



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

**USO DE *Trichoderma sp* COMO AGENTE BIOCONTROLADOR DE
Botrytis cinerea EN UNA PLANTACIÓN DE FRESA (*Fragaria sp*)
UBICADA EN LA PARROQUIA VALPARAÍSO CANTÓN GUANO**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA: ANGÉLICA BELÉN CARRERA PARRA

DIRECTORA: Ing. ANA RAFAELA PACURUCU REYES MSc.

Riobamba - Ecuador

2022

©2022, Angélica Belén Carrera Parra

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

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

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

Riobamba, 04 de marzo del 2022

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Angélica Belén Carrera Parra', written in a cursive style.

Angélica Belén Carrera Parra.

060442513-2

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular:
Tipo: Proyecto de Investigación, **USO DE *Trichoderma* sp COMO AGENTE BIOCONTROLADOR DE *Botrytis cinerea* EN UNA PLANTACIÓN DE FRESA (*Fragaria* sp) UBICADA EN LA PARROQUIA VALPARAÍSO CANTÓN GUANO**, realizado por la señorita: **ANGÉLICA BELÉN CARRERA PARRA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Yolanda Dolores Díaz Heredia, MSc. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	 Firmado electrónicamente por: YOLANDA DOLORES DIAZ HEREDIA	2022-03-04
Ing. Ana Rafaela Pacurucu Reyes, MSc. DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	ANA RAFAELA PACURUC U REYES Firmado digitalmente por ANA RAFAELA PACURUCU REYES Fecha: 2022.05.06 11:00:31 -05'00"	2022-03-04
Ing. Rosa Del Pilar Castro Gómez, PhD. MIEMBRO DEL TRIBUNAL	 Firmado electrónicamente por: ROSA DEL PILAR CASTRO GOMEZ	2022-03-04

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico a mi madre Soña Marina por ser el pilar fundamental de mi vida, apoyarme y levantarme en cada etapa de este camino llamado universidad.

A mis hermanos/na y sobrino Julían quien me hace ser una mejor persona y futura profesional.

Angélica

AGRADECIMIENTO

A mis padres y hermanos por brindarme su apoyo y amor incondicional a lo largo de mi carrera.

A los docentes quienes compartieron sus conocimientos e hicieron que me apasione de mi carrera, en especial a quienes colaboraron con la realización de esta tesis, y a los amigos quienes me acompañaron en esta etapa de mi vida.

Angélica

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	5
1.1. Fresa (<i>Fragaria</i> sp).....	5
1.1.1. <i>Características e importancia</i>	5
1.1.2. <i>Clasificación taxonómica</i>	5
1.1.3. <i>Características botánicas de Fragaria</i>	6
1.1.4. <i>Requerimientos nutricionales</i>	7
1.1.5. <i>Requerimientos edafo-climáticos</i>	8
1.1.6. <i>Variedades</i>	9
1.1.6.1. <i>Variedades de día corto</i>	9
1.1.6.2. <i>Variedades de día neutro</i>	10
1.1.7. <i>Problemas fitosanitarios</i>	10
1.1.7.1. <i>Hongos fitopatógenos</i>	10
1.2. <i>Botrytis cinerea</i>	11
1.2.1. <i>Clasificación taxonómica</i>	11
1.2.2. <i>Morfología</i>	12
1.2.3. <i>Ciclo de vida y epidemiología</i>	13
1.2.4. <i>Signos y síntomas en la planta infectada</i>	13
1.2.5. <i>Métodos de control</i>	15
1.2.5.1. <i>Control químico</i>	15
1.2.5.2. <i>Control cultural</i>	15
1.2.5.3. <i>Control biológico</i>	16

1.3.	Trichoderma spp	16
1.3.1.	Clasificación taxonómica	16
1.3.2.	Características macroscópicas y microscópicas	17
1.3.3.	Importancia agrícola	18
1.3.4.	Mecanismos de acción	19
1.3.4.1.	Antibiosis	19
1.3.4.2.	Competencia por espacio y nutrientes.	19
1.3.4.3.	Micoparasitismo	20

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	21
2.1.	Hipótesis y especificación de las variables	21
2.1.1.	Hipótesis	21
2.1.2.	Variables	21
2.1.2.1.	Variable independiente	21
2.1.2.2.	Variable dependiente	21
2.2.	Tipo y diseño de la investigación	21
2.2.1.	Por el tipo de investigación	21
2.2.2.	Por el diseño de la investigación	22
2.3.	Lugar de la investigación	22
2.4.	Unidad de análisis	22
2.5.	Población de estudio	23
2.6.	Etapas de la investigación	23
2.6.1.	Ensayo en laboratorio	23
2.6.1.1.	Aislamiento de <i>B. cinerea</i>	23
2.6.1.2.	Identificación taxonómica de <i>B. cinerea</i> y <i>Trichoderma sp</i>	23
2.6.1.3.	Formación de cultivos puros de <i>Trichoderma sp</i>	24
2.6.1.4.	Evaluación de capacidad antagonista en pruebas <i>in vitro</i>	24
2.6.1.5.	Masificación de <i>Trichoderma sp</i> en arroz	25
2.6.2.	Ensayo en campo	25
2.6.2.1.	Preparación de inóculos de <i>Trichoderma sp</i> (tratamiento biológico)	25
2.6.2.2.	Distribución de los tratamientos en campo	26
2.6.2.3.	Aplicación tratamiento biológico	26

2.6.2.4.	<i>Aplicación de tratamiento químico</i>	27
----------	--	----

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	29
3.1.	Diagnóstico del estado de la plantación previo a la fase de experimentación	29
3.2.	Identificación taxonómica <i>In vitro</i>	29
3.2.1.	<i>Identificación taxonómica de B. cinerea</i>	29
3.2.2.	<i>Identificación taxonómica de Trichoderma sp</i>	30
3.3.	Pruebas de antagonismo	31
3.3.1.	<i>Porcentaje de Inhibición de Crecimiento (PIC)</i>	31
3.3.2.	<i>Ubicación de Trichoderma sp en Escala de Bell</i>	33
3.4.	Ensayo en campo	34
3.4.1.	<i>Porcentaje de severidad de la enfermedad</i>	35
3.4.2.	<i>Porcentaje de severidad a los ocho días</i>	35
3.4.3.	<i>Porcentaje de severidad a los 16 días</i>	37
3.4.4.	<i>Porcentaje de severidad a los 24 días</i>	38
3.4.5.	<i>Porcentaje de severidad a los 32 días</i>	39
3.4.6.	<i>Porcentaje de severidad a los 40 días</i>	41

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

GLOSARIO

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Clasificación taxonómica de <i>Fragaria</i>	6
Tabla 2-1:	Clasificación taxonómica de <i>B.cinerea</i>	12
Tabla 3-1:	Clasificación taxonómica de <i>Trichoderma</i> spp.	17
Tabla 1-2:	Datos iniciales de las camas de producción empleadas.	27
Tabla 1-3:	Características macro y microscópicas de <i>B. cinerea</i>	30
Tabla 2-3:	Características macro y microscópicas de <i>Trichoderma</i> sp.....	31
Tabla 3-3:	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>B. cinerea</i> evaluados en cultivo dual.	31
Tabla 4-3:	Porcentaje de inhibición de la cepa <i>Trichoderma</i> sp.....	32
Tabla 5-3:	Categorías de competencia en base a la escala de Bell.....	33
Tabla 6-3:	Porcentaje de severidad de la enfermedad evaluados en frutos durante periodos de 8, 16, 24, 32 y 40 días.	35
Tabla 7-3:	Análisis de Varianza para porcentaje de severidad a los ocho días.	35
Tabla 8-3:	Análisis de Varianza para porcentaje de severidad a los 16 días.....	37
Tabla 9-3:	Análisis de Varianza para porcentaje de severidad a los 24 días.....	38
Tabla 10-3:	Análisis de Varianza para porcentaje de severidad a los 32 días.....	39
Tabla 11-3:	Análisis de Varianza para porcentaje de severidad a los 40 días.....	41
Tabla 12-3:	Prueba de Duncan al 5% para el porcentaje de severidad a los 40 días.	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1.	Descripción de características botánicas de <i>Fragaria</i>	7
Figura 2-1.	Características microscópicas y macroscópicas de <i>B. cinerea</i>	12
Figura 3-1.	Ciclo de vida de <i>B. cinerea</i>	14
Figura 4-1.	Síntomas ocasionados por <i>B. cinerea</i> en la planta de fresa.	14
Figura 5-1.	Características macroscópicas de <i>Trichoderma</i> spp.....	18
Figura 1-2.	Distribución de tratamientos en plantación.	26
Figura 1-3.	Síntomas de <i>B. cinerea</i> en plantas de fresa.	29
Figura 2-3.	Vistas macroscópica y microscópica de <i>B. cinerea</i>	30
Figura 3-3.	Vistas macroscópica y microscópica de <i>Trichoderma</i> sp.....	30
Figura 4-3.	Vista posterior de cultivo dual.	34
Figura 5-3.	Vista frontal de cultivo dual.....	34
Figura 6-3.	Estado de las plantas antes y posterior a la aplicación de T3.	36
Figura 7-3.	Estado de las plantas antes y posterior a la aplicación de T4.	37
Figura 8-3.	Estado de las plantas antes y posterior a la aplicación de T1.	38
Figura 9-3.	Estado de las plantas previo y posterior a la aplicación de T3 y T2.	39
Figura 10-3.	Frutos con síntomas de la enfermedad pertenecientes a T2.....	40
Figura 11-3.	Frutos con síntomas de la enfermedad pertenecientes a T5.....	40
Figura 12-3.	Tamaño de raíz posterior a la aplicación de tratamientos biológicos, químico y testigo.	42

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3. Inhibición de crecimiento radial de <i>B. cinerea</i> en pruebas <i>In vitro</i>	32
Gráfico 2-3. Porcentaje de inhibición de <i>Trichoderma</i> sp.	32
Gráfico 3-3. Porcentaje de severidad de la enfermedad <i>B. cinerea</i> bajo diferentes tratamientos ...	43

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE IDENTIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD Y ROTULACIÓN DE TRATAMIENTOS EN CAMPO.

ANEXO B: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE *B. cinerea*.

ANEXO C: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE SIEMBRA Y MASIFICACIÓN EN ARROZ DE *Trichoderma* sp.

ANEXO D: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE CULTIVOS DUALES.

ANEXO E: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE PREPARACIÓN DE INOCULOS DE *Trichoderma* sp.

ANEXO F: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS EN CAMPO.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

T1	Tratamiento Biológico (<i>Trichoderma</i> sp) al 50% ($1,25 \times 10^9$ UPC/ml).
T2	Tratamiento Biológico (<i>Trichoderma</i> sp) al 100% ($2,50 \times 10^9$ UPC/ml).
T3	Tratamiento Biológico (<i>Trichoderma</i> sp) al 150% ($3,75 \times 10^9$ UPC/ml).
T4	Tratamiento Químico (<i>Iprodione</i>).
T5	Tratamiento Control o Testigo.
T1R1	Tratamiento Biológico al 50% Repetición 1.
T1R2	Tratamiento Biológico al 50% Repetición 2.
T1R3	Tratamiento Biológico al 50% Repetición 3.
T2R1	Tratamiento Biológico al 100% Repetición 1.
T2R2	Tratamiento Biológico al 100% Repetición 2.
T2R3	Tratamiento Biológico al 100% Repetición 3.
T3R1	Tratamiento Biológico al 150% Repetición 1.
T3R2	Tratamiento Biológico al 150% Repetición 2.
T3R3	Tratamiento Biológico al 150% Repetición 3.
T4R1	Tratamiento Químico Repetición 1.
T4R2	Tratamiento Químico Repetición 2.
T4R3	Tratamiento Químico Repetición 3.
T5R1	Tratamiento Testigo Repetición 1.
T5R2	Tratamiento Testigo Repetición 2.
T5R3	Tratamiento Testigo Repetición 3.

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo el uso de *Trichoderma* sp como agente controlador de *Botrytis cinerea* (*B. cinerea*) en una plantación de fresa (*Fragaria* sp) ubicada en la parroquia Valparaíso, provincia de Chimborazo. Se realizaron dos etapas de investigación. *In vitro* para determinar la capacidad antagonista de *Trichoderma* sp frente a *B. cinerea* donde se empleó la técnica de cultivo dual para observar y medir el crecimiento del antagonista y el patógeno durante siete días. Se utilizó la escala de Bell para evaluar el antagonismo y se calculó el Porcentaje de Inhibición de Crecimiento (PIC) para el efecto antagonista. *Trichoderma* sp alcanzó una clase II de la escala de antagonismo de Bell e inhibió el crecimiento de *B. cinerea* en un 77,86%. Para la etapa de campo el diseño experimental constó de cinco tratamientos, tres de origen biológico (T1, T2 y T3) a concentraciones de $1,25 \times 10^9$, $3,75 \times 10^9$ y $3,75 \times 10^9$ UPC/ml respectivamente, uno de origen químico “Skipper” (T4) y un tratamiento testigo o control (T5). Los tratamientos fueron aplicados en la zona aérea de la planta y se evaluó el porcentaje de severidad de la enfermedad en frutos durante cinco semanas. Los resultados obtenidos fueron apoyados estadísticamente mediante la prueba de Duncan al 5%, donde se determinó que T1 fue el mejor tratamiento para el control de *B. cinerea* presentando una media del 0% de severidad de la enfermedad; los tratamientos T2, T3 y T4 resultaron ser tratamientos menos efectivos y estadísticamente iguales y finalmente T5 fue considerado como un tratamiento deficiente presentando una media del 11,92% de severidad de la enfermedad. Para obtener un mejor control de *B. cinerea* es necesario realizar podas de saneamiento en las plantas de fresa previo a la aplicación de productos químicos o biológicos.

Palabras clave: <AGENTE CONTROLADOR>, <FRESA (*Fragaria* sp.)>, <HONGO (*Trichoderma* sp.)>, <HONGO (*Botrytis cinerea*)>, <VALPARAÍSO (PARROQUIA)>.

LEONARDO
FABIO MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO FABIO
MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC,
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR,
ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE
INFORMACION-ECIBCE, I=QUITO,
serialNumber=0000621485, cn=LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2022.03.28 12:33:52 -05'00'



0541-DBRA-UTP-2022

SUMMARY

The aim of the current research was to use *Trichoderma* sp as a controlling agent for *Botrytis cinerea* (*B. cinerea*) in a strawberry (*Fragaria* sp) plantation, located in Valparaíso rural parish, Chimborazo province. For this research, two stages were carried out. *In vitro* to determine the antagonistic capacity of *Trichoderma* sp against *B. cinerea* where the dual culture technique was used to observe and measure the antagonist, and the pathogen growth during seven days. Bell's scale was used to evaluate the antagonism and the Growth Inhibition Rate (GIR) was calculated for the antagonistic effect. *Trichoderma* sp achieved level II on the Bell's antagonism scale and inhibited the growth of *B. cinerea* by 77.86%. For the field stage, the experimental design consisted on five treatments, three of them are biological origin (T1, T2 and T3) at concentrations of 1.25×10^9 , 3.75×10^9 and 3.75×10^9 UPC/ml respectively, one is chemical origin "Skipper" (T4) and a group-control treatment (T5). The treatments were applied in the aerial zone of the plant and disease severity percentage was evaluated in the fruit during five weeks. The results obtained were statistically supported by Duncan's test at 5%, where it was determined that T1 was the best treatment for the controlling *B. cinerea*, since it presented an average of 0% regarding disease severity; T2, T3 and T4 treatments turned out to be less effective and statistically equal. Finally, T5 was considered a deficient treatment since it evidenced an average of 11.92% regarding disease severity. To obtain a better control of *B. cinerea*, it is necessary to perform sanitation pruning on strawberry plants before applying chemical or biological products.

Keywords: <CONTROL AGENT>, <STRAWBERRY (*Fragaria* sp.)>, <FUNG (*Trichoderma* sp.)>, <FUNG (*Botrytis cinerea*)>, <VALPARAISO (RURAL PARISH)>.



Firmado electrónicamente por:
PAUL ROLANDO
ARMAS PESANTEZ

INTRODUCCIÓN

Identificación del problema

El sector agrícola representa el sustento diario de millones de familias, donde dos de cada cinco ecuatorianos se encuentran actualmente ejerciendo algún tipo de trabajo en este sector (Notiamérica, 2020). Valparaíso es una de las parroquias que oferta variedad de productos agrícolas como aporte al desarrollo económico-social de su población. En la actualidad los dueños de tierras en este sector se dedican a la siembra de fresa (*Fragaria* sp), la cual se comercializa dentro y fuera del país.

En las plantaciones de fresa (*Fragaria* sp), ubicadas en dicha parroquia se ha identificado la presencia de un hongo fitopatógeno causante de la pudrición de la fruta, lo que llega a representar un problema económico para aquellas personas dedicadas a la producción y comercialización de fresa (*Fragaria* sp). De acuerdo con Cano (2014, pp.263-273), la fresa es un cultivo de alto valor económico y nutricional, sin embargo, es altamente susceptible al ataque de patógenos en su gran mayoría de carácter fungoso. Según Koike y Bolda (2016, pp.1-6), *Botrytis cinerea* es el hongo causante de la pudrición en plantaciones frutales, siendo una de las más afectadas las plantaciones de fresa (*Fragaria* spp). El moho gris, como comúnmente se lo denomina, es tan invasivo si las condiciones ambientales se lo permiten que llega a causar graves pérdidas económicas, estimadas alrededor del 30% del total de la producción y entre un 40% a 50% en condiciones de alta humedad. Incluso en poscosecha este patógeno es aún más agresivo, afectando al 95% de los frutos 48 h después de cosechados (Cano, 2014, pp. 263-273).

En este contexto, uno de los principales retos en el desarrollo del cultivo y poscosecha de la fruta, es el manejo de las enfermedades mediante el uso de microorganismos benéficos. Uno de los agentes de control biológico más estudiados a nivel mundial es *Trichoderma* spp debido a las características antagonicas que presentan frente a hongos fitopatógenos.

Al ser *Botrytis cinerea* un fitopatógeno altamente invasivo y de difícil control, representa un problema socio económico y ambiental, por lo cual el uso adecuado de agentes de control biológico como *Trichoderma*, contribuye tanto a favorecer la sanidad, el rendimiento y la inocuidad de los productos agrícolas, como a disminuir el impacto ambiental causado por el uso frecuente de productos agroquímicos (Sandoval y Belesansky, 2020: pp. 55-64).

Justificación de la investigación

América latina ha presentado problemas en los cultivos debido al manejo de sistemas agrícolas ineficientes y la baja disponibilidad de nutrientes en el suelo, hecho que ha provocado el uso indiscriminado de productos agrícolas de origen químico con el objetivo de incorporar y mejorar la calidad de sus tierras. Del mismo modo el uso incontrolado de plaguicidas químicos empleados para el control de fitopatógenos ha provocado resistencia en plagas, disminución de la microbiota del suelo y contaminación ambiental (Chen et al., 2016; Hernández et al., 2019).

Por consiguiente, como una alternativa al uso de productos de origen químico se sugiere el uso de agentes de control biológico como *Trichoderma*, un género de hongo reconocido y ampliamente estudiado por su gran capacidad antagónica frente a diversos patógenos del suelo, ya que ejerce un efecto protector en la planta de forma directa con la producción de enzimas o metabolitos; además de competir por nutrientes o espacio controlando de esa manera el crecimiento del fitopatógeno.

Con base en Gaitán et al., (2014, pp. 44-56) una forma de verificar el porcentaje de biocontrol que *Trichoderma* spp efectúa sobre *B. cinerea* es mediante la variable de incidencia de la enfermedad en los tratamientos aplicados en su investigación, Efecto de dos cepas de *Trichoderma* en el control de *B. cinerea* y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria* spp). Los resultados demuestran que en los tratamientos con *Trichoderma* se presenta un mayor control de la enfermedad, donde *B. cinerea* mostró una incidencia de 33%; mientras que se encontró mayor incidencia de *B. cinerea* en el testigo con un 60%, seguido del tratamiento químico (*Iprodione*) con un 46,66% de plantas enfermas.

Por otro lado, Karas et al., (2011, pp. 215-228) sostienen que el desarrollo de plaguicidas de origen biológico tiene muchas ventajas con relación a los químicos ya que no causan deterioro al ambiente, no afectan el desarrollo de las plantas, su producción es más barata y su uso no conlleva al surgimiento de nuevas plagas o de plagas secundarias.

Es importante mencionar que los pequeños productores tienen problemas para incorporar e implementar este sistema de manejo de plagas debido a la falta de educación agrícola especializada y apoyo por parte de los gobiernos (Hidalgo, 2017).

El presente proyecto de investigación, se realizó de manera *in vitro* en el laboratorio de Biotecnología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y para la aplicación de los diferentes tratamientos en campo se contó con el apoyo del señor agricultor, el cual puso a disposición la plantación de fresa (*Fragaria* sp) para fines de experimentación.

Objetivos.

Objetivo general.

Evaluar *Trichoderma* sp como agente biocontrolador de *Botrytis cinerea* en una plantación de fresa (*Fragaria* sp) ubicada en la parroquia Valparaíso, cantón Guano.

Objetivos específicos.

Diagnosticar el estado actual de la plantación de fresa (*Fragaria* sp) afectada por *Botrytis cinerea*.

Determinar *in vitro* la capacidad antagónica que *Trichoderma* sp posee frente a *Botrytis cinerea*.

Evaluar la capacidad inhibidora de *Trichoderma* sp en *Botrytis cinerea* en campo.

Comparar la efectividad del tratamiento biológico versus el tratamiento químico en la plantación de fresa (*Fragaria* sp).

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Fresa (*Fragaria* sp)

1.1.1. Características e importancia

La fresa (*Fragaria* sp) es una fruta perteneciente a la familia de las Rosáceas y género *Fragaria*, proveniente del latín “fragans” que significa fragante (Matute 2019, p. 6). Esta fruta posee una amplia gama de consumidores por sus propiedades nutrimentales y organolépticas de color, olor y sabor, por dicha razón es comercializada en mercados tanto para su consumo en fresco como para el uso en el sector agroindustrial para la producción de pulpas, mermeladas, jugos, deshidratados, entre otros (Sepúlveda et al., 2015, p. 18).

La capacidad de adaptación de esta planta ha hecho que exista más de 25 especies e híbridos producto del entrecruzamiento entre ellas, provocando de esta forma sabores y aromas propios de cada especie resultante. Un claro ejemplar es la especie *Fragaria ananassa* resultado del entrecruzamiento entre *Fragaria chiloensis* y *Fragaria virginiana*. (Sepúlveda et al., 2015, p. 19).

La fresa (*Fragaria* sp) es ampliamente consumida por una gran parte de la población mundial, puesto que son económicamente accesibles y además poseen una gran cantidad de vitaminas, minerales y ácidos orgánicos que actúan como un potente antioxidante y ayudan a disminuir problemas cardiovasculares (Restrepo et al., 2009, pp. 163-175). Por lo cual su alta demanda ha hecho de esta fruta un negocio comercialmente rentable. Sin embargo, la fresa (*Fragaria* sp) es una de las frutas mayormente atacada por plagas y enfermedades, debido a su alto contenido de agua y nutrientes (Matute, 2019, p. 6).

1.1.2. Clasificación taxonómica

En la (Tabla 1-1) se muestra la clasificación taxonómica de *Fragaria*.

Tabla 1-1: Clasificación taxonómica de *Fragaria*.

Categoría	Taxón
Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Rosales
Familia	Rosáceas
Subfamilia	Rosídeas
Género	<i>Fragaria</i>
Especie	sp
Nombres comunes	Frutilla, fresa, fresones

Fuente: (Fundación Charles Darwin, 2022).

Elaborado por: Carrera Parra, Angélica, 2021.

1.1.3. Características botánicas de *Fragaria*

Fragaria es un género de planta de ciclo de vida largo, se caracteriza por generar estolones, los cuales son aprovechados por el productor para obtener mayor producción. De acuerdo a Llumiyinga (2017, p. 4), la planta de fresa (*Fragaria* sp) está constituida por (Figura 1-1):

Raíces. - Cuenta con un sistema de raíces primarias y raíces secundarias o raicillas agrupadas entre sí, las raíces primarias cumplen la función de soporte y se diferencian claramente de las secundarias por su tamaño y grosor; mientras que las raíces secundarias cumplen la función de capturar los nutrientes necesarios para la planta (Llumiyinga, 2017, p. 4).

Tallo o Corona. - La corona se encarga de generar ramificaciones denominadas estolones o plantas nuevas, estas a su vez tendrán su corona correspondiente y también tiene la capacidad de formar nuevos estolones. Esto último será posible siempre y cuando el estolón inicial ya haya desarrollado raíces (Llumiyinga, 2017, p. 4).

Hojas. - Se caracteriza por ser un órgano pequeño de limbo compuesto por tres hojas de bordes aserrados y de envés recubierto de pelos (Llumiyinga, 2017, p. 4).

Flores. - Las flores están constituidas por 5 pétalos de color blanco los cuales forman una simetría radial, posee un grueso receptáculo que se convierte en fruto después de la fecundación. La polinización puede ser alógama y entomófila (Llumiyinga, 2017, p. 4).

Frutos. - La fruta posee una serie de estructuras denominadas aquenios y estas a su vez forman un poliaquenio, los aquenios se encuentran adheridos al cuerpo carnoso de la fruta en forma de pepitas

(Llumiquire, 2017, p. 4). Las características físicas y organolépticas dependen ampliamente de la variedad.

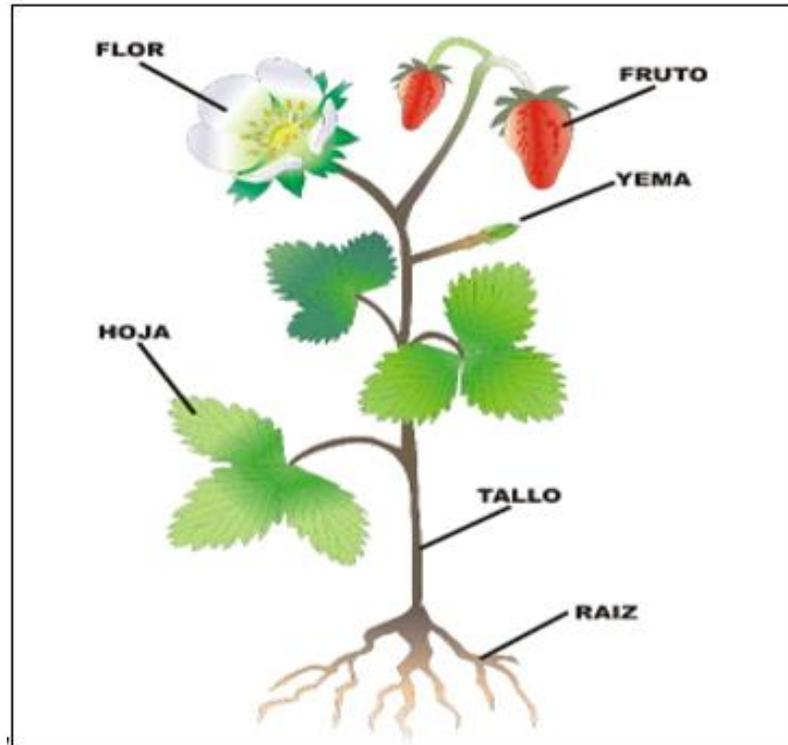


Figura 1-1. Descripción de características botánicas de *Fragaria*.

Fuente: (LOEZA 2018).

1.1.4. Requerimientos nutricionales

Nitrógeno. - De acuerdo a IICA (2017, p. 58), el nitrógeno es sumamente importante para que la planta realice una correcta síntesis de clorofila, puesto que forma parte de aminoácidos, proteínas y ácidos nucleicos, sin embargo, la administración de valores superiores a los $20 \frac{g}{m^2}$ puede ocasionar que la planta se torne susceptible al ataque de plagas y enfermedades (Llumiquire, 2017, pp. 6-8).

Fósforo. - El fósforo al igual que el nitrógeno se encuentra distribuido en toda la planta para favorecer la formación de enzimas, proteínas y materia genética, además de ello ayuda a la planta al desarrollo de raíces, lo cual genera mayor floración y por ende frutos de mayor calidad (Bolda et al., 2015, pp. 28-78).

Potasio. - Importante regulador de agua en la planta, el potasio tiene la capacidad de inducir al fenómeno de turgencia celular, además de ello este elemento participa en la extracción de agua del suelo, retención de agua en los tejidos de la planta y transporte de agua a larga distancia. La presencia

de potasio ayuda a la planta contra el ataque de insectos y enfermedades (Bolda et al., 2015, pp. 28-78).

Calcio. - Ayuda al fortalecimiento de la pared celular, al formar una barrera compacta entre los tejidos protege a la planta ante las variaciones de temperatura y evita el ataque de enfermedades de origen fúngico (Llumiquinga, 2017, pp. 6-8).

Magnesio. - De acuerdo a IICA (2017, p. 58), el magnesio al ser el átomo central de la molécula de clorofila, es un elemento indispensable para el correcto funcionamiento de la planta, en caso de ser deficiente la planta desatara una condición clorótica, provocando follaje amarillo (Bolda et al., 2015, pp. 28-78).

Azufre. – En base a Bolda et al., (2015, pp. 28-78), el azufre forma parte de algunos aminoácidos para la formación de proteínas, así como también cumple un rol importante en diversas hormonas y vitaminas presentes en la planta.

Hierro. - Forma parte de la molécula de clorofila y por tanto su deficiencia puede llegar a ocasionar amarillez en follaje joven (Bolda et al., 2015, pp. 28-78).

Zinc. - De acuerdo a Burt et al., (1998) el zinc es necesario para la formación de hormonas encargadas del crecimiento y desarrollo de la planta. La falta de auxinas provoca pérdida de crecimiento.

Boro. - Ayuda al transporte de azúcares por la membrana celular, contribuye a la polinización y desarrollo de frutos y semillas. La falta de boro genera deformidad en los frutos (Bolda et al., 2015, pp. 28-77).

1.1.5. Requerimientos edafo-climáticos

Temperatura. - Generalmente la fresa (*Fragaria* sp) es un cultivo que se adapta con facilidad a distintos rangos de temperatura, sin embargo, el rango óptimo para obtener una correcta floración en la mayoría de las especies comerciales oscila entre los 15-20 °C. Cabe recalcar que temperaturas inferiores pueden ocasionar inhibición del polen; mientras que temperaturas mayores pueden dar lugar a una maduración temprana, provocando de esa forma que el fruto no llegue a adquirir el tamaño adecuado para su comercialización (Uz-zaman et al., 2018, pp. 217-275).

Humedad. - Este es un parámetro fundamental, puesto que, para mantener a las plantas saludables se debe mantener un rango de humedad entre el 50 y 70 %, si el porcentaje excede al valor establecido la planta empezará a presentar enfermedades de tipo fungoso; mientras que, si la humedad es menor a dicho rango, los niveles de producción bajan (Tustón 2012, p. 53).

Luz. - Dependiendo la variedad de fresa (*Fragaria* sp), la floración está directamente relacionada con la cantidad de horas de luz que reciba diariamente la planta. En el caso de las variedades de día corto las plantas necesitan menos de 12 horas de luz para obtener una buena producción; mientras que las

variedades de día neutro solo requieren temperaturas superiores a los 12 ° C para lograr una excelente floración (Sepúlveda et al., 2015, pp.116-137).

Sustrato. - El suelo adecuado para el cultivo de la fresa (*Fragaria* sp) debe contener altos niveles de materia orgánica, idealmente se requiere el uso de suelos franco arenosos por su capacidad de drenaje y fertilidad. Es importante que el suelo sea libre de sales de sodio, boro, potasio y cloro con el fin de obtener una conductividad eléctrica menor a 1mmhos·cm-1 (Sepúlveda., 2015, pp. 166-137).

1.1.6. Variedades

Las variedades de fresa (*Fragaria* sp) se clasifican en base a sus características fotoperiódicas, por lo cual existen variedades de día corto y variedades de día neutro.

1.1.6.1. Variedades de día corto

Benicia. - Se caracteriza por tener un fruto de excelente sabor, pero presenta coloración oscura cuando existe muchas horas de exposición solar. Es de fácil recolección puesto que posee una estructura abierta. Es una variedad que puede verse afectada por el patógeno *Verticillum* (Bolda et al. 2015, pp. 17-19).

Camarosa. - Produce frutos de color brillante con exquisito sabor, si la planta llega a ser vigorosa esta tendrá su mayor producción en el primer año de producción. Camarosa puede llegar a ser susceptible a *Verticillum*, *Phytophthora* y hongo polvoriento (Bolda et al. 2015, pp. 17-19).

Camino real. - Es una variedad de producción buena, sus frutos presentan un gran sabor, además son tolerantes a los patógenos, la fruta es empleada generalmente en el sector agroindustrial por lo que presenta un color más oscuro comparado con otras variedades (Bolda et al. 2015, pp. 17-19). De acuerdo a Cámara de Comercio de Bogotá (2015, p.10), Camino Real es bastante tolerante a enfermedades de tipo fungosas como a *Verticillum*, *Phytophthora*, *Antracnosis*, pero susceptible a *Botrytis* sp.

Chandler. - Variedad bastante antigua, presenta rendimiento moderado, en cuanto al sabor produce frutos dulces, pero de tamaño mediano (Bolda et al. 2015, pp. 17-19).

Mojave. - Produce frutos de un mismo tamaño y se caracterizan por presentar un color rojo brillante. Sin embargo, los frutos no presentan una adecuada firmeza. Mojave puede tolerar tiempos de lluvia extensos, pero es susceptible a *Phytophthora* (Bolda et al. 2015, pp. 17-19).

Ventana. - Ventana es una variedad de alto rendimiento puesto que el volumen de producción es superior al de Camarosa a pesar de su semejanza en cuanto al principio de producción (Bolda et al. 2015, pp. 17-19).. Esta variedad se caracteriza por poseer una buena polinización evitando de esa forma la

producción de frutos deformes. Aunque es una variedad resistente a los ácaros, es susceptible a enfermedades del suelo (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015, p.10).

1.1.6.2. Variedades de día neutro

Albión. - Variedad muy conocida y empleada por los agricultores. Albión se caracteriza por producir frutos de buenas características tales como: el tamaño, forma, color, firmeza. Además de tener excelente producción en cosecha es bastante apreciada por el sector comercial debido a su notable vida de anaquel. Por otra parte, es bastante resistente a la marchitez por *Verticillium dahliae* y pudrición de corona por *Phytophthora* (IICA, 2017, p. 56).

Monterrey. - Es similar a la variedad San Andreas en cuanto a las características de producción. La falta de acidez en sus frutos provoca en estos un mayor dulzor por lo cual es bastante reconocido a nivel mundial en especial en el continente asiático (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015, p.10).

San Andreas. - Muy similar a la variedad Albión en cuanto a las características del fruto, aunque se diferencian en el tamaño de fruto a largo plazo puesto que San Andreas mantiene el tamaño de la fruta durante toda la vida de producción de la planta. En cuanto a patógenos esta variedad es bastante resistente a las enfermedades aunque se recomienda total atención a *Macrophomina* por su susceptibilidad (IICA, 2017, p. 57).

Seascape. - Variedad preferida por los productores dedicados al manejo de productos orgánicos, debido a la capacidad y fortaleza de su sistema radicular. Además de ser una variedad resistente a ataques de tipo fungoso, se caracteriza por ser resistente a ácaros y arañas (Bolda et al. 2015, p. 19).

1.1.7. Problemas fitosanitarios

En el cultivo de fresa (*Fragaria* sp) uno de los problemas más comunes es el manejo de plagas y enfermedades en la etapa de cosecha y poscosecha. Las enfermedades que generalmente se encuentran en las plantaciones son de origen fungoso, seguido de enfermedades provocadas por bacterias y nemátodos (Cano 2014).

1.1.7.1. Hongos fitopatógenos

De acuerdo a Martínez et al., (2010, pp. 756-760), los patógenos edáficos son los principales causantes de las enfermedades en las plantaciones de fresa (*Fragaria* sp). Los oomycetes como *Phytophthora cactorum*, conocido por causar la pudrición de la corona; *Phytophthora fragariae* var *fragariae*

reconocido por causar pudrición rojiza desde la raíz hasta la corona Serret et al., (2016, pp. 1107-1121) y *Pythium sp* causante de la pudrición en raíz y corona (Ishiguro et al. 2014, pp. 423-429). Así mismo, según IICA (2017, p. 67), *Rhizoctonia sp.*, *Fusarium sp.* y *Verticillium sp.* causantes de la marchitez y amarillamiento en la planta.

Son distintos los patógenos aéreos que desatan enfermedades como la antracnosis, cuyo agente causal es el denominado *Colletotrichum acutatum*; el moho gris causado por *Botrytis cinerea*; viruela de la hoja causada por *Mycosphaerella fragariae* y oidium ocasionada por *Sphaeroteca macularis* (Cano 2014, pp. 263-276).

En cuanto a enfermedades fungosas comunes en poscosecha se destaca *Rhizopus stolonifer* causante de la podredumbre blanda, *Mucor spp* y *Aspergillus niger* responsable de la podredumbre negra (Cano 2014, pp. 263-276).

En relación con lo anterior, la planta de fresa (*Fragaria sp*) al enfrentarse a una gran cantidad de patógenos que provocan daños severos en raíces, corona, tallo, estolones, hojas, flores, frutos, tiene pérdidas significativas antes y después de la cosecha.

1.2. *Botrytis cinerea*

Es un hongo patógeno ampliamente distribuido en hortalizas, plantas de ornato, frutales y cultivos superiores. *Botrytis cinerea* (*B. cinerea*) es el causante de la pudrición de la fruta en plantas de fresa (*Fragaria sp*), este organismo se hace notar por su característica capa gris aterciopelada depositada sobre la superficie de la fruta, así como también denotando la pudrición en los tallos de la planta (Agris, 1995).

Al ser un patógeno bastante versátil, tiene la capacidad de adaptarse y desarrollarse en un rango de temperatura de 2 a 28 °C y en periodos de humedad superior al 80% (Rasiukevičiūtė et al., 2018, pp. 264-270). Es importante señalar que *B. cinerea* puede ocasionar pudriciones blandas antes, durante y después de la comercialización del fruto (Petrasch et al., 2019, pp.877-892).

1.2.1. Clasificación taxonómica

Según NCBI (2022) *B. cinerea* se ubica taxonómicamente en (Tabla 2-1):

Tabla 2-1: Clasificación taxonómica de *B.cinerea*.

Categoría	Taxón
Reino	Fungi
Filo	Ascomycetes
Clase	Leotiomycetes
Orden	Helotiales
Familia	Sclerotiniaceae
Genero	<i>Botrytis</i>
Especie	<i>cinerea</i>

Fuente: (NCBI 2022).

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2021.

1.2.2. Morfología

El necrotrófico *B. cinerea* se caracteriza por producir abundante micelio de color gris sobre la superficie de la fruta, el micelio está constituido por un conjunto de conidióforos largos y ramificados y estos a su vez compuestos de racimos de conidios ovoides de color gris. Estas estructuras dan la apariencia de un racimo de uvas (Agrios 1995).

B. cinerea casualmente desarrolla en el suelo o tejido muerto estructuras planas, duras, irregulares y de color negro a las cuales se les denomina esclerocios, estas estructuras son producidas como un mecanismo de hibernación, con el objetivo de preservar al hongo hasta que las condiciones ambientales sean óptimas para su crecimiento (Agrios 1995).

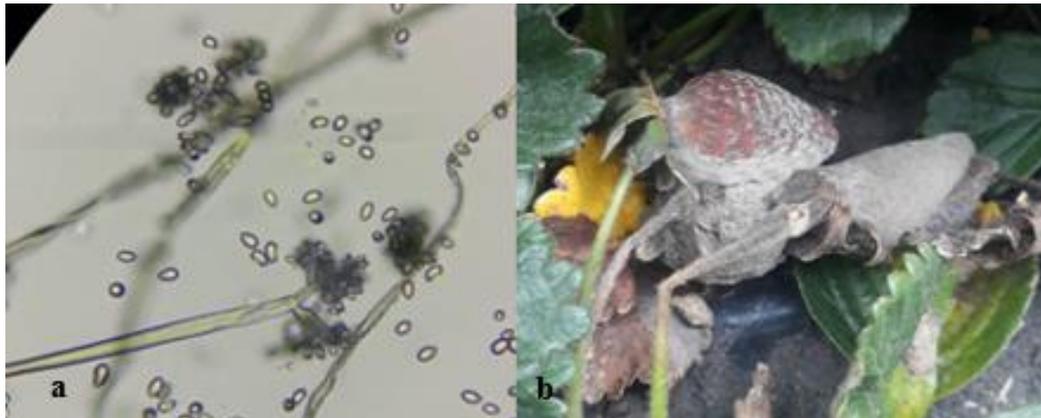


Figura 2-1. Características microscópicas y macroscópicas de *B. cinerea*. Estructura microscópica de *B. cinerea* **a**). Moho gris de la fruta de fresa (*Fragaria* sp) **b**).

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2021.

1.2.3. Ciclo de vida y epidemiología

La biología del patógeno engloba una serie de interacciones entre planta, patógeno y condiciones medioambientales (Rasiukevičiūtė et al 2018, pp. 264-270). En cultivos perennes como la fresa (*Fragaria* sp), las hojas muertas, flores y frutos momificados contienen porciones de micelio y este a su vez tiene la capacidad de formar conidios para dar inicio a la infección. En el caso de los esclerocios, una vez que la temperatura alcance los 18 a 23 °C y la humedad sea superior al 70%, estas estructuras se encuentran listas para liberar y germinar sus esporas (conidios) (Williamson et al. 2007, pp. 261-280).

Los conidios generados a partir de las estructuras descritas anteriormente, siguen un ciclo diurno de iniciación, producción y difusión. La etapa de iniciación depende de parámetros como la temperatura y humedad, una vez que dichos parámetros alcancen los valores óptimos para el desarrollo del hongo empieza la etapa de producción y finalmente una leve caída de la humedad y parcial aumento de temperatura por las mañanas provoca sequedad y torsión en los conidióforos lo cual origina la etapa de difusión de conidios con la ayuda de corrientes de aire o gotas de agua (Williamson et al. 2007, pp. 261-280).

De acuerdo a Agrios (1995) los conidios liberados caen sobre diversos órganos de la planta y empiezan el proceso de infección. Sin embargo, para que el conidio pueda establecerse con rapidez en los órganos de la planta, estos deben estar susceptibles o presentar heridas.

Posterior al depósito del conidio sobre los órganos de la planta, procede la germinación, penetración e invasión de tejidos, este a vez provoca el colapso de las células infectadas, las cuales se desintegran y generan un ablandamiento y pudrición del tejido infectado. Finalmente, el hongo esporula sobre el tejido para producir micelio suficiente para su próxima infección (Chen et al., 2018, pp. 33-46) (Figura 3-1).

1.2.4. Signos y síntomas en la planta infectada

De acuerdo con Koike y Bolda (2016, pp. 1-6), los síntomas que ocasiona *B. cinerea* en la planta de fresa (*Fragaria* sp) infectada depende del órgano afectado y del estado fisiológico del tejido (Figura 4-1). En el caso de las hojas, *B. cinerea* actúa de acuerdo al estado de maduración de las mismas, si se trata de hojas nuevas el fitopatógeno tiene la capacidad de infectar, sin embargo, la hoja no muestra signos de infección puesto que el hongo se encuentra inactivo esperando la etapa de maduración de las hojas para esporular y cubrir el órgano afectado con un manto de conidios, los cuales generan el color gris característico de infección.

En flores infectadas, los pétalos, sépalos y pedúnculo se tornan de color café, provocando marchitez y muerte de la fruta inmadura. No obstante, existen casos donde la flor llega a ser infectada sin

embargo *B. cinerea* permanece inactivo hasta que el fruto empieza a desarrollarse para mostrar signos de pudrición dura, la cual se evidencia por el crecimiento de una mancha color café en el extremo del receptáculo (Koike y Bolda, 2016: pp. 1-6). Al alcanzar la fruta su grado máximo de maduración, esta se vuelve mayormente susceptible al ataque del hongo por su alto contenido de azúcares, debido a que *B. cinerea* toma esos azúcares como fuente de carbono, la infección de frutos maduros se evidencia con la presencia de una capa de polvo gris que cubre la fruta (Petrasch et al., 2019: pp. 877-892). En base a PETRASCH et al., (2019, pp. 877-892), la inactividad de *B. cinerea* en frutos inmaduros se debe a la presencia de proantocianinas puesto que no permiten la actividad de enzimas poligalacturonasas que son necesarias para invadir al huésped.

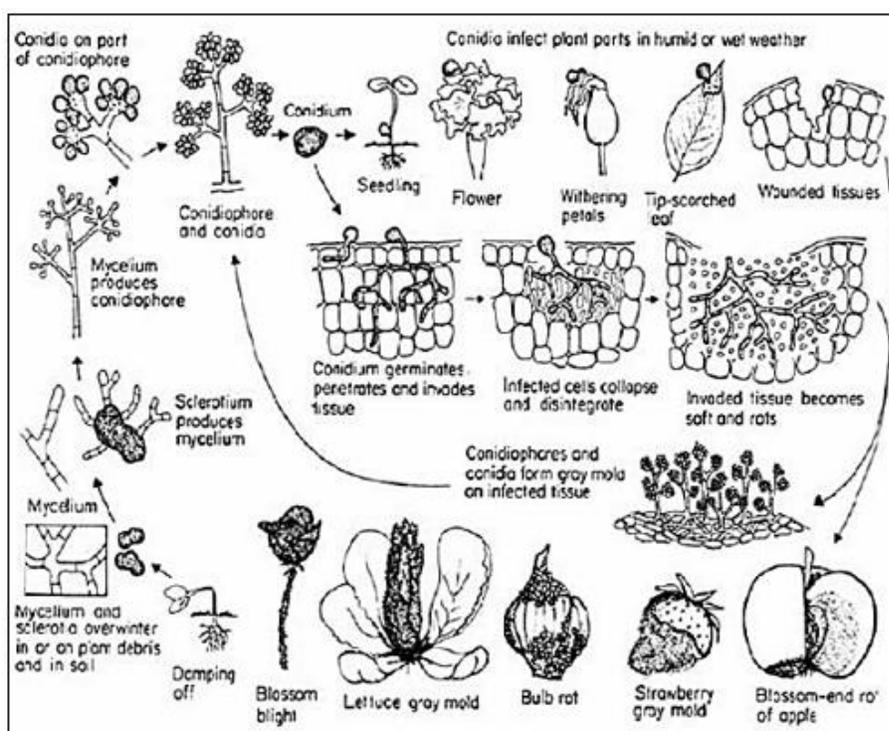


Figura 3-1. Ciclo de vida de *B. cinerea*.

Fuente: (AGRIOS 1995).



Figura 4-1. Síntomas ocasionados por *B. cinerea* en la planta de fresa (*Fragaria* sp.).

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2021.

1.2.5. Métodos de control

El objetivo de los métodos de control es proporcionar un producto limpio e inocuo para el consumidor, mediante actividades de monitoreo constante para controlar a las poblaciones de plagas o enfermedades en niveles no perjudiciales para la plantación (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015: pp. 25-29).

B. cinerea afecta gravemente la zona área de las plantas de fresa (*Fragaria* sp), hecho que genera un impacto negativo en el rendimiento agronómico de las mismas y por ende la economía de los productores y comerciantes (Sasanuma y Suzuki, 2016: pp. 1730-1736).

Con base en Koike y Bolda (2016, pp 1-6), existen tres métodos para el manejo o control de *B. cinerea* en plantaciones de fresa (*Fragaria* sp):

1.2.5.1. Control químico

Hace referencia al uso frecuente de productos agroquímicos para el control de enfermedades. Es necesario recalcar que la planta de fresa (*Fragaria* sp) se caracteriza por florecer durante un largo periodo de varios meses, por lo cual sus flores nuevas y recién abiertas se encuentran propensas a sufrir ataques por *B. cinerea*. En particular *B. cinerea* al ser un hongo de fácil propagación, se distingue por provocar ataques devastadores en plantaciones enteras si las condiciones ambientales se lo permiten. Por consiguiente, el agricultor se ha visto en la necesidad de utilizar indiscriminadamente una serie de productos químicos que en su momento controlan la enfermedad, sin embargo, su uso extensivo ha provocado resistencia en *B. cinerea* (Koike y Bolda, 2016: pp. 1-6).

1.2.5.2. Control cultural

Corresponde a las labores que el agricultor realiza de manera manual en cada cama de producción para evitar el ataque de cualquier resto de plaga o enfermedad almacenada en la zona área de la planta. De acuerdo con Koike y Bolda (2016, pp. 1-6) y Cámara de Comercio de Bogotá (2015, p. 26), las labores culturales mayormente empleadas son: podas de saneamiento para la eliminación de hojas secas, senescentes y frutos momificados. Para evitar concentrar la humedad entre plantas se recomienda dejar espacios considerados entre planta y planta. La selección de variedades que no produzcan demasiado follaje. El empleo de técnicas de riego por goteo para un mejor control del agua. La recolección total de frutas maduras durante la cosecha.

1.2.5.3. Control biológico

Es un método que aprovecha los beneficios de organismos antagonistas como agentes de control de enfermedades. Las bacterias, hongos y levaduras son los microorganismos más empleados para el control de enfermedades causadas por agentes patógenos (Chen et al., 2018: pp. 33-46).

Gran parte de las plagas y organismos fitopatógenos tienen enemigos naturales que se emplean como estrategia de disminución de poblaciones que causan problemas en el sector agrícola. El uso de agentes de control biológico provee beneficios ambientales importantes ya que el organismo antagonista es específico hacia el patógeno de interés, respetando la microbiota benéfica del suelo y la fauna útil (Rubio y Ferres, 2005).

En este sentido Nobre et al., (2005, pp. 132-143) y PINCAY et al., (2021, pp.109-124), mencionan la capacidad antagonista de hongos del género *Clonostachys* sp, *Alternaria* sp, *Trichoderma* spp como potenciales antagonistas de *B. cinerea*.

1.3. *Trichoderma* spp

Trichoderma es un hongo saprófito oportunista presente en la rizosfera terrestre de bosques o suelos de uso agrícola, se caracteriza por tener amplia gama de adaptabilidad convirtiéndolo en un hongo cosmopolita, además se desarrolla en una variedad de sustratos, siendo apto para un proceso de producción masiva, ideal para el uso agrícola (Companiononi et al., 2019: pp. 237-248).

De acuerdo con Companiononi et al., (2019, pp. 237-248) y Sánchez et al., (2021, pp. 26-42), el género fúngico *Trichoderma* ha sido estudiado durante más de 70 años como una alternativa sostenible para el control de fitopatógenos y como agente promotor en el crecimiento de cultivos de importancia agrícola, sin embargo, no fue hasta el siglo XXI donde se empezó a comercializar formulados fúngicos con especies de *Trichoderma* para el uso en la agricultura moderna.

Dentro del género *Trichoderma* existen aproximadamente 30 especies identificadas por su morfología, no obstante, con la aplicación de técnicas moleculares se ha logrado identificar más de 100 especies de este género (Companiononi et al., 2019: pp. 237-248), de las cuales la mayoría de especies posee características antagónicas ante hongos patógenos del suelo como *Sclerotium* sp., *Verticillium* sp., *Phymatotrichopsis omnívora*, *Botrytis* sp y *Fusarium* sp (Sánchez et al., 2021: pp. 237-248).

1.3.1. Clasificación taxonómica

Según (Companiononi et al., 2019: pp. 237-248) *Trichoderma* se ubica taxonómica en (Tabla 3-1):

Tabla 3-1: Clasificación taxonómica de *Trichoderma*.

Categoría	Taxón
Reino	Fungi
División	Mycota
Subdivisión	Eumycota
Clase	Hyphomycetes
Orden	Moniliales
Familia	Moniliaceae
Genero	<i>Trichoderma</i>

Fuente: (COMPANIONI, DOMÍNGUEZ y GARCÍA 2019).

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2021.

1.3.2. Características macroscópicas y microscópicas

Macroscópicamente *Trichoderma* spp se caracterizan por tener un crecimiento micelial aterciopelado cuyo color varía desde el blanco al verde de acuerdo al tiempo de incubación. La forma de crecimiento del micelio es también un factor de identificación ya que existen especies con crecimiento radial como se aprecia en la (Figura 5-1).

En cuanto a sus características microscópicas *Trichoderma* spp presenta conidióforos con ramificaciones denominadas fiálides en las cuales se forman los conidios que poseen una pared celular formada por quitina y glucanos. Los conidios de *Trichoderma* son de gran importancia para la identificación de especies (Infante et al., 2009: pp. 14-21).

Es importante recalcar, que los conidios no son las únicas formas de reproducción de este hongo y esto depende ampliamente de la especie y de las condiciones de humedad y temperatura a las que *Trichoderma* esté sometido. De modo que *Trichoderma* produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios. Siendo las clamidosporas una estructura de sobrevivencia del hongo ante condiciones extremas (Infante et al., 2009: pp. 14-21).



Figura 5-1. Características macroscópicas de *Trichoderma* sp.

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2021.

1.3.3. Importancia agrícola

América latina ha presentado problemas en los cultivos debido al manejo de sistemas agrícolas ineficientes y la baja disponibilidad de nutrientes en el suelo, hecho que ha provocado el uso indiscriminado de productos agrícolas de origen químico con el objetivo de incorporar y mejorar la calidad de sus tierras. Sin embargo, el uso excesivo de estos productos provoca salinidad en el suelo, lo cual afecta la microbiota y la asimilación de nutrientes en la planta (Hernández et al., 2019: pp. 98-112). Del mismo modo, el uso incontrolado de plaguicidas químicos empleados para el control de fitopatógenos ha provocado resistencia en las plagas, disminución de la microbiota del suelo y contaminación ambiental (Chen et al. 2016: 315-324; citados en Hernández et al., 2019: pp. 98-112).

Por consiguiente, como una alternativa al uso de productos de origen químico se sugiere el uso de agentes de control biológico como *Trichoderma*, conocido por producir hormonas (auxinas y giberelinas) enzimas, metabolitos secundarios que aportan favorablemente en el crecimiento y protección de la planta ante patógenos del suelo. Agregando a lo anterior *Trichoderma* facilita la captación de diversas sales y nutrientes a la planta, puesto que este género también produce ácidos orgánicos (glucónico, fumárico y cítrico) los cuales favorecen la solubilidad de nutrientes presentes en el suelo como fosfatos, magnesio, hierro y manganeso. De igual forma colabora en la degradación de compuestos orgánicos gracias a su producción de enzimas (Hernández et al., 2019: pp. 98-112).

Por su versatilidad las especies del genero *Trichoderma* se han posicionado como agentes contribuyentes de múltiples beneficios en el sector agrícola (Hernández et al., 2019: pp. 98-112).

1.3.4. Mecanismos de acción

Trichoderma es un género reconocido por su gran capacidad de adaptación y generación de metabolitos, como enzimas, compuestos potenciadores de crecimiento vegetal y compuestos volátiles, los cuales son aprovechados por el hombre en el campo biotecnológico y ambiental.

Trichoderma posee varios mecanismos de acción para enfrentarse y biorregular el crecimiento de fitopatógenos del suelo.

1.3.4.1. Antibiosis

Mecanismo por el cual se produce la inhibición del crecimiento de patógenos gracias a la producción de metabolitos tóxicos generados por las reacciones bioquímicas del metabolismo celular de *Trichoderma*. Según Dennis y Webster, (1971); citado por Martínez et al., (2017), determinaron que especies del género *Trichoderma* producen micotoxinas como: gliotoxina, viridina, trichodermina, suzukacilina, alameticina, dermadina, trichotecenos y trichorzianina.

El género *Trichoderma* no solo genera diversos antibióticos, también produce metabolitos secundarios volátiles y no volátiles que inhiben el crecimiento microbiano sin existir contacto físico (Martínez et al. 2017: pp. 9-14).

1.3.4.2. Competencia por espacio y nutrientes.

Infante et al., (2009, pp. 14-21) establece que *Trichoderma* al ser un hongo con alta plasticidad ecológica, hace que este sea un microorganismo ampliamente distribuido en diferentes sustratos. *Trichoderma* spp están biológicamente preparados para adaptarse y colonizar con rapidez el sustrato en condiciones adversas.

Gracias a la riqueza enzimática que posee este género de hongos, tienen la capacidad de competir con otros organismos por nutrientes como nitrógeno, almidón, celulosa, quitina y microelementos, los cuales son importantes en el desarrollo del hongo (Martínez et al. 2017: pp. 9-14). Por otro lado, la competencia por espacio depende ampliamente de la microbiota presente en el suelo, si el suelo se encuentra invadido por fitopatógenos, *Trichoderma* activa diversos mecanismos de acción con el fin de apropiarse y desarrollarse en determinado espacio (Infante et al. 2009: pp. 14-21).

1.3.4.3. Micoparasitismo

Es un mecanismo donde se genera una interacción biológica denominada simbiosis antagónica entre dos hongos, en la cual *Trichoderma* se alimenta del fitopatógeno (Martínez et al. 2017: pp. 9-14). De acuerdo con CHET Y BENHAMOU (1998) citado por Infante et al., (2009, pp. 14-21), el micoparasitismo se produce mediante cuatro etapas:

La primera etapa llamada etapa de crecimiento quimiotrófico, en donde *Trichoderma* localiza a su futuro hospedante y sus hifas empiezan a crecer en dirección al patógeno.

La segunda etapa es de reconocimiento, siendo esta solamente para patógenos específicos, de ser el caso el reconocimiento se realiza por interacciones lectinas-carbohidratos.

La tercera etapa es de adhesión y enrollamiento, si la etapa de reconocimiento fue positiva, las hifas de *Trichoderma* utilizan unas estructuras en forma de gancho para adherirse y a la vez enrollarse a las hifas del patógeno. Es importante recalcar que el enrollamiento es posible debido a la presencia de un azúcar en la pared de *Trichoderma* y una lectina localizada en la pared del patógeno.

La cuarta y última etapa es la actividad lítica, aquí *Trichoderma* secreta enzimas proteasas, quitinasas y glucanasas, las cuales hidrolizan la pared celular del patógeno permitiendo la penetración de las hifas de *Trichoderma* y estas a su vez absorben los nutrientes del patógeno. Finalmente, esta etapa termina con la pérdida del contenido citoplasmático del patógeno hospedante.

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Hipótesis y especificación de las variables

2.1.1. Hipótesis

El uso de *Trichoderma* sp como agente biocontrolador provocará mayor inhibición de *Botrytis cinerea* en plantas de fresa (*Fragaria* sp) en comparación al tratamiento químico aplicado.

2.1.2. Variables

2.1.2.1. Variable independiente

Tipo de solución.

2.1.2.2. Variable dependiente

Severidad de la enfermedad.

2.2. Tipo y diseño de la investigación

2.2.1. Por el tipo de investigación

El presente trabajo fue diseñado bajo un enfoque mixto: cualitativo porque se realizó inspecciones sensoriales para determinar la presencia del fitopatógeno y cuantitativo porque se contabilizó la incidencia de *B. cinerea* en plantas de fresa (*Fragaria* sp).

A su vez el trabajo conllevó a ser una investigación con objetivo aplicativo y alcance de tipo explicativo puesto que, se pretende encontrar la concentración a la cual *Trichoderma* sp resultará eficaz en la inhibición de *B. cinerea* presente en las plantas de fresa (*Fragaria* sp) sometidas a experimentación.

En cuanto a la manipulación de variables mantuvo un diseño experimental ya que, se utilizó como variable independiente; el tipo de solución (química y biológica) que incidirá sobre la severidad de la

enfermedad en las unidades experimentales. También se consideró una investigación longitudinal o evolutiva de tendencia porque en la investigación se analizó los cambios notables en las unidades experimentales a través del tiempo.

2.2.2. Por el diseño de la investigación

El presente proyecto recae en un diseño experimental con post prueba y grupo control, puesto que se pretende estudiar el impacto de los tratamientos y/o los procesos de cambio en situaciones donde los sujetos o unidades de observación han sido asignados de acuerdo a un criterio aleatorio (Fernández et al. 2014: pp. 756.771).

El diseño experimental consto de cinco tratamientos con tres repeticiones, obteniendo un total de 15 unidades experimentales. T1: tratamiento biológico (ingrediente activo *Trichoderma* sp) al 50% de la dosis recomendada por el producto TRIKOFUN; T2: tratamiento biológico (ingrediente activo *Trichoderma* sp) al 100% de la dosis recomendada por el producto TRIKOFUN; T3: tratamiento biológico (ingrediente activo *Trichoderma* sp) al 150% de la dosis recomendada por el producto TRIKOFUN; T4: tratamiento químico comercial skipper (ingrediente activo *Iprodione*); T5: tratamiento testigo o control.

Para el análisis estadístico se realizó un diseño de bloques completamente al azar, para la comparación entre los tratamientos biológicos y el tratamiento químico con respecto al testigo referencial fue necesario una prueba ANOVA con el fin de establecer las diferencias entre los tratamientos. Para la separación de medias se realizó la prueba de Duncan al 5%.

2.3. Lugar de la investigación

El desarrollo del presente proyecto de investigación se llevó a cabo de manera *in vitro* en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en la Panamericana Sur km 1 1/2, Riobamba; mientras que la fase experimental de campo se realizó en la plantación de fresa (*Fragaria* sp) ubicada en la parroquia Valparaíso perteneciente a la provincia de Chimborazo, cantón Guano, con coordenadas geográficas UTM WGS 84 17S; latitud S01°34'11.2" y longitud W078°36'04.2" a una altura de 3382 m.s.n.m.

2.4. Unidad de análisis

Muestras de fresas (*Fragaria* sp) contaminadas por *B. cinerea* recolectadas en la plantación de fresa

ubicada en la parroquia Valparaíso, cantón Guano y plantas de fresa de variedad albión ubicadas en las cinco primeras camas elevadas pertenecientes a la plantación ya mencionada.

2.5. Población de estudio

La población de estudio está representada por una población finita (plantación de fresa), constituida por 3000 plantas en etapa de producción, en una extensión aproximada de 1000 m².

2.6. Etapas de la investigación

2.6.1. Ensayo en laboratorio

*2.6.1.1. Aislamiento de *B. cinerea**

Para el aislamiento de *B. cinerea*, se recolectaron frutos de fresa (*Fragaria* sp) con presencia de moho gris, estos fueron almacenados en fundas herméticas para su posterior traslado al Laboratorio de Biotecnología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

En laboratorio, *B. cinerea* fue aislado a partir de la esporulación grisácea que presentaban los frutos de fresa (*Fragaria* sp). Para la siembra por triplicado se empleó la técnica por contacto en placas Petri con agar PDA, las cuales se incubaron a una temperatura de 25 °C por un período de siete días hasta presenciar la formación de colonias fúngicas.

*2.6.1.2. Identificación taxonómica de *B. cinerea* y *Trichoderma* sp*

Para la identificación taxonómica se empleó la técnica de tinción con azul de lactofenol. Para lo cual se sacó improntas fúngicas con la ayuda de un segmento de cinta transparente que fue colocado sobre el micelio de la caja seleccionada, y posteriormente depositado sobre un porta objetos previamente colocado una gota del colorante azul de lactofenol. Para llevar a cabo la observación se utilizó un microscopio OLYMPUS con amplificación 100x (López et al. 2014).

Para el análisis macroscópico se consideró aspecto y color de la colonia fúngica; mientras que para el análisis microscópico se tomó en cuenta características como apariencia, forma, conidióforos y conidios.

2.6.1.3. Formación de cultivos puros de *Trichoderma* sp

Los aislados de *Trichoderma* sp pertenecen a la colección del laboratorio de biotecnología Agromikroben de la ciudad de Riobamba. Estos se sembraron por triplicado en medio de cultivo PDA a una temperatura de 25 °C por un período de siete días. Los aislados de *Trichoderma* sp fueron purificados mediante siembras sucesivas empleando la técnica de punción.

2.6.1.4. Evaluación de capacidad antagonista en pruebas *in vitro*

De acuerdo con Pincay et al. (2021, pp. 109-124) la evaluación de la capacidad antagónica *in vitro* se efectuó mediante la técnica de cultivos duales, para lo cual se colocó en un extremo de la caja un disco de 5 mm con micelio de *B. cinerea* y al otro extremo de la caja se colocó un disco de las mismas medidas con micelio de *Trichoderma* sp. Cabe recalcar que este procedimiento se llevó a cabo por duplicado en medio de cultivo PDA a una temperatura de 25 °C y se realizaron mediciones diarias del crecimiento radial por un periodo de 7 días.

Además, se realizó cultivos control de *Trichoderma* sp y *B. cinerea*, para ello se colocó un disco de 5 mm con micelio de *B. cinerea* en una caja Petri con medio de cultivo PDA, de la misma manera se procedió con el disco con micelio de *Trichoderma* sp. Los cultivos control se incubaron en las mismas condiciones de los cultivos duales.

Para evaluar la capacidad antagónica se consideró la Escala de Bell (1982) la cual consta de cinco grados o niveles: I) El antagonista cubre completamente la placa de agar de tal forma que cubre la colonia del patógeno; II) El antagonista llega a cubrir más o menos las dos terceras partes de la placa de agar; III) El antagonista y el patógeno llegan a cubrir cada uno la mitad de la placa de agar; IV) El patógeno llega a cubrir más o menos las dos terceras partes de la placa de agar; V) El patógeno llega a cubrir completamente la placa de agar de tal forma que cubre la colonia del antagonista (Pincay et al. 2021, pp. 109-124).

En cuanto a la evaluación del efecto antibiótico del antagonista se empleó la fórmula del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) a los siete días, propuesta por Skidmore y Dickinson (1976, pp. 57-64):

$$PIC = \left[\frac{(C_1 - C_2)}{C_1} \right] \times 100$$

Ecuación 1: Fórmula de Skidmore y Diskinson

Donde C_1 representa el crecimiento radial del cultivo control de *B. cinerea* y C_2 representa el

crecimiento radial de *B. cinerea* en el cultivo dual.

2.6.1.5. Masificación de *Trichoderma sp* en arroz

El procedimiento se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por (Troya y Vaca, 2014, p. 1). Para la masificación se empezó con la siembra de *Trichoderma sp* en matrices o botellas de vidrio, como sustrato se utilizó arroz pre cocido durante cinco minutos, este a vez fue distribuido en las botellas para pasar por un proceso de esterilización en autoclave. Una vez frío el sustrato, dentro de una cámara de flujo la inoculación de *Trichoderma sp* se realizó con la técnica de siembra por parches, el cual consiste en realizar cortes del medio de cultivo con micelio de *Trichoderma sp* para colocarlo dentro de las botellas. Una vez inoculadas, las matrices se incubaron en total oscuridad durante un periodo de tres días a una temperatura de 25 °C, posteriormente se cambió la ubicación de las matrices a un lugar con buena iluminación durante un periodo de quince días a temperatura ambiente.

Posterior a ello se realizó la siembra de *Trichoderma sp* en fundas de producción, donde se siguió el mismo procedimiento de las matrices hasta antes de la inoculación del microorganismo, para esta etapa se empleó 200 ml de agua destilada estéril y una matriz totalmente colonizada para la extracción de conidios. Para la inoculación se tomó 5 ml de la solución de la matriz y se depositó en las fundas de polipropileno. La etapa de incubación se realizó en las mismas condiciones de las matrices.

Al pasar un periodo de quince días de incubación, las fundas de producción se encontraron listas para la cosecha de conidios de *Trichoderma sp*.

2.6.2. Ensayo en campo

2.6.2.1. Preparación de inóculos de *Trichoderma sp* (tratamiento biológico)

Las bolsas de producción de *Trichoderma sp* fueron utilizadas para preparar suspensiones con concentraciones de $1,25 \times 10^9$, $2,5 \times 10^9$ y $3,75 \times 10^9$ conidios por mililitro. Para la preparación de inóculos fue importante realizar el conteo de conidios por mililitro de solución, empleando una cámara de Neubauer. Para la cosecha de conidias de *Trichoderma sp* se coloca el peso estimado de sustrato de las fundas de producción en un Erlenmeyer de 500 ml con 100 ml de agua estéril, para agitar constantemente hasta retirar todas las conidias que recubren cada grano de arroz, finalmente se aforó para conseguir la concentración de esporas adecuada.

2.6.2.2. Distribución de los tratamientos en campo

En la (Figura 1-2) se muestra la distribución de los tratamientos y especificación de las medidas de largo de cada tratamiento y repetición, separación entre repeticiones y ancho de cama. En la (Tabla 4-2) se reporta el número de plantas empleadas en cada tratamiento y repetición; además se encuentra el número total de plantas en cada tratamiento.

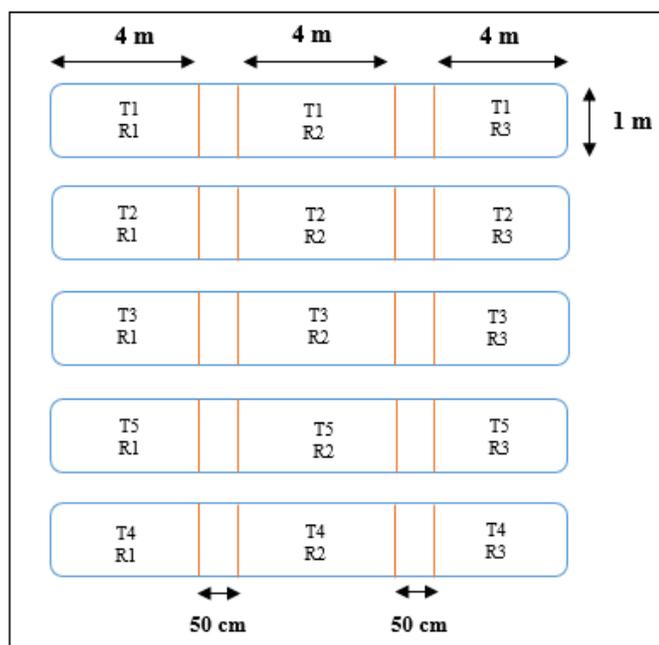


Figura 1-2. Distribución de tratamientos en plantación.

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2021.

2.6.2.3. Aplicación tratamiento biológico

Las pruebas de campo se realizaron en la plantación de fresa (*Fragaria* sp) ubicada en la parroquia Valparaíso, donde se escogieron tres camas de producción para la aplicación del tratamiento biológico a diversas concentraciones. Se tomó como referencia la dosis recomendada por la casa productora AGROMIKROBEN siendo esta $2,5 \times 10^9$ conidios por mililitro, llegando a representar el 100 % de la dosis. A partir de la dosis recomendada se preparó una dosis menor y mayor a la recomendada, siendo la dosis menor $1,25 \times 10^9$ conidios por mililitro, llegando a representar el 50 % de la dosis y la dosis mayor $3,75 \times 10^9$ conidios por mililitro llegando a representar el 150 % de la dosis.

Tomando en cuenta lo anterior, las tres camas de producción se rotularon como tratamiento uno, dos y tres respectivamente, en el tratamiento uno se aplicó la dosis menor a la recomendada, en el

tratamiento dos se aplicó la dosis recomendada y finalmente en el tratamiento tres se aplicó la dosis mayor a la recomendada. Los tratamientos se aplicaron por aspersión directa al follaje de la planta con la ayuda de una bomba manual. Se realizó un total de tres aplicaciones por tratamiento en intervalos de 15 días.

Se realizó el seguimiento o control a la aparición de síntomas como presencia de micelio y pudrición en frutos cada ocho días durante cinco semanas de experimentación.

Tabla 1-2: Datos iniciales de las camas de producción empleadas.

DENOMINACIÓN	CANTIDAD PLANTAS
T1R1	22
T1R2	20
T1R3	14
TOTAL	56
T2R1	22
T2R2	23
T2R3	19
TOTAL	64
T3R1	24
T3R2	22
T3R3	17
TOTAL	63
T4R1	31
T4R2	29
T4R3	29
TOTAL	89
T5R1	23
T5R2	23
T5R3	22
TOTAL	68

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2021.

2.6.2.4. Aplicación de tratamiento químico

Para la aplicación del tratamiento químico se escogió una cama de producción a la cual se rotuló

como tratamiento cuatro. El producto químico utilizado fue “skipper” que tiene como ingrediente activo *Iprodione*. Los tratamientos se aplicaron por aspersión directa al follaje de la planta con la ayuda de una bomba manual. La dosis de aplicación fue la recomendada por la casa comercial y se realizó un total de dos aplicaciones con intervalos de ocho días.

El seguimiento o control a la aparición de síntomas como presencia de micelio y pudrición en frutos se registró cada ocho días durante cinco semanas de experimentación.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1. Diagnóstico del estado de la plantación previo a la fase de experimentación

Al realizar la primera visita a la plantación se hizo una valoración visual del estado en el que se encontraban las plantas de fresa (*Fragaria* sp), de las cuales se evidencio que parte del follaje mantenía una coloración café rojiza; se encontró frutos momificados producto de un anterior ataque de *B. cinerea* y además de ello se ubicó frutos maduros e inmaduros con síntomas de la enfermedad ya sea con el inicio de una mancha café naciente del sépalo o presencia de moho gris cubriendo parcial o totalmente el fruto (Figura 1–3).



Figura 1-3. Síntomas de *B. cinerea* en plantas de fresa. Follaje con coloración rojiza **a)**. Fruto momificado posterior a un ataque de *B. cinerea* **b)**. Fruto infestado de conidias de *B. cinerea* **c)**.

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

3.2. Identificación taxonómica *In vitro*

La morfología del patógeno y su antagonista se observó con la ayuda de un microscopio óptico, el cual permitió la identificación de *B. cinerea* y *Trichoderma* sp, posterior a un proceso de aislamiento y purificación.

3.2.1. Identificación taxonómica de *B. cinerea*

En la (Tabla 1-3) se reporta las características observadas de acuerdo a la (Figura 2-3) en la cual se muestra las diferentes vistas del patógeno *B. cinerea*.

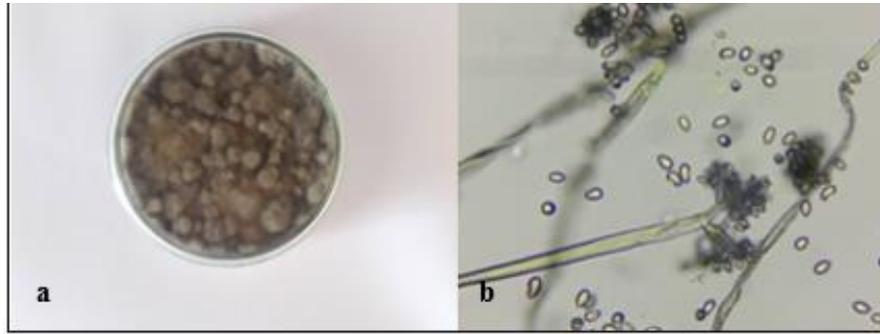


Figura 2-3. Vistas macroscópica y microscópica de *B. cinerea*. Vista macroscópica **a)**. Vista microscópica **b)**.

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

Tabla 1-3: Características macro y microscópicas de *B. cinerea*.

Características macroscópicas		Características microscópicas	
Micelio	Algodonoso.	Conidióforo	Largo y ramificado.
Coloración	Gris.	Conidios	Redondeados.
Esclerocios	Negros y aplanados.	Pigmentación	Gris o incolora.
<i>B.cinerea</i> presenta conidióforos rodeados de abundantes conidios, dando la apariencia a un racimo de uvas.			

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

3.2.2. Identificación taxonómica de *Trichoderma* sp

En la (Tabla 2-3) se reporta las características observadas de acuerdo a la (Figura 3-3) en la cual se muestra las diferentes vistas del patógeno *B. cinerea*.

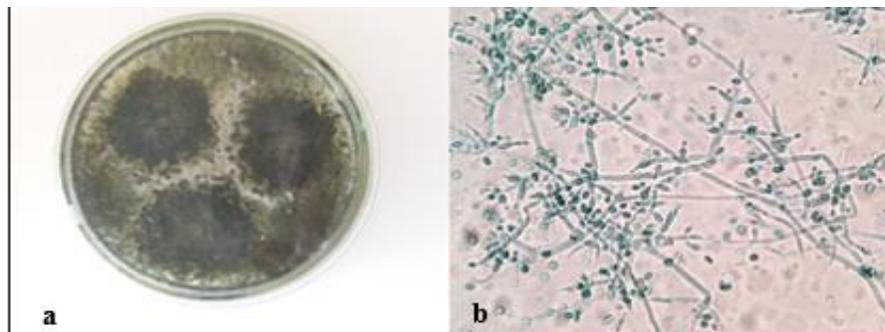


Figura 3-3. Vistas macroscópica y microscópica de *Trichoderma* sp. Vista macroscópica **a)**. Vista microscópica **b)**.

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

Tabla 2-3: Características macro y microscópicas de *Trichoderma* sp.

Características macroscópicas		Características microscópicas	
Micelio	Velutinoso o aterciopelado.	Conidióforo	De forma piramidal.
Coloración	Verde.	Filiades	Ramificados.
Crecimiento	Circular.	Conidios	Redondeados.
Elevación	Plana y extendida.		
<i>Trichoderma</i> sp presenta conidióforos conformados por fiálides ramificados en cuyos extremos se encuentran conidios redondeados. Todas estas estructuras dan una apariencia piramidal.			

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

Las observaciones realizadas con la técnica de tinción con azul de lactofenol permitieron visualizar las estructuras propias de *B. cinerea* dando la apariencia de un racimo de uvas; mientras que en *Trichoderma* sp se logró visualizar las estructuras básicas de este género, las cuales se apreciaron como una pirámide, características morfológicas que concuerdan con la descripción realizada por Agrios (1995), Goñas et al (2017) y Matute (2019).

3.3. Pruebas de antagonismo

3.3.1. Porcentaje de Inhibición de Crecimiento (PIC)

Con el fin de comprobar el potencial antagónico por antibiosis de la cepa de trabajo de *Trichoderma* sp por medio del porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) se realizaron cultivos duales por duplicado, estos fueron entre *B. cinerea* y *Trichoderma* sp. Los resultados de esta prueba se presentan en la (Tabla 3-3) en la cual se registró los valores PIC de una semana de evaluación. La media de los valores PIC del séptimo día de evaluación se muestra en la (Tabla 4 – 3).

Tabla 3-3: Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *B. cinerea* evaluados en cultivo dual.

Enfrentamiento	Inhibición del crecimiento radial (%) días						
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
<i>Trichoderma</i> sp vs <i>B. cinerea</i> R1	66,67	69,77	67,31	71,67	75,71	77,14	77,14
<i>Trichoderma</i> sp vs <i>B. cinerea</i> R2	63,33	67,44	69,23	73,33	77,14	78,57	78,57

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

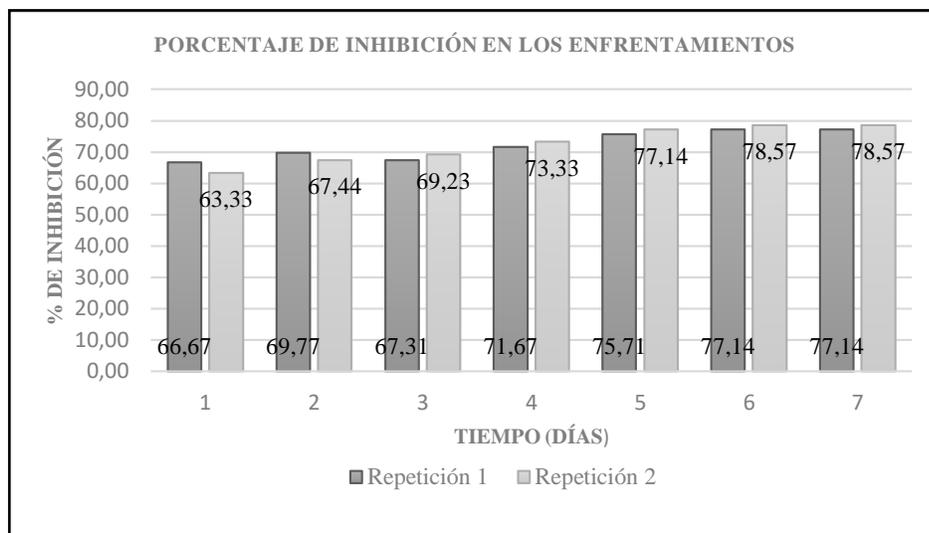


Gráfico 1-3. Inhibición de crecimiento radial de *B. cinerea* en pruebas *In vitro*.

Realizado por: Carrera P., Angélica B. 2022.

Tabla 4-3: Porcentaje de inhibición de la cepa *Trichoderma* sp.

Resultados porcentaje de inhibición de <i>Trichoderma</i> sp		
Repetición	% Inhibición	Promedio (%)
1	77,14	77,86
2	78,57	

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

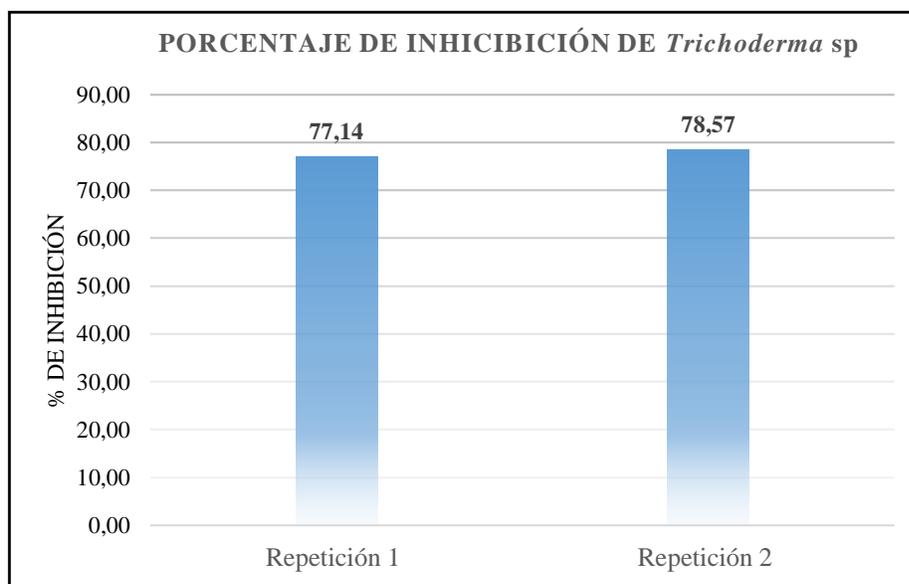


Gráfico 2-3. Porcentaje de inhibición de *Trichoderma* sp.

Realizado por: Carrera P., Angélica B. 2022.

Con respecto al análisis del crecimiento radial del antagonista se observó notablemente que *Trichoderma* sp no permitió el crecimiento de *B. cinerea*, esto debido a la acción antibiótica del antagonista. De acuerdo a Dennis y Webster (1971, pp. 41-48) y Schirmbock et al. (1994, pp. 4364-4370) las especies del género *Trichoderma* generan micotoxinas como gliotoxina, viridina, trichodermina, suzukacilina, alameticina, dermadina, trichotecenos y trichorzianina, las cuales provocan un efecto inhibitorio de la germinación de esporas y elongación de hifas en *B. cinerea*. Los resultados de este estudio mostraron la misma tendencia que los obtenidos por Pincay et al. (2021, pp. 109-124) y Marín et al. (2017, pp. 7-18) en sus estudios “EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL POTENCIAL ANTAGONISTA DE *Trichoderma* sp. Y HONGOS ENDÓFITOS DE MORA (*Rubus glaucus* Benth) PARA EL CONTROL DE *Botrytis cinerea*” y “EVALUACIÓN DE HONGOS ANTAGONISTAS DE *Botrytis cinerea* PERS., EN PLANTACIONES DE MORA, COSTA RICA”, quienes obtuvieron resultados de PIC de 75,1 % y 70,0 % respectivamente a los 7 días de evaluación.

3.3.2. Ubicación de *Trichoderma* sp en Escala de Bell

Posterior a una evaluación de crecimiento micelial durante un periodo de siete días, la cepa de trabajo *Trichoderma* sp utilizada en los cultivos duales por duplicado corresponde a una categoría de clase II de acuerdo a la escala de antagonismo de Bell (Tabla 5–3), puesto que el antagonista crece en al menos las dos terceras partes del medio de cultivo (Figura 4-3), lo cual califica como muy eficiente en cuanto a capacidad de competencia frente a *B. cinerea* (Marín et al. 2017: pp. 7-18).

Tabla 5-3: Categorías de competencia en base a la escala de Bell.

Repetición	Microorganismo	Clase
1	<i>Trichoderma</i> sp	II
2	<i>Trichoderma</i> sp	II

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

Los resultados obtenidos en el presente proyecto de investigación son similares a los de Pincay et al., (2021, pp. 109-124); Marín et al., (2017, pp. 7-18) y Goñas et al., (2017, p. 22). El estudio realizado por Pincay y sus colaboradores ubica al antagonista *Trichoderma* spp en una categoría de clase I en la escala de Bell; por su parte la investigación realizada por Marín y sus colaboradores obtuvo nueve aislamientos de *Trichoderma* spp de los cuales dos fueron ubicados en categoría de clase I, cinco en categoría de clase II y dos en categoría de clase III; un resultado similar es el obtenido por Goñas y sus colaboradores, donde emplearon varias especies del género *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. viride*, *T.*

asperelum y *T. lignorum*) como controladores biológicos de *B. cinerea*, ubicando a las cuatro especies de *Trichoderma* en una categoría de clase II. Es importante señalar que en la investigación realizada por PINCAY et al. (2021, pp. 109-124) la evaluación del grado de antagonismo fue realizado a los 12 días de incubación, por lo cual es posible que *Trichoderma* tenga mayor efectividad en periodos de tiempo prolongados.

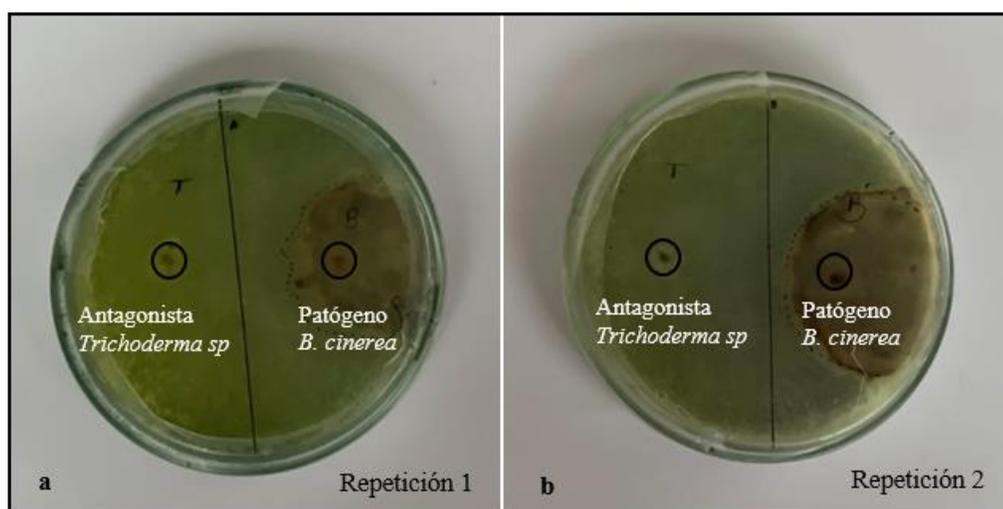


Figura 4-3. Vista posterior de cultivo dual. Vista posterior de cultivo dual Rep. 1 **a)**. Vista posterior de cultivo dual Rep. 2 **b)**.

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

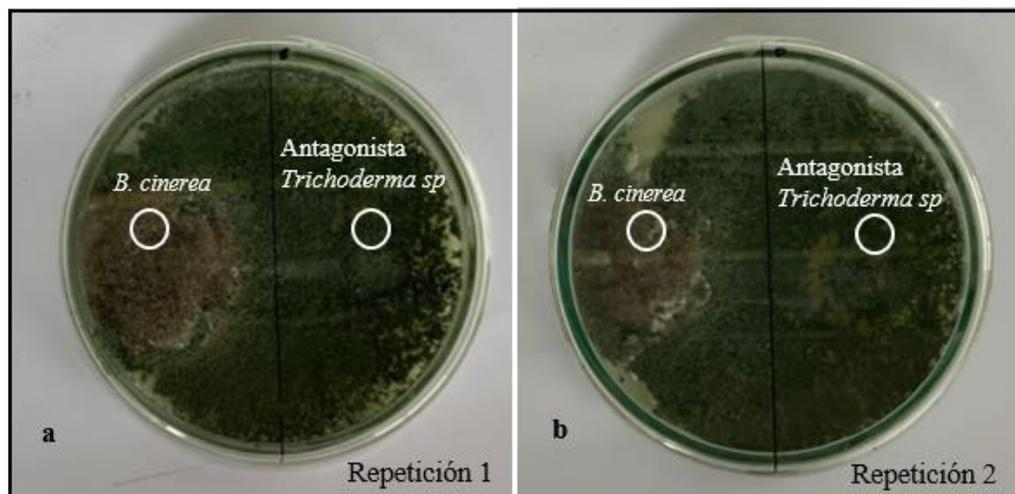


Figura 5-3. Vista frontal de cultivo dual. Vista frontal de cultivo dual Rep. 1 **a)**. Vista frontal de cultivo dual Rep. 2 **b)**.

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

3.4. Ensayo en campo

3.4.1. Porcentaje de severidad de la enfermedad

En la (Tabla 6-3) se muestra el porcentaje de severidad de la enfermedad en frutos durante un periodo de cinco semanas, posterior a la aplicación de los tratamientos empleados.

Tabla 6-3: Porcentaje de severidad de la enfermedad evaluados en frutos durante periodos de 8, 16, 24, 32 y 40 días.

Tratamientos	Severidad de la enfermedad (%) días				
	8 días	16 días	24 días	32 días	40 días
T1R1	4,54	4,54	4,54	0,00	0,00
T1R2	5,00	5,00	5,00	0,00	0,00
T1R3	0,00	7,14	0,00	0,00	0,00
T2R1	0,00	0,00	4,54	0,00	0,00
T2R2	4,34	4,34	4,34	0,00	0,00
T2R3	5,26	5,26	5,26	0,00	0,00
T3R1	4,17	4,17	0,00	0,00	8,33
T3R2	0,00	0,00	9,09	0,00	4,54
T3R3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T4R1	3,23	3,23	0,00	3,23	0,00
T4R2	6,90	6,90	3,45	6,90	0,00
T4R3	0,00	10,34	0,00	0,00	6,90
T5R1	4,34	4,34	0,00	0,00	4,34
T5R2	0,00	8,70	4,34	4,34	8,70
T5R3	4,54	22,73	13,64	4,54	22,73

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

3.4.2. Porcentaje de severidad a los ocho días

Tabla 7-3: Análisis de Varianza para porcentaje de severidad a los 8 días.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F- calculado
Repeticiones	2	5.56	2.782	0.30 n.s
Tratamientos	4	7.95	1.986	0.21 n.s

Error	8	74.09	9.261	
TOTAL	14	87.59		

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

Media general: 2.821%

n.s No significativo

En la (Tabla 7-3) se presenta los datos para el porcentaje de severidad de la enfermedad a los ocho días, dando una media general de 2.821%, determinándose que no existen diferencias significativas para los tratamientos; ya que el porcentaje de frutos infectados posterior a la primera aplicación de los tratamientos biológico y químico es similar al tratamiento testigo; sin embargo en la (Tabla 6-3) se reporta que T4 (*Iprodione*) alcanzó los mayores porcentajes de enfermedad incluso llegando a superar a T5 (Testigo). Tras la primera aplicación de los tratamientos biológicos se notó un cambio en la coloración del follaje (Figura 6-3); mientras que en las plantas expuestas al tratamiento químico T4 se observó que el follaje tomo un color verde-amarillento el cual evidencio las manchas que poseían las hojas (Figura 7-3).



Figura 6-3. Estado de las plantas antes y posterior a la aplicación de T3. Planta de fresa previo a la aplicación de tratamiento biológico T3 **a**). Planta de fresa posterior a la aplicación de tratamiento biológico T3 **b**).

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.



Figura 7-3. Estado de las plantas antes y posterior a la aplicación de T4. Planta de fresa previo a la aplicación de tratamiento químico T4 **a)** Planta de fresa posterior a la aplicación de tratamiento químico T4 **b)**.

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

3.4.3. Porcentaje de severidad a los 16 días

Tabla 8-3: Análisis de Varianza para porcentaje de severidad a los 16 días.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F- calculado
Repeticiones	2	89.90	44.951	2.38 n.s
Tratamientos	4	194.42	48.604	2.57 n.s
Error	8	151.29	125.989	
TOTAL	14	435.61		

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

Media general: 5,779%

n.s: No significativo.

De acuerdo al análisis de varianza para la variable severidad de la enfermedad a los 16 días (Tabla 8-3), se determinó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, presentando una media general de 5,779%; a pesar de ello, en la tabla 5-4 se observa que T5 (Testigo) presenta los mayores porcentajes de severidad de la enfermedad, seguido por T4 (*Iprodione*); y con menores pero similares porcentajes severidad se encuentran los tratamientos biológicos T1, T2 y T3; sin embargo las plantas que fueron sometidas a tratamientos cuyo ingrediente activo fue *Trichoderma* sp mostraron cambios notorios en la coloración del follaje.

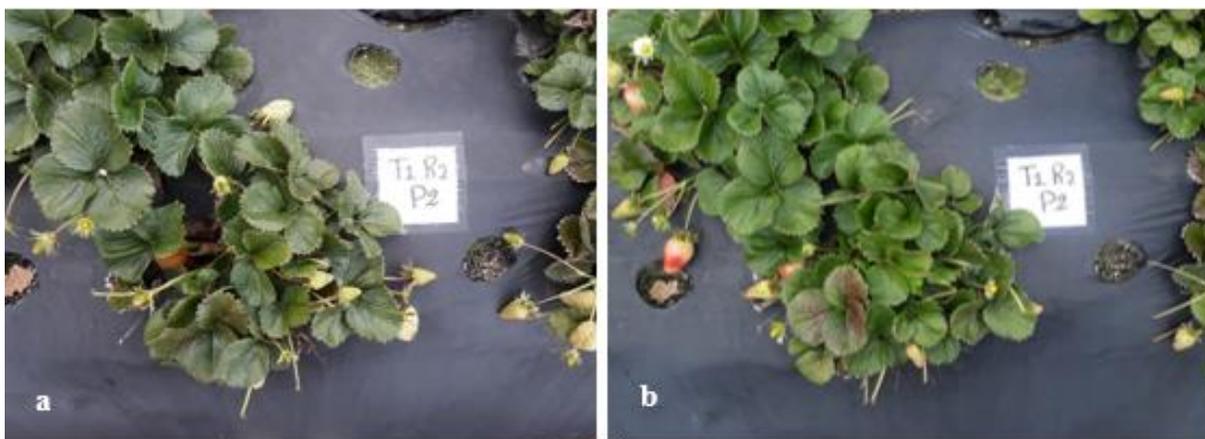


Figura 8-3. Estado de las plantas antes y posterior a la aplicación de T1. Planta de fresa previo a la aplicación de tratamiento biológico T1 **a)** Planta de fresa posterior a la aplicación de tratamiento biológico T1 **b)**.

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

3.4.4. Porcentaje de severidad a los 24 días

Tabla 9-3: Análisis de Varianza para porcentaje de severidad a los 24 días.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F- calculado
Repeticiones	2	29.59	14.793	0.81 n.s
Tratamientos	4	40.41	10.103	0.55 n.s
Error	8	146.30	18.288	
TOTAL	14	216.30		

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

Media general: 3,613%

n.s: No significativo

La severidad de la enfermedad a los 24 días de evaluación disminuyó notablemente; sin embargo, en el análisis de varianza reportado en la (Tabla 9-3) se determinó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, siendo su media general de 3,613%; no obstante, en la (Tabla 6-3) se reporta que T5 presenta el mayor porcentaje de severidad de la enfermedad, seguido por los tratamientos biológicos T1, T2 y T3; sin embargo, es importante recalcar que T4 obtiene porcentajes de severidad bajos con respecto a los demás tratamientos.

Por otra parte, las plantas que fueron sometidas a una segunda aplicación de los tratamientos cuyo

ingrediente activo fue *Trichoderma* sp (T1, T2 y T3), mostraron cambios notorios en el follaje, puesto que las mismas mostraron mayor vigorosidad al presentar aumento en el tamaño y número de hojas (Figura 9-3).



Figura 9-3. Estado de las plantas previo y posterior a la aplicación de T3 y T2. Planta de fresa previo a la aplicación de tratamiento biológico T3 y T2 a). Planta de fresa posterior a la aplicación de tratamiento biológico T3 y T2 b).

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

3.4.5. Porcentaje de severidad a los 32 días

Tabla 10-3: Análisis de Varianza para porcentaje de severidad a los 32 días.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F- calculado
Repeticiones	2	7.38	3.692	1 n.s
Tratamientos	4	36.40	9.1	2.46 n.s
Error	8	29.62	3.702	
TOTAL	14	73.40		

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

Media general: 1.267%

n.s: No significativo

De acuerdo con el análisis de varianza para la variable porcentaje de severidad de la enfermedad a los 32 días (Tabla 10-3), se determinó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, obteniendo como media general 1.267%; sin embargo como se muestra en la (Tabla 6-3), las unidades experimentales que fueron aplicados tratamientos biológicos presentaron valores de severidad de la enfermedad del 0% y siendo el T4 el tratamiento con mayor porcentaje de severidad, superando incluso al tratamiento testigo.

Para las plantas cuyos frutos presentaron síntomas de la enfermedad mostrando la presencia de micelio gris, y posterior aplicación a la segunda dosis de tratamientos biológicos (T1, T2 y T3) se evidencio una baja esporulación del hongo *B.cinerea* en la fruta notándose la nula o escasa esporulación de *B. cinerea* (Figura 10-3); al contrario de las frutas con síntomas de la enfermedad pertenecientes al Tratamiento testigo (T5) se observó la constante esporulación del hongo, notándose a los 32 días de evaluación una fruta cubierta en su totalidad de micelio de *B.cinerea* (Figura 11-3).



Figura 10-3. Frutos con síntomas de la enfermedad pertenecientes a T2. Frutos pertenecientes a T2 a los ocho días de evaluación **a)**. Frutos pertenecientes a T2 a los 32 días de evaluación **b)**.
Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.



Figura 11-3. Frutos con síntomas de la enfermedad pertenecientes a T5. Fruto perteneciente a T5 a los ocho días de evaluación **a)**. Fruto perteneciente a T5 a los 32 días de evaluación **b)**.
Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

3.4.6. Porcentaje de severidad a los 40 días

Tabla 11-3: Análisis de Varianza para porcentaje de severidad a los 40 días.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F- calculado
Repeticiones	2	64.19	32.093	1.25
Tratamientos	4	260.36	65,09	2.53 **
Error	8	205.47	25.684	
TOTAL	14	530.01		

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

Media general: **4.053%**

**** Diferencias altamente significativas**

A los 40 días de evaluación el análisis de varianza para porcentaje de severidad (Tabla 11-3) reporta que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos siendo su medio general 4.053%, por lo que se realizó una prueba de Duncan al 5% (Tabla 12-3), puesto que el tratamiento biológico T1 conserva una tendencia del 0% de severidad de la enfermedad; mientras que los tratamientos biológicos T2 y T3 denotan un aumento en el número de frutos enfermos, sin embargo, dicho valor difiere significativamente al porcentaje obtenido en el tratamiento testigo, lo que demuestra que a los 40 días de evaluación *Trichoderma* sp protege a la planta contra el ataque de *B. cinerea*.

En cuanto a los beneficios que aportan los tratamientos biológicos cuyo ingrediente activo fue *Trichoderma* sp a los 40 días de evaluación las plantas presentan un sistema radicular vigoroso y de mayor tamaño; por el contrario, las plantas sometidas a tratamiento químico (T4) y tratamiento testigo (T5) mantuvieron un sistema radicular de menor tamaño (Figura 12-3).

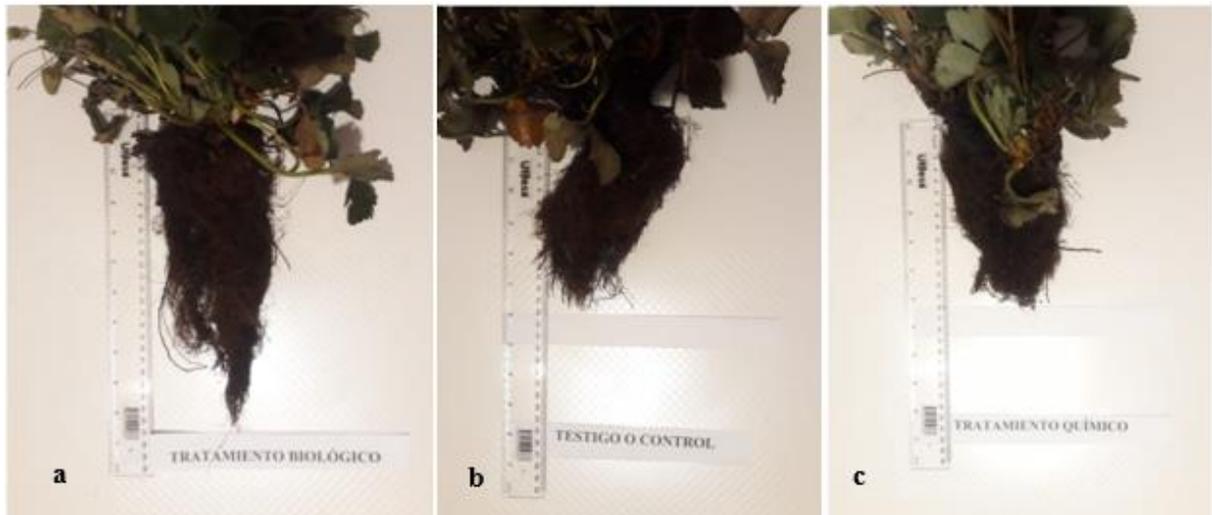


Figura 12-3. Tamaño de raíz posterior a la aplicación de tratamientos biológicos, químico y testigo. Raíz perteneciente a planta de tratamiento biológico T3 **a**). Raíz perteneciente a planta de tratamiento testigo T5 **b**). Raíz de planta perteneciente a tratamiento químico T4 **c**).

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

Tabla 12-3: Prueba de Duncan al 5% para el porcentaje de severidad a los 40 días.

Código	Media (%)	Rango
T5	11.921	A
T3	4.290	A B
T4	2.300	A B
T2	1.753	A B
T1	0.00	B

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

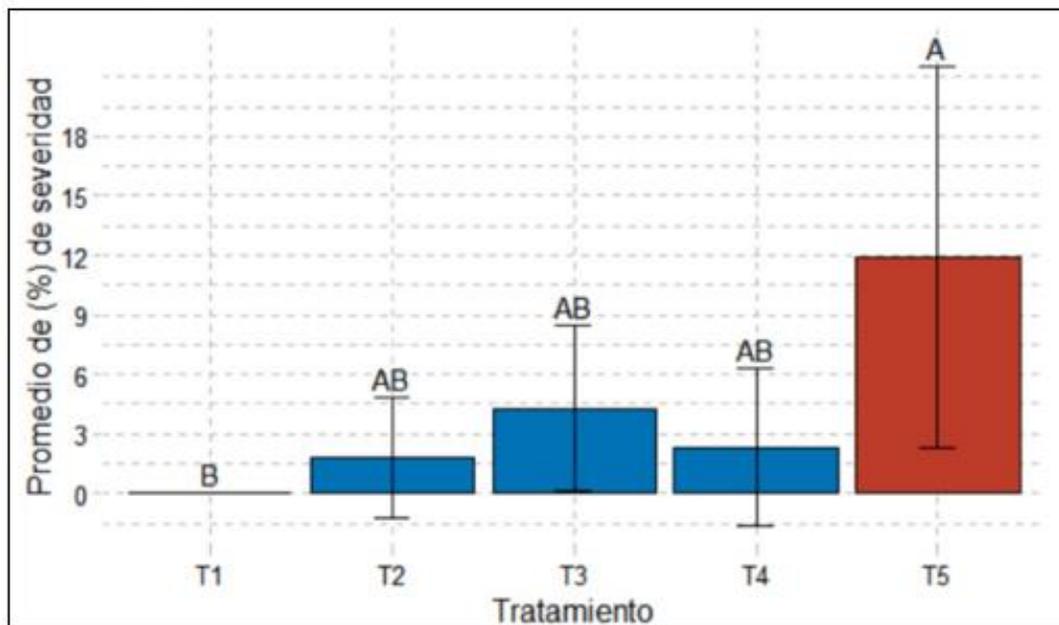


Gráfico 3-3. Porcentaje de severidad de la enfermedad *B. cinerea* bajo diferentes tratamientos. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$). Barras de error indican el error estándar.

Realizado por: Carrera Parra, Angélica, 2022.

En la (Gráfico 3-3) se observa la existencia de 3 rangos, en donde las medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente; A se muestra como el peor tratamiento para el control de *B. cinerea*, ubicándose en este rango a T5 (tratamiento testigo). Los tratamientos AB se muestran como los menos efectivos, ubicándose en este rango a T3, T4 y T2 los cuales no difieren estadísticamente. El tratamiento B correspondiente a T1 demuestra ser el mejor para el control de *B. cinerea*, puesto que obtuvo una media del 0%, atribuyendo a lo anterior la mejora notable del follaje de las plantas, el control de la esporulación de *B. cinerea* y la protección en raíces.

Los resultados de severidad de la enfermedad de la presente investigación se apoyan en los trabajos de Gaitán et al (2014, pp. 44-56), en donde se emplea similares tratamientos para el control de *B. cinerea* en plantas de fresa (*Fragaria* sp), reportando un 60% de severidad de la enfermedad en el tratamiento testigo, seguido por un 46,66% de severidad perteneciente al tratamiento químico cuyo ingrediente activo es *Iprodione*, mientras que, en los tratamientos con *Trichoderma* spp se presentó un porcentaje de severidad del 33%; es importante mencionar que los porcentajes de severidad de la enfermedad en el estudio realizado por Gaitán y sus colaboradores pueden ser mayores a los obtenidos en la presente investigación debido a la diferente población y muestras empleadas. Mbarga et al. (2012, pp. 18-22), describe a *Trichoderma asperellum* como un potencial agente controlador de *Pythium myriotylum* en la raíz del cocoyam, puesto que las pruebas en campo demostraron que las cuatro cepas de *T.*

asperellum redujeron la severidad de la pudrición en raíz del cocoyam en mas del 50%; no obstante, en un estudio reciente realizado por Acosta et al. (2020, pp. 11-20), menciona que al emplear metabolitos bacterianos e inóculos de *Trichoderma* spp para el control de *B. cinerea* en mora de castilla, este último llega a presentar un porcentaje de severidad de la enfermedad del 10, 53%, mientras que los tratamientos con metabolitos bacterianos mostraron 0% de severidad de la enfermedad; sin embargo, el porcentaje de severidad reportado para *Trichoderma* spp pudo deberse a la escasa o nula esporulación del antagonista en campo, puesto que en el estudio el autor menciona que realizó la aplicación de inóculos de origen fúngico en condiciones ambientales secas. El mismo autor reporta que una vez las condiciones ambientales fueron favorables para *B. cinerea* todos los tratamientos presentaron diferencias estadísticas no significativas.

En cuanto a los beneficios que *Trichoderma* spp aporta a la planta inoculada, en el estudio realizado por Zapata et al. (2012, pp. 47-55), se evidencia que plantas de pimiento y maíz muestran un crecimiento en la zona aérea y en el sistema radicular de las plantas con respecto al testigo posterior a la segunda aplicación de inóculos de *Trichoderma* spp; por su parte Contreras et al. (2014, pp. 503-514) determinaron que las especies *Trichoderma virens* y *Trichoderma atroviride* producen ácido indol acético y sustancias pertenecientes al grupo de las auxinas, mismas que promovieron el crecimiento de la punta de la raíz en *Arabidopsis*; Cai et al. (2013, pp. 106-113) en su estudio sostienen que la especie *Trichoderma harzianum* promueve el crecimiento vegetal en plantas de tomate, estableciendo en sus resultados que el metabolito harzianolida influye en el crecimiento del sistema radicular de la planta tanto en longitud como en puntas; Martínez et al. (2019, pp. 14-21), concluyeron que al inocular *Trichoderma* spp en mora de castilla, el hongo llega a colonizar las raíces de tal forma que fortalece su sistema radicular y potencializa la salubridad y crecimiento de la planta en la zona aérea.

CONCLUSIONES

- Posterior a varias visitas a la plantación de fresa (*Fragaria* sp) objeto de estudio se diagnosticó el estado en el que se encontraban las plantas de fresa, logrando identificar con claridad la presencia de *Botrytis cinerea* en hojas, flores y frutos, puesto que en el mes de junio de 2021 hubo un ataque extensivo de este fitopatógeno evidenciado en hojas con rojez, flores afectadas por la caída de sus pétalos e incontables frutos momificados, además de la presencia de frutos frescos cubiertos con moho gris.
- Mediante la técnica de cultivo dual se determinó que *Trichoderma* sp fue de rápido crecimiento y esporulación frente a *Botrytis cinerea*, característica que ubicó al antagonista *Trichoderma* sp en la clase II de la escala de antagonismo de Bell; en base al desarrollo del patógeno se logró determinar el porcentaje de inhibición de crecimiento radial mediante la fórmula de PIC logrando determinar que la cepa antagonista empleada en el presente trabajo posee un porcentaje de inhibición de 77,86.
- Durante la investigación se evaluó semanalmente la severidad de la enfermedad en frutos, donde se logró confirmar que posterior a una segunda aplicación de inóculos de *Trichoderma* sp los porcentajes de severidad de la enfermedad disminuyeron notablemente con respecto al tratamiento testigo (T5); sin embargo, mediante el análisis estadístico se determinó que inóculos de *Trichoderma* sp cuya concentración fue de $1,25 \times 10^9$ UPC/ml (T1) resultaron ser el mejor tratamiento para el control de *B. cinerea* con una media del 0% de severidad de la enfermedad a los 40 días. No obstante, T2 y T3 presentaron una media de severidad de la enfermedad de 1,753% y 4,290% respectivamente, demostrando ser tratamientos estadísticamente menos efectivos, encontrándose por debajo de la media de severidad obtenida en el tratamiento testigo (11,92%).
- A partir de las evaluaciones semanales para valorar la severidad de la enfermedad en frutos y junto con un registro fotográfico se comparó la efectividad del tratamiento biológico con respecto al tratamiento químico, siendo evidente durante cada evaluación que el porcentaje de severidad en tratamientos biológicos (T1, T2, T3) era menor con respecto al tratamiento químico (T4). La prueba de Duncan al 5% demostró que T1 cuyo ingrediente activo fue *Trichoderma* sp resultó ser el mejor tratamiento para el control de *B. cinerea*, mientras que el tratamiento químico se mostró como un tratamiento poco efectivo. Además, *Trichoderma* sp aportó grandes beneficios a la planta como cambios importantes en su coloración, crecimiento, protección frente a patógenos y aporte de vigorosidad al sistema radicular, beneficios no observados al aplicar el tratamiento químico (T4).

RECOMENDACIONES

- Incubar la cepa de *B. cinerea* a 25 °C y realizar la microscopía correspondiente para observar las estructuras que ayuden a su identificación posterior a los 6 días de incubación.
- En el caso de utilizar arroz como sustrato para la masificación de *Trichoderma sp* en matrices, se recomienda emplear un arroz de cocción lenta para evitar que el sustrato pierda su forma con el paso del tiempo; se recomienda no utilizar fundas Ziploc para la producción ya que no se da una correcta esporulación del hongo.
- Realizar una poda de saneamiento antes de aplicar un tratamiento de origen biológico porque la conservación de follaje senescente y frutos momificados dificulta el control de *B. cinerea*, ya que en dichos elementos pueden reposar esclerocios del patógeno y una vez existan las condiciones climáticas adecuadas la propagación de esporas será incontrolable.

GLOSARIO

Agroquímico: sustancia o mezcla de sustancias químicas destinadas para el control de plagas y enfermedades en especies vegetales tanto en la cosecha y post cosecha (VILLALOBOS, 2017).

Conidio: Esporas asexuales externas (Biasoli, 2013).

Esclerocios: estructuras de resistencia de origen fúngico generados en respuesta a condiciones ambientales adversas con el objetivo de preservar la especie y germinar cuando las condiciones ambientales sean óptimas para la sobrevivencia del hongo (Belesansky et al. 2019).

Esporas: elementos de perpetuación de la especie, de acuerdo a su ubicación pueden ser internas o externas (Micología, 2012).

Fitopatógeno: microorganismos que causan enfermedades en especies vegetales (Serrano y Galindo, 2007).

Fotoperiodo: influencia de las variaciones diurnas y nocturnas sobre el desarrollo de la planta (Rey, 2008).

Micotoxinas: son metabolitos secundarios producidos por una variedad de hongos que atacan los cultivos en campo siempre y cuando existan condiciones atmosféricas favorables para su desarrollo (Elika, 2018).

Necrotrófico: forma de nutrición de algunos hongos, la cual consiste en matar las células del hospedador para extraer nutrientes y alimentarse del mismo (Stadnik, 2002).

Senescencia: Proceso de envejecimiento. En el ámbito de la biología, la senescencia abarca el envejecimiento de las células hasta que dejan de dividirse, pero no mueren (NIH, 2019).

BIBLIOGRAFÍA

- ACOSTA, M. et al.** "Alternativas tecnológicas para el control de Botrytis sp. en mora de castilla (Rubus glaucus)". *Enfoque UTE* [en línea], 2020, (Ecuador) 11(2), pp. 11-20. [Consulta: 31 enero 2022]. ISSN 1390-9363. DOI 10.29019/enfoque.v11n2.521.
- AGRIOS, G.,** 1995. *FITOPATOLOGÍA* 2.^a ed. México: Limusa S, 1995, pp. 273-439.
- BELESANSKY, C. et al.** "Epidemiología y manejo de Botrytis cinerea Pers.Fr.en frutilla (Fragaria x ananassa (Weston) Duchesne)". *Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental. Facultad de Ciencias Agrarias. UNLZ* [en línea], 2019, 6(3), pp. 1-4. [Consulta: 31 enero 2022]. Disponible en: <http://revistafcaunlz.gramaweb.com.ar/wp-content/uploads/2019/09/belesansky-et-al.pdf>.
- BELL, D.K.** "In Vitro Antagonism of Trichoderma species Against Six Fungal Plant Pathogens". *Phytopathology* [en línea], 1982 (Georgia) 72(4), pp. 379. ISSN 0031949X. DOI 10.1094/phyto-77-379. Disponible en: https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1982Articles/Phyto72n04_379.PDF.
- BIASOLI, M.** *Reproducción asexual* [en línea]. S.l.: s.n. 2013. [Consulta: 2 octubre 2021]. Disponible en: https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/file.php/123/TEORIAS_2013/2o_Clase-Conidiogenesis-2013.pdf.
- BOLDA, M., DARA, S., FALLON, J., SÁNCHEZ, M. y PETERSON, K.** *Manual de Producción de Fresa para los Agricultores de la Costa Central* [en línea]. S.l.: s.n. 2015. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: www.rcdsantabarbara.org.
- BURT, C., O'CONNOR, K., RUEHR, At. y CALIFORNIA POLYTECHNIC STATE UNIVERSITY..** *Irrigation Training and Research Center.* [en línea]. California: s.n. 1998. [Consulta: 27 enero 2022]. Disponible en: <https://www.worldcat.org/title/fertigation/oclc/59446161>.
- CAI, F., YU, G., WANG, P., WEI, Z., FU, L., SHEN, Q. y CHEN, W.** "Harzianolide, a novel

plant growth regulator and systemic resistance elicitor from *Trichoderma harzianum*". *Plant Physiology and Biochemistry* [en línea], 2013, vol. 73, no. pp. 106-113. [Consulta: 1 febrero 2022]. ISSN 09819428. DOI 10.1016/j.plaphy.2013.08.011. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.08.011>.

CÁMARA DE COMERCIO DE BOGOTÁ. *Manual de fresa* [en línea]. S.l.: s.n, 2015. [Consulta: 22 noviembre 2021]. Disponible en: <https://bibliotecadigital.ccb.org.co/handle/11520/14312>.

CANO, M.A. "Estrategias biológicas para el manejo de enfermedades en el cultivo de fresa (*Fragaria* spp.)". *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* [en línea], 2014, 7(2), pp. 263-276. [Consulta: 23 septiembre 2021]. ISSN 2011-2173. DOI 10.17584/rcch.2013v7i2.2240. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v7n2/v7n2a11.pdf>.

CHEN, J.L., SUN, S.Z., MIAO, C.P., WU, K., CHEN, Y.W., XU, L.H., GUAN, H.L. y ZHAO, L.X. "Endophytic *Trichoderma gamsii* YIM PH30019: A promising biocontrol agent with hyperosmolar, mycoparasitism, and antagonistic activities of induced volatile organic compounds on root-rot pathogenic fungi of *Panax notoginseng*" *Journal of Ginseng Research* [en línea], 2016, 40(4), pp. 315-324. [Consulta: 6 diciembre 2021] ISSN 12268453. DOI 10.1016/j.jgr.2015.09.006. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgr.2015.09.006>.

CHEN, P., CHEN, R. y CHOU, J. "Screening and Evaluation of Yeast Antagonists for Biological Control of *Botrytis cinerea* on Strawberry Fruits". *Mycobiology* [en línea], 2018, 0(0), pp. 33-46. [Consulta: 27 noviembre 2021] ISSN 1229-8093. DOI 10.1080/12298093.2018.1454013. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1454013>.

COMPANIONI, B., DOMÍNGUEZ, G. y GARCÍA, R. "Trichoderma: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura". *Bioteología Vegetal* [en línea], 2019, 19(4), pp. 237-248. [Consulta: 15 noviembre 2021] ISSN 2074-8647.

CONTRERAS, H.A., MACÍAS-RODRÍGUEZ, L., ALFARO-CUEVAS, R. y LÓPEZ-BUCIO, J. "Trichoderma spp. Improve growth of arabidopsis seedlings under salt stress through enhanced root development, osmolite production, and Na⁺ elimination through root exudates". *Molecular Plant-Microbe Interactions* [en línea], 2014, 27(6), pp. 503-514. [Consulta: 1 febrero 2022]. ISSN 08940282. DOI 10.1094/MPMI-09-13-0265-R.

DENNIS, C. y WEBSTER, J. "Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma: II. Production of volatile antibiotics". *Transactions of the British Mycological Society* [en línea], 1971, 57(1), pp. 41-48. [Consulta: 6 diciembre 2021]. IN4. ISSN 0007-1536. DOI 10.1016/S0007-1536(71)80078-5. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(71\)80078-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(71)80078-5).

ELIKA. *Las Micotoxinas En Alimentos*. [en línea], pp. 6. [Consulta: 1 febrero 2022]. Disponible en: <https://seguridadalimentaria.elika.eus/wp-content/uploads/2018/05/Articulo-micotoxinas-alimentos-2018.pdf>.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, P., VALLEJO-SECO, G., LIVACIC-ROJAS, P.E. y TUERO-HERRERO, E. "Validez Estructurada para una investigación cuasi-experimental de calidad. Se cumplen 50 años de la presentación en sociedad de los diseños cuasi-experimentales". *Anales de Psicología* [en línea], 2014, 30(2), pp. 756-771. [Consulta: 3 diciembre 2021]. ISSN 02129728. DOI 10.6018/analesps.30.2.166911.

FUNDACIÓN CHARLES DARWIN, FOUNDATION. *Fragaria vesca L.* [En línea]. S.l.: s.n., 2022. [Consulta: 6 febrero 2022]. Disponible en: <https://www.darwinfoundation.org/es/datazone/checklist?species=700>.

GAITÁN, J.B.M., FERRUCHO, R.L. y HERRERA, J.G.Á. "Efecto de dos cepas de Trichoderma en el control de Botrytis cinerea y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria sp.*)". *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* [en línea], 2014, 8(1), pp. 44-56. [Consulta: 17 diciembre 2021]. ISSN 2011-2173. DOI 10.17584/rcch.2014v8i1.2799.

GOÑAS, M., VERA, N.Y. y LEIVA, S.T. "Efecto antagónico in vitro de controladores biológicos sobre la pudrición gris de frutos de fresa (*Fragaria spp*) en el distrito de Chachapoyas (Amazonas)". *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable* [en línea], 2017, 1(1), pp. 22. [Consulta: 10 enero 2022]. ISSN 2520-5145. DOI 10.25127/aps.20171.346.

HERNÁNDEZ, D., FERRERA, R. y ALARCÓN, A. "Trichoderma: Agricultural and biotechnological importance, and fermentation systems for producing biomass and enzymes of industrial interest". *Chilean Journal of Agricultural and Animal Sciences* [en línea], 2019, 35(1), pp. 98-112. [Consulta: 15 enero 2022]. ISSN 07193890. DOI 10.4067/S0719-

38902019005000205.

HIDALGO, J. La situación actual de la sustitución de insumos agroquímicos por productos biológicos como estrategia en la producción agrícola: El sector florícola ecuatoriano [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Andina Simón Bolívar. Quito, Ecuador. 2017. [Consulta: 17 enero 2022]. ISBN 0603001629. Disponible en: [https://repositorio.uasb.edu.ec/bitstream/10644/6095/1/T2562-MRI-Hidalgo-La situacion.pdf](https://repositorio.uasb.edu.ec/bitstream/10644/6095/1/T2562-MRI-Hidalgo-La%20situacion.pdf).

IICA. *Manual de buenas prácticas agrícolas y de producción para el cultivo de la fresa* [blog]. S.l.: s.n, 2017. [Consulta: 12 diciembre 2021]. ISBN 9789292486884. Disponible en: <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/igo/>.

INFANTE, D., MARTÍNEZ, B., GONZÁLEZ, N. y REYES, Y. "MECANISMOS DE ACCIÓN DE Trichoderma FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS". *Rev. Protección Veg* [en línea], 2009, 37(2), pp. 14-21. [Consulta: 18 diciembre 2021].

ISHIGURO, Y., OTSUBO, K., WATANABE, H., SUZUKI, M., NAKAYAMA, K., FUKUDA, T., FUJINAGA, M., SUGA, H. y KAGEYAMA, K. "Root and crown rot of strawberry caused by *Pythium helicoides* and its distribution in strawberry production areas of Japan". *Journal of General Plant Pathology* [en línea], 2014, 80(5), pp. 423-429. [Consulta: 25 noviembre 2021]. ISSN 1610739X. DOI 10.1007/s10327-014-0520-8.

KARAS, P.A., PERRUCHON, C., EXARHOU, K., EHALIOTIS, C. y KARPOUZAS, D.G. "Potential for bioremediation of agro-industrial effluents with high loads of pesticides by selected fungi". *Biodegradation* [en línea], 2011, 22(1), pp. 215-228. [Consulta: 18 diciembre 2021]. ISSN 1572-9729. DOI 10.1007/s10532-010-9389-1. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9389-1>.

KOIKE, S. y BOLDA, M. "El moho gris, o pudrición de fresa". *Comisión de la Fresa California* [en línea], 2016, vol. 13, pp. 1-6. [Consulta: 3 noviembre 2021]. Disponible en: <http://ucanr.edu/blogs/fresamora/blogfiles/37849.pdf>.

LLUMIQUINGA, P. Evaluación de fertilización mineral y órgano/mineral con fertirriego en el cultivo de frutilla *Fragaria x ananassa* (Weston) Duchesne; variedad albión [en línea] (Trabajo

de titulación). (Pregrado) Universidad Central Del Ecuador, Quito, Ecuador. 2017. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9674/1/T-UCE-0004-17.pdf>.

LOEZA, J. *Manual de producción de fresa en Coalcomán Michoacán* [blog]. Michoacan: s.n, 2018. [Consulta: 5 enero 2022]. Disponible en: [https://www.itscoalcoman.edu.mx/content/descargas/vinculacion/MANUAL PARA CULTIVO DE FRESA EN COALCOMAN.pdf](https://www.itscoalcoman.edu.mx/content/descargas/vinculacion/MANUAL_PARA_CULTIVO_DE_FRESA_EN_COALCOMAN.pdf).

LÓPEZ, L., HERNÁNDEZ, M., COLÍN, C., ORTEGA, S., CERÓN, G. y FRANCO, R. *Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología* [blog]. 2014. [Consulta: 5 enero 2022]. Disponible en: www.medigraphic.org.mx

MARÍN, M.A., RIVERA, G., VILLALOBOS, K., OROZCO, R. y OROZCO, S. "Evaluación de hongos antagonistas de botrytis cinerea pers., en plantaciones de mora, Costa Rica". *Agronomía Costarricense* [en línea], 2017, 41(1), pp. 7-18. [Consulta: 15 enero 2022]. ISSN 0377-9424. DOI 10.15517/rac.v41i1.29737.

MARTÍNEZ, A., VILLACÍS, L., WILLIAM, V., JACOME, R., ESPÍN, M., LEÓN, O. y SANTANA, R. "Clean production of castilla mora (*Rubus glaucus* Benth), in ecuador based on microorganism, for a good living of fruit farmer" *Journal of the Selva Andina Biosphere. Bolivia* [en línea], 2019, (Ecuador) 7(1), pp. 63-70. [Consulta: 31 enero 2022].

MARTÍNEZ, F., CASTILLO, S., CARMONA, E. y AVILÉS, M. "Dissemination of *Phytophthora cactorum*, cause of crown rot in strawberry, in open and closed soilless growing systems and the potential for control using slow sand filtration". *Scientia Horticulturae* [en línea], 2010, (España) 125(4), pp. 756-760. ISSN 03044238. DOI 10.1016/j.scienta.2010.05.010. [Consulta: 25 noviembre 2021].

MARTÍNEZ, H., OSORIO, E., ESTRADA, B., LÓPEZ, J., VARELA, S.; y TORRES, J. "CONTROL BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS MEDIANTE AISLADOS DE *Trichoderma* spp". *Agroproductividad* [en línea], 2017, (México) 10(3), pp. 9-14. [Consulta: 18 diciembre 2021].

MATUTE, P. Control biológico del moho gris (*Botrytis cinerea*) en cultivos de fresa (*Fragaria vesca* L.) mediante hongos filamentosos antagonistas. (Trabajo de Titulación) (Pregrado) Universidad Politecnica Salesiana, Cuenca, Ecuador. 2019. [Consulta: 2 octubre 2021]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18147>

MBARGA, J.B., TEN HOOPEN, G.M., KUATÉ, J., ADIOBO, A., NGONKEU, M.E.L., AMBANG, Z., AKOA, A., TONDJE, P.R. y BEGOUDE, B.A.D. "Trichoderma asperellum: A potential biocontrol agent for *Pythium myriotylum*, causal agent of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) root rot disease in Cameroon". *ELSEVIER* [en línea], 2012, (Cameroon) 36, pp. 18-22. ISSN 02612194. DOI 10.1016/j.cropro.2012.02.004. [Consulta: 1 febrero 2022]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2012.02.004>.

MICOLOGÍA, M. *Estructuras fúngicas* [blog], 2012. [Consulta: 3 febrero 2022]. Disponible en: http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files/1_estructuras_0.pdf.

NCBI. *Species Browser*. [en línea], 2022. [Consulta: 3 febrero 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/data-hub/taxonomy/tree/?taxon=40559>.

NIH. *Senescencia*. Instituto Nacional del Cancer. [En línea] 2019. [Consulta: 17 de Mayo de 2021]. Disponible <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/senescencia>.

NOBRE, S.A.M., MAFFIA, L.A., MIZUBUTI, E.S.G., COTA, L. V. y DIAS, A.P.S., 2005. "Selection of *Clonostachys rosea* isolates from Brazilian ecosystems effective in controlling *Botrytis cinerea*" *ELSEVIER* [en línea], 2005, (Brasil) 34 (2), pp. 132-143. ISSN 10499644. DOI 10.1016/j.biocontrol.2005.04.011. [Consulta: 2 diciembre 2021].

PETRASCH, S., KNAPP, S.J., VAN KAN, J.A.L. y BLANCO-ULATE, B. "Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea*" . *Molecular Plant Pathology* [en línea], 2019, (USA) 20 (6), pp. 877-892. ISSN 13643703. DOI 10.1111/mpp.12794. [Consulta: 25 noviembre 2021].

PINCAY, A., NOBOA, M., VIERA, W., HERRERA, K., LEÓN, A. y JACKSON, T. "Evaluación in vitro del potencial antagonista de *Trichoderma* sp. y hongos endófitos de mora (*Rubus*

glaucus Benth) para el control de *Botrytis cinerea*". *Journal of Science and Research* [en línea], 2021, (Ecuador) 6, pp. 109-124. [Consulta: 2 diciembre 2021]. Disponible en: <https://zenodo.org/record/4917695>.

RASIUKIČIŪTĖ, N., RUGIENIUS, R. y ŠIKŠNIANIENĖ, J.B. "Genetic diversity of *Botrytis cinerea* from strawberry in Lithuania Genetic diversity of *Botrytis cinerea* from strawberry in Lithuania". *Zemdirbyste-Agriculture* [en línea], 2018, (Lithuania) 105(3) pp. 264-270. DOI 10.13080/z-a.2018.105.034. [Consulta: 27 noviembre 2021].

RESTREPO, A.M., CORTÉS, M. y ROJANO, B. "Determinación de la vida útil de la fresa (*fragaria ananassa* duch.) Fortificada con vitamina e vida útil de la fresa (*fragaria ananassa* duch.) Fortificada con vitamina E". *Redalyc* [en línea], 2009, (Medellin) 76, pp. 163-175. [Consulta: 5 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/496/49611945018.pdf>.

REY, M. "Factores que influyen en el desarrollo: el fotoperiodo". *Agricultura: Revista agropecuaria y ganadera* [en línea], 2008 vol. 2, pp. 920-922. [Consulta: 5 noviembre 2021]. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_Agri%2FAgri_2008_913_920_922.pdf.

RUBIO, V. y FERRES, A. *CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES DE LOS CULTIVOS* [blog], 2005. [Consulta: 3 febrero 2022]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10261/13780>.

SÁNCHEZ, M., MORENO, L. y PÁRAMO, L. "IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPECIESAUTÓCTONASTRICHODERMA SPP., AISLADAS DE SUELOS DE IMPORTANCIA AGRÍCOLA". *EL HIGO* [en línea], 2021, (Nicaragua) 11 (1) pp. 26-42. [Consulta: 3 diciembre 2021].

SASANUMA, I. y SUZUKI, T., 2016. "Effect of calcium on cell-wall degrading enzymes of *Botrytis cinerea*". *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* [en línea], 2016, (Japon) 80 (99), pp. 1730-1736. ISSN 13476947. DOI 10.1080/09168451.2016.1146064. [Consulta: 2 diciembre 2021]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/09168451.2016.1146064>.

SCHIRMBOCK, M., LORITO, M., WANG, Y.L., HAYES, C.K., ARISAN-ATAC, I., SCALA, F., HARMAN, G.E. y KUBICEK, C.P. "Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi". *Applied and Environmental Microbiology*, [en línea], 1994, 60 (12), pp. 4364-4370. ISSN 00992240. DOI 10.1128/aem.60.12.4364-4370.1994. [Consulta: 10 enero 2022].

SEPÚLVEDA, P., DELÁNO, G. y CORREA, A. *Cultivo de Frutilla* [en línea]. Santiago de Chile, 2015. [Consulta: 5 noviembre 2021]. Disponible en: https://www.unido.org/sites/default/files/files/2021-09/Cultivo_de_frutilla_Bromuro_de_metilo_en_Chile_UNIDO_ES_2015.pdf.

SERRANO, L. y GALINDO, E. "Control biológico de organismos fitopatógenos: un reto multidisciplinario". *Ciencia* [en línea], 2007, pp. 77-88. [Consulta: 10 enero 2022]. Disponible en: mc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/58_1/PDF/controlBiologico.pdf

SERRET, M., ESPINOSA, D., GÓMEZ, O. y DELGADILLO, J. "Tolerancia de plantas de fresa (*Fragaria*×*Ananassa* Duch.) premicorrizadas con *Rhizophagus intraradices* e inoculadas con PGPR's a *Phytophthora capsici*". *Agrociencia*, [en línea], 2016, 50 (8), pp. 1107-1121. ISSN 14053195. [Consulta: 25 noviembre 2021].

SKIDMORE, A.M. y DICKINSON, C.H. "Colony interactions and hyphal interference between *Septoria nodorum* and phylloplane fungi". *Transactions of the British Mycological Society* [en línea], 1976, 66 (1), pp. 57-64. ISSN 00071536. DOI 10.1016/s0007-1536(76)80092-7. [Consulta: 6 febrero 2022]. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(76\)80092-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(76)80092-7).

STADNIK, M.J. "ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES PLANTA-HONGOS PATOGENICOS" [blog]. 2002. [Consulta: 6 febrero 2022]. Disponible en: http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursometodosfito/07_metodos_estudio_interaccion_planta_patogeno.pdf.

TROYA, C. y VACA, L. "PROTOCOLO PARA LA REPRODUCCIÓN DE CEPAS NATIVAS DE *Trichoderma* spp. en laboratorios artesanales" [blog]. 2014. [Consulta: 6 febrero 2022].

TUSTÓN, R. "SISTEMATIZACIÓN DE EXPERIENCIAS DEL CULTIVO DE FRUTILLA (Fragaria dioica) PARA LA SIERRA NORTE DE PICHINCHA" (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador. [en línea]. 2012. [Consulta: 11 noviembre 2022]. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>.

UZ-ZAMAN, A., AL-KHAYRI, J.M. y ISLAM, R., 2018. *Genetic improvement of strawberry (Fragaria × ananassa duchesne)*. S.l.: s.n. ISBN 9783319919447.

VILLALOBOS, G. *¿Qué son los agroquímicos? Fundación Solon*. [blog] 2017. [Citado el: 17 de Mayo de 2021.] Disponible en: <https://fundacionsolon.org/2021/03/17/que-son-los-agroquimicos/>.

WILLIAMSON, B., TUDZYNSKI, B., TUDZYNSKI, P. y VAN KAN, J.A.L. "Botrytis cinerea: The cause of grey mould disease". *Molecular Plant Pathology* [en línea], 2007, 8 (5), pp. 561-580. ISSN 14646722. DOI 10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x. [Consulta: 27 noviembre 2021].

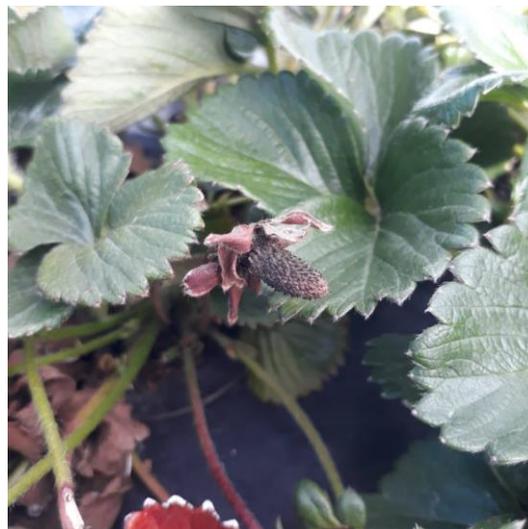
ZAPATA, R., QUIROGA, M., MURILLO, B., AGÜERO, D., LISI, B. y MENA, P. "Trichoderma spp biocontrolador y promotor de crecimiento: una alternativa al uso de agroquímicos en cultivos intensivos". *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente* [en línea], 2012 vol. 16, pp. 47-55. [Consulta: 31 enero 2022]. Disponible en: <https://www.mendoza-conicet.gob.ar/asades/modulos/averma/trabajos/2012/2012-t001-a009.pdf>.

ANEXOS

ANEXO A: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE IDENTIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD Y ROTULACIÓN DE TRATAMIENTOS EN CAMPO.



Fresa (*Fragaria* sp) cubierta con micelio de *B.cinerea*.



Fresa (*Fragaria* sp) momificada.

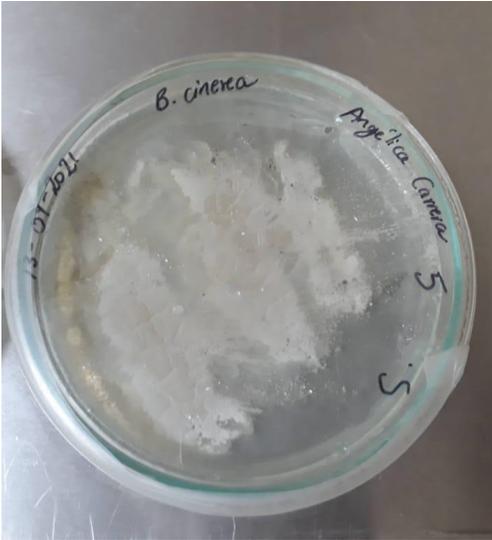
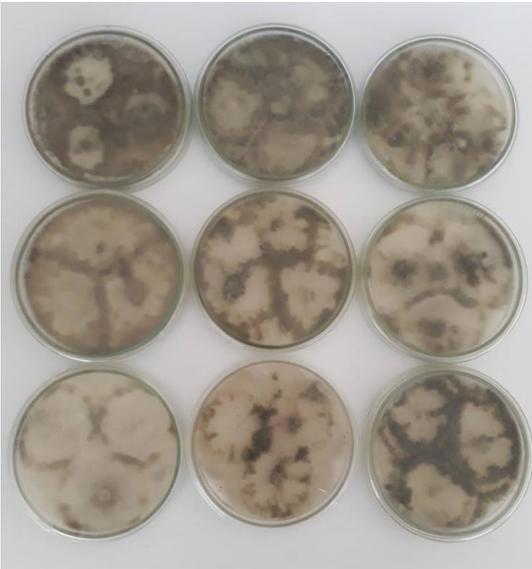


Rotulación de tratamientos.



Unidades experimentales rotuladas.

ANEXO B: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE *B. cinerea*.

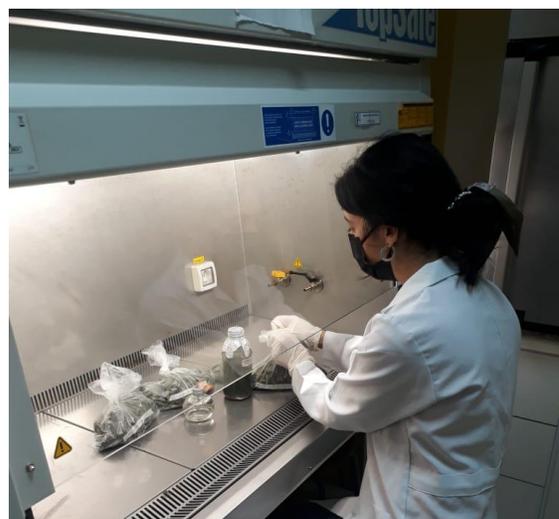
	
<p>Siembra de <i>B. cinerea</i> por técnica de contacto.</p>	<p><i>B. cinerea</i> con 30 días de incubación</p>
	
<p>Purificación de <i>B. cinerea</i> aplicando técnica de punción.</p>	<p><i>B. cinerea</i> purificado con 30 días de incubación.</p>

ANEXO C: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE SIEMBRA Y MASIFICACIÓN EN ARROZ DE *Trichoderma* sp.



Siembra de *Trichoderma* sp con disco de micelio.

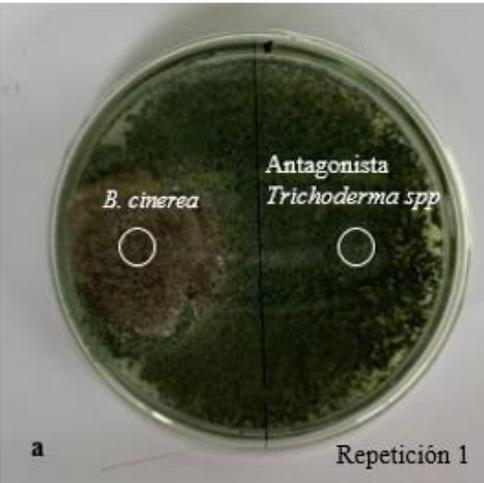
Inoculación de *Trichoderma* sp en matrices.



Matrices antes y después de exposición a la luz.

Preparación de fundas de producción.

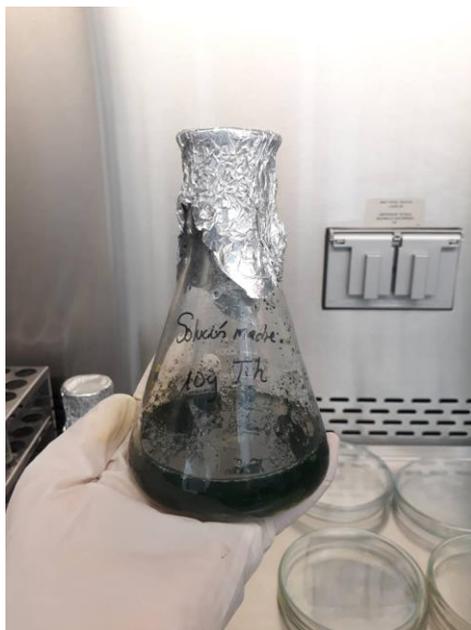
ANEXO D: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE CULTIVOS DUALES.

	
<p>Siembra de <i>B. cinerea</i> y <i>Trichoderma</i> sp en cultivos duales.</p>	<p>Cultivo dual con tres días de incubación.</p>
	
<p>Cultivo dual con siete días de incubación.</p>	<p><i>B. cinerea</i> con siete días de incubación.</p>

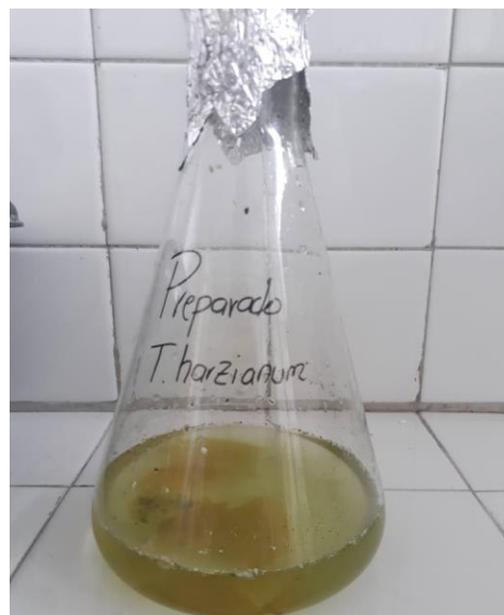
ANEXO E: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE PREPARACIÓN DE INOCULOS DE *Trichoderma* sp.



Preparación de inculo con dosis menor a la recomendada ($1,25 \times 10^9$ conidios/mililitro).



Preparación de inculo con dosis recomendada ($2,5 \times 10^9$ conidios/mililitro)



Preparación de inculo con dosis mayor a la recomendada ($3,75 \times 10^9$ conidios/mililitro)

ANEXO F: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS EN CAMPO.



Aplicación de T4 – Control químico
(*Iprodione*).



Aplicación de T(1-2-3) - Control biológico
(*Trichoderma* sp)



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

*UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL*

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 28 / 03 / 2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)

Nombres – Apellidos: *Angelica Belén Carrera Parra*

INFORMACIÓN INSTITUCIONAL

Facultad: *Ciencias*

Carrera: *Ingeniería en Biotecnología Ambiental*

Título a optar: *Ingeniera en Biotecnología Ambiental*

f. Analista de Biblioteca responsable: *Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.*

LEONARDO FABIO
MEDINA NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC, o=BANCO CENTRAL
DEL ECUADOR, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE
INFORMACION-ECIBCE, j=QUITO,
serialNumber=0000621485, cn=LEONARDO FABIO MEDINA
NUSTE
Fecha: 2022.03.28 12:40:09 -05'00'



0541-DBRA-UTP-2022