

EFFECTO PROTECTOR DE UNA CEPA NATIVA Y DE UNA COMERCIAL DE
Trichoderma spp. EN EL CULTIVO DE FRESA (*Fragaria x ananassa*).
CASO APLICADO EN LA VEREDA MONTEADENTRO DEL MUNICIPIO DE
PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER.



Cristian Schmelink Ramos Monterrosa

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Agrarias

Departamento Agronomía

Pamplona Norte de Santander, Colombia

2021

EFFECTO PROTECTOR DE UNA CEPA NATIVA Y DE UNA COMERCIAL DE
Trichoderma spp. EN EL CULTIVO DE FRESA (*Fragaria x ananassa*).
CASO APLICADO EN LA VEREDA MONTEADENTRO DEL MUNICIPIO DE
PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER.

Cristian Schmelink Ramos Monterrosa

Director

PhD. Ramón Ovidio García Rico

Co-Directora

MSc. Gladys Montañez Acevedo

Trabajo de Grado Presentado Para Optar por el Título de Magister en Extensión y
Desarrollo Rural

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Agrarias

Departamento Agronomía

Pamplona Norte de Santander, Colombia

2021

Dedicatoria

Este trabajo de investigación se lo dedico en especial a mi Dios, que me dio la fortaleza y la sabiduría en el diario vivir.

A mi esposa Yudy Marley Sandoval, y mis hijos Johan Schmelink y Ángel David que han sido la fuerza para proyectarme en el camino de la superación, al igual que a mis padres, hermanos y abuelas que siempre confiaron en mí.

Gracias.

Agradecimiento

Agradezco a Dios por permitir cumplir con el desarrollo de este proyecto y estar siempre presente en mi camino.

Agradezco a mi familia por su apoyo incondicional desde el inicio de mi carrera hasta su culminación permitiéndome crecer de manera profesional.

Agradezco a mis tutores de mi trabajo de grado Ramón Ovidio García y Gladys Montañez por su paciencia, comprensión, sabiduría y apoyo incondicional desde el inicio de este proyecto de investigación.

Agradezco a mi profesora querida Ángela Maritza Cajiao que siempre me ha apoyado en todas mis locuras de investigador. Y más que todo por enseñarme los conocimientos de Microbiología.

Agradezco a mis amigos por su acompañamiento durante este proceso, quienes tuvieron una voz de aliento cuando pensé en desistir.

Agradezco a la Universidad de Pamplona y su cuerpo docente que me acogió, como madre acoge un hijo.

“Hay un libro abierto para todos los ojos: La naturaleza”

Contenido

	P.
Resumen	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Capítulo I	5
1. Problema.....	5
1.1 Justificación.....	6
1.2 Delimitación	7
1.3 Objetivos.....	8
1.3.1 Objetivo general.....	8
1.3.2 Objetivos específicos.....	8
Capítulo II.....	10
2. Marco referencial.....	10
2.1 Antecedentes.....	10
2.1.1 Internacionales.....	10
2.1.2 Nacionales.....	13
2.2 Marco teórico.....	16
2.2.1 Desarrollo Sostenible.....	16
2.2.1.1 Desarrollo Rural	16
2.2.1.2 Desarrollo Rural Territorial DTR.....	17
2.2.1.3 Desarrollo endógeno.....	18
2.2.1.4 Agricultura sostenible.....	19
2.2.1.5 Desarrollo Rural Participativo.....	19
2.2.1.5.1 Participación y empoderamiento de la comunidad.....	20
2.2.2 Cultivo de fresa.....	20

2.2.2.1 Origen de la fresa	20
2.2.2.2 Clasificación taxonómica	21
2.2.2.3 Botánica de la fresa	21
2.2.2.3.1 Raíces.....	22
2.2.2.3.2 Tallo.....	22
2.2.2.3.3 Hojas	23
2.2.2.3.4 Estolones.....	23
2.2.2.3.5 Inflorescencias	23
2.2.2.4 Problemas fitosanitarios	24
2.2.2.4.1 La podredumbre gris del racimo (<i>Botrytis cinerea</i>)	25
2.2.2.4.2 Trips (<i>Frankliniella occidentalis</i>).....	27
2.2.2.4.3 Ácaro del cyclamen (<i>Steneotarsonemus pallidus</i>).....	29
2.2.2.4.4 Arañita roja o Araña de dos manchas (<i>Tetranychus urticae</i> Koch).....	31
2.2.2.4.5 Chizas (<i>Clavipalpus ursinus</i> y <i>Ancognatha scarabaeoides</i>)	33
2.2.2.4.6 Antracnosis (<i>Colletotrichum</i> spp.).....	33
2.2.3 <i>Trichoderma</i> sp y sus beneficios/ usos en agricultura.	35
2.2.3.1 Organismos antagónicos.....	35
2.2.3.1 Antagonista <i>Trichoderma</i> spp.	35
2.2.3.2 Fungistasis.	37
2.2.3.3 Competencia.....	37
2.2.3.4 Antibiosis.....	38
2.2.3.5 Micoparasitismo.	38
2.2.3.6 Crecimiento quimiotrófico	39
2.2.3.7 Adhesión y enrollamiento.	39
2.2.3.8 Actividad lítica.	40
2.2.3.9 Resistencia inducida.	40
2.2.3.10 Otros beneficios de <i>Trichoderma</i> spp.	41
2.3 Marco contextual	42
2.3.1 Delimitación geográfica.....	42
2.3.2 Economía rural.....	44

Capítulo III.....	45
3. Materiales y métodos	45
3.1 Obtención, aislamiento y caracterización de las cepas antagonistas	45
3.2 Aislamiento y caracterización del agente fitopatógeno.....	47
3.3 Evaluación de la actividad antagonista in vitro (cultivos duales) de los controladores biológicos contra el fitopatógeno <i>Botrytis</i> spp.....	49
3.3.1 Antagonismo de las cepas (TN01) (TN02) y (TH), contra (BT).	49
3.4 Preparación en masa y conteo de conidios de los agentes biológicos.....	51
3.5 Socialización de los resultados del efecto antagónico con los productores de fresas ...	53
3.6 Análisis de la eficacia protectora de los controladores biológicos en condiciones de campo abierto con activa participación de los agricultores.	53
3.6.1 Área de estudio	53
3.6.2 Preparación del terreno y establecimiento del cultivo	54
3.6.2.1 Riego.	55
3.6.2.2 Control de malezas.	55
3.6.3 Diseño experimental	55
3.6.4 Descripción de los tratamientos en la parcela experimental.....	56
3.6.5 Aplicación del patógeno y los tratamientos.....	58
3.6.6 Variables de estudios	59
3.6.6.1 Número de estructuras morfoanatómicas.	59
3.6.6.2 Variables fitosanitarias.....	60
3.6.6.2.1 Incidencia (%).....	60
3.6.6.2.1 Grado de severidad externa.	60
3.7 Análisis estadísticos.....	61
Capítulo IV	62
4. Resultados y análisis.....	62
4.1 Aislamiento, identificación y caracterización de los controladores biológicos.	62
4.2 Aislamiento y caracterización del hongo fitopatógeno.	65

4.3 Determinación de la velocidad del crecimiento radial del patógeno (RCP) y del antagonista (RCA), mediante ensayo dual en caja de Petri	67
4.4 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) y Micoparasitismo	71
4.4.1 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR)	72
4.4.2 Escala de evaluación de la capacidad antagónica (Micoparasitismo)	73
4.5 Biopreparados para la dosificación de los hongos antagonistas.....	777
4.6 Socialización de los resultados del efecto antagónico <i>in vitro</i>	78
4.7 Efecto protector de las cepas TN01 y TH en condiciones de campo abierto	79
4.7.1 Porcentaje de incidencia y severidad en flores	79
4.7.2 Porcentaje de incidencia y severidad en frutos	82
4.8 Variables Morfoanatómicas.....	86
4.8.1 Número de flores	86
4.8.2 Número de hojas	87
4.8.3 Número de frutos	88
4.9 Socialización final de los resultados del efecto antagónico con los productores de fresas y transferencia de tecnología	90
Conclusiones.....	93
Recomendaciones	94
Referentes bibliográficos	95
Apéndices.....	107

Índice de Tablas

	P.
Tabla 1. Escala para la evaluación de la capacidad antagónica (micoparasitismo).....	51
Tabla 2. Diseño en bloque completamente al azar (BCA).....	56
Tabla 3. Descripción de los tratamientos	57
Tabla 4. Comparación del crecimiento radial del antagonista (RCA) de los diferentes tratamientos.....	71
Tabla 5. Resultados escala del grado de capacidad antagónica	74
Tabla 6. Concentración de conidios en los biopreparados.....	78
Tabla 7. Incidencia y severidad de la enfermedad producida por <i>Botrytis</i> spp. en flores (%).....	82
Tabla 8. Incidencia y severidad de la enfermedad producida por <i>Botrytis</i> spp. en fruto (%).....	85
Tabla 9. Promedios del número de frutos por tratamientos	90

Índice de Figuras

	P.
Figura 1. Morfología de una planta madre de fresa	24
Figura 2. Ciclo de la enfermedad de <i>Botrytis cinerea</i> en fresa.....	26
Figura 3. Ciclo de vida <i>Frankliniella occidentalis</i>	28
Figura 4. Ciclo vital de <i>Steneotarsonemus pallidus</i>	30
Figura 5. <i>Tetranychus urticae</i> (Araña de dos manchas)	32
Figura 6. Frutos afectados con <i>Colletotrichum</i> spp.	34
Figura 7. Localización espacial del proyecto.....	43
Figura 8. Lugar donde fue aislado <i>Trichoderma</i> spp. (TN01).....	47
Figura 9. Frutos colectados con signos y síntomas de la enfermedad	48
Figura 10. Mediciones del crecimiento radial del patógeno y antagonistas	50
Figura 11. Preparación del arroz para la elaboración de los medios de cultivos artesanales	52
Figura 12. Selección y establecimiento de los trasplantes	54
Figura 13. Parcela neta experimental.....	58
Figura 14. Preparación de las dosis y aplicación de los controladores biológicos	59
Figura 15. Características morfológicas de la cepa (TN01)	63
Figura 16. Características morfológicas de la cepa (TH)	64
Figura 17. Características morfológicas de la cepa (TN02)	65
Figura 18. Características Morfológicas de la cepa BT	66
Figura 19. Competencia por espacio y nutriente de la cepa TN01 vs BT1	68
Figura 20. Competencia por espacio y nutrientes de la cepa TN02 vs BT2.....	69
Figura 21. Competencia por espacio y nutrientes de TH vs BTH	70
Figura 22. Inhibición del crecimiento radial (%) PICR.....	72
Figura 23. Capacidad antagónica (Micoparasitismo)	75
Figura 24. Observación del micoparasitismo en microscopía óptica de TH y TN01.....	76
Figura 25. Resultados de los Biopreparados de los Controladores y el Patógeno	77
Figura 26. Registro fotográfico de la socialización de los resultados <i>in vitro</i>	79
Figura 27. Porcentaje de incidencia y severidad en flores (%).....	81
Figura 28. Porcentaje de incidencia y severidad en frutos (%).....	84

Figura 29. Resultado de los promedios del número de flores por tratamiento	87
Figura 30. Resultado de los promedios del número de hojas por tratamiento	88
Figura 31. Resultado de los promedios del número de frutos por tratamiento	89
Figura 32. Registro fotográfico de la socialización y preparación en masa de los antagonistas ..	91

Apéndices

P.

Apéndice A. Resultados de ANOVA del crecimiento radial del patógeno (RCP) de los diferentes tratamientos y su control.....	107
Apéndice B. Resultados de ANOVA de la distancia recorrida del micelio de la cepa TN02 en comparación con el control.....	108
Apéndice C. Resultados de ANOVA de la distancia recorrida del micelio de la cepa TH en comparación con el control.....	108
Apéndice D. Humedad relativa (%) reportada por el IDEAM	109
Apéndice E. Precipitación (mm) reportada por el IDEAM	110
Apéndice F. Promedios del número de flores por tratamientos.....	111

Resumen

El género *Trichoderma* se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas. Este incluye especies que se usan ampliamente en el sector agrícola y contribuyen a la atenuación de los daños que causan las enfermedades en los agroecosistemas. Por lo tanto, este estudio se enfocó en la obtención de una cepa nativa de *Trichoderma* spp. con potencial biocontrolador para su uso en un cultivo de fresa (*Fragaria* spp.). Para ello, se hizo un análisis comparativo con una cepa comercial de *Trichoderma* spp. Las pruebas *in vitro* se realizaron en cultivos duales, comparando la capacidad antagonica de la cepa autóctona aislada del suelo en un cultivo de fresa de la Vereda Monte dentro, Norte de Santander (TN01), una cepa nativa aislada del suelo en un cultivo de banano en el municipio de Bucarasica Norte de Santander (TN02), y de la cepa comercial (TH), frente a una cepa de *Botrytis* spp., aislada en un cultivo de fresa en frutos lesionados. Todas las cepas evaluadas *in vitro* mostraron inhibición en el crecimiento radial del fitopatógeno, encontrándose diferencias significativas entre los antagonistas. En cuanto a la acción micoparasítica solo la cepa TN01 y TH presentaron esta característica con una escala de grado 4. Para evaluar la capacidad protectora en campo abierto en el cultivo de fresa, se seleccionó la cepa TN01 para comparar con la cepa comercial (TH), para esta fase se empleó un Diseño en Bloques Completamente al Azar (DBCA), con 8 tratamientos y 3 repeticiones. De los resultados obtenidos, se puede concluir que la cepa nativa TN01, mostró una eficacia comparable a la observada para la cepa comercial.

Palabras clave: Agricultura sostenible, antagonismo, control biológico, desarrollo sostenible, desarrollo endógeno

Abstract

The genus *Trichoderma* occurs naturally in a significant number of agricultural soils. This includes species that are widely used in the agricultural sector and contribute to mitigating the damage caused by diseases in agroecosystems. Therefore, this study focused on obtaining a native strain of *Trichoderma* spp. with biocontroller potential for use in a strawberry crop (*Fragaria* spp.). For this, a comparative analysis was made with a commercial strain of *Trichoderma* spp. The *in vitro* tests were carried out on dual cultures, comparing the antagonistic capacity of the native strain isolated from the soil in a strawberry crop from Vereda Monteadentro Norte de Santander (TN01), a native strain isolated from the soil in a banana crop in the municipality of Bucarasica Norte de Santander (TN02), and the commercial strain (TH), against a *Botrytis* spp. strain, isolated in a strawberry crop in injured fruits. All the strains evaluated *in vitro* showed inhibition in the radial growth of the phytopathogen, finding significant differences between the antagonists. Regarding the mycoparasitic action, only the TN01 and TH strain presented this characteristic with a scale of grade 4. To evaluate the protective capacity in open field in strawberry cultivation, the TN01 strain was selected to compare with the commercial strain (TH) For this phase, a Completely Random Block Design (DBCA) was used, with 8 treatments and 3 repetitions. From the results obtained, it can be concluded that the native strain TN01 showed an efficacy comparable to that observed for the commercial strain.

Keywords: Sustainable agriculture, antagonism, biological control, sustainable development, endogenous development

Introducción

La producción de fresa (*Fragaria* spp.) junto a sus derivados ha aumentado tanto a nivel mundial como nacional, debido a sus características nutricionales y organolépticas. Buscando el desarrollo económico, los agricultores han buscado soluciones rápidas, utilizando una gran cantidad de productos químicos como lo son los fungicidas e insecticidas. No obstante, esta medida no ha sido tan eficaz bajo ciertas condiciones, a lo anterior le sumamos la excesiva contaminación e impacto ambiental (Zhou *et al.*, 2015); además, este cultivo requiere grandes cantidades de recursos: como adecuada cobertura del suelo que consiste en cubrir las eras, surcos o camas, y otros materiales para evitar daños patológicos. Asimismo, requiere de una cantidad considerable de agua para el establecimiento de las plantaciones, y adición de fertilizantes de síntesis química, para aumentar su productividad (Rubio *et al.*, 2014).

Desafortunadamente el hombre viene utilizando desde hace décadas productos fitosanitarios, con la finalidad de aumentar la producción y proteger los cultivos frente al grave efecto de múltiples organismos vivos (insectos, hongos, nemátodos etc.). Los productos fitosanitarios una vez aplicados, son absorbidos por las plantas sobrellevando procesos de volatilización, lavado y degradación biótica y abiótica en el suelo que conducen a la formación de nuevos productos, más móviles, persistentes y más peligrosos que los compuestos de partida.

Por todo lo anteriormente mencionado, se ha utilizado el control biológico lo cual ha logrado reducir el uso indiscriminado de agroquímicos como medio de supresión y erradicación de enfermedades, haciendo necesario la incorporación de tratamientos biológicos que sean rentables y amigables con el medio ambiente (Nava *et al.*, 2012).

En control biológico se han realizado investigaciones aplicando la acción de hongos antagonistas, encontrándose diferentes especies de los géneros, y entre ellos el género *Trichoderma* spp., que ha sido reconocido por sus habilidades como biocontrolador de bacterias y patógenos del suelo (Mishra *et al.*, 2014). Esto coloca a *Trichoderma* spp., y otros organismos como los controladores biológicos naturales en los ecosistemas ya que es un habitante natural del mismo (Ramírez *et al.*, 2019).

En investigaciones en control de enfermedades con diferentes especies de *Trichoderma* spp., se ha observado que este hongo no solo reduce la severidad sino que también induce la estimulación del crecimiento de las plantas (Cubillos *et al.*, 2009), conjuntamente presenta diferentes mecanismos de acción biocontroladora sobre hongos fitopatógenos compitiendo por espacio y nutrientes, micoparasitando y realizando antibiosis, lo cual tiene una acción directa sobre el hongo patógeno (Infante *et al.*, 2009).

Por lo anterior mencionado, el principal objetivo de la presente investigación es analizar comparativamente el uso de una cepa nativa de *Trichoderma* spp., con un producto comercial Fitotripen WP (*Trichoderma* spp.) como agente biocontrolador en un cultivo de fresa de la vereda Monteadentro del municipio de Pamplona.

Capítulo I

1. Problema

La vereda Monteadentro del municipio de Pamplona, Colombia, se caracteriza por ser un territorio agrícola, en el que se destaca principalmente el cultivo de fresa. Los productores locales tradicionalmente han cultivado esta fruta, entre otros alimentos, que inicialmente se usaba para suplir sus propias necesidades básicas de alimentación. No obstante, con las dinámicas demográficas y de mercado, la producción se ha incrementado y actualmente se comercializa en los mercados locales y regionales. En su cotidianeidad, los agricultores locales deben enfrentar a diferentes agentes biológicos que se constituyen en plagas que afectan al cultivo de la fresa. Dentro del grupo de agentes fitopatógenos que afectan la productividad del cultivo, merece especial atención el hongo filamentoso *Botrytis* spp. (*Botryotinia* si se refiere a su teleomorfo), ya que las condiciones climáticas de la zona (clima húmedo, humedad relativa elevada y temperaturas entre 15-22°C), favorecen su aparición. La virulencia de las cepas de este hongo es tal, que pueden atacar a más de 200 especies vegetales, siendo la fresa uno de los cultivos de importancia económica de la región que se ven afectados con mayor frecuencia. El accionar de este agente fitopatógeno se hace notorio cuando la planta comienza su floración, ya que hasta ese momento puede permanecer en un estado inactivo o asintomático. Estas infecciones latentes pueden activarse durante el desarrollo de la flor o en etapas más tardías afectando al fruto. En el caso de la fresa, al tratarse de una fruta blanda, el fruto se convierte también en un reservorio y sustrato para su crecimiento, por lo que *Botrytis* spp., ocasiona pérdidas antes y después de la cosecha, ya que se desarrolla tanto en el campo como durante el almacenamiento y transporte (Gómez, 2013).

El uso de agentes químicos con actividad fungicida es la herramienta habitual de la agricultura tradicional para mitigar la incidencia de este hongo fitopatógeno y minimizar las pérdidas en el cultivo. Debido a que las fresas florecen por un largo período, se requiere aplicaciones múltiples a lo largo de la temporada, utilizando productos diversos con distintos mecanismos de acción para evitar la aparición de resistencias. Los agricultores deben programar las aplicaciones para maximizar la protección de las flores nuevas y recién abiertas. Cuando el agricultor hace uso de estos productos, suele incurrir en un uso indiscriminado de fungicidas, los cuales no solo causan daño a los hongos fitopatógenos sino también al medio ambiente. Lo anterior convierte su uso en un potencial problema del ámbito de la salud pública, el cual requiere de estrategias preventivas. Sin embargo, la escasa asistencia técnica por parte de las entidades estatales encargadas de ello, la falta de adopción de tecnologías por parte de los productores, la baja participación en los procesos de innovación, el inadecuado manejo del cultivo y el poco conocimiento de estrategias biológicas en la vereda, han contribuido a que el agricultor sea dependiente de estos químicos que les presenta el mercado, dejando de lado los conocimientos ancestrales y el uso de estrategias biológicas alternativas.

1.1 Justificación

La fresa (*Fragaria* spp.) es una fruta muy apetecida en el mercado nacional y extranjero por su textura, sabor, color, aroma, grados brix y valor nutricional alto, lo que la convierte en una fruta utilizada para transformación y elaboración de productos en la industria alimenticia. Según el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2020). Para el año 2019 la producción de fresa a nivel departamental y nacional han aumentado de manera considerable, convirtiendo a Norte de Santander en el tercer departamento con más producción de fresa, con un total de 4.775

toneladas anuales equivalente al 52% de producción nacional, lo cual trae grandiosos beneficios para los productores que quieran implementar este cultivo ya que no tendrá mayores dificultades para poder distribuir y comercializar el producto por la alta demanda en el mercado.

En Colombia, este cultivo es muy apreciado por su alta producción y precocidad, convirtiéndose en una de las actividades muy importante del desarrollo sostenible del país del sector hortofrutícola. Este cultivo se implementa especialmente a campo abierto, lo que genera algunas limitaciones relacionadas con el ataque de plagas y enfermedades por la exposición a condiciones climáticas adversas, lo cual pueden provocar pérdidas importantes en la producción (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015). Una de esas enfermedades de gran importancia es la podredumbre gris del racimo cuyo agente causal es *Botrytis cinerea*.

Uno de los resultados esperados del presente trabajo es el de instruir a los productores de fresa a reducir la alta incidencia de *Botrytis* spp., con alternativas basadas en control biológico y promover el desarrollo agrícola de la región, dicha alternativa es el uso de *Trichoderma* spp., como lo demuestra Castellanos, Céspedes y Valdovino (2020), que es un hongo antagonista, de fácil multiplicación, adaptabilidad, propio del suelo, cuyas cualidades han permitido su uso en numerosos cultivos de alto impacto económico, razones que han motivado a corroborar su potencial y beneficios en el cultivo de fresa. La utilización de este hongo ayuda a mitigar el uso de fungicidas, ya que dichos químicos ocasionan daño al medio ambiente y al ser humano (Pabuena *et al.*, 2015).

1.2 Delimitación

El cultivo objeto de estudio está ubicado en la Vereda Monte dentro en la finca “El Cascajal” propiedad del señor Gonzalo Granados ubicado a 7°20'46.0" N, -72°39'29.6" W.

Este trabajo busca, mediante la obtención de cepas autóctonas de *Trichoderma* spp., de la zona de interés, explorar los beneficios de su aplicación en un cultivo de fresa, especialmente en lo referente a la protección contra el hongo fitopatógeno *Botrytis* spp.

A nivel de laboratorio se procederá a realizar el aislamiento de los géneros fúngicos de interés y se verificará *in vitro* el efecto antagónico de las cepas aisladas, contra el agente fitopatógeno. Así mismo, a nivel de campo se evaluará el efecto controlador de la cepa autóctona de *Trichoderma* spp., en comparación con una cepa comercial *Trichoderma* spp., (Fitotripen WP).

El trabajo tiene un enfoque en la utilización de cepas nativas para el control biológico del hongo fitopatógeno, sirviendo como réplica a los productores de la región del uso del hongo antagonista. De esta manera, se pretende hacer la transferencia del conocimiento necesario para que los productores de este importante producto, logren adoptar nuevas técnicas de carácter técnico- científico para mejorar su producción.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Analizar comparativamente el uso de una cepa nativa de *Trichoderma* spp., con un producto comercial Fitotripen WP (*Trichoderma* spp.) como agente biocontrolador en un cultivo de fresa de la vereda Monteadentro del municipio de Pamplona.

1.3.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto antagónico "*in vitro*" de dos cepas nativas de *Trichoderma* y un producto comercial (*Trichoderma* spp.) sobre el crecimiento del fitopatógeno *Botrytis* spp.

Seleccionar, mediante el análisis del efecto antagónico “*in vitro*” sobre *Botrytis* spp., la cepa nativa de *Trichoderma* spp., con mejor potencial biocontrolador.

Comparar la capacidad protectora de los controladores biológicos seleccionados, en un cultivo de fresa (*Fragaria* spp.) en condiciones de campo abierto.

Socializar con los productores de fresas (*Fragaria* spp.) de la Vereda Monte dentro los resultados obtenidos en los ensayos de laboratorio y campo abierto.

Capítulo II

2. Marco referencial

2.1 Antecedentes

2.1.1 Internacionales

Guédez *et al.* (2009) “**Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* Rifai., sobre algunos hongos patógenos postcosecha de la fresa (*Fragaria* spp.)**”, Venezuela. Se desarrolló al comparar el crecimiento del biocontrolador con cada uno de los hongos patógenos, el análisis de varianza indicó que el crecimiento de *T. harzianum.*, difirió significativamente ($p < 0,01$) del crecimiento de *Rhizopus stolonifer* Ehrenb., *Mucor* spp., *Penicillium digitatum* Pers., *Rhizoctonia solani* Kunh., *Aspergillus niger* Tiegh y *Pythium* spp. Con respecto al control que ejerce *T. harzianum.*, sobre los hongos no hay diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0,01$), porque el crecimiento de este hongo fue similar en todas las placas de Petri, en este estudio pudieron concluir que debido a la rapidez del crecimiento de *T. harzianum.*, se pudo reducir el crecimiento de *R. stolonifer.*, *Mucor* spp., *P. digitatum.*, *R. solani.*, *A. niger.*, y *Pythium* spp. En fresa, este hongo se considera un controlador biológico efectivo en enfermedades postcosecha, aplicándose también antes de la cosecha para disminuir pérdidas durante el transporte y su estadía en las fruterías.

Así mismo, Pavone (2012), realiza la investigación “**Biocontrol de *Rhizoctonia solani* kuhn por *Trichoderma* spp.**” en su tesis doctoral. Donde evaluó la capacidad biocontroladora

en cultivos duales en medio sólido, líquido, crecimiento en suelo y vivero. Encontrando gran variabilidad de cepas evidenciando, cuál de las cepas tuvo mayor capacidad de biocontrol, las cepas TV21 (*T. hazianum*), TV118 (*T. virens*) y TV190 (*T. asperellum*), con concordancia entre los resultados *in vitro* y vivero fueron las más eficientes.

Prosiguiendo encontramos el trabajo de Quinatoa (2015). Titulado, “**Evaluación del control de *Botrytis (Botrytis cinérea pers.)* en el cultivo de mora (*Rubus glaucus Benth*) mediante el uso de *Trichoderma* y emas en la comunidad de Misquillí de la parroquia Santa Rosa, provincia de Tungurahua**”. Mostró que aplicando *Trichoderma* (Bio Fungo) (P1), se obtuvieron los mejores resultados, por cuanto los tratamientos que lo recibieron, reportaron los más bajos porcentajes de incidencia y severidad del ataque de *Botrytis*, al observarse el menor porcentaje de incidencia en infrutescencias a los 60 días (5,11%), menor porcentaje de severidad en infrutescencias a los 60 días (4,75%) y a los 90 días (3,33%), por lo que se alcanzaron los mejores rendimientos (5,25t/ha).

Desde la misma perspectiva, López (2018) en su investigación “**Producción y formulación de *Trichoderma asperellum* para el manejo de patógenos de la raíz de caña de azúcar**” para optar el título de Maestro en Manejo de Recursos Naturales, tuvo como objetivo general evaluar la producción de conidios de *T. asperellum* en dos sustratos naturales y proponer una formulación para su aplicación en campo. Se evaluaron los sustratos de granos de arroz y sorgo con diferente contenido de humedad con tiempos variados de esterilización, bajo un diseño completamente al azar con 16 tratamientos, un testigo y cuatro repeticiones para cada sustrato. Las variables respuesta fueron: la producción de conidios y la cantidad de biomasa (mezcla de

residuos del sustrato y conidios). Asimismo, se determinó la cantidad óptima de inóculo de *T. asperellum* para la producción masiva de conidios en sustrato de arroz. Y encontraron los siguientes resultados: La mayor producción de conidios (9.34×10^8 conidios/g) se presentó en el sustrato de arroz con un contenido de humedad de 28.58% esterilizado durante 15 minutos y la mayor cantidad de biomasa se obtuvo con el sustrato con un contenido de humedad del 29.44% y fue esterilizado durante 15 minutos ($P \leq 0.05$, Tukey). En el sustrato de sorgo se registró la mayor producción de conidios/g (1.49×10^8) cuando presentó una humedad de 20.87% y fue esterilizado por 15 minutos ($P < 0.05$); sin embargo, el análisis de varianza para la cantidad de biomasa no mostró diferencias significativas entre los tratamientos, presentando menos de 0.56 g.

Siguiendo en la búsqueda, Astorga *et al.* (2014). “**Evaluaron antagonismo de *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo**”, y determinaron su actividad antagónica y efecto inhibitorio utilizando el crecimiento en platos duales. La cepa de *B. subtilis* mostró un potencial con valores bajos de PICR: 14,087 ante *S. cepivorum* y 3,328 ante *Penicillium* spp., por lo que se clasifica como un mal biocontrolador. Por su parte, *Trichoderma* presentó un potencial muy alto, con valores de PICR de 40,210 frente a *S. cepivorum* y de 45,034 ante *Penicillium* spp., lo que indica que es un muy buen controlador.

En cuanto a producción artesanal de *Trichoderma* spp. Sivila y Álvarez (2013) realizaron la siguiente investigación “**Producción artesanal de *Trichoderma***” donde se mostró la metodología en la producción artesanal y Control de Calidad del hongo antagonista *Trichoderma* spp., que fue tomada como referente.

También se ha encontrado que el género *Trichoderma* spp., es de fácil propagación como lo demostró Flores *et al.* (2018). En su investigación “**Producción de *Trichoderma* spp. en diferentes sustratos**”. Y establecieron que un sustrato orgánico, es económico y de fácil adquirir, con el que *Trichoderma* spp., tenga una alta producción de esporas. Y que se pueden usar de diferentes tipos como lo son: el arroz, cebada, amaranto, quinua, maíz y otros.

2.1.2 Nacionales

Con el fin de observar algunos avances sobre agricultura sostenible, basada en control biológico de *Trichoderma* spp., se encontró que existe un interés amplio en el cual se puede referenciar, el trabajo de Parra (2018), titulado “**Evaluación del antagonista *Trichoderma* spp., contra enfermedades radiculares de *Lactuca sativa* L. var. *Inybasea* (Hort) y *Capitata* L., en el municipio de Pamplona**”. Donde se sugiere el empleo del antagonista *Trichoderma* spp., el cual posee cualidades de competencia por nutrientes y espacio, producción de metabolitos, hiperparasitismo, resistencia inducida, que al ser evaluados *in vitro* frente a los patógenos, *Sclerotinia sclerotiorum* Libert de Bary., *Fusarium oxysporum*, Schldt. *Fusarium moniliforme* Sheld., obteniéndose resultados altamente favorables que corroboran estas características; a nivel de campo el efecto bioestimulante sobre la planta se ve reflejado en el rendimiento en las plantas donde se aplicaron los tratamientos con *Trichoderma* spp., dándole bases al productor del beneficio de emplear esta clase de organismos biológicos en un cultivo.

Siguiendo en la búsqueda en los avances en cuanto al uso de *Trichoderma* spp., se encontró la investigación realizada por Chávez (2006), el trabajo titulado “**Producción de *Trichoderma* spp., y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (*Dentranthema***

grandiflora”, donde se evaluó la capacidad antagónica de dos cepas de *Trichoderma* spp., en el control *in vitro* de los hongos patógenos de plantas *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia* spp., y *Fusarium* spp. Y resalta que los resultados obtenidos de este hongo antagonista, además de tener un efecto protector y preventivo contra hongos fitopatógeno, también se evidencia un incremento en el crecimiento y peso de planta, convirtiéndose en una alternativa viable para el tratamiento de cultivos ornamentales,

Desde la misma perspectiva Eraso *et al.*, (2014) evaluaron “**Cepas de *Trichoderma* spp. para el manejo del amarillamiento de arveja causado por *Fusarium oxysporum*”**, donde apreciaron el crecimiento micelial y halo de inhibición en siembras duales, que sirvieron como criterio de selección para pruebas en invernadero, donde se evaluaron la altura de planta, longitud de raíces, materia seca de raíces y porcentaje de incidencia. En campo usaron un diseño de bloques al azar, para evaluar componentes de rendimiento, altura de la planta y longitud de raíz con las mejores cepas. En laboratorio, se seleccionaron C2 (Córdoba 2), C7 (Gualmatán 3), C14 (Puerres 2), C20 (Potosí 4) y C21 (Lab. Perkins) por presentar mejor actividad antagonística; en invernadero, C7, C14 y C21 fueron las cepas más antagonísticas; en campo, se obtuvieron diferencias significativas entre C14 y C21, respecto a C7 y el testigo. Las cepas C14 y C21 tienen capacidad antagónica consistente y pueden usarse en el manejo del hongo *F. oxysporum* en arveja.

Avanzando en el tema encontramos el trabajo de Cubillos, Valero, y Mejía, (2009) titulado “***Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener)**”, donde tenían como objetivo comprobar la

potencialidad de la cepa nativa TCN-014, frente a la cepa comercial TCC-005 de *T. harzianum*, como inoculante biopromotor del crecimiento del maracuyá, mediante la evaluación de su efecto sobre la germinación y el desarrollo temprano de las plantas, con el propósito de aportar una estrategia para el manejo integrado del cultivo, mediante la elaboración, evaluación y aplicación de bioproductos con un efecto multifuncional ocasionado por la actividad biocontroladora de patógenos, sumada a la actividad fitoestimuladora y biofertilizante. Encontrando los tratamientos TCN-014 106 TCC-005 108, y TCN-014 108, en su orden, presentaron mayores efectos sobre la longitud del tallo (LT) con diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$), con respecto al control. Todos los tratamientos, excepto TCC-005 104, presentaron efecto positivo significativo sobre el grosor del tallo en la base (GTB), siendo TCN-014 106 el tratamiento con mejor efecto. Todos los tratamientos ocasionaron un efecto superior significativo sobre el número de hojas verdaderas (NHV) con respecto al control, siendo TCN-014 108 el tratamiento con mayor efecto, el número de hojas osciló entre 7-8 por plántula tratada y de 5 por plántula no tratada. Todos los tratamientos mostraron efecto positivo sobre la longitud de la raíz (LR), con mejores resultados para las plantas tratadas con TCN-014 108, TCC-005 108 y TCN-014 106, con incrementos de 89%, 73% y 63%, respectivamente, en comparación con el tratamiento testigo. Los tratamientos TCN-014 108, TCN-014 106 y TCC-005 106 y TCC-005 108 presentaron resultados significativamente superiores sobre el peso seco total (PST), con incremento de 210%, 125%, 125% y 117%, respectivamente, con respecto al control.

2.2 Marco teórico

2.2.1 Desarrollo Sostenible

Se basa principalmente en encontrar los múltiples caminos y métodos, para conseguir la sostenibilidad (más allá del corto plazo), entre dichos caminos se encuentra, la producción, la agricultura, silvicultura, la educación, transferencia tecnológica y la investigación; este desarrollo comienza a insinuarse, en los años 60 del siglo pasado, a raíz de la aparición de la ecología humana y se define según informe descrito por la Comisión Bruntland de 1987 como la, “satisfacción de las necesidades de la generación presente sin comprometer la capacidad de las generaciones futuras para satisfacer sus propias necesidades” (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencias y la Cultura UNESCO, 2012). Además, dicho enfoque busca aumentar intrínsecamente en los ecosistemas la calidad de vida, esto requiere del compromiso de cooperación entre las naciones por un modelo de desarrollo sostenible que integre aspectos ecológicos, sociales, económicos y propicien la participación de las personas en sus territorios, logrando que las comunidades conserven la biodiversidad (Mosquera, 2006; Castillo, Suárez y Mosquera, 2017).

2.2.1.1 Desarrollo Rural

El desarrollo rural es multidimensional, que brinda oportunidades en el agro, los sistemas alimentarios y el desarrollo energético, como ámbitos productivos en que la región puede contribuir con grandes avances, asimismo introduce una perspectiva temporal para garantizar tanto la disponibilidad de los recursos para aumentar el bienestar de la población actual y futuras (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO, 2017).

Vilches *et al.* (2020), ostentan que este desarrollo busca principalmente, que las personas que están en este medio, mejoren su bienestar, así como la formación personal, de la misma manera lograr que las comunidades rurales no migren a las ciudades, lo cual conlleva que la pobreza llegue a cero, del mismo modo se orienta para que todas las personas obtengan los alimentos que necesitan, con base en una agricultura sostenible y promoviendo el cuidado de los recursos naturales y el medio ambiente. La actividad rural es clave para el desarrollo, tanto como para el sector agrícola y alimentario, erradicando el hambre y la pobreza (Naciones Unidas 2018). De igual manera, este desarrollo cumple importantes funciones de carácter social, medioambiental y económico ayudando a la protección de la biodiversidad, de los valores paisajísticos y del suelo (Gómez, Picazo y Martínez 2008).

Lozano (2012) destaca, que uno de los cambios fundamentales, es que el territorio rural dejó de concebirse como espacio aislado, limitado a la vereda o al pequeño municipio, en cierto sentido lo rural hace parte de un territorio mayor, en el cual abarca el municipio, el departamento, la región, el país y, aun, el mundo, con el que está en permanente interacción.

2.2.1.2 Desarrollo Rural Territorial DTR

Según Schejtman y Berdegué (2004), el DTR corresponde a una zona rural determinada, que busca la innovación o transformación productiva, cuyo fin como los demás desarrollos es eliminar la pobreza rural. El DTR comienza a ser discutido, pulido y realizado a principios del siglo XXI, para mostrarse como alternativa al desarrollo rural con base local que, muy relacionado a los ajustes estructurales de la década neoliberal (Gómez y Favaro, 2012) citado por Rodrigues (2015).

El desarrollo institucional en cierto sentido busca que la población rural de escasos recursos participe en los procesos de innovación y sus beneficios, del mismo modo estimula y proporciona la interacción de los actores locales, logrando una gran comunicación entre ellos y los agentes externos (Schejtman y Berdegué, 2004), de esta manera, se llega a la necesidad de mirar de abajo hacia arriba; es ahí donde nace el desarrollo endógeno.

2.2.1.3 Desarrollo endógeno

Desarrollo endógeno comienza desde los cambios del ser humano que se generan desde adentro, de modo de utilizar los recursos naturales, sin comprometer y destrozarse el equilibrio ecológico de la naturaleza (Colina y Dudamel, 2019).

Este desarrollo busca la lucha contra la pobreza, la transformación social e integración de las comunidades, asimismo potencializa a los agricultores el uso de recursos territoriales para promover el bienestar social y calidad de vida para todos y todas. También propicia la transformación basada en el reconocimiento de nuestra cultura, la no destrucción al medio ambiente (Martínez, 2019). Del mismo modo convertir las visiones de mundo y las estrategias de sustento de los pueblos, y la meta es empoderar a las comunidades locales para que tomen control de sus propios procesos de desarrollo (AGRUCO, 2010).

En definitiva, este modelo de desarrollo busca en primer lugar, beneficiar a la población campesina, y en segundo lugar favorecer a los más empobrecidos y desprotegidos, ya sea que vivan en zonas periurbanas o urbanas (Quispe, 2016).

2.2.1.4 Agricultura sostenible

Es una alternativa para favorecer el desarrollo endógeno de una región. La agricultura sostenible significa, cuidar la tierra al cultivar, salvaguardar la salud de las personas; cuando se aplican técnicas sostenibles por parte de los agricultores, que son especialistas en lo que hacen y los guardianes de la tierra, no solo se provee a su familia con alimentos altamente nutritivos y sin contaminantes, sino también a la comunidad, hasta lograr el gran impacto en un futuro, de hambre cero, dicha agricultura tiene gran impacto para las generaciones futuras, ya que permite, corregir los suelos afectados, guardar las semillas de calidad y conservar el agua (FAO, 2014).

Además, podrán cultivar, sin utilizar fertilizantes químicos ni pesticidas. De esta manera, aumentará la producción en un área pequeña, de la misma forma se reducen los costos, se mejoran los alimentos de vender y consumir, conjuntamente se mitiga la contaminación del aire, agua, la tierra y nuestros cuerpos. Al no usar pesticidas, ni fertilizantes químicos se evitan los problemas de salud, tanto para el agricultor como el consumidor (Hesperia, 2011).

La agricultura sostenible plantea que cultivar bajo los entornos locales es muy importante y eficaz, esa iniciativa no sería significativa si los agricultores no comparten sus conocimientos con otros agricultores. Por último, si no se tiene en cuenta a la comunidad y se aprovechan los recursos existentes, los modelos de desarrollo anteriormente mencionado, no serán apreciados como tal.

2.2.1.5 Desarrollo Rural Participativo

La participación es un proceso, donde la comunidad puede apoderarse de su desarrollo, ya sea con alta o baja participación durante el proceso, y sin embargo muchos de los planes de desarrollo fracasan, o no tienen el impacto y las metas que se proponen al iniciar estos;

precisamente porque no se tiene en cuenta la participación efectiva de la población para quién se creó el proyecto. Esto es absolutamente cierto, que la participación debe ir más allá de la planificación y programas de consulta. Para que el desarrollo sea realizado de manera exitosa, se debe crear un ambiente dinámico entre la comunidad y el promotor-facilitador o extensionista (Geilfus, 2009).

Un ambiente dinámico entre la comunidad y el extensionista, no debe ser rígido, paciente, sensible, reflexivo, tener la capacidad de escuchar a los participantes y confiar en sus capacidades, entre otras.

2.2.1.5.1 Participación y empoderamiento de la comunidad.

Cuando la comunidad participa se puede obtener información importante de la problemática que, enfrentada la población local, asimismo participar en las decisiones de los proyectos, dar su opinión en los planes de innovación y analizar y solucionar los resultados. La importancia de la participación es el empoderamiento de la comunidad, y tiene un carácter inclusivo de los temas que ellos mismos consideran relevante para su propio desarrollo (Geifuls, 2009).

2.2.2 Cultivo de Fresa

2.2.2.1 Origen de la fresa

La fresa es una planta herbácea octoploide perteneciente a la familia de las rosáceas y del género *Fragaria*, esta se remonta a finales del siglo XV como una fruta silvestre en los continentes europeo, asiático y americano. En la actualidad se conoce como *Fragaria x ananasa*

que deriva del cruce espontáneo de dos especies, *Fragaria virginiana* y la *Fragaria chiloensis*, importadas entre los siglos XVII y XVIII del nuevo continente (Bianchi, 2018).

En el siglo XIV, ya se conocían las propiedades medicinales de esta fruta, más sin embargo solo era cultivada con fines decorativos esto sucedió hasta la llegada de las especies americanas las cuales determinaron la propagación en el continente europeo como planta de frutos (Bianchi, 2018).

2.2.2.2 Clasificación taxonómica

El género *Fragaria* spp, del latín fragans (oloroso). Este género pertenece a la familia rosaceae, una de las grandes familias en el mundo con importancia económica, que agrupa alrededor de unas 3000 especies (Bonet, 2010).

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Rosales

Familia: Rosaceae, Rosoideae

Tribu: Potentilleae, Fragariinae

Género: *Fragaria*

2.2.2.3 Botánica de la fresa

La fresa es una planta herbácea y perenne de clima frío que produce brotes nuevos cada año. Pueden crecer en alturas entre los 1.800 a 2.300 msnm, con temperaturas que oscilan entre

18°C y 25°C durante el día, y nocturnas entre 8°C y 13°C estas temperaturas favorecen el desarrollo óptimo de los cultivos.

2.2.2.3.1 Raíces

El sistema radicular es fasciculado, fibroso y se origina en la corona de la planta, cuya función principal es la absorción de nutrientes y almacenamiento de materiales o sustancias de reserva, lo cual se dividen en dos (raíces primarias y raíces secundarias).

Raíces primarias son más gruesas, de color café oscuro, perenne, nacen en la base de las hojas, y su papel más importante es darle soporte a la planta, además presentan un cambium vascular y suberoso.

Raíces secundarias también llamadas raicillas alimenticias. Estas raicillas salen de las primarias y forman lo que se denomina la masa radicular, son un poco más delgadas, de color marfil y tienen un periodo de vida corto y no contienen cambium vascular suberoso (Figura 1).

La profundidad del sistema radicular es muy variable, dependiendo entre otros factores del tipo de suelo, topografía y de la presencia de agentes patógenos en el mismo (Altamirano, 2004).

2.2.2.3.2 Tallo

La fresa presenta un tallo corto de forma cónica llamado corona, es el principal soporte de las yemas vegetativas y florales. De estas yemas dependiendo del estado nutricional y condiciones ambientales, se pueden mantener aletargadas o seguir en la formación ya sea de estolones, hojas trifoliadas o las inflorescencias (Bonet, 2010) (Figura 1).

2.2.2.3.3 Hojas

Las hojas se insertan en la corona aparecen en forma de roseta, estas se caracterizan por ser pinnadas o palmeadas, subdivididas en tres foliolos, color verde intenso, de bordes aserrados y contienen estomas numerosas, lo cual le permite una buena transpiración. El espesor de las estípulas difiere según la variedad (Matus y Ñamendy, 2007) (Figura 1).

2.2.2.3.4 Estolones

Se forman de las yemas axilares a partir de las hojas situadas en la base de la corona, como un brote delgado, largo y rastrero, estos aumentan su desarrollo en las épocas de altas temperaturas. Durante la formación, el primer nudo casi siempre es latente, y en ocasiones origina estolones más pequeños. Cuando el estolón se está formando en el extremo del mismo emerge una roseta de hojas, que al estar en contacto con el suelo produce raíces, dando origen a una planta genéticamente idéntica a la madre.

Basado en la agricultura, en épocas de producción, los estolones no se dejan crecer, ya que debilitan a la planta bajando la producción de frutas. Si los estolones se desarrollan libremente en forma radial, se obtienen muchas copias de la madre que después de su primer desarrollo emiten raíces (Jácome, 2019) (Figura 1).

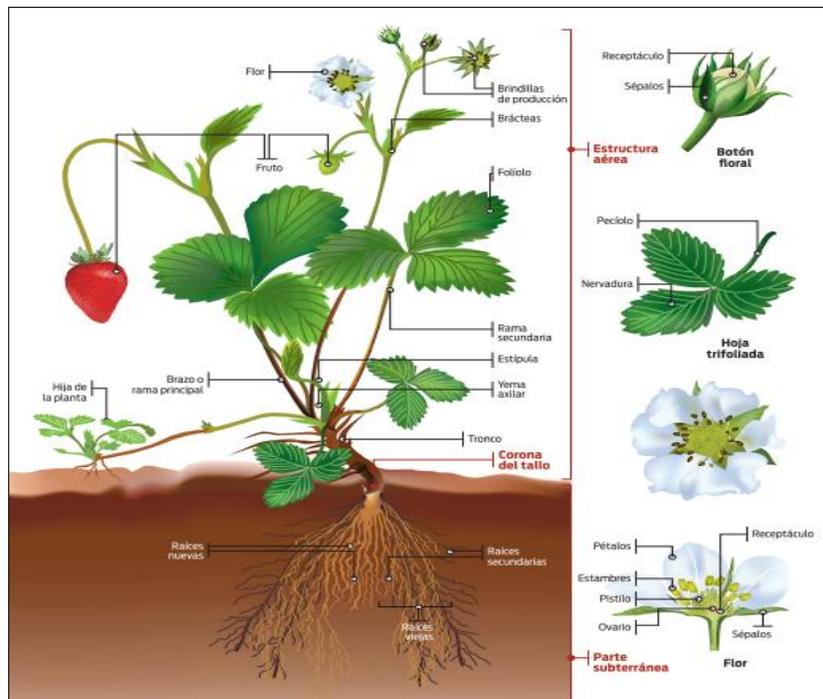
2.2.2.3.5 Inflorescencias

Las inflorescencias se desarrollan de yemas axilares de las hojas o de la corona desde una yema terminal, basada en la ramificación está, puede ser distal, que se caracteriza por poseer una flor terminal o primaria y otras secundarias de menor tamaño. O basal que aparecen varias flores de porte similar (Bonet , 2010; Ferrucho y Ruíz, 2013). La flor posee de 20 a 35 estambres, los

pistilos se hallan en la parte de arriba de un receptáculo carnoso. Los frutos son de tipo equino, y se originan una vez fecundados los óvulos, el desarrollo de estos aquenios, que se encuentran distribuidos por toda la superficie receptáculo carnoso dan origen al fruto de la fresa (Flórez y Mora, 2010) (Figura 1).

Figura 1.

Morfología de una planta madre de fresa



Partes de la planta de fresa desde la raíz hasta las hojas. Fuente: Infoagro (2018).

2.2.2.4 Problemas fitosanitarios

La fresa (*Fragaria* spp.) es un cultivo con un potencial importante en la economía regional y nacional, es muy considerada para consumo fresco y productos elaborados, debido a sus características aromáticas, nutricionales y sabor, también es una fruta rica en vitaminas A y C

(Rubio *et al.*, 2014). Sin embargo, su alta perecibilidad la convierte en una fruta susceptible al ataque de plagas, lo cual ocasionan grandes pérdidas al agricultor (Ruiz y Piedrahita, 2012).

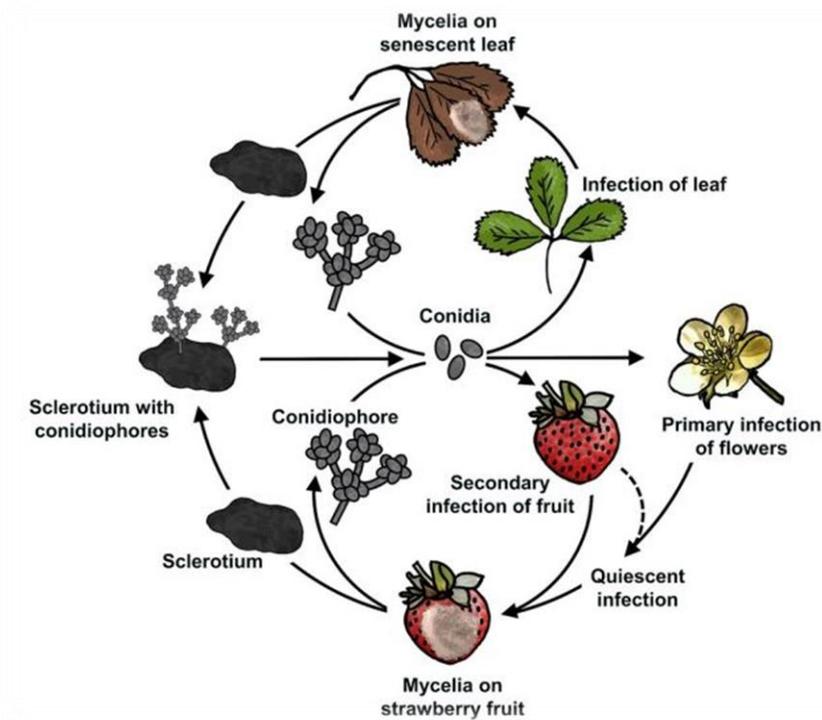
2.2.2.4.1 La podredumbre gris del racimo (*Botrytis cinérea* pers)

El hongo fitopatógeno, *Botrytis cinerea* pers (moho gris) ocasiona la pudrición del fruto o también llamada pudrición gris y consecuente pérdida de su valor económico (Taborda *et al.*, 2015).

B. cinerea., pertenece al Reino: Fungi, División: Ascomycota, Subdivisión: Pezizomycotina, clase: Leotiomycetes, Orden: Helotiales, Familia: Sclerotiniaceae (Herbario virtual, 2020).

Este hongo primero aparece como una mancha marrón claro o amarillenta hacia el final del cáliz y a los pocos días cubre de un moho gris, de apariencia polvosa, toda la superficie de la fruta (Chaves y Wang, 2004). Este hongo posee micelio septado y forma sus estructuras reproductivas en conidióforos bien definidos. Las conidias son hialinas, esféricas de pequeño tamaño. Forma esclerocios como forma de sobrevivencia. Los síntomas van desde la pudrición con desintegración de tejidos que se localiza en la cavidad calicinal de los frutos (Cámara de Comercio, 2015).

La infección primaria se produce en las flores abiertas, mientras que la secundaria es por penetración en los tejidos de la fruta. En infecciones primarias, *B. cinerea* infecta los órganos de las flores durante o justo después de la floración, permitiendo que las hifas crezcan en el receptáculo. Las fuentes de inóculo primario varían puede ser por esclerocios, conidios, micelios, plantas vecinas infectadas y pétalos senescentes infectados, asimismo los estambres y los cálices pueden facilitar las infecciones primarias en la fruta (Petrasch *et al.*, 2019) (Figura 2).

Figura 2.***Ciclo de la enfermedad de Botrytis cinerea* pers en fresa**

Las fuentes de inóculo de *B. cinerea* incluyen hojas infectadas y esclerocios. Infecciones primarias de flores y se representan infecciones secundarias de la fruta. Fuente: (Petrasch *et al.*, 2019).

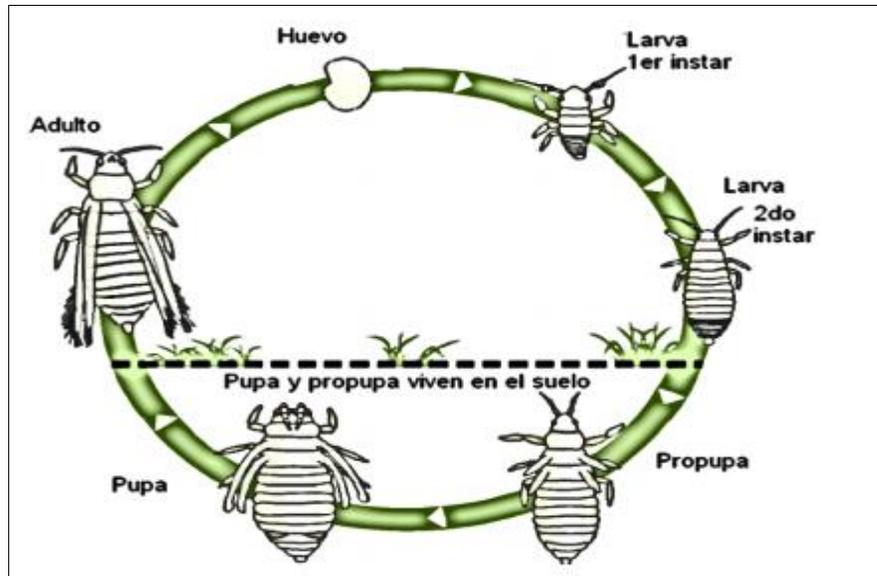
El control de este hongo fitopatógeno se puede lograr biológicamente en forma total o parcial, mediante el uso de organismos biocontroladores antagonistas (que reducen la cantidad de inóculo, causan inhibición o lisis, es decir, muerte), y por lo general ocurre en la naturaleza. El antagonismo de *Trichoderma* spp., es la alternativa de control biológico más importante en las enfermedades del suelo.

2.2.2.4.2 Trips (*Frankliniella occidentalis* Pergande)

F. occidentalis es un insecto de metamorfosis de tipo hemimetábola, con una variable neometabola en la cual tienen dos estadios denominados como prepupa y pupa, basado en su clasificación taxonómica pertenece al Phylum: Arthropoda, Clase: Insecta, Orden:

Thysanoptera, Suborden: Terebrantia, Familia: Thripidae, Subfamilia: Thripinae, Tribu: Thripini, Género: *Frankliniella*, Especie: *F. occidentalis* (Fernández, 2019). Se caracteriza por poseer una cabeza grande con ojos altamente brillantes, sus larvas son color blanco o amarillo transparente, la prepupa tiene esbozos alares pequeños, mientras la pupa los tiene más desarrollados y además de eso, sus antenas son largas y se pliegan hacia atrás por arriba de la cabeza. En la etapa adulta las hembras tienen colores muy variados que difiere del macho, con colores que van del casi blanco y naranja amarillento al casi negro (Koppert, 2019).

Su ciclo de vida se basa en seis estadios, que comienza por huevo, pasando por dos estadios larvales, prepupa, pupa y termina en adulto (Mendoza y Toledo, 2019) (Figura 3). Este insecto deposita los huevos dentro de los tejidos de plantas, ya sea en hojas, partes blandas de los tallos y en los pétalos, gracias al ovopositor en forma de sierra (Monroy *et al.*, 2019).

Figura 3.***Ciclo de vida Frankliniella occidentalis***

Ciclo de vida de *F. occidentalis*, se observan los diferentes estadios empezando por: Huevecillo 2 a 4 días, primer estadio 1 a 2 días, segundo estadio 2 a 4 días, etapa prepupal 1 a 2 días, etapa de pupa 1 a 2 días y Adultos 30 a 45 días. Fuente: Flores, Balbi y Maury (2018).

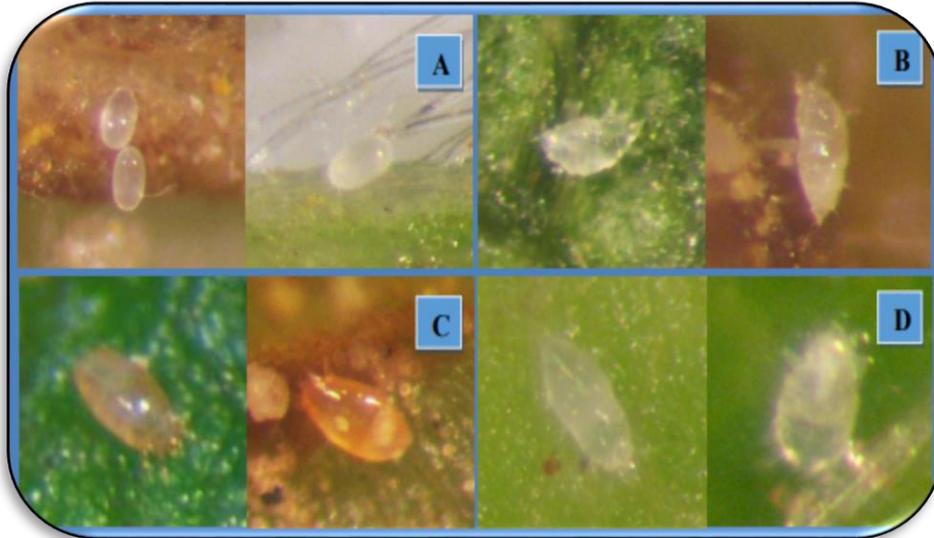
El daño en la fresa se debe a su aparato bucal picador-chupador que utilizan estos insectos para perforar o raspar los tejidos vegetales y sustraer el contenido celular como fuente de alimento, lo cual disminuye la producción del cultivo cuando se encuentran en un nivel poblacional alto (Torrado, 2018).

Los daños que ocasionan *F. occidentalis*., mientras se alimentan, se reconoce por las manchas en pétalos, producción de frutos necróticos o mal formados, por raspado en los receptáculos florales, estigma, anteras, ovarios y por último la caída de flores y frutos (Solano *et al.*, 2018).

2.2.2.4.3 Ácaro del cyclamen (*Steneotarsonemus pallidus* Banks)

S. pallidus., también se le conoce como *Polyphagotarsonemus pallidus* (Banks), *Phytonemus pallidus* (Banks), *Tarsonemus fragariae* Zimmermann, *Tarsonemus pallidus* Banks, *Tenuipalpus pallidus* (Banks). El ácaro del ciclamen tiene una amplia distribución a nivel mundial, su registro se remonta 1898 en la ciudad de New York donde fue encontrada por primera vez, en las zonas de climas templados, expresando un desarrollo óptimo a 15°C a 21°C con una humedad relativa (HR) entre 60 a 80%. Por su gran distribución se ha reportado que *S. pallidus* tiene más de 60 familias hospederas (Veloza *et al.*, 2018). Así mismo este acaro se ha encontrado en cultivos hortícolas donde se destaca el pimiento y tomate (Lugo *et al.*, 2019).

Estos ácaros tienen un tamaño relativamente pequeño, lo cual hace que sea de difícil detección y los agricultores no se percatan de su presencia hasta que el deterioro sea severo. Su ciclo vital es relativamente corto de 10 a 14 días, aunque puede variar con la temperatura (Bahrami, 2016). Los adultos pueden llegar a medir hasta 0,25 mm de largo, aunque existe diferencia entre ellos, el macho es más pequeño y el último par de patas son evolucionadas que utiliza para el transporte de pupa, mientras que las hembras sus patas traseras son reducidas. Los huevos de *S. pallidus* son completamente lisos, elípticos, translúcidos y relativamente grandes con un tamaño de (125µ x 75µ), las larvas presentan una coloración blanca-hialino, son morfológicamente ovaladas con tres pares de patas (Denmark, 2011) (Figura 4).

Figura 4.***Ciclo vital de Steneotarsonemus pallidus* (Banks)**

Estados de *S. pallidus.*, (A) se observan los huevos traslucidos. B) Estado larval. C) Hembra adulta. D) Macho adulto. Fuente: Velozo *et al.* (2018)

Los síntomas ocasionados se presentan primordialmente por la alimentación de los ácaros en la planta, los síntomas característicos son: amarillamiento, distorsión o arrugamiento y bronceado de las hojas (Labanowska *et al.*, 2015), los frutos no se desarrollan completamente y presentan una coloración bronceada con aquenios sobresalientes, las plantas presentan enanismo ya que los peciolos crecen irregulares y cortos, en las flores, los pistilos tiene apariencia de bronceado que se van arrugando a medida que pasa el tiempo y los pétalos son deformes y los receptáculos se observan con una apariencia de tostado (Denmark, 2011).

2.2.2.4.4 Arañita roja o Araña de dos manchas (*Tetranychus urticae* Koch)

Tetranychus urticae Koch, forma parte de las plagas que afectan el cultivo de fresa y ocasionan grandes pérdidas a nivel mundial (Mendoza *et al.*, 2019; Abdelgale *et al.*, 2019).

El daño que ocasiona *Tetranychus urticae* Koch se produce principalmente en el lugar donde se alimenta, en este caso en las superficies de las hojas, destruyéndolas con sus estiletes y con ellas las células del mesófilo (Reséndiz y Castillo, 2018) lo cual afecta la fotosíntesis, transpiración y el crecimiento de la planta, y frutos. Si el número de arañita roja es alto en el cultivo, puede causar la defoliación en la planta (Felipe, 2003).

Su ciclo de vida en el cultivo comienza cuando la hembra deposita unos huevecillos esféricos muy pequeños y cristalinos, y a medida que maduran se caracterizan por un aspecto lechoso dependiendo de la temperatura, el desarrollo de estos puede durar entre 4 a 6 días. Al eclosionar las ninfas al principio son translúcidas y su cuerpo endurece a medida que se alimentan, al llegar a la etapa de adultos se reproducen y empieza el nuevo ciclo (Agroware, 2017).

Figura 5.

***Tetranychus urticae* (Araña de dos manchas)**



Figura 5. Se observan las manchas a los lados características de *Tetranychus urticae*. Fuente: San Martín (2020)

La arañita roja se puede propagar rápidamente, ya que los adultos mediante sus telarañas se movilizan de planta en planta o pueden ser trasladadas por el viento (Agroware, 2017). Para el control de esta arañita, primero se realiza un monitoreo minucioso y de forma constante, esto permitirá identificar los estados de proliferación de la plaga; después de un largo monitoreo de *Tetranychus urticae* Koch y este se encuentra presente en el cultivo, lo recomendable es el control biológico mediante el uso de depredadores naturales de la plaga, como lo son *Neoseiulus californicus* (De Souza *et al.*, 2014), chinche pirata, algunos ácaros, el escarabajo negro y el

chinche damisela y compuestos naturales; estos métodos resultan ser muy eficientes usando la fauna nativa (Soto, Oliveira, y Pallini, 2011).

2.2.2.4.5 Chizas (*Clavipalpus ursinus* y *Ancognatha scarabaeoides*)

Se le llama chizas al estado larval de escarabajos denominados plagas rizófagas, que cumplen su ciclo larval dentro del suelo y se alimentan de raíces de los cultivos, materia orgánica, y de importancia agrícola. Lo cual constituyen un problema fitosanitario en el cultivo de fresa. Estas larvas son llamadas de diferentes formas dependiendo de la región de Colombia, por ejemplo: **Gallinas ciegas, gusanos blancos, cuzos, mojojeyes o morrongos** (Yepes, 2010).

Sus poblaciones aumentan en los meses lluviosos, donde hay que tener mayor atención de esta plaga, unos de los métodos de control más eficiente es el barbecho profundo del terreno, este método disminuye la población de larvas y pupas por lo que las expone al aire libre y sean depredadas por los enemigos naturales. Y para eliminar las larvas completamente es necesario aplicar entarquinamiento al suelo, este proceso debe durar por lo menos 30 días antes de establecer el cultivo. En el caso de no aplicarle ninguno de los controles, se podría usar métodos químicos, aunque no es recomendable por la contaminación que estos producen (Agroware, 2017).

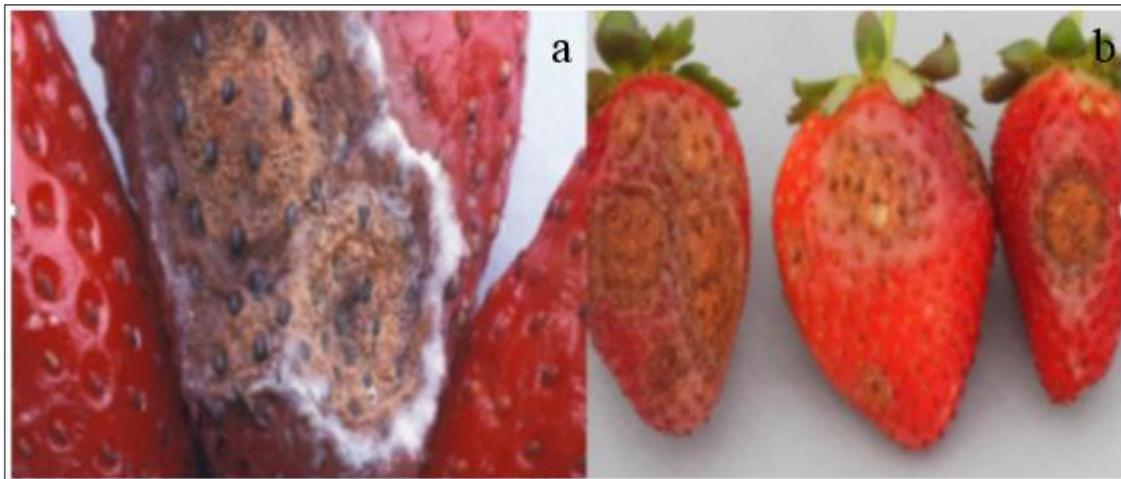
2.2.2.4.6 Antracnosis (*Colletotrichum* spp.)

Esta enfermedad afecta cereales, leguminosas, frutales, cultivos perennes y pasto, y es producida por *C. acutatum*, *C. fragariae*, *C. gloeosporioides*, *C. dematium* y tiene alta incidencia cuando hay mal manejo del cultivo, alta humedad relativa, problemas de aireación en el cultivo y presencia de malezas; y se puede presentar en la precosecha como en cosecha (Correa *et al.*,

2007; Cámara de Comercio de Bogotá, 2015). Esta enfermedad comienza cuando las plantas expresan síntomas propios de la enfermedad como lo es la producción de cuerpos fructíferos y esporas, y se manifiestan con lesiones ovaladas a alargadas de color marrón, gris y negro en los tejidos infectados (pecíolos de las hojas, estolones y pedúnculos florales), que en ocasiones los daños son tan severos que causan la muerte de tejido vegetal inclusive la planta (Figura 6a). Cabe resaltar que estos patógenos pueden sobrevivir nueve meses en el suelo de forma latente (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015).

Figura 6.

Frutos afectados con Colletotrichum spp.



(a) Se observa el micelio y masas de esporas anaranjadas que se desarrollan en las lesiones del fruto en condiciones climáticas favorables, mientras que la (b), Lesiones ovales o circulares y profundas se desarrollan en la fruta infectada en condiciones normales. Fuente Strawberry (2017).

En el fruto, las lesiones son firmes en textura y se manifiestan a medida que la enfermedad se desarrolla, de forma hundida, circular u ovalada de color marrón y rodeado por un

borde oscuro (Figura 6b). Esta enfermedad se propaga casi exclusivamente al haber salpicaduras de agua con esporas de la planta enferma o la planta saludable; estas gotas de agua se producen por la precipitación o la implementación del riego por aspersión (Strawberry, 2017).

2.2.3 *Trichoderma* spp. y sus beneficios/usos en agricultura.

2.2.3.1 Organismos antagónicos

La acción de los organismos antagónicos se puede realizar a través de fenómenos como el hiperparasitismo, la protección cruzada e interferencia, resistencia inducida, los suelos supresivos, las plantas antagónicas y las plantas trampa. Sin embargo, se debe aclarar que los resultados exitosos de los biocontroladores se han basado en pruebas *in vitro* interactuando el antagonista y el patógeno, sin tener en cuenta la planta y otros factores del patosistema. Recientemente, se ha incrementado el uso de biofertilizantes (microorganismos enzimáticos benéficos) particularmente para las enfermedades con origen en el suelo. Los casos más conocidos de hiperparasitismo son el micoparasitismo, los bacteriófagos y los hongos nematófagos (predación). El micoparásito de *Trichoderma* spp., particularmente *Trichoderma* spp., es la alternativa de control biológico más importante en las enfermedades del suelo (Achicanoy, 2001).

2.2.3.1 Antagonista *Trichoderma* spp.

Trichoderma spp., es un tipo de hongo anaerobio facultativo que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios (Hernández, Ferrera, y Alarcón, 2019) y se ubica taxonómicamente en el Reino: Fungi, División: Mycota, Subdivisión: Eumycota, Clase: Hyphomycetes, Orden: Moniliales, Familia: Moniliaceae.

Pertenece a la subdivisión Deuteromicetes que se caracterizan por no poseer, o no presentar un estado sexual determinado (Infante *et al.*, 2009).

Los antagonistas contribuyen a la atenuación de los daños que causan las enfermedades, en los agroecosistemas donde existan condiciones para su desarrollo y conservación. Para lograr este objetivo los microorganismos beneficiosos presentan diferentes modos de acción que les permitan ejercer su efecto biorregulador. Estos atributos, de conjunto con la capacidad de multiplicarse abundantemente, se encuentran entre los de mayor importancia para su selección como agentes de control biológico (Infante *et al.*, 2009).

La utilización de especies de *Trichoderma* spp., en el control biológico de enfermedades de plantas se ha relacionado principalmente con sus habilidades antagonistas, observadas hace casi un siglo, frente a hongos y Oomicetos fitopatógeno (Hermosa, 2017). Además, puede desarrollarse en una amplia gama de sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura, su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas y hábitat, donde los hongos son causantes de diversas enfermedades, le permiten ser eficiente agente de control; de igual forma pueden sobrevivir en medios con contenidos significativos de pesticidas y otros químicos (Quinatoa, 2015).

Las diferentes especies de este hongo ejercen mecanismos de control mediante competencia directa (por espacio y nutrientes), producción de metabolitos antibióticos, fungistasis, la inactivación de enzimas del agente patógeno, modificación de las condiciones ambientales, producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal y por micoparasitismo (Moo *et al.*, 2018).

El género *Trichoderma* tiene cinco especies consideradas como antagonistas:
Trichoderma harzianum Rifai., *Trichoderma koningii* Oudem., *Trichoderma longibrachiatum*

Rifai., *Trichoderma pseudokoningii* Rifai., *Trichoderma viride* Pers., en general, los antagonistas no tienen un único modo de acción y la multiplicidad de éstos es una característica importante para su selección como agentes de control biológico. Si el antagonista posee varios modos de acción reduce los riesgos de desarrollo de resistencia en el patógeno. Este riesgo de resistencia también se reduce mediante el uso de combinaciones de antagonistas con diferente modo de acción (Sivila y Álvarez, 2013).

2.2.3.2 Fungistasis.

Fungistasis es la inhibición de la actividad vital de los hongos. Un antagonista es capaz de superar el efecto fungistático que resulta de la presencia de diferentes metabolitos producidos por otras especies, incluyendo plantas, sobreviviendo bajo condiciones adversas o competitivas (Benítez *et al.*, 2004) Por lo tanto, *Trichoderma* spp., crece rápidamente cuando se inócula en el suelo, siendo estas naturalmente resistentes a muchos compuestos tóxicos incluyendo herbicidas, fungicidas y pesticidas tales como DDT, y compuestos fenolíticos (Tovar, 2008).

2.2.3.3 Competencia.

Es la causa más común de muerte de microorganismos, empezando por la competencia por nutrientes limitantes, resulta ser un control biológico de hongos fitopatógenos, antagonistas y micoparasitos (Benítez *et al.*, 2004). Es considerado un mecanismo de antagonismo muy importante, y se relaciona como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento ya sea el sustrato o los nutrientes, siempre y cuando reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás. Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente control biológico como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento

y desarrollo, y por otro lado por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros.

Este hongo se considera como una evidencia de la plasticidad ecológica, también se conoce por su habilidad como excelente competidor por espacio y recursos nutricionales.

2.2.3.4 Antibiosis.

Ocurre durante la interacción de los compuestos difusibles de bajo peso molecular o antibióticos producidos por cepas de *Trichoderma* spp., inhibe el crecimiento de otros microorganismos. Este también produce metabolitos tóxicos volátiles y no volátiles que impiden la colonización por microorganismos antagonistas; algunos son ácido harzianico, alameticinas, tricholinas, peptaiboiles, antibióticos, 6-penthyll a pirona, vidina, glisoperonas, ácido heptéldico entre otros (Leon *et al.*, 2018).

2.2.3.5 Micoparasitismo.

El micoparasitismo es definido como una simbiosis antagónica entre organismos, en el que generalmente están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, y que se corresponden con la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados las especies de *Trichoderma* spp., durante el proceso de micoparasitismo crecen quimiotrópicamente hacia el hospedante, se adhieren a las hifas del mismo, se enrollan en ellas frecuentemente y las penetran en ocasiones. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en los estados tardíos del proceso parasítico, que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno (Hernández, Ferrera, y Alarcón, 2019). Cuando se genera el ataque directo se da un proceso muy complejo que involucra eventos secuenciales,

empezando por el reconocimiento, ataque y penetración subsecuente y muerte al huésped.

Trichoderma spp., ejerce control directo por el rango de parasitismo de hongo creciendo sobre el (Benítez *et al.*, 2004).

2.2.3.6 Crecimiento quimiotrófico

El quimiotropismo positivo es el crecimiento directo hacia un estímulo químico. En la etapa de localización del hospedante, se ha demostrado que las hifas de *T. harzianum*, son capaces de detectar la presencia de un huésped en el medio, y crecer en dirección al patógeno como respuesta a un estímulo químico debido a las enzimas líticas producidas por *T. harzianum* (López, 2011).

Las investigaciones realizadas a lo largo de muchos años con un número considerable de cepas de *Trichoderma* spp., y de especies de hongos fitopatógenos han demostrado que estas son efectivas sólo contra patógenos específicos. El conocimiento de esta especificidad condujo a la idea de que el reconocimiento molecular entre *Trichoderma* spp., y el hospedante es el evento esencial que precede al proceso antagonista (Infante *et al.*, 2009).

2.2.3.7 Adhesión y enrollamiento.

Cuando la respuesta de reconocimiento es positiva, las hifas de *Trichoderma* spp., se adhieren a las del hospedante mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos y apresorio, se enrollan alrededor de estas, todo esto está mediado por procesos enzimáticos la adherencia de las hifas de *Trichoderma* spp., (Infante *et al.*, 2009). Esto ocurre gracias a la asociación de un azúcar de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno (Martínez, Infante y Reyes, 2013).

2.2.3.8 Actividad lítica.

En esta etapa ocurre la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas entre otras, que degradan las paredes celulares del hospedante y posibilitan la penetración de las hifas del antagonista por los puntos de contacto donde se produce la lisis y aparecen los orificios (Gakegne y Martínez, 2018). La actividad enzimática en *Trichoderma* spp., ha sido estudiada extensamente, así como las posibles funciones que desenvuelven en el micoparasitismo. Las especies de *Trichoderma* spp., tienen un elevado potencial parasítico, con una actividad metabólica muy particular, que les permite parasitar eficientemente las estructuras fúngicas de los hongos (Infante *et al.*, 2009).

2.2.3.9 Resistencia inducida.

Trichoderma spp., en el hospedero es uno de los mecanismos indirectos de mayor interés en la actualidad involucra cambios celulares en el hospedero, tales como un aumento de depósitos de celulosa en el interior de la pared celular y aumento en la actividad peroxidasa y quitinasa. Otros procesos relacionados con la inducción sistémica contra patógenos del suelo, tal como *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici.*, son el confinamiento, la inhibición del patógeno y los cambios histológicos en el hospedero. Estos últimos relacionados con la producción de reguladores de crecimiento y estimulación de la división, diferenciación y crecimiento celular en la planta por el agente elicitor. La rápida colonización de la rizosfera y de las capas superficiales de las raíces permiten el control biológico y la supresión de los hongos fitopatógenos del suelo, siendo una de las principales características de *T. harzianum.*, que por consecuencia de este biocontrol se estimula el crecimiento de las plantas. Además del efecto biocontroladores, varios mecanismos se han propuesto para explicar el efecto promotor del crecimiento, entre ellos, el que

T. harzianum., produce metabolitos que estimulan el crecimiento y desarrollo vegetal seguido de la producción de fitohormonas de crecimiento por parte del hongo como el ácido 3-indol acético (AIA) y sus análogos, viéndose favorecido el desarrollo radical. La versatilidad, adaptabilidad y la fácil manipulación de las especies de *Trichoderma* spp., permite tener diferentes roles en la agricultura (López *et al.*, 2017).

Existen numerosos reportes de la acción de *Trichoderma* spp., como estimulador de crecimiento en amplia gama de cultivos. Lo refieren como estimulador de crecimiento en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.); así como en judía (*Phaseolus vulgaris* L.), en fruta bomba (*Carica papaya* L.). Algunas especies de *Trichoderma* spp., han sido informadas como estimuladoras de crecimiento en especies tales como clavel (*Dianthus caryophyllus* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), berenjena (*Solanum melongena* L.), arveja (*Pisum sativum* L.), pimienta (*Piper nigrum* L.), rábano (*Rhapanus sativus* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), lechuga (*Lactuca sativa* L.), zanahoria (*Daucus carota* L.), algodón (*Gossypium herbaceum* L.), entre otras (Valdés, 2014).

2.2.3.10 Otros beneficios de *Trichoderma* spp.

Otra de las funciones beneficiosas de *Trichoderma* spp., es la de proteger las semillas contra el ataque de hongos patógenos. Este hongo, coloniza las semillas botánicas protegiendo las futuras plántulas en la fase post emergente de patógenos fúngicos. *Trichoderma* spp., produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y esporas “conidias”. Las esporas son los más viables de los propágulos empleados en programas de biocontrol. Estos cuerpos especializados se caracterizan por poseer una gruesa pared exterior, constituida por tres capas (endospora, epispora y perispora) que protegen el interior del conidio (protoplasto). Esta gruesa pared se

diferencia de la pared celular de las células vegetativas del hongo (hifas y clamidosporas), las cuales son mucho más delgadas y no está formada por capas constitutivas como las esporas. La ventaja del conidio de poseer una pared celular gruesa es la posibilidad de aislarlo de su medio natural y que sobreviva a condiciones adversas, manteniéndolo en dormancia hasta que las condiciones sean propicias para la germinación (López *et al.*, 2017).

En consecuencia, las conidias son verdaderas semillas que utiliza el hongo para colonizar nuevos sustratos y, en el caso de *Trichoderma* spp., es el principal producto a obtener en la producción comercial y/o artesanal. La multiplicación de *Trichoderma* spp., se puede realizar en forma artesanal o industrial, implementando distintas técnicas de fermentación líquida y/o sólida. Entre los sustratos naturales para la producción de estos hongos antagonistas se encuentran arroz, avena, soya, trigo, cebada, entre otros, inclusive desechos de los propios sistemas productivos como paja (Arévalo *et al.*, 2017). La producción artesanal de *Trichoderma* spp., principalmente se ha basado en el uso del arroz como sustrato; Utilizando como contenedores botellas de vidrios y/o bolsas de polietileno, insumos económicos y fáciles de adquirir (Nugra, 2018).

2.3 Marco contextual

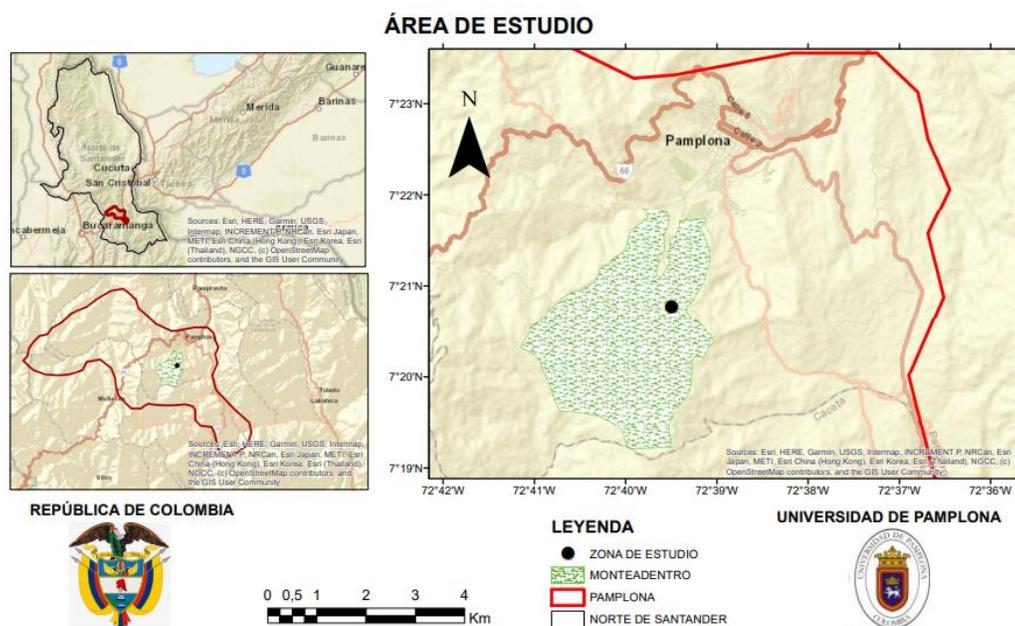
2.3.1 Delimitación geográfica

El municipio de Pamplona se encuentra localizado al Nororiente de Colombia, en el Departamento Norte de Santander, limita con los siguientes Municipios: Cucutilla (Occidente), Labateca (Oriente), Mutiscua y Cácuta (Sur) y Pamplonita (Norte), su ubicación geográfica es de 07° 22' 41" de latitud norte y -72° 39' 09" de longitud al oeste de Greenwich, se encuentra situada a 2.200 msnm y su temperatura promedio es de 16°C. Su área territorial es de 318 Km² equivalente al 0.0274% del total del país. Se encuentra localizado en la parte central de la

subregión suroccidental del departamento Norte de Santander (Figura 7), a una distancia de 75 km de la capital del departamento, cuenta con 76.983 habitantes aproximadamente, de los cuales el 8 % en el área rural y el 92% en el área urbana. Su extensión de área urbana es de 59.214 Km² y área rural de 1.176 Km². La principal corriente hídrica del municipio es el río Pamplonita (Alcaldía Municipal de Pamplona, 2020).

Figura 7.

Localización espacial del proyecto



Fuente: spatial analysis software (ARCGIS)

Inicialmente se ubica el Departamento de Norte de Santander, seguido el Municipio de Pamplona, posteriormente se ubica la Vereda Monteadentro y el área de ensayo.

2.3.2 Economía rural

La producción agrícola es una pieza clave sobre la economía del municipio de Pamplona, donde la papa es su principal producto, le siguen la fresa, ajo, trigo, morón, maíz, fríjol, arveja y zanahoria. La explotación de estos productos es casi en su totalidad de tipo tradicional, los sistemas de producción son manuales como el chorrillo (papa, maíz, fríjol, arveja), trasplante (frutas y hortalizas) y semilla reservada (cosecha anterior). Los sistemas de producción pecuarios también hacen parte fundamental en la economía del municipio, donde se destacan, aves de corral, producción porcina y bovina y la piscicultura. Además encontramos la producción de tejidos, la industria hotelera, la producción de dulces y las colaciones (Villamizar, 2008).

Dentro de dicho municipio se encuentra la vereda de Monte dentro que se caracteriza por ser un territorio agrícola, donde su principal producción está compuesta de papa, fresa, hortalizas, arveja, bovinos, ovinos y aves. Cuenta con una población amable y muy querida, sus platos típicos son el sancocho, asado, arepa de maíz pelado, arepa remendada, tamales, mazamorra, sopa de ruyas, guarapo, base de zupia (Alcaldía Municipal de Pamplona, 2020).

Capítulo III

3. Materiales y métodos

Como punto de partida de esta investigación se basó en la metodología de acción participativa (Geilfus 2009). El desarrollo procedimental del presente trabajo se ejecutó, en primer lugar, en el laboratorio del Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología GIMBIO con apoyo del CEPARIO, ambos ubicados en el campus principal de la Universidad de Pamplona, Km 8 vía Bucaramanga. Las pruebas en condiciones de campo se realizaron en la finca El Cascajal, ubicada en la vereda Monte dentro del municipio de Pamplona, Norte de Santander.

3.1 Obtención, aislamiento y caracterización de las cepas antagonistas

La cepa comercial que fue usada para hacer la comparación, fue denominada **TH** y corresponde al agente biológico del producto FITOTRIPEN WP agente microbioal polvo mojable (*Trichoderma* spp., 1×10^8 esporas/gramo, 95 % pureza), con registro ICA N.º 4658, y producido por Natural Control (La Ceja, Antioquia). Este producto fue adquirido en un establecimiento distribuidor de productos agroquímicos de la ciudad de Pamplona.

Para el aislamiento de la cepa autóctona, se procedió a muestrear el predio “El Cascajal” propiedad del señor Gonzalo Granados ubicado en la Vereda Monte dentro a $7^{\circ}20'46.0''$ N, - $72^{\circ}39'29.6''$ W (Figura 8). El procedimiento se realizó en zig-zag dentro de la zona del cultivo para tomar muestras del suelo a una profundidad de 20 -30 cm, empleando un barreno de cultivos. Se tomaron alrededor de 300 gramos de suelo en recipientes estériles, que se mantuvieron bajo condiciones de refrigeración hasta ser procesadas. La muestra de suelo fue

homogenizada en agua peptonada y posteriormente se llevaron a cabo diluciones decimales seriadas, seguidamente se procedió a realizar siembras en superficie en el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), tomando 0,1 ml de cada dilución. El medio de cultivo se incubó a 25° C durante 5 días (Martínez *et al.*, 2003). A partir de los cultivos obtenidos se realizaron repiques, utilizando siembras por punción, de las colonias aisladas y con las características fenotípicas propias del género empleando la clave taxonómica de Kubicek y Harman (2002).

A partir de la cepa obtenida, los conidios fueron recolectados y almacenados en una solución de glicerol (40%) a -20°C. La cepa fue codificada como **TN01**.

Con el fin de poder hacer una comparación con al menos otra cepa nativa, el Grupo de investigación en Microbiología y Biotecnología (GIMBIO) de la Universidad de Pamplona, suministró una cepa de *Trichoderma* spp., que fue obtenida a partir del predio “La Morena linda”, propiedad del señor Albino Antonio Rodríguez, que se encuentra ubicada en el municipio de Bucarasica, Norte de Santander. Geográficamente se encuentra a 8° 02'28,17" N, -72°52'06,91" W, a una altura de 1552 m.s.n.m., con una temperatura promedio de 17 ° C. Para efectos de este trabajo, esta cepa fue denominada **TN02**.

Figura 8.***Lugar donde fue aislado Trichoderma spp. (TN01)***

Finca el Cascajal, lugar específico donde se aisló *Trichoderma* spp.

Las cepas fúngicas (TN02 y TH) fueron verificadas y caracterizadas según su morfología macroscópica y microscópica siguiendo los criterios taxonómicos descritos por Vidaurre (2016) y las claves dicotómicas propuestas por Kubicek y Harman (2002), con el fin de verificar su género.

3.2 Aislamiento y caracterización del agente fitopatógeno

En el mismo predio “El Cascajal”, se colectaron frutos de fresa que presentaban las lesiones típicas que ocasiona el hongo fitopatógeno *Botrytis* spp. (Figura 9). Los frutos fueron almacenados en recipientes estériles y se mantuvieron bajo condiciones de refrigeración hasta su procesamiento. Los frutos lesionados fueron sometidos a dos procedimientos de análisis: (1) Para aquellos frutos con presencia de micelio y esporas del hongo fitopatógeno, se les realizó en

condiciones de cabina de flujo laminar, el repique del hongo presente en el fruto al medio de cultivo sólido PDA. (2) Mientras que, aquellos frutos con lesiones varias (confluencia de agentes biológicos), fueron homogenizados en agua peptonada, como paso previo de una serie de diluciones decimales seriadas, a partir de las cuales se hicieron siembras en superficie en medio de cultivo sólido PDA (Martínez *et al.*, 2003). El medio de cultivo se incubó a 25 °C durante un máximo de 5 días. Las colonias que presentaron el aspecto típico del género buscado fueron repicadas en una nueva placa Petri con medio PDA. Las colonias fueron caracterizadas según su morfología macroscópica y microscópica siguiendo los criterios de las claves dicotómicas propuestas por Gepp (2009). Los conidios de la cepa correspondiente a las características del género *Botrytis* fueron recolectados y almacenados en una solución de glicerol (40%) a -20°C. Para efectos del presente trabajo, la cepa fue codificada como **BT**.

Figura 9.

Frutos colectados con signos y síntomas de la enfermedad



Frutos colectados con signo de *Botrytis* spp., con la ayuda del agricultor en el cultivo de fresa. Fuente: el

Autor

3.3 Evaluación de la actividad antagonista *in vitro* (cultivos duales) de los controladores biológicos contra el fitopatógeno *Botrytis* spp.

La evaluación de la acción antagónica de los hongos biocontroladores contra el hongo fitopatógeno, se realizó mediante el enfrentamiento en cultivo dual de los dos microorganismos (patógeno –antagonista) en placas de Petri de 9cm de diámetro sobre medio de cultivo PDA. Se tomaron los microorganismos (patógeno y antagonista), se sembraron por punción equidistantes del borde de la placa a 1cm sobre el medio de cultivo Potato Dextrose Agar (PDA) (Lorenzo *et al.*, 2002). Los controles fueron preparados con la misma técnica (punción) en cajas separadas cada antagonista y el patógeno, los cuales correspondían a los controles. Las placas con los microorganismos permanecieron incubadas a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, realizándose la revisión cada 24 h durante 14 días del crecimiento radial del micelio de la colonia de los hongos.

3.3.1 Antagonismo de las cepas (TN01) (TN02) y (TH), contra (BT).

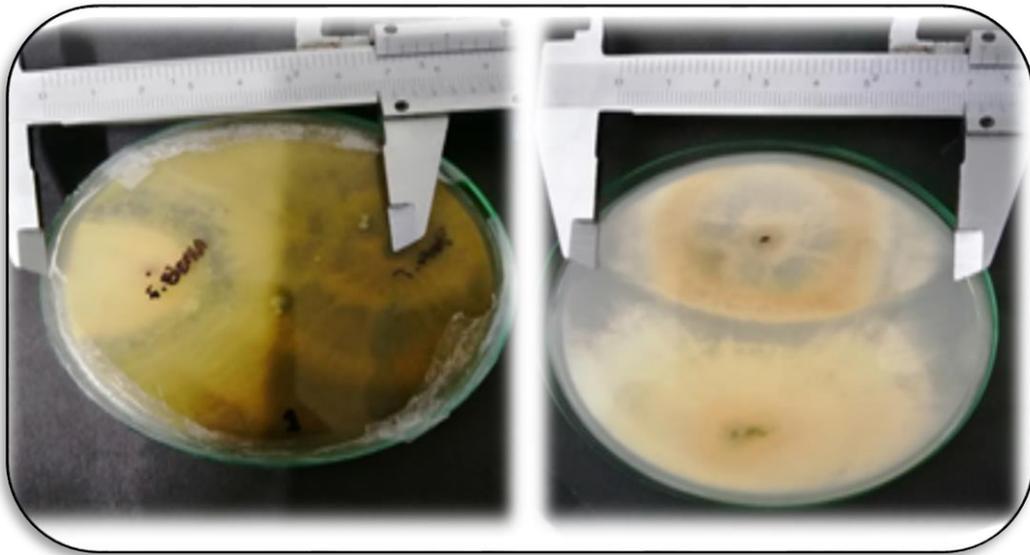
Este se comprobó estudiando las variables expuestas por Fernández y Suárez (2009); Radio de Crecimiento Antagonista (RCA), Radio de Crecimiento Patógeno (RCP), Micoparasitismo (MICMO) y Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR). La competencia por espacio y nutrientes se valoró comparando la velocidad del crecimiento del patógeno (RCP) y de los antagonistas (RCA) con la ayuda de un calibrador “Pie de Rey”, durante 14 días, cada enfrentamiento se realizó por triplicado (Figura 10). Simultáneamente se evaluó el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR), para el método de Punto, empleando la fórmula de Ezziyyani *et al.* (2004).

$$\text{PICR} = (\text{R1} - \text{R2}) / \text{R1} \times 100$$

Donde R1 es el radio del patógeno testigo y R2 es el radio del patógeno en enfrentamiento.

Figura 10.

Mediciones del crecimiento radial del patógeno y antagonistas



Se observan las mediciones del crecimiento radial de los antagonistas y patógeno en el día 14, con la ayuda de un calibrador (pie de rey). Fuente: el Autor

La evaluación del micoparasitismo como posible mecanismo de acción de las cepas antagonistas (TN01, TN02 y TH) se realizó mediante observaciones microscópicas y macroscópicas de los cultivos duales, tomándose como índice de micoparasitismo, la invasión del antagonista sobre la superficie del micelio patógeno, teniendo en cuenta la escala de la Tabla 1, creada por Elías y Arcos (1984) citada en Ezziyyani *et al.* (2004).

Tabla 1.***Escala para la evaluación de la capacidad antagónica (micoparasitismo)***

Grado	Capacidad antagónica
0	Ninguna invasión de la superficie de la colonia del hongo patógeno
1	Invasión de 1/4 de la superficie de la colonia del hongo patógeno
2	Invasión de 1/2 de la superficie de la colonia del hongo patógeno
3	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno
4	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno esporulación sobre ella

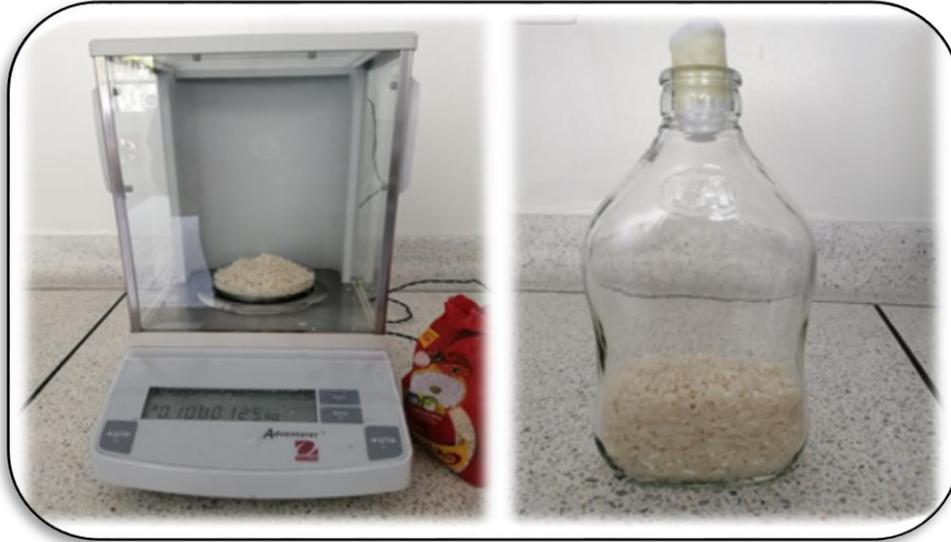
Escala creada por Elías y Arcos (1984) citada en Ezziyyani *et al.*, (2004) para evaluación de la capacidad antagónica (micoparasitismo), de acuerdo a la medida de la invasión de la superficie, colonización y esporulación de *Trichoderma* spp., sobre el fitopatógeno.

La comprobación del proceso micoparasitario se llevó a cabo por medio de la observación de la interacción antagonista - patógeno en un microscopio óptico (ZEISS).

3.4 Preparación en masa y conteo de conidios de los agentes biológicos

Como parte del proceso preparativo de las cepas fúngicas para el estudio en condiciones de campo abierto, se procedió a su propagación en masa. El método de propagación se basó en el uso de botella con arroz cocido, descrito por Parra (2018) y Flores *et al.* (2018).

Se emplearon botellas de 500 ml a las cuales se les incorporó 100 gramos de arroz y 40 ml de agua como se muestra en la Figura 11. La esterilización fue llevada a cabo con autoclave a 121°C/15 libras de presión por 10 minutos, con el fin de evitar sobre cocción del grano.

Figura 11.***Preparación del arroz para la elaboración de los medios de cultivos artesanales***

Pesaje de 100g de arroz en una balanza analítica y posteriormente empacados en botellas de 500ml, para luego ser esterilizado.

Pasado el tiempo de esterilización y reposo, se realizó una siembra en botellas independientes con cada una de las cepas en estudio. Las botellas fueron incubadas a $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 10 días.

Transcurrido el tiempo de incubación, se emplearon 100 ml de agua destilada estéril como medio diluyente a cada botella (Pineda *et al.*, 2017). Luego se realizó el conteo de conidios en cámara de Neubauer, (Lumycite, Propper, Manufacturing Co. Inc. Long Island, NY), siguiendo las indicaciones del fabricante y lo sugerido por Arredondo y Voltolina (2014).

Concentración = promedio de esporas x 16 x 25 x 10000 x dilución

3.5 Socialización de los resultados del efecto antagónico *in vitro* con los productores de fresas

Para la socialización de los resultados se realizó una reunión en la finca El Cascajal con los productores de fresa de la Vereda Monteadentro, cumpliendo con los protocolos de distanciamiento social basado en la pandemia Covid-19. Cabe recalcar la no convocatoria de más participantes para evitar la aglomeración y posible contagio. Fundamentado en los resultados ellos escogieron las dos cepas de mejor comportamiento para evaluar en campo abierto.

La preparación para la producción en masa de forma artesanal de los controladores biológicos, se realizó en la cocina de la misma finca para evitar contaminación. Cada agricultor preparó el material siguiendo las recomendaciones expuestas por el estudiante de forma armónica, amigable y entendible.

3.6 Análisis de la eficacia protectora de los controladores biológicos en condiciones de campo abierto con activa participación de los agricultores.

El efecto protector se evaluó comparando la cepa nativa TN01 con la cepa del producto comercial TH, en condiciones de campo abierto.

3.6.1 Área de estudio

Los experimentos de campo fueron realizados en los predios “El Cascajal” propiedad del señor Gonzalo Granados ubicado en la Vereda Monteadentro a 7°20'46.0" N, -72°39'29.6" W, a 2.287 msnm, temperatura promedio de 16 °C. El área utilizada fue de 121 m².

3.6.2 Preparación del terreno y establecimiento del cultivo

La preparación del terreno se realizó de manera manual utilizando azadón, con el fin descompactar el suelo para permitir el buen desarrollo de las raíces y el respectivo drenaje del mismo; ésta se hizo a una profundidad de 20 a 35 cm. El suelo se dejó reposar durante diez días, luego se le pasó un rastrillo con el fin de nivelar y soltar terrones y pulirlo para que quede mullido y listo para la siembra. Como abono se le agregaron 5 bultos de biocompostaje, abono preparado en las instalaciones de la Universidad de Pamplona.

Los trasplantes fueron seleccionados de un cultivo ya establecido y desinfectados por el agricultor, y se mantuvieron húmedos, luego se colocaron en las parcelas con las raíces extendidas hacia abajo de manera que las raíces estén bajo el nivel del suelo y la corona del tallo esté arriba del nivel del suelo y se regó inmediatamente después de plantar (Figura 12).

Figura 12.

Selección y establecimiento de los trasplantes



Se observa el agricultor seleccionando los trasplantes y estableciéndolos en el área de ensayo.

3.6.2.1 Riego.

El riego se aplicó mediante aspersores, este tipo de riego consiste en hacer llegar el agua en forma de lluvia, utilizando para ello una serie de aspersores. La frecuencia de riego fue aproximadamente cada dos días y dependió de las condiciones climáticas prevalecientes durante el ensayo.

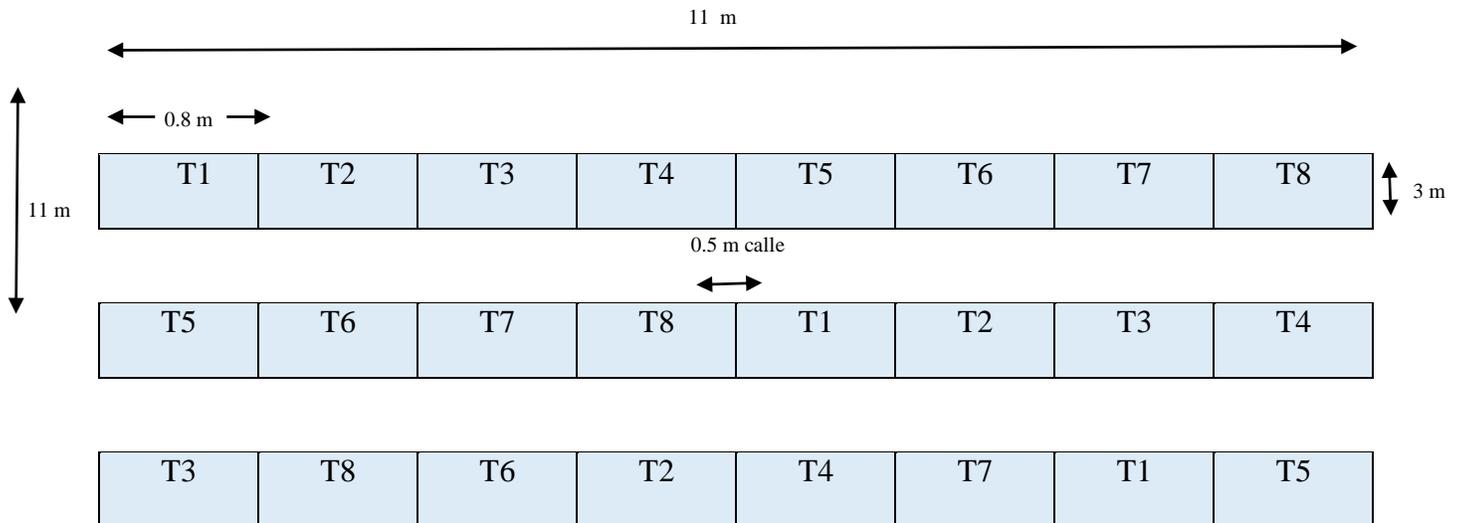
3.6.2.2 Control de malezas.

El control de maleza se realizó de manera manual en las eras o camas y calles del cultivo, esto ayuda a que no haya competencia por nutrientes entre las plantas no deseadas y las del cultivo de la fresa.

3.6.3 Diseño experimental

Para este experimento se empleó un diseño en bloques completamente al azar (BCA) con el propósito de tener las unidades experimentales de forma tan uniforme como sea posible, de manera que las diferencias observadas sean fundamentalmente debidas a los tratamientos (Fernández, Trapero y Domínguez, 2011).

Para tal diseño, se hicieron arreglos de tres bloques con ocho tratamientos y cada una con 20 plantas (Tabla 2). El cultivo se sembró de manera similar a lo que habitualmente hacen los productores, estableciendo bancos lineales de 0.8 m de ancho y 3 m de largo, con una altura de camellón de 0.3 m. El método de siembra fue de tres bolillos, con una distancia entre surco y surco de 0.5 m, y una distancia de siembra de 0,4 m entre planta y planta. Las parcelas experimentales fueron de 2.4 m², con un área total del ensayo de 121 m².

Tabla 2.**Diseño en bloque completamente al azar (BCA)**

Distancia de siembra: 0.4 m x 0.4 m entre planta

Fuente: Autor

Medidas de las parcelas: 0.8 m de ancho x 3 m de largo = 2.4 m²

Área total del ensayo: 11 m x 11 m = 121 m²

Número de plantas por parcela: 20 plantas

3.6.4 Descripción de los tratamientos en la parcela experimental

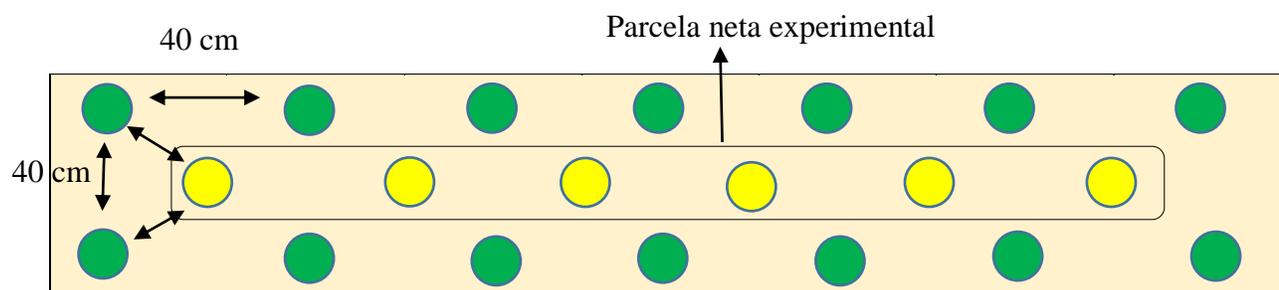
Se aplicaron ocho tratamientos, en los que se consideraron 3 concentraciones diferentes de los biocontroladores (10^3 , 10^5 y 10^7 conidios/ml), y 2 controles uno (sin patógeno y sin controlador biológico) y dos (con BT y sin controlador). Tal y como se describen en la Tabla 3.

Tabla 3.*Descripción de los tratamientos*

Tratamiento	Descripción
T1	BT + TH (concentración 1×10^7 conidios/ml).
T2	BT + TH (concentración 1×10^5 conidios/ml).
T3	BT + TH (concentración 1×10^3 conidios/ml).
T4	BT + TN01 (concentración 1×10^7 conidios/ml).
T5	BT + TN01 (concentración 1×10^5 conidios/ml).
T6	BT + TN01 (concentración 1×10^3 conidios/ml).
T7	Control 1 (sin patógeno y sin controlador biológico).
T8	Control 2 (con BT y sin controlador).

Se observa cada biocontrolador con tres concentraciones diferentes y los controles

Para tal fin y como se indica en la Figura 13, se evaluaron solamente las seis plantas centrales, para controlar el efecto de borde y evitar sobre-estimación o sub-estimación de las respuestas de los tratamientos, a esto se le llama parcela neta experimental.

Figura 13.***Parcela neta experimental***

Se observa el tipo de siembra a tres bolillos, la distancia entre planta y planta de 40 cm y por último la parcela neta experimental compuesta por 6 plantas, para evitar el efecto borde, con un total de 20 plantas por parcela. Fuente: Autor

3.6.5 Aplicación del patógeno y los tratamientos

Las aplicaciones se hicieron con el mismo método de forma foliar con una bomba de fumigación de 20 litros por parte del productor a cargo de la parcela con el acompañamiento del estudiante. La aplicación del fitopatógeno (cepa BT) se realizó una única vez a los 3 meses de cultivo (20 días antes de la tercera floración). Podar las dos primeras floraciones promueve el desarrollo de la raíz y guías de fresa, de manera que se asegura una alta cosecha.

Por su parte, la aplicación de los controladores se realizó en 3 oportunidades, siendo la primera, 10 días después de aplicar el fitopatógeno, la segunda al inicio de la tercera floración, la tercera en la etapa de floración completamente abierta (Figura 14).

Figura 14.

Preparación de las dosis y aplicación de los controladores biológicos



(a) y (b) Preparación de la concentración de los antagonistas; (c) Agricultor aplicando el método de aspersión foliar

3.6.6 Variables de estudios

3.6.6.1 Número de estructuras morfoanatómicas.

Sobre cada una de las 6 plantas marcadas de cada tratamiento, se contó el número de hojas completamente abiertas y fotosintéticas, flores y frutos. El conteo se efectuó al momento de cosechar y se realizó conteo numérico.

3.6.6.2 Variables fitosanitarias

3.6.6.2.1 Incidencia (%).

La presente variable de incidencia se realizó a las 6 plantas centrales etiquetadas para tal fin, esta se hizo al momento de cosechar, para flores y frutos. Para determinar el porcentaje de incidencia de cada uno de los tratamientos tratados con las cepas TN01 y TN02, a diferentes dosis, nos hemos basado en la fórmula de Cárdenas *et al.* (2017).

$$\% Inc = \frac{n}{N} \times 100$$

%Inc: Incidencia; **N**: Plantas evaluadas; **n**: Plantas con la enfermedad.

3.6.6.2.1 Grado de severidad externa.

Es una estimación visual en la cual se establecen grados de infección en una determinada planta, sobre la base de la cantidad de tejido vegetal enfermo, ya sea de hojas, tallos, raíces o frutos afectado por la enfermedad y varía entre 0 y 100, y hace referencia al porcentaje (%) del área necrosada (Lavilla y Ivancovich, 2016). Esta variable también se estimó en flores y fruto, tomándose como un indicador de porcentaje del tejido afectado por el fitopatógeno, y se evaluó con la siguiente fórmula según Mahecha, Castellanos y Céspedes (2019).

$$\%S = \frac{\Sigma a \times b}{KN} \times 100$$

%S: Severidad

a: Cantidad de observaciones con una misma categoría

b: Valor de la escala

N: Total de observaciones a evaluar

K: Valor máximo de la escala

Para determinar la severidad de la enfermedad producida por *Botrytis* spp., se empleó una escala de 6 grados (donde 0 correspondió a las plantas sin síntomas de la enfermedad 1(5%), 2 (25%), 3 (50%), 4 (75%) y 5, plantas con más del 75% con síntomas).

3.7 Análisis estadísticos

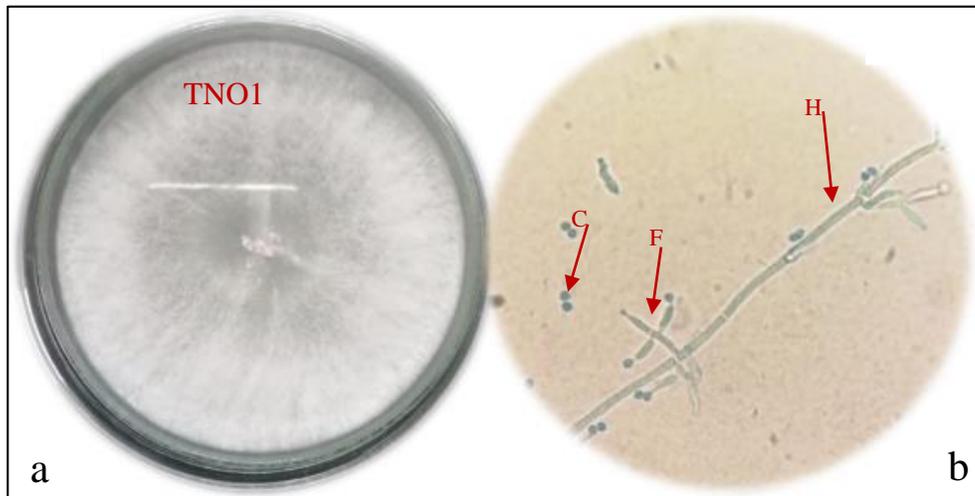
Teniendo en cuenta que uno de los objetivos de esta investigación es evaluar el efecto antagónico de una cepa comercial (*Trichoderma* spp.) y una nativa (*Trichoderma* spp.) en la prevención de *Botrytis* spp., en el cultivo de fresa (*Fragaria* spp.) aplicado a diferentes concentraciones de conidios, se diseñó un experimento en Bloques Completamente al Azar (DBCA), con ocho tratamientos y tres repeticiones distribuido en la parcela productiva. El método estadístico para evaluar dicho efecto fue el análisis de varianza. Cuando se encuentren diferencias significativas se aplicará la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. El nivel de significancia utilizado para todas las pruebas fue del 5% y el paquete estadístico utilizado fue el SPSS versión 23.

Capítulo IV

4. Resultados y análisis

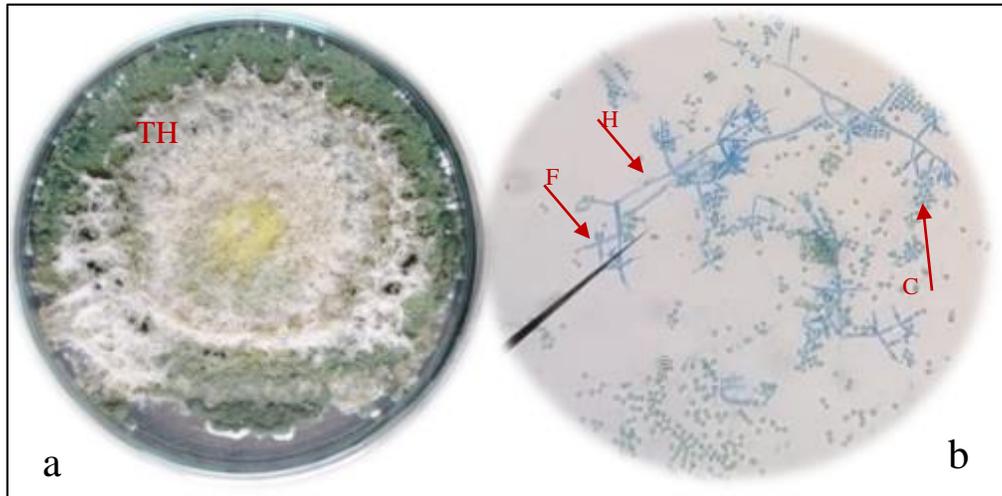
4.1 Aislamiento, identificación y caracterización de los controladores biológicos.

En el proceso de aislamiento de una cepa autóctona, a partir de la muestra del suelo, se obtuvieron 7 colonias aisladas, en la dilución 1×10^{-7} . Después de hacer el aislamiento de c/u de ellas en medio PDA, solo 1 colonia presentó las características típicas del género *Trichoderma*, y su caracterización fenotípica fue realizada siguiendo los criterios taxonómicos descritos por Vidaurre (2016); Kubicek y Harman (2002), la cepa así obtenida fue denominada TN01. Y presentó un crecimiento fúngico, con un micelio con textura algodonosa, denso, circulares de coloración blanca tanto por el anverso como por el reverso sobre Potato Dextrose Agar (PDA) (Figura 15a). En su microscopía se muestra que la cepa TN01 posee conidios elipsoidales, hifas hialinas y septadas, fiálides delgadas en forma de botella y conidióforos mono y biverticilados simétricos que emergen principalmente en ángulos rectos de las hifas superficiales (Figura 15b).

Figura 15.***Características morfológicas de la cepa (TN01)***

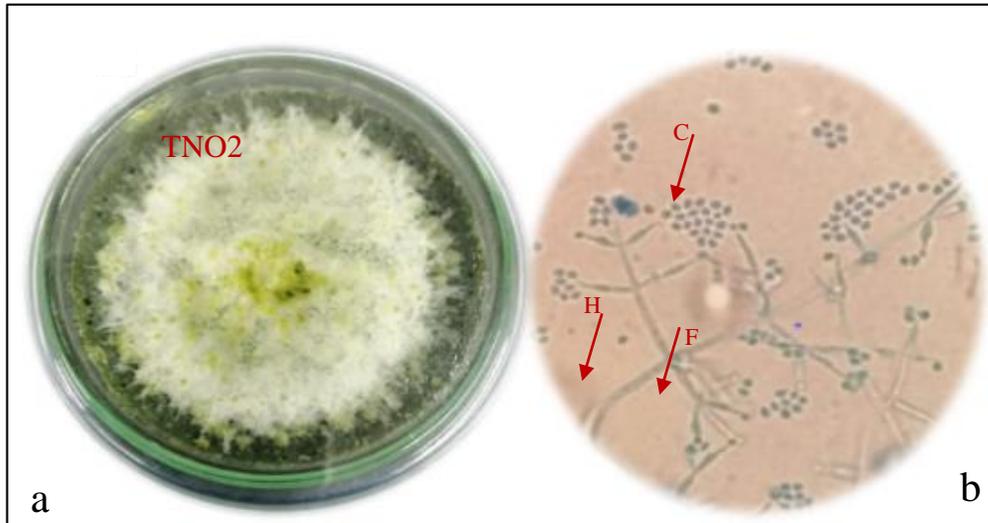
(a), se muestra el crecimiento macroscópico de la cepa (TN01), en Agar PDA. En (b), se muestran las hifas hialinas septadas (H), fialides delgadas en forma de botellas (F), conidios elipsoidales (C). Imagen en microscopio óptico vista a 40X, con azul de lactofenol.

En la Figura 16 (a). Crecimiento de *Trichoderma* spp., (TH) producto comercial, sobre Agar Papa Dextrosa (PDA), su desarrollo micelar en el medio de cultivo presenta unas tonalidades blancas cuando es joven, cuando alcanza su máximo crecimiento tiende a tornarse de un color blanco -verde, de aspecto algodonoso, algunas veces pueden observarse estructuras pequeñas blanquecinas, con una esporulación verde oliva de apariencia aterciopelada. Figura 16 (b), se muestran hifas hialinas, septadas, ramificadas de las cuales se desarrollan conidióforos ramificados piramidales, es decir, varias veces ramificados con ramas cortas, fiálides delgadas en forma de botella donde se desprenden conidios de paredes lisas, subglobosos cortos y ovoides. Características propias del género según Kubicek y Harman (2002), ya que el producto comercial posee tres especies diferentes.

Figura 16.***Características morfológicas de la cepa (TH)***

(a). Crecimiento de *Trichoderma* spp., en Agar PDA, (b). Imagen microscópica observada a 40X, con azul de lactofenol. (H) hifas hialinas septadas, (F) fialides delgadas en forma de botellas y (C) conidios de pared lisa.

La cepa de *Trichoderma* spp. (TN02) fue identificada bajo los criterios taxonómicos de Kubicek y Harman (2002), y presenta un crecimiento micelial de coloración verde claro, que más tarde se observa blanco verdoso de aspecto algodonoso y con una posterior esporulación verde oliva, de apariencia aterciopelada con un ligero exudado, estas características macroscópicas, se logran visualizar sin ayuda de herramientas ni instrumentos, sin embargo se tiene que considerar que un fenómeno macroscópico puede estar determinado por otro microscópico (Figura 17a). En su microscopía se pueden observar hifas ramificadas septadas, de las cuales se desprenden conidióforos también ramificados, poseen fialides agrupadas de 2 a 4 con forma de botella y con cabezas conidiales (Figura 17b).

Figura 17.***Características morfológicas de la cepa (TN02)***

(a) Crecimiento de *Trichoderma* spp. (TN02), en Agar PDA, (b) vista a 40X, con azul de lactofenol, hifas ramificadas septadas (H), fiálides en forma de botellas y agrupadas (F) y conidios agrupados y ligeramente ovalados (C). Imagen en microscopio óptico.

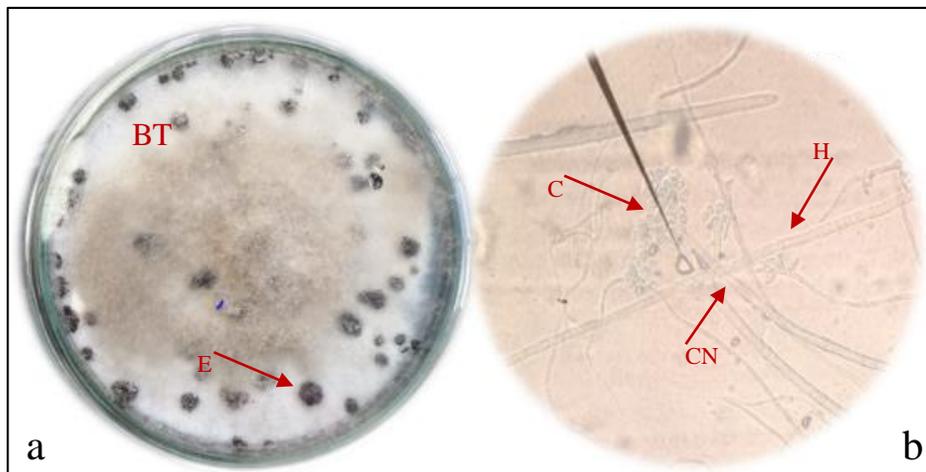
4.2 Aislamiento y caracterización del hongo fitopatógeno.

En el proceso de aislamiento de la cepa fitopatógena, a partir de los frutos colectados que presentaron signos típicos de la enfermedad causada por el fitopatógeno *Botrytis* spp., se obtuvieron colonias aisladas con características típicas del fitopatógeno. La cepa así obtenida fue denominada (BT) y su caracterización fenotípica fue realizada siguiendo los criterios taxonómicos de Fagro (2009). La Figura 18 (a) se muestra el crecimiento del fitopatógeno *Botrytis* spp., sobre Agar Papa Dextrosa (PDA), aislado en la finca El Cascajal de la Vereda Monteadentro; este hongo presenta un micelio tabicado gris de aspecto algodonoso que cubre la placa después de 5 días a 25°C, también presenta una estructuras de resistencias llamadas esclerocios, de morfología plano-convexa, cuyas dimensiones oscilan entre 1-5 mm de sección

transversal y 1-15 mm de sección longitudinal que varían de las condiciones de cultivo (Romero y Granados 2018). En la Figura 18 (b) los conidios son unicelulares, ovalados a esféricos y se sitúan en el extremo de conidióforos libres y largos de color gris y se asemejan a los racimos de uva. Los conidióforos o macroconidióforos se ramifican varias veces y terminan en abultamientos sobre los cuales se forman varios conidios y se originan principalmente de la masa hifal, aunque también pueden hacerlo a partir de los esclerocios (Romero y Granados, 2018).

Figura 18.

Características Morfológicas de la cepa BT



- (a) Crecimiento de *Botrytis* spp., en Agar PDA, incubado a 25°C durante 14 días, se observa la coloración del micelio característico del moho gris del racimo y también se observan los esclerocios (E). En las características microscópicas vista a 40X, con azul de lactofenol, (b). Conidios ovalados a esféricos (C) y se sitúan en el extremo de conidióforos (CN), las hifas son largas y septadas, de color gris (H).

4.3 Determinación de la velocidad del crecimiento radial del patógeno (RCP) y del antagonista (RCA), mediante ensayo dual en caja de Petri

Para realizar los bioensayos que permiten evaluar la capacidad antagónica de los biocontroladores se utilizó la técnica dual “controlador-patógeno” (Agamez , Barrera y Oviedo, 2009). Los enfrentamientos se configuraron de la siguiente manera: TN01 – BT; TN02 – BT y TH – BT. Las comparaciones del crecimiento radial del antagonista RCA (*Trichoderma* spp.) con el crecimiento radial del patógeno RCP (*Botrytis* spp.) se realizó durante catorce días.

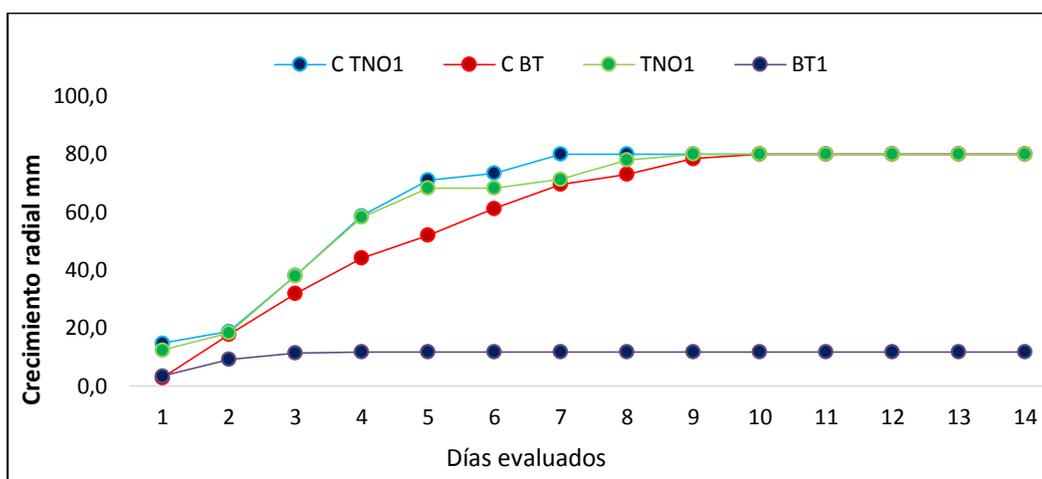
Al realizar el bioensayo con la cepa TN01, se observó que este controlador tuvo una velocidad del crecimiento miceliar superior a la del patógeno, en donde inicia con un crecimiento de 12,4 mm y finaliza en 80 mm al noveno día, ocupando casi todo el espacio disponible. Mientras que para el patógeno BT1 inicia con 3,4 mm alcanzando su máximo de crecimiento de 11,7 mm al tercer día. Lo cual indica un efecto inhibitorio por parte del antagonista en el crecimiento del patógeno, como lo demuestra Fernández y Suárez (2009) (Figura 19). En cuanto a la cepa en enfrentamiento TN01, presentó un crecimiento radial muy similar al control CTN01, que basado en el análisis de varianza (ANOVA), en otras palabras, se obtuvo un p-valor > 0.05 , significando que los resultados obtenidos con los diferentes tratamientos fueron numéricamente cercanos. Caso contrario se observó en la distancia recorrida del patógeno en competencia *Botytis* spp. BT1 en comparación con el control CBT, encontrándose diferencias significativas con un P-valor ($P<0,05$). Los resultados se pueden presentar en el (Apéndice A).

La competencia por espacio y nutrientes en la superficie de las plantas es un mecanismo importante de control biológico contra los patógenos que dependen de alimentación externa, como es el caso de *B. cinerea* (Elad, Chet, y Katan, 1980; Guédez *et al.*, 2012). De acuerdo a Campbell (1989) y Merchán, Ferrucho y Álvarez (2014); *B. cinerea* es altamente vulnerable a la competencia

por nutrientes y espacio, confiriéndole desventaja frente a *Trichoderma* spp., y a otros microorganismos habitantes del carpoplano.

Figura 19.

Competencia por espacio y nutriente de la cepa TN01 vs BT1



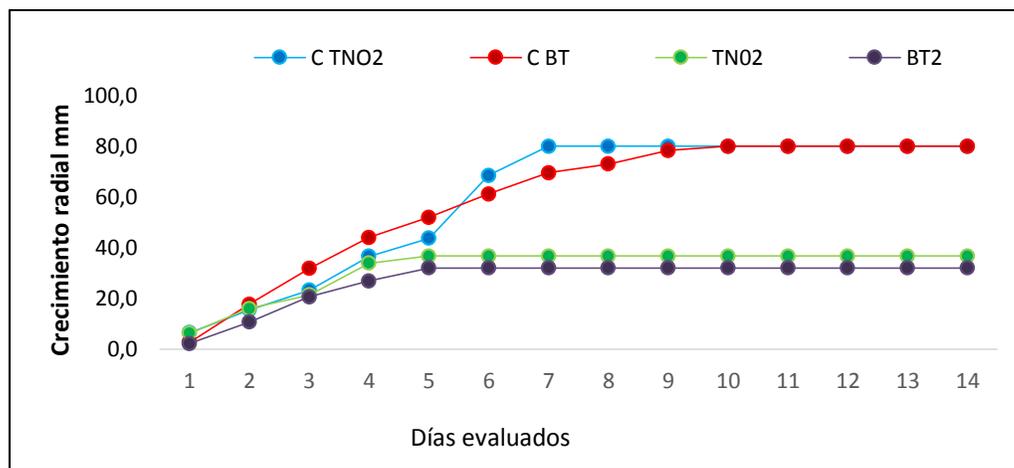
Crecimiento radial en milímetros de la cepa (TN01) vs (BT1), control (CTNO1) y control del fitopatógeno (CBT).

Por su parte, la cepa TN02 en competencia por espacio y nutrientes con el fitopatógeno BT2, alcanza un crecimiento micelial 36,8 mm al quinto día, dejando avanzar al fitopatógeno BT2 que presentó una distancia recorrida de 32,1mm de crecimiento micelial hasta el quinto día. Esto indica que tanto el fitopatógeno como antagonistas compartieron casi la mitad de nutrientes, ya que tuvieron un crecimiento micelial muy similar (Figura 20). Al realizar el análisis de varianza ANOVA para comparar la distancia recorrida del antagonista TN02 en competencia por espacio con el control CTN02, se encontró que hay diferencia significativa con un P-valor ($P < 0,05$) con un nivel de significancia del 5%, ya que el control tuvo una distancia recorrida del

crecimiento miceliar de 80 mm al 7 día (Apéndice B). De igual forma, se encontró diferencia significativa al comparar el fitopatógeno en competencia por espacio y nutriente BT2 con el control CBT (Apéndice A).

Figura 20.

Competencia por espacio y nutrientes de la cepa TN02 vs BT2



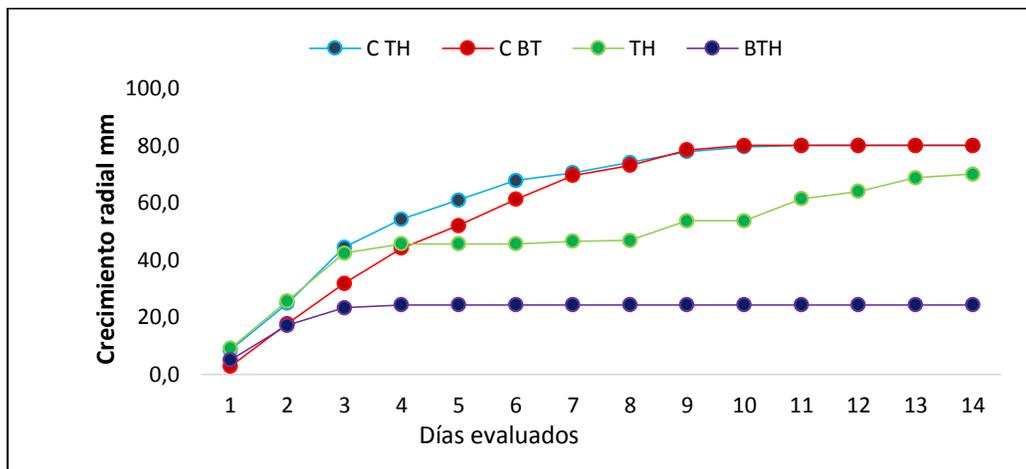
Crecimiento radial en milímetros de (TN02) vs (BT2), control (CTNO2) y control del fitopatógeno (CBT).

Se muestra el crecimiento radial de TH, este presentó un crecimiento inicial de 9,1 mm el cual alcanza un crecimiento total en el ensayo a los 14 días con un crecimiento radial de 70 mm, mientras que BTH alcanzó su mayor crecimiento en el día cuarto, que solo alcanzó un crecimiento miceliar de 24,3 mm. Esto demuestra que la cepa comercial TH logró mejor competencia por espacio y nutrientes y asimismo la inhibición del patógeno BTH (Figura 21). Esto confirma la eficiencia de *Trichoderma* spp., de ser un buen competidor por espacio y nutriente frente a *B. cinerea* (Merchán, Ferrucho, y Álvarez, 2014). Comparando la distancia recorrida del crecimiento del micelio del antagonista TH, con el crecimiento micelial del control

CTH, se encontró que hay diferencia significativa con los resultados del ANOVA con un p-valor de 0,000 (Apéndice C). Del mismo modo, se comparó la distancia recorrida del patógeno BTH con la distancia recorrida del control CBT, donde se encontró diferencia significativa bajo la técnica Estadística ANOVA (Apéndice A).

Figura 21.

Competencia por espacio y nutrientes de TH vs BTH



Crecimiento radial en milímetros de la cepa comercial (TH) vs (BTH), control (CTH) y control del fitopatógeno (CBT).

Al comparar las distancias recorridas de los crecimientos radiales de los antagonistas TN01, TN02, y TH, se encontró que hay diferencia significativa con un P-valor ($P < 0,05$) con un nivel de significancia del 5% bajo la técnica estadística ANOVA. Para evidenciar dónde están las diferencias significativas se aplicó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey, (Tabla 4).

Tabla 4.***Comparación del crecimiento radial del antagonista (RCA) de los diferentes tratamientos***

Factores	Tratamientos	Media	P-valor	Interpretación
	TN01	63.77a		
Trichoderma spp.	TH	48.50b	0.000	Hay diferencias significativas
	TN02	31.84c		

Letras desiguales en las medias (a,b,c,) indican diferencia entre ellas ($P < 0,05$) según p. Tukey

De acuerdo con los resultados de ANOVA, se observa que el mejor efecto en el crecimiento promedio radial, se obtuvo con TN01 (Hongo nativo) con una media de 63.77 mm, con un nivel de significancia del 5%, comparativamente con TH y TNO2.

4.4 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) y Micoparasitismo

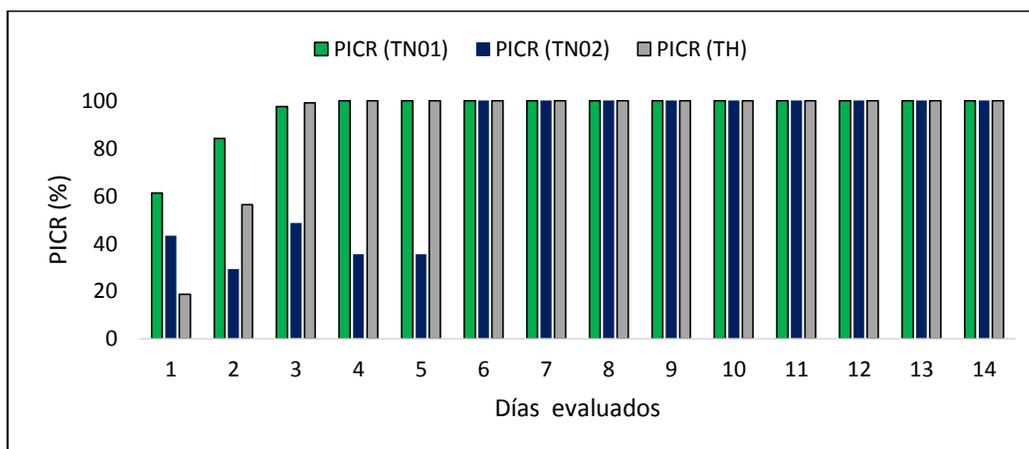
Para el porcentaje de inhibición del crecimiento radial, los enfrentamientos se configuraron de la siguiente manera: TN01 – BT; TN02 – BT y TH – BT. Y la evaluación del micoparasitismo se realizó mediante observaciones microscópicas y macroscópicas de los cultivos duales.

4.4.1 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR)

La Figura 22, muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento radial efectuado por los antagonistas en enfrentamiento con el fitopatógeno BT, en donde el antagonista TN01 y TH presentan la más rápida inhibición logrando alcanzar el 100% al cuarto día, mientras que la cepa TN02 logra la inhibición del crecimiento radial del 100% del fitopatógeno al sexto día, por lo que indica que todos los hongos antagonistas utilizados en esta investigación presentaron en algún momento la inhibición del crecimiento radial del fitopatógeno.

Figura 22.

Inhibición del crecimiento radial (%) PICR



Porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) evaluado en 14 días. La barra verde representa TN01, la barra azul TN02 y la gris corresponde a TH

Según Guédez *et al.* (2012), la capacidad antagónica desarrollada por el género *Trichoderma* spp., está mediada por diversos mecanismos, destacándose la producción de compuestos inhibitorios al medio, estos son principalmente la producción de los antibióticos peptaibol, trichozianinas A1 y B1, compuestos por los cuales este logra inhibir la germinación de

las esporas y la elongación de las hifas de los fitopatógenos. Así mismo, metabolitos volátiles y no volátiles entre los cuales se destacan, pépticos, isocianatos, pirones y trichocinas. También podemos encontrar enzimas extracelulares difusibles hacia el patógeno dentro de las cuales encontramos las quitinasas, peptinasas, glucanasas y cutinasas.

4.4.2 Escala de evaluación de la capacidad antagónica (*Micoparasitismo*)

Al comparar los diferentes grados de la capacidad antagónica *in vitro* de TN01, TN02 y TH sobre BT., se evidencia que solo alcanzan la escala grado 4 los antagonistas TN01 y TH, que se manifiesta con la invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno y esporulación sobre ella, siendo TN01 el más rápido en colonizar la superficie del patógeno con un tiempo de 4 días después de la inoculación, en cuanto a la cepa comercial TH logró la colonización y esporulación sobre la superficie del patógeno a los 14 días después de la inoculación, mismo tiempo en que demoró su crecimiento radial en competencia por espacio y nutrientes, mientras que la cepa TN02 no presentó ninguna invasión de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno con una escala de grado 0 (Tabla 5).

Este proceso de micoparasitismo se debe a que el hongo antagonista crece quimiotrópicamente hacia el hospedante, se adhieren a las hifas del mismo, se enrollan en ellas frecuentemente y las penetran en ocasiones. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en los estados tardíos del proceso parasítico, que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno y conduciendo a una muerte lenta. Todo este proceso está acompañado de la delimitación por espacio y nutrientes (Hernández, Ferrera, y Alarcón, 2019).

Tabla 5.***Resultados escala del grado de capacidad antagónica***

Antagonista	Grado	Capacidad antagónica
TN02	0	Ninguna invasión de la superficie de la colonia del hongo patógeno
TH	4	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno esporulación sobre ella
TN01	4	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno esporulación sobre ella

Escala creada por Elías y Arcos (1984) citada en Ezziyyani et al., (2004) para evaluación de la capacidad antagónica (micoparasitismo), de acuerdo a la medida de la invasión de la superficie, colonización y esporulación de *Trichoderma* spp., sobre el fitopatógeno

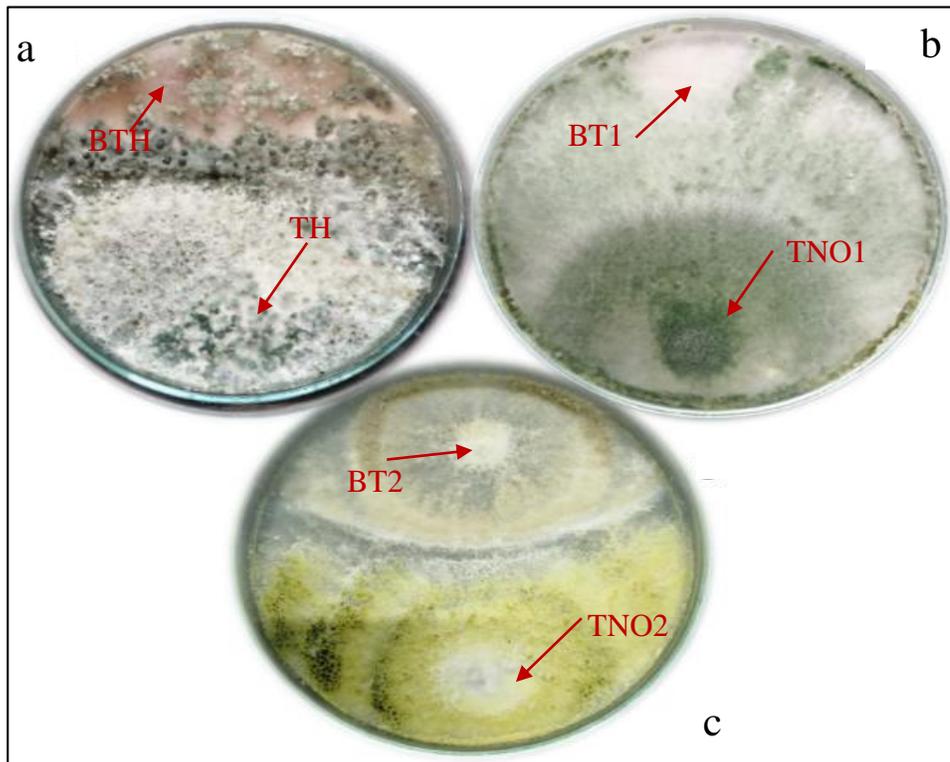
En la Figura 23 (a), se observa la invasión y esporulación de la cepa TH sobre la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno BT en el día 14, demostrando la escala grado 4 invasión total de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno esporulación sobre ella, del mismo modo se observa la invasión y esporulación total del antagonista TN01 sobre el fitopatógeno BT con un máximo de 4 días (Figura 23b). En cuanto a la cepa TN02 no se observó ninguna invasión del micelio del controlador sobre el fitopatógeno BT, lo cual indica el grado cero de la capacidad antagónica (Figura 23c).

El crecimiento del antagonista sobre el fitopatógeno, se debe a la antibiosis, micoparasitismo directo y penetración, favoreciendo los aislamientos que presentan mayor

capacidad para competir por el sustrato y utilizando con facilidad los nutrientes disponibles en el medio (Morales *et al.*, 2020).

Figura 23.

Capacidad antagonista (Micoparasitismo)



(a). Invasión y competencia por espacio y nutrientes y micoparasitismo de la cepa comercial (TH) contra (BTH). (b) invasión total miceliar de la cepa (TNO1) sobre el fitopatógeno (BT1). (c) no se observa ningún crecimiento miceliar del antagonista (TNO2) sobre el fitopatógeno (BT2).

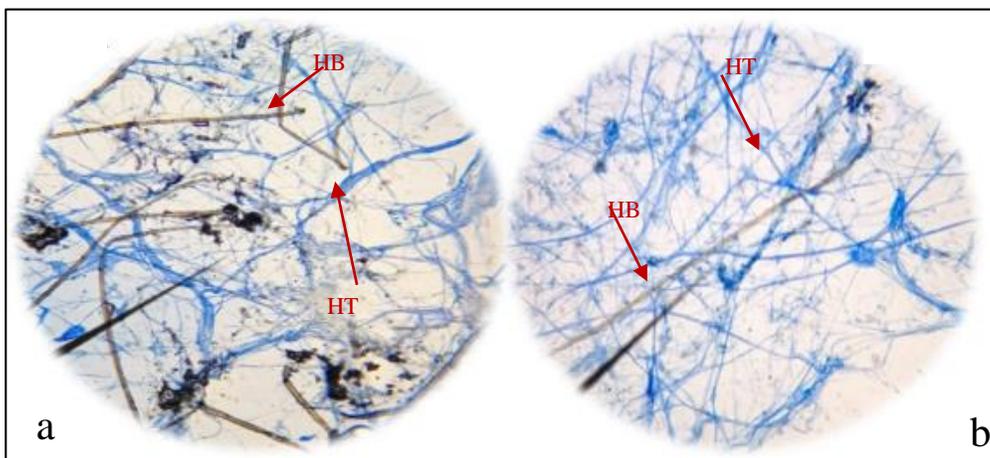
En la Figura 24 (a). Se evidencia la degradación de las hifas del antagonista TH sobre las hifas del fitopatógeno BT, que es uno de los principales modos de micoparasitismo de este antagonista, también se ponen en manifiesto un número de hifas superiores a la del patógeno, demostrando su habilidad de crecer y competir por espacio y nutrientes; del mismo modo ocurre

en la Figura 24 (b). Aparte de observar el micoparasitismo de la cepa TN01, se logran visualizar hifas degradadas y destruidas del fitopatógeno BT, que posiblemente se debe a la actividad lítica, que es la producción de enzimas líticas extracelulares, que principalmente se destacan proteasas glucanasas y quitinasas, que degradan las paredes celulares del hospedante lo cual posibilita la penetración de las hifas del hongo antagonista (Infante *et al.*, 2009).

Lo anterior permite plantear que, con las cepas de TN01 y TH es probable llegar a un control eficaz de la cepa fitopatógena BT por la rapidez con que crecen estos hongos antagonistas, impidiendo que proliferen poblaciones elevadas de este hongo patógeno. Por tanto, se procedió a verificar el comportamiento de estas cepas en campo abierto

Figura 24.

Observación del micoparasitismo en microscopía óptica de TH y TN01



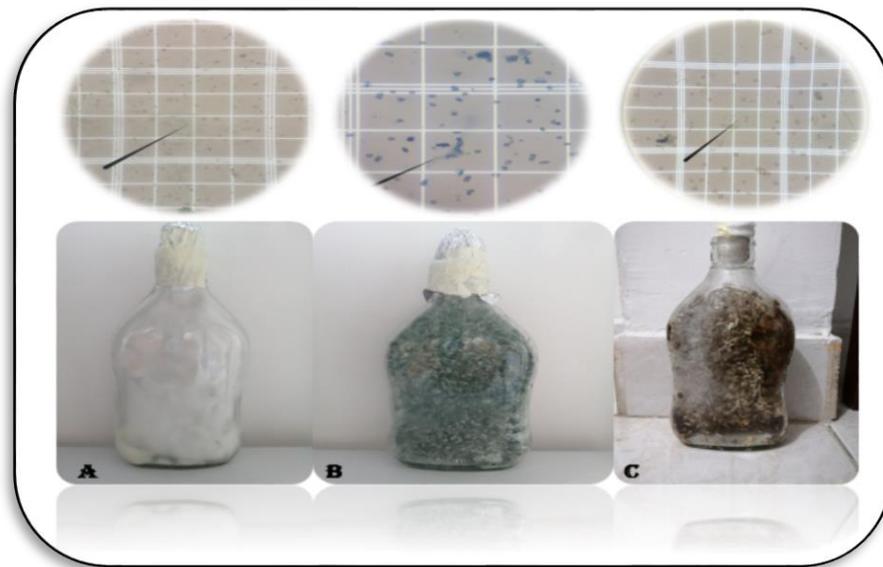
(a) Hifas de color azul (HT) del antagonista TH, hifas de color marrón de (HB) del fitopatógeno. (b) Hifas azules de (HT) de la cepa nativa TN01, hifas de color marrón del fitopatógeno (HB).

4.5 Biopreparados para la dosificación de los hongos antagonistas.

En la Figura 25 (a) cepa nativa TN01, Figura 25 (b) cepa comercial TH y Figura 25 (c) cepa fitopatógena BT. Las cepas mostraron crecimiento miceliar típico de las características macroscópicas de cada especie en el medio de cultivo preparado con arroz de manera artesanal después de los 10 días de incubación, además se logró observar los conidios de cada uno, usando la tinción con azul de lactofenol en montaje en la cámara de Neubauer, para así conocer la aproximación de producción de conidios en cada botella con el biopreparado de cada hongo como se muestra en la Tabla 6, para luego realizar la dosificación que se usa en los tratamientos de campo.

Figura 25.

Resultados de los biopreparados de los controladores y el patógeno



(a) TN01, (b) TH., (c) BT. Se observa el crecimiento miceliar después de 10 días de incubación, y en la parte superior se observan los conidios de cada uno en un montaje en la cámara de Neubauer.

Tabla 6.***Concentración de conidios en los biopreparados***

Microorganismos	Concentración de conidios/ml
TN01	1.7*10 ⁹ conidios/ml
TH	2.58*10 ⁹ conidios/ml
BT	1.9*10 ⁹ conidios/ml

Conteo final de conidios en cada biopreparado realizado en la cámara de Neubauer

Se efectuó el conteo de conidios basado en la fórmula descrita por Arredondo y Voltolina (2014). Evidenciando la posible cantidad de conidios en cada botella con el biopreparado, con una mayor cantidad de conidios para la cepa TH con una concentración de 2.58*10⁹ conidios/ml en comparación con la cepa TN01 que tuvo una concentración de 1.7*10⁹ conidios/ml, respectivamente. En cuanto a la concentración de la cepa TH se evidenció que está era muy parecida a la concentración descrita por Parra (2018) de igual manera demostró Arévalo et al., (2017). Y por último se conoció la concentración de la cepa fitopatógena BT de 1.9*10⁹ conidios/ml. Basado en este resultado se procedió a preparar las concentraciones que fueron evaluada a campo abierto.

4.6 Socialización de los resultados del efecto antagónico *in vitro*

Para socializar los resultados de laboratorio basado en la eficiencia de los controladores TN01, TN02 y TH se realizó una reunión con el productor Gonzalo Granados y su Familia (hijo e hija y esposa) de manera presencial, dicha reunión se realizó en la finca El Cascajal de la Vereda Monte dentro, lugar donde se llevó a cabo el proyecto piloto. El consenso familiar eligió

la cepa nativa con mejor efecto antagónico frente al fitopatógeno *Botrytis* spp., evaluados *in vitro* para comparar su efecto antagónico con la cepa comercial TH en el cultivo de fresa en condiciones de campo abierto, siendo la cepa nativa elegida (TN01) (Figura 26).

Figura 26.

Registro fotográfico de la socialización de los resultados in vitro



Registro fotográfico de la socialización de resultado con la familia a cargo del proyecto piloto.

4.7 Efecto protector de las cepas TN01 y TH en condiciones de campo abierto

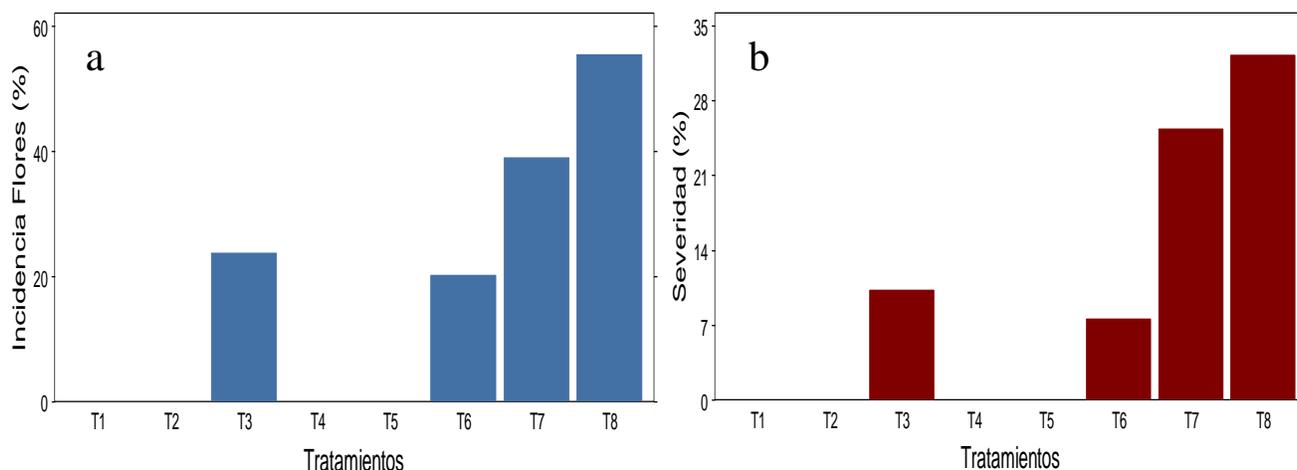
En este proceso para realizar la comparación de la cepa nativa TNO1 y la cepa comercial TH en un cultivo de fresa a campo abierto, se empleó un diseño en bloques completamente al azar (BCA).

4.7.1 Porcentaje de incidencia y severidad en flores

En la Figura 27 (a). El porcentaje de incidencia de la enfermedad causada por *Botrytis* spp., varían en los diferentes tratamientos, este se registró al momento de la primera cosecha,

respectivamente, con promedios de 55.35% de incidencia para T8, siendo este el más alto porcentaje de la enfermedad, y continúan T7 38,85 %, luego T3 23.65% y T6 20.20%. Mientras que los tratamientos T1, T2, T4 y T5, no presentaron ningún porcentaje de incidencia de la enfermedad en las flores, demostrando que las concentraciones más altas de conidios tienen un mejor efecto protector contra el fitopatógeno *Botrytis* spp. Esto quiere decir que la concentración de $1 \cdot 10^5$ conidios/ml y $1 \cdot 10^7$ conidios/ml, tanto para la cepa TN01 y TH, presentaron una inhibición total de *Botrytis* spp., en el cultivo de fresa. Resultado similar a lo reportado por Guédez *et al.* (2009), en donde se observa una acción como biocontrolador de *T. harzianum*, sobre *B. cinerea*

En la Figura 27 (b)., se muestran los valores del porcentaje de severidad para cada uno de los tratamientos. Los valores de severidad más alto fueron T8 con 32.2%, seguido de T7 25.35%, siendo estos los controles de la investigación. Seguidamente, se encuentra T3 con un valor de 10.25% y por último T6 con 7.55% que fue el valor más bajo de los que presentaron la enfermedad. Esto nos demuestra que tanto la cepa TN01 y TH tienen buen efecto antagónico para controlar la enfermedad causada por el fitopatógeno *Botrytis* spp., en el cultivo de fresa.

Figura 27.**Porcentaje de incidencia y severidad en flores (%)**

(a) Muestra los resultados de incidencia (%) en flores. (b) severidad (%) de la enfermedad en flores. Las barras determinan la media de cada tratamiento. Fuente: Autor

Estos valores de incidencia y severidad posiblemente se ven influenciados por la humedad relativa HR, que, en el mes de marzo, mes en que ocurría la formación de flores, esta superó el 80% como lo reportó el Instituto de Hidrología Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM, 2020) (Apéndice D). Ya que la HR se considera como el primer factor en el desarrollo de *B. cinerea*, al considerar la germinación de los conidios en un rango de humedad entre 93 y 100% (Martínez y Moreno, 2008).

Al realizar el análisis de varianza ANOVA para comparar la incidencia, así como la severidad de los síntomas en flores para los 8 tratamientos, se encontró que hay diferencia significativa con un P-valor ($P < 0,05$) con un nivel de significancia del 5%. (Tabla 7).

Tabla 7.***Incidencia y severidad de la enfermedad producida por Botrytis spp. en flores (%)***

Tratamiento	Incidencia (%)	Severidad (%)
T8	55.35 a	32.20 a
T7	38.35 b	25.35 a
T3	23.65 bc	10.25 b
T6	20.20 c	7.55 bc
T1	0.00	0.00 c
T2	0.00	0.00 c
T4	0.00	0.00 c
T5	0.00	0.00 c

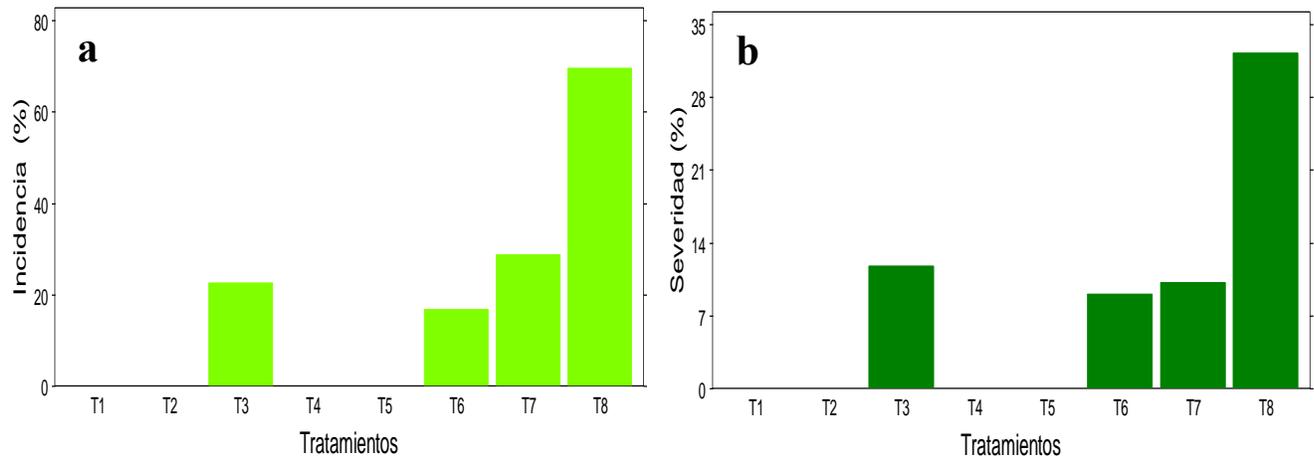
Letras desiguales en las medias (a,b,c,d) indican diferencia entre ellas ($P < 0,05$) según p. Tukey.

En la Tabla 7, basado en los resultados de ANOVA del porcentaje de incidencia bajo 8 tratamientos, se presenta en cinco grupos. Los tratamientos T1, T2, T4 y T5 causaron igual porcentaje de incidencia. Siendo este el más bajo en comparación con el tratamiento T8 que fue el que presentó mayor valor de incidencia. Asimismo, se muestra el índice de severidad en porcentaje, formando 5 grupos, T1, T2, T4 y T5 conforman un solo grupo que fueron los que no presentaron la enfermedad en flores, haciendo la comparación con el grupo T8 que mayor presentó los síntomas de la enfermedad.

4.7.2 Porcentaje de incidencia y severidad en frutos

En la Figura 28 (a). Los tratamientos que presentaron la enfermedad causada por el patógeno fueron T8 con el mayor porcentaje de incidencia con un valor de 69.50%, asimismo le

sigue T7 con 28.75%, luego T3 con 22.55% y por último con el valor más bajo en los tratamientos en el que se encontró la enfermedad, se evidencia T6 con 16.70%. Mientras que los tratamientos T1, T2, T4 y T5 los valores de incidencia son iguales a cero, ya que no se presentaron síntomas ni evidencias de la enfermedad. Y basado en el análisis de varianza ANOVA entre los tratamientos, se encontró que hay diferencia significativa (Tabla 8). Y continuamos con la severidad de la enfermedad en frutos como se muestra en la Figura 28 (b) con el porcentaje más alto para el tratamiento T8 con 32.25% y le sigue T3 con un valor de 11,75%, asimismo se evidencia T7 con 10.15% y T6 con el porcentaje más bajo de los tratamientos en donde se manifestó la enfermedad. Y por último en los tratamientos T1, T2, T4 y T5 no se evidenció ningún valor. Estos valores de porcentaje de severidad presentaron diferencias significativas con un P-valor ($P < 0,05$) con un nivel de significancia del 5% bajo la técnica Estadística ANOVA para los 8 tratamientos (Tabla 8).

Figura 28.**Porcentaje de incidencia y severidad en frutos (%)**

(a) Muestra los resultados de incidencia (%) en frutos. (b) resultados de la severidad (%) de la enfermedad en fruto.

En este sentido, al tratarse de *Trichoderma* spp., posiblemente sea el hongo más beneficioso, polifacético y con más versatilidad que abunda en los suelos. Ya que este hongo tiene una alta velocidad de crecimiento, por esta característica es capaz de establecerse en el suelo rápidamente y controlar enfermedades; el mecanismo de acción del hongo es que degrada a otros hongos y toma sus nutrientes, también es capaz de controlar, destruir y parasitar nemátodos y otros fitopatógenos, que son de importancia agrícola, debido a esta particularidad en muchos estudios le llaman el hongo hiperparás (Quinatoa, 2015). Por esta razón, influyó en el control de *Botrytis* spp., reduciendo la incidencia y la severidad del fruto en el cultivo.

Otra variable que posiblemente influyó en la incidencia y la severidad del fruto fue la precipitación, que en el mes de abril, periodo en que se realizó la primera cosecha, presentó lluvias con más de 50 mm (DEAM, 2020) (Anexo E). Según Calvo (2013) encontró que el desarrollo de la podredumbre gris estuvo asociado a las condiciones meteorológicas. En donde

evidencia que la mayor incidencia y severidad estuvo relacionada a la precipitación, que fue el factor más determinante para la infección de *B. cinerea* en el mismo estudio.

Tabla 8.

Incidencia y severidad de la enfermedad producida por Botrytis spp. en fruto (%)

Tratamiento	Incidencia (%)	Severidad (%)
T8	69.50 a	32.25 a
T7	28.75 b	10.15 b
T3	22.55 c	11.75 b
T6	16.70 c	9.05 b
T1	0.00 d	0.00 c
T2	0.00 d	0.00 c
T4	0.00 d	0.00 c
T5	0.00 d	0.00 c

Letras desiguales en las medias (a,b,c,d) indican diferencia entre ellas (P<0,05) según p. Tukey

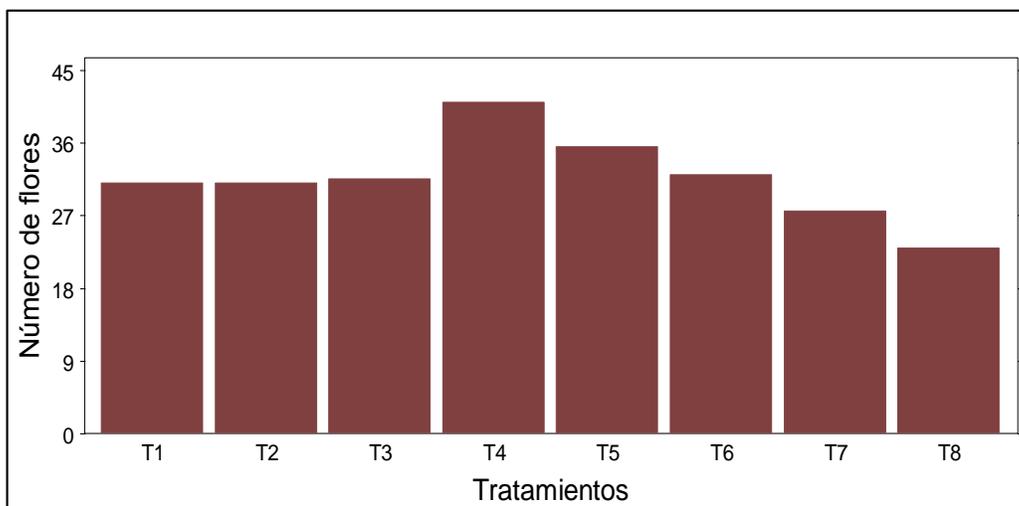
En la Tabla 8, los resultados de ANOVA del porcentaje de incidencia en frutos bajo 8 tratamientos, donde se aprecian 4 grupos, que comienzan en T8 con mayor porcentaje de incidencia 69.50%, formando así el primer grupo y termina en T1, T2, T4 y T5 tratamientos que no presentaron ningún porcentaje de incidencia relacionado con la podredumbre gris causada por *Botrytis* sp., De igual forma, se muestran los resultados del índice de severidad que basado en la prueba de ANOVA según p. Tukey, se formaron 3 grupos, siendo el primero T8 con el mayor valor de 32.25%, el segundo grupo lo conforman T3, T6, y T7, y por último se encuentran T1, T2, T4 y T5 grupo con el menor porcentaje de severidad.

4.8 Variables Morfoanatómicas

4.8.1 Número de flores

En la Figura 29 se observa que los tratamientos que produjeron mayor número de flores fueron T4 con una media de 41, que corresponde a la concentración de $1 \cdot 10^7$ conidios/ml, y le sigue T5 con una media de 35 flores que pertenece al mismo antagonista con una concentración de $1 \cdot 10^5$ conidios/ml. Y los tratamientos con menor media en el número de flores que se evidencian son T7 con 27.5 y T8 con 23, los cuales fueron planteados como control.

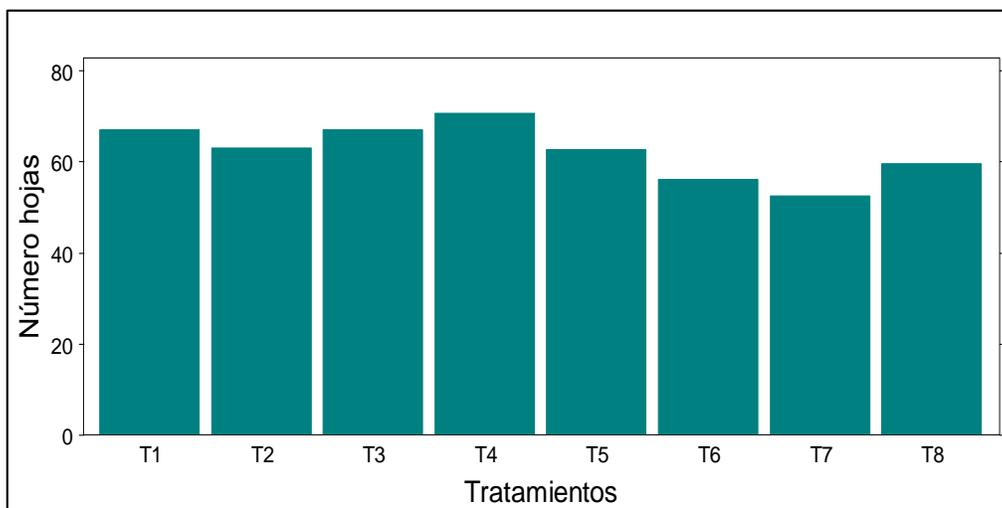
Aunque se muestran diferencia en el número promedio de flores en el cultivo de fresa. No obstante, para la muestra analizada con el programa estadístico ANOVA, arrojó p-valor igual a 0,3555, indicando que el efecto de los tratamientos fue similar, entre otras palabras no se detectaron diferencias significativas en el número promedio de ellas (Apéndice F).

Figura 29.***Resultado de los promedios del número de flores por tratamiento***

Promedios de números de flores por tratamientos al momento de la primera cosecha en el cultivo de fresa.

4.8.2 Número de hojas

En la Figura 30 el número promedio de hojas registrado al momento de la primera cosecha se reportan de la siguiente manera, con mayor promedio se encuentra el tratamiento T4 con 70 hojas, mientras que el tratamiento con menor promedio es T7 con 52 hojas. Al aplicar el Análisis de Varianza se obtuvo un p-valor > 0.05 , indicando que no hay diferencias significativas en el número de hojas según los tratamientos analizados con un p-valor de 0,2979.

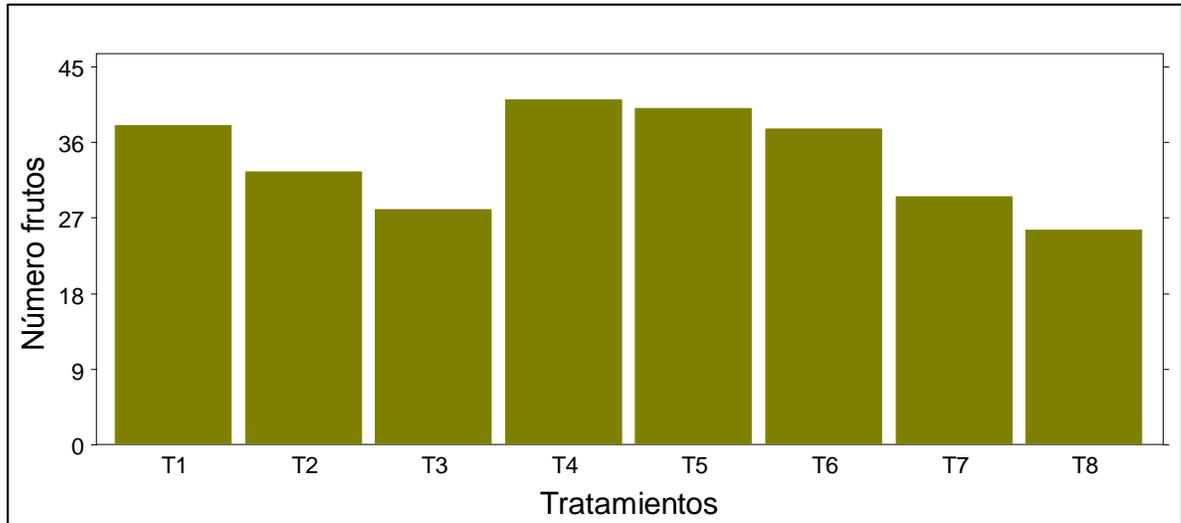
Figura 30.***Resultado de los promedios del número de hojas por tratamiento***

Promedios de números de flores por tratamientos al momento de la primera cosecha en el cultivo de fresa.

Esta variable morfoanatómica es muy importante en el cultivo de fresa como señala Marschner (2002), que las hojas al ser el órgano principal productor de hidratos de carbono de las plantas, debido a esto incrementa la producción de ATP y esqueletos de carbono, necesarios para la formación de ácidos nucleicos, fructosa, proteínas, sacarosa y lípidos.

4.8.3 Número de frutos

En la Figura 31 los tratamientos con mayor número de frutos fueron T4 con una media de 41, que corresponde a la concentración de $1 \cdot 10^7$ conidios/ml, y le sigue T5 con una media de 40 flores que este pertenece a la concentración de $1 \cdot 10^5$ conidios/ml, dichos tratamientos pertenecen a la cepa nativa TN01. Y los tratamientos con menor media en el número de frutos que se evidencian son T8 con una media de 25.5 y T3 con una media de 28 frutos.

Figura 31.***Resultado de los promedios del número de frutos por tratamiento***

Promedios de números de frutos por tratamientos al momento de la primera cosecha en el cultivo de fresa.

Estos valores en la media del número de frutos por tratamiento presentaron diferencias significativas con un P-valor ($P < 0,05$) con un nivel de significancia del 5% bajo la técnica Estadística ANOVA para los 8 tratamientos (Tabla 9).

Tabla 9.***Promedios del número de frutos por tratamientos***

Tratamiento	Media	P-valor	Interpretación
T4	41,0 a		
T5	40,0 a		
T1	38,0 a		
T6	37,5 a	0,0000	hay diferencia significativa
T2	32,5 b		
T7	29,5 bc		
T3	28,0 c		
T8	25,5 c		

Letras desiguales en las medias (a,b,c,) indican diferencia entre ellas ($P < 0,05$) según p. Tukey

El número de frutos promedio bajo 8 tratamientos, se presenta en tres grupos. Los tratamientos T1, T4, T5 y T6 produjeron similar número de frutos. Los tratamientos T2 y T7 también presentaron igual número de frutos y los tratamientos T3, T7 y T8 estadísticamente tuvieron el mismo número de frutos.

4.9 Socialización final de los resultados del efecto antagónico con los productores de fresas y transferencia de tecnología

Para socializar los resultados de la eficiencia de los controladores TN01 y TH en el cultivo de fresa, se realizó una reunión con el señor Gonzalo Granados y Familia (hijo, esposa y dos nietos), Felipe Niño y Jonathan Portilla, de manera presencial utilizando como material de transferencia un póster de investigación, que es un medio visual para comunicar los resultados de

un trabajo investigativo, dicha reunión se realizó en la finca El Cascajal de la Vereda Monteadentro donde se llevó a cabo el proyecto piloto (Figura 32a), asimismo se realizó la instrucción y preparación en masa de manera artesanal de los antagonistas por parte del agricultor; dicha reunión se llevó a cabo de manera satisfactoria y por parte del mismo agricultor se transmitió el conocimiento a los demás productores de fresa. Y como evidencia se tomaron registros fotográficos (Figura 32b).

Figura 32.

Registro fotográfico de la socialización y preparación en masa de los antagonistas



(a) Socialización de resultado final llevado a cabo por el estudiante; (b) Transferencia de tecnología.

Fuente: Autor

La participación de las personas formando grupos de trabajo es fundamental para responder a objetivos predeterminados por el proyecto, donde se les tiene en cuenta en el monitoreo y el ajuste de actividades; esto implica grandes procesos de enseñanza-aprendizaje

sistemáticos y estructurados. Fue necesario tener en cuenta a las personas de la comunidad en el proyecto para ir avanzando en este.

El método de acción participativa, permite un aprendizaje rápido, progresivo e interactivo, para así seguir avanzando a las siguientes etapas, logrando un intercambio horizontal de conocimientos y saberes entre productores y extensionistas (Landini, 2016).

“La mayoría de los proyectos de desarrollo fracasan o quedan muy lejos de sus metas iniciales, por falta de participación real de la gente para quién se hizo el proyecto en primer lugar (“los beneficiarios”)” (Geilfus, 2009).

Conclusiones

Si bien, las tres cepas del género *Trichoderma* spp., utilizadas consiguieron *in vitro* inhibir totalmente el crecimiento del fitopatógeno, siendo la cepa nativa TN01, aislada del mismo cultivo, la que mostró una mayor velocidad en la competencia por espacio y nutrientes.

En los bioensayos de cultivo dual se pudo evidenciar que tanto la cepa nativa TN01, como la cepa comercial TH, usaron el micoparasitismo como parte de su mecanismo antagónico contra la cepa fitopatógena BT.

Las cepas TN01 y TH a una concentración de $1 \cdot 10^7$ y $1 \cdot 10^5$ conidios/ml, ejercen un papel protector similar sobre el cultivo de fresa en cuanto a la incidencia y severidad de los síntomas de la enfermedad causada por el fitopatógeno *Botrytis* spp.

Los mejores resultados en el cultivo de fresa experimental en el número de estructuras morfoanatómicas (hoja, flor y fruto) fue la cepa TN01 que fue aislada del mismo cultivo.

La implementación del experimento realizado en la parcela demostrativa, con la participación de la comunidad, fue aceptada además de realizada la transferencia de tecnología, lo cual será llevada para implementarlas en otras parcelas.

Recomendaciones

Realizar una caracterización genotípica para identificar taxonómicamente las cepas nativas a nivel de especie.

Diseñar programas de manejo integrado limpio donde esté incluida el control biológico con *Trichoderma* spp., en principios de prevención y control de la podredumbre gris causada por *Botrytis* spp., en todo el ciclo del cultivo de la fresa en la Vereda Monteadentro.

Promover el uso de sustratos (cascarilla de arroz, café residuos de cosecha) para la producción artesanal de *Trichoderma* spp.

Involucrar a más productores a conocer sobre la producción artesanal y aplicación de *Trichoderma* spp. en sus cultivos, para mitigar el uso de pesticidas y la importancia que tiene usar estrategias biológicas.

Referentes bibliográficos

- Abdelgale, S., Badawy, M., Mahmoud, N. F., & Marei, A.-S. M. (2019). Acaricidal activity, biochemical effects and molecular docking of some monoterpenes against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *Elsevier*, 156, pp. 105-115.
- Achicanoy, H. (2001). Estrategias integradas para el control de enfermedades de las plantas. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, 54, pp.1251-1273.
- Agamez, E., Barrera, J., & Oviedo, L. (2009). Evaluación del antagonismo y multiplicación de *trichoderma* sp. en sustrato de plátano en medio líquido estático. *Acta Biológica Colombiana*, 14(3), pp. 61-70.
- Agroware. (9 de Febrero de 2017). *Principales Plagas de la Fresa y métodos de control recomendados*. Recuperado el 19 de Octubre de 2020, de <http://sistemaagricola.com.mx/blog/control-principales-plagas-de-la-fresa/>
- Agruco-Compas. (2010). *Desarrollo Endógeno (no. 15 2010)*. Cochabamba: Agruco-Compas .
- Albarracín, D. M. (2019). Elaboración de biocompostaje y su influencia en cultivos de Lactuca sativa L (LECHUGA), Beta vulgaris variedad cicla (ACELGA) y Apium graveolens var. Dulce (APIO ESPAÑA). *Trabajo de de grado para optar el título de Magister en Biología Molecular y Biotecnología*, Universidad de Pamplona. Pamplona, Colombia.
- Alcaldía Municipal de Pamplona. (2020). *Sistema de documentación e información municipal*. Recuperado el 23 de Marzo de 2020, de <http://pamplona-nortedesantander.gov.co/MiMunicipio/Paginas/Informacion-del-Municipio.aspx>
- Altamirano, R. C. (2004). El cultivo de la fresa para el ciclo otoño-invierno, en California, Estados Unidos de Norte America. *Trabajo de pregrado, Universidad de Guadalajara*. Las agujas, Zapopan, Mexico.
- Arévalo, E., Cayotopa, J., Olivera, D., Gárate, M., Trigoso, E., Costa, d., & Leon, B. (2017). Optimización de sustratos para la producción de conidias de *Trichoderma harzianum*. Por fermentación sólida en la región de San Martín. Perú. *Rev. Investig. Altoandin*, 19(2), pp. 135-144.

- Arredondo , B. O., & Voltolina, D. (2014). Concentración, Recuento Celular Y Tasa de Crecimiento. En *Métodos y Herramientas Analíticas en la Evaluación de la Biomasa Microalgal* 21.pp. 21-29.
- Astorga, K., Meneses, K., Zúñiga, C., Brenes, J., & Rivera, W. (2014). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp.y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. *Tecnología en Marcha*, 27(2), pp.83-91.
- Bahrami , S., Mansour, M., Magowski, W. L., & Smagghe, G. (2016). Strawberry mite (*Phytonemus pallidus fragariae*), a new record of tarsonemid mites (Acari: Tarsonemidae) in Iran . *Persian Journal of Acarology*, 5(N 4), pp. 351–354.
- Bianchi, P. G. (2018). *Guía completa del cultivo de las fresas*. Barcelona: De Vecchi Ediciones.
- Bonet , J. (2010). Desarrollo y carecterización de herramientas genómicas en fragaria diploide para la mejora del cultivo de fresa. *Tesis Doctoral, Universidad Autonoma de Barcelona*. Bellaterra, Barcelona, España. Obtenido de <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/42009/jbg1de1.pdf;jsessionid=DAE550501925F9D7C7649E4AB9CFGA1FB?sequence=1>
- Calvo , C. (Noviembre de 2013). Control de la podredumbre por *Botrytis cinerea* mediante la aplicación de *Candida sake* CPA-1 y otras estrategias alternativas a los fungicidas químicos en uva de vinificación. *Tesis Doctoral Para optar al grado de Doctorado en Ciencia y Tecnología Agraria y Alimentaria. Universidad de lleida*. lleida.
- Cámara de Comercio. (2015). Manual del cultivo de lechuga. Obtenido de <https://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/MANUAL%20DEL%20CUL>
- Cámara de Comercio de Bogotá. (2015). Manual fresa. *Programa de apoyo agrícola y agroindustrial vicepresidencia de fortalecimiento empresarial*. Obtenido de <https://bibliotecadigital.ccb.org.co/bitstream/handle/11520/14312/Fresa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Campbell, R. (1989). *Biological control of microbial plant pathogens*. Cambridge University Press. New York. Usa 218p.
- Cárdenas Pardo, N. J., Darghan, A., Sosa Rico, M. D., & Rodriguez, A. (2017). Análisis espacial de la incidencia de enfermedades en diferentes genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en El Yopal (Casanare), Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 22(2), pp. 209-220.

- Castellanos, L., Céspedes, N., & Valdovino, A. (2020). Alternativas orgánicas para el logro de producciones más limpias de la fresa en Pamplona, Norte de Santander. *INGE CUC*, 16(1), pp.1-12.
- Castillo, A. Y., Suárez, J. H., & Mosquera, J. (2017). Naturaleza y Sociedad: Relaciones y Tendencias desde un Enfoque Eurocéntrico. *Luna Azul ISSN 1909-2474*(44), pp. 348-371.
- Chaves, N., & Wang, A. (2004). Combate del Moho Gris (*Botrytis cinerea*) de la Fresa Mediante *Gliocladium roseum*. 28(2), pp.74-85.
- Chavez, M. P. (2006). Producción de *Trichoderma* spp. y Evaluación de su Efecto en Cultivo de Crisantemo (*Dentranthema grandiflora*). *Tesis de Pregado, Pontificia Universidad Javeriana*. Bogotá, Colombia.
- Colina, L. J., & Dudamel, C. M. (2019). La Educación Rural como Eje Nuclear para El Desarrollo Endógeno Sustentable. *Revista arbitrada del cieq*(37), pp.147-155.
- Correa, G., Lavalett, L. L., Galindo, M. P., & Kafuri, L. A. (2007). Uso de métodos multivariantes para la agrupación de aislamientos de *Colletotrichum* spp. con base en características morfológicas y culturales. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, 60(N.1), pp. p.3671-3690.
- Cubillos, J., Valero, N., & Mejía, L. (2009). *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener). *Agronomía Colombiana*, 27(1), pp. 81-86.
- De Souza, G. C., Reis, P. R., da Silveira, E. C., Marafeli, P., Silva, E. A., & de Andrade, H. B. (2014). Biological control of *Tetranychus urticae* (Tetranychidae) on rosebushes using *Neoseiulus californicus* (Phytoseiidae) and agrochemical selectivity. *Revista Colombiana de Entomología*, 40(N 1), pp. 80-84.
- Denmark, H. A. (2011). Cyclamen Mite, *Phytonemus pallidus* (Banks) (Arachnida: Acari: Tarsonemidae). *Entomology and Nematology Department, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida*. 4 p. Obtenido de <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN33500.pdf>
- Elad, Y., Chet, I., & Katan, J. (1980). *Trichoderma harzianum*: A Biocontrol Agent Effective Against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 70(N. 2), pp. 119-121.

- Eraso, C., Acosta, J., Salazar, C., & Betancourth, C. (2014). Evaluación de cepas de *Trichoderma* spp. para el manejo del amarillamiento de arveja causado por *Fusarium oxysporum*. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(2), pp. 237-249
- Estrada, G. I., & Ramírez, M. C. (2019). *Micología general*. Manizales: Universidad Católica de Manizales. Obtenido de http://www.ucm.edu.co/wp-content/uploads/libros/Micologia_general.pdf
- Ezziyyani, M., Pérez Sánchez, C., Sid Ahmed, A., Requena, M. E., & Candela, M. E. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología*, 26, pp.35-45.
- Felipe, R. A. (2003). Tipificación del daño de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) en plantas de pimentón cv. California Wonder. *Trabajo de Grado. Unidad Centroccidental Lisandro Alvarado*. Barquisimeto, Estado Lara, Venezuela. 33 P.
- Fernandez, J. S. (2019). Evaluación de repelentes para control de Thrips (*Frankliniella occidentalis*) en el cultivo de rosa bajo invernadero en la finca hosa Providencia – Madrid, Cundinamarca. [*Trabajo de grado Ingeniería Agronómica*] *Universidad de Cundinamarca*. Facatativá.
- Fernández, R., Trapero, A., & Domínguez, J. (2011). *Experimentación en agricultura*. Sevilla: Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Obtenido de <https://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/1337160941EXPERIMENTACION.pdf>
- Fernández Barbosa, R. J., & Suárez Meza, C. L. (2009). Antagonismo in vitro de *Trichoderma Harzianum* Rifai sobre *Fusarium Oxisporum* Schlecht f. sp *passiflorae* en maracuyá (*Passiflora edulis* Sims var. *Flavicarpa*) del Municipio zona bananera de Colombia. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellin*, 62(1), pp.4743-4748.
- Ferrucho, A. M., & Ruíz, D. (2013). Evaluación y comparación del comportamiento agronómico de dos cultivares de fresa ('Albion y Monterey') sembrados a libre exposición y bajo macrotúnel en la sabana de Bogotá (Colombia). *Trabajo de grado presentado para optar al título de Biólogo, Universidad Militar "Nueva Granada"*. Cajicá.

- Flores , E., Huanca , G., Onofre , X., Jiménez , P., Torrez , M., Guarachi , H., Fernández, C. M. (2018). Producción de *Trichoderma* spp, en diferentes sustratos. *Revista Estudiantil AGRO – VET*, 2(2), pp. 220-224.
- Flores , F., Balbi, E., & Maury , M. (2018). Control químico del Trips del Poroto (*Caliothrips phaseoli*) en el cultivo de soja. *INTA EEA Marcos Juárez*. Obtenido de https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_soja_trips_mj2018.pdf
- Flórez, R., & Mora, R. A. (2010). *Fresa (Fragaria x ananassa Duch.) Producción Y Manejo Poscosecha*. Corredor Tecnológico Agroindustrial, Cámara de Comercio de Bogotá., Bogotá-Colombia.
- Gakegne, E. R., & Martínez, B. (2018). Antibiosis y efecto de pH-temperatura sobre el antagonismo de cepas de *Trichoderma asperellum* frente a *Alternaria solani*. *Revista de Protección Vegetal*, 33(2), pp.1-9.
- Geilfus, F. (2009). *80 herramientas para el desarrollo participativo: diagnóstico, planificación, monitoreo, evaluación*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). 2002, San José, Costa Rica.
- Gepp , V. (08 de 2009). *Fagro. Curso de Fitopatología*. Obtenido de http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursos/fitopato/practicas/Clave_hongos.pdf
- Gómez, J. A., Picazo, A., & Martínez , E. R. (2008). Agricultura, desarrollo rural y sostenibilidad medioambiental. *CIRIEC-España N° 61*, pp.103-126.
- Guédez, C., Cañizález, L., Castillo, C., & Olivar, R. (2009). Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* sobre algunos hongos patógenos postcosecha de la fresa (*Fragaria* spp). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29(1), pp. 34-38
- Guédez, C., Cañizalez, L., Castillo, C., & Olivar, R. (2012). Evaluación *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*(32), pp. 44-49.
- Hernández, D. J., Ferrera, R., & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: agricultural and biotechnological importance, and fermentation systems for producing biomass andenzymes of industrial interest. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia* , 35(1), pp. 98-112.

- Hermosa, M. R. (2017). Trichoderma: A Biological Control Agent that Helps Plants Make the Right Decisions. *Farma Journal*, 2(2), pp. 141-142.
- Herbario virtual (2020). Moho gris de la frutilla (*Botrytis cinerea*). Obtenido de http://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=835
- Hesperia. (2011). La agricultura sostenible. En *Guía comunitaria para la salud ambiental* (págs. 278-317). Obtenido de http://hesperian.org/wp-content/uploads/pdf/es_cgeh_2011/es_cgeh_2011_cap15.pdf
- Infoagro. (24 de 02 de 2018). Manual de Producción de Fresa. *Guía técnica para el cultivo y producción de fresa*. Obtenido de <https://infoagronomo.net/manual-produccion-de-fresa-pdf/>
- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos. *Rev. Protección Veg.*, 24(1), pp.14-21.
- Jácome, H. D. (2019). “Evaluación de tres dosis de fosfitos de zinc para mejorar la producción en el cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*) en el cantón Tulcán – provincia del Carchi. *Carrera de desarrollo integral agropecuario*. Tulcán – Ecuador.
- Koppert Biological Systems. (2019). *Frankliniella occidentalis, Trips occidental de las flores*. [Consultado 2020 Octubre 15]. Obtenido de <https://www.koppert.es/retos/trips/trips-occidental-de-las-flores/>
- Labanowska, B., Piotrowski, W., Korzeniowski, M., & Cuthbertson, A. (2015). Control del ácaro de la fresa, *Phytonemus pallidus* (Banks) en plantaciones de fresa mediante acaricidas alternativos. *Elsevier*, 78, pp. 5-14.
- Landini, F. (2016). Concepción de extensión rural en 10 países latinoamericanos. *Andamios*, 13(N. 30), pp. 211-236.
- Lavilla, M., & Ivancovich, A. (2016). Propuestas de escalas para la evaluación, a campo y en laboratorio, del “tizón foliar” y la “mancha púrpura de la semilla”, causadas por *Cercopora kikuchii*, en soja. . *INTA Estación Experimental Agropecuaria Pergamino* . Obtenido de https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_pergamino_propuestas_de_escalas_para_la_evaluacion_a_campo_y_en_laboratorio_del_tizon_foliar_y_la_mancha_purpura_de_la_semilla_en_soja.pdf

- Leon , B., Ortiz, N., Condori, N., & Chura, E. (2018). Cepas de *Trichoderma* con capacidad endofítica sobre el control del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) y mejora del rendimiento de quinua. *Journal of High Andean Research*, 20(1), pp.19-30.
- López , Y. M. (2018). Producción y Pormulación de *Trichoderma asperellum* para el Manejo de Patógenos de la Raíz de Caña de Azúcar. *Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de Morelos*. Cuernavaca Morelos. Obtenido de <http://riaa.uaem.mx/xmlui/bitstream/handle/20.500.12055/646/LOAYLN08T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Lopez, R. (2011). Detección y Cuantificación de *Trichoderma harzianum*, y Evaluacion de la Actividad Biocontrol frente a la Fusariosis Vascular del Melón Mediante la Aplicación de Herramientas Moleculares. *Tesis Doctoral, Universidad de Alicante*. Alicante.
- López, U. d., Brito, H., López, D., Salaya, J. M., & Gómez, E. (2017). Papel de *Trichoderma* en los Sistemas Agroforestalescacaotal como un Agente Antagónico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20, pp. 91-100 .
- Lorenzo Nicao, M. E., Castellanos González, L., & Lòpez Mesa, M. O. (2002). Prospección de hongos antagonistas en laprovincia de Cienfuegos. Efectividad y posibilidades de reproducción de cepas nativas de *Trichoderma*. *Tesis para optar el titulo de Master en Ciencias Agrícolas, Universidad Agraria de la Habana*. Habana, Cuba.
doi:doi:10.13140/RG.2.2.20959.4624
- Lozano Flórez, D. (2012). Contribuciones de la educación rural en Colombia a la construcción social de pequeños municipios y al desarrollo rural. *Revista de la Universidad de La Salle*, 57(7), pp.117-136.
- Lugo, M. Á., Flores, R. J., Isiordia, N., Lugo, G. A., & Reyes, Á. (2019). Ácaros fitófagos asociados a jitomate en el norte de Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícola*, 10(N 7), pp.1541-1550.
- Mahecha, J. G., Castellanos , L., & Céspedes, N. (2019). Incidencia y severidad de los síntomas de deficiencia de fósforo en el cultivo de fresa en las condiciones de Pamplona, Colombia. *Revista Centro Agrícola*, 46(1), pp. 58-61.
- Marschner, H. (2002). *Nutrición mineral de plantas superiores*. 2ª Edición. Amsterdam, Boston, Heidelberg, Londres, Nueva York, Oxford, París, San Diego, San Francisco, Singapur, Sydney, Tokio.: Academic Press.

- Martinez , F., Blancard , D., Lecomte, P., Levis , C., Dubos , B., & Fermaud , M. (2003). Phenotypic Differences between vacuina and transposa subpopulations of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*, 109(5), pp. 479-488.
- Martínez , M. A., & Moreno, Z. Y. (2008). Estandarización de una metodología para la evaluación de eficacia de productos preventivos para la protección de cultivos. Preventivos para el control de *Botrytis* en condiciones semicontroladas. *Universidad Javeriana*.
- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), pp. 1-11.
- Martínez, C. (2019). Responsabilidad social universitaria, transferencia tecnológica y desarrollo endógeno. Estrategias de vinculación comunitaria. *Revista Latinoamericana de Difusión Científica*, 1(1), pp.55-67.
- Matus , M. N., & Ñamendy , E. d. (2007). Manual de buenas prácticas agrícolas (BPA) para la producción de fresa (*Fragaria* spp) Jinotega, Nicaragua. *Trabajo de grado para optar el título de Ingeniero Agrónomo*. Managua , Nicaragua.
- Mendoza , J. G., & Toledo, J. J. (2019). El uso de agentes biológicos para el control de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) en el cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.). (*Trabajo de grado Ingeniería Agronómica*) *Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano*. Honduras.
- Mendoza, D., Dobronski, J., Vásquez, C., Frutos, V., & Parede, S. (2019). Control de *Tetranychus urticae* KOCH (Acari: Tetranychidae) con *Bacillus subtilis* en hojas de fresa (*Fragaria vesca*). *Agronomía Costarricense* , 43(N.1). pp.125-133.
- Merchán, J. B., Ferrucho, R. L., & Álvarez, J. G. (2014). 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 Hortícola*, 8(N.1), pp. 44-56.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2020). Subsector Productivo de la Fresa. Dirección de Cadenas Agrícolas y Forestales.
<https://sioc.minagricultura.gov.co/Fresa/Documentos/2019-06-30%20Cifras%20Sectoriales.pdf>
- Monroy, B., Carrillo, T., Beas, C., Posos, P., Castro, M., Enciso, G., & Flores, G. (2019). Evaluation of biological effectiveness of Benevia insecticide 10 OD (Cyantraniliprol) for

- the control of *Frankliniella occidentalis* Pergande, (Thysanoptera: Thripidae) in avocado. *Entomología mexicana*(6), pp. 188–193.
- Moo Koh, F. A., Alejo, J. C., Ramírez, R. A., & Tun, J. M. (2018). Incompatibilidad interespecífica de especies de *Trichoderma* contra *Meloidogyne incognita* en *Solanum lycopersicum*. *Scientia Fungorum*, 47, pp. 37-45.
- Mishra, A., Kumar, M., Pandey, S., Chaudhry, V., Gupta, K. C., & Nautiyal, C. S. (2014). Biocatalytic and antimicrobial activities of gold nanoparticles synthesized by *Trichoderma* sp. *Bioresource Technology*, pp. 1-26.
- Morales, L. A., Andrade, P., Valencia, M. A., & Romero, O. (2020). Characterization of strawberry associated fungi and in vitro antagonistic effect of *Trichoderma harzianum*. *Mexican Journal of Phytopathology*, 38(3), pp 434-449.
- Mosquera, J. (2006). Arquitectura y Desarrollo. *Revista Científica UNET, Vol.18(2)*, pp. 47-56.
- Naciones Unidas. (2018). La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: una oportunidad para América Latina y el Caribe (LC/G.2681-P/Rev.3), Santiago.
- Nava, E., García, C., Camacho, J. R., & Vázquez, E. L. (2012). Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 8(3b), pp. 17-29.
- Nugra, A. N. (2018). Evaluación de Sustratos Orgánicos para la Propación de trichoderma spp. *Trabajo de pregrado, Universidad Politécnica Salesiana*. Cuenca, Ecuador.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2014). *Agricultura Familiar en América Latina y el Caribe*. Santiago, Chile. Obtenido de E-ISBN 978-92-5-308364-0
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2017). *El Estado Mundial de la Agricultura y la Alimentación; Aprovechar los Sistemas Alimentarios para lograr una Transformación Rural Inclusiva*. Roma. Obtenido de <http://www.fao.org/3/a-I7658s.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura [UNESCO]. (2012). *Educación para el Desarrollo Sostenible, libro de consultas*. 7, place de Fontenoy, 75352 París 07 SP, Francia.
- Pabuena, D. E., Ortiz, I. C., López, J., Orozco, L. J., Quijano, A., Pardo, E., & Meléndez, I. (2015). Actividad Genotóxica Inducida por Extracto de Fresa Fumigada con Pesticidas en

- Pamplona, Norte de Santander, Colombia. *Universidad, Ciencia y Tecnología*, 19(76), pp. 111-117.
- Parra , D. M. (2018). Evaluación del antagonista *Trichoderma* spp., contra enfermedades radiculares de *Lactuca sativa* L. var. *Inybasea* (Hort) y *Capitata* L., en el municipio de Pamplona. *Tesis de Pregrado, Universidad de Pamplona*. Pamplona, Colombia.
- Pavone , D. F. (2012). Biocontrol de *Rhizoctonia solani* kühn por *Trichoderma* spp. Universidad Central de Venezuela . *Tesis de Doctorado*. Venezuela.
- Petrasch, S., Knapp, S. J., Kan, J. A., & Blanco, B. (2019). Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea*. 20(6), pp. 877-892.
- Pineda , J. A., Benavides , E. N., Duarte , A. S., Burgos , C. A., Soto, C. P., Pineda , C. A., . . . Álvarez , S. E. (2017). Producción de biopreparados de *Trichoderma* spp: una revisión. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 51(1), pp. 47-52.
doi:file:///D:/Users/Usuario/Downloads/ProducciondebiopreparadosdeTrichodermaspp.pdf
- Quinatoa, N. D. (2015). Evaluación del control de *Botrytis* (*Botrytis* cinérea) en el cultivo de mora (*Rubus glaucus* Benth) mediante el uso de *Trichoderma* y emas en la comunidad de Misquillí de la parroquia Santa Rosa, Provincia de Tungurahua(Tesis de Pregado). *Universidad Técnica de Ambato*. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/18281/1/Tesis-108%20%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20352.pdf>
- Quispe, G. M. (2016). Visiones del desarrollo endógeno desde las comunidades locales. *Perspectiva*(37), pp.95-122.
- Ramírez, J., Trujillo, J., Osorio, V., Jaramillo, M., & Botero, L. (2019). In vitro antagonism of *Trichoderma asperellum* against *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, and *Fusarium oxysporum*. *Revista UIS Ingenierías*, 18(2), pp. 159-166.
- Reséndiz, B., & Castillo, O. (2018). Biología del ácaro de dos manchas *Tetranychus urticae* koch. (Tcari:Tetranychidae) en laboratorio en Chapingo, Estado de México. *Entomología mexicana*(N 5), pp. 40-45.
- Rodriguez Lopes , G. (2015). Desmontando el desarrollo territorial rural (DTR) en América Latina. *Tabula Rasa*(num.23), pp.181-202.

- Romero , B., & Granados, E. (27 de 04 de 2018). *Ornamentales. Singenta*. Obtenido de Botrytis, biología del patógeno: la base de un control químico eficiente:
<https://www.syngentaornamentales.co/news/articulo/botrytis-biologia-del-patogeno-la-base-de-un-control-quimico-eficiente>
- Rubio, S. A., Alfonso, A. M., Grijalba, C. M., & Pérez , M. M. (2014). Determinación de los costos de producción de la fresa cultivada a campo abierto y bajo macrotúnel. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 8(1), pp.67-79.
- Ruiz, R., & Piedrahita, W. (2012). Manual para el cultivo de frutales en el trópico. Fresa. pp. 474-495. En G. Fischer. Bogotá: Produmedios.
- San Martin, G. (2020). *Candide*, <https://candidegardening.com/ZA/insects/adbd43d4-ffdd-419c-8e5f-ef341c3871e4>. Obtenido de Ácaro rojo *Tetranychus urticae*.
- Schejtman, A., & Berdegué, J. A. (2004). Desarrollo territorial rural. *Centro Latinoamericano para el Desarrollo Rural*, 1-54. Obtenido de https://www.rimisp.org/wp-content/files_mf/1363093392schejtman_y_berdegue2004_desarrollo_territorial_rural_5_rimisp_CARdumen.pdf
- Sivila , N., & Álvarez , S. (2013). Produccion artesanal de trichoderma. En *Tecnologías agroecológicas para la agricultura familiar* (págs. pp.1-44). Jujuy-Argentina.
- Solano, Y., Giménez, A., Pérez, M., Morales, J., & Zurita, G. (2018). Nuevos registros de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) y de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) en fresas cultivadas en Venezuela. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 12(N.1), pp.69-74.
- Soto, A., Oliveira, H. G., & Pallini, A. (2011). Integración de control biológico y de productos alternativos contra *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* , 14(N.1), pp. 23-29.
- Strawberry. (2017). *Strawberry; Guía de Producción. Antracnosis de la fresa*. Recuperado el 24 de 11 de 2020, de <https://ucanr.edu/blogs/fresamora/blogfiles/47936.pdf>
- Taborda, L. A., Sánchez , M. S., Bonilla , C. R., & Huertas, C. (2015). Efecto fungistático de extractos y aceites esenciales de *Lippia origanoides* HBK y *Thymus vulgaris* L. como alternativas de manejo de *Botrytis cinerea* en fresa. *Acta Agronómica*, 64(1), pp.93-99.
- Torrado , E. (2018). Biología de trips de las flores. Manejo integrado de plagas y enfermedades Instituto Entoma. *Produmedios. Bogotá Colombia. Capítulo 3 pag. 12*.

- Tovar , J. C. (2008). *Evaluación de la capacidad antagonistas "in vivo" de aislamientos de trichoderma spp frente al hongo fitopatogeno Rhizoctonia solani*. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
- Valdés , E. L. (2014). Caracteres principales, ventajas y beneficios agrícolas que aporta el uso de *Trichoderma* como control biológico. *Revista Agroecosistemas* , 2(1), pp. 254-264.
- Velozo, L. E., Aguirre, M., Almonacid, R. C., & Cáceres, S. (2018). Ácaro del ciclamen *Phytonemus pallidus* Banks (Acari: Tarsonemidae) en frutilla de Corrientes. *EEA Bella Vista*(N.64), pp. 1-11.
- Vidaurre , Q., Andrade, L., Chaverri, P., & Rodrigues. (2016). Unraveling *Trichoderma* species in the attine ant environment: description of three new taxa. *Antonie van Leeuwenhoek*, pp.633-651.
- Vilches, A., Gil Pérez, D., Toscano, J. C., & Macias, O. (2020). Desarrollo rural. [artículo en línea]. *OEI*. Recuperado el 27 de 07 de 2020, de https://www.researchgate.net/publication/302412565_Desarrollo_rural_y_Sostenibilidad
- Villamizar A, E. (Diciembre de 2008). Aproximación al desarrollo endógeno en Pamplona. *Revista Face*(N° 10).
- Yepes, L. Y. (2010). Descripción de estados inmaduros de las especies de *Clavipalpus* (Coleoptera: Melolonthidae) asociadas a cultivos de papa en dos altiplanos colombianos . *Trabajo de grado para optar al título de Maestría en Ciencias - Entomología. Universidad Nacional de Colombia*. Medellín, Colombia.
- Zhou, L., Li, Z., Liu, W., Liu, S., Zhang, L., Zhong, L., . . . Liang, H. (2015). Restoration of rare earth mine areas: organic amendments and phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*(22), pp. 17151-17160.

Apéndices

Apéndice A. Resultados de ANOVA del crecimiento radial del patógeno (RCP) de los diferentes tratamientos y su control

Factores	Tratamientos	Media	P-valor	Interpretación
<i>Botrytis</i> spp.	CONTROL	59.32 a	0.001	Hay diferencias significativas
	BT2	27.27 b		
	BTH	22.34 b		
	BT1	10.90 c		

Letras desiguales en las medias (a,b,c,d) indican diferencia entre ellas ($P < 0,05$) según p. Tukey

De acuerdo con los resultados de ANOVA, se observa que el crecimiento promedio radial de *Botrytis* spp., es diferente, bajo los tratamientos: BT1, BTH, BT2 y Control, con un nivel de significancia del 5%. El tratamiento de menor crecimiento radial fue BT1 comparativamente con el control.

Apéndice B. Resultados de ANOVA de la distancia recorrida del micelio de la cepa***TN02 en comparación con el control***

Factores	Tratamientos	Media	P-valor	Interpretación
<i>Trichoderma</i> spp.	CTN02	59.60 a	0.017	Hay diferencias significativas
	TN02	31.84 b		

Letras desiguales en las medias (a, b) indican diferencia entre ellas (P<0,05) según p. Tukey

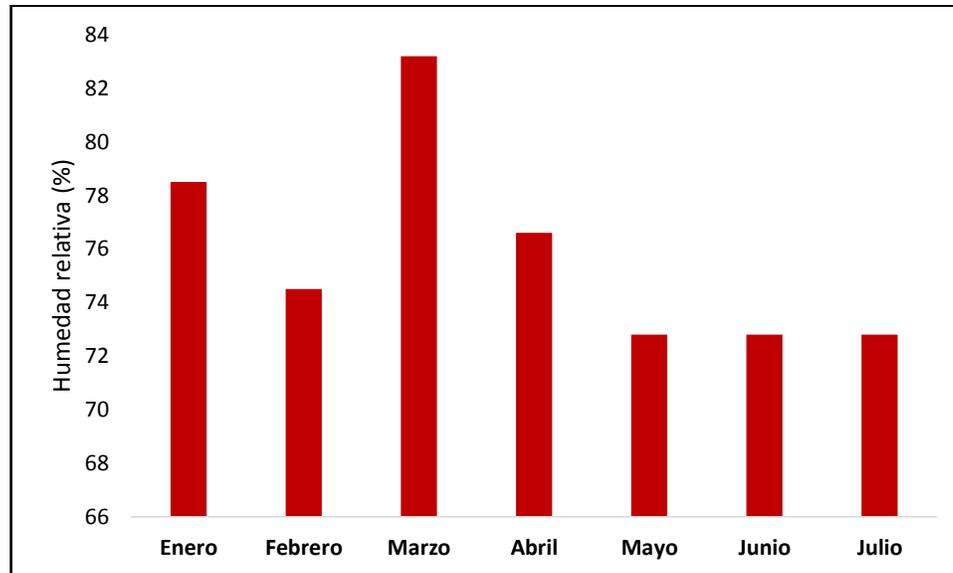
De acuerdo con los resultados de ANOVA, se observa que el crecimiento promedio radial de la cepa de *Trichoderma* TN02, fue más bajo en comparación con el control.

Apéndice C. Resultados de ANOVA de la distancia recorrida del micelio de la cepa TH***en comparación con el control***

Factores	Tratamientos	Media	P-valor	Interpretación
<i>Trichoderma</i> spp.	CTH	63.03 a	0.017	Hay diferencias significativas
	TH	47.21 b		

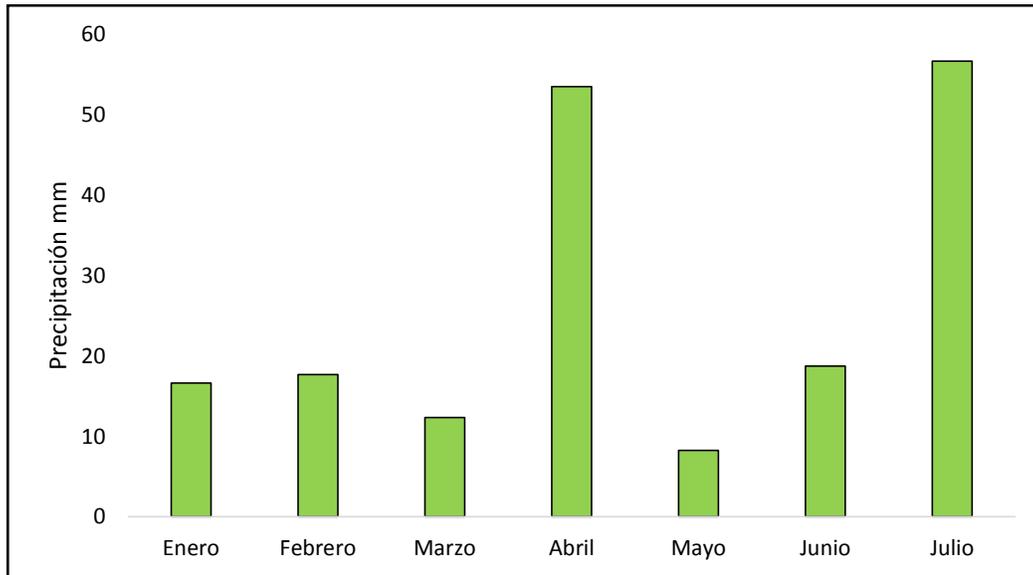
Letras desiguales en las medias (a, b) indican diferencia entre ellas (P<0,05) según p. Tukey

De acuerdo con los resultados de ANOVA, se observa que el crecimiento promedio radial de la cepa comercial TH, fue más bajo en comparación con el control. Esto indica que la cepa TH en competencia presenta un crecimiento más lento.

Apéndice D. Humedad relativa (%) reportada por el IDEAM

Humedad relativa (%) durante los 7 primeros meses del año 2020.

Muestra los valores máximos de humedad relativa reportada por el Instituto de Hidrología Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM) en los primeros 7 meses del año 2020, con un mayor porcentaje en el mes de marzo de 83% y con el porcentaje mínimo se presentó en el mes de mayo con 73%.

Apéndice E. Precipitación (mm) reportada por el IDEAM

Precipitación (mm) durante los 7 primeros meses del año 2020.

Muestra los valores máximos de precipitación reportada por el Instituto de Hidrología Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM) en los primeros 7 meses del año 2020, con un mayor porcentaje en el mes de abril de 54 mm y con el porcentaje mínimo se presentó en el mes de mayo con 9%.

Apéndice F. Promedios del número de flores por tratamientos

Tratamiento	Media	P-valor	Interpretación
T4	41,0 a		
T5	35,5 a		
T6	32,0 a		
T3	31,5 a	0,3555	No hay diferencia significativa
T1	31,0 a		
T2	31,0 a		
T7	27,5 a		
T8	23,0 a		

Se muestran los promedios de los tratamientos en cuanto al número de flores. Letras iguales en las columnas no difieren para $P \leq 0,05$ por la prueba de Tukey. Fuente: Autor

Se observa que no hay diferencia significativa por la prueba de Tukey. Formando un solo grupo con todos los tratamientos.