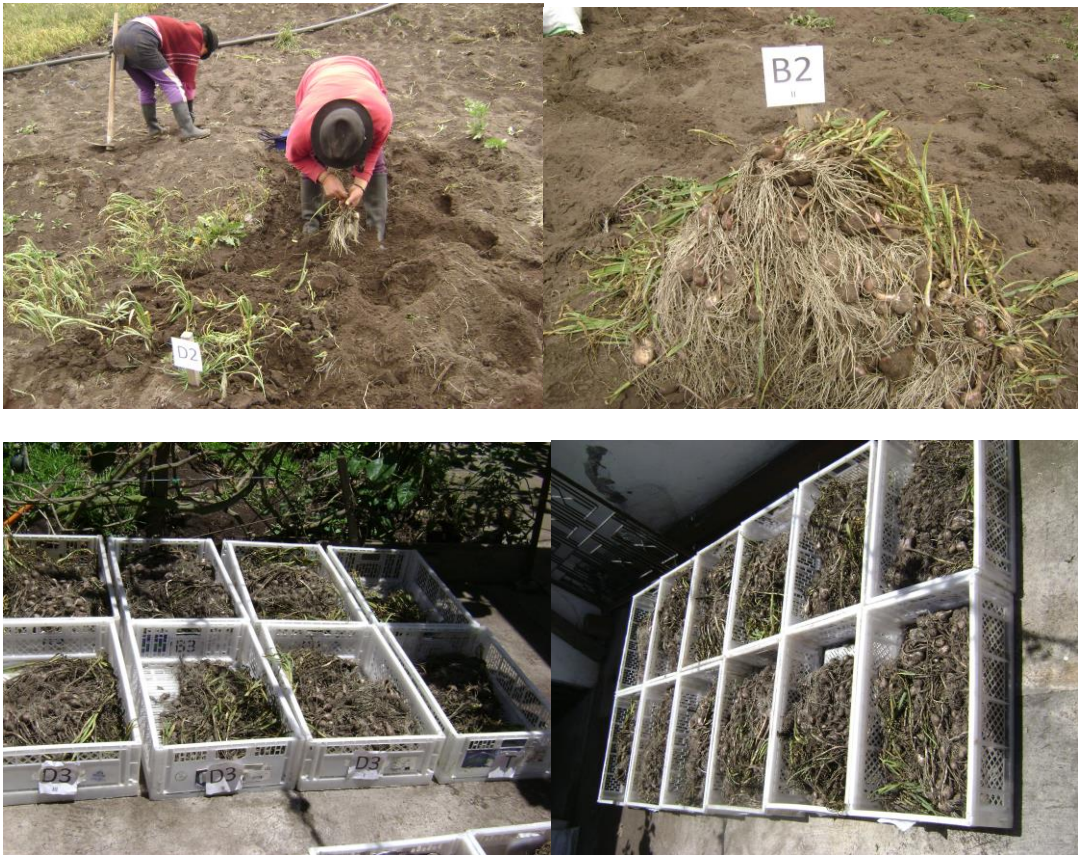
Anexos 16. Inoculación de EMAs a la semilla (día 90).



Anexos 17. Inoculación de EMAs a la semilla (día 120).



Anexos 18. Cosecha.



Anexos 19. Preparación de muestras para enviarlas al laboratorio.



Anexos 20. Ajo infestado con microorganismos fitopatogénos.

