



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA
AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**“APLICACIÓN DE ELICITORES EN PLANTAS DE BABACO PARA LA
OBTENCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS Y TOLERANCIA A
Fusarium oxysporum f. sp. *vasconcellae*.”**

AUTOR: AMAGUA AMAGUA, BYRON VINICIO

DIRECTOR: MIHAI, RALUCA ALEXANDRA, Ph.D.

SANGOLQUÍ

2020



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, “*APLICACIÓN DE ELICITORES EN PLANTAS DE BABACO PARA LA OBTENCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS Y TOLERANCIA A Fusarium oxysporum f. sp. vasconcellae*” fue realizado por el señor *Amagua Amagua, Byron Vinicio* el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 23 de enero de 2020

Firma

Raluca Alexandra Mihai, Ph.D.

C. C: 1757487507



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Amagua Amagua, Byron Vinicio*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: “*Aplicación de elicitores en plantas de babaco para la obtención de metabolitos secundarios y tolerancia a Fusarium oxysporum f. sp. vasconcellae*” es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 23 de enero 2020

Firma

Byron Vinicio Amagua Amagua

C.C.: 1723404800



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN

Yo, *Amagua Amagua, Byron Vinicio* autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: "*Aplicación de elicitores en plantas de babaco para la obtención de metabolitos secundarios y tolerancia a Fusarium oxysporum f. sp. vasconcellae*" en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 23 de enero de 2020

Firma

Byron Vinicio Amagua Amagua

C.C.: 1723404800

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación va dedicado a mis padres Francisco Amagua y Mirian Amagua por constituirse en el pilar fundamental, de apoyo incondicional a lo largo de la carrera, brindándome consejos para ir creciendo como persona.

A mis hermanos Henry, Karen y Daniel por los momentos compartidos desde la niñez apoyándonos, creciendo y manteniéndonos juntos.

A mis amigos que son la familia que uno escoge, llegaron en el momento indicado para poder ayudarnos, trabajar y sobresalir juntos en la carrera.

AGRADECIMIENTO

Al creador por permitirme cumplir una de las metas, quizás de las más importantes, que se constituirán en el inicio de cosas importantes. A la Universidad quien me brindó la oportunidad de adquirir conocimiento importante dentro del crecimiento humano.

A mis padres y hermanos que con cada accionar me brindaban seguridad para poder sobresalir y culminar, en cada una de las circunstancias difíciles presentadas a lo largo de la vida.

A mi tía Nancy por el apoyo desinteresado en los momentos más difíciles que se ha atravesado como familia.

A la Dra. Raluca Mihai por ser una excelente tutora ayudándome con un recurso importante como es el tiempo, guiándome y apoyándome para poder sacar adelante el proyecto que en ocasiones parecía no tener fin.

Al Lic. Taco por haberme apoyado con materiales y equipos necesarios para la investigación.

A mis amigos que con momentos de alegría, tensión, tristeza fueron el apoyo diario que hicieron llevadero cada uno de los niveles a lo largo de la carrera.

ÍNDICE DE CONTENIDOS**CARÁTULA**

CERTIFICACIÓN	i
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD	ii
AUTORIZACIÓN	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii

CAPÍTULO I**INTRODUCCIÓN**

1.1	Antecedentes	1
1.2	Justificación.....	3
1.3	Objetivos	5
1.3.1	Objetivo general	5
1.3.2	Objetivos específicos.....	5
1.4	Hipótesis.....	5

CAPÍTULO II**REVISIÓN DE LITERATURA**

2.1	Cultivo de babaco.....	6
2.1.1	Taxonomía.....	6
2.1.2	Descripción botánica	6
2.1.3	Ciclo del cultivo	6
2.1.4	Plagas	7
2.1.4.1	Nemátodos de la raíz	7
2.1.4.2	Ácaros.....	7
2.1.5	Enfermedades	7
2.1.5.1	Oídio.....	7
2.1.5.2	Alternaría.....	8
2.1.5.3	Fusariosis.....	8

2.1.5.3.1	Ciclo de vida del agente causal de la fusariosis	8
2.1.5.3.2	Sintomatología	9
2.1.5.3.3	Manejo de la enfermedad	10
2.2	Inducción de resistencia	10
2.2.1	Resistencia local	11
2.2.2	Resistencia sistémica adquirida (RSA)	11
2.2.3	Resistencia sistémica inducida (RSI)	12
2.3	Mecanismos de defensa de las plantas	12
2.3.1	Barreras estructurales	12
2.3.2	Barreras bioquímicas	13
2.4	Metabolitos secundarios implicados en defensa	13
2.4.1	Fitoalexinas	13
2.4.2	Flavonoides	13
2.4.3	Terpenoides y esteroides	14
2.4.4	Alcaloides	14
2.4.5	Fenoles	14
2.5	Elicitores	15
2.6	Fitohormonas	15
2.6.1	Jasmonatos	16
2.6.2	Ácido salicílico	16
2.6.3	Manitol	17

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	Área de estudio	18
3.2	Ubicación geográfica facultad de Ingeniería Agropecuaria IASA I.	18
3.3	Ubicación ecológica	18
3.4	Materiales	18
3.4.1	Reactivos	18
3.5	Métodos	19
3.5.1	Determinar el efecto de dos dosis de elicitores (Ácido salicílico, Metil jasmonato y Manitol) sobre la producción de fenoles y crecimiento de plantas de babaco	19
3.5.1.1	Diseño experimental	19
3.5.1.1.1	Factores a probar	19

3.5.1.1.2	Tipo de diseño experimental	19
3.5.1.1.3	Características de las unidades experimentales.....	19
3.5.1.1.4	Croquis experimental	20
3.5.1.1.5	Esquema de análisis de varianza	20
3.5.1.1.6	Modelo matemático.....	20
3.5.1.1.7	Coefficiente de variación.....	20
3.5.1.1.8	Análisis funcional.....	21
3.5.1.2	Variables a medir	21
3.5.1.2.1	Fase de campo	21
3.5.1.2.1.1	Altura de la planta	21
3.5.1.2.1.2	Diámetro del tallo.....	21
3.5.1.2.2	Fase de laboratorio	21
3.5.1.2.2.1	Contenido de fenoles totales	21
3.5.1.2.2.2	Determinación del carácter antioxidante con método FRAP	22
3.5.1.3	Métodos específicos del manejo del experimento.....	23
3.5.1.3.1	Establecimiento de plantas	23
3.5.1.3.2	Labores culturales	23
3.5.1.3.3	Aplicación de elicitores	23
3.5.1.3.4	Colecta y preparación de muestras.....	23
3.5.2	Evaluar el efecto de la inoculación con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasconcellae</i> en plantas de babaco tratadas con elicitores sobre severidad e incidencia.	24
3.5.2.1	Diseño experimental.....	24
3.5.2.1.1	Factores a probar	24
3.5.2.1.2	Tratamientos.....	24
3.5.2.1.3	Características de las unidades experimentales.....	24
3.5.2.1.4	Croquis experimental	24
3.5.2.2	Variables a medir	25
3.5.2.2.1	Severidad externa	25
3.5.2.2.2	Incidencia	25
3.5.2.3	Métodos específicos del manejo del experimento.....	26
3.5.2.3.1	Aislamiento y purificación del microorganismo <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasconcellae</i>	26
3.5.2.3.2	Inoculación con patógeno.....	26

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Resultados	27
4.1.1	Cuantificación de fenoles	27
4.1.2	Carácter antioxidante método de FRAP	28
4.1.3	Relación entre los métodos para determinar el contenido de fenoles y capacidad antioxidante	29
4.1.4	Altura de la planta	29
4.1.5	Diámetro del tallo	30
4.1.6	Severidad externa	31
4.1.7	Incidencia	32
4.2	Discusión	32
4.2.1	Contenido de fenoles	33
4.2.2	Carácter antioxidante	33
4.2.3	Altura y diámetro de las plantas de babaco	34
4.2.4	Severidad	34
4.2.5	Incidencia	34

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1	Conclusiones	35
5.2	Recomendaciones	36
5.3	Bibliografía	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	<i>Escala esquemática del desarrollo sintomatológico foliar de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasconcellae</i></i>	9
Tabla 2	<i>Descripción de los tratamientos evaluados en platas de babaco</i>	19
Tabla 3	<i>Análisis de varianza para determinar la mejor dosis de elicitor para la producción de fenoles.</i>	20
Tabla 4	<i>Descripción de tratamientos de la investigación.</i>	24
Tabla 5	<i>Promedio \pm error estándar del contenido de fenoles para las 0 horas, 2 horas después de la primera aplicación de elicitores y 7 días de la primera aplicación de elicitores</i>	27
Tabla 6	<i>Promedio \pm error estándar del carácter antioxidante para las 0 horas, 2 horas después de la primera aplicación de elicitores y 7 días después de la primera aplicación de elicitores.</i>	28
Tabla 7	<i>Coefficientes de correlación de Pearson entre los métodos utilizados para determinar el contenido de fenoles y capacidad antioxidante.</i>	29
Tabla 8	<i>Promedio \pm error estándar para las alturas de plantas de babaco para los 0, 15 y 30 días.</i>	30
Tabla 9	<i>Promedio \pm error estándar para el diámetro de plantas de babaco para los 0 días, 15 días y 30 días.</i>	31
Tabla 10	<i>Prueba T para la incidencia <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasconcellae</i> en plantas de babaco.</i>	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Distribución aleatoria de los tratamientos.	20
Figura 2 Distribución aleatoria de los tratamientos.	24
Figura 3 Severidad externa ocasionada por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasconcellae</i> en plantas de babaco.	32

RESUMEN

En el Ecuador la agricultura se ve beneficiada debido a las condiciones favorables con que cuenta el país, aportando una gran variedad vegetal. En los últimos años existe una creciente demanda de frutales no tradicionales tales como el babaco, que es susceptible a *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* que produce fusariosis. El uso de grandes cantidades de agroquímicos es la principal estrategia para el control de la enfermedad y constituye un limitante para el máximo desarrollo del cultivo. La presente investigación se enfocó en encontrar una alternativa al uso de químicos para su control, utilizando elicitores como iniciadores de síntesis de metabolitos secundarios implicados en la defensa. El experimento se realizó mediante dos aplicaciones vía foliar de elicitores como manitol (100 mM, 130 mM), ácido salicílico (10 mM, 20 mM) y metil jasmonato (10 mM, 30 mM) utilizando un Diseño Completamente al Azar con una prueba de significancia de Fisher al 95% para los tratamientos. Las variables evaluadas fueron la concentración de fenoles y el carácter antioxidante, como indicadores de la activación de la propia defensa de la planta e indicadores morfométricos importantes en el desarrollo de la planta como altura y diámetro. La aplicación de manitol 100 mM al nivel foliar representó el mejor tratamiento para la producción de metabolitos secundarios implicados en defensa e implicados en la disminución de la incidencia y severidad de la enfermedad.

PALABRAS CLAVE:

- **BABACO**
- **ELICITOR**
- **METABOLITOS SECUNDARIOS**
- **CARÁCTER ANTIOXIDANTE**

ABSTRACT

In Ecuador, agriculture is benefited due to the favorable conditions that the country has, providing a great variety of plants. In recent years there is a growing demand for non-traditional fruit trees such as babaco, which is susceptible to *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* that produces fusariosis. The use of large quantities of agrochemicals is the main strategy for disease control and constitutes a limitation for maximum crop development. The present investigation focuses on finding an alternative to the use of chemicals for its control, using elicitors as initiators of synthesis of secondary metabolites involved in defense. The experiment was performed using two foliar applications of elicitors such as mannitol (100 mM, 130 mM), salicylic acid (10 mM, 20 mM) and methyl jasmonate (10 mM, 30 mM) using a Completely Random Design with a test of 95% significance of Fisher for treatments. The variables evaluated were the concentration of phenols and the antioxidant character, as indicators of the activation of the plant's own defense and important morphometric indicators in the development of the plant such as height and diameter. The usage of 100 mM mannitol at the foliar level represented the best treatment for the production of secondary metabolites involved in defense and involved in the reduction of the incidence and severity of the disease.

KEYWORDS:

- **BABACO**
- **ELICITOR**
- **SECONDARY METABOLITES**
- **ANTIOXIDANT CHARACTER**

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

En el Ecuador una gran parte de la población depende de la agricultura ya que contribuye en gran escala a la alimentación del sector rural. El suelo es un recurso fundamental que tiene el país, que influenciado por la diversidad climatológica y precipitaciones adecuadas permite obtener una gran variedad de productos agrícolas. El Ecuador posee climas privilegiados que varían de acuerdo a la altitud y las regiones, por ello la producción de árboles frutales en el país es inmensa, extendiéndose en la Costa, la Sierra y en el Oriente (Knapp *et al.*, 2019).

La demanda de frutales exóticos a nivel nacional e internacional está en un continuo crecimiento tal es el caso de frutas no tradicionales como el babaco, esto debido a sus características nutricionales y organolépticas (Bonilla *et al.*, 2018). El desarrollo máximo de la producción de este tipo de frutales se ve afectada por la presencia de enfermedades, en especial por la presencia de la fusariosis, una enfermedad que ha devastado plantaciones enteras de babaco (Ochoa & Ellis, 2002).

Una de las principales estrategias para el control de las enfermedades en las plantas, es representada por el uso de compuestos químicos, que hoy en día se constituye como la primera línea de defensa contra los patógenos ya que sin la producción y comercialización de tales productos no sería posible la producción de frutales. Existe cada vez mayor preocupación en el público consumidor por adquirir frutales y legumbres libres de agroquímicos debido a que se conocen los enormes riesgos que causan a la salud humana el consumo prolongado de estos compuestos. Por esta razón existe un interés mayor en buscar nuevas alternativas para el control

de las enfermedades en plantas, como estrategias ecológicas, representadas por el control biológico y también por el uso de elicitores (Ragsdale & Sisler, 1994).

Los elicitores son sustancias con la capacidad de activar el sistema defensivo de las plantas, mediante la activación de varias rutas biosintéticas que inducen a la producción de compuestos fenólicos y la activación de enzimas relacionadas con la defensa de las plantas. La utilización de este tipo de sustancias podría contribuir para desarrollo del sector agrícola (Thakur & Sohal, 2013).

Estudios realizados en México evaluaron el efecto de elicitores de origen biótico en plantas de tomate sometidas a estrés por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* evaluando el vigor y la calidad de frutos de tomate, concluyendo que la utilización de estas sustancias disminuye la gravedad de los síntomas causados por la inoculación del agente patógeno (García *et al.*, 2018).

En Colombia se realizó una investigación en cultivos *in vitro* en plantas de *Physalis peruviana* L. para la producción del metabolito 4 β -hidroxiwitahanólido E, mediante la aplicación de cuatro elicitores y una posterior infección con *Agrobacterium rhizogenes* C 106, utilizando cromatografía líquida para la determinación del metabolito, concluyendo que con la aplicación de una concentración de 10mM de ácido salicílico se obtuvo una mayor producción (Piñeros *et al.*, 2009).

En la provincia del Carchi, para el control de mancha chocolate (*Botrytis fabae* L.), en el cultivo de haba se evaluaron diferentes dosis de ácido acetilsalicílico como elicitores, obteniendo una menor incidencia de la enfermedad con la utilización de 1,5 mL de ácido acetilsalicílico por cada litro de agua (Lucero, 2014).

En el país en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, investigaciones realizadas en plátano barraganete, establecen que Sigatoka negra (*Micosphaerella fijiensis* Morelet), es una de las enfermedades de mayor importancia en musáceas debido a los daños que ocasiona en la producción y calidad de fruto. En el estudio se evaluaron tratamientos de ácido salicílico y Mancozeb, obteniéndose los mejores resultados sobre la producción con la utilización de 7,5 mL de ácido salicílico (Chico, 2014).

1.2 Justificación

La agricultura en el país es uno de los sectores de mayor importancia ya que contribuye a la economía y a la seguridad alimentaria (Monteros *et al.*, 2015). La demanda creciente de alimentos, la industrialización, la apertura de nuevos mercados, la soberanía alimentaria, han implementado el uso de grandes cantidades de agroquímicos para de esta manera incrementar ganancias en un periodo de tiempo corto, contaminación el suelo y fuentes hídricas (Brassel *et al.*, 2011).

El desarrollo agrícola en gran medida se ha dado en base a la producción de diversos cultivos, entre los que destacan frutales exóticos y no tradicionales como el babaco, abasteciendo de materia prima para las diferentes industrias en el país (Uzcátegui, 2007). Este frutal se constituye como una importante opción para los agricultores de la región Interandina representando una alternativa de exportación debido a la creciente demanda interna y externa (Simbaña, 2018). La fruta posee características organolépticas y nutricionales, entre las que se destaca la vitamina C y la enzima papaína que ayuda en el proceso digestivo (García, 2011). En el Ecuador alrededor del 80 % de la fruta es producida bajo invernadero siendo las principales provincias productoras de babaco Tungurahua con el 57% de hectáreas cultivadas, seguido de provincias como Azuay e Imbabura (Gordon, 2010, citado en Simbaña, 2018).

El babaco es uno de los frutales con excelente potencial para la comercialización dentro y fuera del país viéndose afectado por problemas relacionados con agentes patógenos (Bravo *et al.*, 2012). El frutal es susceptible a diversos problemas entre los que resaltan los desbalances térmicos, plagas y enfermedades lo que implica un alto uso de productos químicos para su cuidado que se ve reflejado en un elevado costo de producción (Soria, 1997). La fusariosis se constituye en una de las enfermedades de mayor importancias dentro del cultivo ya que es la causante de pérdidas en la producción de plántulas de hasta el 100% y de un 50% en la producción de fruta (Quillay, 2011).

El uso de agroquímicos es una de las primeras alternativas tomadas en cuenta para el control de la enfermedad ya que puede minimizar los daños causados por la agente causal, mediante su uso adecuado y cuidadoso que incluye recomendaciones técnicas, siempre y cuando el nivel de la enfermedad no sea avanzado (Bravo *et al.*, 2012). Debido a que el babaco no tolera dosis altas y productos que contengan aceite, el uso de estos compuestos debe ser controlado (Soria, 1997).

Debido a lo mencionado es importante la búsqueda de alternativas al control químico, que se ha demostrado ser nocivo con el medio ambiente y con el ser humano, (Riveros *et al.*, 2004). La implementación de nuevas técnicas para el desarrollo agrícola y protección del medio ambiente que evita el uso de químicos, se constituye como una alternativa importante la utilización de elicitores que influyen en la activación del sistema propio de defensa de la planta a través del incremento de la producción de metabolitos secundarios implicados en la protección de la planta contra patógenos disminuyendo y retardando los daños causados por las enfermedades (Thakur & Sohal, 2013).

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Aplicar elicitores en plantas de babaco para la obtención de metabolitos secundarios y tolerancia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae*.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar el efecto de dos dosis de elicitores (Ácido salicílico, Metil jasmonato y Manitol) sobre la producción de fenoles y crecimiento de plantas de babaco.
- Evaluar el efecto de la inoculación con *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* en plantas de babaco tratadas con elicitores sobre severidad e incidencia.

1.4 Hipótesis

H1: La aplicación de elicitores en plantas de babaco incrementa el contenido foliar de fenoles y disminuyen el ataque ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae*.

H0: La aplicación de elicitores en plantas de babaco no incrementa el contenido foliar de fenoles y no disminuye el ataque ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae*.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Cultivo de babaco

El babaco es originario de las zonas andinas Colombianas y Ecuatorianas, cultivado a lo largo de los valles de la serranía ecuatoriana en lugares donde las condiciones climáticas son favorables para su producción (Bonilla *et al.*, 2018). La fruta tiene un importante potencial para exportación debido a las características positivas tales como su sabor agradable, aroma y contenido nutricional (Bravo *et al.*, 2012).

2.1.1 Taxonomía

El babaco pertenece al reino Plantae, división Anthophyta, clase Angiospermae, subclase Magnoliopsida (Dicotiledónea), orden Parietales, familia Caricaceae, género *Vasconcellea*, nombre científico *Vasconcellea heilbornii* var. *pentagona* Badillo, nombre común Babaco (Badillo *et al.*, 2000).

2.1.2 Descripción botánica

Son plantas arbustivas que poseen un solo tallo herbáceo cilíndrico, con hojas pentalobuladas dispuestas en forma alterna en el tallo. El babaco solo poseen flores femeninas que dan lugar a la formación de un solo fruto partenocarpico. El sistema radical es delicado haciéndolo susceptible a enfermedades y a suelos con gran capacidad de retención de agua (Fabara *et al.*, 1985; Soria, 1997).

2.1.3 Ciclo del cultivo

El ciclo del babaco inicia con la brotación que es un periodo comprendido a partir de los 28 hasta los 80 días, seguido de la floración que tiene inicio a los 119 extendiéndose hasta los 170 días, la fase comprendida desde 147 hasta 198 días se la conoce con el nombre de fructificación,

el proceso de maduración de frutos se da inicio a partir de los 10 a 12 meses, dado por un cambio de la coloración de la corteza y por último la planta entra en un receso vegetativo el cual coincide con el término de la producción (Fabara *et al.*, 1985).

2.1.4 Plagas

2.1.4.1 Nemátodos de la raíz

Los nemátodos están presentes en las raíces es por esta razón que se dificulta la absorción de agua y nutrientes, su presencia viene acompañado de síntomas tales como un bajo crecimiento, clorosis y deformación de frutos (AAIC, 2003). La utilización de herramientas que no hayan sido debidamente desinfectadas contribuye a la diseminación de la plaga. Los métodos químicos y biológicos son importantes para el control de la población de nematodos (Soria & Viteri, 1999).

2.1.4.2 Ácaros

Los ácaros o arañita roja son es una plaga que se encuentra fundamentalmente en las hojas jóvenes (Montenegro, 2009). Esta plaga está presente en el envés de las hojas formando colonias las cuales se alimentan de la savia (Fabara *et al.*, 1985; Soria, 1997). Su presencia en la zona apical provoca la formación de hojas débiles y pequeñas, un ataque severo de la plaga hacen que estos se alimenten del fruto haciendo que estos se tornen de color marrón disminuyendo su calidad (AAIC, 2003).

2.1.5 Enfermedades

2.1.5.1 Oídio

La presencia de *Oidium sp.* se presenta como manchas en el envés de las hojas, algunas de ellas cubiertas de polvo blanco, la presencia de la enfermedad se ve favorecida con una baja humedad ambiental. Dependiendo de la severidad de la enfermedad esta puede llegar a presentarse en hojas, peciolos y flores (Soria & Viteri, 1999).

2.1.5.2 Alternaría

Conocida como lancha, el agente causal es *Alternaria sp.* afecta principalmente a las hojas maduras. Los síntomas iniciales aparecen como manchas de color amarillento para luego tornarse de color marrón en las cuales se distinguen anillos concéntricos (Montenegro, 2009). Los periodos extensos de lluvia pueden influenciar positivamente en la presencia de la enfermedad pudiendo afectar casi al 80 % de las hojas y en algunos casos causar la defoliación total de la planta (Fabara *et al.*, 1985).

2.1.5.3 Fusariosis

Fusariosis o la marchites vascular del babaco, es una de las enfermedades de mayor importancia dentro del cultivo, inicialmente esta enfermedad tuvo presencia en los valles del norte del país, pero en la actualidad con la movilización del material de siembra ha contribuido con su diseminación en todo el país (Bravo *et al.*, 2012; Ochoa & Ellis, 2002).

La enfermedad fúngica es causada por el hongo imperfecto *Deuteromyces* perteneciente al género *Fusarium* (Bravo *et al.*, 2012). En el año 2000 Ochoa y Fonseca, caracterizaron morfológicamente al agente causal de la fusariosis asignándole el nombre de *Fusarium oxysporum* f. sp. *caricae*, hongo causante de la enfermedad conocida como marchites vascular. Para el año 2004 los mismos autores reclasificaron el nombre del microorganismo como *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae*, debido a que taxónomos reclasificaron el nombre del babaco de *Carica heilbornii* var. *pentagona* a *Vasconcella heilbornii* var. *pentagona* Badillo (Robles *et al.*, 2016).

2.1.5.3.1 Ciclo de vida del agente causal de la fusariosis

El agente causal de la fusariosis debe encontrarse en contacto con los órganos de las plantas, el cual ingresa por las aberturas naturales o heridas hacia el interior de la raíz (Agrios,

1995). En la corteza de la raíz se propaga el micelio y este al llegar a los vasos del xilema viaja hacia el ápice de la planta donde se ramifica e inicia la formación de microconidias que son separadas y transportadas hacia la parte superior de la planta con el torrente de savia (Agrios, 1995).

El micelio en el lugar que se detiene se expande a través de la planta consumiendo elementos nutritivos e impidiendo el paso de agua y savia (Sarasola & Rocca, 1975). La reproducción del hongo se efectúa a partir de tres clases de esporas asexuales que son denominadas microconidias y macroconidias que cumplen funciones tales como la diseminación y reproducción en la planta y las clamidósporas que son estructuras de resistencia a condiciones desfavorables (Llácer *et al.*, 1996, citado en Bravo *et al.*, 2012).

2.1.5.3.2 Sintomatología

La presencia de esta enfermedad fúngica inicialmente provoca clorosis de las hojas bajas de las plantas y conforme la infección va progresando puede ocasionar la caída prematura de flores, frutos acompañada de necrosamiento del ápice y la defoliación total de la planta (Bravo *et al.*, 2012).

Ochoa & Fonseca (1997), citado por Bravo *et al.*, (2012), establecieron una escala del desarrollo sintomático en las hojas babaco y de esta manera permitiendo realizar un control eficiente de la enfermedad.

Tabla 1

*Escala esquemática del desarrollo sintomatológico foliar de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae**

Nivel	Síntoma
0	Planta sana.
1	Clorosis en la hoja inferior de la planta.
2	Clorosis del 25 % del follaje.
3	Clorosis del 50 % del follaje. Defoliación moderada.

CONTINÚA



- 4 Clorosis del 75 % del follaje.
- 5 Clorosis total 100 % del follaje. Defoliación severa.
- 7 Necrosis inicial del ápice del tallo. Planta completamente defoliada.
- 9 Necrosis de más del 50% del tallo.

Fuente: Bravo *et al.*, (2012)

2.1.5.3.3 Manejo de la enfermedad

Para el manejo de la fusariosis se practican diferentes labores culturales entre las que se encuentra el riego localizado, la utilización de material vegetal libre de enfermedades (Fabara *et al.*, 1985). La utilización de patrones de *Carica papaya* L. y *Vasconcellea monoica* se constituyen como una alternativa eficiente que ayuda a retardar la presencia y desarrollo de la enfermedad permitiendo realizar un control químico oportuno (Ochoa & Ellis, 2002).

La utilización de productos químicos tales como Carbendazim y Propiconazol 25% son eficaces para el control de la enfermedad cuando está ha alcanzado un nivel 1 de sintomatología (Bravo *et al.*, 2012). Al detectar niveles de síntomas elevados es recomendable la eliminación de las plantas y posterior desinfección del lugar (Soria & Viteri, 1999).

2.2 Inducción de resistencia

La inducción de resistencia en las plantas involucra la activación los mecanismos defensivos de las plantas por medio del uso de inductores. Es importante saber que la actividad del inductor se debe a la capacidad de activar en la planta los mecanismos propios de defensa. Una planta que ha sido infectada o tratada con organismos atenuados de un patógeno puede adquirir resistencia a la enfermedad. Estudios realizados en papa inocularon una cepa avirulenta de *Phytophthora* derivó en una respuesta hipersensible con la acumulación de fitoalexinas (Da Silva *et al.*, 2008).

2.2.1 Resistencia local

Las plantas se encuentran en una constante relación planta-organismo patógeno, a esta resistencia se la puede dividir en compatible cuando el patógeno entra en contacto con la planta y causa enfermedad e incompatible en el momento en el que el patógeno ingresa a la planta que tiene activo su mecanismo de defensa y no provoca infección (Da Silva *et al.*, 2008).

Como respuesta al ingreso de organismos invasores hacia la planta se produce muerte celular, que es una reacción de defensa rápida y localizada (Riveros *et al.*, 2004). De esta forma microorganismos no compatibles pueden originar cambios radicales en la actividad metabólica celular y a este mecanismo se lo denomina reacción hipersensible, que se caracteriza por la limitación del crecimiento del patógeno en el lugar de la infección (Da Silva *et al.*, 2008).

2.2.2 Resistencia sistémica adquirida (RSA)

Las plantas que han sobrevivido al ataque de un agente patógeno pueden defenderse contra ataques subsiguientes este efecto es conocido como resistencia sistémica adquirida (Camarera & Torre, 2007). La resistencia se activa después de la infección de un agente patógeno de forma interna, local y sistémica tiene un amplio espectro comprobándose que su duración en ocasiones puede ser de varias semanas (Molina & Rodríguez, 2008).

La resistencia sistémica adquirida se manifiesta por la liberación de una señal en el lugar de la infección provocando necrosis y llevando la señal a diversas partes de la planta induciendo reacciones defensivas que protegen a la planta contra una infección siguiente (Da Silva *et al.*, 2008). La aplicación de ácido salicílico de forma externa en las plantas puede generar una respuesta idéntica a la provocada por el SAR (Molina & Rodríguez, 2008).

2.2.3 Resistencia sistémica inducida (RSI)

En la resistencia sistémica inducida el agente inductor no provoca síntomas en el lugar de la infección pero si induce a la planta la activación de los mecanismos de defensa para protegerse de ataques de patógenos (Da Silva et al., 2008). Es una importante opción para el control de enfermedades, involucra agentes inductores externos que son reconocidos internamente en la planta. Este proceso tiene como finalidad el aumento de la resistencia en las plantas, la cual puede ser local o en un lugar distante en el que sucedió la infección (Gómez & Reis, 2011).

La resistencia de plantas contra los patógenos consta de la activación de una serie de sistemas de defensa, en el que la planta reconocerá al patógeno, emitirá una señal y activará sus mecanismos de defensa con la producción de metabolitos secundarios (Van Loon & Van Strien, 1999).

2.3 Mecanismos de defensa de las plantas

Los mecanismos de defensa de las plantas pueden clasificarse en barreras bioquímicas y barreras estructurales como estrategias de protección contra agentes patógenos (Da Silva *et al.*, 2008).

2.3.1 Barreras estructurales

Las barreras estructurales son conocidas como defensas pasivas o estáticas entre las que se tiene a las cutículas cerosas, tricomas, espinas que le confieren a la planta una ventaja sobre el agente perjudicial (Da Silva *et al.*, 2008). Las barreras estructurales representan cualidades anatómicas y estructurales propias de las plantas constituyéndose como la primera línea de defensa contra patógenos (War *et al.*, 2012).

2.3.2 Barreras bioquímicas

Las barreras de defensa de las plantas contra patógenos se pueden activar con la presencia del patógeno o sus productos (Da Silva *et al.*, 2008) a través de diferentes mecanismos de defensa como la acumulación de metabolitos secundarios entre los que se encuentran fenoles, fitoalexinas, lectinas, taninos entre otros (Riveros *et al.*, 2004).

2.4 Metabolitos secundarios implicados en defensa

Los metabolitos secundarios son derivados del metabolismo primario cumplen diversas funciones para las plantas interviniendo en su protección contra el ataque de agentes patógenos (Rojas *et al.*, 2015). Para la síntesis de metabolitos secundarios es necesario una buena cantidad de energía proveniente del metabolismo primario (Ragsdale & Sisler, 1994).

2.4.1 Fitoalexinas

Las fitoalexinas son compuestos de bajo peso molecular que son sintetizados después de que ha ocurrido una infección, estrés, daños mecánicos o agentes químicos. Estos metabolitos son producidos en células sanas que se encuentran cerca de las células dañadas. El proceso de resistencia se produce cuando las fitoalexinas han alcanzado una concentración perceptible (Mateos & Leal, 2007).

2.4.2 Flavonoides

Los flavonoides son compuestos de origen fenólico por el hecho de poseer anillos bencénicos en su estructura. Existen diferentes tipos de flavonoides entre los más comunes se encuentran las flavonas y flavonoles que están presentes en diversos vegetales. Entre las características principales atribuidas a estos compuestos se encuentran las propiedades antialérgica, antiulcérica y antiinflamatoria (Rojas *et al.*, 2015).

2.4.3 Terpenoides y esteroides

Los terpenoides y esteroides son compuestos volátiles que tienen varias funciones biológicas constituyéndose como una fuente de actividad antiséptica en contra de organismos patógenos. Como ejemplos de terpenoides más comunes se pueden citar a la canela, menta y tomillo (Ragsdale & Sisler, 1994).

2.4.4 Alcaloides

Los alcaloides con metabolitos que tienen como característica principal la presencia de nitrógeno en su estructura, algunos de estos compuestos son insolubles en agua y pueden reaccionar con los ácidos para la formación de sales. Son sintetizados a partir de aminas entre los alcaloides más conocidos están el ácido nicotínico, la cocaína, la morfina y la cafeína (Rojas *et al.*, 2015).

2.4.5 Fenoles

Los compuestos fenólicos están constituidos por un anillo bencénico el cual puede contener uno o varios grupos hidroxilo dividiéndose en ácidos fenólicos, estríbenos y lígnanos (Valls *et al.*, 2000). Son de origen vegetal, asociados con la defensa de las plantas contra probables ataques de hongos y bacterias, presentes en la pigmentación de varias partes de las plantas (Creus, 2004). La síntesis de este tipo de compuestos está relacionada con el retículo endoplasmático de las células (Da Silva *et al.*, 2008). Estas sustancias pueden proteger a las células disminuyendo el daño ocasionado las enfermedades (Gutiérrez *et al.*, 2008).

Los fenoles engloban un grupo grande de compuestos aromáticos generalmente clasificados por el número de carbonos presentes en su estructura. La exposición de las plantas al estrés producto de la interacción con organismos patógenos provoca la acumulación de fenoles a nivel

de la epidermis de los tejidos vegetales representando una alternativa para el control de organismos infecciosos en la producción agrícola (Bhattacharya *et al.*, 2010).

2.5 Elicitores

Los elicitores son sustancias químicas de diversos orígenes biótico y abiótico, que tienen la capacidad de incitar en un organismo cambios fisiológicos. Los inductores de origen bióticos pueden provenir de hongos, bacterias, virus, componentes de la pared celular (Zhao *et al.*, 2005). Elicitores abióticos son de origen químico, entre los que se encuentran iones de metales pesados, radiación UV. En la actualidad son utilizados como activadores del sistema defensivo de las plantas (Ozeretskoykaya & Vasyukova, 2002; Riveros *et al.*, 2004).

Entre las sustancias comúnmente utilizadas se encuentra el ácido salicílico, salicilato de metilo, benzotriazol, ácido benzoico, quitosano, entre otras. Estas sustancias tienen la facultad de producir compuestos fenólicos y diferentes enzimas relacionadas con la defensa de las plantas (Thakur & Sohal, 2013). La aplicación de estos inductores sobre la superficie de las plantas comúnmente genera respuesta de protección de las plantas (Mejía, 2014).

2.6 Fitohormonas

Las fitohormonas o hormonas vegetales son moléculas que se encuentran involucradas en procesos fisiológicos y bioquímicos, además están implicadas en la inducción de la respuesta a la invasión por patógenos (Porta & Jiménez, 2019). Los fitorreguladores son producidos por las plantas en lugares distintos a los que actúan son compuesto de origen vegetal (Quilambaqui, 2003).

Las fitohormonas a partir de una red de señales inician un proceso de defensa contra organismos patógenos, estas desempeñan un rol importante en las plantas con funciones tales

como crecimiento, desarrollo y defensa. El ácido salicílico, metil jasmonato y etileno cumplen un papel fundamental en las vías de transducción de señales de defensa (War *et al.*, 2012).

2.6.1 Jasmonatos

El ácido jasmónico y todos sus compuestos derivados son considerados como mediadores que incitan la señalización para la acumulación de metabolitos secundarios en las plantas como son los flavonoides, alcaloides, terpenoides y fenilpropanol. La aplicación externa de metil jasmonato estimula la síntesis de metabolitos secundarios (Zhao *et al.*, 2005).

El metil jasmonato es un éster metílico derivado del ácido jasmónico. La utilización de estos compuestos incrementar la concentración de compuestos fenólicos, en post –cosecha incremental la vida útil de frutas y vegetales. La aplicación de jasmonatos han incrementado la concentración de compuestos fenólicos y antocianos (Portu, 2017). Los jasmonatos, aumentan la reacción contra ataques de insectos, infecciones causadas por patógenos y por actividades mecánicas. Además de las funciones de defensa por parte de los jasmonatos se ha determinado la participación de estos en la maduración de semillas, producción de polen, crecimiento de raíces (Cruz *et al.*, 2003).

2.6.2 Ácido salicílico

El ácido es una hormona vegetal que forma parte de los compuesto fenólico que se encuentra presente en todos los vegetales, implicado en del desarrollo y crecimiento de los de las plantas, así como en la actividad fotosíntesis y transpiración (Cruz *et al.*,2003). Esta hormona vegetal tiene una gran movilidad; pero un tiempo de vida muy corto (Mogollón & Castaño, 2011). Es una fitohormona que desempeña una función importante promoviendo la activación del sistema defensivo de las plantas en contra de tensiones bióticas y abióticas (War *et al.*, 2011) y como respuesta al ataque de fitopatógenos (Loake & Grant, 2007).

Además de lo anterior mencionado el ácido salicílico tiene un efecto positivo sobre el crecimiento y desarrollo de los vegetales, es un inductor esencial, para la instauración de la resistencia sistémica adquirida. En el momento en el que las plantas son afectadas por los patógenos el ácido salicílico se concentra rápidamente en el lugar de la infección, dando como resultado la respuesta hipersensible de la planta difundiéndose hacia otras partes de la misma e induciendo una alta gama de repuestas defensivas (Zhao *et al.*, 2005).

2.6.3 Manitol

El manitol es un azúcar propio de la síntesis de plantas superiores, que es transportado a través del floema hacia los conocidos órganos vertederos (raíz, fruto), en estos lugares se encuentra la enzima manitol deshidrogenasa que es la ruta enzimática para la asimilación del manitol a través de la transformación de manitol a manosa (Loescher *et al.*, 1992; Stoop & Pharr, 1993).

El manitol es una sustancia química inerte, no toxica utilizada frecuentemente para simular el déficit hídrico. Entre las ventajas de la utilización de manitol se encuentran la tolerancia a la salinidad, estrés osmótico y una posible respuesta de las plantas al ataque de patógenos (Ávila *et al.*, 2007). Esta sustancia puede desempeñar un rol importante en el estrés producido en la interacción planta patógeno (Stoop & Pharr, 1993).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Área de estudio

El proyecto de investigación se instaló en el invernadero de silvicultura de la Hacienda El Prado, provincia de Pichincha en el cantón Rumiñahui, parroquia San Fernando. Los análisis de laboratorio se los realizo en las instalaciones de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE y de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria.

3.2 Ubicación geográfica facultad de Ingeniería Agropecuaria IASA I.

Altitud: 2748 m.s.n.m.

Latitud: 0°23'11.16" S.

Longitud: 78°25'1,56" O.

3.3 Ubicación ecológica

Precipitación: 1332,72 mm

Altitud: 2748 m.s.n.m.

Temperatura promedio: 13,96 °C.

Zona de vida: Bosque húmedo.

Piso altitudinal: Montano bajo.

3.4 Materiales

3.4.1 Reactivos

Manitol, ácido salicílico, metil jasmonato, PDA, ácido gálico, reactivo de Folin – Ciocalteu, carbonato de sodio, Buffer acetato, cloruro férrico, sulfato ferroso (los reactivos fueron proporcionados por la Ph.D. Raluca Mihai directora de tesis).

3.5 Métodos

La metodología descrita a continuación se dividió en dos secciones. La primera parte se estableció para determinar el mejor tratamiento en cuanto a la producción de metabolitos secundarios. La segunda parte fue establecida para evaluar el efecto de los elicitores sobre la disminución de la incidencia y severidad de la enfermedad fusariosis en plantas de babaco.

3.5.1 Determinar el efecto de dos dosis de elicitores (Ácido salicílico, Metil jasmonato y Manitol) sobre la producción de fenoles y crecimiento de plantas de babaco

3.5.1.1 Diseño experimental

3.5.1.1.1 Factores a probar

La presente investigación está conformada por los tratamientos descritos en la Tabla 2.

Tabla 2

Descripción de los tratamientos evaluados en plantas de babaco

N.º	Nomenclatura	Descripción
T1	T0	0 mM
T2	Mj10	10 mM de metil jasmonato (Portu, 2017).
T3	Mj30	30 mM de metil jasmonato
T4	As10	10 mM de ácido salicílico (Mejía, 2014).
T5	As20	20 mM de ácido salicílico
T6	M100	100 mM de manitol
T7	M130	130 mM de manitol

3.5.1.1.2 Tipo de diseño experimental

Para la investigación se empleó una estructura de parcela completamente al azar (DCA) y 4 repeticiones por tratamiento.

3.5.1.1.3 Características de las unidades experimentales

Las unidades experimentales estuvieron constituidas por fundas plásticas de 20 x 20 cm mismas que contenían una planta de babaco, dispuestas a 20 cm entre cada funda. Los tratamientos se distribuyeron de forma aleatoria en el campo.

3.5.1.1.4 Croquis experimental

As10	M100	Mj10	Mj30	As20	Mj30	T0
Mj10	T0	Mj30	As10	M130	T0	Mj10
M100	M130	As10	T0	Mj10	M130	As20
As20	M100	M130	As20	Mj30	M100	As10

Figura 1 Distribución aleatoria de los tratamientos.

3.5.1.1.5 Esquema de análisis de varianza

Tabla 3

Análisis de varianza para determinar la mejor dosis de elicitador para la producción de fenoles.

F de V	Gl
Tratamientos	6
Error	21
Total	27

F de V: fuentes de variación.; gl: grados de libertad.

3.5.1.1.6 Modelo matemático

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde: μ = Media general

T_i = Efecto del i – ésimo tratamiento.

ε_{ij} = Error experimental

3.5.1.1.7 Coeficiente de variación

El coeficiente de variación es un índice que mide el porcentaje (%) de error con respecto a la media, los valores altos del coeficiente de variación, indican que existe alta variabilidad en los datos, por lo tanto, no estarían respaldando una verdadera evaluación de los tratamientos y en definitiva la credibilidad de los resultados y del experimento en general.

$$CV = \delta / (\bar{X}) * 100$$

En donde: CV = Coeficiente de variación

δ = Desviación estándar

\bar{X} = Media

3.5.1.1.8 Análisis funcional

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete informático INFOSTAT, en el que se realizó un análisis de varianza (ANAVA) y para la determinación de una diferencia mínima significativa se realizó una prueba de comparación de medias de LSD Fisher al 95 % de confiabilidad (Di Rienzo *et al.*, 2015).

3.5.1.2 Variables a medir

3.5.1.2.1 Fase de campo

3.5.1.2.1.1 Altura de la planta

Se registraron las alturas de las plantas con la ayuda de regleta partiendo del brote hasta el ápice (Delgado, 2014). Las mediciones fueron realizadas a los 0, 15 y 30 días (Cueva, 2007).

3.5.1.2.1.2 Diámetro del tallo

El diámetro del tallo se lo midió con la ayuda de un calibrador pie de rey, midiendo en la base del brote de la planta, las mediciones fueron realizadas a los 0, 15 y 30 días (Cueva, 2007).

3.5.1.2.2 Fase de laboratorio

3.5.1.2.2.1 Contenido de fenoles totales

Para la determinación del contenido de fenoles totales se agregó 2mL de agua destilada en un tubo de ensayo, 0,4 mL de los extractos y 0,4 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, a la mezcla se la dejó reposar durante un periodo de 5 minutos en la obscuridad. Transcurrido el tiempo se

agregó a la solución 0,4 mL de Na_2CO_3 al 20% y por último se agregó 0,8 mL de agua destilada dejándola reposar por un una hora en la oscuridad. Se empleó como blanco siguiendo la misma metodología utilizando 0,4 mL de metanol en lugar de los extractos. Para establecer la curva estándar, se utilizó ácido gálico en concentraciones que van desde los 50 hasta los 800 mg/L aplicando el mismo procedimiento que las muestras, midiendo las absorbancias a una longitud de onda de 765 nm. El contenido de fenoles se lo expresó en miligramos equivalentes de ácido gálico (Machu *et al.*, 2015).

3.5.1.2.2 Determinación del carácter antioxidante con método FRAP

Los análisis se los expreso en μmol de Fe^{2+} por gramo de muestra. Para la determinación del carácter antioxidante, se preparó una solución 0,3 M de buffer acetato de sodio ajustada a un pH de 3,6 con ácido acético, una solución de TPTZ 10 mM disuelto en HCl 40mM y por ultimo una solución de cloruro férrico 20 mM. Se realizó una mezcla de las soluciones en una relación 10: 1: 1 de buffer acetato, TPTZ y cloruro férrico respectivamente, denominado a esta mezcla como el reactivo de FRAP. Para el proceso de las muestras se empleó este reactivo en fresco utilizado 3mL de reactivo y 100 μL de extracto dejándola reposar por 4 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Para el blanco se utilizó la misma metodología utilizando 100 μL de metanol en lugar de los extractos. Se estableció una curva estándar de sulfato ferroso en concentraciones que van desde los 100 hasta los 2000 μM midiendo las absorbancias a una longitud de onda de 593 nm (Benzie & Strain, 1996).

3.5.1.3 Métodos específicos del manejo del experimento

3.5.1.3.1 Establecimiento de plantas

Para el establecimiento de las plantas se realizó previamente una nivelación y limpieza del lugar. Los sustratos fueron preparados previos al trasplante de la siguiente manera: se realizó una mezcla de tres partes de tierra negra, una de humus y una de cascarilla de arroz en una relación 3-1-1.

3.5.1.3.2 Labores culturales

Las labores culturales tales como riego, deshierba, fertilización se realizaron de acuerdo a los requerimientos del cultivo durante el periodo de la investigación.

3.5.1.3.3 Aplicación de elicitores

La aplicación de los tratamientos según Mejía (2014), se realizaron dos aplicaciones al día 1 y después de 15 días después de la primera aplicación, con 30 mL de cada tratamiento en las plantas correspondientes.

3.5.1.3.4 Colecta y preparación de muestras

El muestreo se efectuó acorde a las dos aplicaciones de elicitores. El primer muestreo se realizó antes de la primera aplicación e inmediatamente después de las dos horas, así como a los 7 días después de la primera aplicación (Mejía, 2014). Se tomaron muestras de hojas completamente expandidas las cuales se dejaron secar al ambiente y se molieron. Para la extracción alcohólica se pesó 1 g de muestra y se agregó 10 mL de metanol dejando reposar durante un periodo de 12 horas a una temperatura de 4 °C y se filtraron los extractos.

3.5.2 Evaluar el efecto de la inoculación con *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* en plantas de babaco tratadas con elicitores sobre severidad e incidencia.

3.5.2.1 Diseño experimental

3.5.2.1.1 Factores a probar

Se determinó la severidad e incidencia causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* en plantas de babaco tratadas con elicitores y en plantas no tratadas mediante la utilización de una prueba T.

3.5.2.1.2 Tratamientos

Tabla 4

Descripción de tratamientos de la investigación.

Plantas	Número de plantas	Inoculación	Nomenclatura
Tratadas	8	1x10 ⁴ esporas	T
No tratadas	8	1x10 ⁴ esporas	NT

T= plantas tratadas; NT= plantas no tratadas.

3.5.2.1.3 Características de las unidades experimentales

Las unidades experimentales estarán constituidas por fundas plásticas de 20 x 20 cm mismas que contenían una planta de babaco tratadas y no tratadas, dispuestas a 20 cm entre cada funda plástica distribuyéndose de forma aleatoria en el campo.

3.5.2.1.4 Croquis experimental

T	NT	T	NT
NT	T	NT	T
T	NT	T	NT
NT	NT	T	T

Figura 2 Distribución aleatoria de los tratamientos.

3.5.2.2 Variables a medir

3.5.2.2.1 Severidad externa

Para la determinación de la severidad se realizó una observación a los 30 días después de la inoculación con *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* en base a la escala de severidad externa producida por la enfermedad revisar (Tabla 1) (Cueva, 2007).

Los datos obtenidos a partir de la escala no representan el grado real de severidad externa para lo cual los datos fueron transformados mediante la utilización de la siguiente fórmula (Robles *et al.*, 2014).

$$S = \left(\frac{\sum(a \times b)}{(n \times k)} \right) \times 100$$

Donde:

S= severidad o grado de ataque de la enfermedad.

$\sum(a \times b)$ = sumatoria de número de plantas según el grado de afectación (0, 1, 2, 3, 4, 5)

n= número de plantas evaluadas.

K= valor o grado mayor de la escala.

3.5.2.2.2 Incidencia

La incidencia de la enfermedad se la midió a los 30 días después de la inoculación con el agente patógeno. Para determinar la incidencia causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* se utilizó la siguiente fórmula (Wolcan *et al.*, 2001 citado por Lucero, 2014).

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{Número de hojas enfermas}}{\text{Total de hojas}} \times 100$$

3.5.2.3 Métodos específicos del manejo del experimento

3.5.2.3.1 Aislamiento y purificación del microorganismo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae*

Se aisló el agente patógeno a partir de las muestras obtenidas de plantas que presentaban síntomas clásicos de la enfermedad. Con la finalidad de eliminar los elementos contaminantes se realizó un lavado y desinfección de las muestras con una solución de hipoclorito de sodio al 2.5 % durante 1 minuto y con alcohol al 70 % durante tres minutos y por último se realizó un lavado con agua destilada (Robles *et al.*, 2013). Las secciones desinfectadas fueron cortadas en partes más pequeñas y se utilizaron para la siembra en cajas Petri, incubadas durante 4 días a 26 °C. Para el proceso de purificación se tomó parte del aislado y se lo transfirió a nuevas cajas Petri (Cueva, 2007).

3.5.2.3.2 Inoculación con patógeno

Para la preparación de la solución de 1×10^4 esporas por mL del agente patógeno se hizo un conteo de esporas con la ayuda de la cámara de Neubauer (Cueva, 2007). La inoculación se la realizó 5 días después de la primera aplicación con manitol 100 mM utilizando 30 ml de solución de esporas (Mejía, 2014).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

4.1.1 Cuantificación de fenoles

Para el análisis de varianza del contenido de fenoles, se realizó una transformación a la potencia 2 de los datos correspondientes a las 0 horas para cumplir con los supuestos del análisis de varianza y una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para los datos correspondientes a los siete días después de la primera aplicación de elicitores. Los promedios generales correspondientes a los muestreos fueron 11,37; 10,587; 7,21 (mg-Eq AG/ g de muestra), para las evaluaciones correspondientes a las cero horas (0 h), dos horas después de la primera aplicación de elicitores (2 hdpa), y siete días después de la primera aplicación de elicitores (7 ddpa), con coeficientes de variación de 14,66%; 13,29% respectivamente.

Tabla 5

Promedio ± error estándar del contenido de fenoles para las 0 horas, 2 horas después de la primera aplicación de elicitores y 7 días de la primera aplicación de elicitores

Tratamiento	Contenido de fenoles (mg-Eq AG/ g de muestra).		
	0 h	2 hdpa	7 ddpa ¹
	ns	ns	
0 Mm	11,44 ±0,43	10,09 ±0,29	6,64 ±0,27 ab
10 mM de metil jasmonato	10,95 ±1,1	10,57 ±0,52	7,16±0,55 ab
30 mM de metil jasmonato	10,44 ±0,6	9,97 ±0,45	7,72 ±1,16 ab
10 mM de ácido salicílico	10,71±1,07	11,18 ±0,79	6,59 ±0,57 ab
20 mM de ácido salicílico	10,78 ±1,25	10,19 ±0,56	6,3 ±0,18 b
100 mM de manitol	12,71±0,61	11,26±0,93	8,24 ±0,23 a
130 mM de manitol	11,74 ±0,24	10,83 ±1,05	7,81 ±0,42ab

Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher; $p > 0,05$). h= horas, hdpa= horas después de la primera aplicación, ddpa= días después de la primera aplicación. No significativo, ns; *, significativo a $p \leq 0,05$; **, significativo a $p \leq 0,01$. h= horas, hdpa= horas después de la primera aplicación, ddpa= días después de la primera aplicación; 1 = ddpa¹= prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para días después de la primera aplicación.

El análisis de varianza del contenido de fenoles no mostro diferencias significativas entre tratamientos a las 0 horas ($F= 0,91$; $p= 0,5044$) y dos horas después de primera aplicación ($F= 0,56$; $p= 0,7585$).

La prueba no paramétrica de Kruskal- Wallis para el contenido de fenoles realizada a los 7 días después de la primera aplicación, las plantas tratadas con una dosis de 100 mM de manitol presentaron la mayor concentración de fenoles (8,24 mg-Eq AG/ g de muestra), con respecto a los demás tratamientos.

4.1.2 Carácter antioxidante método de FRAP

Se realizó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para los datos correspondientes a las 2 horas después de primera aplicación y 7 días después de primera aplicación. Los promedios generales en los muestreos fueron 104,322; 100,663 y 55,704 (μM de Fe/g de muestra) correspondiente a las cero horas (0 h), dos horas después primera aplicación de elicitores (2 hdpa) y siete días después de primera aplicación de elicitores (7 ddpa) (Tabla 6).

Tabla 6

Promedio \pm error estándar del carácter antioxidante para las 0 horas, 2 horas después de la primera aplicación de elicitores y 7 días después de la primera aplicación de elicitores.

Tratamiento	Carácter antioxidante (μM de Fe/g de muestra)		
	0 h	2 hdpa ¹	7 ddpa ¹
	ns		
0 mM	104,43 \pm 5,1	97,09 \pm 1,18	54,13 \pm 9,49
10 mM de metil jasmonato	103,5 \pm 10,6	104,98 \pm 3,23	50,17 \pm 7,1
30 mM de metil jasmonato	89,97 \pm 8,81	105,52 \pm 8,31	55,73 \pm 7,14
10 mM de ácido salicílico	104,01 \pm 15,9	107,5 \pm 8,13	53,2 \pm 5,53
20 mM de ácido salicílico	97,3 \pm 9,23	91,79 \pm 5,79	52,19 \pm 2,94
100 mM de manitol	117,73 \pm 6,79	99,92 \pm 11,97	64,71 \pm 2,24
130 mM de manitol	113,32 \pm 5,97	107,59 \pm 13,37	59,78 \pm 10,62

No significativo, ns; *, significativo a $p \leq 0,05$; **, significativo a $p \leq 0,01$. h= horas, hdpa= horas después de primera aplicación, ddpa= días después de primera aplicación. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher; $p > 0,05$). h= horas, hdpa¹= prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para horas después de la primera aplicación, ddpa¹= prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para días después de la primera aplicación.

El análisis de varianza para el carácter antioxidante de plantas de babaco no mostro diferencias significativas entre tratamientos a las 0 horas ($F= 0,95$; $p= 0,4824$).

La prueba no paramétrica de Kruskal- Wallis no presento diferencias significativas entre tratamiento para las 2 horas después de primera aplicación y a los 7 días después de primera aplicación, sin embargo para los 7 días después de la primera aplicación se obtuvo el mayor valor en cuanto al carácter antioxidante ($64,75 \mu\text{M}$ de Fe/g de muestra)(Tabla 6).

4.1.3 Relación entre los métodos para determinar el contenido de fenoles y capacidad antioxidante

El método Folin-Ciocalteu se correlaciono positivamente, con el método FRAP para las 0 h ($r= 0,896$; $p= 1,2\text{E}-10$), 2hdpa ($r= 0,74$; $p=6,7\text{E}-6$), 7 ddpa ($r= 0,3$; $p= 1,1\text{E}-5$) (Tabla 7).

Tabla 7

Coefficientes de correlación de Pearson entre los métodos utilizados para determinar el contenido de fenoles y capacidad antioxidante

	0 h		2 hdpa		7 ddpa	
	r	p	r	p	r	p
Folin- FRAP	0,896	1,20E-10*	0,74	6,70E-06*	0,3	1,10E-05*

No significativo, ns; *, significativo a $p \leq 0.05$. h= horas, hdpa= horas después de la primera aplicación, ddpa= días después de la primea aplicación.

4.1.4 Altura de la planta

Para la altura de las plantas de los datos correspondientes a los 15 y 30 días se realizó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Tabla 8).

Tabla 8

Promedio \pm error estándar para las alturas de plantas de babaco para los 0, 15 y 30 días

Tratamiento	Altura (cm).		
	0 días	15 días ¹	30 días ¹
	ns		
0 Mm	10,98 \pm 0,59	11,08 \pm 0,58 ab	11,9 \pm 0,64 ab
10 mM de metil jasmonato	10,48 \pm 0,35	10,9 \pm 0,26 ab	11,53 \pm 0,28 ab
30 mM de metil jasmonato	10,28 \pm 0,96	10,7 \pm 0,98 b	10,95 \pm 0,96 b
10 mM de ácido salicílico	10,15 \pm 0,47	10,83 \pm 0,34 ab	11,35 \pm 0,33 ab
20 mM de ácido salicílico	10,13 \pm 0,18	10,73 \pm 0,3 ab	11,28 \pm 0,27 ab
100 mM de manitol	11,4 \pm 0,53	12,25 \pm 0,31 a	12,75 \pm 0,26 a
130 mM de manitol	10,2 \pm 0,62	10,83 \pm 0,67 ab	11,47 \pm 0,67 ab

No significativo, ns; *, significativo a $p \leq 0.05$; **, significativo a $p \leq 0.01$. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher; $p > 0,05$). 15 días¹=prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis; 30 días¹= prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

El análisis de varianza de las alturas a los 0 días, no presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($F= 0,74$; $p= 0,623$). En la prueba no paramétrica de Kruskal- Wallis para las mediciones de las alturas realizadas a los 15 días y 30 días, las plantas correspondientes a T6= (100 mM de manitol) 12,25 cm a los 15 días y 12,75 cm a los 30 días presentaron un mayor incremento de altura comparado con los demás tratamientos.

4.1.5 Diámetro del tallo

Para el análisis de varianza del diámetro del tallo, se realizó una transformación a la potencia 2 los datos de las evaluaciones correspondientes a los 0 y 15 días, para cumplir con los supuestos del análisis de varianza. Los promedios generales y coeficientes de variación de las mediciones para los 0 días (0,848cm y 12,97%); 15 días (0,878cm; 12,52%) y 30 días (0,909; 11,001%).

Tabla 9

Promedio ± error estándar para el diámetro de plantas de babaco para los 0 días, 15 días y 30 días

Tratamiento	Diámetro (cm).		
	0 días	15 días	30 días
	ns	ns	ns
0 mM	0,77±0,04	0,79±0,04	0,83±0,03
10 mM de metil jasmonato	0,79±0,06	0,81±0,06	0,84±0,06
30 mM de metil jasmonato	0,9±0,07	0,94±0,07	0,96±0,06
10 mM de ácido salicílico	0,82±0,05	0,85±0,05	0,89±0,05
20 mM de ácido salicílico	0,92±0,9	0,92±0,05	0,97±0,05
100 mM de manitol	0,09±0,06	0,92±0,06	0,92±0,05
130 mM de manitol	0,86±0,01	0,93±0,02	0,97±0,04

No significativo, ns; *, significativo a $p \leq 0.05$; **, significativo a $p \leq 0.01$.

(LSD Fisher; $p > 0,05$).

En la tabla anterior (Tabla 9) se muestra que no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos a los 0 días ($F= 1,13$; $p= 0,3783$), 15 días ($F= 1,36$; $p= 0,2777$) y 30 días ($F= 1,43$; $p= 0,25$).

4.1.6 Severidad externa

Se evaluó la severidad externa en plantas de babaco, a los 30 días después de la inoculación con *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae*, obteniendo un mayor índice de severidad en el grupo de plantas no tratadas (8,33%), comparado con las plantas tratadas con 100 mM de manitol que obtuvo una un menor grado de severidad (6,94%).

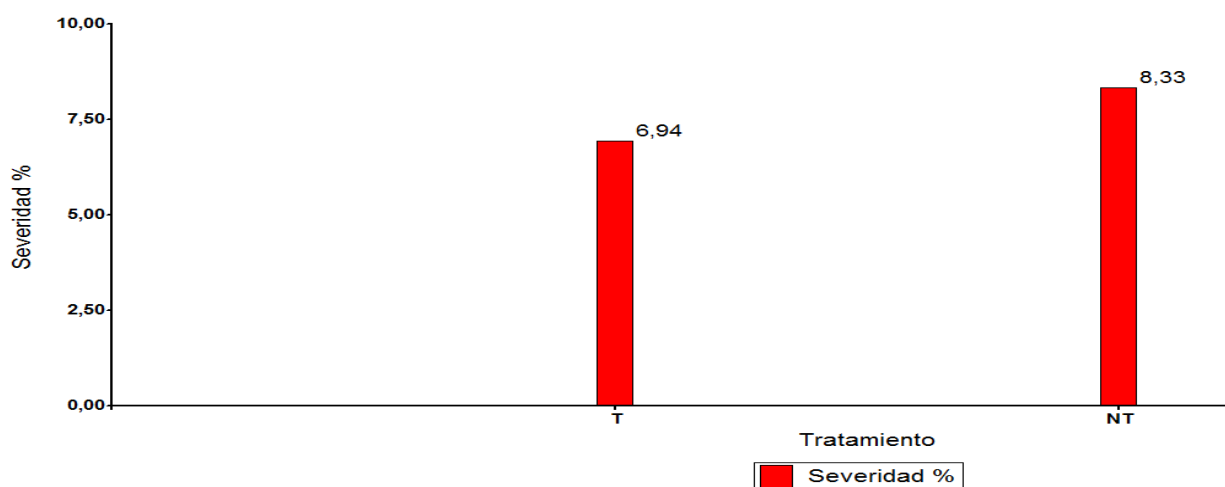


Figura 3 Severidad externa ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* en plantas de babaco.

4.1.7 Incidencia

Para la evaluación a los 30 días después de inoculación con *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* no se obtuvo diferencias significativas entre las medias de los porcentajes de incidencia ($p= 0,3756$). Sin embargo se pudo determinar que las plantas tratadas obtuvieron un menor porcentaje de incidencia que las plantas no tratadas con elicitores (Tabla 10).

Tabla 10

Prueba T para la incidencia Fusarium oxysporum f. sp. *vasconcellae* en plantas de babaco.

Tratamiento	n	Incidencia (%)	T	p- valor	GL
T	8	5,56± 1,66	0,92	0,3756	14
NT	8	7,77± 1,75			

4.2 Discusión

La presente investigación proporciona información relacionada con la producción de fenoles, metabolitos implicados en la defensa; carácter antioxidante, como medida de protección de la planta contra patógenos y crecimiento de plantas tratadas con elicitores. Para poder seleccionar el mejor tratamiento en cuanto a la producción de metabolitos secundarios de defensa y a la disminución de incidencia y severidad de fusariosis en plantas de babaco.

Los metabolitos secundarios se obtienen como producto procedente del metabolismo primario que tienen varias funciones en las plantas como las relacionadas con la defensa contra virus, hongos, herbívoros y bacterias además de ser una fuente importante en la medicina aportando gran cantidad de compuestos activos (Pérez & Jiménez, 2011).

4.2.1 Contenido de fenoles

En plantas evaluadas a los 7 días después de primera aplicación de elicitores se obtuvo la mayor concentración de fenoles 6,59 mg- Eq AG/ g de muestra, correspondiente al tratamiento 6 con 100 mM de manitol comparado con las concentraciones correspondientes a los demás tratamientos evaluados. El resultado concuerda con la investigación realizada por Mejía (2014), en *Capsicum annuum* L. donde se probó que la utilización de elicitores incrementa el contenido de fenoles, obteniendo como mejor resultado la aplicación de una concentración de 6 mM de H₂O₂ en comparación con los demás tratamientos.

4.2.2 Carácter antioxidante

Durante el periodo de duración de las evaluaciones realizadas se obtuvieron incrementos en el carácter antioxidante de las plantas tratadas con elicitores, obteniendo como mejor resultado al tratamiento 6 correspondiente a 100 mM manitol, respecto a los demás tratamientos. Los resultados obtenidos en la presente investigación concuerdan con los estudios realizados por Nieto *et al.* (2018), en *Heterotheca inuloides* Cass. en el cual se probaron elicitores, obteniendo capacidad antioxidante mayor en plantas tratadas con una dosis de 0,5 y 1 mM de ácido salicílico.

Se pudo observar correlaciones positivas entre las técnicas para la cuantificación de fenoles y carácter antioxidante. Esto debido a que en varios estudios relacionan el contenido de fenoles con la capacidad antioxidante, esta correlación no solo dependerá de la concentración y calidad

antioxidante sino que también con la interacción con otros componentes, sustancias utilizadas para la extracción y metodología utilizada para determinar el contenido de fenoles y carácter antioxidante (Kuskoski *et al.*, 2009).

4.2.3 Altura y diámetro de las plantas de babaco

Durante el periodo de duración del experimento no se obtuvieron diferencias significativas en cuanto al diámetro de las plantas. El tratamiento correspondiente a 100 mM de manitol presento un mayor incremento en cuanto a la altura de la planta obteniendo 12,25 cm (15 días) y 12,5 cm (30 días) en comparación con los demás tratamientos. El resultado concuerda con el estudio realizado por Larqué *et al.*, (2010), donde la aplicación del elicitor ácido salicílico (0,01 y 1µM) tiene un efecto positivo en el crecimiento de las plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* cv. Maya).

4.2.4 Severidad

En cuanto al grado de severidad ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* se obtuvo un menor grado de severidad en las plantas tratadas con 100 mM de manitol con un porcentaje de un 6,94 % respecto al 8,33% de las plantas testigo. Resultados que concuerdan con el estudio realizado por Mejía (2014), reportando que la aplicación de elicitores tuvo un efecto positivo sobre la severidad de la enfermedad tizón en las plantas de *Capsicum annuum* L.

4.2.5 Incidencia

Para la evaluación realizada a los 30 días después de la inoculación con *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* se obtuvo una menor incidencia de la enfermedad en las plantas tratadas con manitol 100 mM 5,56 % lo que concuerda con lo expresado por Mejía (2014) quien indica que la utilización de estos inductores (elicitores) ayudan a reducir o retrasar la presencia de síntomas de enfermedad.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Con la aplicación de elicitores en plantas de babaco se logró una alta producción de metabolitos secundarios en calidad de fenoles (8,24 mg- Eq AG/ g) a los 7 días después de la primera aplicación de 100 mM de manitol.

Las plantas de babaco tratadas con 100 mM de manitol presentaron un menor grado de severidad externa causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* 6,94 % e incidencia de la enfermedad de 5,56%.

La concentración de 100 mM de manitol permitió obtener la mayor concentración de fenoles (8,24 mg- Eq AG/g de muestra) y el mejor crecimiento de las plantas de babaco a los 15 días (12,25 cm) y 30 días (12,75 cm) con respecto a los demás tratamientos.

Al evaluar el efecto de la inoculación con *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasconcellae* en plantas de babaco se determinó que el menor grado de severidad (6,94 %) e incidencia de la enfermedad (5,56 %) corresponde a las plantas tratadas con una dosis de 100 mM de manitol.

Con la aplicación de elicitores en plantas babaco se obtuvo una asociación positiva entre el contenido de fenoles y carácter antioxidante en plantas tratadas a los 7 días con una dosis de 100 mM de manitol.

5.2 Recomendaciones

Con la finalidad de incrementar la concentración de metabolitos secundarios en plantas de babaco, se recomienda usar elicitores en concentración de 100 mM de manitol.

Realizar estudios en distintas etapas fisiológicas de las plantas de babaco para determinar si la concentración de metabolitos secundarios incrementa.

Probar ensayos con elicitores para determinar si su uso influye positivamente en la resistencia de babaco frente a otros organismos patógenos.

Evaluar distintas metodologías de aplicación de elicitores para determinar la forma más eficiente de aplicación.

5.3 Bibliografía

- Agrios, G. (1995). *Fitopatología. Segunda edición. México D.F: Editorial Limusa. 838.*
- ASOCIACIÓN DE AGRÓNOMOS INDÍGENAS DE CAÑAR (AAIC). (2003). El cultivo de babaco en invernadero (Carica pentágona). *Editorial Abya Yala. Quito, Ecuador. 45 P.*
- Ávila, M. R., Braccini, A. D. L., Scapim, C. A., Fagliari, J. R., & Santos, J. D. (2007). Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. *Revista Brasileira de Sementes, 29(1)*, 98–106.
- Badillo, V., Van den E., & Van Damme, P. (2000). *Carica palandesis (Caricaceae), a New Species from Ecuador. Novon 10(1): 4-6.*
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry, 239(1)*, 70–76.
- Bhattacharya, A., Sood, P., & Citovsky, V. (2010). The roles of plant phenolics in defence and communication during Agrobacterium and Rhizobium infection. *Molecular Plant Pathology, 11(5)*, 705–719. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00625.x>
- Bonilla, D., López, O., & Ocampo, C. (2018). Estudio De Factibilidad Para Invertir En Una Planta Comercializadora De Mermeladas De Babaco. *Revista de Investigación Enlace Universitario, 17(1)*, 1–9. <https://doi.org/10.33789/enlace.17.34>
- Brassel, F., Breilh, J., & Zapatta, A. (2011). ¿ agroindustria y soberanía alimentaria?: hacia una ley de agroindustria y empleo agrícola. *Sistema de Investigación sobre la Problemática Agraria en el Ecuador.*
- Bravo, C., Larriva, W., & Minchala, L. (2012). Manejo integrado de la marchitez vascular o fusariosis (Fusarium oxysporum) en el cultivo de babaco. *Boletín Técnico N° 409*, 17.
- Camarera, G., & Torre, R. (2007). Resistencia sistémica adquirida en plantas: Estado actual. *Revista Chapingo : Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente, 13(2)*, 157–162.
- Chico, J. (2014). “EVALUACIÓN DE ELICITORES PARA EL CONTROL DE SIGATOKA NEGRA (Mycosphaerella fijiensis) EN PLÁTANO BARRAGANETE, EN LA PROVINCIA DE SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS”. *Carrera de Ingeniería Agropecuaria. Universidad de Las Fuerzas Armadas ESPE. IASA II. Sede Santo Domingo.*, 60.
- Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm, 23(6)*,

80–84.

- Cruz, M., Malgarejo, L., & Romero, M. (2003). Fitohormonas. *Plant, Cell and Environment*, 67(4), 39–62. <https://doi.org/10.1021/np030397v>
- Cueva, D. (2007). Producción de inoculantes a base de trichoderma SPP. para el control de fusarium oxysporum F. SP. caricae en injertos de babaco (Vasconcellea Heilbornii CV. Babaco). *Bachelor's Thesis, SANGOLQUÍ/ESPE-IASA I/2007*.
- Da Silva, R., Reis, V., Baldani, J., & Olivares, F. (2008). Defensa de plantas contra o ataque de fitopatógenos. *Embrapa Agrobiologia - Documentos (INFOTECA-E)*, 250.
- Delgado, C. (2014). *Efecto del ácido acetilsalicílico para activación de defensas en el cultivo de arveja (Pisum sativum), en el sector de Chapués, cantón Tulcán, Carchi – Ecuador*. 96.
- Di Rienzo, J., Cassanoves, F., Balzarini, M., Gonzales, L. Tablada, M., & Robledo, C. (2015). *Grupo Infostat FCA, 2014. Recuperado el 7 de enero de 2020, de <http://www.infostat.com.ar>*.
- Fabara, J., Bermeo, N., & Barberán, C. (1985). Manual del cultivo del babaco. *UTA. Ambato.*, 105 p.
- García, E., Robledo, A., Benavides, A., Solís, S., & González, S. (2018). *Effect of elicitors of natural origin on tomato plants subjected to biotic stress*. (20), 4211–4221.
- García, P. (2011). “Evaluación de la tolerancia de cinco accesiones de Vasconcellas a Fusarium sp. como posible portainjertos para Babaco (Vasconcellea x heilbornii) bajo cubierta plástica en la estación experimental del austro de Iniap.” *Universidad Técnica De Ambato*, 74.
- Gómez, D. E., & Reis, E. M. (2011). Inductores abióticos de resistencia contra fitopatógenos. *Química Viva*, 10(1), 6–17.
- Gutiérrez, D. Ortiz, C. & Mendoza, A. (2008). Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. *Simposio de Metrología*, 1–5.
- Knapp, G., MacLeod, M., & Pozo, H. (2019). *Ecuador - Trade _ Britannica*. Retrieved from <https://www.britannica.com/place/Ecuador>
- Kuskoski, E., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini, J., & Fett, R. (2009). Prediction interval analysis is underutilized and can be more helpful than just confidence interval analysis. *Journal of Clinical Monitoring and Computing*, 23(3), 181–183.

<https://doi.org/10.1007/s10877-009-9165-0>

- Larqué, A., Martín, R., Nexticapan, Á., Vergara, S., & Gutiérrez, M. (2010). Efecto de diferentes sustratos en el crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicum esculentum* MILL). *Ra Ximhai*, 16(3), 365–372. <https://doi.org/10.35197/rx.06.03.2010.05.lo>
- Loake, G., & Grant, M. (2007). Salicylic acid in plant defence—the players and protagonists. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(5), 466–472.
- Loescher, W. H., Tyson, R. H., Everard, J. D., Redgwell, R. J., & Bielecki, R. L. (1992). Mannitol Synthesis in Higher Plants. *Plant Physiology*, 98(4), 1396–1402. <https://doi.org/10.1104/pp.98.4.1396>
- Lucero, D. (2014). “Determinación del efecto del elicitor ácido acetilsalicílico sobre el control de mancha chocolate (*Botrytis fabae* L.), en el cultivo de haba (*Vicia faba* L.)”. 98. Retrieved from <http://repositorio.upec.edu.ec/bitstream/123456789/239/1/198>
 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL ELICITOR ÁCIDO ACETILSALICÍLICO SOBRE EL CONTROL DE MANCHA CHOCOLATE %28BOTRYTIS FABAE L.%29%2C EN EL CULTIVO
- Machu, L., Misurcova, L., Ambrozova, J. V., Orsavova, J., Mlcek, J., Sochor, J., & Jurikova, T. (2015). Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products. *Molecules*, 20(1), 1118–1133. <https://doi.org/10.3390/molecules20011118>
- Mateos, R., & Leal, R. (2007). *FITOALEXINAS: MECANISMO DE DEFENSA DE LAS PLANTAS*.
- Mejía, L. (2014). *Aplicacion de elicitores AS, Quitosan y H2O2 en Capsicum annum y se efecto de respuesta a estres biotico*. (p. 194). p. 194.
- Mogollón, À., & Castaño, J. (2011). Efecto De Inductores De Resistencia En Plántulas De Plátano Dominico-Hartón. *Rev. Acad. Colomb. Cienc*, 35(137), 464–471.
- Molina, A., & Rodríguez, P. (2008). *Resistencia sistémica inducida:¿ una herramienta bio-ecológica*. In *II Conferencia internacional sobre eco-biología del suelo y el compost*.
- Montenegro, F. (2009). *Cultivo de Babaco (Carica pentagona H.) Bajo invernadero*. Recuperado de: <https://www.engormix.com/agricultura/articulos/cultivo-babacocarica-pentagona-t27813.htm>.
- Monteros, G., Sumba, L., & Salvador, S. (2015). Productividad agrícola en el ecuador. *Dirección*

de Análisis y Procesamiento de La Información, Coordinación General Del Sistema de Información Nacional, 3.

- Nieto, M., García, J., Caltzontzin, V., Chávez, R., & Estrada, M. (2018). *Effect of culture conditions on the production of phenols , total flavonoids and their antioxidant capacity in arnica (Heterotheca inuloides).* (21), 4296–4305.
- Ochoa, J., & Ellis, M. (2002). Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. *Revista Informativa INIAP, 16, 16-18.*
- Ozeretskovskaya, O. L., & Vasyukova, N. I. (2002). The use of elicitors for protection of cultured plants demands caution. *Applied Biochemistry and Microbiology, 38(3), 277–279.*
- Pérez, A., & Jiménez, E. (2011). La Biotecnología vegetal. *Treballs de La Societat Catalana de Biologia, 11(4), 79–86.* <https://doi.org/10.2436/tscb.v0i58.6671>
- Piñeros, Y., Otálvaro, Á., & Velásquez, M. (2009). Efecto de la aplicación de elicitores sobre la producción de 4 α -hidroxiwithanólido E, en raíces transformadas de *Physalis peruviana* L. *Universitas Scientiarum, 14(1), 23.* <https://doi.org/10.11144/javeriana.SC14-1.edla>
- Porta, H., & Jiménez-Nopala, G. (2019). Papel de las hormonas vegetales en la regulación de la autofagia en plantas. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas, 22, 1–11.* <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2019.0.160>
- Portu, J. (2017). *Aplicación foliar de elicitores y compuestos nitrogenados como estrategia para mejorar la composición fenólica de la uva y del vino.* Retrieved from <http://hdl.handle.net/10261/194447%0A>
- Quilambaqui, J. (2003). El efecto de las Fitohormonas en la fruticultura. *La Granja: Revista de Ciencias de La Vida, 2(1), 29–30.*
- Quillay, N. (2011). “DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD EMBRIOGÉNICA DE BABACO (*Vasconcellea x heilborni*) A PARTIR DE ÓVULOS Y HOJAS MULTIPLICADS IN VITRO VÍA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA. *Repo.Uta.Edu.Ec, 593(03), 114.*
- Ragsdale, N.N. & Sisler, H. D. (1994). *Social and political implications of managing plant diseases with decreased availability of fungicides in the United States. Annual Review of Phytopathology, 32, 545-557.*
- Riveros, A., Rosales, F., Pocasangre, L. (2004). *MANEJO ALTERNATIVO DE*

MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS A TRAVÉS DE LA INDUCCIÓN DE RESISTENCIA Y USO DE BIOPRODUCTOS. XVI Reunion internacional acrobat.

- Robles, A., Herrera, L., & Torres, R. (2016). El babaco (*Vasconcellea heilbornii* var. *pentagona* Badillo). Principales agentes fitopatógenos y estrategias de control. *Centro Agrícola.*, 43(2), 83–92.
- Robles, A., Gómez, R., Macas, F., Sánchez, A., & Torres-Gutiérrez, R. (2014). Estudio de la patogenicidad de aislados de *Fusarium* spp., asociados a la marchitez vascular del Babaco en Loja-Ecuador. *Revista Centro de Biotecnología*, 3, 63–74. Retrieved from http://unl.edu.ec/sites/default/files/investigacion/revistas/2014-12-1/bio_art7.pdf
- Robles, Á., Salinas, D., Armijos, W., Sánchez, A., & Torres, R. (2013). *MORPHOLOGICAL VARIABILITY STUDY OF FUNGAL ISOLATES ASSOCIATED WITH VASCULAR WILT BABACO (VASCONCELLEAHEILBORNII VAR. PENTAGONA) DISEASE IN LOJA, ECUADOR*. 2, 34–44.
- Rojas A., L., Jaramillo J., C., & Lemus B., M. (2015). *Métodos analíticos para la determinación de metabolitos secundarios de plantas*. 108. Retrieved from <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/6653>
- Sarasola, A., & Rocca, M. (1975). *Fitopatología. Curso Moderno. Buenos Aires – Argentina. Ed. Hemisferio Sur. v. 1. p.23 – 45; v 2. 163 – 181.*
- Simbaña, P. (2018). Universidad Central del Ecuador Universidad Central del Ecuador. *Evaluación de La Aplicación de Dos Aceites Esenciales En Babaco (Vasconcellea Heilbornii Heiborn.) Para Conservación a Dos Temperaturas de Almacenamiento (Bachelor's Thesis, Quito: UCE).*, (Figura 1), 2–3.
- Soria, N. (1997). INIAP -Estación Experimental Santa Catalina. *Revista INIAP # 9. Quito.*35-43.
- Soria, N., & Viteri, P. (1999). *Guía para el cultivo de babaco en el Ecuador. Quito, Ecuador: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Programa de Fruticultura.* 51.
- Stoop, J. M. H., & Pharr, D. M. (1993). Effect of different carbon sources on relative growth rate, internal carbohydrates, and mannitol 1-oxidoreductase activity in celery suspension cultures. *Plant Physiology*, 103(3), 1001–1008. <https://doi.org/10.1104/pp.103.3.1001>
- Thakur, M., & Sohal, B. S. (2013). Role of Elicitors in Inducing Resistance in Plants against Pathogen Infection: A Review. *ISRN Biochemistry*, 2013, 1–10.

<https://doi.org/10.1155/2013/762412>

- Uzcátegui, C. (2007). CAPÍTULO 1 : ENTORNO NACIONAL Y AGROINDUSTRIAL. *Estudio de Factibilidad Para La Implementación de Una Empresa Dedicada a La Industrialización Del Babaco (Doctoral Dissertation, Tesis de Ingeniería Empresarial. Escuela Politécnica Nacional, Ecuador).*, 1–185.
- Valls, J. Lampreave, M. Nadal, M. & Arola, L. (2000). Calidad De Los Vinos Tintos De Crianza Compuestos Fenólicos En La Calidad De Los Vinos Tintos De Crianza. *ALIMENTACION EQUIPOS Y TECHNOLOGIA*, 19(2), 119-124.
- Van Loon, L. C., & Van Strien, E. A. (1999). The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology, London*. 55(2), 85–97.
- War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., & Sharma, H. C. (2012). Mechanisms of Plant Defense against Insect Herbivores. *Plant Signaling and Behavior*, 7(10), 1306–1320.
- War, A. R., Paulraj, M. G., War, M. Y., & Ignacimuthu, S. (2011). Role of salicylic acid in induction of plant defense system in chickpea (*cicer arietinum* l). *Plant Signaling and Behavior*, 6(11), 1787–1792. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17685>
- Zhao, J., Davis, L. C., & Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 23(4), 283–333. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2005.01.003>