Evaluación *in vitro* de la actividad antagónica de *Trichoderma asperelloides* frente a hongos asociados a cultivos orgánicos de tomate cherry (*Solanum lycopersicum*) y fresa (*Fragaria* × *ananassa)*

María Gabriela Castillo Díaz



Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Básicas

Departamento de Microbiología

Pamplona Norte de Santander, Colombia

2024

Evaluación *in vitro* de la actividad antagónica de *Trichoderma asperelloides* frente a hongos asociados a cultivos orgánicos de tomate cherry (*Solanum lycopersicum*) y fresa (*Fragaria* × *ananassa)*

MARÍA GABRIELA CASTILLO DÍAZ

Trabajo de grado presentado para optar por el título de
Microbiólogo

Tutora
ÁNGELA MARITZA CAJIAO PEDRAZA
Microbiólogo MSc.

Co-tutores
ENRIQUE ALFONSO CABEZAS HERRERA
Microbiólogo Ph. D.

JOSÉ FÉLIX ORTIZ LEMUS
Microbiólogo Ph. D.

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Básicas

Departamento de Microbiología

Pamplona Norte de Santander, Colombia

2024

Nota de Aceptación.

Tutor Académico

Firma del Jurado

Firma del Jurado

Pamplona. 2024.

Dedicatoria

A mi padre Delvin Castillo, que hoy no está físicamente conmigo, pero sé que su sueño era verme como profesional y amando lo que hago, a ti mi ángel que me diste todo y me ensañaste a dar lo mejor de mi para alcanzar mis sueños y metas.

Con mucho amor a mi madre Alina Diaz, a ti por guiarme, cuidarme y brindarme el apoyo y amor incondicional, tu dedicación me ha hecho una persona con valores y principios, me has enseñado a ser una mejor persona. No me cansaré de dedicarte todos mis logros profesionales y personales, sin tu ayuda nada hubiese sido posible.

A mi compañero de vida Jesús Camino, por apoyarme siempre, aconsejarme, motivarme, orientarme y hacerme sentir que todo es posible.

A mis hermanos, Silvia y Kevin que me han visto de niña soñar con este momento y me han apoyado incondicionalmente, ustedes saben lo que este logro profesional significa y el esfuerzo que representó alcanzarlo.

Por último, a mi familia y a todas aquellas personas que de una u otra manera colaboraron en este propósito y confiaron en mis capacidades, gracias por cada una de las palabras de aliento que siempre tuvieron para mí.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por bendecirme y permitirme llegar hasta donde estoy, por darme la fortaleza y guiarme a cumplir mis metas y seguir adelante en la vida.

A mis familiares por apoyarme en este proceso tanto físico, emocional y económicamente. Sobre todo, a mi madre, mi pareja, hermanos, abuela, tías, quienes con mucho amor y compresión fueron mi gran apoyo para lograr sacar mi carrera adelante. Gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy, sin duda nada de esto sería posible sin su apoyo.

A mi hermana de vida Gilary Fonseca, que en la distancia siempre me acompaño, gracias por tu amistad sincera y respaldo todos estos años.

A Liseth Hernández, la amiga que la carrera me regaló, fuiste mi gran apoyo, gracias por el cariño y la fortaleza que me transmitiste siempre, gracias también por cada momento, experiencias y conocimientos que compartimos juntas.

A mi amiga Geraldine Zuluaga por estar a mi lado en los momentos malos y buenos que se me presentaron, dándome fortaleza para llegar a donde estoy.

A mi tutora de trabajo de grado, MSc. Angela Cajiao por su paciencia y dedicación, por la confianza y sus valiosos consejos académicos y personales que siempre fueron los mejores, inmenso agradecimiento.

A la Universidad de Pamplona por abrirme las puertas y darme la oportunidad de convertirme en profesional.

A los profesores del Programa de Microbiología por el conocimiento y apoyo impartido durante toda mi formación profesional.

Al Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología (GIMBIO), al Semillero de Investigación en Microbiología y Biotecnología (SIMBIO) y a los compañeros pertenecientes al mismo, por el apoyo incondicional durante el desarrollo de este trabajo y los retos que se me presentaron, especialmente a Andrés Sánchez por su colaboración y valiosa ayuda.

A María Cristina Rozo por ceder una cepa de *Thichoderma asperelloides* obtenida en su trabajo de grado, para realizar este estudio.

A la Asociación de Productores Agropecuarios de Pamplona (ASPAGRO), por el espacio y las muestras suministradas para llevar a cabo mis ensayos.

¡A todos Muchas Gracias ¡

Tabla De Contenido

Resumen 15
Abstract 17
Introducción 18
Justificación 21
Objetivos 23
Objetivo General 23
Objetivos Específicos 23
Marco Referencial 24
Antecedentes 24
Internacionales 24
Nacionales 26
Regionales 27
Marco Teórico 29
Agroecología 29
Agricultura sostenible. 30
Agricultura orgánica 31
Cultivo de tomate cherry (*Solanum lycopersicum*) 32
Principales patógenos fúngicos del tomate 33
Cultivo de fresa (*Fragaria × ananassa*) 39
Principales patógenos fúngicos de la fresa 39
Resistencia de hongos a agroquímicos 45
Control biológico 46
Bases legales 50
A nivel nacional 50
A nivel internacional 53
Metodología 55
Diseño de la investigación 55
Diseño experimental 55
Población de estudio y muestra 56
Muestreo 56
Área de muestreo 56
Método de muestreo 57
Aislamiento de morfoespecies 57

Origen del antagonista 57
Siembra de tejido vegetal en medio de cultivo 57
Cultivo directo 58
Muestra de suelo 58
Caracterización fenotípica 58
Observaciones morfológicas macroscópicas 59
Observaciones morfológicas microscópicas 59
Conservación 59
Prueba de patogenicidad 60
Cultivo de tomate cherry (*Solanum lycopersicum)*. 60
Cultivo de fresa (*Fragaria* × *ananassa*). 61
Actividad antagónica de aislamientos de fitopatógenos con *Trichoderma asperelloides* en condiciones *in vitro*. 63
Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) 64
Micoparasitismo (MICMO) 64
Competencia por espacio y nutrientes 65
Análisis estadísticos 66
Cronograma de Actividades 67
Cronograma 67
Descripción de actividades. 68
Resultados y Análisis 69
Aislamientos de morfoespecies 69
Caracterización fenotípica 70
Prueba de patogenicidad 81
Actividad antagónica *in vitro* 87
Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) 88
Micoparasitismo 89
Competencia por espacio y nutrientes 97
Conclusiones 101
Recomendaciones 103
Referencias 104
Apéndices 120

Lista De Tablas

Tabla 1. Escala visual de grado de severidad en plántulas de tomate _____ *61*

Tabla 2. Escala visual del grado de severidad en plántulas de fresa _____ *62*

Tabla 3. Escala visual de grado de severidad en frutos de fresa. _____ *63*

Tabla 4. Escala para la evaluación de la capacidad antagónica de los microorganismos. ___ *65*

Tabla 5. Actividades desarrolladas en el estudio. _____ *68*

*Tabla 6. Grado de la capacidad biocontroladora y los tipos de inhibición.*_____ *91*

Lista De Figuras

Figura 1 Alternaria spp. *en hojas y frutos de la planta de tomate* 34
Figura 2 Fusariosis en hojas y tallo de la planta de tomate. 35
Figura 3 Daño causado por Fusarium solani en tallo. 36
Figura 4 Cladosporium fulvum en plantas de tomate. 37
Figura 5 Antracnosis en el fruto y la hoja de tomate. 38
Figura 6 Podredumbre gris en fruto y hojas de fresa. 40
Figura 7 Planta de fresa con afectaciones por Verticilium dahliae 42
Figura 8 Afectaciones en hojas y frutos de fresa por Pestalotiopsis. 43
Figura 9 Antracnosis en tallo, hoja, fruto y flor de la fresa. 44
Figura 10 Sintomatología de Cladosporium spp. *en hojas de fresa.* 45
Figura 11 Tipos de inhibición según Porter (1923). 65
Figura 12 Cronograma y descripción de actividades 67
Figura 13 Aislamientos de las morfoespecies del cultivo de tomate cherry y fresa 69
Figura 14 Caracterización macroscópica y microscópica del aislado AT01 70
Figura 15 Caracterización macroscópica y microscópica del aislado AT02. 72
Figura 16 Caracterización macroscópica y microscópica del aislado AT03. 74
Figura 17 Caracterización macroscópica y microscópica del aislado AF01. 76
Figura 18 Caracterización macroscópica y microscópica del aislado AF02. 77
Figura 19 Caracterización macroscópica y microscópica del aislado AF03. 79
Figura 20 Plantas de tomate cherry inoculadas con Fusarium cf. *oxysporum, Fusarium* cf. *solani y Cladosporium* spp. 81
Figura 21 Plantas de fresa inoculadas con las morfoespecies Botrytis cf. *cinerea, Pestalotia* spp. *y Cladosporium* spp. 83
Figura 22 Grado de patogenicidad obtenidos por los aislados de tomate cherry y fresa. 85
Figura 23 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de los seis (6) tratamientos en cultivos duales de los patógenos con T. asperelloides durante 10 días de evaluación. 88
Figura 24 Grado de micoparasitismo (MICMO) de 6 tratamientos, correspondientes a cultivos duales de los patógenos frente a T. asperelloides. 90

Figura 25 Interacción entre hifas de T. asperelloides (antagonista) y los aislados del cultivo de tomate cherry (patógenos) bajo objetivo de 40X y 100x. _____ *93*
Figura 26 Interacción entre hifas de T. asperelloides (antagonista) y los aislados del cultivo de fresa (patógenos) bajo objetivo de 40X y 100X. _____ *95*
Figura 27 Radio de crecimiento patógeno (RCP) de cada cultivo dual y radio del crecimiento antagonista (RCA) con sus testigos. _____ *97*
Figura 28 Crecimiento radial de los patógenos y de T. asperelloides en cultivos duales, a los 10 días de evaluación. _____ *99*

Lista De Apéndices

Apéndice A. Composición medios de cultivo *120*

Apéndice B. Claves taxonómicas empleadas para identificar las morfoespecies aisladas. *122*

Apéndice C. Imágenes de las metodologías para las pruebas de patogenicidad. *125*

Apéndice D. Resultados de patogenicidad y actividad antagónica *126*

Apéndice E. Resultados arrojados por el programa estadístico Statgraphics centurión XVI. *128*

Apéndice F. Participación en eventos de divulgación científica y reconocimientos *137*

Listado Abreviaturas

AA: agar agua

ACB: agente de control biológico

ADE: agua destilada estéril

ADN: ácido desoxirribonucleico

AF01: aislado del cultivo de fresa 1

AF02: aislado del cultivo de fresa 2

AF03: aislado del cultivo de fresa 3

ANOVA: análisis de la varianza

ASPAGRO: asociación de productores agropecuarios de pamplona

AT01: aislado del cultivo de tomate 1

AT02: aislado del cultivo de tomate 2

AT03: aislado del cultivo de tomate 3

BPA: buenas prácticas agrícolas

CB: control biológico

CLA: carnation leaf-piece agar

CMD: corn meal dextrose

CYA: agar czapek-extracto de levadura

EA: agroecología

FAO: food and agriculture organization

GIMBIO: grupo de investigación en microbiología y biotecnología

HR: humedad relativa

ICA: Instituto Colombiano Agropecuario

MEA: agar extracto de malta

MICMO: micoparasitismo

Moa: modo de acción o mecanismo de acción

NTC: Normas Técnicas Colombianas

PDA: agar papa dextrosa

PICR: porcentaje de inhibición del crecimiento radial

R1: radio del patógeno testigo

R2: el radio del patógeno en el cultivo dual.

RCA: radios de crecimiento del antagonista

RCP: radios de crecimiento del patógeno

SIMBIO: semillero de investigación en microbiología y biotecnología

SNA: spezieller nährstoffarmer agar

Resumen

En la actualidad, existe una creciente conciencia sobre el impacto negativo que los plaguicidas químicos tienen en el medio ambiente y en la salud humana. Por esta razón, la agricultura se está enfocando en adoptar prácticas más sostenibles que minimicen el uso de estos productos y promuevan el uso de agentes de control biológico. El control biológico implica el uso de microorganismos para combatir enfermedades y plagas en los cultivos. La adopción de prácticas de control biológico en la agricultura ofrece una alternativa sostenible y segura al uso excesivo de plaguicidas químicos. Esto no solo contribuye a la protección del medio ambiente, sino también a la seguridad alimentaria y a la salud de las personas. Con el presente trabajo se pretende identificar problemas fitopatológicos presentes en cultivos agroecológicos de tomate cherry y fresa en la vereda de Chichira ubicada en el municipio de Pamplona, Norte de Santander y evaluar "*in vitro*" el posible control biológico frente a los hongos más prevalentes. Para ellos se realizó una identificación fenotípica y fitopatológica y su posterior ensayo frente a un microorganismo biocontrolador en este caso el hongo *Trichoderma asperelloides.* Los resultados obtenidos permitieron identificar y controlar fitopatógenos de interés agrícola, en este caso los géneros asilados correspondieron a *Fusarium*, *Botrytis, Pestalotia* y *Cladosporium,* todos presentaron severidad y sintomatologías en las plántulas inoculadas, en relación al control de los fitopatógenos los efectos fueron los esperados, condicionalmente los fitopatógenos aislados mostraron afectación desde diferentes mecanismos de acción frente a la actividad de *T. asperelloides*. Finalmente, este estudio proporciona evidencia del potencial de la cepa nativa de *T. asperelloides* como biocontrolador para el manejo de enfermedades fúngicas en cultivos de tomate cherry y fresa,

prometiendo ser una estrategia de control biológico útil en el manejo sostenible de cultivos agroecológicos situados en la vereda de Chichira Norte de Santander.

Abstract

Currently, there is a growing awareness of the negative impact that chemical pesticides have on the environment and human health. Therefore, agriculture is focusing on adopting more sustainable practices that minimize the use of these products and promote the use of biological control agents. Biological control involves the use of microorganisms to combat crop diseases and pests. The adoption of biological control practices in agriculture offers a sustainable and safe alternative to the excessive use of chemical pesticides. This not only contributes to environmental protection, but also to food safety and human health. The present work aims to identify phytopathological problems present in agroecological crops of cherry tomato and strawberry in the village of Chichira, located in the municipality of Pamplona, Norte de Santander, and to evaluate "*in vitro*" the possible biological control of the most prevalent fungi. A Phenotypic and phytopathological identification and subsequent testing against a biocontrol microorganism, in this case the fungus *Trichoderma asperelloides*, was carried out. The results obtained allowed to identify and control phytopathogens of agricultural interest, in this case the isolated genus corresponded to *Fusarium*, *Botrytis*, *Pestalotia* and *Cladosporium*, all presented severity and symptomatologies in the inoculated seedlings, in relation to the control of the phytopathogens the effects were the expected, conditionally the isolated phytopathogens showed affectation from different mechanisms of action against the activity of *T. asperelloides*. Finally, this study provides evidence of the potential of the native strain of *T. asperelloides* as a biocontroller for the management of fungal diseases in cherry tomato and strawberry crops, promising to be a useful biological control strategy in the sustainable management of agroecological crops located in the village of Chichira Norte de Santander.

Introducción

La agricultura tradicional ha originado aumentos significativos en la productividad agrícola y ha conseguido una importante cobertura del suministro de alimentos. Sin embargo, a pesar de sus logros, este modelo todavía tiene consecuencias para el medio ambiente, especialmente para los recursos naturales como el suelo y el agua, así como para la biodiversidad vegetal y animal. De acuerdo con la FAO (2006), casi la mitad de la población mundial depende de la agricultura, la caza y la pesca. Sin embargo, la agricultura es la actividad más importante para el desarrollo económico de los países en desarrollo. Es importante destacar que casi la mitad de la población mundial vive en áreas rurales, donde la agricultura sigue siendo la principal fuente de ingresos para el 70% de la población rural, en su mayoría pequeños agricultores (FAO, 2006; Ortíz y Chávez, 2018).

Entre los principales cultivos que se realizan de forma tradicional en Colombia y en la mayoría de países, se encuentran los cultivos de tomate cherry (*Solanum lycopersicum*) y fresa (*Fragaria* × *ananassa*). En el año 2021 a nivel mundial, el volumen de producción de tomates frescos aumentó en más de 25 millones de toneladas y 4,8 millones de toneladas la fresa o fresones. En Colombia estos cultivos para el año 2020, aumentaron su área sembrada entre 9 mil hectáreas y 11 mil hectáreas, de tomate cherry y fresa respectivamente; sin embargo, su producción se vio afectada por pérdidas en cosecha ocasionadas por enfermedades (Minagricultura 2021; Orús, 2023).

Otro aspecto relevante es el empleo de productos químicos en los cultivos, lo cual puede ocasionar diversas consecuencias, como, por ejemplo: daños a la microbiota benéfica y acumulación en tejidos de las plantas; lo anterior acarrea consecuencias a lo largo de la cadena

alimentaria y conllevan a problemas de salud humana. Debido al incremento de la resistencia de los microorganismos fitopatógenos a los pesticidas químicos utilizados, se ha intensificado la búsqueda y utilización de biocontroladores (FAO, 2018). En las últimas dos décadas han surgido diversas teorías y propuestas que buscan una mejor armonía entre la agricultura y el medio ambiente, teniendo como objetivo principal la agroecología. Es por esto que, en Colombia, en los últimos años, se viene promoviendo el reemplazo de técnicas agrícolas convencionales a estrategias de producción agroecológicas, con el fin de promover la seguridad y soberanía alimentaria en conformidad con el cuidado medioambiental (Cevallos et al., 2019).

La implementación de técnicas agroecológicas es una alternativa sustentable para recuperar la fertilidad de suelos y mejorar la calidad de vida de los productores a pequeña escala (Loaiza et al., 2014). En lugar de depender exclusivamente de pesticidas químicos, se buscan soluciones basadas en la utilización de microorganismos beneficiosos que puedan prevenir o controlar las enfermedades de los cultivos. Estos microorganismos, conocidos como biocontroladores, están adaptados a las condiciones específicas de cada región y son capaces de competir con agentes patógenos, restaurando el equilibrio en el entorno de cultivo (Stenberg et al., 2015).

El objetivo de utilizar agentes de manejo biológico es minimizar los impactos negativos asociados al uso de químicos. Esta estrategia se centra en fomentar la salud de los suelos y las plantas, promoviendo interacciones beneficiosas entre los microorganismos y los cultivos. Existen diversos microorganismos biocontroladores, entre los cuales se destacan bacterias y hongos. No obstante, los hongos han sobresalido en estudios y comercialización de biopesticidas, gracias a sus características particulares (Diánez et al., 2015), entre ellos el género *Trichoderma*, el cual posee gran relevancia en relación al control biológico. Las especies de este género presentan características que las hacen antagonistas eficientes contra distintos microorganismos

fitopatógenos, además, de su fácil producción a gran escala. Por consecuente, el uso de *Trichoderma* spp. para biocontrol representa una alternativa viable (Sánchez et al., 2017).

Las pruebas de antagonismo *in vitro* buscan evaluar la eficacia y rapidez de colonización de microorganismos en un medio de cultivo específico, en relación al enfrentamiento directo con un competidor (Rodríguez y Wang, 2020). En este contexto, se buscó evaluar la actividad antagónica *in vitro* de *Trichoderma asperelloides* frente a hongos asociados a cultivos orgánicos de tomate cherry y fresa. Para ello fue necesario la caracterización fenotípica de las morfoespecies aisladas en los cultivos de estudio. Posteriormente se realizaron pruebas de patogenicidad y la evaluación de la actividad antagónica en condiciones *in vitro* mediante la técnica dual con *Trichoderma asperelloides*, para posibles futuros usos de bioinsumos elaborados con microorganismos autóctonos, lo anterior con el fin de mejorar la calidad de los cultivos y favorecer a la región nortesantandereana para que compita con el mercado nacional e internacional.

Justificación

La agricultura convencional al intentar detener la acción de ciertos fitopatógenos, puede ocasionar un impacto nocivo sobre los cultivos, producir daños ambientales y contaminación del agua, sin olvidar su alto costo. Además, se requiere una disminución del uso de agroquímicos por el impacto que estos generan en la salud. Para evitar este tipo de prácticas perjudiciales, desde hace décadas se han estado realizando estudios sobre técnicas agrarias sostenibles y respetuosas como una alternativa ambientalmente favorable. En la vereda de Chichira del municipio de Pamplona, los agricultores al ver la gran afectación sobre la producción de los cultivos que se desarrollan en esa localidad, gracias a la presencia de fitopatógenos y en busca de no promover la resistencia de estos a agroquímicos, se interesaron en la implementación con cultivos orgánicos con biofertilizantes como el bocashi. Sin embargo, a pesar de las condiciones controladas, se les ha dificultado el control total de fitopatógenos, evidenciando la presencia de sintomatologías por agentes causales en la raíz y frutos del cultivo.

Dada la necesidad de disminuir el uso de agroquímicos y aumentar los rendimientos de los cultivos agrícolas para la alimentación humana, se han desarrollado nuevas tecnologías más amigables. Las prácticas agrícolas orgánicas son una alternativa para restablecer y aumentar la diversidad biológica. El uso de biofertilizantes se considera como suplementos potenciales o alternativas a los fertilizantes sintéticos. Los abonos orgánicos aportan materia orgánica y nutrientes al suelo, entre sus beneficios se ha demostrado que logran prevenir y controlar la severidad del ataque de patógenos del suelo a los cultivos (Ail y Galicia, 2022).

Además, la utilización del control biológico puede ser especialmente relevante en sistemas donde el control químico no resulta rentable o eficaz. Asimismo, puede contribuir a reducir otros

problemas asociados con el control químico, como la aparición de resistencias en los patógenos, la disminución de las poblaciones de microorganismos beneficiosos y la creación de desequilibrios ecológicos.

El género *Trichoderma* se presenta como un modelo excelente para su estudio, debido a su facilidad de aislamiento y cultivo, su rápido desarrollo en diversos sustratos y su capacidad para controlar una amplia gama de fitopatógenos. Este género ha recibido una mayor atención como agente de control biológico, gracias a sus diversos mecanismos de acción que permiten reducir los daños ocasionados por los fitopatógenos en las plantas. En algunos casos, estos efectos igualan o incluso superan los logrados por los fungicidas químicos sintéticos (Infante et al., 2009). Finalmente, *Trichoderma* spp. se ha convertido en un protagonista popular como componente clave de los bioestimulantes, bioprotectores, biofertilizantes, enmiendas del suelo, integradores del suelo, biodegradadores y biorremediadores de plantas (Woo et al., 2022). En este contexto, se busca evaluar un posible control biológico con *T. asperelloides* en cultivos orgánicos de tomate cherry (*Solanum lycopersicum*) y fresa (*Fragaria* × *ananassa*), en la vereda de Chichira, Norte de Santander, prometiendo ser un estudio útil en el manejo sostenible de cultivos agroecológicos.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar la actividad antagónica *in vitro* de *Trichoderma asperelloides* frente a hongos asociados a cultivos orgánicos de tomate cherry (*Solanum lycopersicum*) y fresa (*Fragaria* × *ananassa)* de la finca La Constancia y Plazuelas vereda de Chichira, Pamplona, Norte de Santander

Objetivos Específicos

Describir la microbiota con relevancia patogénica asociada a los cultivos de tomate cherry y fresa, teniendo en cuenta sus características fenotípicas.

Realizar pruebas de patogenicidad *in vitro* con morfoespecies aisladas de los cultivos de tomate cherry y fresa.

Determinar la capacidad biocontroladora *in vitro* de *Trichoderma asperelloides* frente a los fitopatógenos aislados en los cultivos de tomate cherry y fresa.

Marco Referencial

Antecedentes

EL uso de microorganismos en el control biológico de fitopatógenos, constituye una alternativa eficiente y ecológica que contribuye al desarrollo de una agricultura sostenible, ya que disminuye los efectos inherentes al uso de plaguicidas y productos químicos, y aporta beneficios al medio ambiente, calidad al producto y seguridad al consumidor. Desde hace décadas se han realizado investigaciones para encontrar microorganismos autóctonos que puedan ser utilizados como biofertilizantes y biocontroladores, adaptándose a las condiciones ambientales de cada región. A continuación, se presentarán una serie de estudios enfocados en el biocontrol de cultivos de interés comercial y el uso de estos microorganismos eficientes como herramienta natural para disminuir la presencia de agroquímicos en los cultivos.

Internacionales

El uso de *Trichoderma* spp. está aumentando a nivel mundial con el paso de los años para controlar diferentes hongos fitopatógenos. En los últimos cinco años se han realizado estudios respecto al control biológico con el uso de *Trichoderma* spp. como, por ejemplo.

Vargar et al. (2019) en su artículo titulado "**Utilizacion de diferentes especies de *Trichoderma* en tomates cherry (*Solanum lycopersicum* L.) contra la marchitez de *Fusarium oxysporum* en invernaderos tropicales".** Evalúa en condiciones de laboratorio y en invernaderos comerciales, diferentes especies nativas de *Trichoderma* aisladas en el estado Miranda-Venezuela, para el control de la marchitez causada por *Fusarium* spp. en una variedad de tomate tipo "cherry" de crecimiento indeterminado. Las especies evaluadas fueron: *T. koningiopsis*, *T. espirale* y *T. harzianum*. De todas estas, *T. espirale* mostró los mejores resultados en todos los experimentos,

siendo capaz de inhibir el crecimiento de *Fusarium* spp. hasta el 79% en placas de PDA. También demostró un efecto positivo en el crecimiento de la planta, donde se refleja además la capacidad de *Trichoderma* spp. ser un microorganismo bioestimulante. En el caso del cultivo de fresa se encuentra un estudio realizado en España por Matute (2019) sobre **Control biológico del moho gris (*Botrytis cinerea*) en cultivos de fresa (*Fragaria vesca L.*) mediante hongos filamentosos antagonistas**, el autor evaluó la eficiencia de algunas cepas de hongos filamentosos como agentes de biocontrol del moho gris (*Botrytis cinérea*) en cultivos de fresa, donde también realizó pruebas de antagonismo *in vitro* mediante cultivos duales. Los resultados demostraron la efectividad de los tratamientos en la disminución de los daños causados por *Botrytis cinerea* y recomienda el uso de cepas del género *Trichoderma* para el control biológico de la enfermedad.

Por otro lado, en el 2022 publicaron un artículo de revisión **"*Trichoderma* spp.: un microorganismo multipropósito beneficioso para las plantas para una agricultura ecosostenible",** Woo et al. (2022) presentan los últimos avances en la investigación de *Trichoderma* spp., incluida la ecofisiología; el oportunismo y competencia; uso del hongo como agente de control biológico directo (BCA) en la protección de cultivos; efectos indirectos de BCA que estimulan la inmunidad de las plantas; y la capacidad de *Trichoderma* spp. como bioestimulante vegetal, tanto para favorecer el crecimiento vegetal como para activar la defensa frente al estrés abiótico. Concluyen discutiendo cómo el uso de *Trichoderma* spp. podría maximizar las oportunidades para reducir los insumos químicos, proporcionando así recursos más limpios y perspectivas más saludables para un sistema agrícola ambientalmente más sostenible.

Así mismo, Guzmán et al. (2023) en su publicación **"Especies de *Trichoderma*: nuestros mejores aliados fúngicos en el biocontrol de enfermedades de las plantas"**, realizan una revisión sobre estudios de control biológico recientes y destacan las especies más utilizadas como

lo son *T. atroviride, T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. virens*, *T. longibrachiatum* y *T. viride*, las características a destacar fueron el biocontrol y los bioinsumos a base de *Trichoderma* spp. para controlar o prevenir enfermedades de las plantas. Así mismo la importancia de estos como reemplazo de pesticidas y fertilizantes químicos.

Nacionales

Existen estudios donde han realizado una colección de cultivos de hongos aislados de diferentes regiones de Colombia, para usos en educación, investigación y como potenciales agentes biológicos, como el reportado por Ibarra y Varela-R (2002) **Aislamiento, caracterización parcial e identificación como potenciales agentes biológicos de aislados de hongos en algunas regiones de Colombia**. Ellos recolectaron 110 muestras de material vegetal, insectos muertos y suelo, de diferentes comunidades vegetales, en los departamentos de Meta, Cauca, Córdoba y Cundinamarca, de las cuales 58 aislamientos presentaron potencial de biocontrol. Finalmente, esta colección sirve como una referencia importante para diferentes estudios de estos agentes de control biológico (aislados) a niveles moleculares y fisiológicos.

En Colombia también se vienen impulsado diversos estudios en el área de agroecología y control biológico, en los que se pueden destacar el estudio realizado en la Universidad de Tolima por Delgado (2019) titulado "**Evaluación de inducción de resistencia en tomate (*Solanum lycopersicum L.*) con silicio y antagonismo de *Trichoderma viride* contra la marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*",** dicha investigación tuvo como objetivo evaluar la capacidad del silicio como inductor de resistencia sistémica y el antagonismo *de T. viride* frente a la marchitez vascular del tomate causado por *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Donde desarrollaron dos ensayos, evaluando el efecto antagónico de *T. viride* y bioestimulante en etapa de semillero; y evaluando el efecto inductor del silicio en la respuesta de defensa del tomate a

través de la evaluación de la actividad de la enzima Polifenoloxidasa (PPO). Finalmente, los resultados demostraron que el uso de silicio y *Trichoderma viride* son estrategias promisorias para reducir los efectos negativos de este patógeno.

En el departamento de Antioquia, avanzan con estudios relacionados a biotecnología y el uso de microorganismos biocontroladores como lo reportaron Vanegas et al. (2020) **Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas,** esta investigación brinda una visión específica sobre los metabolitos secundarios con aplicación biotecnológica que han sido identificados en *Trichoderma* spp. La importancia de estos estudios radica en el descubrimiento de nuevos agentes de control soportado en alternativas agroecológicas en el manejo integrado de plagas y enfermedades de cultivos agrícolas.

Regionales

A nivel regional, el departamento de Norte de Santander se adelanta cada día más en los estudios de control biológico y cultivos orgánicos, siendo el primero departamento por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2021) en reconocerse como impulsador de cultivos orgánicos, ya que destacó la implementación de cultivos orgánicos de fresa en el municipio de Pamplona, Norte de Santander.

Rozo en el 2020 con su investigación "**Caracterización de cepas de *Trichoderma* spp. autóctonas de suelos de uso agrícola en la región Nortesantandereana"**, buscó caracterizar seis cepas de *Trichoderma* spp. autóctonas provenientes de suelos agrícolas del departamento de Norte de Santander, y a estas se le realizó la verificación de la capacidad antagónica frente al fitopatógeno de interés agronómico *Fusarium* spp. Sus resultados permitieron reconocer el potencial que tiene el uso de estos microorganismos biocontroladores propios de la región.

Así mismo, Ramos (2021) evaluó el **efecto protector de una cepa nativa y de una comercial de *Trichoderma* spp. en el cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*),** comparando la capacidad antagónica de las cepas frente a una cepa nativa de *Botrytis* spp., aislada en un cultivo de fresa en frutos lesionados. Los resultados mostraron que todas las cepas evaluadas *in vitro* presentaron inhibición en el crecimiento radial del fitopatógeno. La cepa nativa TN01, aislada del suelo en un cultivo de fresa de la vereda Monteadentro, Norte de Santander, tuvo una eficacia comparable a la observada para la cepa comercial. Estos resultados sugieren que la cepa nativa TN01 podría ser una alternativa al uso de cepas comerciales de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Botrytis* spp. en el cultivo de fresa.

En otro estudio, Pérez (2021) evaluó el **efecto comparativo de una cepa nativa y otra comercial de *Trichoderma* spp. para el control de *Fusarium* spp. presente en un cultivo de lechuga (*Lactuca sativa l.*) Pamplona – Norte de Santander**, este estudio se enfocó en la obtención de una cepa nativa de *Trichoderma* spp. con potencial biocontrolador, 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 antagónica de cuatro cepas (TN1, TN2, TN3, TN4) autóctonas aisladas del suelo en un cultivo de lechuga del Colegio Normal Superior Pamplona, y de la cepa comercial (TC), frente a tres cepas de *Fusarium* spp., (FS1, FS2, F3). En este estudio se concluyó que todas las cepas evaluadas *in vitro* mostraron inhibición en el crecimiento radial del fitopatógeno, se encontraron diferencias significativas entre los antagonistas, la cepa que mostró un mayor crecimiento frente a las demás fue la TN4.

Marco Teórico

Agroecología

Según la FAO, la agroecología (EA) es la ciencia que estudia los componentes de los sistemas agrícolas, sus interrelaciones y la manera de intervenir con prácticas que promuevan su sostenibilidad (FAO, 2017).

También se puede ver la "agroecología" como el estudio de una agricultura ecológica, cuya finalidad se basa en analizar de manera más completa los conocimientos agrícolas. Por consiguiente, las prácticas agroecológicas mejoran de manera significativa la seguridad alimentaria, la nutrición y la salud, al mismo tiempo mitigan el cambio climático, sin comprometer los ecosistemas (Kerr et al., 2023).

Finalmente, el objetivo de la EA consiste en fomentar procesos de producción estables y altamente adaptables al entorno. Además, busca emplear prácticas alternativas para beneficiar a los agroecosistemas, reduciendo al mínimo la dependencia de agroquímicos. Paralelamente, se esfuerza por, impulsar las interacciones y sinergias entre organismos vivos, con el propósito de mejorar la fertilidad del suelo, aumentar la productividad y brindar mayor protección a los cultivos (Tomich et al., 2011; Gliessman, 2012).

Principios agroecológicos (FA0, 2017) En el marco del Simposio Internacional sobre Agroecología para la Seguridad Alimentaria y Nutrición, llevado a cabo en la Sede de la FAO en septiembre de 2014, se abordaron ciertos principios agroecológicos fundamentales que podrían ser implementados con el fin de incrementar la productividad agrícola de manera sostenible, los cuales se resumen de la siguiente manera:

1. Actividad dinámica, reconociendo y aprovechando un cambio constante en los organismos y sistemas vivos, como el proceso de reciclaje de nutrientes, con el objeto de optimizar la disponibilidad de estos, a través de la recirculación de biomasa en el sistema.
2. Asegurar la calidad del suelo para los cultivos mediante prácticas como la utilización de materia orgánica descompuesta y el favorecimiento de microorganismos benéficos en el suelo, con el propósito de añadir valor a la productividad de los recursos.
3. Regeneración y conservación para minimizar las pérdidas en los sistemas tales como: agua, materia orgánica, aire y energía solar.
4. Impulsar la biodiversidad a todos los niveles del sistema, para mantener una mayor riqueza y flexibilidad en los sistemas ecológicos.
5. Fomentar la sinergia, para así incrementar la producción a partir de insumos definidos, mediante la mejora de las interacciones entre cultivos, suelos, plantas, animales, insectos, microorganismos, etc. Con el fin de potenciar las interacciones benéficas entre los organismos vivos, pertenecientes al sistema.
6. Instituir un enfoque agrícola fundamentado en procesos, mediante la adaptación e innovación, con el objeto de provocar modificaciones en las condiciones ambientales y generar de forma constante nuevas estrategias para abordar desafíos.

Agricultura sostenible.

A nivel mundial, surge la necesidad de adoptar nuevas estrategias de desarrollo agrícola para garantizar una producción de alimentos estable y en concordancia con la calidad ambiental (Sáenz, 2019). Una de las estrategias es la agricultura sostenible, que es una actividad agrícola basada en un sistema de producción rentable, el cual no solo contribuye al desarrollo de las comunidades que la practican, sino también la protección de los recursos más significativo en este

proceso como es el suelo, generando perspectivas de producción de alimentos para el futuro (Águila, 2011).

Agricultura orgánica

La agricultura orgánica se identifica como una técnica de producción que aprovecha prácticas específicas e insumos naturales. Su ventaja es la prohibición o disminución del uso de pesticidas y plaguicidas sintéticos (Castañeda, 2017). Este enfoque suscita la protección y preservación de suelos y cultivos mediante prácticas como la utilización de compost y coberturas de suelo, que permiten el reciclaje de nutrientes y materia orgánica. Además, se enfoca en la rotación de cultivo y fomenta la implementación del control biológico (Cáceres, 2003).

Importancia económica de los cultivos orgánicos. La seguridad alimentaria a nivel mundial se encuentra constantemente amenazada por múltiples factores que fluctúan a diario, condiciones climáticas, la presencia de plagas, enfermedades y una sociedad en constante crecimiento que demanda alimentos inocuos y en grandes cantidades, todo esto representa barreras que la industria debe superar; lastimosamente, la forma como algunos productores abordan la problemática ha abierto un nuevo bache en el sector ambiental, puesto que sus prácticas agrícolas se basan en el uso de insumos químicos que, si bien atacan un problema, afectan la sostenibilidad ambiental de los ecosistemas (Zin y Badaluddin, 2020).

La característica distintiva de los productos orgánicos radica en que su proceso de producción prescinde de plaguicidas y fertilizantes químicos. Estos productos no contienen antibióticos, hormonas, colorantes ni saborizantes artificiales. Además de proporcionar productos que promueven beneficios para la salud humana, contribuyen de manera considerable a mitigar los impactos ambientales y a preservar la calidad de suelo del cultivo (Willer y Kilcher, 2010).

Por otro lado, estos productos presentan costos de comercialización superiores debido a la necesidad de mantenerlos separados para preservar su identidad orgánica; además, se ven influenciados por los procesos de certificación y la distribución en pequeña escala. Sin embargo, a medida que la agricultura orgánica gane mayor presencia en el mercado, se espera que las economías de escala permitan reducir significativamente estos costos (FAO, 2023).

Cultivo de tomate cherry (Solanum lycopersicum)

Origen e importancia. La especie *Solanum lycopersicum* tiene su origen en los Andes sudamericanos y es nativa de una región que va desde la parte sur de Colombia hasta el norte de Chile. Se presume que, en América Central y México, fue donde se experimentó su proceso de domesticación. Los españoles la introdujeron en Europa donde se propagó de manera rápida en Asia y África. En la actualidad se consume en todo el mundo como alimento debido a su versatilidad y su alto valor nutricional (López, 2017; Allende et al., 2017).

El tomate, pertenece a la familia Solanaceae, destaca como una de las especies más relevantes debido a su versatilidad. En Colombia, su cultivo se considera una perspectiva prometedora para impulsar el desarrollo y constituye una alternativa competitiva en los mercados internacionales. A lo largo del territorio colombiano, se han registrado alrededor de 500 especies de tomates. Este cultivo se encuentra en diversas zonas del país, su finalidad puede ser para actividad comercial o para huertos pequeños de familias (Jaramillo et al., 2017).

Taxonomía.

Reino	**Plantae**
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	*Solanum*
Especie	*Lycopersicum*

Fuente: López, 2017.

Principales patógenos fúngicos del tomate

Más de 100 patógenos distintos pueden afectar a las plantas de tomate, dirigiéndose a una o varias de sus estructuras. A continuación, se enumeran las enfermedades más relevantes, desde un punto de vista económico, causadas por hongos del cultivo de tomate en Colombia.

Tizón temprano (*Alternaria* spp.).

Distribución, hospederos, dispersión y condiciones favorables. Es una enfermedad provocada por hongos pertenecientes al género *Alternaria*. Este patógeno se beneficia de entornos cálidos y húmedos. Su propagación ocurre a través de la lluvia y el viento, y tiene la capacidad de sobrevivir en tejidos enfermos y en otras plantas pertenecientes a la familia de las solanáceas. Además, puede ser transportado por las semillas o cuando se emplea riego por aspersión (Schwartz et al., 2007).

Sintomatologías. Este fitopatógeno impacta principalmente las hojas, así como también afecta tallos y frutos. Los síntomas iniciales se manifiestan en bordes de hojas más antiguas. Estas lesiones aumentan de tamaño rápidamente y adquieren una forma redonda, se vuelven secas, de tonalidad café oscuro/negro, con bordes irregulares. En casos de daños severos, se genera un chancro negro en el tallo a nivel del suelo, y en las hojas inferiores se forman manchas pequeñas. En tallos y pecíolos, estas manchas son negras, alargadas y con anillos centrados. En los frutos,

las lesiones adquieren una tonalidad café oscuro, son ligeramente hundidas y estas recubiertas por numerosas esporas del hongo (Tamayo et al., 2006; López, 2017).

Figura 1

Alternaria spp. *en hojas y frutos de la planta de tomate*



Fuente: FAO, 2013.

Marchitez vascular o fungosa (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*)

Distribución, hospederos, dispersión y condiciones favorables. El hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* provoca marchitez vascular, la cual representa una de las más significativas en el cultivo del tomate, esta puede reducir el rendimiento hasta en un 60%. Este patógeno tiene una distribución global y se propaga a través del viento, semillas contaminadas, laboreo agrícola, plantas enfermas o instrumentos contaminados. Asimismo, tiene la capacidad de sobrevivir en el suelo durante varios años. Cuenta con una temperatura óptima para el desarrollo del hongo de 28 °C (Martínez-Ruiz et al., 2016).

Sintomatologías. La planta presenta síntomas de marchitez verde en la parte aérea, los cuales, en algunos casos, puede inicialmente revertirse, pero con el tiempo se vuelve permanente, llevando a la muerte de la planta. Estos síntomas se manifiestan por la caída de los pecíolos de

hojas superiores. Las hojas inferiores experimentan un amarilleo hacia el ápice y eventualmente mueren. La coloración amarillenta en el sistema vascular de los tallos es un rasgo característico de la enfermedad; al realizar un corte transversal, se observa un oscurecimiento en los vasos (Cadenas et al., 2003).

Figura 2

Fusariosis en hojas y tallo de la planta de tomate.



Fuente: FAO, 2013

Pudrición del tallo por fusariosis (*Fusarium solani*)

Distribución, hospederos, dispersión y condiciones favorables. El hongo *Fusarium solani* ocasiona daños en varias hortalizas, siendo el tomate y el pimiento los cultivos más afectados. Para que este hongo se reproduzca de manera efectiva, requiere condiciones climáticas optimas, tales como una temperatura de 20° C, alta humedad y temperaturas elevadas en el suelo. Este patógeno, tiene la capacidad de subsistir en el suelo, en los restos de cultivos y en plantas vivas. Además, la utilización de maquinaria agrícola puede transportar esta enfermedad y fomentar su propagación (López, 2017).

Sintomatologías. El patógeno *Fusarium solani* ataca principalmente la base del tallo y las raíces, induciendo la pudrición, así como la marchitez y amarillamiento de las hojas bajeras, junto con un crecimiento retardado. La presencia de este patógeno es identificable cuando las plantas adquieren una textura quebradiza, y las raíces principales y secundarias presentan necrosis rojizas, hasta la muerte de la planta (Villa et al., 2014).

Figura 3

Daño causado por Fusarium solani en tallo.



Fuente: Fertilab, 2018.

Cladosporiosis o moho de la hoja (*Cladosporium fulvum*)

Distribución, hospederos, dispersión y condiciones favorables. Según la FAO, (2013), esta enfermedad se posiciona como la segunda de mayor importancia en frutas, después de *Alternaria* spp. Este patógeno, tiene una distribución extensa en regiones donde se cultiva el tomate a nivel mundial, y su impacto es más pronunciado en los cultivos de tomate en invernadero. Se trata de un hongo saprófito cuyas estructuras tienen una supervivencia en suelo y en restos vegetales menores a un año. La semilla contaminada constituye la principal fuente del inóculo. Sin embargo, debido a su alta capacidad de esporulación, el hongo puede diseminarse mediante la

lluvia, el viento, la vestimenta de trabajadores y las maquinarias. Condiciones de alta HR (90 %) y temperaturas cálidas (24 °C) resultan ideales para el establecimiento de la enfermedad, aunque esta puede desarrollarse en un rango de temperaturas que va desde 4 hasta 32°C (López, 2017).

Sintomatologías. Puede invadir los tallos, las flores y los frutos. Las lesiones son amarillentas o verdes en el envés de las hojas más antiguas, sin contornos definidos (cuasi circulares), se forman masas de las estructuras del hongo que van desde un tono verde olivo hasta café, semejantes al terciopelo. Con la propagación de la enfermedad, las hojas inferiores adquieren un tono amarillo, se enrollan, se marchitan y caen, dejando la planta desfoliada (Jaramillo et al., 2017).

Figura 4

Cladosporium fulvum en plantas de tomate.



Fuente: FAO, 2013

Antracnosis (*Colletotrichum gloesporioides* y otras especies)

Distribución, hospederos, dispersión y condiciones favorables. Este patógeno se propaga entre especies huésped que pertenecen a la familia de las Solanáceas y a través de semillas. La dispersión ocurre principalmente mediante salpicaduras de agua y puede ser transportada por trabajadores agrícolas durante las labores del cultivo. Las condiciones propicias para la infección

abarcan un rango de temperaturas que oscila entre 20 y 24 ºC, junto con una humedad relativa prolongada, elevado contenido de humedad en el suelo y días nublados. Por otro lado, el hongo tiene la capacidad de permanecer en estado latente durante varios días debajo de la cutícula y la epidermis, cuando se presentan bajas temperaturas, se activa, dando inicio a su desarrollo (FAO, 2013).

Sintomatologías. La infección puede presentarse en diversas partes de la planta, incluyendo frutas, hojas, tallos y raíces, siendo los daños más notorios en las frutas. Esta enfermedad ocasiona manchas en los frutos y hojas que simulan quemaduras solares, sin causar un impacto significativo en la planta en su totalidad. La fruta se contagia en su estado verde, aunque los síntomas no se hacen evidentes hasta alcanzar la madurez. Las lesiones iniciales adoptan una forma circular y, a medida que se expanden, desarrollan hendiduras y exhiben anillos concéntricos. En el centro de estas lesiones, la coloración se torna parda, y se generan numerosas manchas oscuras debido a las estructuras del hongo (López, 2017).

Figura 5

Antracnosis en el fruto y la hoja de tomate.



Fuente: FAO, 2013

Cultivo de fresa (Fragaria × ananassa)

Origen e importancia. La fresa o *Fragaria* spp. tiene su origen en las regiones templadas del mundo. La variedad actual de fresa se desarrolló mediante el cruce de *Fragaria virginiana* originaria del Este de Norteamérica y *Fragaria chiloensis*, conocida como fresón chileno. Las variedades más comerciales son: Albión, Camarrosa, San Andreas, Monterrey y Palomar (Bonet, 2010; MAG, 2017).

Colombia destaca como el tercer país de Sur América con mayor área sembrada en cultivos frutales, siendo la fresa (*Fragaria × ananassa*), uno de los cultivos que se produce durante todo el año. Entre 2015 y 2020, el área destinada a este cultivo experimentó un incremento del 59% en Colombia (FAO, 2023).

Taxonomía

El Sistema de Información de Biodiversidad, mencionado por Bonet (2010), describe la fresa desde una perspectiva botánica como:

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae
Género	*Fragaria*
Especie	*Ananassa*

Fuente: Bonet, 2010.

Principales patógenos fúngicos de la fresa

Podredumbre gris (*Botrytis cinerea*).

Distribución, hospederos, dispersión y condiciones favorables. La enfermedad podredumbre gris o moho gris, es ocasionada por el patógeno *Botrytis cinerea*, el cual puede generar pérdidas tanto previas como posteriores a la cosecha; manifestándose en el campo, durante

el almacenamiento y el transporte. Este hongo necrótico no se limita únicamente a crecer como saprófito en tejidos de plantas muertas o en descomposición, sino que también actúa como patógeno atacando flores, bulbos, tallos y semillas. Consecuentemente su capacidad patógena se extiende a al menos 235 especies de plantas, abarcando cultivos agronómicamente significativos como manzanas, uvas, peras, fresas y tomates. La infección puede ocurrir a través de heridas, aberturas naturales o directamente penetrando la cutícula intacta de las plantas (Bolda et al., 2015).

Sintomatologías. Este hongo, generalmente, origina pequeñas lesiones de tonalidad marrón claro o amarillenta debajo del cáliz, tanto en frutas verdes como rojas; con el paso del tiempo estas lesiones experimentan un rápido crecimiento, cubriendo el fruto con un matiz aterciopelado compuesto por micelio y esporas del hongo, que exhibe una coloración café – grisácea. Aunque las hojas también pueden ser infectadas, la sintomatología no siempre es evidente, dado que la infección puede ser latente, sin embargo, cuando hay maduración de las hojas infectadas, especialmente al iniciar la senescencia, puede desarrollarse una capa aterciopelada grisácea debido a la activación del hongo en hojas muertas (Biché, 2019).

Figura 6

Podredumbre gris en fruto y hojas de fresa.



Fuente: Louws, 2018.

Verticilosis (*Verticilium dahliae*).

Distribución, hospederos, dispersión y condiciones favorables. La Verticilosis, causada por el patógeno *Verticilium dahliae,* constituye una enfermedad del suelo que presenta limitaciones significativas para numerosos cultivos de relevancia económica. Este agente patógeno tiene una amplia gama de hospedantes, afecta tanto a cultivos anuales como a perennes, y posee la capacidad de subsistir en el suelo durante extensos periodos. Su dispersión puede ocurrir por medio del viento, transitando de una parcela a otra, o incluso a través del agua de riego, especialmente cuando hay un exceso de la misma. Las condiciones climáticas óptimas para el desarrollo de esta enfermedad son temperaturas que oscilan entre 22 y 25 °C (Martínez et al., 2009; Martín et al., 2019).

Sintomatologías. Los síntomas de marchitez provocados por el patógeno *V. dahliae* en las fresas se manifiestan a través de diversos indicadores. Estos pueden comprender la ausencia de crecimiento o desarrollo; el marchitamiento progresivo de las hojas más antiguas que culminan en su total desecación, a pesar de este deterioro, las hojas más jóvenes pueden mantenerse erguidas, clorosis; necrosis o aclaramiento de las hojas. En algunas instancias, las plantas pueden mostrar un tono amarillento y, eventualmente, muchas de ellas llegan a secarse por completo. Además, al realizar un corte en la corona, se puede identificar una necrosis vascular sutil (Scurich, 2016).

Figura 7

Planta de fresa con afectaciones por Verticilium dahliae



Fuente: Martín et al. 2019.

***Pestalotiopsis* (*Pestalotia palmarum, Pestalotia longisetula, Neopestalotiopsis* sp.)**

Distribución, hospederos, dispersión y condiciones favorables. La propagación de esta enfermedad se facilita mediante diversos mecanismos, tales como la lluvia, el viento, daños producidos por insectos o hendiduras naturales de las plantas, igualmente, los acérvulos, que se ven favorecidos por precipitaciones durante períodos de elevada HR o en épocas de sequía, contribuyen a este proceso. Estos patógenos no presentan una especificidad marcada hacia sus hospedantes, lo que les permite infectar una amplia gama de plantas, como arándanos, aguacates, cipreses, fresas, guayabos, hortensias, palmas de coco, rododendros, rododendros, entre otros. Además, su ingreso a la planta puede producirse a través de heridas o mediante sus propias aperturas naturales (López, 2021).

Sintomatologías. En cuanto a los síntomas, destacan la necrosis del tejido foliar axial y manchas oscuras de color rojizo con bordes bien definidos. La pudrición pronunciada de la corona y la base de la planta de fresa se traduce en el marchitamiento y eventual muerte de la misma. Las plantas gravemente infectadas presentan signos de decoloración o áreas marrones en la corona, con hojas y flores completamente secas, y raíces de tonalidad negra. En los frutos, se observan

lesiones secas e irregulares con una decoloración marrón inicial de 2-4 mm de diámetro durante las primeras etapas de desarrollo de la enfermedad, las cuales evolucionan hacia lesiones secas y negras (Acosta, 2022; Dias y Euclides, 2023).

Figura 8

Afectaciones en hojas y frutos de fresa por Pestalotiopsis.



Fuente: Baggio et al. 2020.

Mancha negra (*Colletotrichum fragariae / Colletotrichum acutatum*)

Distribución, hospederos, dispersión y condiciones favorables. La presencia de antracnosis en cultivos se ve favorecida por HR altas, presencia de malezas y problemas de aireación en el cultivo. Esta enfermedad puede afectar a más de 65 tipos de hospederos, incluyendo plantas ornamentales, hortícolas, frutales y forestales. Los hongos causantes tienen la capacidad de subsistir en el suelo durante varios meses en ausencia de material vegetal, y el suelo junto con los equipos de campo actúan como fuentes de inóculo. Las temperaturas entre 20 y 30 ºC proporcionan condiciones óptimas para el desarrollo de estos patógenos (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015; Bolda et al., 2015).

Sintomatologías. En relación a los síntomas, estos se manifiestan como lesiones sobre órganos aéreos con tonalidad pajiza y bordes rojos o purpúreos en forma de círculos pequeños en

el centro. En hojas afectadas, la zona central puede desprenderse. En los frutos, se observan puntos de color café con apariencia húmeda; las lesiones circulares se endurecen y adquieren un tono café oscuro a negro, semejante a las causadas por *Pestalotiopsis*. En las flores, la infección puede ocurrir en cualquier momento después de que el botón floral emerge de la corona, siendo las flores abiertas las más susceptibles. Dependiendo de la gravedad de la infección, los síntomas se pueden presentar como achaparramiento, amarillamiento, marchitez e incluso la muerte de la planta (MAG, 2017; Dias y Euclides, 2023).

Figura 9

Antracnosis en tallo, hoja, fruto y flor de la fresa.



Fuente: Antracnosis en fresa, 2023.

Necrosis marginal (*Cladosporium* spp.)

Distribución, hospederos, dispersión y condiciones favorables. Este patógeno oportunista tiene la capacidad de atacar los frutos en distintas etapas de desarrollo, su incidencia varía según las características agroclimáticas de las regiones donde se encuentren los hospederos. La presencia predominante de *Cladosporium* spp. son en zonas se observa en áreas con elevada humedad relativa, así como en plantaciones densas y descuidadas, con falta de poda y presencia considerable de material vegetal o leños por retirar. El reservorio ideal de este patógeno es el suelo y la materia orgánica en descomposición (hojarasca, ramas, frutos). Cabe señalar que este patógeno puede crecer en rangos de temperatura entre 6°C a 35°C. Aunque no es tan conocido como patógeno, tiene la capacidad de afectar a diversos hospederos, siendo los críticos uno de los más afectados,

lo que ocasiona pérdidas considerables tanto en el campo como en la etapa postcosecha (Aguilar y García, 2008).

Sintomatologías. En términos de sintomatología, las lesiones de color café se originan desde el margen hacia el interior de la hoja, presentando una forma variable en 'v' con un leve enchinamiento. También, pueden presentar masas de esporas oscuras a verde grisáceo. Además, se caracteriza también porque manifiesta lesiones ulcerosas de tamaño variable y color pardo, distribuidas de manera dispersa y aislada, aunque en ciertos casos pueden agruparse. Los síntomas guardan similitud con aquellos provocados por *Alternaria* spp (Aguilar y García, 2008).

Figura 10

Sintomatología de Cladosporium spp. *en hojas de fresa.*



Fuente: Aguilar y García, 2008.

Resistencia de hongos a agroquímicos

Los agricultores recurren a fungicidas como medio de control, pero debido a su uso excesivo, se ha fomentado la resistencia en los patógenos hacia estos agroquímicos. La resistencia inducida por estos compuestos impulsa a los patógenos a experimentar mutaciones genéticas, lo que conduce a la selección de biotipos resistentes. Además, el uso indiscriminado de fungicidas produce residuos tóxicos en los alimentos, planteando riesgos para la salud humana y generando

impactos negativos al medio ambiente, afectando así la productividad del suelo (Carmona y Sautua, 2017; Sood et al., 2020).

La resistencia a fungicidas surge como consecuencia de una modificación genética que afecta el sitio de acción del fungicida en la célula del patógeno que se busca controlar. Esta alteración es originada de una variación genética heredable del ADN. La evolución de la resistencia a fungicidas, se ha relacionado con la biología y la mutabilidad intrínseca del patógeno, pero también se ve influenciada por la acción del fungicida en la célula fúngica (MoA) a través del mecanismo bioquímico. Según las investigaciones, se ha vinculado la resistencia a los fungicidas benzimidazoles, un grupo ampliamente utilizado en la agricultura, con mutaciones puntuales en el gen β-tubulina. Este gen es responsable de codificar una proteína que es esencial para la división celular en hongos. Los fungicidas benzimidazoles actúan interfiriendo con la función de la β-tubulina, lo que impide la división celular y la muerte del hongo (Brent y Hollomon, 2007).

Control biológico

El control biológico (CB) consiste en el uso de organismos vivos para prevenir o suprimir plagas, malezas y organismos que ocasionan enfermedades tanto en cultivos como en áreas naturales (Shelton, 2020). El biocontrol de fitopatógenos se ve influenciado por los microorganismos benéficos y por las condiciones ambientales a las que se expondrá (humedad relativa, temperatura y acidez), que son factores clave para determinar la eficacia de este método. Por lo tanto, al implementar el control biológico se sugiere utilizar agentes autóctonos, ya que se adaptarán mejor a las condiciones específicas del entorno (Serrano y Galindo, 2007).

Un agente de control biológico (ACB) se refiere a un microorganismo vivo o un extracto derivado de él. Los ACB pueden desempeñar un papel beneficioso durante el cultivo, no solo para

abordar enfermedades causadas por hongos presentes en el suelo y enfermedades foliares, sino también para el control de patógenos postcosecha, entre otros (Chulze, 2023).

Microorganismos antagonistas. La investigación acerca de la diversidad de especies biocontroladoras alrededor del mundo es amplia y valiosa, ya que proporciona información no solo sobre el microorganismo en sí, sino también sobre las características de los entornos que favorecen su presencia, las metodologías utilizadas para su estudio e identificación, así como su comportamiento al ser sometido a ensayos con aplicaciones en campos relacionados con la biotecnología. Igualmente, el campo de la exploración agrícola ha contribuido de manera significativa a la comprensión actual del microorganismo, generando aportes fundamentales, destacándose especialmente por su ubicuidad y su capacidad antagonista a diversos patógenos.

Los microorganismos antagonistas (hongos, levaduras y bacterias) se emplean para prevenir y controlar enfermedades y plagas en frutos y vegetales. Los microorganismos generalmente empleados en el biocontrol de enfermedades pertenecen a los géneros: *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Candida*, *Streptomyces*, *Pseudomonas* y en particular, el género *Trichoderma* (Hernández, 2007). Este último es conocido como uno de los agentes biocontroladores más eficientes en el control biológico de diversos fitopatógenos, así como el más estudiado (Andrade et al., 2023).

Trichoderma* spp. *como antagonista. *Trichoderma*, es el género de hongos antagonistas más investigados y utilizados para el biocontrol de fitopatógenos en diversos cultivos a nivel global. Este reconocimiento se atribuye a características particulares como su versatilidad metabólica, habilidad para degradar sustratos, capacidad de adaptación, múltiples mecanismos de acción y resistencia a inhibidores microbianos (Delgado, 2019).

El género *Trichoderma* pertenece a la Familia de las Hipocreáceas. Sus especies presentan hifas filamentosas, con temperaturas óptimas de crecimiento entre 25 y 30 ◦C y están ampliamente presentes en diversos ambientes. Los conidióforos de *Trichoderma* spp. son abundantes y terminan en fiálides, de forma piramidal, y sus ramas crecen en pares. Se forman abundantes conidios asexuales, de forma elíptica y hialinos, que luego se desarrollan de blanco a amarillo, para finalmente formar conidios verdes cuando están completamente maduros (Atanasova et al., 2013).

Dentro de las especies más destacadas y estudiadas como potenciales biocontroladores de hongos fitopatógenos se incluyen: *T. harzianum, T. viride, T. hamatum, T. koningii, T. asperellum y T. koningiopsis. T. atroviride, T. asperelloides, T. afroharzianum, T. guizhouense y T. virens.* Estas especies no solo son objeto de un estudio detenido, sino que también son las más utilizadas en el avance de prácticas agrícolas sostenibles (Companioni et al., 2019; Woo et al., 2022).

Se ha informado que el uso de *Trichoderma* spp. solas o en combinación con abono orgánico en plantas de cultivo mantiene el crecimiento de las plantas y causa cambios en la estructura y función de las comunidades microbianas en la rizosfera en términos de composición de la comunidad microbiana y efecto sobre la solubilización del fósforo. *Trichoderma* spp. aporta efectos positivos al agroecosistema; así, se está considerando el papel que tiene este hongo en estrategias agrícolas innovadoras como herramienta biotecnológica establecida y aceptada (Woo et al., 2022).

Mecanismo de acción. *Trichoderma* spp**.** tiene diversos mecanismos de acción que actúan sinérgicamente, consolidándose como un antagonista excepcional. Entre los mecanismos de acción se destacan: la antibiosis, el micoparasitismo, la competencia por espacio y nutrientes y la producción de metabolitos secundarios (compuestos volátiles y no volátiles), inducción de resistencia sistémica en plantas y desactivación de factores de patogenicidad. Adicionalmente, se

han identificado nuevos mecanismos como la aceleración del desarrollo del sistema radicular, la solubilización y absorción de nutrientes inorgánicos (Martínez et al., 2013).

Competencia. Se origina a raíz de la limitación de espacio, nutrientes u otros recursos, y se describe como la interacción desigual entre dos o más organismos que compiten por los mismos recursos, manifestándose cuando la utilización de dichos recursos por parte de un organismo conlleva a la reducción de la cantidad disponible para los demás. En consecuencia, este fenómeno se define como el comportamiento desigual de múltiples organismos en relación con un mismo requisito (como sustrato o nutrientes), donde el uso de este por parte de un organismo afecta la cantidad o el espacio disponible para los demás. En este contexto, se considera que la competencia constituye un mecanismo de antagonismo de gran relevancia (Infante et al., 2009).

Parasitismo (micoparasitismo). El micoparasitismo es un ataque directo de un hongo a otro, en la que intervienen enzimas extracelulares, las cuales guardan correspondencia con la estructura y composición de las paredes celulares de los hongos parasitados (Infante et al., 2009). Existen dos grupos principales de parasitismos, según su nivel de agresividad hacia el hospedero. El primer grupo comprende las interacciones de tipo biotrófico, en las cuales el micoparásito se alimenta del hongo blanco sin causarle la muerte. El segundo grupo comprende las interacciones necrotóficas, en las cuales el hongo micoparasítico ataca a su presa, primero detectándola y luego dirigiendo su crecimiento en esa dirección. Según Martínez et al. (2013) *Trichoderma* spp. lleva a cabo el micoparasitismo en cuatro fases. En primera instancia, se experimenta un crecimiento quimiotrófico donde el hongo crece directamente hacia el fitopatógeno. Luego, en la fase de reconocimiento se evidencia la especificidad del antagonista hacia su sustrato. Una vez producido el contacto, *Trichoderma* spp. se adhiere al huésped enrollándose alrededor del micelio formando apresorios; esta interacción culmina, con la lisis de la pared celular mediante la acción de enzimas

líticas (glucanasas, proteasas y quitinasas) que digieren los contenidos celulares del hospedero, causando su muerte.

Bases legales

La normatividad es una herramienta indispensable para evidenciar los avances, perspectivas y acciones frente a los contextos económicos, sociales, políticos y ambientales de un país. En este sentido, para cumplir con estándares de calidad, cada país en general tiene sus normas. A continuación, se presenta un resumen de las principales leyes, decretos, resoluciones y normas que cobijan la comercialización de frutas y hortalizas en Colombia.

A nivel nacional

Leyes.

Ley 101 de 1993- Congreso de Colombia. Ley General de Desarrollo Agropecuario y Pesquero. “Esta Ley desarrolla los artículos 64, 65 y 66 de la Constitución Nacional. En tal virtud busca proteger el desarrollo de las actividades agropecuarias y pesqueras, y promover el mejoramiento del ingreso y calidad de vida de los productores rurales”

Ley 2046 DE 2020- Congreso de Colombia. “Por la cual se establecen mecanismos para promover la participación de pequeños productores locales agropecuarios y de la agricultura campesina, familiar y comunitaria en los mercados de compras públicas de alimentos”.

Decretos.

Decreto 1076 de 2015- Presidente de la República de Colombia. “Por medio del cual se expide el Decreto Único Reglamentario del Sector Ambiente y Desarrollo Sostenible”.

Resoluciones.

Resolución 001806 del 7 de septiembre de 2004 – Instituto Colombiano Agropecuario. "Por la cual se dictan disposiciones para el registro y manejo de predios de producción de fruta fresca para exportación y el registro de los exportadores".

Resolución 148 de 2004 - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. "Por la cual se crea el Sello de Alimento Ecológico y se reglamenta su otorgamiento y uso".

Resolución 187 de 2006 - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. "Por la cual se adopta el Reglamento para la producción primaria, procesamiento, empacado, etiquetado, almacenamiento, certificación, importación, comercialización, y se establece el Sistema de Control de Productos Agropecuarios Ecológicos".

Resolución 2964 de 2008 - Instituto Colombiano Agropecuario. Por la cual se dictan disposiciones para el registro y manejo de predios de producción de hierbas aromáticas y hortalizas para Exportación en fresco y el registro de sus exportadores.

Resolución 199 de 2016 - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. "Por la cual se modifica parcialmente el Reglamento para la producción primaria, procesamiento, empacado, etiquetado, almacenamiento, certificación, importación y comercialización de productos agropecuarios ecológicos – versión 1, adoptado mediante la Resolución 187 de 2006.

Resolución 448 de 2016 - Instituto Colombiano Agropecuario. "Por medio de la cual se establecen los requisitos para el registro ante el ICA de los predios de la producción de vegetales para exportación en fresco, el registro de exportadores y el registro de las plantas empacadoras de vegetales para la exportación en fresco".

Resolución 20009 de 2016 - Instituto Colombiano Agropecuario. "Por medio de la cual se establecen los requisitos para la certificación en buenas prácticas agrícolas (BPA) en producción primaria de vegetales y otras especies para consumo humano".

Resolución 464 de 2017 - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. **"**Por la cual se establecen los lineamientos estratégicos de política pública para la agricultura campesina, familiar y comunitaria". Siendo la primera norma del Ministerio de Agricultura que reconoce la soberanía alimentaria, la agroecología y los sistemas participativos de garantía.

Resolución 068370 del 27 de mayo de 2020 - Instituto Colombiano Agropecuario. **"**Por medio de la cual se establecen los requisitos para el registro de productor, productor por contrato, envasador, importador y departamentos técnicos de ensayos de eficacia agronómica de bioinsumos para uso agrícola; así como los requisitos para el registro de bioinsumos para uso agrícola".

Resolución 75486 de 2020 - Instituto Colombiano Agropecuario. "Por medio de la cual se establecen los requisitos y procedimientos para el registro o ampliación de uso de plaguicidas químicos de uso agrícola y bioinsumos a través del mecanismo de historial de uso".

Resolución 00017822 de 19 de septiembre de 2022 - Instituto Colombiano Agropecuario. "Por la cual se modifica el anexo 1 de la Resolución ICA 75486 de 2020"

Normas Técnicas Colombianas.

NTC 5400-2012. Buenas prácticas agrícolas para frutas, hierbas aromáticas culinarias y hortalizas frescas. Requisitos generales.

NTC 5522-2007. Buenas prácticas agrícolas. Trazabilidad en la cadena alimentaria para frutas, hierbas aromáticas culinarias y hortalizas frescas.

NTC 1103-1 de 1995. Armonizada con la UN/ECE standard FFV-36, establece los requisitos de calidad del tomate para el consumo en fresco en materia de grados de madurez, clasificación, tamaño, tolerancia y contenido de pesticidas.

NTC 4103. Frutas Frescas. fresa variedad chandler. Especificaciones.

A nivel internacional

Las Normatividad internacionales sirven de referentes para actualizar y ejecutar las normas a nivel nacional, entre ellas las Normas de calidad del Codex Alimentarius, Normas de calidad de la Unión Europea y Normas de calidad vigentes en Estados Unidos. A continuación, se presentan las más relevantes:

Norma GLOBALG.A.P. Para frutas y hortalizas cubre todas las etapas de la producción, desde las actividades pre-cosecha, tales como la gestión del suelo y las aplicaciones de fitosanitarios, hasta la manipulación del producto post-cosecha, el empaque y almacenamiento, teniendo en cuenta aspectos tales como: inocuidad de los alimentos, el impacto ambiental y la salud, la seguridad y el bienestar de los trabajadores y de los animales.

Codex Alimentarius-CAC/RCP 44-1995-CAC/RCP 53-2003. Código alimentario de referencia internacional establecido por la FAO. La finalidad del CODEX ALIMENTARIUS es garantizar alimentos inocuos y de calidad. Estas normas dan lineamientos para las labores de empaque, transporte e higiene de frutas y hortalizas frescas, como directriz internacional, contribuye a la inocuidad, calidad y equidad en el comercio internacional de alimentos.

Reglamento (CE) 834 de 2007. Establece la obligación de someter a los agricultores, importadores y transformadores, que deseen comercializar productos de producción ecológica, a

un régimen de control para garantizar que se respeten las normas de producción y que no se utilizan técnicas incompatibles con este sistema agrario de gestión y producción de alimentos.

Metodología

Diseño de la investigación

El estudio realizado, se basó en un componente experimental que incluyó el aislamiento de microorganismos a partir de material vegetal infectado y medianamente sano, para el reconocimiento de hongos fitopatógenos de importancia en cultivos de tomate cherry (*Solanum lycopersicum*) y fresa (*Fragaria* × *ananassa*), mediante un enfoque descriptivo soportado en argumentación bibliográfica.

Diseño experimental

Para los ensayos de patogenicidad se empleó un diseño de varianza (ANOVA) multifactorial en bloques. Se emplearon ocho (8) tratamientos. Seis (6) de las plántulas inoculadas con cada hongo correspondiente al cultivo origen y dos (2) testigos de plántula sin inocular.

	Tratamientos	**Réplicas**
T1	Plántula de tomate cherry con AT01	3
T2	Plántula de tomate cherry con AT02	3
T3	Plántula de tomate cherry con AT03	3
T4	Plántula de fresa con AF01	3
T5	Plántula de fresa con AF02	3
T6	Plántula de fresa con AF03	3
T7	Plántula de tomate cherry sin inocular (control negativo)	3
T8	Plántula de fresa sin inocular (control negativo)	3

En Actividad antagónica, se empleó un diseño de varianza (ANOVA) multifactorial en bloques. Se emplearon trece (13) tratamientos. Seis (6) correspondían a los cultivos duales, uno (1) del testigo del antagonista y seis (6) testigos de los patógenos.

	Tratamientos	Réplicas	Repeticiones
T1	AT01 vs *T. asperelloides* (antagonista)	2	3
T2	AT02 vs *T. asperelloides* (antagonista)	2	3
T3	AT03 vs *T. asperelloides* (antagonista)	2	3
T4	AF01 vs *T. asperelloides* (antagonista)	2	3
T5	AF02 vs *T. asperelloides* (antagonista)	2	3
T6	AF03 vs *T. asperelloides* (antagonista)	2	3
T7	Testigo AT01	2	3
T8	Testigo AT02	2	3
T9	Testigo AT03	2	3
T10	Testigo AF01	2	3
T11	Testigo AF02	2	3
T12	Testigo AF03	2	3
T13	Testigo *T. asperelloides* (antagonista)	2	3

Población de estudio y muestra

La población de estudio comprendió muestras de aislados de hongos provenientes de plantas que presentaron signos y sintomatología característicos de enfermedad. El tamaño de muestra estuvo sujeto al número de aislamientos, siendo en total seis (6) morfoespecies, tres (3) de cada cultivo en estudio.

Muestreo

Área de muestreo

Las muestras fueron recolectadas por ASPAGRO al azar en diferentes puntos de los cultivos de tomate cherry (*Solanum lycopersicum*) y fresa (*Fragaria* × *ananassa*) de las fincas La Constancia y Plazuelas en la vereda de Chichira pertenecientes a la jurisdicción Municipal de Pamplona N.S (7°22´34´´N-72°38´54´´O), para el posterior procesamiento llevado a cabo en el laboratorio del Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología (GIMBIO).

Método de muestreo

Se colectaron muestras de suelo, frutos y material vegetal sano y con síntomas típicos de enfermedad fúngica. El material vegetal se procesó de tres partes puntuales: fruto, hoja y raíz, se usaron 10 plantas y suelo rizosférico que fueron transportados en frío al laboratorio. Las partículas de suelo adheridas a las raíces fueron retiradas cuidadosamente y se procesaron en menos de 24 horas.

Aislamiento de morfoespecies

Origen del antagonista

La cepa antagonista *T. asperelloides* fue aislada a partir del suelo de un cultivo de Banano y Cacao (*Theobroma cacao L.)* ubicado en el municipio de Bucarasica- N.S, en los puntos con coordenadas geográficas Lat: 8.0425 Lon: -72.8694 y Lat: 8.0417 Lon: -72.8700, y caracterizada por Rozo (2020) en su trabajo de pregrado. Se conservó en glicerol al 30% en un ultracongelador de -75°C y su mantenimiento se realizó en medio PDA y agar Avena (OA) en el grupo de investigación GIMBIO.

Siembra de tejido vegetal en medio de cultivo

Se realizaron cortes de hojas de 2x2 centímetros tomados de la zona de transición entre el tejido sano y el enfermo, seguidamente se desinfectaron con hipoclorito de sodio 1% durante 1-3 minutos, alcohol 70% durante 30 segundos y se enjuagaron con agua destilada estéril (ADE) durante 1, luego se secaron los trozos en papel absorbente estéril y sembraron en agar papa dextrosa (PDA) para su posterior incubación a 25-28°C/ durante 3 días (Estrada y Ramírez, 2019; Muñoz et al., 2020).

Cultivo directo

A través del uso de un estereoscopio, se revisó la muestra en búsqueda de signos del patógeno, seguidamente, utilizando un asa recta estéril, se extrajeron las estructuras de patógeno presentes en la muestra y se sembraron directamente en PDA por punción (Muñoz et al., 2020) para su posterior incubación a 25-28°C/ durante 3 días.

Muestra de suelo

Se procesaron 10 g de la muestra de suelo y suelo rizosférico de cada cultivo en 90 mL de solución salina 0,85%, se mezcló y se dejó en reposo, a temperatura ambiente por 15 minutos, seguidamente con una pipeta se tomó alícuotas de 1 ml y se prepararon diluciones hasta 10^{-6}, se sembraron las diluciones 10^{-5} y 10^{-6} por duplicado en cajas de petri (previamente esterilizadas), Inmediatamente después de adicionar la alícuota, se agregó a cada placa de petri 15 mL de agar PDA. Luego se mezcló de manera homogénea el inóculo con el agar y se llevó a incubación a 25°C/ durante 3 días (IGAC,2013).

Caracterización fenotípica

Los hongos que crecieron de la siembra inicial de hojas, fruto y suelo, se mantuvieron en cultivo puro, para su posterior identificación, según las claves dicotómicas de Barnett y Hunter (1998) y Pitt y Hocking (2009) a través de sus características macroscópicas y microscópicas. Las características morfológicas fueron evaluadas siguiendo la metodología empleada por Leslie et al. (2006), Visagie et al. (2014) y Chen y Zhuang (2017) con modificación.

Observaciones morfológicas macroscópicas

Cada aislado fue descrito en tres medios de cultivo diferentes: agar papa dextrosa (PDA), agar extracto de malta (MEA) y agar Czapek-extracto de levadura (CYA). Los aislados fueron incubados a 25°C durante 7-15 días. Posteriormente al período de incubación y de visualizarse crecimiento, se determinaron las características del cultivo (superficie, topografía, producción de pigmentos, aspecto, la coloración del anverso y el reverso de la colonia).

Observaciones morfológicas microscópicas

Para determinar las características morfológicas de los aislados, se usaron medios que permitieran el desarrollo de estructuras fúngicas identificativas según las claves dicotómicas usadas, estos medios fueron: agar nutritivo bajo en sales (SNA); agar agua (AA), CYA, PDA y agar harina de maíz dextrosa (CMD). La morfología microscópica se evaluó por la técnica de montaje en fresco Tape Touch (Harris, 2000) observando con azul de lactofenol y KOH 0,3% a partir de los cultivos esporulados de cada cepa, observando a 10X, 40X y 100X en un Microscopio binocular modelo Primo Star Hal Full-kohler de marca Carl Zeiss. Dentro del análisis microscópico se consideró factores como: tipo, forma, dimensión del conidióforo, conidios, las esporas, presencia de clamidosporas, y características identificables de cada género de aislados.

Conservación

Se tomó 25 mL de glicerol al 100 % (v/v) y se aforó a 100 mL con agua destilada, obteniendo una concentración del 25% (v/v), esta se esterilizó a 121 °C por 15 minutos a 15 libras de presión por pulgada cuadrada (psi). De la concentración inicial se utilizaron 0.5 mL y se adicionaron a 0.5mL de la suspensión de esporas, realizando una dilución obteniendo una

concentración de 12,5% (v/v), este procedimiento se repitió para todas las cepas aisladas. Finalmente, todos los viales se congelaron a -75ºC (Linares y Camero, 2013).

Prueba de patogenicidad

A partir de cada aislado se llevaron a cabo pruebas para determinar cuáles cepas fueron capaces de generar síntomas de enfermedad. Los aislamientos se evaluaron en cámaras de plástico con una húmedad relativa > 85% en condiciones controladas de laboratorio a temperatura ambiente con fotoperiodos 12h luz y 12h oscuridad, la cual favoreció el desarrollo de estos hongos fitopatógenos (Trinidad-Ángel et al., 2017). Se efectuaron revisiones diarias por un periodo de 30 días, para detectar de forma oportuna la aparición de las primeras sintomatologías. La concentración de la suspensión de esporas utilizada se ajustó con la ayuda de un hemocitómetro marca BOECO por medio de la metodología descrita por Castaño (1998) y Trinidad-Ángel et al. (2017).

Las plántulas inoculadas por aspersión se almacenaron en un frasco transparente de Polietileno Tereftalato de 5 L. Cada cámara contenía algodón en su interior para mantener un ambiente de humedad, todo el sistema de cámara humedad se guardó en una bolsa ziploc para evitar la entrada de partículas de polvo (Torres et al., 2008).

Cultivo de tomate cherry (Solanum lycopersicum).

Para este cultivo la patogenicidad se verificó en doce (12) plántulas de tomate sanas de 30 días. Se preparó una suspensión de conidios de cada hongo aislado utilizando agua destilada estéril y conidios de colonias de 7-10 días de edad para inocular cada planta y agua destilada estéril (ADE) para los controles. La concentración de la suspensión de conidios se ajustó a 10^6 esporas ml-1, utilizando un hemocitómetro (Castaño, 1998).

Para determinar la severidad se diseñó una escala visual basada en el grado de plantas afectadas, se consideró la escala visual de grado de severidad a continuación:

Tabla 1.

Escala visual de grado de severidad en plántulas de tomate

Grado	Síntomas
1	sin síntomas
2	síntomas iniciales o 10-20%
3	20-50%
4	>50%
5	marchitamiento total o mayor de la planta o muerte

Fuente: Micah, 2018; Thomma et al., 2005; Torres et al., 2008.

Cultivo de fresa (Fragaria × ananassa).

Para este cultivo la patogenicidad se verificó en doce (12) plántulas de fresa sanas de 30 días. Se preparó una suspensión de conidios de cada aislado de hongo utilizando agua destilada estéril y conidios de colonias de 7 días de edad para inocular cada planta y agua destilada estéril (ADE) para los controles. La concentración de la suspensión de conidios se ajustó a 10^6 esporas ml-1, utilizando un hemocitómetro (Castaño, 1998).

Para determinar la severidad se diseñó una escala visual basada en el grado de plantas afectadas, se consideró la siguiente tabla:

Tabla 2.

Escala visual del grado de severidad en plántulas de fresa

Grado	Síntomas
1	sin síntomas
2	5-15% con síntoma de afección
3	20-40% con síntoma de afección
4	50-70% con síntoma de afección
5	80-100% con síntoma de afección o muerte de la planta

Fuente: Aguilar y García, 2008; Solarte, 2014; Núñez, 2017.

Los síntomas en las plantas son: marchitamiento de follaje, secamiento, un color café en las hojas más viejas, coloración rojiza en hojas jóvenes, lento crecimiento, coloración marrón oscuro en las raíces y atrofia general de la planta. Dependiendo del nivel de infección podrá, por tanto, ocasionar desde el retraso en el crecimiento y el marchitamiento hasta el eventual colapso de toda la planta (Núñez, 2017).

Para el aislado del fruto, se utilizaron frutos de fresa en diferentes estadios de crecimiento, que fueron desinfectados superficialmente con alcohol al 70%, durante 1 min, hipoclorito de sodio al 1% durante 3 min, seguidamente un lavado con agua destilada estéril y se secó en condiciones de asepsia en una campana de flujo laminar. Los frutos desinfectados se colocaron en cajas de petri de 9 cm, sobre toallas de papel humedecidas con agua destilada estéril (ADE). En cada caja se colocaron los frutos y la inoculación fue efectuada depositándose una gota de 20 µl de la suspensión de esporas. Los métodos de inoculación fueron: sin herida, con una pipeta Pasteur estéril se colocó encima del fruto una gota de la suspensión de conidios; con herida: la pipeta Pasteur estéril se introdujo un centímetro en el fruto, y se depositó una gota de la suspensión de conidios en el interior de la perforación. En total se inocularon 10 frutos (cinco con y cinco sin herida), y seis más usados como testigos (tres con y tres sin herida), a los que se les agregó

únicamente agua estéril, y se incubaron bajo las condiciones señaladas (Fraire Cordero et al., 2003; Farrera et al., 2007).

Para determinar la severidad en los frutos, se diseñó una escala visual basada en el grado de frutos afectados, como se observa en la tabla a continuación:

Tabla 3.

Escala visual de grado de severidad en frutos de fresa.

Grado	Síntomas
1	fruto sin síntoma de afección
2	5-15% del fruto con síntoma de afección
3	20-40% del fruto con síntoma de afección
4	50-70% del fruto con síntoma de afección
5	80-100% del fruto con síntoma de afección o pudrición

Fuente: Aguilar y García, 2008.

Actividad antagónica de aislamientos de fitopatógenos con *Trichoderma asperelloides* en condiciones *in vitro*.

Se determinó la actividad antagónica de los aislamientos con una cepa autóctona de *Trichoderma asperelloides* (Rozo, 2020) mediante la técnica de enfrentamiento dual (patógeno – antagonista), en placas de Petri de 9 centímetros de diámetro sobre medio de cultivo PDA. Se tomaron los microorganismos (patógenos y antagonista) y se colocaron dos discos de 5 mm de diámetro en línea recta a una distancia de 1 centímetros del margen de la caja, un disco de un *T. asperelloides* y el otro procedente de colonias de uno de los aislados en estudio, a partir de cultivos de 5 días de inoculados. Así mismo, los controles fueron preparados con la misma técnica (discos) en cajas separadas cada patógeno y el antagonista. Todos los tratamientos fueron incubados a temperatura ambiente con fotoperiodos de 12h de luz y 12h de oscuridad, se registraron

diariamente por 10 días las mediciones de crecimiento diametral para así evaluar su capacidad invasora. El ensayo constó de dos réplicas por tratamiento y 3 repeticiones en diferentes tiempos (Elías et al., 1993).

Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR)

Se calculó el PICR como indicador del efecto antagónico de los microorganismos evaluados, a partir del crecimiento de cada patógeno en cultivo dual junto con su respectivo testigo en el día 10, empleando la fórmula usada por Suárez y otros (2008) citado por (Astorga-Quirós et al., 2014):

$$PICR = [(R1 – R2) / R1] \times 100$$

Donde, R1 es el radio del patógeno testigo y R2 es el radio del patógeno en el cultivo dual.

Micoparasitismo (MICMO)

Para indicar el micoparasitismo (MICMO) como posible mecanismo de acción de *T. asperelloides*, se realizaron observaciones macroscópicas de los cultivos duales, tomando como índice de micoparasitismo, el grado de inhibición a través de la invasión del antagonista sobre la superficie del micelio patógeno, para evaluarlo se usó la escala de la tabla 4 creada por Elías y Arcos (1984) citado por Astorga-Quirós et al. (2014).

Adicionalmente se hizo un seguimiento mediante observaciones microscópicas en la zona de interacción del cultivo mediante microscopía óptica con un microscopio binocular ZEIZZ con aumento de 100x, donde se visualizaron las interacciones de las hifas antagonistas con las del patógeno, ya sea por reconocimiento¸ adhesión y enrollamiento o actividad lítica (Infante et al., 2009).

Tabla 4.

Escala para la evaluación de la capacidad antagónica de los microorganismos.

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 y esporulación sobre ella.

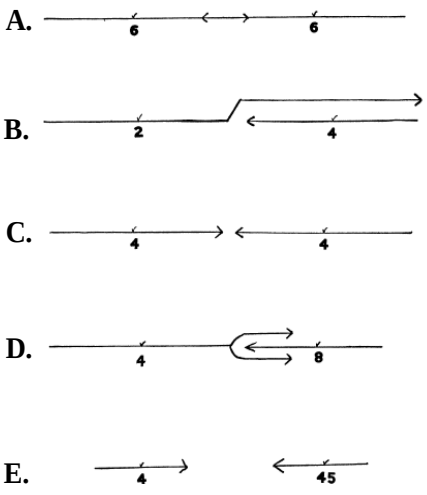
Fuente: Elías y Arcos, 1984 y citada por Astorga et al., 2014.

Competencia por espacio y nutrientes

La competencia por espacio se valoró comparando la velocidad del crecimiento, para esto, se midieron los radios de crecimiento del patógeno (RCP) y de los antagonistas (RCA). Así mismo, se determinaron los tipos de inhibición determinada por Porter (1923) **A**. mutuamente entrelazados, **B.** sobrepuestos, **C.** inhibición leve, **D.** crecimiento alrededor **E.** inhibición a distancia, encontrados en la Figura 11.

Figura 11

Tipos de inhibición según Porter (1923).



Fuente: Porter, (1923).

Análisis estadísticos

Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza multifactorial, con un nivel de significancia de 0,05, con el fin de detectar posibles diferencias significativas entre los tratamientos. En caso de encontrar diferencias, se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey ($p<0,05$) para identificar los grupos diferentes, usando el programa estadístico Statgraphics centurión XVI.

La patogenicidad de cada aislado se establecido mediante el porcentaje (%) de severidad según la escala visual basada en el grado de plantas afectadas.

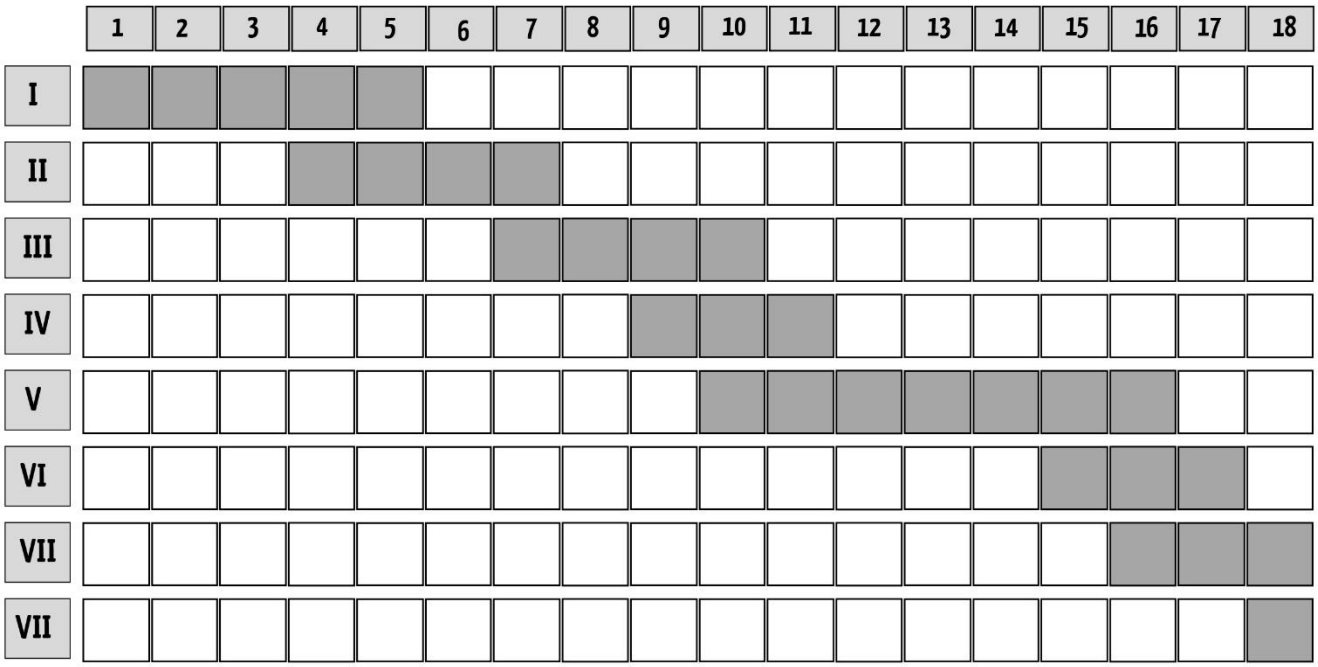
El antagonismo de *T. asperelloides* frente a los aislados en estudio se comprobó estudiando las variables: porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), micoparasitismo (MICMO), radio de crecimiento antagonista (RCA), radio de crecimiento patógeno (RCP).

Cronograma de Actividades

Cronograma

Figura 12

Cronograma y descripción de actividades



Nota: Las actividades están relacionadas según el número de meses en el que se llevó a cabo el estudio, iniciando desde el mes de septiembre del 2022 y culminando en febrero del 2024, para un total de 18 meses. Fuente: Autor

Descripción de actividades.

Tabla 5.

Actividades desarrolladas en el estudio.

	Actividad
I	Revisión bibliográfica y anteproyecto
II	Muestreos y aislamiento de cepas.
III	Descripción y caracterización fenotípica.
IV	Prueba de patogenicidad
IV	Evaluación de actividad antagónica de los aislamientos seleccionados.
V	Análisis de datos
VI	Informe final
VII	Sustentación

Fuente: Autor.

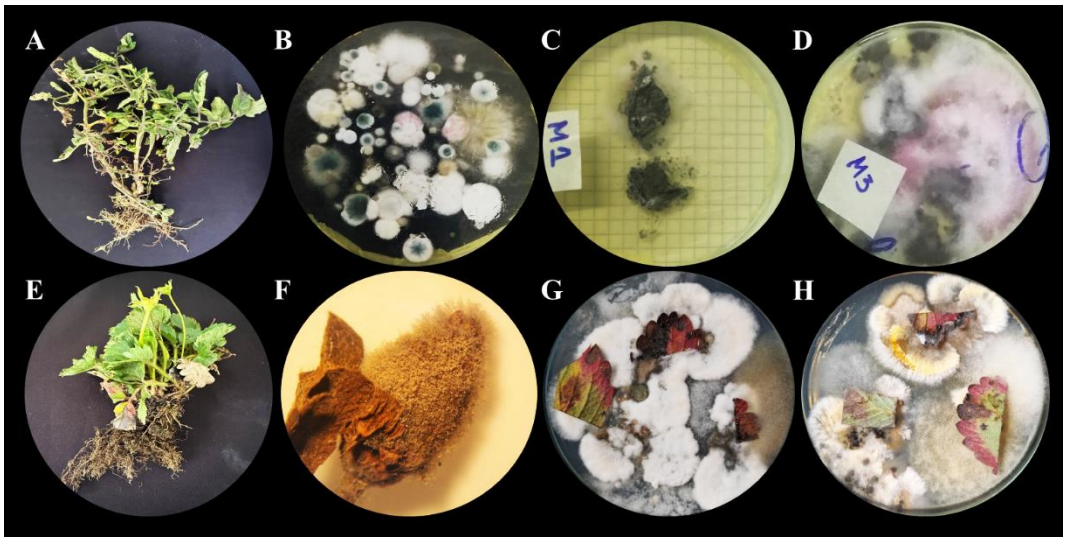
Resultados y Análisis

Aislamientos de morfoespecies

En la Figura 13 se observan las muestras con sintomatologías de enfermedad utilizadas para el aislamiento de las morfoespecies del cultivo de tomate cherry y fresa. A: muestra de tomate cherry. B-D: aislados de hoja y suelo de la plata de tomate de cherry. E: muestra de fresa. F-H: aislados del fruto y hojas de la planta de fresa.

Figura 13

Aislamientos de las morfoespecies del cultivo de tomate cherry y fresa



Nota: A-B: se observan plantas con sintomatologías. B: crecimiento de morfoespecies desde el suelo y suelo rizosférico del cultivo de tomate cherry. C y D: crecimiento de morfoespecies desde cortes de hojas en el cultivo de tomate cherry. F: fruto de fresa con crecimiento micelial y esporas. G y H: crecimiento de morfoespecies desde corte de hojas del cultivo de fresa. Fuente: Autor.

En el cultivo de tomate cherry se aislaron tres (3) morfoespecies: AT01 proveniente del aislamiento con cortes de hojas, AT02 y AT03 procedentes de la muestra de suelo y suelo

rizosférico. En el cultivo de fresa se aislaron tres (3) morfoespecies: AF01 proveniente de cortes de hojas, AF02 por punción del fruto con micelio y AF03 procedente de cortes de hojas.

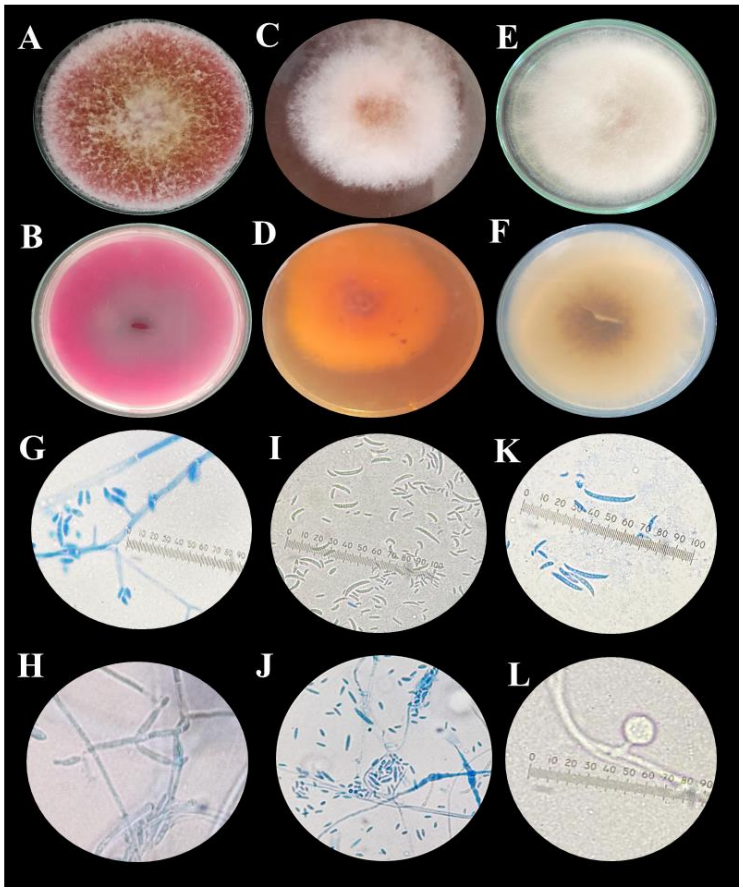
Caracterización fenotípica

A continuación, se presentan las figuras de las características macroscópicas y microscópicas con las respectivas descripciones de los aislados tanto para el tomate cherry como para fresa.

Figura 14

Caracterización macroscópica y microscópica del aislado AT01

.



Nota: En PDA (A: anverso, B: reverso) en MEA (C: anverso, D: reverso) en CYA (E: anverso, F: reverso); G: microconidios en cabezas falsas en 40X. H: conidióforo en 100X. I, J y K: macroconidias y microconidias en 40X y 100X. L: clamidosporas en 100X. Fuente: Autor.

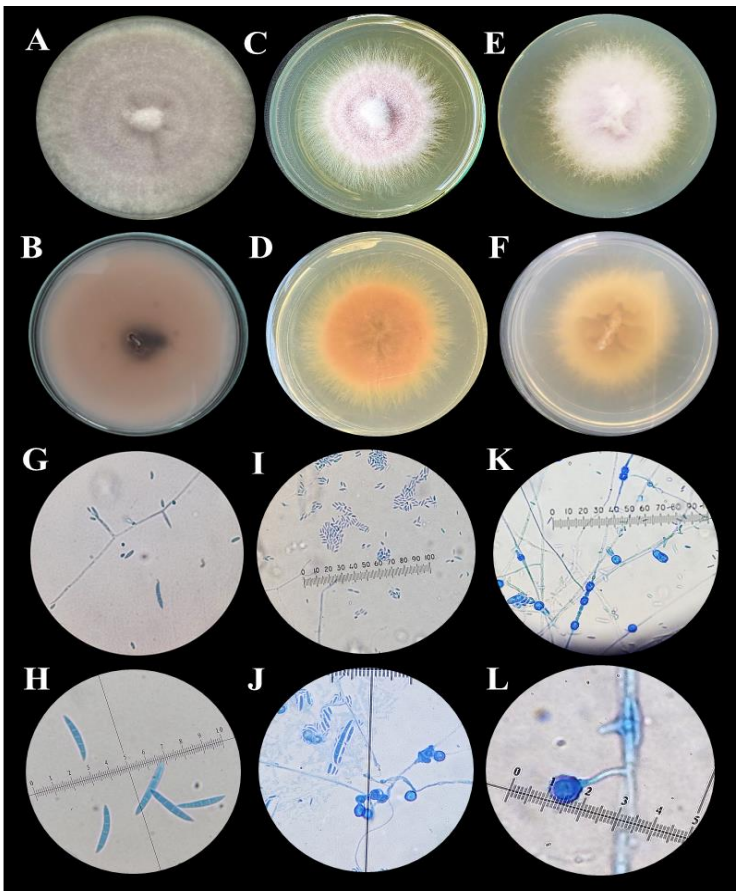
El aislado AT01 presentó características similares en el medio de cultivo PDA y MEA (fig. 14A-D), las colonias fueron de crecimiento rápido, irregular con mic-elio aéreo, algodonoso y abundante a los 7 días de incubación. El anverso fue de color blanco los primeros días de crecimiento y finalmente se tornó a magenta y en el centro una colonia micelial amarilla (en PDA), el reverso es de coloración roja-púrpura intensa en ambos agares. En el agar CYA (fig. 14E-F), el aislado AT01 presentó colonias de crecimiento lento, irregular con micelio limitado, el anverso es de color crema y el reverso presenta pigmentos oscuros. En relación a las características microscópicas, presentó conidióforos con monofiálides cortas, simples y algunos en forma de racimos, hifa hialina, septada (fig. 14G-H). Las microconidias son unilaterales, sin septos, hialinas, elipsoidales y semirrectas que se forman sobre fiálides simples y sobre conidióforos poco ramificados de 5 -12 µ m de largo por 2.5 – 3.5 µ m de ancho y en cabezas falsas (fig. 14H-J). Las macroconidias son de pared delgada a gruesas, largas, moderadamente curvas en forma de hoz y fusiformes, con varias células de tres (3) a cuatro (4) septos transversales, de aproximadamente 25 - 40 µ m de largo por 3-4.5 µ m de ancho (fig. 14K). Además, presentó clamidosporas generalmente solitarias y globosas, pero algunas intercalares con un tamaño aproximado de 12 µm de diámetro (fig. 14L). Las características identificadas concuerdan con las descritas por Watanabe (2010), Leslie et al. (2006) y Lombard et al. (2019) y las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998) y Pitt y Hocking (2009) con *F. oxysporum.* Por lo antes mencionado, se puede presumir que AT01 se trata de *Fusarium oxysporum.*

Granada (2001), describe a *F. oxysporum.* "Como un tipo de hongo que a nivel de su morfología colonial puede variar mucho y se caracteriza por la producción de abundante micelio aéreo, algodonoso, con una coloración variable, desde blanco hasta rosado durazno, pero

usualmente con un tinte púrpura o violeta más intenso en la superficie del agar y pocas microconidias. Estas microconidias son unicelulares, sin septos, hialinas, elipsoidales, rectas o curvadas; se forman sobre fiálides laterales, cortas, simples o sobre conidióforos poco ramificados. Por otro lado, las macroconidias son de paredes delgadas, fusiformes, largas, moderadamente curvadas y presentan de 3 a 5 septos transversales. Además, pueden o no tener presencia de clamidiosporas".

Figura 15

Caracterización macroscópica y microscópica del aislado AT02.



Nota: En PDA (A: anverso, B: reverso) en MEA (C: anverso, D: reverso) en CYA (E: anverso, F: reverso); G: conidióforo en 40X. H: macroconidias en 100X I: microconidias en 40X. J, K y L: clamidosporas en 100X y 40X. Fuente: Autor.

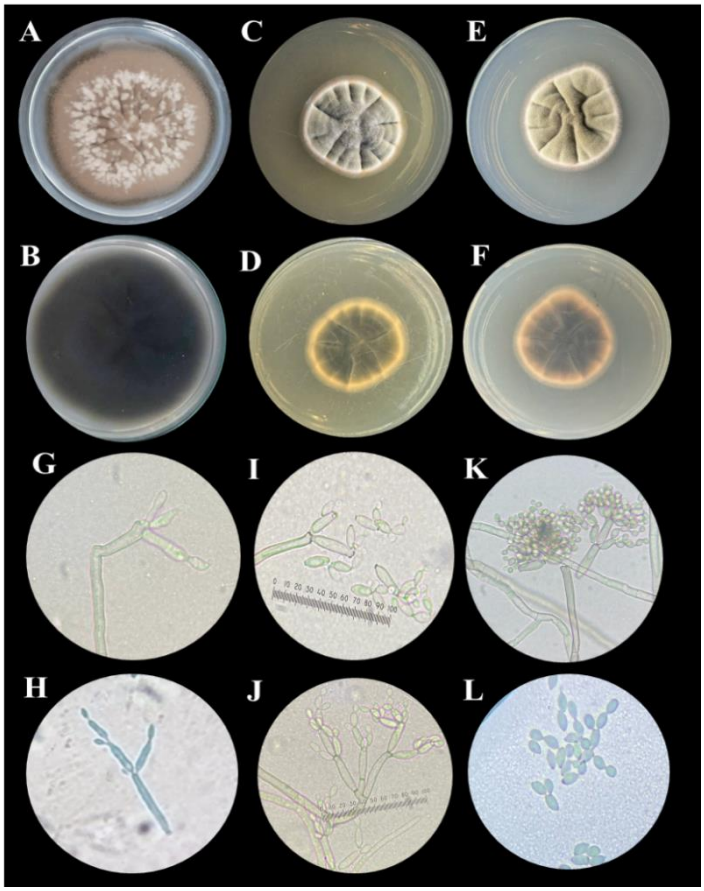
En el caso, del aislado AT02, las colonias fueron similares en los tres medios de cultivos (PDA, MEA y CYA), donde el micelio fue de crecimiento lento y aéreo, con forma irregular y bordes filamentosos a ondulados después de 7 días de incubación. El anverso presentó colocación blanca a crema. El reverso en agar PDA fue de color vináceo pálido y en MEA y CYA de coloración amarillenta, sin pigmento difusible (fig. 15A-F). Respecto a las características microscópicas los conidióforos son septados, hialinos, largos y simples, generalmente con monofiálides de aproximadamente 50–165 × 2,4–4,3 µm (fig. 15G). Las macroconidias poseen de 3 a 5 septos y presentan una zona dorsal curvada y otra ventral más recta, con un tamaño de 31,5–59,4 × 4,6–6,2 µm (fig. 15H). Presenta abundantes microconidias elipsoides y ovalados de 0-1 septados que se agrupan en racimos, sus tamaños van de 5–8 µm de largo a 2–3 µm de ancho (fig. 15I). Las clamidosporas se producen en pares, intercalares y solitarias con forma globosa u ovaladas de 6 a 7,3 µm de diámetro (fig. 15J-L). Las características identificadas concuerdan con las descritas por Watanabe (2010), Leslie et al. (2006) y Leticia (2016) y las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998) y Pitt y Hocking (2009) con *F. solani.* Gracias a lo antes mencionado, se puede identificar presuntamente AT02 como *Fusarium solani*.

Miranda y Otoya (2016) describen a *F. solani* macroscópicamente como “colonia con apariencia suave y esponjosa de color blanco grisáceo, crema, ocre o rosa púrpura. Por lo general, el reverso no está coloreado o es de color crema pálido. Microscópicamente, sus microconidios son abundantes y tienen forma ovalada, a veces con un septo. Las monofiálides crecen lateralmente desde la hifa y a veces están ramificadas. Los macroconidios son menos comunes que los microconidios y se originan en conidióforos cortos. Los macroconidios tienen entre tres y cinco septos y tienen forma de media luna, con las superficies ventral y dorsal paralela en la mayor parte de su longitud. La célula apical es corta y redondeada, mientras que la célula basal es redondeada

o claramente en forma de pie. Las clamidosporas son frecuentes y tienen una pared lisa o rugosa. Se pueden observar de forma aislada o en parejas, tanto en las terminaciones como en los espacios intermedios".

Figura 16

Caracterización macroscópica y microscópica del aislado AT03.



Nota: En PDA (A: anverso, B: reverso) en MEA (C: anverso, D: reverso) en CYA (E: anverso, F: reverso); G, H: conidióforo en 100X. I: conidióforo con cicatriz prominente, conidios terminales, intercalar y ramoconidias en 100X. J y K: Conidióforo macronematoso de crecimiento simpodial en 100X y 40X. L: conidios en 100X. Fuente: Autor.

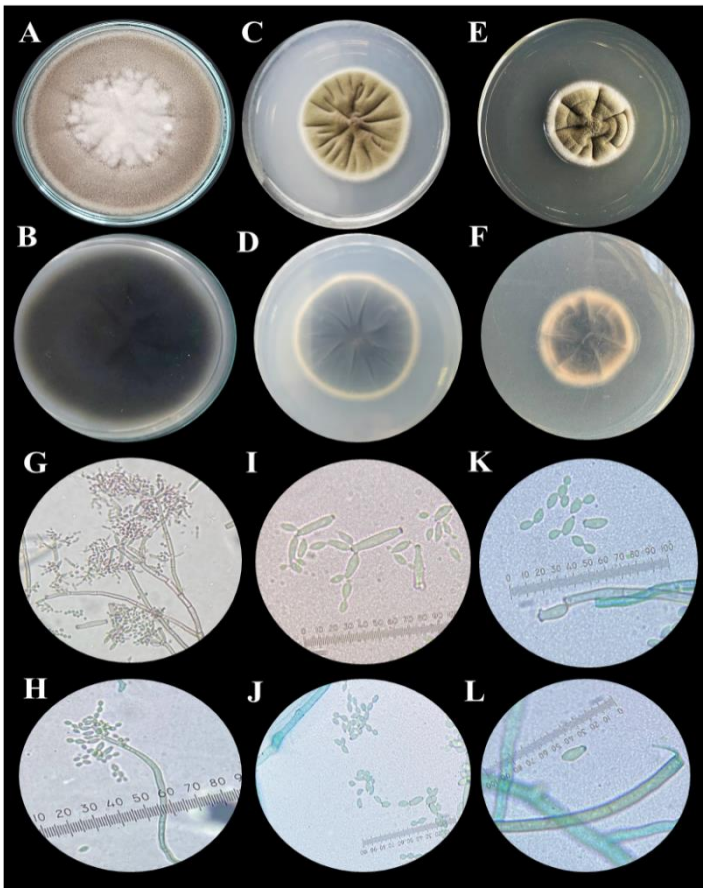
Las morfoespecies AT03 y AF01, fueron aislados en cultivos y en zona diferentes, sin embargo, ambos exhiben características macroscópicas y microscópicas similares en los diferentes medios empleados. Luego de los 10 días de incubación, presentaron en el anverso una coloración verde oliva grisáceo con bordes blancos, de forma y borde circular medianamente ondulado, textura aterciopelada, una superficie polvorienta seca, y elevación umbonada con pliegues radiales y el reverso de color marrón oscuro a negro en todos los medios (fig. 16A-F y fig. 17A-F). Para la caracterización microscópica, se observaron conidióforos altos y cortos, macro y micronematosos, algunos solitarios y erectos con crecimiento simpodial, hifas septadas oscuras de pared delgada (2-4 μm) y de pared gruesa (5-8 μm) (fig. 16AG-K y fig. 17G-I). los conidios de forma ovalada e irregular de color marrón, sus tamaños fueron: conidios terminales (2 x 5 μm), conidios intercalares (3 x 8 μm), ramoconidias secundarias de (3 x 11 μm) y ramoconidias (3 x 14-18μm) aproximadamente; además, se observaron pequeñas cicatrices de color oscuro en los extremos de las conidias, formadas por la gemación sucesiva del anterior conidio (fig. 16L y fig. 17J-L).

Las características antes mencionadas en los aislados AT03 y AF01, coinciden con las descritas por Bensch et al. (2018), Watanabe (2010) y las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998) con el género de *Cladosporium.* Para llegar a conocer la especie, son necesarias caracterizaciones genotípicas.

Según Rollán et al. (2013) *Cladosporium* spp. se caracteriza por “tener micelios de crecimiento relativamente bajo, fuertemente pigmentadas, de color gris verdoso y negro en el reverso de la caja de petri. Sus conidios son ovoides unicelulares, de color verde oliva a pálido, se agrupan en cadenas largas y ramificadas o sencillas, con conidióforos pigmentados”.

Figura 17

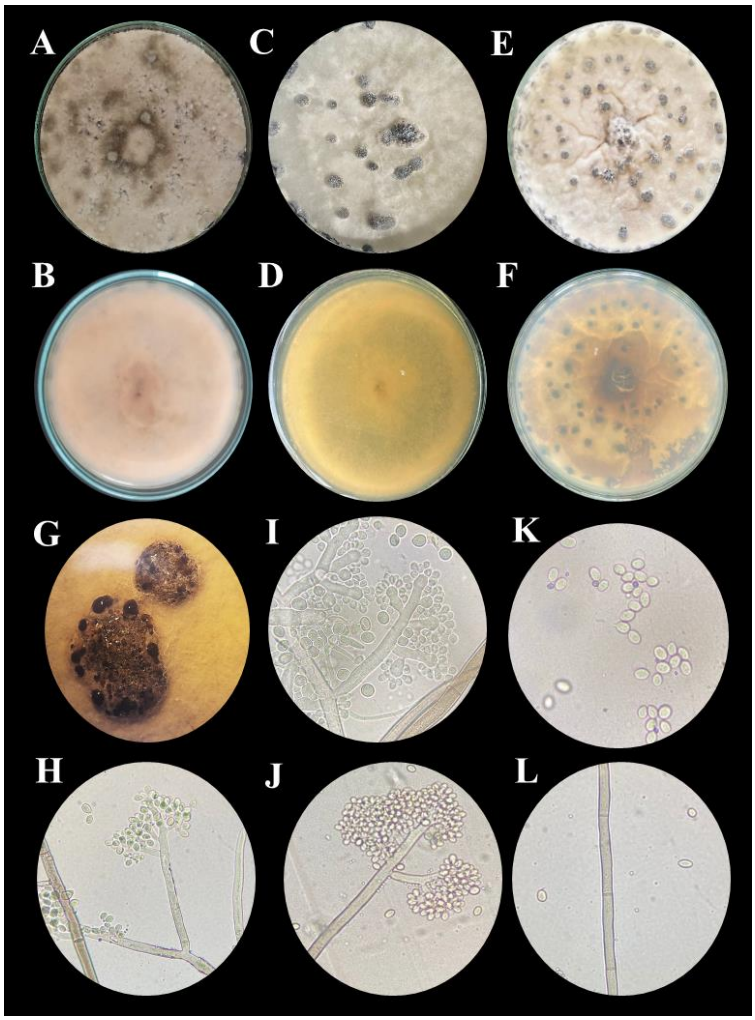
Caracterización macroscópica y microscópica del aislado AF01.



Nota: En PDA (A: anverso, B: reverso) en MEA (C: anverso, D: reverso) en CYA (E: anverso, F: reverso); G y H: Conidióforo macronematoso de crecimiento simpodial en 40X. I y J: conidióforo con cicatriz prominente, conidos terminales, intercalar y ramoconidias en 100X y 40X. K: conidios en 40X. L: hifa septada semipigmentada y conidio terminal en 100x. Fuente: autor

Figura 18

Caracterización macroscópica y microscópica del aislado AF02.



Nota: En PDA (A: anverso, B: reverso) en MEA (C: anverso, D: reverso) en CYA (E: anverso, F: reverso); G: esclerocios típicos del género. H, I y J: conidióforo en 40X y 100X. K: conidios en 100X. L: Hifa septada pigmentada. Fuente: autor.

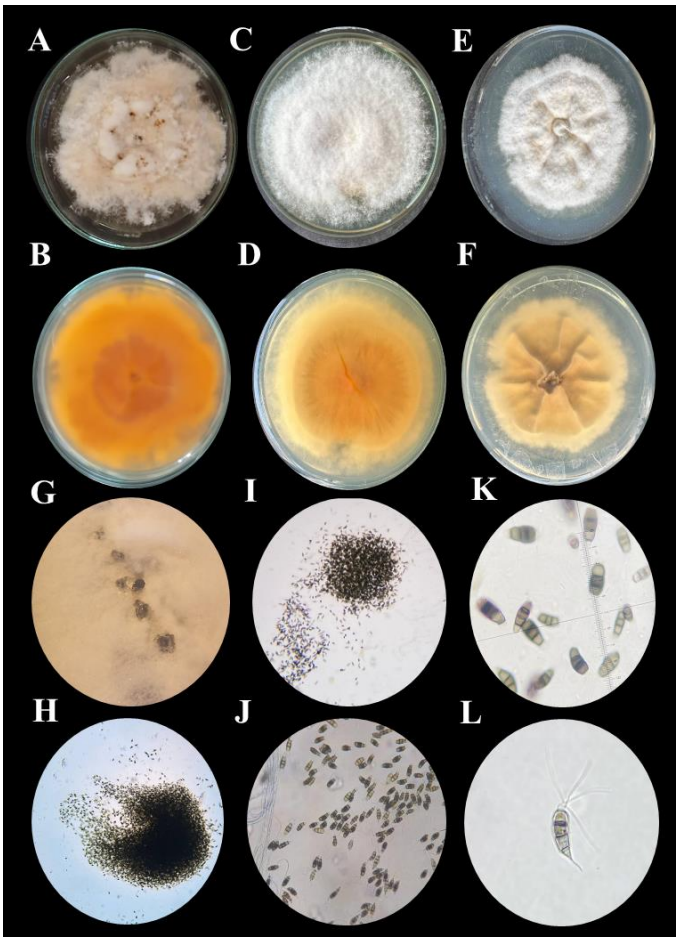
En el aislado AF02, los primeros días de incubación se observaron en los tres medios de cultivos un micelio superficial plano de color blanquecino y un micelio aéreo de color gris, al transcurrir los siete (7) días de crecimiento se empezaron a evidenciar esclerocios negros y brillantes de formas variables entre irregulares y oblongas. El reverso de la colonia es blanquecino

a marrón (fig. 18A-F). La visualización microscópica reveló la presencia de conidióforos largos, determinados, pigmentados y septados, de crecimiento apical y algunos ramificados irregularmente con un tamaño de 170 µm de largo aproximadamente y de 10 – 14 um de ancho (fig. 18H-J). Las hifas son septadas, hialinas a marrones con un grosor de 3 x 24 µm (fig. 18L). Los conidios presentes tienen formas ovoides y se agrupan en racimos o desprendidos de los conidióforos, son de color levemente marrón a hialinos, lisos no septados con medidas de 5-14 × 4-9 µm aproximadamente (fig. 18K). Las características antes mencionadas corresponden al género *Botrytis*, concordando con lo expuesto por Barnett y Hunter (1999) en sus claves dicotómicas y las descritas por Zhang et al (2010). Con lo estos resultados, se puede identificar presuntivamente que AF02 es *Botrytis cinerea,* aunque es necesaria la caracterización molecular, esta especie es muy típica en el cultivo de fresa.

Según Biché (2019) las colonias de *Botrytis cinerea,* tienen un crecimiento moderado y pueden ser blancas o grises, dependiendo del medio de cultivo. Pueden presentar diferentes tipos de crecimiento, como micelial, esclerocial o esporulante. Los conidióforos tienen ramificaciones alternas y rectas. Las hifas suelen ser septadas, hialinas y dematiáceas, con ramificaciones en forma dicótoma".

Figura 19

Caracterización macroscópica y microscópica del aislado AF03.



Nota: En PDA (A: anverso, B: reverso) en MEA (C: anverso, D: reverso) en CYA (E: anverso, F: reverso); G: acérvulos negros con exudado. H e I: acérvulos en 40X. J: Conidios en 40X. K y L: Conidios en 100X. Fuente: autor

El aislado AF03 presentó un crecimiento lento con micelio de color blanco, texturas algodonosas, cremosas, de forma irregular, elevación limitada y márgenes ondulados en los tres (3) medios de cultivos empleados (Fig19A-F); sin embargo, en el agar PDA se evidenciaron pequeños exudados de color amarillo a naranja, luego a los 15 días se observaron acérvulos negros y mucílagos con exudados (fig. 19A), estos fueron vistos en el estereoscopio (fig. 19G). En el

reverso producción de exopigmentos entre amarillo y naranja en agar PDA, mientras que en MEA y CYA carecía de pigmentos (fig. 19 B, D, F). Por microscopía se observaron los acérvulos (fig. 19H-J), los conidios septados, fusiformes y elipsoidales, tabicados de 3 a 4 células, donde 1-2 células centrales son pigmentadas (especialmente más oscuras) (Fig19J), además se observaron de 2 a 4 apéndices (sétulas) hialinas en las células apicales y 1 apéndice corto (pedicelo) en la célula terminal, las conidias tenían tamaños de 19–25 × 5–10 µm sin contar los apéndices, los apéndices apicales de 10–250 µm de largo y los apéndices basales 2–10,5 µm de largo (Fig19K-J). Como lo descrito por Watanabe (2010) y Barnett y Hunter (1999) en sus claves dicotómicas, las características antes mencionadas corresponden al género *Pestalotia*. Según lo detallado, se presume que AF03 podría ser *Pestalotia* spp. Como este microorganismo es muy similar morfológicamente entre sus especies y los géneros *Neopestalotiopsis* y *Pseudopestalotiopsis*, no se pudo identificar una especie presuntiva.

Para Solarte (2014), las colonias de *Pestalotia* spp. pueden ser de color blanco, con una gran producción de micelio, tienen una textura algodonosa. Sus márgenes son ondulados y generalmente producen acérvulos superficiales. El color inferior de la colonia puede variar entre salmón, amarillo, anaranjado o blanco crema. Los conidios presentan diferentes colores, como café claro u oscuro. Estas se dividen en cuatro, cinco o seis septos y tienen dos células: la apical y la basal. La conidia generalmente es hialina y tiene una terminación puntiaguda. De las células apical y basal se desprenden uno o varios apéndices, dependiendo del género y la especie

Las enfermedades causadas por hongos pueden provocar pérdidas significativas en la producción agrícola, afectando la economía de los agricultores, la disponibilidad de alimentos y el alza de precios en el mercado. Es por ello, la importancia de identificar la especie del hongo, conocer su naturaleza y poder prevenir la propagación de enfermedades. Esto permitirá a los

agricultores seleccionar los métodos de control más adecuados. Pero antes son necesarias las pruebas de patogenicidad, para seleccionar hongos fitopatógenos que sean eficaces para el control biológico de plagas o enfermedades.

Prueba de patogenicidad

Una vez que fueron aislados y caracterizados a nivel fenotípico los hongos de prevalencia patogénica asociados a los cultivos en estudio, se llevaron a cabo pruebas para determinar cuáles cepas son capaces de generar síntomas de enfermedad y así comprobar la capacidad patogénica de los mismos para posteriormente determinar la actividad antagónica. A continuación, se presentan las figuras con los síntomas que presentaron las plántulas en cada tratamiento.

Figura 20

Plantas de tomate cherry inoculadas con Fusarium cf. *oxysporum, Fusarium* cf. *solani y Cladosporium* spp.



Fuente: Autor.

Fusarium cf. *oxysporum* y *Fusarium* cf. *solani*, presentaron un grado de patogenicidad tipo 4, es decir más del 50% de la enfermedad se manifestó, pudiendo observar clorosis de hojas y algunas con marchitamiento (fig. 20). En la planta inoculada con *F*. cf. *oxysporum*, se pudo observar coloración amarillenta de hojas hacia el ápice y en el sistema radicular y vascular, además, de algunas hojas caídas y con marchitez verde, además de pudrición de las raíces y marchitez del tallo en la parte baja (fig. 20 AT01e-g). Características que coinciden con las descritas por Cadenas et al. (2003) antes mencionadas y por Carmona (2019) en su estudio donde al analizar los síntomas de la planta de tomate inoculada con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* con el paso de los días la planta presentó "amarillamiento y marchitez que avanzaron hacia las hojas del tercio inferior y posteriormente hacia los tercios medio y superior, ocasionando una marchitez general, así mismo, al realizar cortes longitudinales en el tallo de la planta, se evidenció la necrosis ocasionada en los haces vasculares como indicador del ascenso del patógeno por el xilema".

En la planta inoculada con *F.* cf. *solani*, las raíces presentaron necrosis rojizas a marrones, base del tallo afectada con un pudrición y marchitez en las hojas (fig. 20), concordando con lo expuesto por Villa et al. (2014) anteriormente mencionado y por lo descrito en Fertilab (2018), "El hongo *Fusarium solani* ataca principalmente la zona de la base del tallo y raíz provocando marchitez y amarillamiento de las hojas, así como crecimiento retardado. *F. solani* también, es identificable por la necrosis de raíces principales y secundarias, así como en la corona.

Cladosporium spp. AT03 presentó un grado de patogenicidad de tipo 3, entre 20 y 50% de síntomas característicos, donde en las hojas se observan manchas amarillas distintivas, y algunas hojas enrollas y otras con manchas de moho de color blanco que se vuelven marrones (fig. 20), los síntomas antes mencionados coinciden con los reportados por Jaramillo et al. (2017) y con las

obtenidas por Torres et al. (2008) en su revisión, que indica que al inocular a *Cladosporium fulvum* a plantas de tomate en invernadero, a los dieciséis después observó la aparición de pequeñas manchas de color amarillo sobre los haces de las hojas a una temperatura de 28 ± 2° C y una HR de 75%, coincidiendo con las condiciones del laboratorio en la cámara húmeda.

Figura 21

Plantas de fresa inoculadas con las morfoespecies Botrytis cf. *cinerea*, *Pestalotia* spp. *y Cladosporium* spp.



Fuente: Autor.

Cladosporium spp. AF01 obtuvo un grado de patogenicidad tipo 3, es decir que la planta presentó entre el 20 al 50% de lesiones características de enfermedad, donde se evidencia el margen de la hoja hacia adentro en forma de “V” (fig. 21). Así mismo, las lesiones de color marrón

característico de necrosis marginal provocada por *Cladosporium* spp., como lo mencionan Aguilar y García (2008).

En la planta tratada con *B.* cf. *cinerea*, las afectaciones fueron del 100% indicando un grado de patogenicidad tipo 5, toda la planta y los frutos presentaban esporas y micelio de color café oscuro y blanquecino, respetivamente, hojas secas y planta totalmente muerta (fig. 21), estos síntomas son característicos de *Botrytis cinérea* en fresa según Biché (2019). En la Figura D1 del apéndice D (p. 126), se pueden observar los frutos con sintomatología característicos de *Botrytis cinérea* en fresa, comparados con el control sin inocular, todos los frutos con aspersión de *B.* cf. *cinerea* y los infiltrados presentaron una capa de micelio blanquecino.

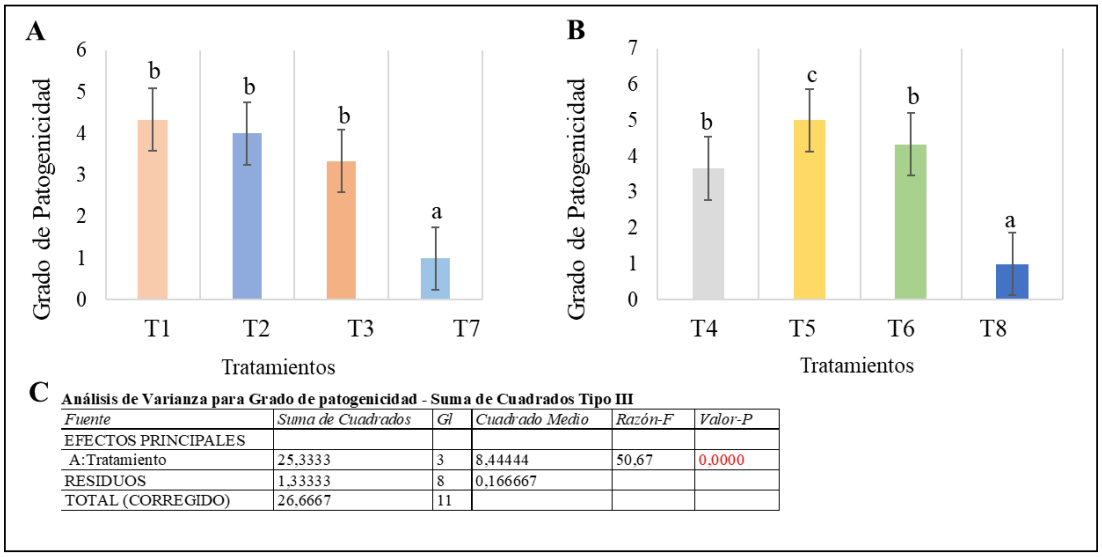
Matute (2019) en su evaluación, observó en el cultivo de fresa síntomas de enfermedad causados por *Botrytis cinérea* en fase activa, gracias a una cubierta aterciopelada gris en las partes infestadas de las hojas y el fruto, asimismo, tejidos afectados cubiertos de un polvo gris, tomando la planta un aspecto blanco-gris "momificado".

Pestalotia spp. alcanzó grado 4, con síntomas de afección entre un 50 a 70%, se evidencia necrosis del tejido foliar, hojas completamente secas y algunas con manchas oscuras de color rojizo en el margen o en forma de puntos, leve pudrición de la corona (fig. 21), coincidiendo con Núñez (2017) y Acosta (2022) cuando describen los síntomas provocados por *Pestalotiopsis* spp.

Molina (1998) menciona que los síntomas de *Pestalotia* spp. en fresas se manifiesta "por un secamiento de los bordes de los foliolos de ápice hacia la base, necrosando completamente el tejido y de una decoloración marrón, en él se presentan puntos negros formados por los acérvulos del patógeno".

Figura 22

Grado de patogenicidad obtenidos por los aislados de tomate cherry y fresa.



C **Análisis de Varianza para Grado de patogenicidad - Suma de Cuadrados Tipo III**

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	25,3333	3	8,44444	50,67	0,0000
RESIDUOS	1,33333	8	0,166667		
TOTAL (CORREGIDO)	26,6667	11			

Nota: (A) se observan los resultados del cultivo de tomate cherry; (B), se observan los resultados del cultivo de fresa; (C) El análisis de varianza para grado de patogenicidad. Los tratamientos se describen en la página 54. Fuente: Autor.

Se observa en la figura 22, el grado de patogenicidad obtenido en cada tratamiento. En el análisis de varianza realizado para la prueba de patogenicidad en ambos cultivos, el valor-P fue menor que 0,05, es decir, existe un efecto estadísticamente significativo sobre la patogenicidad de cada aislado con un 95,0% de nivel de confianza (fig. E1 p. 128 y E2 p.129). En cuento al cultivo de tomate cherry, los resultados del análisis de varianza mostraron dos grupos homólogos (a y b), esto quiere decir, que todos los tratamientos inoculados con los aislados fueron diferentes al tratamiento control, ya que este no presentó síntomas (fig. D3 p.127), *Fusarium* cf. *oxysporum* (T1) y *Fusarium cf solani* (T2), alcanzaron un grado de patogenicidad tipo 4, mientras que *Cladosporium* spp. AT03 (T3) obtuvo grado 3, esto quiere decir que los aislados con mayor patogenicidad fueron *Fusarium* cf. *oxysporum* y *Fusarium* cf. *solani*. Sin embargo, *Cladosporium* spp. AT03 presentó un grado de patogenicidad estadísticamente significativo con respecto al

testigo (T7), por ende, puede causar enfermedad e incluso muerte de la planta a un mayor tiempo de exposición. En el estudio realizado por Carrillo et al. (2003) identificaron seis aislamientos de *Fusarium* spp. de los cuales dos fueron las más patogénicas, sobresaliendo *F. oxysporum*, por su mayor severidad. Para estos autores uno de los principales problemas en la producción de tomate en Colombia y el mundo es la marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, hongo habitante natural del suelo. Asimismo, para Srinivas et al. (2019) las cepas fitopatógenas del género *Fusarium* que causan marchitez vascular, a menudo, limitan la producción de cultivos económicamente importantes. En el caso de *Cladosporium* spp. AT03, su severidad fue menor y concuerda con el estudio realizado por Ojito-Ramos (2019), donde especifica que las condiciones climáticas y agronómicas que se presentan este tipo de cultivo favorecen la infección por *Cladosporium fulvum*, sin embargo, este patógeno no representa gran problema para su control, pero sí puede provocar graves perjuicios a la producción.

En el cultivo de fresa, la morfoespecie más patógena fue *Botrytis* cf. *cinerea* (T5), seguidas *Pestalotia* spp. (T6) y *Cladosporium* spp. AF01 (T4) con respecto al control T8 (fig. D3 p.127). Los resultados antes mencionados son similares a los de Fraire Cordero et al. (2003) donde, en todos los muestreos, el género *Botrytis* fue el que predominó (68%) y *Cladosporium*, *Pestalotiopsis*, y *Colletotrichum* se presentaron en menor porcentaje (17-28%). Por otro lado, Morales-Mora et al. (2020) identificaron tres hongos asociados al fruto de la fresa (*A. niger*, *Colletotrichum* spp. y *Botrytis cinerea*), tres en hojas y tallo (*Pestalotiopsis* spp., *Curvularia* spp. y *Alternaria* spp.) y dos hongos asociados a la raíz (*Rhizoctonia* spp. y *Fusarium* spp.) todos patógenos importantes por pérdidas de producción en el cultivo.

Finalmente, en el ensayo de patogenicidad, las 18 plántulas excluyendo los testigos fueron sintomáticas y presentaron enfermedad, esto quiere decir, que los microorganismos aislados son patógenos y deben ser controlados.

Actividad antagónica *in vitro*

Al identificar hongos fitopatógenos, el ensayo oportuno es realizar prácticas de control biológico, normalmente, en los cultivos agrícolas se utilizan bioinsumos comerciales. Sin embargo, en este estudio se pretende evaluar una cepa nativa de *Trichoderma asperelloides* y sus estudios de biocontrol *in vitro* deben ser evaluados.

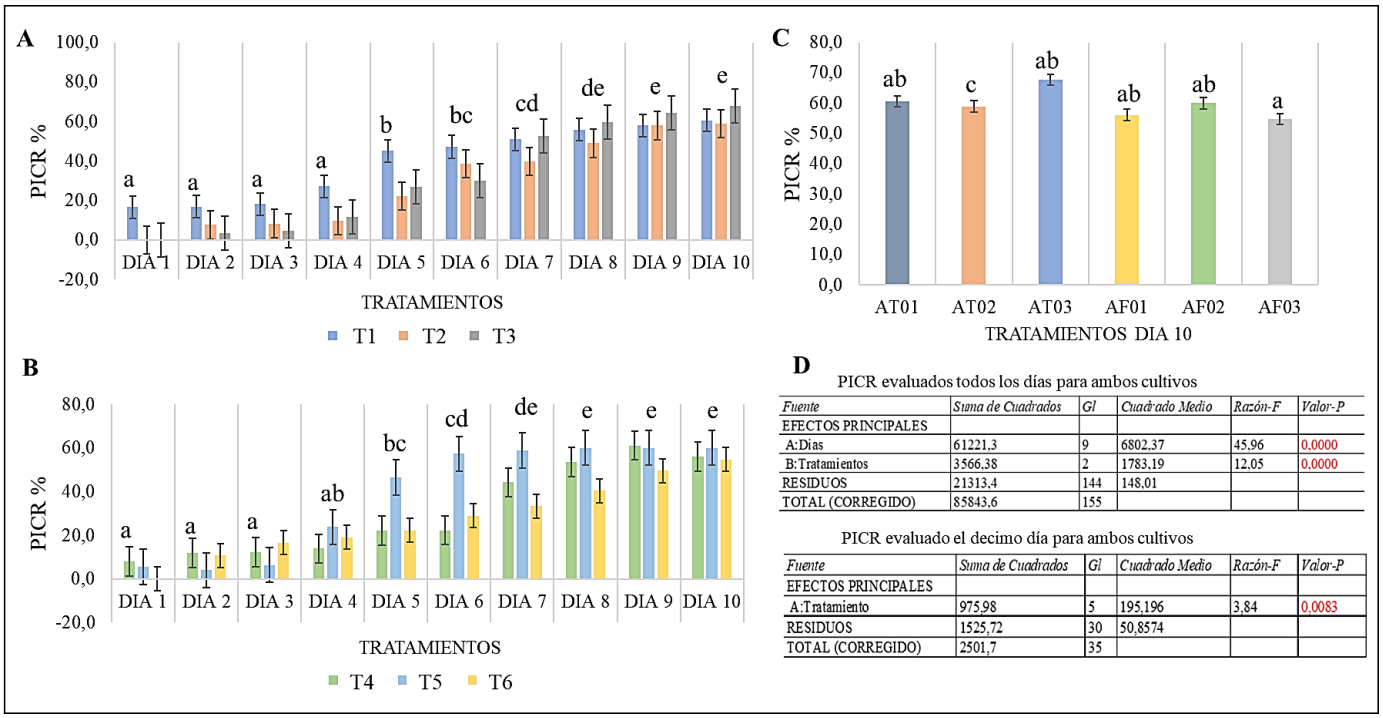
Las cepas nativas para biocontrol, suelen ser más efectivas que las importadas, no obstante, esta capacidad depende de la especificidad de la cepa y su modo de acción (MoA), es importante señalar que no todas las especies o cepas de *Trichoderma* tienen la misma capacidad de control de patógenos o plagas, responden igualmente a diversos cultivos o cultivares, funcionan eficazmente en diferentes ubicaciones geográficas o son capaces de mantener un nivel estándar constante de protección (Woo et al., 2022). Es por esto que los estudios *in vitro*, son necesarios, porque permiten monitorear la actividad de los posibles microorganismos biocontroladores, para enfocar de manera más precisa el futuro control y manejo de una enfermedad. A continuación, se desglosan los resultados del antagonismo de *T. asperelloides* a través de las variables como porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), micoparasitismo (MICMO y la competencia por espacio y nutrientes mediante la evaluación del radio de crecimiento antagonista (RCA), radio de crecimiento patógeno (RCP).

Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR)

A continuación, en la figura 23 se describe el comportamiento de los cultivos duales con respecto a la inhibición del crecimiento radial de los patógenos en estudio frente *T. asperelloides* durante los 10 días de seguimiento.

Figura 23

Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de los seis (6) tratamientos en cultivos duales de los patógenos con T. asperelloides durante 10 días de evaluación.



Nota: (A) %PICR diario de los fitopatógenos de tomate cherry vs el antagonista; (B) %PICR diario de los fitopatógenos de fresa vs el antagonista; (C) %PICR diario de los fitopatógenos de tomate cherry y fresa vs el antagonista en el día 10; (D) resultados del análisis de varianza. Las letras en las barras indican diferencias significativas en los tratamientos. Las barras verticales representan el error estándar. Fuente: Autor.

Según lo arrojado por el estadístico (fig. 23D, fig. E3 p.130 y fig. E4 p.131), los dos (2) valores-P (tratamientos y tiempo) son menores que 0.05, es decir, que los tratamientos tienen un

efecto estadísticamente significativo sobre %PICR. En la Figura 23A se puede observar el seguimiento de los % PICR diarios correspondientes a los tratamientos del cultivo de tomate cherry. Se evidencia que desde el día 1 al 4to día el antagonista tuvo radios de crecimientos cercanos a los patógenos, por eso los porcentajes bajos (0%-20%). A partir del día 5, la inhibición empieza a ser estadísticamente significativa. Lo anterior supone que la efectividad en condiciones *in vitro* por parte de la cepa pudo llevarse a cabo entre el quinto día hasta el décimo, siendo mejor los días 9 y 10. En relación, a los aislados en el cultivo de fresa (fig. 23B), también, a partir del día 5 la inhibición empieza a ser estadísticamente significativa, sin embargo, *T. asperelloides* ejerció una mejor inhibición y control de patógenos los días 8, 9 y 10.

En cuanto, al %PICR en el décimo día, según el estadístico (fig. 23D y fig. E5 p.132), el valor-P fue menor que 0,05, por ende, los tratamientos tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el % PICR. Es importante resaltar que todos los tratamientos presentaron un PICR superior al 50%, resultados similares a los obtenidos por Suárez Meza et al. (2008). Michel A. (2001), halló en su trabajo un nivel de PICR de 69,5% con una cepa nativa de *Trichoderma* spp. En el día 10 (fig. 23C), el crecimiento radial de *T. asperelloides* sobre los hongos patógenos fue variable, ejerciendo una mayor inhibición y control en *Cladosporium* spp. AT03 (67,7%), seguidos *Fusarium* cf. *oxysporum* AT01 (60,5%) y *Botrytis* cf. *cinerea* AF02 (60.0%), por último, *Fusarium* cf. *solani* AT02 (58,9%), *Cladosporium* spp AF01 (56,1%) y *Pestalotia* spp AF03 (54,5%). Lo anterior indica que *T. asperelloides* puede crecer rápido aún en presencia de patógenos con alta agresividad, como *Botrytis cinérea* y *Fusarium* spp.

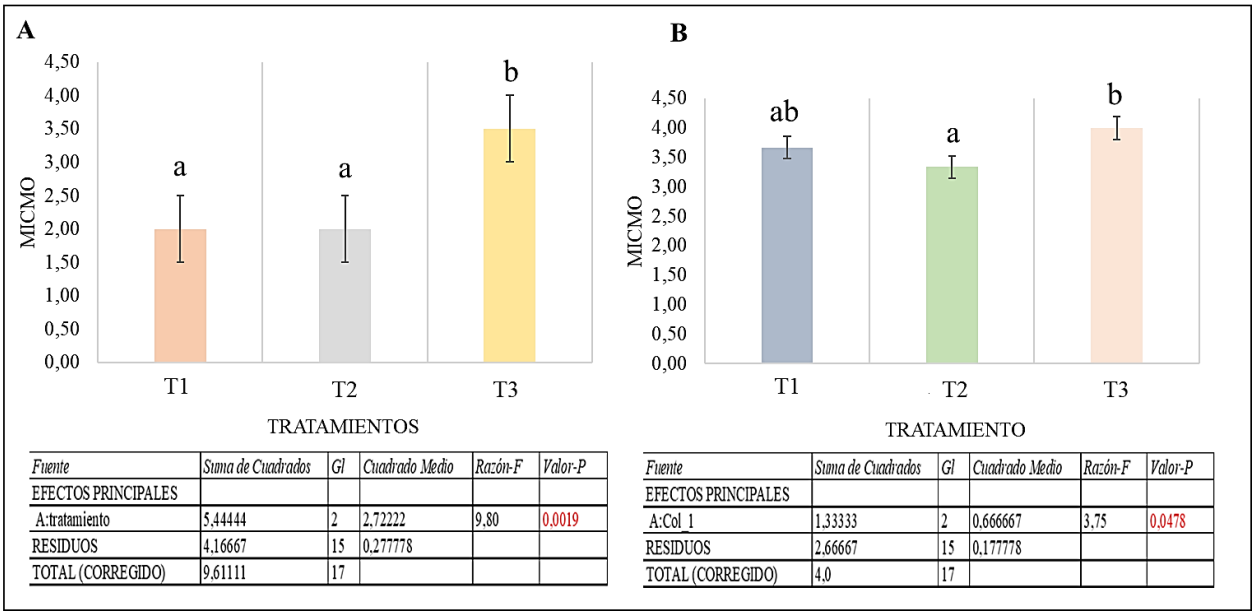
Micoparasitismo

Uno de los mecanismos más estudiados y reconocido como el más importante *Trichoderma* spp., es la competencia por espacio y nutrientes. En la siguiente tabla se observan los resultados

obtenidos con respecto al grado de actividad antagónica y el potencial biocontrolador de *Trichoderma* spp. frente a los fitopatógenos, tomando en cuenta el mecanismo de competencia.

Figura 24

Grado de micoparasitismo (MICMO) de 6 tratamientos, correspondientes a cultivos duales de los patógenos frente a T. asperelloides.



Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	5,44444	2	2,72222	9,80	0,0019
RESIDUOS	4,16667	15	0,277778		
TOTAL (CORREGIDO)	9,61111	17			

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Col_1	1,33333	2	0,666667	3,75	0,0478
RESIDUOS	2,66667	15	0,177778		
TOTAL (CORREGIDO)	4,0	17			

Nota: (A) corresponde a los tratamientos de los patógenos aislados en el cultivo de tomate cherry y (B) los tratamientos de los patógenos aislados en el cultivo de fresa. En la parte inferior de cada gráfico se encuentran los resultados del análisis de varianza. Las letras en las barras indican diferencias significativas en los tratamientos. Las barras verticales representan el error estándar. Fuente: Autor.

En la evaluación del grado de micoparasitismo, el valor-P fue menor que 0.05, encontrando un efecto estadísticamente significativo (fig. 24 y fig. E9 p.136), en todos los tratamientos (inciso A y B). En la figura 24A, se observa que los enfrentamientos con *Fusarium* cf. *oxysporum* y *Fusarium* cf. *solani* fueron diferentes que con *Cladosporium* spp. AT03 desarrollando *T. asperelloides* más invasión en él (fig. D2 p.126 y tabla 6 p.91). En el inciso B, los tres tratamientos

fueron diferentes entre sí, pero obtuvieron grados de micoparasitismo similares, *Cladosporium* spp. AF01 y *Pestalotia* spp. fueron más invadidos por *T. asperelloides,* que *Botrytis* cf. *cinerea* (fig. D2 p.126 y tabla 6 p.91). A continuación, se presenta una tabla con los grados de capacidad biocontroladora obtenidos en los enfrentamientos realizados y su potencial como biocontrolador, hay que destacar que las pruebas *in vitro* son diferentes a las de campo abierto o invernadero, estas sirven como ensayos preliminares.

Tabla 6.

Grado de la capacidad biocontroladora y los tipos de inhibición.

Cepa	Grado	Capacidad antagónica	Potencial biocontrolador	Inhibición Porter (1923)
Fusarium cf. *oxysporum*	2	*T. asperelloides* invadió 1/2 de la superficie de la colonia del AT01	Deficiente	D
Fusarium cf. *solani*	2	*T. asperelloides* invadió 1/2 de la superficie de la colonia del AT02	Deficiente	D
Cladosporium spp. AT03	4	*T. asperelloides* invadió totalmente la superficie de la colonia de AT03 con esporulación sobre ella.	Muy bueno	B
Cladosporium spp. AF01	4	*T. asperelloides* invadió totalmente la superficie de la colonia de AF01 con esporulación sobre ella.	Muy bueno	B
Botrytis cf. *cinerea*	3	*T. asperelloides* invadió totalmente la superficie de la colonia de AF02.	Bueno	B y C
Pestalotia spp.	4	*T. asperelloides* invadió totalmente la superficie de la colonia de AF03 con esporulación sobre ella.	Muy bueno	E y B

Nota: se explican los grados de la capacidad biocontroladora de *T. asperelloides* acorde a la escala empleada por Elías y Arcos (1984) y citada por Astorga et al. (2014) y los tipos de inhibición Según Porter (1923).

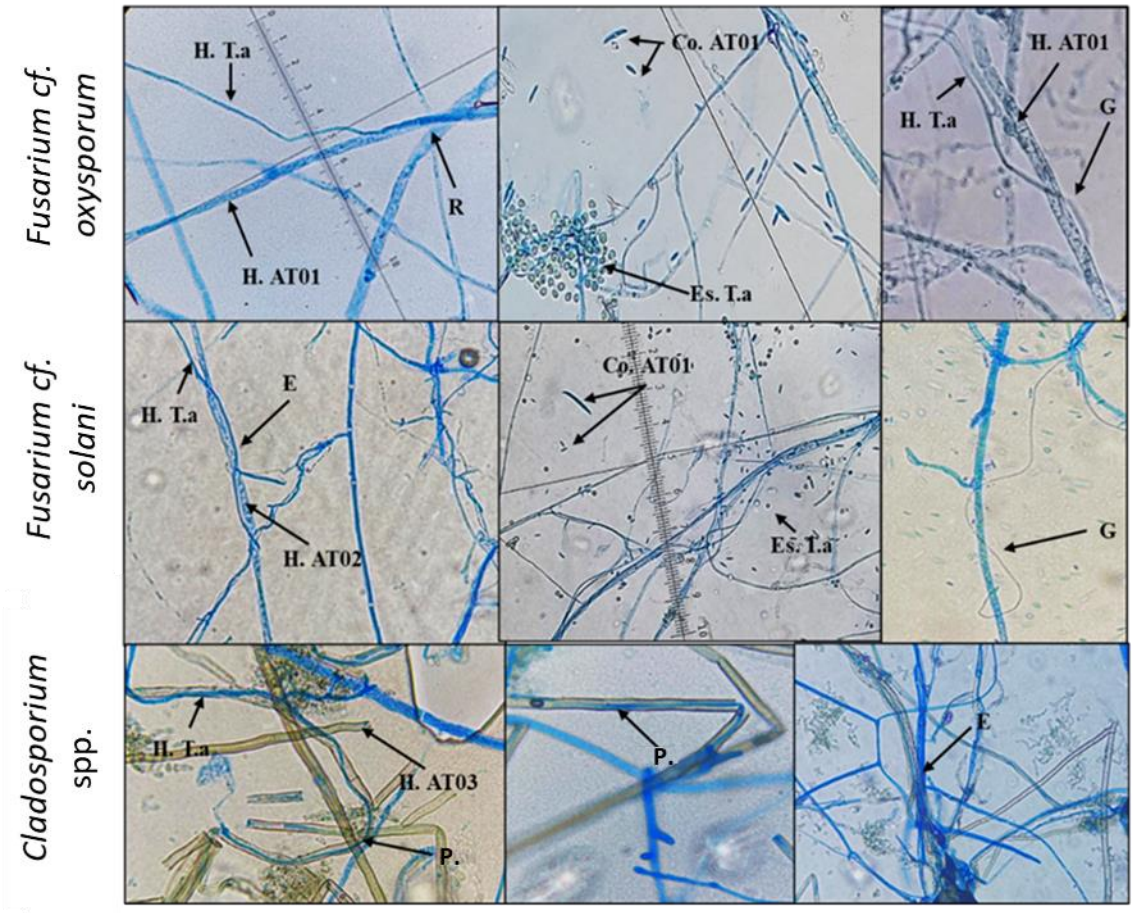
Los resultados de micoparasitismo plasmados en la figura 24 y en la tabla 6, indican que *T. asperelloides* redujo significativamente el tamaño de las colonias de los fitopatógenos, logrando invadir las áreas de crecimiento y desarrollo de los mismo. El antagonismo en los cultivos duales, presentado por *T. asperelloides* hacia *Cladosporium* spp. AT03, *Cladosporium* spp. AF01 y *Pestalotia* spp. en comparación a los demás patógenos utilizados (*F.* cf. *oxysporum*, *F.* cf. *solani* y *B.* cf. *cinerea*) fue mayor, logrando tener un muy buen potencial biocontrolador hacia ellos. Según Astorga-Quirós et al. (2014), las variaciones en el potencial biocontrolador de una cepa específica están ligadas a las características genéticas y los factores ambientales presentes, así como a las interacciones con otros microorganismos.

Además, según Woo et al. (2022), muchas especies de *Trichoderma* que viven en el suelo desarrollaron una característica distintiva de género por su capacidad de producir una gran cantidad de enzimas hidrolíticas (exoquitinasa y endoquitinasa) que les permitieron micoparasitar hongos Ascomycota de importancia económica como *Botrytis* spp., *Colletotrichum* spp., *Erysiphe* spp. *Fusarium* spp., *Magnaporthe* spp., *Sclerotinia* spp. y *Verticillium* spp., lo antes mencionado puede soportar los resultados de micoparasitismo obtenidos, ya que todos los fitopatógenos aislados son ascomicetos.

En cuanto a los tipos de inhibición determinada por Porter (1923), el tratamiento con *F.* cf. *oxysporum*, presentó al inicio una inhibición leve y luego un crecimiento alrededor; el de *F.* cf. *solani* un crecimiento alrededor; *Cladosporium* spp. AT03, *Cladosporium* spp AF01 y *B.* cf. *cinerea* una inhibición sobrepuesta y finalmente *Pestalotia* spp. empezó con una inhibición a distancia y término *T. asperelloides* sobrepuesto (fig. D2 p.126). Estos resultados revelan la capacidad competitiva de *Trichoderma asperelloides* frente a los fitopatógenos, al invadirlos e impedir su crecimiento en el mismo substrato.

Figura 25

Interacción entre hifas de T. asperelloides (antagonista) y los aislados del cultivo de tomate cherry (patógenos) bajo objetivo de 40X y 100x.



Nota: En cada fila se observan las interacciones de las hifas del antagonista con cada patógeno según el tratamiento. En la fila de *F.* cf. *oxysporum*: se señalan las hifas y esporas del patógeno (AT01) y la del antagonista (T.a), R: reconocimiento, G: gancho. En la fila de *F.* cf. *solani* AT02: E: enrollamiento. En la fila de *Cladosporium* spp. AT03, P: penetración. Fuente: Autor.

Las microfotografías obtenidas durante el proceso de interacción de *T. asperelloides* con los fitopatógenos en los cultivos duales (fig. 25) revelaron: en el caso de *F.* cf. *oxysporum*, se observa como la hifa de *T. asperelloides* reconoce a la de *F.* cf. *oxysporum* y le realiza un gancho

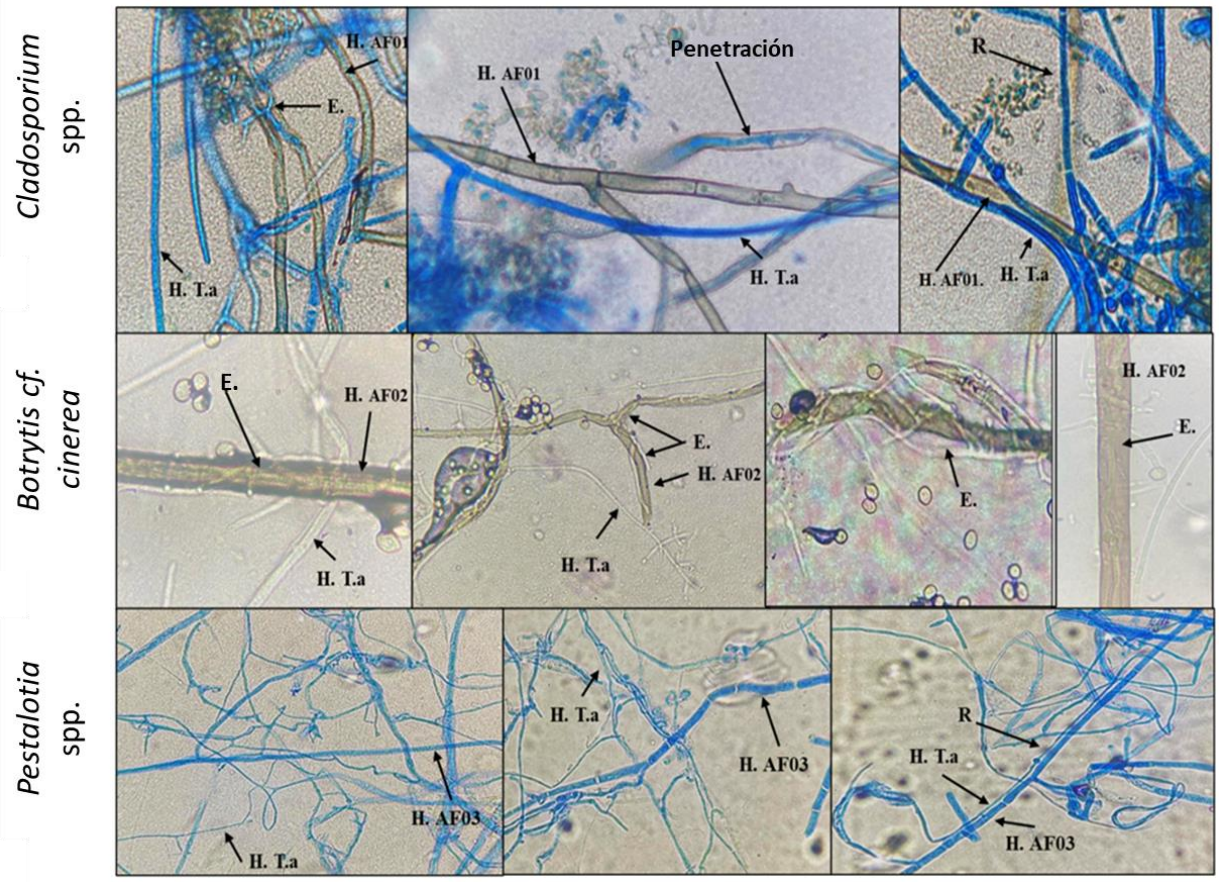
para el enrollamiento, ambos compiten el espacio y el sustrato mediante la esporulación. Con *F.* cf. *solani* pasó lo mismo, la hifa de *T. asperelloides* formó gancho y enrollamiento; también, ambos compitieron por el espacio y sustrato a través de la esporulación. Estos resultados pueden ser soportados por los obtenidos según el MICMO de ambos aislados (fig. 24).

Por otro lado, las hifas de *T. asperelloides* enrollaron a las hifas de *Cladosporium* spp. AT03, la fragmentaron para luego penetrarlas; este resultado concuerda con los obtenidos anteriormente, ya que fue el del PICR mayor (67.7%) y el MICMO tipo 4, es decir que el antagonista ejerce un buen potencial biocontrolador posiblemente con la expulsión de enzimas. Resultados similares a los obtenidos reportó Cárdenas (2014), ya que visualizó hifas fragmentadas de *Rhizoctonia solani* ocasionadas por la producción de enzimas líticas del antagonista.

Con las interacciones observadas en todos los tratamientos del cultivo de tomate cherry, se puede corroborar lo expuesto por Infante et al. (2009), cuando explican que, durante el proceso de micoparasitismo, "*Trichoderma* spp. se adhieren a las hifas del mismo, las cuales frecuentemente se enrollan y en ocasiones son penetradas. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en las etapas finales del proceso parasítico, lo cual resulta en un debilitamiento casi completo del fitopatógeno".

Figura 26

Interacción entre hifas de T. asperelloides (antagonista) y los aislados del cultivo de fresa (patógenos) bajo objetivo de 40X y 100X.



Nota: En cada fila se observan las interacciones de las hifas del antagonista con cada patógeno según el tratamiento. En la fila de *Cladosporium* spp. AF01: se señalan las hifas del patógeno (AF01) y la del antagonista (T.a), E: enrrollamiento, R: reconocimiento y penetración. En la fila de *B.* cf. *cinerea*: E: enrollamiento. Para *Pestalotia* spp. solo hifas del antagonista sobre el fitopatógeno y el reconocimiento. Fuente: Autor.

En cuanto a los patógenos del cultivo de fresa, en las microscopias de los enfrentamientos (fig. 26), se observó que *T. asperelloides* con *Cladosporium* spp. AF01, reconoció la hifa del patógeno, la enrolló y posteriormente penetró, demostrando el grado de micoparasitismo

provocado por el antagonista (tipo 4). Con respecto al enfrentamiento con *B.* cf. *cinerea*, se pudo observar como las hifas de *T. asperelloides*, enrollan las hifas de *Botrytis* cf. *cinerea*. Según Carvajal et al. (2015), las hifas de *Trichoderma* spp. se pueden distinguir de las de los fitopatógenos ya que son más delgadas y tienden a enrollar las hifas de los fitopatógenos. Diferente acción se evidenció con *Pestalotia* spp. AF03, donde no se observó ningún evento de micoparasitismo a nivel microscópico, sólo el reconocimiento y las hifas de *T. asperelloides* por encima de *Pestalotia* spp., también fue visible un número de hifas superiores a la del patógeno, demostrando su habilidad de crecer y competir por espacio y nutrientes. No siempre, todas estas interacciones son observadas, pues al parecer dependen de: *Trichoderma* spp., del patógeno y de las condiciones del ambiente.

Camacho-Luna et al. (2021), en su estudio reportó que *Trichoderma* spp. tuvo el potencial para atacar y destruir por micoparasitismo a hongos patógenos de importancia agrícola como *Alternaria alternata, Botrytis cinerea, Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotium, Phytium y Fusarium* spp., presentando los cuatro eventos característicos del micoparasitismo empleado por este género: el contacto, la invasión, la penetración y la destrucción del micelio. Resultados similares encontraron Pérez Torres et al. (2013) *Trichoderma* spp. presentó alta capacidad antagónica con diferentes tipos de interacción hifa, como lisis, vacuolización, enrollamiento y penetración.

Otro aspecto a destacar en las observaciones microscópicas, es que a pesar que *F*. cf. *oxysporum* y *F*. cf. *solani* esporularon no desarrollaron en el enfrentamiento clamidosporas y *Botrytis* cf. *cinerea* no produjo esclerocios. Se ha demostrado que *Trichoderma* spp. en interacciones con fitopatógenos, inhibe eficazmente la germinación de esporas, el

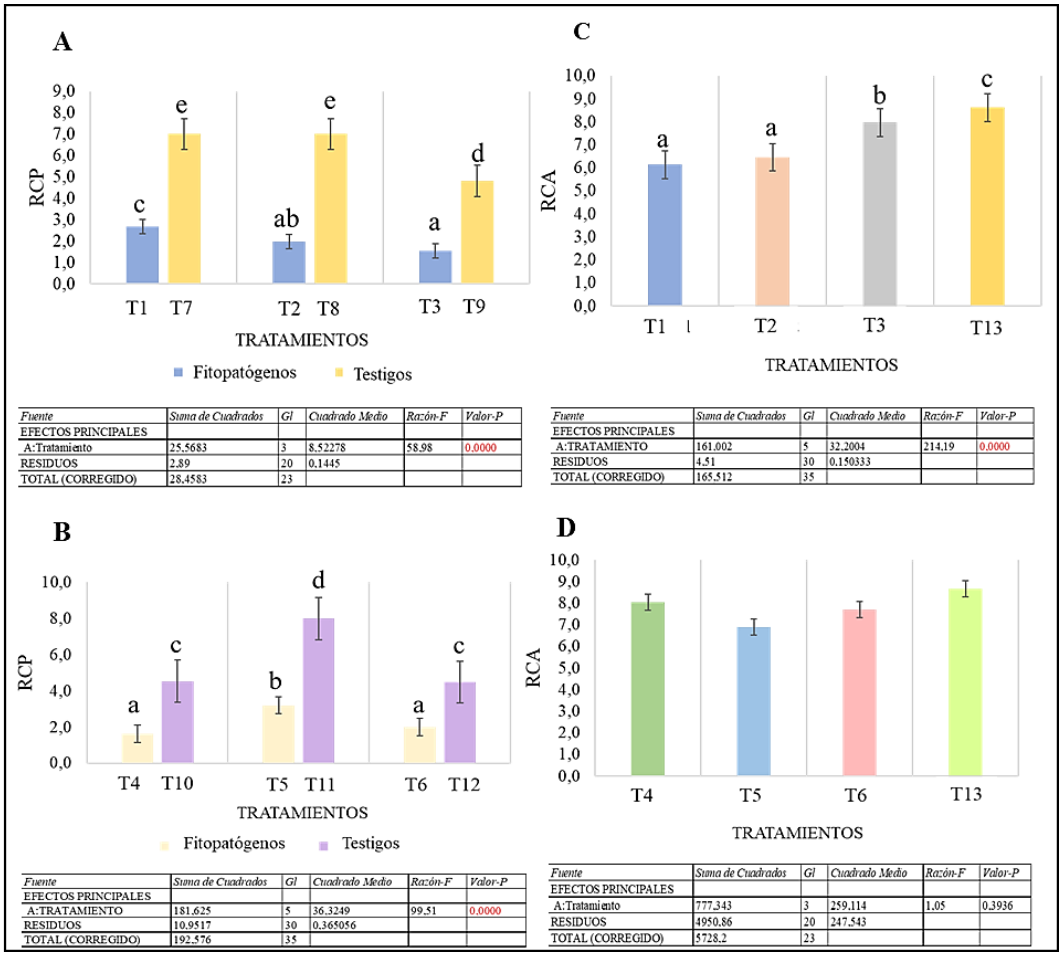
crecimiento de hifas y el desarrollo de estructuras vegetativas de hongos latentes (como esclerocios y clamidosporas) en una amplia gama de patógenos (Woo et al., 2022).

Competencia por espacio y nutrientes

La competencia por espacio y nutrientes, se considera un mecanismo de antagonismo de gran relevancia, y está relacionado con la respuesta desigual de dos o más organismos frente a una misma necesidad, ya sea en términos de sustrato o nutrientes, siempre y cuando esto limite la cantidad o espacio disponible para los demás (Infante et al., 2009).

Figura 27

Radio de crecimiento patógeno (RCP) de cada cultivo dual y radio del crecimiento antagonista (RCA) con sus testigos.



Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	25,5683	3	8,52278	58,98	0,0000
RESIDUOS	2,89	20	0,1445		
TOTAL (CORREGIDO)	28,4583	23			

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTO	161,002	5	32,2004	214,19	0,0000
RESIDUOS	4,51	30	0,150333		
TOTAL (CORREGIDO)	165,512	35			

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTO	181,625	5	36,3249	99,51	0,0000
RESIDUOS	10,9517	30	0,365056		
TOTAL (CORREGIDO)	192,576	35			

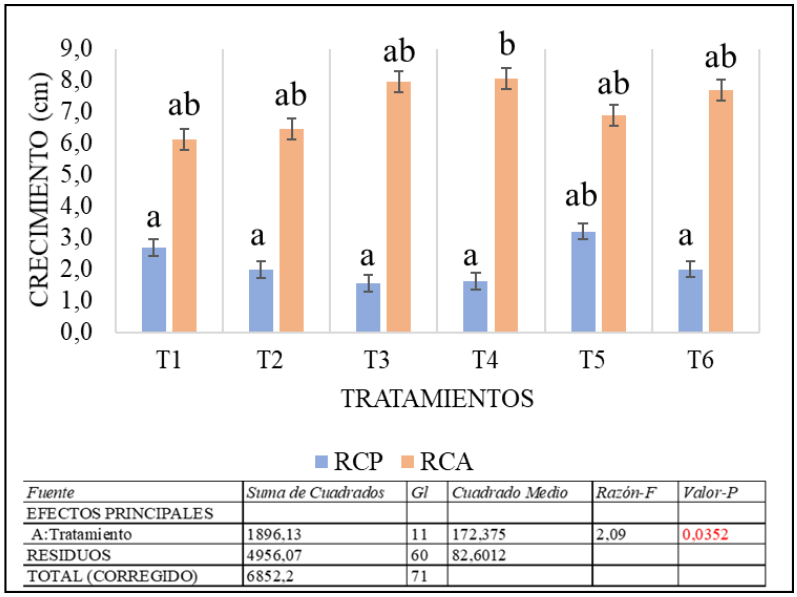
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	777,343	3	259,114	1,05	0,3936
RESIDUOS	4950,86	20	247,543		
TOTAL (CORREGIDO)	5728,2	23			

Nota: en el inciso A se presentan los radios de crecimientos micelial de los patógenos del cultivo de tomate cherry y en el B los de fresa. En el inciso C se presentan los radios de crecimiento micelial de los antagonistas enfrentados con los patógenos del cultivo de tomate cherry y en el D enfrentados con los del cultivo de fresa. Todos los gráficos contienen en su parte inferior los resultados del análisis de varianza. Las letras en las barras indican diferencias significativas en los tratamientos. Las barras verticales representan el error estándar. Fuente: autor.

Al comparar el radio de crecimiento patógeno (RCP) de cada cultivo dual (fig. 27 A-B), con sus respectivos controles, se evidencia que los patógenos solos (control), se desarrollaron a una velocidad mayor que en los cultivos duales, demostrando la actividad antagónica ejercida por *T. asperelloides*. Mientras que al comparar los RCA de cada tratamiento (fig. 27 C-D), se observa que los tratamientos con fitopatógenos de la fresa no tuvieron ningún efecto estadísticamente significativo entre ellos ($p \leq 0{,}3936$) (fig. 27D inferior y fig. E6 p.133), es decir el antagonista creció similar en el control (8,5 cm) que en el enfrentamiento (7,5 centímetros $\bar{x}$), pero si existieron diferencias entre los RCA con los tratamientos del cultivo de tomate cherry (fig. E7 p.134), aunque guardaron relación, esto es porque *F.* cf. *oxysporum* y *F.* cf. *solani* compitieron muy bien contra el antagonista. Los resultados obtenidos son similares a los presentados por Suárez Meza et al. (2008), donde “los aislamientos del antagonista tuvieron un crecimiento muy similar al promedio de sus testigos, mientras que el patógeno mostró un crecimiento limitado en cultivo dual”.

Figura 28

Crecimiento radial de los patógenos y de T. asperelloides en cultivos duales, a los 10 días de evaluación.



Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	1896,13	11	172,375	2,09	0,0352
RESIDUOS	4956,07	60	82,6012		
TOTAL (CORREGIDO)	6852,2	71			

Nota: Se observa el crecimiento radial de los fitopatógenos y del antagonista en cultivo dual, en la parte inferior se encuentra el análisis de varianza. Las letras en las barras indican diferencias significativas en los tratamientos. Las barras verticales representan el error estándar. Fuente: autor.

Al hacer la comparación del radio del crecimiento antagonista (RCA), con el radio de crecimiento patógeno (RCP) de cada cultivo dual (fig. 28), se determinó la competencia por espacio y nutrientes, donde se encontró, que todos los fitopatógenos se desarrollaron a una velocidad menor que el antagonista. Además, se observó claramente que los RCP fueron muy inferiores con respecto al radio que presentó el antagonista (RCA). Rozo (2021) en su estudio también reportó que las cepas de *T. asperelloides*, lograron una invasión más agresiva en comparación a los demás antagonistas evaluados y además mantuvieron una velocidad de crecimiento mayor a la del patógeno.

Esto indica que probablemente, *T. asperelloides* consiguió tener una tasa de incorporación de nutrientes y un crecimiento superior a los patógenos. Según Michel (2001) es gracias a la "secreción de enzimas hidrolíticas (celulasas, quitinasas, glucanasas, xylasas y muchas veces las proteasas), las cuales pueden estar implicadas en los mecanismos de biocontrol, permitiéndole al antagonista aprovechar mejor los nutrientes del medio y privar al patógeno de utilizar los recursos". Esta comparación, demuestra como un patógeno ante un antagonista se inhibe y retrasa su crecimiento en un mismo espacio de confrontación, mientras que el antagonista crece en un cultivo dual de manera similar a su control, limitando la cantidad o espacio disponible para sus oponentes. Existen cepas antagonistas que llegan a tener un radio de crecimiento muy cercano al de los respectivos tratamientos testigos, e incluso llegan a cubrir el 100% de la caja de Petri (Rodríguez y Wang, 2020).

Finalmente, los resultados de este estudio respaldan las aplicaciones que tiene el género *Trichoderma* como agente de biocontrol exitoso para mejorar la protección y producción de cultivos. Los avances biotecnológicos podrían permitir el uso seguro y generalizado de *Trichoderma* spp. en plantas para conferir una mayor resistencia a los patógenos, reduciendo así el uso de agroquímicos y mejorando la capacidad de los cultivos para superar condiciones ambientales adversas.

Conclusiones

Las muestras obtenidas a partir de material infectado, facilitaron el aislamiento de patógenos, donde a través de sus características fenotípicas y claves taxonómicas, se identificaron tres (3) cepas con prevalencia patogénica del cultivo de tomate cherry; dos (2) pertenecientes al género *Fusarium* y uno (1) al género *Cladosporium.* También, se describieron tres (3) cepas de interés patogénico en el cultivo de fresa, correspondientes a los géneros *Botrytis*, *Pestalotia* y *Cladosporium*.

Se realizó la prueba de patogenicidad *in vitro* y se confirmó la capacidad patogénica de los hongos aislados. En las plántulas de tomate cherry, *Fusarium* cf. *oxysporum* y *Fusarium* cf. *solani* fueron los más patogénicos, causando síntomas de marchitez vascular y necrosis; *Cladosporium* spp. fue menos patogénico que los anteriores, aun así, causó hojas amarillentas, enrolladas y necróticas. En las plántulas de fresa, *Botrytis* cf. *cinerea,* fue el más patogénico, causando pudrición en el fruto y muerte de la planta; mientras que *Pestalotia* spp. y *Cladosporium* spp., fueron menos patogénicos, sin embargo, causaron necrosis marginal y manchas en las hojas y frutos.

Se determinó la capacidad biocontroladora *in vitro* de *Trichoderma asperelloides* frente a los fitopatógenos aislados en los cultivos de tomate cherry y fresa, evidenciando que el antagonista mostró una alta actividad contra los seis patógenos, dicha eficacia varió según el patógeno, siendo *Cladosporium* spp. el más susceptible y *Fusarium* cf. *oxysporum* y *Fusarium* cf. *solani* los menos susceptibles en el caso del cultivo de tomate cherry, en el cultivo de fresa el menos susceptible fue *Botrytis* cf. *cinerea* y los más susceptibles *Pestalotia* spp. y *Cladosporium* spp. Así mismo se evidenciaron interacciones micoparasitas en todos los tratamientos, con diferentes grados de

intensidad. El mayor grado de micoparasitismo se observó con *Pestalotia* spp., *Cladosporium* spp. y *Botrytis* cf. *cinerea*, seguido de *Pestalotia* spp. y por último *Fusarium* cf. *oxysporum* y *Fusarium* cf. *solani*. En cuanto a la competencia por espacio y nutrientes, *T. asperelloides* mostró una mayor tasa de crecimiento y capacidad de colonización que los patógenos en todos los tratamientos, excepto con *Botrytis* cf. *cinerea*. Finalmente, la cepa *T. asperelloides*, logró controlar los patógenos aislados desde sus diferentes mecanismos de acción, esto demuestra su alto potencial como biocontrolador para el manejo de las enfermedades causadas por los patógenos estudiados.

Recomendaciones

- Realizar ensayos de invernadero y a campo abierto para evaluar la efectividad de la cepa, para futuros usos como bioinsumo o enmienda de abonos orgánicos usando *Trichoderma asperelloides* en los cultivos de tomate cherry (*Solanum lycopersicum*) y fresa (*Fragaria* × *ananassa*)

- Capacitar a agricultores sobre la implementación de estrategias más amigables con el medio ambiente y las consecuencias que tiene la aplicación de agroquímicos en cultivos, tanto para la salud humana, inocuidad y calidad del fruto y finalmente el daño ambiental.

- Implementar métodos de caracterización molecular de fitopatógenos presentes en cultivos pertenecientes al territorio nortesantandereano para futuros controles biológicos.

- Estudiar más a fondo los diferentes mecanismos de acción de *Trichoderma* spp.

Referencias

Acosta, J. (2022). Evaluación *in vitro* de la capacidad antagonista de *Trichoderma* spp. y *Clonostachys* spp. frente a *Neopestalotiopsis* en frutilla (*Fragaria ananassa* Duch.).

Águila, P. (2011). AGRICULTURA SUSTENTABLE. Idesia, 29(3), 3-5. https://doi.org/md23

Aguilar-Martínez, G y García-Domínguez, L. (2008). Diagnóstico fitosanitario de la producción de fresa en Villa Guerrero, México. [Trabajo de Grado Pregrado, INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL]. https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/14640

Ail, C., y Galicia, M. (2022). Investigación en Ciencias agrícolas. Desarrollo científico y tecnológico en la producción agrícola sustentable.

Allende C, M., Salinas P, L., Olivares P, N., Riquelme S, J., Antúnez B, A., martinez C, J. P.,Felmer E, S. (2017). Manual de cultivo de tomate en invernadero, 112. https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/123456789/6708/NR40982.pdf?sequence=1yisAllowed=y

Andrade-Hoyos, P., Rivera-Jiménez, M. N., Landero-Valenzuela, N., Silva-Rojas, H. V., Martínez-Salgado, S. J., y Romero-Arenas, O. (2023). Beneficios ecológicos y biológicos del hongo cosmopolita *Trichoderma* spp. en la agricultura: una perspectiva en el campo mexicano. Revista Argentina De Microbiología. https://doi.org/md24

Astorga-Quirós, K., Meneses-Montero, K., Zúñiga-Vega, C., Brenes-Madriz, J. A., y Rivera-Méndez, W. (2014). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. *Revista Tecnología En Marcha*, *27*(2), pág. 82–91. https://doi.org/10.18845/tm.v27i2.1929

Atanasova, L., Druzhinina, I. S., Jaklitsch, W. M., Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Singh, U. S., Mukherjee, M., y Schmoll, M. (2013). Two hundred *Trichoderma* species recognized on the basis of molecular phylogeny. En CABI eBooks (pp. 10-42). https://doi.org/10.1079/9781780642475.0010

Baggio, J., Forcelini, B., Wang, N., Ruschel, R., Mertely, J. y Peres, N. (2020). Brote de mancha foliar y pudrición del fruto en fresa de Florida causado por *Neopestalotiopsis* spp. Enfermedad de las plantas. https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1290-RE

Barnett, HL y Hunter, BB. (1998). Géneros ilustrados de hongos imperfectos. 4ta edición, APS Press, St. Paul.

Biché, J. (2019). Identificación y caracterización de aislados de *Botrytis cinérea* obtenidos desde flores atizonadas y frutos con pudrición calicinal cvs. Cripps Pink y Fuji. http://dspace.utalca.cl/handle/1950/11902

Bolda, M., Surendra, K., Fallon, J., Sánchez, M., y Peterson, K. (2015). Manual de Producción de fresa para los Agricultores de la Costa Central. https://kupdf.net/download/manual-Fresa_62c7738ce2b6f5423b5bea0c_pdf

Bonet, J. (2010). Desarrollo y carecterización de herramientas genómicas en fragaria diploide para la mejora del cultivo de fresa. https://hdl.handle.net/10803/42009

Brent, K y Hollomon, D. (2007). Fungicide resistance in crop protection, how can it be managed. FRAC Monograph 1. 2º Ed. Brussels, Belgium. FRAC. 56 p.

Cáceres, D. (2003). Agricultura Orgánica versus Agricultura Industrial: Su Relación con la Diversificación Productiva y la Seguridad Alimentaria. Agroalimentaria, 8(16), 29-39.

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttextypid=S1316-03542003000100002ylng=esytlng=es.

Cadenas, f., Gonzales, V. Y Hernandez, M. (2003). “El cultivo protegido del tomate”. En: Camacho, F. Técnicas de producción en cultivos protegidos. (Tomo 2). Almería: Caja Rural Intermediterranea, Cajamar y Institutos de estudios Cajamar. Pp. 483-587.

Camacho-Luna, V., Flores-Moctezuma, H. E., Rodríguez-Monroy, M., Montes-Belmont, R., & Sepúlveda-Jiménez, G. (*2021). Inducción de la respuesta de defensa de plantas de cebolla en la interacción con trichoderma asperellum* y *alternaria porri.* Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 12(4), 685-698. https://doi.org/10.29312/remexca.v12i4.2683

Cámara De Comercio De Bogotá. (2015). Manual fresa. http://hdl.handle.net/11520/14312

Cárdenas, Y. G. (2014). *Actividad antagónica de cepas autóctonas de trichoderma spp. frente a fitopatógenos de suelo*. Redalyc.org. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209131412007

Carmona, M., y Sautua, F. (2017). LA PROBLEMÁTICA DE LA RESISTENCIA DE HONGOS a FUNGICIDAS. CAUSAS y EFECTOS EN CULTIVOS EXTENSIVOS. https://www.researchgate.net/publication/322087525_LA_PROBLEMATICA_DE_LA_RESISTENCIA_DE_HONGOS_A_FUNGICIDAS_CAUSAS_Y_EFECTOS_EN_CULTIVOS_EXTENSIVOS

Carmona, S. (2019). Identificación de un aislamiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y respuesta fisiológica en tomate durante la infección frente a dos elicitores fúngicos. Universidad Nacional de Colombia.

Carrillo, F. J., Montoya, R. T., García, E. R., Cruz, O. J. & Sañudo, B. A. (2003). Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder y Hansen, en tomate (*Lycopersicon* Mill.) en el Valle de Culiacán, Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología, 21 (2), 123-127.

Carvajal, J. E. V., Rosero, S. E. V., & Orozco, W. L. V. (2015). Aplicación de antagonistas microbianos para el control biológico de moniliophthora roreri CIF & PAR en *theobroma cacao* L. Bajo condiciones de campo. Revista Facultad Nacional de Agronomía, 68(1), 7441-7450. https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47830

Castañeda, J. (2017). Mercado de productos agrícolas ecológicos en Colombia. Suma de Negocios, 8(18), 156-163. https://doi.org/10.1016/j.sumneg.2017.10.001

Castaño. (1998). Prácticas de laboratorio de fitopatología. Centro Editorial Universidad de Caldas, Manizales.

Cevallos, M., Urdane, F., y Jaimes, E. (2019). Desarrollo de sistemas de producción agroecológica: Dimensiones e indicadores para su estudio. Revista De Ciencias Sociales, 25(3), 172-185. https://doi.org/10.31876/rcs.v25i3.27365

Chen, K y Zhuang, WY. (2017). Discovery from a large-scaled survey of *Trichoderma* in soil of China. Scientific Reports, 7(1), 9090–. doi:10.1038/s41598-017-07807-3

Chulze, S. (2023). Agentes de control biológico de origen microbiano para reducir el impacto de hongos patógenos y toxicogénicos. Revista Argentina de Microbiología, 55(1), 1-2. https://doi.org/10.1016/j.ram.2023.02.001

Companioni B., Domínguez, G., y García, R. (2019). *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. Biotecnología Vegetal, 19(4), 237-248. Epub

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttextypid=S2074-86472019000400237ylng=esytlng=es.

Cruz, A. (2022). Control biológico de *Fusarium solani* resistente a fungicidas con cepas de *Trichoderma* spp.: Una alternativa agroecológica para el cultivo de fresa en Puebla, México. Publa: Benemérita Universidad de Puebla.

Delgado, L. (2019). Evaluación de inducción de resistencia en tomate (*Solanum lycopersicum L*.) con silicio y antagonismo de *Trichoderma viride* contra la marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*. Ibagué : Universidad del Tolima.

Diánez, F., Santos, M., Carretero, F., y Marín, F. (2015). *Trichoderma saturnisporum*,a new biological control agent. Journal of the Science of Food and Agriculture, 96(6), 1934-1944. https://doi.org/10.1002/jsfa.7301

Dias, D., y Euclides, C. (2023). Determinación del efecto de agrozoil sobre la incidencia de necrosis radical de fresa *Fragaria x ananassa* (Duch) variedad Monterrey. https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/38128

Dominio Agrícola. (2023). Antracnosis en fresa. De: https://dominioagricola.com/antracnosis-en-Fresa/

Elías, R, Arcos, O y Arbeláez, G. (1993). Estudio del antagonismo de algunas especies de *trichoderma* aisladas de suelos colombianos en el control de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Centro Editorial.

Estrada, G y Ramírez, M. (2019). Micología General. Colombia: Centro Editorial Universidad Católica de Manizales.

FAO. (2006). Agricultura, expansión del comercio y equidad de género. http://www.fao.org/3/a-a0493s.pdf

FAO. (2013). El cultivo de tomate con buenas prácticas agrícolas en la agricultura urbana y periurbana. https://www.fao.org/3/i3359s/i3359s.pdf

FAO. (2017). Agroecología para la Seguridad Alimentaria y Nutrición. Actas del Simposio Internacional de la FAO. https://www.fao.org/documents/card/en/c/1df54cc1-7cc5-4e38-bd10-496b43048b2c/

FAO. (2018). Los contaminantes agrícolas: una grave amenaza para el agua del planeta. http://www.fao.org/news/story/es/item/1141818/icode/

FAO. (2023). ¿Qué es la agricultura orgánica? Recuperado de http://www.fao.org/docrep/007/ad818s/ad818s03.htm

FAO. (2023). Cantidades de producción de fresas por país en 2021. De: https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize

FAO. (2023). Características relevantes de la agricultura orgánica https://www.fao.org/3/y4137s/y4137s0d.htm

Farrera, P., Zambrano, A.E, y Ortiz, F.A. (2007). Identificación de hongos asociados a enfermedades del fruto de la fresa en el municipio Jáuregui del estado Táchira. Revista de la Facultad de Agronomía, 24(2), 269-281. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttextypid=S0378-78182007000200005ylng=esytlng=es.

Fertilab. (2018). Identificación y síntomas de *Fusarium Oxysporum* y *Fusarium Solani.* https://www.fertilab.com.mx/blog/271-identificacion-y-sintomas-de-fusarium-oxysporum-y-solani/

Fraire Cordero, MD, YáñezMorales, MD, NietoAngel, D., & VázquezGálvez, G. (2003). Hongos Patógenos en Fruto de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) en Postcosecha . Revista Mexicana de Fitopatología , 21 (3), 285-291.

Gliessman, S. (2012). Agroecology: Growing the roots of resistance. Agroecology and Sustainable Food Systems, 37(1), 19-31. https://doi.org/10.1080/10440046.2012.736927

Granada, E. (2001). *Fusarium oxysporum* el hongo que nos falta conocer. https://doaj.org/article/a4821db7246543b799bc6863ff86044d

Guzmán, P., Kumar, A., De Los Santos, S., Parra, F. I., Del Carmen Orozco, M., Fadiji, A., Hyder, S., Babalola, O., y Santoyo, G. (2023). *Trichoderma* Species: Our Best fungal allies in the Biocontrol of Plant Diseases—A Review. *Plants*, *12*(3), 432. https://doi.org/10.3390/plants12030432

Harris, L. (2000). Letter to the editor: Safe, low-distortion tape touch method for fungal slide mounts. Journal of Clinical Microbiology, 38(12), 4683–4684. https://doi.org/md27

Hernández, A, Bautista, S, Velázquez, M, y Hernández, A. (2007). Uso de Microorganismos Antagonistas en el Control de Enfermedades Postcosecha en Frutos. Revista mexicana de fitopatología, 25(1), 66-74. Recuperado en 08 de diciembre de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttextypid=S0185-33092007000100009ylng=esytlng=es.

Ibarra, A. M., y Varela-R, A. (2002). Aislamiento, identificación y caracterización de hongos como agentes potenciales de control biológico en algunas regiones colombianas. *Revista Colombiana De Entomologia*, *28*(2), 129-137. https://doi.org/10.25100/socolen.v28i2.9637

IGAC. (2013). Muestreo de suelos Muestreo de aguas para análisis fisicoquímico y biológico. Instituto Geografico Agustin Codazzi, 8.

Infante, D, Martínez, B, González, N, y Reyes, Y. (2009). MECANISMOS DE ACCIÓN DE *Trichoderma* FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS. Revista de Protección Vegetal, 24(1), 14-21. Recuperado en 08 de diciembre de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttextypid=S1010-27522009000100002ylng=esytlng=es.

Jaramillo, J., Rodríguez, V., Gil, L., García, M., Clímaco, J., Quevedo, D., Sánchez, G., Aguilar, P., Pinzón, L., Zapata, M., Restrepo, J. y Guzmán, M. (2012). Tecnología para el cultivo de tomate bajo condiciones protegidas. Bogotá D.C, Colombia. Corpoica.

Kerr, B., Postigo, C., Smith, P., Cowie, A., Singh, P. K., Rivera-Ferré, M. G., Pahlen, M. C. T. D., Campbell, D., y Neufeldt, H. (2023). Agroecology as a transformative approach to tackle climatic, food, and ecosystemic crises. Current Opinion in Environmental Sustainability, 62, 101275. https://doi.org/10.1016/j.cosust.2023.101275

Leslie, J. y Summerell, B. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing, lowa, USA.

Leticia, R. Y. (2016). *Fusarium oxysporum* schltdl. y *Fusarium solani* (Mart.) sacc. causantes de la marchitez de plántulas de pinus spp. en Vivero. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttextypid=S2007-11322016000400025

Linares., M. y Camero, J. (2013). Implementación de un protocolo para la conservación de hongos filamentosos con potencial biotecnológico de la colección del laboratorio de química microbiológica de la Pontificia Universidad Javeriana. http://hdl.handle.net/10554/11837

Loaiza, W., Carvajal, Y. y Ávila, J. (2014) Evaluación agroecológica de los sistemas productivos agrícolas en la microcuenca centella (Dagua, Colombia). Colombia Forestal, 17(2), 161-179.

Lombard, L., Sandoval, M., Lamprecht, C., y Crous, P. (2019). Epitypification of *Fusarium oxysporum* – Clearing the taxonomic chaos. Persoonia, 43(1), 1-47. https://doi.org/10.3767/persoonia.2019.43.01

López, L. (2017). Manual técnico del cultivo del tomate *Solanum lycopersicum* – San José, C.R. : INTA. 121 p. http://repositorio.iica.int/handle/11324/3143

López, M. (2021). Diagnóstico morfológico de la pudrición de la corona de la fresa (*Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier) en el cantón Quito [Universidad Central del Ecuador]. http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/23969/1/UCE-FAG-LOPEZ%20MAYRA.pdf

Louws, F. (2018). *Botrytis* Fruit Rot / Gray Mold on Strawberry. https://content.ces.ncsu.edu/botrytis-cinerea-botrytis-fruit-rot-and-blight-on-strawberry

MAG. (2017). Manual de buenas prácticas agrícolas y de producción para el cultivo de la fresa. http://repositorio.iica.int/handle/11324/2932

Martín, A., Bascón, J., Alvarado, P., Aldea., y Cardero, O. (2019). Guía de gestión integrada de plagas fresa y fresón. https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productos-fitosanitarios/guias-gestion-plagas/horticolas/default.aspx

Martínez, F., Castillo, S., Carmona, E., y Avilés, M. (2009). Effect of soilless growing systems on the spread of *Verticillium dahliae* and the severity of the *Verticillium* wilt in strawberry. Spanish Journal of Agricultural Research, 7(2), 447. https://doi.org/10.5424/sjar/2009072-1502

Martínez, F., Cervantes, L., Aíl, C., Hernández, L., Del Toro Sánchez, C., y Rueda, E. (2016). Hongos fitopatógenos asociados al tomate (*Solanum lycopersicum l.*) en la zona árida del noroeste de

México: la importancia de su diagnóstico. European Scientific Journal, ESJ, 12(18), 232. https://doi.org/10.19044/esj.2016.v12n18p232

Matute, P. (2019). Control biológico del moho gris (*Botrytis cinerea*) en cultivos de fresa (*Fragaria vesca l.*) mediante hongos filamentosos antagonistas. https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18147

Micah, R. (2018). Especies de *Fusarium* asociadas a la marchitez del tomate: identificación, patogenicidad y control biológico. https://repositorio.chapingo.edu.mx/handle/123456789/1405

Michel, A. 2001. Cepas nativas de *Trichoderma* spp. (Euascomycetes:Hypocreales), su antibiosis y micoparasitismo sobre *Fusarium subglutinans* y *F. oxysporum (*Hyphomycetes:Hyphales). México: Universidad de Colima.

Minagricultura. (2021). Cadena de la fresa Dirección de Cadenas Agrícolas y Forestales. https://sioc.minagricultura.gov.co/Fresa/Documentos/2021-03-31%20Cifras%20Sectoriales.pdf

Miranda, S y Otoya, N. (2016). Evaluación de la actividad queratinolítica de aislamientos de *Fusarium* spp. de origen humano, animal y vegetal. http://hdl.handle.net/10554/57755.

Molina, L. (1998). Antracnosis foliar de *Pestalotia* sp. y *Gnimia* sp. en la fresa (*Fragaria* sp.) en el municipio de pasto.

Morales-Mora, L. A., Andrade-Hoyos, P., Ita, M. A. V., Romero-Arenas, O., Silva-Rojas, H. V., & Contreras-Paredes, C. A. (2020). Characterization of strawberry associated fungi and *in vitro* antagonistic effect of *Trichoderma harzianum. Revista mexicana de fitopatología*, *38*(3). https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2005-7

Muñoz R., Violeta, Cisterna O., Viviana y France I., Andre (2020) Aislamiento de microorganismos fitopatógenos [en línea]. Chillan: Boletin INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias. no. 428. p. 77-91. Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.14001/67165

Núñez, A. (2017). Aislamiento e identificación molecular de agentes fúngicos de la frutilla (*Fragaria* sp.) de Pichincha-Ecuador. Universidad San Francisco de Quito.

Ojito-Ramos, K. (2019). Daño a la membrana y respiración celular de *Passalora fulva* por extractos de hojas de citrus aurantiifolia. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2074-86472019000200097&lng=es&tlng=es.

Ortíz, C y Chávez, J. (2018). Michoacán y el cambio ambiental global: especialización relativa y vulnerabilidad agrícolas. Cimexus. 13(1): 161- 181.

Orús, A. (2023). Producción de tomates frescos en el mundo en 2012-2021. https://es.statista.com/estadisticas/529413/produccion-de-Tomates-frescos-en-el-mundo/

Pérez Torres, E.J.; Milanés Virelles, P.; Bernal Cabrera, A.; Leiva Mora, M.; García Rivero, G.; Lobato Caisa, L.P.; Cañar Aguirre, L. M.; Sierra Reyes, Y.; Mena Castro, O. (2013). Antagonismo "*in vitro*" de *Trichoderma harzianum* sobre aislados camagüeyanos de *Bipolaris oryzae* y *Sarocladium oryzae*. Centro Agrícola 40(3): 29-36.

Pérez, M. (2021). EFECTO COMPARATIVO DE UNA LOCAL NATIVA Y OTRA COMERCIAL DE *Trichoderma* spp.. PARA EL CONTROL DE *Fusarium* spp.. PRESENTE EN UN CULTIVO DE LECHUGA (*Lactuca sativa L.*) PAMPLONA – NORTE DE SANTANDER. http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/bitstream/20.500.12744/937/1/Perez_2021_TG.pdf

Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009b). *Fungi and food spoilage*. https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2

Porter, C. L. (1924). Concerning the characters of certain fungi as exhibited by their growth in the presence of other fungi. American Journal of Botany, 11(3), 168. https://doi.org/10.2307/2435538

Ramos, C. (2021). Efecto 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 [Trabajo de Grado Maestría, Universidad de Pamplona]. Repositorio Hulago Universidad de Pamplona. http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/2939

Rodríguez, D., y Wang Wong, A. (2020). Efectividad a nivel *in vitro* de *Trichoderma* spp. nativos e importados contra *Fusarium oxysporum*. Agronomía Costarricense, 44(2). https://doi.org/10.15517/rac.v44i2.43096

Rollán, C., Protto, V., Medina, R., López, S. N., Bahima, J. V., Ronco, L., Saparrat, M. C. N., y Balatti, P. A. (2013). Identification of races 0 and 2 of *Cladosporium fulvum* (Syn *Passalora fulva*) on tomato in the Cinturón hortícola de la Plata, Argentina. Plant Disease, 97(7), 992. https://doi.org/10.1094/pdis-10-12-0987-pdn

Rozo, M. (2020). Caracterización de cepas de *Trichoderma* spp autóctonas de suelos de uso agrícola en la región nortesantandereana. [tesis Universidad de Pamplona].

Sáenz, S. M. (2019). La agricultura sustentable: énfasis y línea de investigación en el doctorado y maestría en agrociencias. Revista de la Universidad de La Salle, (79), 213-222.

Sánchez, B., Espinosa, E., Villordo, E., Rodríguez, R., y Mora, M. (2017). Identificación molecular y evaluación antagónica *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopatógenos de raíz en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Montcalm. Agrociencia, 51(1), 63-79. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttextypid=S1405-31952017000100063ylng=esytlng=es

Schwartz, H. F. y Gent, D. H. (2007). Eggplant, Pepper, and Tomato Fruit Rots. http://scarab.msu.montana.edu/HPIPMSearch/docs/fruitrots-eggplantpeppertomato.htm.

Scurich, J. (2016). Strawberry growth, yield, fruit nutrition, and control of verticillium wilt with pre-plant soil fumigants, ozone, and biological control. https://doi.org/10.15368/theses.2012.32

Serrano, L. y Galindo, E. (2007). Control biológico de organismos fitopatógenos: un reto multidisciplinario. Ciencia, 58, 77-88.

Shelton, A. (2020). Cornell University College of Agriculture and Life Sciences: https://biocontrol.entomology.cornell.edu/what.php#:~:text=There%20are%20three%20broad%20and,new%20locale)%2C%20and%20augmentation.

Solarte, A. (2014). Caracterización morfológica, molecular y patogénica de *Pestalotiopsis* sp. Agente causante de la enfermedad del clavo en la guayaba (*Psidium guajava*) y evaluación *in-vitro* de biofungicidas.

Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., Araniti, F. y Sharma, A. (2020). *Trichoderma*: The “Secrets” of a multitalented biocontrol agent. Plants, 9(6), 762. https://doi.org/10.3390/plants9060762

Srinivas, C., Devi, D., Murthy, K. N., Mohan, C. D., Lakshmeesha, T., Singh, B. P., Kalagatur, N. K., Niranjana, S. R., Hashem, A., Tabassum, B., & Nayaka, S. C. (2019). *Fusarium oxysporum* F. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt Disease of Tomato: Biology to Diversity– a review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *26*(7), 1315-1324. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.002

Stenberg, J., Heil, M., Åhman, I., y Björkman, C. (2015). Optimizing crops for biocontrol of pests and disease. Trends in Plant Science, 20(11), 698-712. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.08.007

Suárez, C., Fernández, R., Valero, N., Gámez, R., & Páez, A. (2008). Antagonismo *In vitro* de *Trichoderma harzianum Rifai* sobre *Fusarium solani* (Mart) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. Revista Colombiana de Biotecnología,10(2) pp.35-43.

Tamayo, P y Jaramillo, J. (2006). Enfermedades del tomate, pimentón, ají y berenjena en Colombia. Guía para su diagnóstico y manejo. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria –Corpoica–, C.I. La Selva. Rionegro, Antioquia. 100 p. https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/27d1d323-434a-4ab1-84d0-ee5ef01069c2

Thomma, B., Van Esse, H., Crous, P., y De Wit, P. (2005). *Cladosporium fulvum* (Syn. *Passalora fulva*), a highly specialized plant pathogen as a model for functional studies on plant pathogenic mycosphaerellaceae. Molecular Plant Pathology, 6(4), 379-393. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00292.x

Tomich, T. P., Brodt, S., Ferris, H., Galt, R. E., Horwáth, W. R., Kebreab, E., Leveau, J. H. J., Liptzin, D., Lubell, M., Mérel, P., Michelmore, R. W., Rosenstock, T. S., Scow, K. M., Six, J., Williams, N. M., y Yang, L. H. (2011). Agroecology: A Review from a Global-Change perspective. Annual Review of Environment and Resources, 36(1), 193-222. https://doi.org/10.1146/annurev-environ-012110-121302

Torres, E., Iannacone, J., y Gomez, H. (2008). Biocontrol del moho foliar del tomate *Cladosporium fulvum* empleando cuatro hongos antagonistas. Bragantia, 67(1), 169-178.

Trinidad-Ángel, E., Ascencio-Valle, F. de J., Ulloa, osé A., Ramírez-Ramírez, osé C., Ragazzo-Sánchez, J. A., Calderón-Santoyo, M., y Bautista Rosales, P. U. (2017). Identificación y caracterización de *Colletotrichum* spp. causante de antracnosis en aguacate de Nayarit, México. Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas, (19), 3953–3964. https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.664

Vanegas, A. M. M., Marín, A. B., y Osorno, J. C. (2020). Metabolitos secundarios en *Trichoderma* Spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actualidades Biologicas*, *41*(111), 1-13. https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02

Vargas-Inciarte, L., Fuenmayor-Arrieta, Y., Luzardo-Méndez, M., Da Costa-Jardin, M., Vera, A., Carmona, D., Homen-Pereira, M., Da Costa-Jardin , P., y San-Blas, E. (2019). Utilizacion de diferentes especies de *Trichoderma* en tomates cherry (*Solanum lycopersicum L.*) contra la marchitez del *Fusarium oxysporum* en invernaderos tropicales. *Agronomía Costarricense , 43* (1), 85+. https://link.gale.com/apps/doc/A569202497/IFME?u=anon~bf5b5457ysid=googleScholaryxid=618b16e2

Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H. A., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J. M., y Martínez-Escudero, E. (2014). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. Acta Agronómica, 64(2), 194-205. https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358

Visagie, C., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., Seifert, K. A., Varga, J., Yaguchi, T., y Samson, R. A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. Studies in Mycology, 78(1), 343-371. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001

Watanabe, T. (2010). Pictorial Atlas of soil and seed fungi. En CRC Press eBooks. https://doi.org/10.1201/ebk1439804193

Willer, H. y Kilcher, L. (2010). The world of organic agriculture. Statistics and Emerging Trends 2010. IFOAM, FiBL, ITC. Suiza. 239 p.

Woo, S. L., Hermosa, R., Lorito, M., & Monte, E. (2022). Trichoderma: a multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. Nature Reviews Microbiology, 21(5), 312-326. https://doi.org/10.1038/s41579-022-00819-5

Zhang, J., Wu, M., Li, G., Yang, L., Yu, L., Jiāng, D., Huang, H., y Zhuang, W. (2010). *Botrytis fabiopsis*, a new species causing chocolate spot of broad bean in central China. Mycologia, 102(5), 1114-1126. https://doi.org/10.3852/09-217

Zin, N. A., y Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. Annals of Agricultural Sciences, 65(2), 168–178. https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.09.003

Apéndices

Apéndice A. Composición medios de cultivo

Tabla A1

Composición de los medios de cultivo empleados para la caracterización fenotípica macroscópica.

Potato dextrose agar (PDA BD-Difco y Merck)	
Almidón de patata (infusión)	4 g
Dextrosa	20 g
Agar	15 g
Malt Extract agar (MEA)	
Extracto de malta- agar (Oxoid)	50g
Solucion metales traza	1g
Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA)	
Solucion Czapek concentrada	10ml
Sacarosa	30g
Extracto de levadura	5g
K2HPO4	1g
Solucion de elementos traza	1ml
Agar	20g

Fuente: Chen y Zhuang, 2017; Visagie et al., 2014; Leslie et al., 2006.

Tabla A2

Composición de los medios de cultivo empleados para la caracterización fenotípica microscópica.

Potato dextrose agar (PDA BD-Difco y Merck)	
Almidón de patata (infusión)	4 g
Dextrosa	20 g
Agar	15 g
Carnation Leaf-Piece Agar (CLA)	
Agar bacteriológico	20g
Trozos de hojas de clavel	1g
Czapek Yeast Autolysate agar (CYA)	
Solucion Czapek concentrada	10ml
Sacarosa	30g
Extracto de levadura	5g
K2HPO4	1g
Solucion de elementos traza	1ml
Agar	20g
Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA)	
K2HPO4	1g
KNO3	1g
MgS04 7H2O	0,5g
KCl	0,5g
Glucosa	0,2g
Sacarosa	0,2g
Agar	20g
Corn Meal dextrose (CMD)	
Harina de maíz	40 g
Dextrosa	20 g
Agar	15 g

Fuente: Chen y Zhuang, 2017; Visagie et al., 2014; Leslie et al., 2006.

Apéndice B. Claves taxonómicas empleadas para identificar las morfoespecies aisladas.

Tabla B1.

Identificación presuntiva según las claves dicotómicas de Barnett y Hunter (1998) y Pitt y Hocking (2009) para aislados del cultivo de tomate cherry.

AISLADO	CLAVE TAXONÓMICA
AT01	**PHIALOSPORAE** 151b No es normalmente acuático …….154 154a Conidios típicamente de 2 a varias células ……..155 155b Conidióforos (o células conidógenas) hialinas ……157 157 Conidióforos simples o irregularmente ramificados; sin ramas estériles ……158 158d Macroconidia típicamente con forma de canoa, multicelulares; microconidios unicelulares ***Fusarium*** (Barnett y Hunter, 1998) 1 Microconidias abundantes …….2 2 Colonias en PDA en tonos crema, salmón pálido o violeta…… 5 5 Microconidias producidas solas o en cabezas falsas …….7 7 Colonias salmón pálido o violeta, esporodoquios salmón …….8 8(7) Microconidios sostenidos por monofiálides cortos y robustos; Clamidoconidia generalmente producida ***F. oxysporum*** (Pitt y Hocking, 2009)
AT02	**PHIALOSPORAE** 151b No normalmente acuático …….154 154a Conidios típicamente de 2 a varias células …….155 155b Conidióforos (o células conidógenas) hialinos …….157 157 Conidióforos simples o irregularmente ramificados; sin ramas estériles …….158 158d Macroconidios típicamente con forma de canoa, multicelulares; microconidios unicelulares ***Fusarium*** (Barnett y Hunter, 1998) 1 Microconidias abundantes ……. 2 2 colonias en PDA en tonos crema, salmón pálido o violeta …….. 5 5 Microconidias producidas solas o en cabezas falsas ……7

	7(5) Colonias crema o azuladas, crema de esporodoquios ***F. solani*** (Pitt y Hocking, 2009)
AT03	Ib Tener micelio septado y otras características de los hongos imperfectos …….3 3a Conidióforos distintos aunque cortos o reducidos a clavijas en algunos géneros; conidios típicamente de 1 célula, ocasionalmente de 2 células …….4 4d Conidióforos separados, no agrupados de ninguna manera * ……..15 15a Conidióforos ramificados o con un grupo de ramas o fiálides cerca o en el ápice ……16 16a Conidias que permanecen juntas en cadenas de dos o más ……17 17a Conidios de crecimiento acropetal, el más joven en el vértice de la cadena …….18 18a Conidios oscuros, de forma variable, ovoides, de forma de limón a oblongos, en su mayoría unicelulares, algunos pueden tener de 2 a 3 células ***Cladosporium* spp.** (Barnett y Hunter, 1998)

Tabla B2.

Identificación presuntiva según las claves dicotómicas de Barnett y Hunter (1998) y Pitt y Hocking (2009) para aislados del cultivo de fresa.

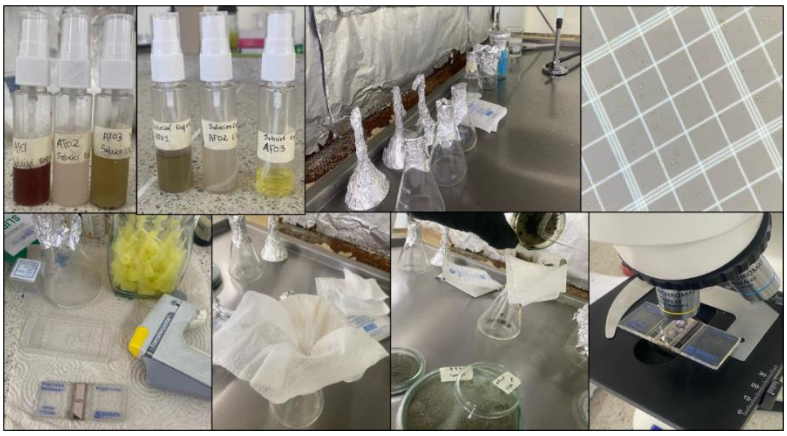
AISLADO	CLAVE TAXONÓMICA
AF01	Ib Tener micelio septado y otras características de los hongos imperfectos …….3 3a Conidióforos distintos aunque cortos o reducidos a clavijas en algunos géneros; conidios típicamente de 1 célula, ocasionalmente de 2 células …….4 4d Conidióforos separados, no agrupados de ninguna manera * ……..15 15a Conidióforos ramificados o con un grupo de ramas o fiálides cerca o en el ápice ……16 16a Conidias que permanecen juntas en cadenas de dos o más ……17 17a Conidios de crecimiento acropetal, el más joven en el vértice de la cadena …….18 18a Conidios oscuros, de forma variable, ovoides, de forma de limón a oblongos, en su mayoría unicelulares, algunos pueden tener de 2 a 3 células ***Cladosporium* spp.** (Barnett y Hunter, 1998)

AF02	I b Tener micelio septado y otras características de los hongos imperfectos …….3 3a Conidióforos distintos aunque cortos o reducidos a clavijas en algunos géneros; conidios típicamente de células I, ocasionalmente de 2 células ……..4 4d Conidióforos separados, no agrupados de ninguna manera * …….15 15a Conidióforos ramificados o con un grupo de ramas o fiálides cerca o en el ápice …….16 16b Las conidias no permanecen juntas en cadenas …….22 22b Conidios secos, no retenidos en el limo ……24 24b Conidios formados en una cabeza en el ápice más o menos hinchado del conidióforo ……..25 25a Célula esporógena apical de conidióforo o ramas ligeramente agrandadas, globosas ***Botrytis*** BOTRIOBLASTOSPORAS 81b Conidios no catenulados ……..83 83b Conidios hialinos, unicelulares ……..84 84b Conidióforos altos, bien desarrollados ……85 85a Células conidiógenas globosas o con lóbulos globosos ……86 86b Conidióforos con varias ramas, al menos cerca del ápice ……88 88c Ramas de conidióforos irregulares ***Botrytis*** (Barnett y Hunter, 1998)
AF03	lb Conidios de 2 a varias células, no filiformes, didimosporosos o fragmosporosos ……7 7b Conidios de 3 a varias células, fragmosporas ……9 9b Conidios con pigmento oscuro distintivo ……10 10b Células terminales de conidios hialinos, células intermedias oscuras ……11 II b Con 2 a 3 apéndices en el ápice de los conidios ***Pestalotia*** (Barnett y Hunter, 1998)

Apéndice C. Imágenes de las metodologías para las pruebas de patogenicidad.

Figura C1

Solución de esporas para aspersión de las cepas en plántulas de tomate cherry y fresa.



Fuente: Autor.

Figura C2

Aspersión e inoculación de la solución de esporas en las plántulas y establecimiento de las cámaras húmedas.



Fuente: Autor.

Apéndice D. Resultados de patogenicidad y actividad antagónica

Figura D1

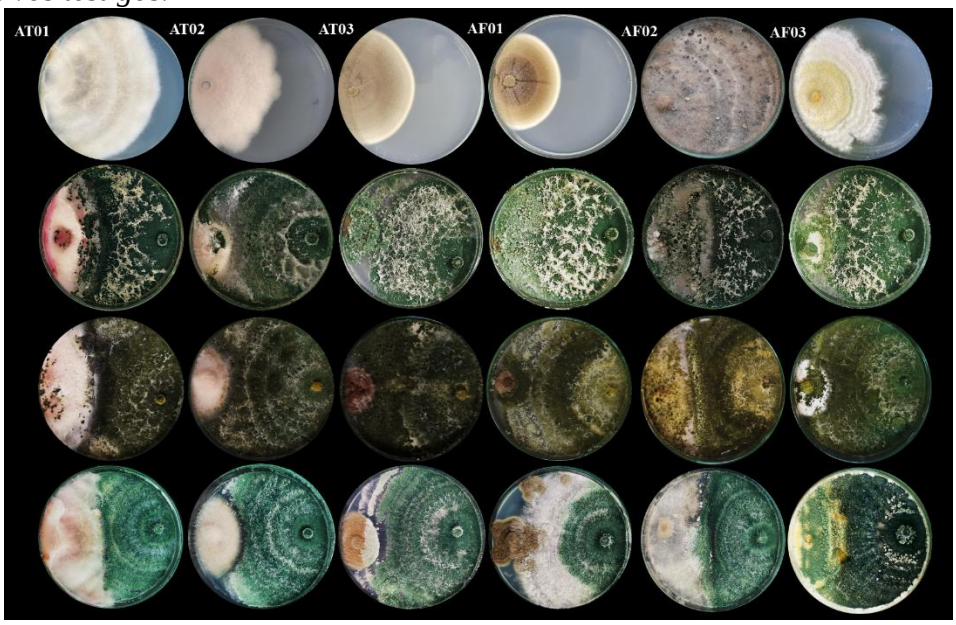
fresas inoculadas con la morfoespecie AF02 y fresas testigos.



Nota: se evidencia la sintomatología descrita en los resultados y como las fresas testigos no presentaron síntomas. Fuente: Autor.

Figura D2

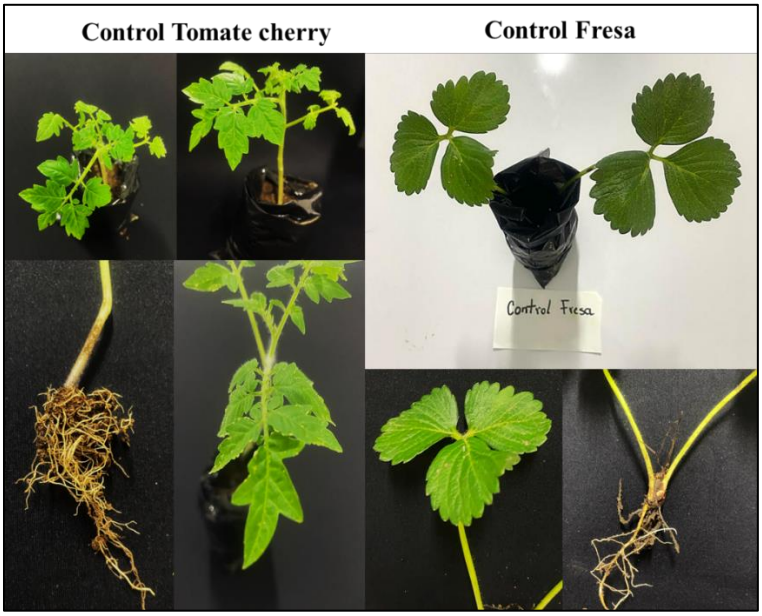
Confrontaciones de los patógenos con el antagonista mediante cultivos duales y sus respectivos testigos.



Fuente: Autor.

Figura D3

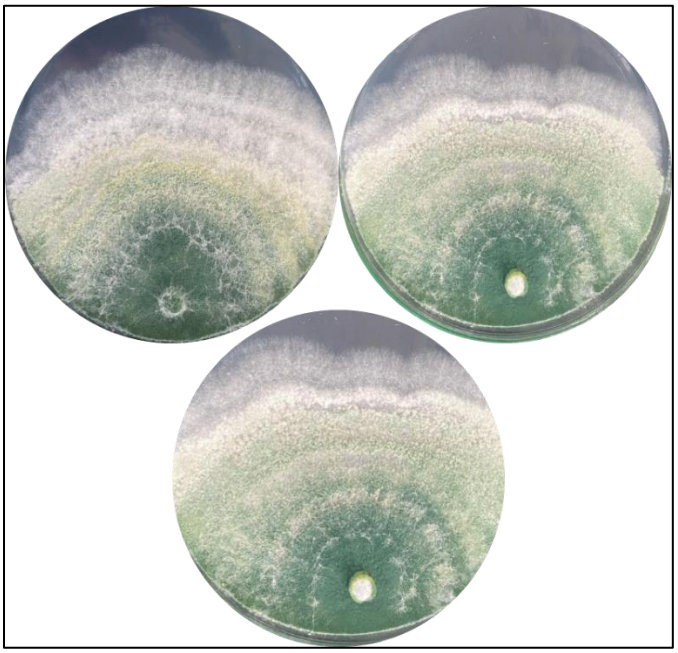
Muestras controles de las plántulas de tomate cherry y fresa.



Fuente: Autor.

Figura D4

Testigos del antagonista *T. asperelloides*



Fuente: Autor

Apéndice E. Resultados arrojados por el programa estadístico Statgraphics centurión XVI.

Figura E1

Resultados del ensayo de Patogenicidad en tomate

Análisis de Varianza para Grado de patogenicidad - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	25,3333	3	8,44444	50,67	0,0000
RESIDUOS	1,33333	8	0,166667		
TOTAL (CORREGIDO)	26,6667	11			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Grado de patogenicidad en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Grado de patogenicidad con un 95,0% de nivel de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para Grado de patogenicidad por Tratamiento

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

Tratamiento	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
TF	3	1,0	0,235702	X
AF01	3	3,66667	0,235702	X
AF03	3	3,66667	0,235702	X
AF02	3	5,0	0,235702	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
AF01 - AF02	*	-1,33333	1,06707
AF01 - AF03		0	1,06707
AF01 – TF	*	2,66667	1,06707
AF02 - AF03	*	1,33333	1,06707
AF02 – TF	*	4,0	1,06707
AF03 – TF	*	2,66667	1,06707

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 5 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Figura E2

Resultados del ensayo de Patogenicidad en fresa

Análisis de Varianza para Grado de patogenicidad - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	25,3333	3	8,44444	50,67	0,0000
RESIDUOS	1,33333	8	0,166667		
TOTAL (CORREGIDO)	26,6667	11			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Grado de patogenicidad en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Grado de patogenicidad con un 95,0% de nivel de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para Grado de patogenicidad por Tratamiento

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

Tratamiento	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
TF	3	1,0	0,235702	X
AF01	3	3,66667	0,235702	X
AF03	3	3,66667	0,235702	X
AF02	3	5,0	0,235702	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
AF01 - AF02	*	-1,33333	1,06707
AF01 - AF03		0	1,06707
AF01 – TF	*	2,66667	1,06707
AF02 - AF03	*	1,33333	1,06707
AF02 – TF	*	4,0	1,06707
AF03 – TF	*	2,66667	1,06707

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 5 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Figura E3

Resultados del ensayo de PICR con mediciones diarias para el cultivo de tomate cherry.

Análisis de Varianza para PICR - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Dias	61221,3	9	6802,37	45,96	0,0000
B:Tratamientos	3566,38	2	1783,19	12,05	0,0000
RESIDUOS	21313,4	144	148,01		
TOTAL (CORREGIDO)	85843,6	155			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor
Puesto que 2 valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre PICR con un 95,0% de nivel de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para PICR por Dias

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

Dias	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
1	14	4,89014	3,25294	X
3	15	9,68872	3,15411	X
2	14	9,69014	3,25294	X
4	13	19,067	3,38542	XX
5	14	31,7054	3,2573	XX
6	16	36,4242	3,04668	XX
7	16	46,3492	3,04668	XX
8	18	51,35	2,86754	X
9	18	56,9611	2,86754	X

El StatAdvisor
Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 30 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 5 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Figura E4

Resultados del ensayo de PICR con mediciones diarias para el cultivo de fresa.

Análisis de Varianza para PICR - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Dias	61221,3	9	6802,37	45,96	0,0000
B:Tratamientos	3566,38	2	1783,19	12,05	0,0000
RESIDUOS	21313,4	144	148,01		
TOTAL (CORREGIDO)	85843,6	155			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

Puesto que 2 valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre PICR con un 95,0% de nivel de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para PICR por Dias

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

Dias	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
1	14	4,89014	3,25294	X
3	15	9,68872	3,15411	X
2	14	9,69014	3,25294	X
4	13	19,067	3,38542	XX
5	14	31,7054	3,2573	XX
6	16	36,4242	3,04668	XX
7	16	46,3492	3,04668	XX
8	18	51,35	2,86754	X
9	18	56,9611	2,86754	X
10	18	59,6722	2,86754	X

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 30 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 5 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Figura E5

Resultados de PICR al décimo día.

Análisis de Varianza para PICR - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	975,98	5	195,196	3,84	0,0083
RESIDUOS	1525,72	30	50,8574		
TOTAL (CORREGIDO)	2501,7	35			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre PICR con un 95,0% de nivel de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para PICR por Tratamiento

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

Tratamiento	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
AF03	7	55,8571	2,69543	X
AF02	5	60,52	3,18928	XX
AT01	6	60,55	2,9114	XX
AF01	6	64,25	2,9114	XX
AT03	6	67,7667	2,9114	XX
AT02	6	71,25	2,9114	X

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Figura E6

Resultados de radio de crecimiento patógeno (RCP)

Análisis de Varianza para RCP - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTO	181,625	5	36,3249	99,51	0,0000
RESIDUOS	10,9517	30	0,365056		
TOTAL (CORREGIDO)	192,576	35			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre RCP con un 95,0% de nivel de confianza.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTO	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
AT03	6	1,55	0,246663	X
AT02	6	1,98333	0,246663	XX
AT01	6	2,68333	0,246663	X
TAT03	6	4,8	0,246663	X
TAT01	6	7,0	0,246663	X
TAT02	6	7,0	0,246663	X

El StatAdvisor

El asterisco que se encuentra al lado de los 12 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Análisis de Varianza para RCP - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTO	161,002	5	32,2004	214,19	0,0000
RESIDUOS	4,51	30	0,150333		
TOTAL (CORREGIDO)	165,512	35			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor

Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre RCP con un 95,0% de nivel de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para RCP por TRATAMIENTO

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTO	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
AF01	6	1,61667	0,158289	X
AF03	6	2,0	0,158289	X
AF02	6	3,2	0,158289	X
TAF03	6	4,48333	0,158289	X
TAF01	6	4,53333	0,158289	X
TAF02	6	8,0	0,158289	X

El StatAdvisor

El asterisco que se encuentra al lado de los 13 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Figura E7

Resultados de radio de crecimiento antagonista (RCA)

Análisis de Varianza para RCA - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	25,5683	3	8,52278	58,98	0,0000
RESIDUOS	2,89	20	0,1445		
TOTAL (CORREGIDO)	28,4583	23			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor
Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre RCA con un 95,0% de nivel de confianza.
Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

Tratamiento	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
CAT01	6	6,13333	0,155188	X
CAT02	6	6,45	0,155188	X
CAT03	6	7,96667	0,155188	X
Testigo	6	8,61667	0,155188	X

El StatAdvisor
El asterisco que se encuentra al lado de los 5 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Análisis de Varianza para RCA fresa - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	777,343	3	259,114	1,05	0,3936
RESIDUOS	4950,86	20	247,543		
TOTAL (CORREGIDO)	5728,2	23			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor
Puesto que ningún valor-P es menor que 0,05, ninguno de los factores tiene un efecto estadísticamente significativo sobre RCA fresa con un 95,0% de nivel de confianza.

Figura E8

Resultados de radio de crecimiento patógeno (RCP) y radio de crecimiento antagonista (RCA)

Análisis de Varianza para crecimiento - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	1896,13	11	172,375	2,09	0,0352
RESIDUOS	4956,07	60	82,6012		
TOTAL (CORREGIDO)	6852,2	71			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor
Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre crecimiento con un 95,0% de nivel de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para crecimiento por Tratamiento

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

Tratamiento	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
AT03	6	1,55	3,71037	X
AF01	6	1,61667	3,71037	X
AT02	6	1,98333	3,71037	X
AF03	6	2,0	3,71037	X
AT01	6	2,68333	3,71037	X
AF02	6	3,2	3,71037	XX
CAT01	6	6,13333	3,71037	XX
CAT02	6	6,45	3,71037	XX
CAF02	6	6,88333	3,71037	XX
CAF03	6	7,7	3,71037	XX
CAT03	6	7,96667	3,71037	XX
CAF01	6	20,8	3,71037	X

El StatAdvisor
Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 5 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Figura E9

Resultados del MICMO en el cultivo de tomate cherry y fresa

Análisis de Varianza para MICMO - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	5,44444	2	2,72222	9,80	0,0019
RESIDUOS	4,16667	15	0,277778		
TOTAL (CORREGIDO)	9,61111	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor
Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre MICMO con un 95,0% de nivel de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para MICMO por tratamiento

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

tratamiento	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
AT01	6	2,33333	0,215166	X
AT02	6	2,33333	0,215166	X
AT03	6	3,5	0,215166	X

El StatAdvisor
El asterisco que se encuentra al lado de los 2 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Análisis de Varianza para Col_2 - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Col_1	1,33333	2	0,666667	3,75	0,0478
RESIDUOS	2,66667	15	0,177778		
TOTAL (CORREGIDO)	4,0	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

El StatAdvisor
Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre MICMO con un 95,0% de nivel de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para Col_2 por Col_1

Método: 95,0 porcentaje LSD

Col_1	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
AF02	6	3,33333	0,172133	X
AF01	6	3,66667	0,172133	XX
AF03	6	4,0	0,172133	X

El StatAdvisor
Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Apéndice F. Participación en eventos de divulgación científica y reconocimientos







XI CONGRESO
LATINOAMERICANO DE MICOLOGÍA

Certifica que el trabajo titulado:

AISLAMIENTO DE LA MICROBIOTA ASOCIADA A CULTIVOS AGROECOLÓGICOS DE TOMATE CHERRY (SOLANUM LYCOPERSICUM) Y SU POSIBLE EFECTO BIOCONTROLADOR EN LA VEREDA CHICHIRA, PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER

Con los autores:

ENRIQUE ALFONSO CABEZA HERRERA, MARIA GABRIELA CASTILLO DIAZ, ANGELA MARITZA CAJIAO PEDRAZA, JOSÉ FÉLIX ORTIZ LEMUS, LINA MARIA ARRIETA MERCADO

Fue arbitrado, aprobado y presentado en modalidad Poster durante el Congreso celebrado en la ciudad de Panamá, República de Panamá del 7 al 10 de agosto de 2023

Organiza:

Asociación Latinoamericana de Micología

DR. LUIS C. MEJIA
Presidente
XI CLAM 2023

DRA. TINA HOFMANN
Vicepresidente
XI CLAM 2023

Escanee este código QR para verificar la validez del certificado.

Número identificación: 88158814AT726832
Código de verificación: DC960C46-C149097CEFE8F7E594A67394D0FFEA21
www.esimposio.com/verificacion



RedCOLSI Nodo Norte de Santander

Universidad Francisco de Paula Santander
Ocaña - Colombia
Vigilada Mineducación

REDCOLSI
Red Colombiana de Semilleros de Investigación
Nodo Norte de Santander

CERTIFICA QUE:

MARIA GABRIELA CASTILLO DIAZ

Participó como ponente en el IX ENCUENTRO DEPARTAMENTAL DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN-REDCOLSI.

OCAÑA, NORTE DE SANTANDER. 18 AL 20 DE MAYO 2023

JAIRO MALDONADO ROA
COORDINADOR NODAL - NORTE DE SANTANDER
VICECOORDINADOR NACIONAL REDCOLSI

NANCY RODRIGUEZ COLORADO
DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN



XXVIII Verano de la Investigación Científica y Tecnológica del Pacífico / 2023

El Programa Interinstitucional para el Fortalecimiento de la Investigación y el Posgrado del Pacífico, a través de la Universidad Autónoma de Nayarit otorga el presente

Reconocimiento

a: María Gabriela Castillo Diaz

Por su destacada participación en la estancia académica presencial del XXVIII Verano de la Investigación Científica y Tecnológica del Pacífico, realizada del 19 de junio al 4 de agosto de 2023



Envigado, jueves, 7 de diciembre de 2023

NIT 900014966-5

LA FUNDACIÓN RED COLOMBIANA DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN

Otorga reconocimiento:

SOBRESALIENTE

Al proyecto EN2510 "Evaluación preliminar de cultivos orgánicos de tomate cherry (Solanum lycopersicum) y fresa (Fragaria sp.) y sus controladores biológicos en la finca Hercilia Peñaloza, Vereda Chichira, Pamplona, Norte de Santander.", por su destacada participación en el **XXVI Encuentro Nacional y XX Encuentro Internacional de Semilleros de Investigación - ENISI - RedCOLSI**, realizado en modalidad PRESENCIAL, con una intensidad de 36 horas académicas, durante los días 11, 12, 13 y 14 de octubre de 2023, en la universidad de Cartagena, institución asociada al nodo Bolívar.

El proyecto participó en representación de la institución UNIVERSIDAD DE PAMPLONA del Nodo: Norte de Santander y obtuvo una valoración final de 92 puntos sobre 100.

Este reconocimiento es un testimonio de su talento y dedicación.

Comité académico evaluador.

LUZ [illegible] HERRERA GALEANO
Coordinadora nacional

Fundación RedCOLSI