



UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

“REDUCCIÓN DE LA APLICACIÓN DE FUNGICIDAS QUÍMICOS MEDIANTE LA IMPLEMENTACIÓN DE *Trichoderma spp.* COMO BIOFUNGICIDA PARA EL CONTROL DE *Botrytis cinerea* EN UN CULTIVO DE ROSAS”

Realizado por:

NATALY ALEXANDRA BRAVO VILLEGAS

Director del proyecto:

JUAN CARLOS NAVARRO PhD.

Como requisito para la obtención del título de:

MAGISTER EN GESTIÓN AMBIENTAL

Quito, 18 de Octubre de 2018

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, NATALY ALEXANDRA BRAVO VILLEGAS, con cédula de identidad # 110388363-1, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado a calificación profesional; y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.



Nataly Alexandra Bravo Villegas

CC: 1103883631

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

**“REDUCCIÓN DE LA APLICACIÓN DE FUNGICIDAS QUÍMICOS
MEDIANTE LA IMPLEMENTACIÓN DE *Trichoderma* spp. COMO
BIOFUNGICIDA PARA EL CONTROL DE *Botrytis cinerea* EN UN CULTIVO DE
ROSAS”**

Realizado por:

NATALY ALEXANDRA BRAVO VILLEGAS

como Requisito para la Obtención del Título de:

MAGISTER EN GESTION AMBIENTAL

ha sido dirigido por el profesor

JUAN CARLOS NAVARRO

quien considera que constituye un trabajo original de su autor

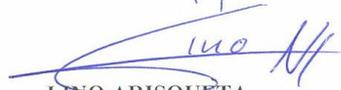


DIRECTOR

LOS PROFESORES INFORMANTES



GRACIELA UZCANGA



LINO ARISQUETA

Después de revisar el trabajo presentado,
lo han calificado como apto para su defensa oral ante
el tribunal examinador

Quito, 18 de Octubre de 2018

DEDICATORIA

A mi familia.

AGRADECIMIENTO

A la Facultad de Ciencias Ambientales de la Universidad Internacional SEK, mi familia, mi Tutor por su apoyo, a mis compañeros y amigos, y a la empresa Bella Rosa por permitirme ser parte de su equipo y poner su confianza en mí para realizar este trabajo.

Reducción de la aplicación de fungicidas químicos mediante la implementación de *Trichoderma* spp. como biofungicida para el control de *Botrytis cinerea* en un cultivo de rosas.

Reduction of the fungicides chemical application through the implementation of biofungicide *Trichoderma* spp. for the control of *Botrytis cinerea* in a crop of roses.

Alexandra Bravo Villegas¹ & Juan Carlos Navarro²

¹Universidad Internacional SEK, Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales, Quito, Ecuador. Email: natylexbravo16@hotmail.com

²Universidad Internacional SEK, Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales, Quito, Ecuador. Email: juancarlos.navarro@uisek.edu.ec

Autor de correspondencia: Juan Carlos Navarro PhD., juancarlos.navarro@uisek.edu.ec

Título corto (Running title): Reducción de fungicidas químicos mediante control biológico

Resumen.

El consumo de fungicidas a nivel mundial es alarmante, en América latina las consecuencias son preocupantes debido a la susceptibilidad de la población y el ambiente. En Ecuador el cultivo de rosas es el segundo mayor consumidor de agroquímicos, pero también constituye una fuente de ingresos importantes en la economía del país, por eso la industria Agroquímica introduce al mercado constantemente nuevas moléculas de fungicidas químicos, los cuales se emplean de manera recurrente, ocasionando que las poblaciones de *Botrytis cinerea* generen resistencia a muchos de estos productos. Por estas razones, es importante buscar alternativas amigables con el ambiente que ayuden a reducir el consumo de fungicidas químicos y permitan un control sustentable de la enfermedad. El hongo *Trichoderma* es uno de los más eficientes y abundantes para el control biológico, por su habilidad de modificar la rizosfera, mejorar el crecimiento y los mecanismos de defensa de las plantas, crecer en condiciones adversas, antagonismo, así como también producir toxinas y enzimas contra hongos fitopatógenos como *B. cinerea*. En este estudio se pretende mostrar que mediante la implementación de un biofungicida a base de *Trichoderma* sp. se puede disminuir la aplicación de fungicidas químicos, y mantener la enfermedad fúngica *Botrytis cinerea* dentro de márgenes económicamente rentables. El estudio se llevó a cabo en la Florícola Bella Rosa, ubicada en la provincia de Pichincha, cantón Pedro Moncayo. Para el propósito del estudio se realizó la producción de un Biopreparado a base de *Trichoderma* sp. en dos fases; la obtención de esporas mediante crecimiento en medio sólido, y una fermentación líquida para la aplicación semanal en campo en dosis de 1.5 kg/Ha. Se logró una disminución de la aplicación de fungicidas químicos en un 47% en dólares y de un 4% en la aplicación de kilogramos de ingredientes activos. Se estudió 8 variedades de rosa cultivadas en Bella Rosa y se pudo observar que la incidencia de la enfermedad en campo para algunas variedades fue menor luego del tratamiento, mientras que en otras se mantuvo, en ninguno de los casos la incidencia fue mayor.

Palabras clave: *Trichoderma* sp., *Botrytis cinerea*, Biofungicida, Fungicida, Rosas, Bella Rosa.

Abstract.

Fungicides consumption levels around the world are alarming, in Latin America consequences are worrying because of the susceptibility of the population and the environment. In Ecuador roses growing is the second major consumer of agrochemicals, but also constitutes an important source of income to the country economy, that is the reason why the agrochemical industry introduces to the market constantly new molecules of fungicide chemicals, which are often used in a recurring way, causing that the population of *Botrytis cinerea* generate resistance to most of these products. For these reasons it is important to find environmentally friendly alternatives that help to reduce the consumption of chemical fungicides and allow a sustainable control of the disease. The *Trichoderma* fungus is one of the most efficient and abundant for biological control, thanks to its ability to modify the rhizosphere, improve growth and the defense mechanisms in plants, grow in adverse conditions, antagonism, and produce toxins and enzymes against phytopathogen fungus like *B. cinerea*. This study pretends to demonstrate that through the implementation of a *Trichoderma* sp. based biofungicide a reduction on the application of chemical fungicides could be achieved and levels on the fungal disease *Botrytis cinerea* could be maintained inside a cost-effective range. This study was conducted on Bella Rosa Flower Business, located on Pichincha inside the Pedro Moncayo district. For the purpose of the study a *Trichoderma* sp. based biological fermentation in two different phases. The obtention of spores by growing in solid media, and then liquid fermentation for weekly application in field on 1.5 kg/Ha doses. A reduction in the application of chemical fungicides of 47% in dollars and 4% in active ingredients kilograms. Eight varieties of roses grown in Bella Rosa were studied and it allowed to observe that the disease incidence on field for some varieties decreased after treatment, while some other varieties maintained the same incidence, but none of the varieties showed increase.

Keywords: Trichoderma sp., Botrytis cinerea, Biofungicide, Fungicide, Roses, Bella Rosa.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el consumo de fungicidas entre los años 1994 y 1997 fue de 297.2 millones de toneladas en promedio; mientras que en América Latina y el Caribe se consumieron 31.8 millones de toneladas de fungicidas (Heisey & Norton, 2007), esto representa el 10.69%, lo cual nos dice que los mayores consumidores son los países industrializados, sin embargo esta problemática es alarmante en América Latina ya que las consecuencias del uso de plaguicidas es mayor debido a que la población agrícola en los países en desarrollo se encuentra más expuesta a estos químicos; pues pueden resultar insuficientes las prácticas ambientales del manejo de pesticidas (Heisey & Norton, 2007).

En Ecuador entre 2010 y el 2014 se usaron 26.872 toneladas de ingredientes activos de fungicidas y bactericidas, un promedio de 5374 toneladas por año (FAO, 2017), en una superficie agropecuaria de 5'132.066 hectáreas (INEC, 2014). Estos productos se importan, dentro de un rubro de insumos agrícolas; en el 2011 el valor total de importación fue de 621 millones de dólares, de esto el 32,68% corresponde a agroquímicos y el 52.7% de los agroquímicos correspondía a los fungicidas (Rodríguez, 2007).

El cultivo de rosas en el Ecuador es el segundo consumidor de agroquímicos, pero también constituye una fuente de ingresos importantes en la economía del país por sus exportaciones, en el 2017 se exportó 654 mil millones de dólares en rosa fresca cortada (PROECUADOR, 2018), por lo que se ha convertido en el primer producto de exportación de la región sierra y ha generado empleo de manera directa a unas 59 mil personas; sin embargo este cultivo se ve afectado por plagas y enfermedades que ocasionan pérdidas significativas en el sector, una de las más importantes es la enfermedad fúngica ocasionada por *Botrytis cinerea*, este hongo es uno de los más destructivos en monocultivos extensivos como es el caso de la producción de Rosas (Túqueres, 2016).

Las enfermedades causadas por hongos y bacterias ocasionan pérdidas post cosecha en frutos, vegetales frescos y ornamentales; se estima que estas pérdidas están en un rango del 5 al 25% en países desarrollados y del 20 al 50% en países en desarrollo (FHIA, 2007). *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. (Hongo *Ascomicota*) es un importante patógeno que causa pérdidas significativas en cultivos de frutas, vegetales y ornamentales, que infecta, hojas, tallos, flores sobre todo cultivadas en invernadero, este hongo fitopatógeno es universal y afecta la calidad del producto, incluso hasta causarle la muerte a la planta (Elad, 2001). En cultivos de rosas *Botrytis cinerea* es uno de los patógenos más destructivos, causando daños económicos severos principalmente producidos por el almacenamiento y el tránsito de la flor hasta llegar a su consumidor final con la característica podredumbre gris que este hongo ocasiona (Zhu, 2010).

Para combatir este patógeno la industria agroquímica ha creado una amplia gama de fungicidas químicos, los cuales se emplean de manera recurrente, ocasionando un problema aún mayor, *Botrytis cinerea* ha generado resistencia a muchos de estos productos (Túqueres, 2016), haciendo que se prolongue o se intensifique el uso de estas moléculas, lo cual de ninguna manera es favorable para el ambiente. Se ha establecido que sólo el 0.1% de la cantidad de agroquímicos aplicados llega al patógeno, mientras que el 99,99% restante

circula por el medio ambiente, contaminando posiblemente agua, suelo, la biota y afectando también la salud humana (Carvalho, Nhan, Zhong, Tavares, & Klaine, 1998).

Esto ha conducido a los investigadores a buscar alternativas amigables con el ambiente que ayuden a reducir el consumo de fungicidas químicos, una de ellas es la aplicación de biocontroladores (Zapata et al., 2012) (Varona et al., 2005). El hongo de género *Trichoderma* y su capacidad como biocontrolador se conoce desde aproximadamente 1920, por su habilidad de modificar la rizosfera y mejorar el crecimiento y los mecanismos de defensa de las plantas, crecer en condiciones adversas, competir por nutrientes, así como también producir toxinas y enzimas contra hongos fitopatógenos. En el mundo existen más de 50 formulaciones de biofungicidas a base de *Trichoderma* spp., en diferentes países, actualmente estas representan el 60% de todos los biocontroladores a base de hongos (Rajesh, Rahul, & Ambalal, 2016).

Para el control de *Botrytis cinerea* en cultivos de rosas en el Ecuador, existen estudios de la aplicación de *Trichoderma* spp., sin embargo, ningún estudio muestra cómo esta implementación ha disminuido el uso de fungicidas químicos, y si la implementación de algún biofungicida a base de *Trichoderma* a lo largo de un año permite mantener la enfermedad fúngica *B. cinerea* en campo dentro de márgenes económicamente rentables; que es precisamente lo que se busca demostrar en este trabajo.

***Botrytis cinerea* (el patógeno)**

Taxonomía

Según Williamson, Tudzynski B, Tudzynsky P y Van Kan (2007) la taxonomía de *Botrytis cinerea* es la siguiente: Reino: Fungi, División: Ascomycota, Subdivisión: Pezizomycotina, Clase: Leotiomycetes, Orden: Helotiales, Familia: Sclerotiniaceae, Género: *Botryotinia* y Especie: *B. fuckeliana* (teleomorfo: *Botrytis cinerea*) (Williamson, Tudzynski, Tudzynski, & Van Kan, 2007).

Características Morfológicas

El hongo *Botrytis cinerea* y otras especies de *Botrytis* existe en diferentes hábitats como micelio, micro y macro conidia, clamidiospora, esclerocio, apotecio y ascospora. El micelio de *B. cinerea* está constituido por un conjunto de hifas con forma de tabiques cilíndricos, sus conidióforos se originan principalmente de la masa hifal, aunque también pueden hacerlo a partir de los esclerocios, los conidióforos son ramificados y regularmente se encuentran sobre la superficie de los tejidos infectados (Elad, Williamson, Tudzynski, & Delen, 2007).

Existen dos tipos de conidios microconidios y macroconidios; los microconidios (gametos masculinos unicelulares) no cumplen ningún papel en infecciones a los tejidos vegetales y corresponden a la reproducción sexual del hongo; los macroconidios constituyen la principal estructura de dispersión del hongo, estos son hialinos, unicelulares, ovoides, multinucleados (3 a 18 núcleos) y son capaces de sobrevivir sobre la superficie vegetal manteniendo su viabilidad y capacidad infectiva durante toda la etapa de crecimiento del cultivo. El patógeno puede formar esclerocios, que representan las principales estructuras de resistencia de *B. cinerea*, estos son aplastados e irregulares o hemisféricos de color negro que se desarrollan

sobre o debajo de la epidermis del tejido infectado, estas estructuras oscilan entre 1 y 15 mm de sección longitudinal dependiendo de las condiciones de cultivo; la corteza melanificada y los β -glucanos que recubren el micelio interno protegen los esclerocios de la desecación, la radiación UV y el ataque microbiano durante largos períodos (Elad et al., 2007).

Ciclo de vida

Los esclerocios se desarrollan dentro del tejido dañado del huésped, los esclerocios producen conidióforos y conidios multinucleados, lo cual se convierte en una fuente primaria de inóculo dentro de un cultivo. El micelio también sobrevive dentro de los tejidos infectados del huésped, sobre todo en cultivos perennes, donde las hojas muertas, las flores y las frutas secas contienen masas de micelio que una vez se presenten las condiciones adecuadas darán inicio a infecciones. *B. cinerea* también forma microconidios de phialides abundantemente que funcionan principalmente como esperma (ciclo sexual implica la espermatización de esclerocios) (Beever & Weeds, 2007).

Los conidios generados en las fuentes de inóculo primario siguen un ciclo diurno bien definido de iniciación, producción y difusión que está regulado por las fluctuaciones de temperatura y humedad; las corrientes de aire se convierten en un medio de dispersión de la enfermedad y en menor medida el agua. La formación de conidios es estimulada por longitudes de onda de luz específicas, sin embargo, algunos aislados pueden esporular en la oscuridad (Elad et al., 2007).

Condiciones óptimas para su desarrollo y daño sobre el cultivo de rosas

Botrytis cinerea es una enfermedad muy común en las rosas cultivadas en invernaderos, la infección que se produce en los pétalos reduce notablemente su valor ornamental; inicia con lesiones puntuales llamadas pústulas que luego se convierten en una necrosis de pétalos enteros, la infección puede extenderse a un receptáculo y causar la pudrición de todos los pétalos, los síntomas de infección son visibles dentro de las 24 horas a una temperatura de 18-25 ° C y una humedad relativa > 90%. El problema se vuelve aun mayor cuando la infección es asintomática en la cosecha, pero se tornan evidentes durante el almacenamiento y transporte de la flor, las flores infectadas producen elevadas cantidades de etileno lo cual produce la senescencia prematura de la flor (Droby & Lichter, 2007).

Trichoderma sp. (el controlador)

Taxonomía

Según Samuels (2004) y Jaklitsch, Samuels, Dodd, Lu, Druzhinina (2006) la taxonomía que corresponde a *Trichoderma* spp. se presenta a continuación: Reino: Mycetozoa (Fungi), División: Eumycota, Subdivisión: Ascomycotina, Clase: Euascomycetes, Orden: Hypocreales, Familia: Hypocreaceae, Género: *Trichoderma* e *Hypocrea* y Especie: sp. (Samuels, 2004) (Jaklitsch, Samuels, Dodd, Lu, & Druzhinina, 2006).

Características, biodiversidad y patogenicidad

Trichoderma spp. a menudo se puede encontrar en la rizosfera de plantas o en cualquier lugar donde se de descomposición de materia vegetal. Este hongo se caracteriza por un crecimiento

rápido, en su mayoría posee conidios de color verde y una estructura de conidióforos repetidamente ramificados. *Trichoderma* spp. tiene amplia capacidad de adaptación a diferentes hábitats, esto debido a la utilización eficiente de sustrato disponible y a su capacidad de secreción de metabolitos y antibióticos; gracias a estas características y a que ha sido ampliamente estudiado puede ser explotado para el beneficio de la humanidad (Schuster & Schmoll, 2010).

Es una especie habitante de suelos, se encuentra en diversos contextos y estudiados, degradación de compuestos organoclorados, control biológico de enfermedades fúngicas en plantas, mejora la absorción de fósforo en plantas, producción de enzimas y degradación de celulosa (Jaklitsch et al., 2006).

En la investigación realizada por Y. Elad y colaboradores (1993) se pudo observar el efecto de *Trichoderma harzianum* sobre *Botrytis cinerea* en plantas de pepino cultivadas en invernadero, con el agente biológico se logró un control de hasta 90% (dosis de 0.5-1.0 g/L), y fue tan efectivo como fungicidas del grupo de las Dicarboximidias (Iprodione a dosis 0.5 g/L). De igual manera la mezcla de *T. harzianum* con un fungicida comercial mencionado dio como resultado el 96% de control a *B. cinerea*; esto indica que es posible una reducción en el uso de aerosoles químicos, alternando con biocontroladores cuando las condiciones favorecen a la capacidad de *T. harzianum* para *B. cinerea* (temperaturas superiores a 20 ° C y humedad relativa entre 80 y 97%) (Elad, Zimand, Zaqs, Zuriel, & Chet, 1993).

Mecanismos y estrategias de Trichoderma spp.

Los agentes de biocontrol como *Trichoderma* spp. usan un conjunto de mecanismos que actúan sinérgicamente para lograr el control de la enfermedad, estos pueden ser: competencia por los nutrientes y espacio, producción de metabolitos que impiden la germinación de las esporas (fungistasis), producción de antibióticos (antibiosis) o modificar la rizosfera. Además existen mecanismos de interacción directa entre el patógeno y agente de control biológico (micoparasitismo); o puede incluso ejercer efectos positivos en las plantas (biofertilización) y la estimulación de la defensa de la planta (Benítez, Rincón, Limón, & Codón, 2004).

Competencia: es la conducta heterogénea de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), uno de los organismos se verá afectado por el otro, ya que reducirá la cantidad o espacio disponible para el otro (Infante, Martínez, González, & Reyes, 2009).

Micoparasitismo: es la simbiosis antagónica entre organismos, en el que generalmente están implicadas enzimas extracelulares (quitinasas, glucanasas y proteasas), que afectan la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados; *Trichoderma* por ejemplo durante el proceso de micoparasitismo crecen quimiotrópicamente hacia el hospedante, se adhieren a las hifas del mismo, se enrollan en ellas frecuentemente y las penetran en ocasiones (Infante et al., 2009).

Antibiosis: es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos. Muchas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles (6-pentyl- α -pyrone) y no volátiles (trichodermina,

suzukacilina, alameticina, dermadina, trichotecenos y trichorzianina), algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico (Infante et al., 2009) (Benítez et al., 2004).

Biofertilización y estimulación de los mecanismos de defensa de la planta: Las cepas de *Trichoderma* colonizan las raíces de plantas por mecanismos similares a los hongos micorrícicos, que hacen simbiosis con la planta y producen compuestos que estimulan mecanismos de crecimiento y defensa de plantas (Benítez et al., 2004).

HIPOTESIS

La incidencia de Botrytis cinerea en campo disminuye luego de la introducción de aplicaciones semanales de un biofungicida de producción propia a base de Trichoderma spp. en el cultivo de rosas, lo que conlleva a una disminución de los kilogramos de principios activos por año de fungicidas químicos contaminantes.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General

Disminuir la incidencia de *Botrytis cinerea* mediante la aplicación de *Trichoderma* spp. de producción propia en el manejo integrado del patógeno para la reducción del uso de fungicidas químicos contaminantes en el cultivo de rosas.

Objetivo Específicos

- Analizar el consumo de fungicidas químicos en ausencia y presencia de la aplicación del biofungicida a base de *Trichoderma* spp. de forma semanal en un cultivo de rosas mediante operaciones matemáticas básicas, para establecer si existe una disminución entre tratamientos.
- Comparar la incidencia de *Botrytis cinerea* en ausencia y presencia de la aplicación de *Trichoderma* spp. de forma semanal en un cultivo de rosas, mediante análisis estadísticos para evaluar el efecto del biofungicida.

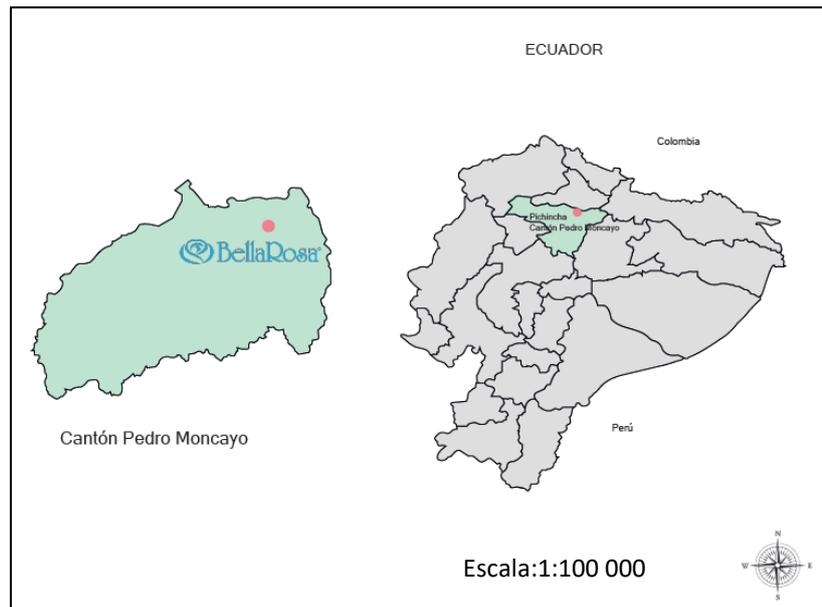
MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio

El estudio se llevó a cabo en la Florícola Bella Rosa, ubicada en Ecuador, provincia de Pichincha, en el cantón Pedro Moncayo, en la en la vía Tabacundo-Cajas Km 3.2 (Figura 1). Esta zona del país es conocida como productora de Flores, principalmente Rosas. El área de trabajo comprende las 30.73 Ha cultivadas de la finca (0°4'26.81"N 78°11'32.71"W). El Cantón se encuentra entre los 1.730 y los 4.300 m.s.n.m., la temperatura promedio anual es

de 13.7°C, con una máxima de 25.6 °C y una mínima de 3°C. Su precipitación media anual va de 400 mm a 1300 mm, con un periodo seco julio a octubre (GAD, 2015).

Figura 1. Área de Trabajo. Ecuador – Cantón Pedro Moncayo.



Métodos

Producción de Trichoderma sp.

Se realiza la producción de un Biopreparado a base de *Trichoderma sp.* en el laboratorio de Control Biológico de BellaRosa, la cepa fue proporcionada por el laboratorio de la finca Rosadex, se realizó la producción en dos fases, la primera fue la obtención de esporas mediante crecimiento en medio sólido, de acuerdo a la metodología descrita por Sivila y Alvarez (2013) con algunas modificaciones. El sustrato seleccionado fue trigo, el cual se somete a remojo durante 30 minutos en agua a 70°C. Luego se somete a proceso de cocción en autoclave a baño maría durante 45 minutos, las cantidades oscilan entre 5-6 kg por autoclave, a continuación se coloca aproximadamente 200g de trigo cocido en fundas de alta densidad, y se autoclava nuevamente por 20 min.

La preparación del inóculo se la realiza con la metodología de Chavez (2006), con ciertas modificaciones. Se realiza un caldo artesanal de zanahoria en botellas de 1L y se siembra todo el contenido de *Trichoderma sp.* de una caja Petri totalmente poblada, se incuba a 25-27°C la botella con aireación permanente durante 24 horas y esto se usa como inóculo; en cada funda se coloca 20mL. Las fundas inoculadas se colocan a 25-27°C y una humedad relativa entre 40-50, durante tres días, luego de lo cual se coloca en bandejas para que termine su esporulación (Sivila & Alvarez, 2013) y (Chavez, 2006).

Para la aplicación a las plantas se realiza la segunda fase que es una preparación en líquido, siguiendo la metodología de García, Durán y Riera en su artículo “Producción de biomasa de *Trichoderma harzianum* por fermentación líquida”, pero llevándolo a gran escala (García, Durán, & Riera, 2006). La producción de *Trichoderma sp.* fue de 15 L/ Ha/semana.

Aplicación de Trichoderma sp. en campo

El 60% del producto líquido a base de *Trichoderma* se aplica a botón y follaje, mediante Aguilones con seis boquillas (D35x3+C35x3), la descarga total de las boquillas es de 7.2 L/minuto, esto permite una buena cobertura de aplicación. El 40% del producto se aplica a suelo mediante goteo.

Diseño experimental

El diseño experimental para la fase de campo fue un diseño sistemático de bloques estratificados para observar relaciones entre subgrupos al azar. Los datos se obtuvieron a partir de la plataforma Scarab Solutions LTD que permite obtener la incidencia en porcentaje de área cultivada de acuerdo a cada variedad distribuida en los diferentes bloques.

El monitoreo se realizó de acuerdo a una programación de la distribución de bloques por día y por semana, de tal forma que cada semana se cubra en su totalidad los bloques monitoreados de la finca. Las camas se escogieron de acuerdo a la semana (semanas de camas pares y semanas de camas impares). Siempre se monitorea el inicio y el final de la cama, y se hace 8 paradas por cama (aproximadamente paradas cada 4 metros). Se revisa ausencia o presencia de *Botrytis cinerea* en botones en punto de corte. Los resultados son anotados en una aplicación de celular de Scarab Solutions LTD que mediante GPS indica exactamente las ubicaciones del monitoreo e indica en un mapa de la finca de acuerdo a la distribución de sus bloques, donde se encuentra el patógeno.

Análisis estadístico

Análisis de varianza no paramétrico Kruskal-Wallis que compara la esperanza de dos distribuciones, para verificar diferencias significativas en la incidencia de *B. cinerea* entre 2016 y 2017 por la aplicación de *Trichoderma* sp. de producción propia. Se usó el paquete estadístico InfoStat-Statistical Software versión estudiantil.

RESULTADOS

Consumo de fungicidas químicos

Los registros de cada fungicida químico que se consumió cada mes a lo largo del 2016 y 2017 constan en el sistema que maneja la empresa, eso permitió elaborar el siguiente cuadro para comparar anualmente todos los fungicidas químicos usados para combatir *Botrytis cinerea* (Tabla 1).

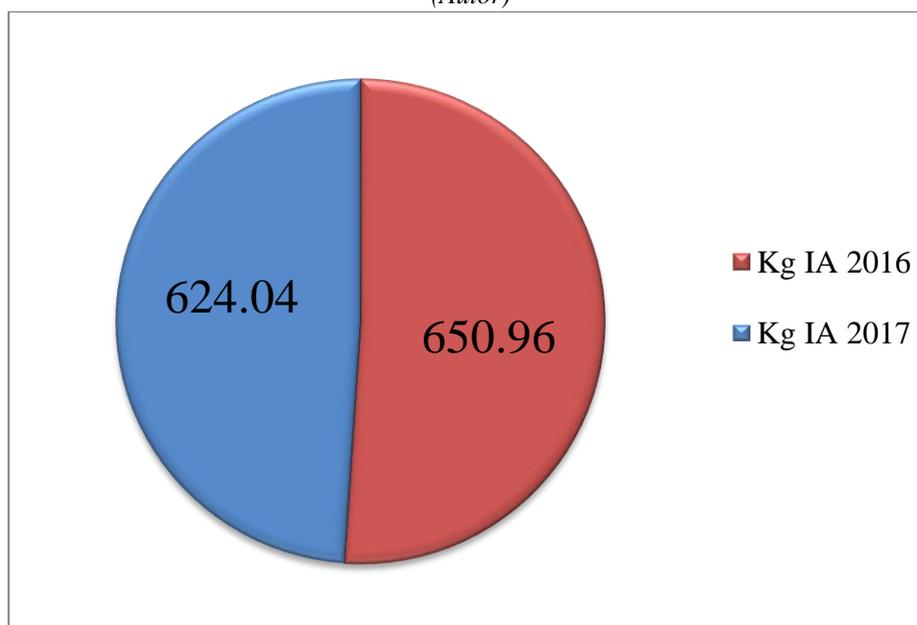
A partir de la Tabla 1 se pudo establecer una comparación de la diferencia en el consumo de fungicidas químicos para el blanco biológico *B. cinerea* del 2017 respecto del 2016. En la Gráfica 1 se puede observar los valores de kg de ingredientes activos consumido en el 2016 y 2017, esto representa una disminución del 4% del 2017 respecto del 2016.

Tabla 1. Cantidades consumidas de Fungicidas Químicos para combatir B. cinerea en kilogramos de ingredientes activos y en dólares gastados durante 2016 y 2017 (Autor)

FUNGICIDA QUÍMICO	UNIDADES	IA*	% IA /U	CANTIDAD 2016	Kg IA 2016	VALOR 2016	CANTIDAD 2017	kg IA 2017	VALOR 2017
ROVRAL 500 SC	LITROS	Iprodione	50.00%	68,132	34.07	2,804.65	36,953	18.48	1,555.74
LUNA TRANQUILITY	LITROS	Fluopyram	12.50%	46,225	5.78	3,889.20	22,775	2.85	1,945.33
		Pyrimethanil	37.50%		17.33			8.54	
SPONSOR	LITROS	Procloraz	45.00%	47,000	21.15	1,802.85	42,400	19.08	1,764.27
BELLIS	KILOS	Boscalid	25.20%	5,665	1.43	691.00	135	0.03	16.47
		Piraclostrobina	12.80%		0.73			0.02	
CARBOVAX	LITROS	Carboxin	20.00%	27,520	5.50	996.22	23,345	4.67	825.30
		Thiram	20.00%		5.50			4.67	
SPORTAK	LITROS	Procloraz	45.00%	22,000	9.90	1,070.30	0	0.00	0.00
CUSTODIA	LITROS	Azoxystrobin	12.00%	79,200	9.50	3,761.28	66,800	8.02	3,059.44
		Tebuconazole	20.00%		15.84			13.36	
BRAVO 720	LITROS	Clorotalonil	72.00%	17,000	12.24	185.01	10,000	7.20	112.64
MERPAN CAPTAN F.	LITROS	Captan	48.00%	161,495	77.52	1,397.37	111,505	53.52	992.55
KOCIDE	KILOS	Hidroxido de cobre	53.80%	2,000	1.08	24.32	5,180	2.79	60.66
SWITCH (CULTIVO)	KILOS	Ciprodinil	37.50%	96,290	36.11	25,664.00	20,830	7.81	5,791.29
		Fludioxinil	25.00%		24.07			5.21	
TELDOR COMBI	LITROS	Fenhexamid	35.00%	111,530	39.04	6,909.53	102,470	35.86	6,123.17
		Tebuconazole	6.67%		7.44			6.83	
DITHANE M 45 (POLVO)	GRAMOS	Mancozeb	80.00%	24,300	19.44	167.40	0	0.00	0.00
SCALA	LITROS	Pyrimethanil	40.00%	51,077	20.43	2,066.61	44,950	17.98	2,404.14
CAPTAN 80 - CUBIERTA	KILOS	Captan	48.00%	109,291	52.46	1,149.67	0	0.00	0.00
ETHOFIN	LITROS	Ethaboxam	10.00%	53,270	5.33	3,134.85	23,000	2.30	1,333.70
QUADRIS	KILOS	Azoxystrobin	50.00%	2,350	1.18	467.84	310	0.16	61.71
SIALEX	LITROS	Procymidone	50.00%	79,362	39.68	5,203.37	92,000	46.00	5,965.22
SANYSTAR	LITROS	Iminoctadine Tris	30.00%	104,585	31.38	6,270.18	33,715	10.11	1,993.20
SUNJET	LITROS	Isopyrazam	12.50%	0	0.00	0.00	20,321	2.54	2,712.29
CARGO	LITROS	Carbendazim	50.00%	32,000	16.00	357.40	16,000	8.00	214.40
POLAR	KILOS	Polyoxin	50.00%	30,442	15.22	9,741.51	0	0.00	0.00
ROVRAL 50 PM	KILOS	Iprodione	50.00%	15,000	7.50	613.78	0	0.00	0.00
STARNER	KILOS	Ácido Oxolínico	20.00%	7,360	1.47	724.97	0	0.00	0.00
MERTEC	LITROS	Tiabendazol	50.00%	36,520	18.26	2,668.12	39,000	19.50	2,900.42
DITHANE	LITROS	Mancozeb	60.00%	164,000	98.40	1,355.22	530,857	318.51	4,218.00
				TOTAL	650.96	83,116.65	TOTAL	624.04	44,049.94

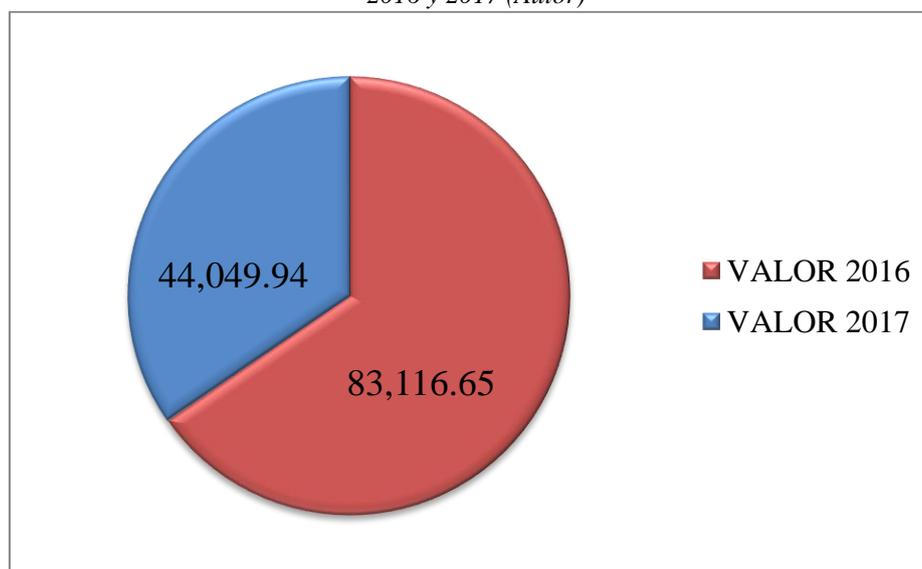
*Ingrediente Activo

Gráfica 1. Kilogramos de ingredientes activos consumidos para el control de *B. cinerea* en el 2016 y 2017 (Autor)



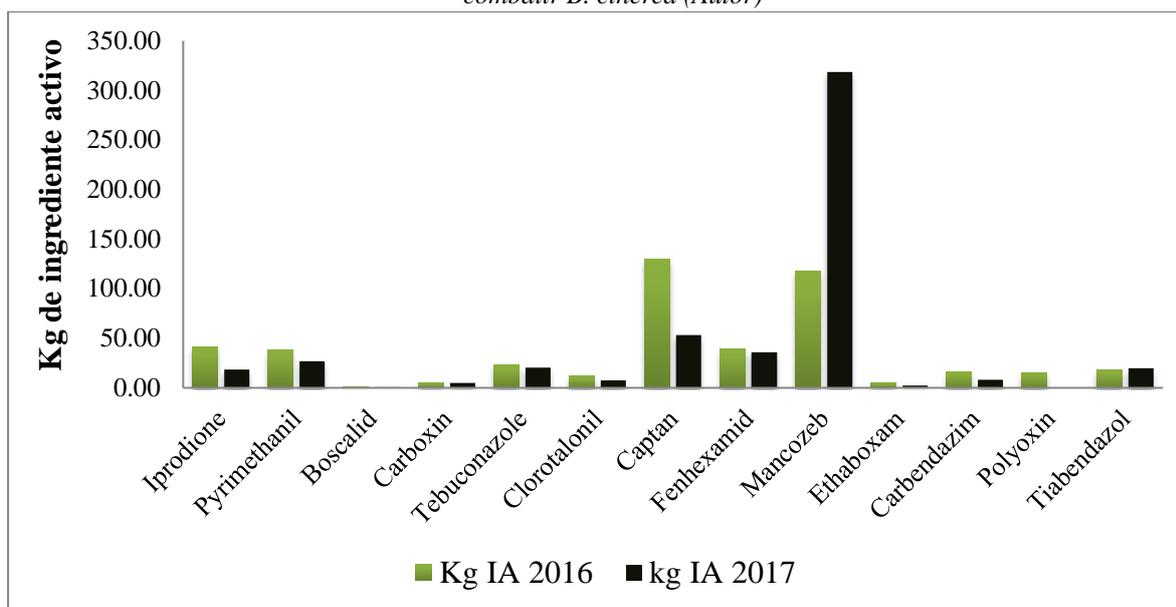
En la Gráfica 2 se puede el consumo en dólares de los fungicidas químicos para combatir *B. cinerea*, del 2016 al 2017 se redujo el valor en un 47%.

Gráfica 2. Valor en dólares gastados en fungicidas químicos para el control de *B. cinerea* en el 2016 y 2017 (Autor)



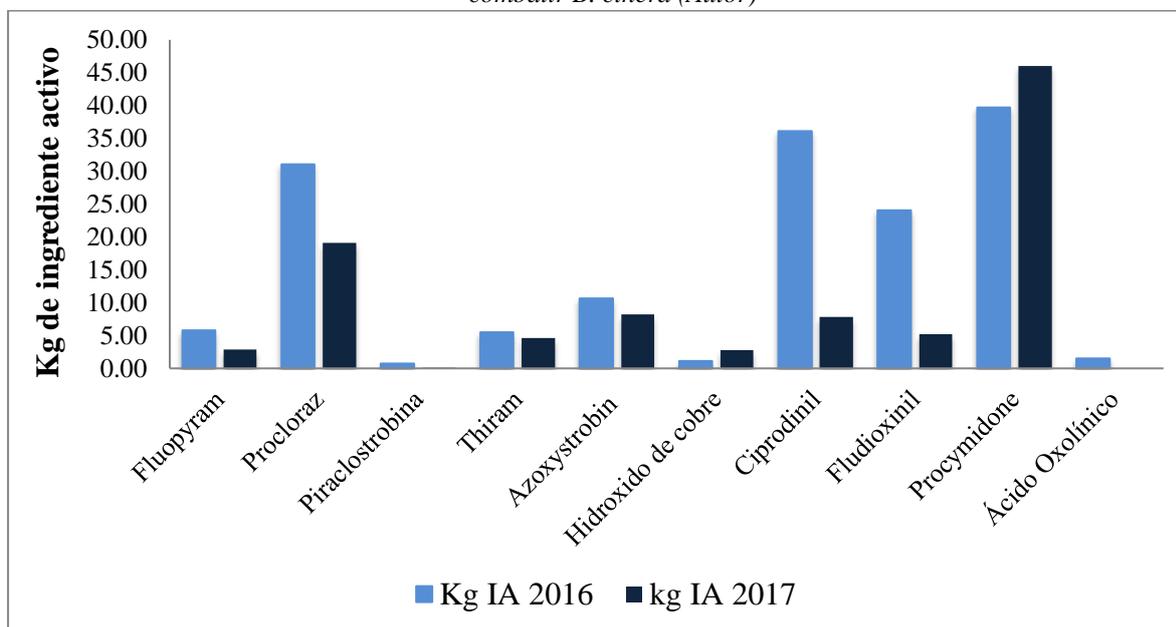
Adicionalmente se analizó el ingrediente activo que contenía cada fungicida químico y se los clasificó de acuerdo a sus categorías toxicológicas de la norma NTE INEN 1 898. En la Gráfica 3 se puede observar los ingredientes activos consumidos de categoría toxicológica VI (Probablemente no presentan riesgo en condiciones normales de uso), siendo Mancozeb el ingrediente activo más consumido en el 2017 y que no representa una disminución respecto del 2016.

Gráfica 3. Kilogramos de ingredientes activos de categoría toxicológica VI consumidos en el 2016 y 2017 para combatir *B. cinerea* (Autor)



En la Gráfica 4 se puede apreciar los ingredientes activos consumidos durante el 2016 y 2017 de categoría toxicológica III (Ligeramente Peligrosos), siendo Procymidone el ingrediente activo más consumido en el 2017 y que no representa una disminución respecto del 2016.

Gráfica 4. Kilogramos de ingredientes activos de categoría toxicológica III consumidos en el 2016 y 2017 para combatir *B. cinera* (Autor)



En la Gráfica 5 se analizaron los ingredientes activos consumidos durante el 2016 y 2017 de categoría toxicológica II (Moderadamente peligrosos), que se usaron para combatir a *B. cinerea* en la zona en estudio. Se observa que Iminoctadine Tris disminuyó su consumo para el 2017 y Isopyrazam se consumió únicamente en el 2017 en pequeñas cantidades.

Gráfica 5. Kilogramos de ingredientes activos de categoría toxicológica III consumidos en el 2016 y 2017 para combatir *B. cinerea* (Autor)



Incidencia *Botrytis cinerea*

En el 2017 se realizaron aplicaciones semanales de *Trichoderma* sp. de producción propia y hubo una disminución del consumo de fungicidas químicos, respecto del 2016 en donde las aplicaciones se hicieron de manera irregular con un producto comercial de *Trichoderma* sp. Para analizar la Incidencia de *B. cinerea* en campo se tomaron como referencia 8 variedades de acuerdo a las características que se indican en la Tabla 2; de todas las variedades se hizo un promedio de incidencia mensual misma que está dada de acuerdo a un porcentaje de área afectada. Se comparó los promedios mensuales del 2016 y 2017 para cada variedad, se calculó la Desviación Estándar promedio y los máximos mensuales.

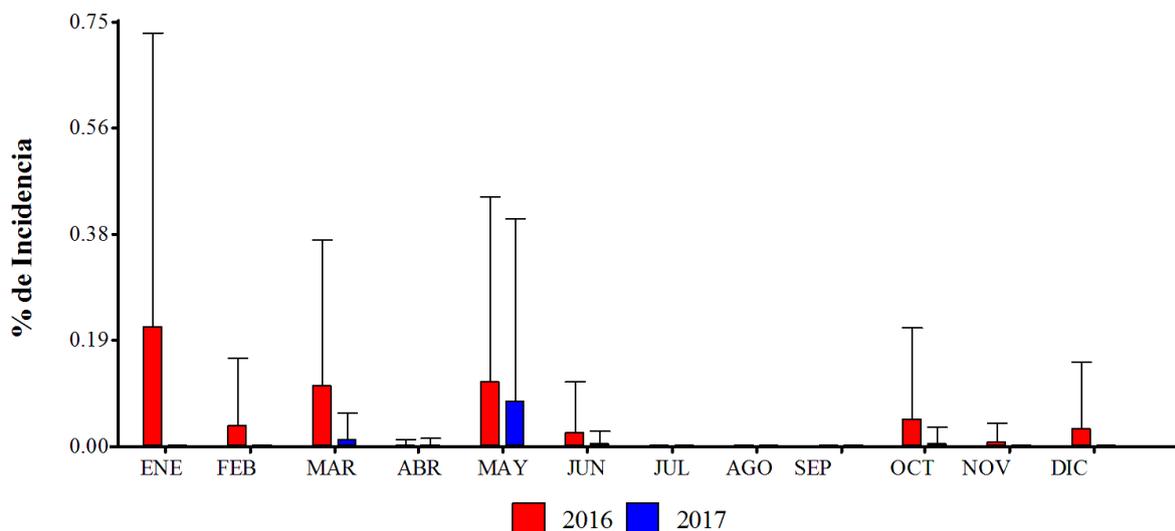
Tabla 2. Nombres y características de las variedades estudiadas para analizar incidencia de *B. cinerea* (Autor)

Nombre de la variedad	Color de la variedad	Nivel de sensibilidad a <i>B. cinerea</i>	Nivel de área cultivada	Número de bloques analizados
Freedom		Baja	Extensa	5
Explorer		Baja	Extensa	5
Iguazú		Media Baja	Reducida	5

Limónada		Media Baja	Reducida	3
Mondial		Alta	Extensa	5
Vendela		Alta	Extensa	5
White Chocolate		Media Alta	Reducida	5
Brighton		Media Alta	Reducida	3

En la Gráfica 6 se puede observar la incidencia de *B. cinerea* en la variedad Explorer durante los años 2016 y 2017, la incidencia promedio en el 2017 es menor que en el 2016, el valor máximo para esta variedad es de 0,71 en el mes de enero de 2016 y de 0.39 en el mes de mayo para el 2017. Los meses de julio, agosto y septiembre no presentan incidencia de *B. cinerea* en los dos años, lo cual coincide con humedades relativas bajas en período de verano.

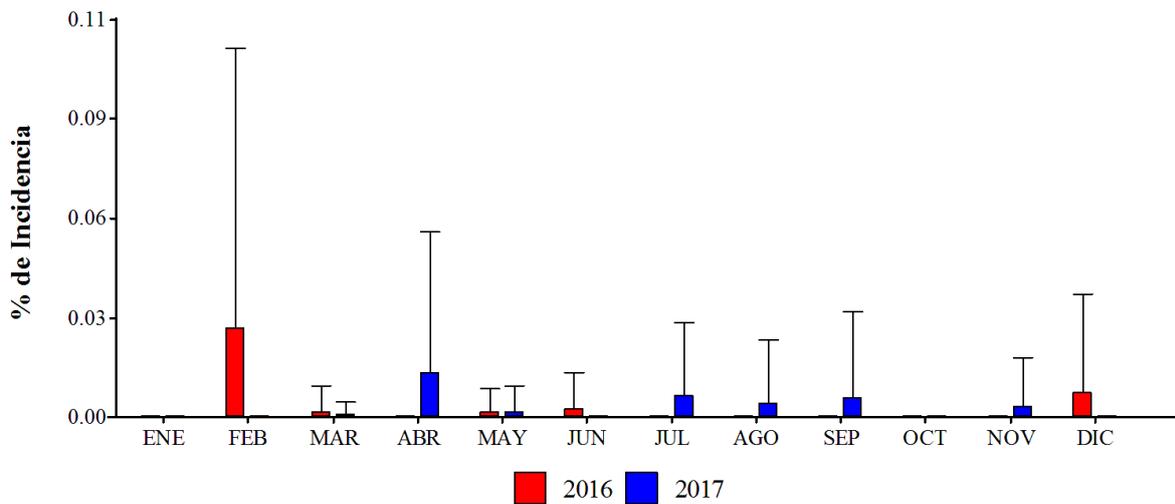
Gráfica 6. Porcentaje de Incidencia mensual promedio de *B. cinerea* 2016 y 2017 en Variedad Explorer (Autor)



En la Gráfica 7 se muestra la incidencia de *B. cinerea* para la variedad Freedom en el 2016 y 2017, la incidencia promedio para los meses de abril, julio, agosto, septiembre y noviembre, se presenta solo en el año 2017, sin embargo los valores máximos de estos meses son de 0.05,

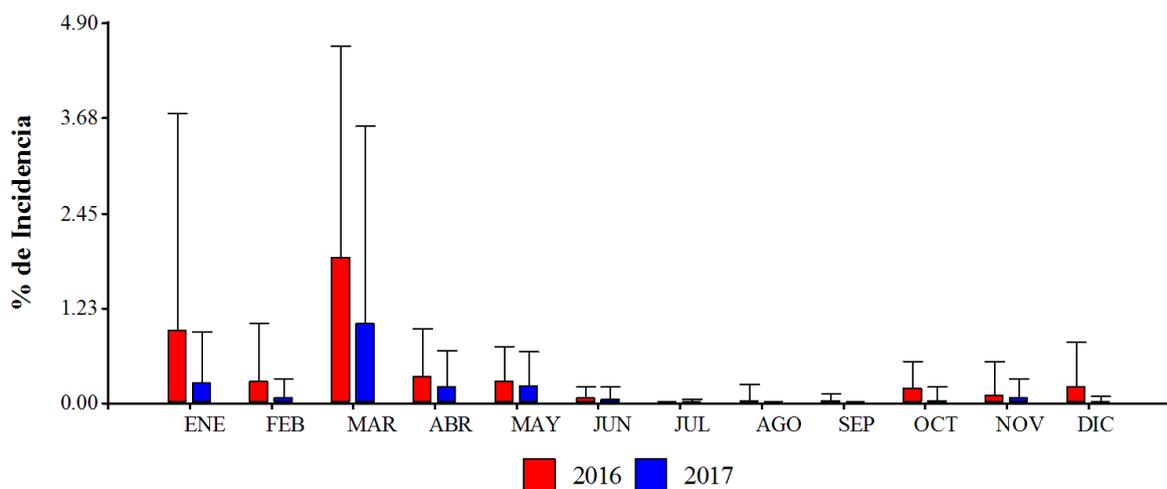
0.027, 0.022, 0.03 y 0.017, es la variedad que menores incidencias de *B. cinerea* presenta en los dos años, su incidencia máxima es de 0.1 en el mes de febrero del 2016.

Gráfica 7. Porcentaje de Incidencia mensual promedio de *B. cinerea* 2016 y 2017 en Variedad Freedom (Autor)



Los porcentajes de incidencia mensual promedio de *B. cinerea* para el 2016 y 2017 en la variedad Iguazú se ven representados en la Gráfica 8, donde la tendencia es igual que en la variedad Explorer, la incidencia en el 2017 es menor que en el 2016. Los valores máximos se dan en el mes de marzo con un valor de 4.54 en el 2016 y 3.51 en el 2017. En los meses de Julio, Agosto y Septiembre las incidencias son muy bajas respecto de los otros meses de año 2016 y en el 2017 no se presentan incidencias en estos meses que son de humedades relativas bajas y ser época de verano.

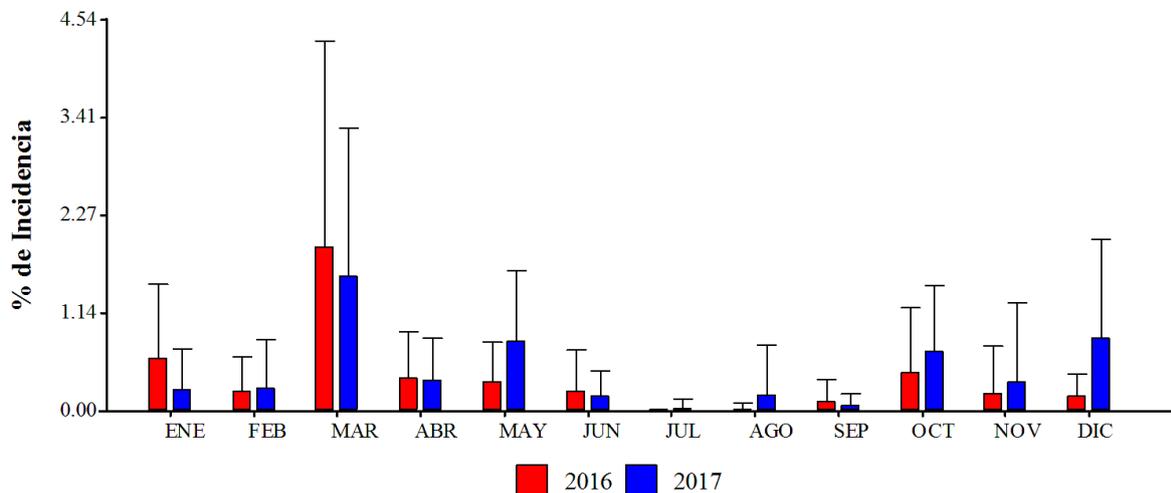
Gráfica 8. Porcentaje de Incidencia mensual promedio de *B. cinerea* 2016 y 2017 en Variedad Iguazú (Autor)



En la Gráfica 9 se puede observar el porcentaje de incidencia mensual promedio de *B. cinerea* de la variedad Limonada, en los meses de Enero, Febrero, Marzo, Abril, Junio, Septiembre las incidencias son menores para el año 2017, sin embargo en los meses de Mayo, Julio, Agosto, Octubre, Noviembre y Diciembre la tendencia es inversa. Los valores máximos

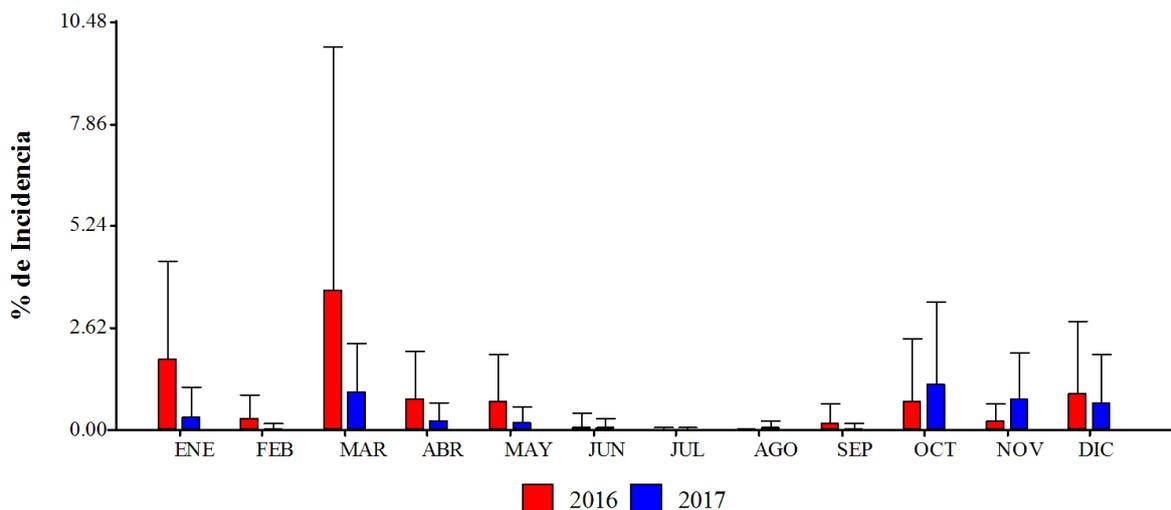
de incidencia se dan en el mes de Marzo con valores de 4.21 y 3.23 respectivamente para los años 2016 y 2017. Al igual que en las otras variedades en los meses de Julio, Agosto y Septiembre las incidencias son las más bajas.

Gráfica 9. Porcentaje de Incidencia mensual promedio de *B. cinerea* 2016 y 2017 en Variedad Limonada (Autor)



Para la variedad Mondial se muestra la Gráfica 10 con los porcentajes de incidencia promedio mensual de *B. cinerea*, en donde se aprecia que para todos los meses excepto Octubre y Noviembre los valores de incidencia del 2016 son mayores a los del 2017, en el mes de Marzo se da la mayor incidencia de la enfermedad en el 2016 con valores de 9.73 y en el mes de Octubre 3.62 para el 2017. La tendencia al igual que en las otras variedades en periodo de verano (julio, agosto y septiembre) se ven las menores incidencias en los dos años.

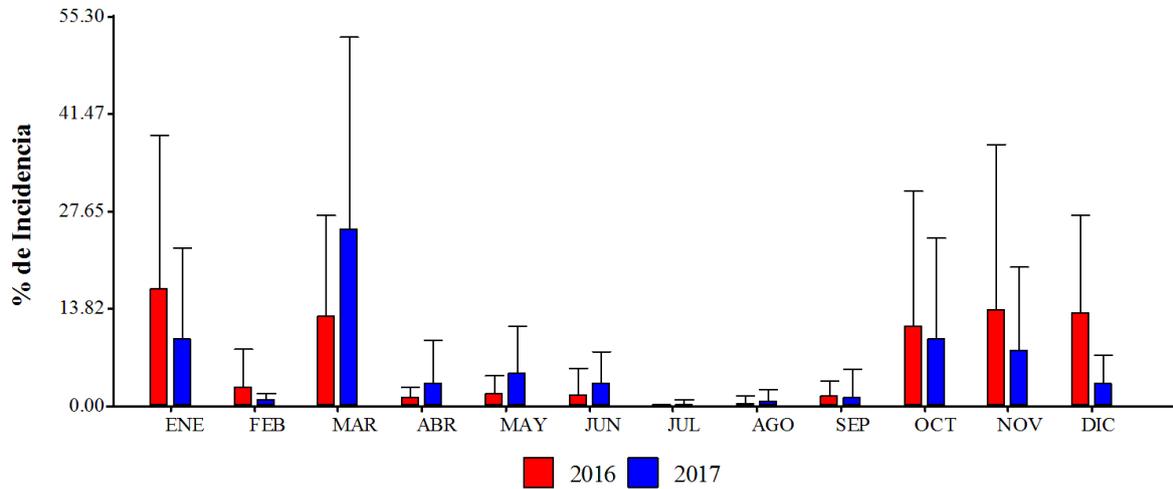
Gráfica 10. Porcentaje de Incidencia mensual promedio de *B. cinerea* 2016 y 2017 en Variedad Mondial (Autor)



En la Gráfica 11 se encuentra el porcentaje de incidencia mensual promedio de *B. cinerea* para la variedad Vendela, en los meses de Enero, Febrero, Septiembre, Octubre, Noviembre y Diciembre la tendencia es que las incidencias son mayores en el 2016; sin embargo para los meses de Marzo, Abril, Mayo, Junio, Julio y Agosto los valores más altos de incidencia de la enfermedad se presenta en el 2017. Esta variedad presenta los valores de incidencia más altos

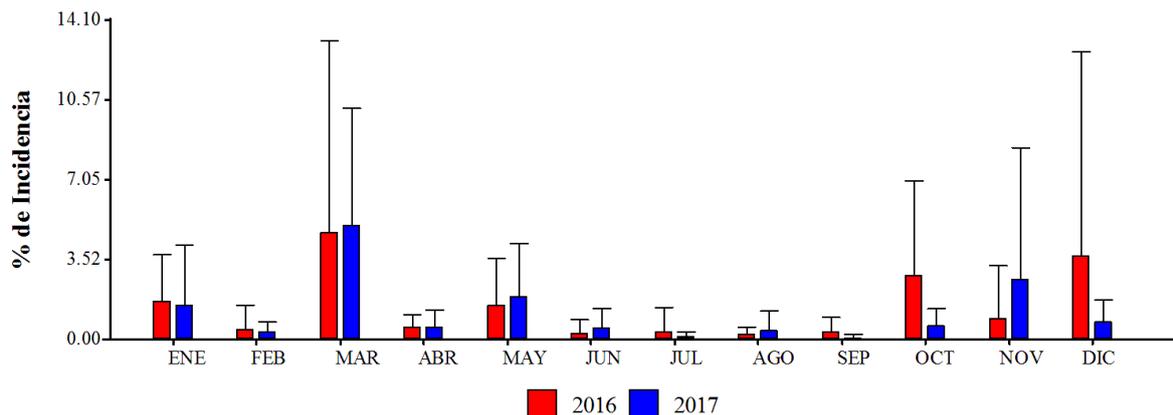
entre las 8 variedades estudiadas, siendo el mes de marzo de 2017 el que presenta el valor máximo de 51.81, seguido del mes de Enero de 2016 con un valor de 37.84.

Gráfica 11. Porcentaje de Incidencia mensual promedio de *B. cinerea* 2016 y 2017 en Variedad Vendela (Autor)



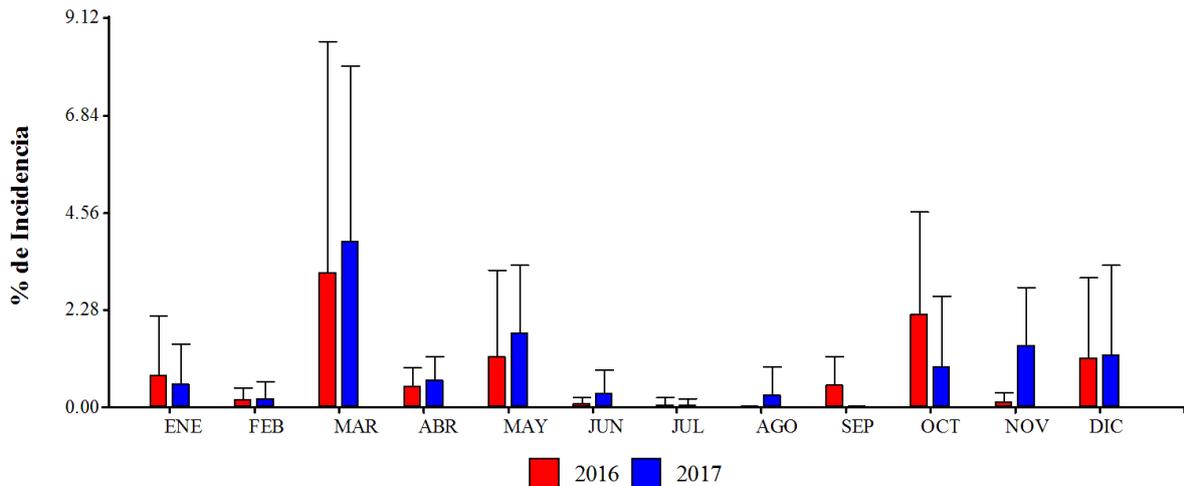
La variedad White Chocolate se muestra en la Gráfica 12 con sus porcentajes de incidencia mensual promedio de *B. cinerea*, al igual que la anterior variedad no es un patrón uniforme, se puede observar que en los meses de Enero, Febrero, Julio, Septiembre, Octubre y Diciembre las incidencias de la enfermedad son mayores en el 2016; pero en los meses de Marzo, Abril, Mayo, Junio, Agosto y Noviembre las mayores incidencias se presentan en el 2017. Los valores máximos de incidencias se observan en el mes de Marzo con valores de 8.27 y 10.07 respectivamente para el 2016 y 2017. Las incidencias más bajas se observan al igual que en otras variedades se presentan en los meses de Julio, Agosto y Septiembre.

Gráfica 12. Porcentaje de Incidencia mensual promedio de *B. cinerea* 2016 y 2017 en Variedad White Chocolate (Autor)



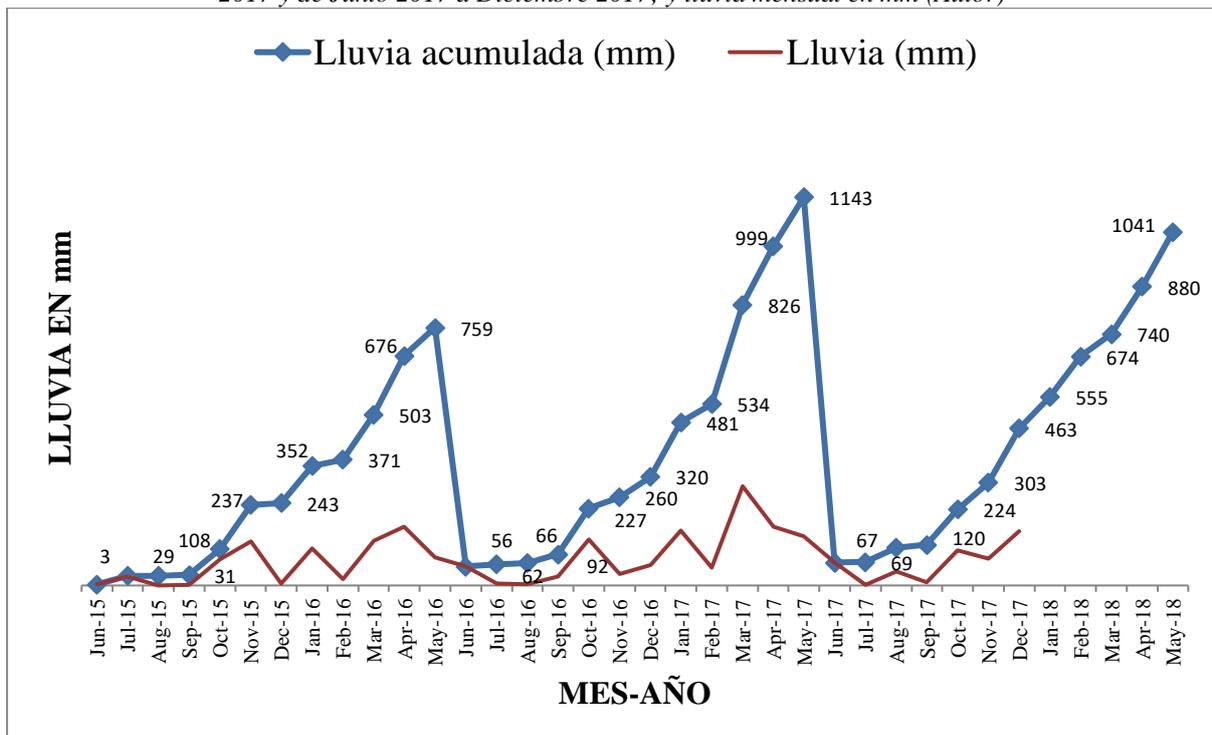
La Gráfica 13 muestra el porcentaje de incidencia mensual promedio de *B. cinerea* para la variedad Brighton, aquí se observa que en los meses de Enero, Julio, Septiembre, Octubre y Diciembre los valores de incidencia son mayores o iguales en el 2016 comparados con el 2017; pero en los meses de Febrero, Marzo, Abril, Mayo, Junio, Agosto y Noviembre las incidencias de la enfermedad son mayores en el 2017. La mayor incidencia para los dos años se da en el mes de Marzo, con valores de 5.21 en el 2016 y 7.85 en el 2017. En esta variedad los meses con menor incidencia son Febrero, Junio, Julio y Agosto.

Gráfica 13. Porcentaje de Incidencia mensual promedio de *B. cinerea* 2016 y 2017 en Variedad Brighton (Autor)



Debido a que todas las variedades presentaron incidencias bajas o nulas en los meses de Julio, Agosto y Septiembre, que son los meses más secos, se realizó una gráfica de lluvia acumulada en tres periodos: Junio 2015 a Mayo 2016, Junio 2016 a Mayo 2017 y Junio 2017 a Diciembre 2017 (Gráfica 14), aquí se puede apreciar que para el mes de Mayo en el año 2017 la precipitación acumulada tiene un valor de 1143mm lo cual supera al valor de precipitación acumulada de Mayo 2016 el cual es de 759mm; además para todas las variedades excepto Explorer y Freedom, Marzo es el mes donde mayores incidencias se presentan ya sea para el año 2016 (503 mm) o 2017 (826 mm), y luego del verano se observa que la incidencias sube drásticamente en el mes de octubre, por lo que se presume hay un nuevo brote no controlado cuando la precipitación acumulada en el año 2016 llega a 227 mm y en el año 2017 alcanza los 224 mm.

Gráfica 14. Lluvia acumulada en el período de Junio 2015 a Mayo 2016, en el período de Junio 2016 a Mayo 2017 y de Junio 2017 a Diciembre 2017; y lluvia mensual en mm (Autor)



Se realizó la prueba de Kruskal Wallis para observar si existen diferencias significativas entre las incidencias del 2016 y del 2017 en cada variedad, además esta prueba estadística permite comparar la incidencia de *Botrytis cinerea* en ausencia (2016) y presencia (2017) de la aplicación semanal de *Trichoderma* sp. de producción propia en el cultivo de rosas en estudio.

La comparación de la incidencia de *B. cinerea* en la variedad Explorer en el año 2016 y 2017 si tiene diferencias significativas, el valor p es $<0,05$ por lo tanto los tratamientos son diferentes, sin embargo las medias de incidencia dan valores de 0.05 y 0.01 respectivamente en los dos años por lo que se puede afirmar que con la disminución de fungicidas del 2017 respecto del 2016 y la aplicación semanal del Biofungicida a base de *Trichoderma* sp. logró incluso reducir la incidencia de *B. cinerea* en esta variedad que se conoce es poco sensible a la enfermedad (Tabla 3).

Tabla 3. Prueba de Kruskal Wallis para la incidencia de *B. cinerea* en la variedad Explorer en el 2016 y 2017

Prueba de Kruskal Wallis (5%)						
Variable	Año	N	Medias	D.E.	H	p
Incidencia	2016	266	0.05	0.21	2.24	0.0004
Incidencia	2017	259	0.01	0.09		

En la Tabla 4 se muestra los resultados de la prueba de Kruskal Wallis para la incidencia en la variedad Freedom, los dos tratamientos son no presentan diferencias significativas ($p>0.05$), es decir que se mantuvo con medias de incidencia de 3.30E-03 y de 2.70E-03 en el año 2016 y 2017 respectivamente. La disminución del consumo de fungicidas y la aplicación del biofungicida a base de *Trichoderma* sp. en el año 2017 no afecto en la incidencia de *B. cinerea* respecto del 2016.

Tabla 4. Prueba de Kruskal Wallis para la incidencia de *B. cinerea* en la variedad Freedom en el 2016 y 2017

Prueba de Kruskal Wallis (5%)						
Variable	Año	N	Medias	D.E.	H	p
Incidencia	2016	264	3.30E-03	0.03	0.01	0.787
Incidencia	2017	261	2.70E-03	0.02		

En el caso de la variedad Iguazú los tratamientos si presentan diferencias significativas ($p<0.05$) y la media del 2017 es menor que la del 2016, por lo tanto podemos decir que el tratamiento del año 2017 es el mejor. La incidencia de *B. cinerea* para esta variedad se redujo luego de la aplicación del biofungicida a base de *Trichoderma* sp. y de la disminución de fungicidas químicos (Tabla 5).

Tabla 5. Prueba de Kruskal Wallis para la incidencia de *B. cinerea* en la variedad Iguazú en el 2016 y 2017

Prueba de Kruskal Wallis (5%)						
Variable	Año	N	Medias	D.E.	H	p
Incidencia	2016	262	0.38	1.31	4.15	0.0044
Incidencia	2017	261	0.17	0.83		

En la Tabla 6 se puede observar la prueba de Kruskal Wallis para la incidencia de *B. cinerea* en la variedad Limonada, el valor p en este caso es >0.05 lo que nos indica que no existe diferencias significativas en los tratamientos. La incidencia en esta variedad se no se ve afectada luego de la disminución de la aplicación de los fungicidas químicos y la aplicación semanal del biofungicida a base de *Trichoderma* sp. en el 2017, respecto del 2016.

Tabla 6. Prueba de Kruskal Wallis para la incidencia de *B. cinerea* en la variedad Limonada en el 2016 y 2017

Prueba de Kruskal Wallis (5%)						
Variable	Año	N	Medias	D.E.	H	p
Incidencia	2016	156	0.39	0.97	2.28	0.0894
Incidencia	2017	156	0.49	0.91		

Las pruebas de Kruskal Wallis para la incidencia de *B. cinerea* en las variedades Mondial (Tabla 7), Vendela (Tabla 8), White Chocolate (Tabla 9) y Brighton (Tabla 10), no mostraron diferencias significativas en sus tratamientos, para todos los casos el valor p es >0.05 ; es decir que en todas estas variedades la disminución del consumo de fungicidas y la aplicación semana del biofungicida a base de *Trichoderma* sp. en el año 2017 no afecto en la incidencia de *B. cinerea* respecto del 2016.

Tabla 7. Prueba de Kruskal Wallis para la incidencia de *B. cinerea* en la variedad Mondial en el 2016 y 2017

Prueba de Kruskal Wallis (5%)						
Variable	Año	N	Medias	D.E.	H	p
Incidencia	2016	258	0.81	2.41	1.58	0.14
Incidencia	2017	260	0.39	1		

Tabla 8. Prueba de Kruskal Wallis para la incidencia de *B. cinerea* en la variedad Vendela en el 2016 y 2017

Prueba de Kruskal Wallis (5%)						
Variable	Año	N	Medias	D.E.	H	p
Incidencia	2016	260	6.33	13.39	0.86	0.3423
Incidencia	2017	256	5.97	12.67		

Tabla 9. Prueba de Kruskal Wallis para la incidencia de *B. cinerea* en la variedad White Chocolate en el 2016 y 2017

Prueba de Kruskal Wallis (5%)						
Variable	Año	N	Medias	D.E.	H	p
Incidencia	2016	258	1.49	4.25	0.18	0.6493
Incidencia	2017	256	1.25	2.91		

Tabla 10. Prueba de Kruskal Wallis para la incidencia de *B. cinerea* en la variedad Brighton en el 2016 y 2017

Prueba de Kruskal Wallis (5%)						
Variable	Año	N	Medias	D.E.	H	p
Incidencia	2016	156	0.84	2.16	2.26	0.0988
Incidencia	2017	154	0.99	1.95		

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Representa una buena práctica implementar la producción del biopreparado a base de *Trichoderma* sp. dentro de la finca para aplicarlo semanalmente, logrando así reducir los fungicidas químicos de rotación usados para combatir *B. cinerea*, estos constituyen un rubro importante en los gastos de producción, por lo tanto su reducción del 47% (39,066.71 dólares) indica un ahorro importante. Al momento de transformar todos estos fungicidas usados en el 2016 y 2017 a kilogramos de ingredientes activos, la disminución total en el consumo es del 4% (26.92 kg), esta diferencia tan marcada respecto al rubro que representa en dólares se debe principalmente al porcentaje de ingrediente activo que cada producto comercial tiene y a reducciones puntuales y significativas en productos de mayor valor, por ejemplo Switch (Tabla 1).

Esta reducción del 4% en ingredientes activos que se clasifican en categorías toxicológicas, indican que productos ligeramente peligrosos y moderadamente peligrosos tuvieron una disminución de aplicaciones a campo y esto de seguro disminuye el impacto ambiental que los mismos generan, a pesar que calcularlo no fue el objetivo de esta investigación.

Respecto a las variedades seleccionadas para analizar la incidencia de la enfermedad en campo antes y después del tratamiento con las aplicaciones semanales de *Trichoderma* sp. de producción propia; se tomó 8 variedades de acuerdo a sus niveles de sensibilidad a la enfermedad y al área cultivada. Una parte de la sensibilidad a la enfermedad en las variedades está dada por su coloración, los pigmentos de las flores se producen por compuestos químicos llamados antocianinas, estas pueden ser: delfinidinas (púrpura), cianidinas (rojo o magenta) y pelargonidina (tomate, rosado o rojo ladrillo); además está la clorofila (verde), los carotenoides (amarillo, tomate y rojo) y la falta de pigmentos (blanco). Pero la importancia de los pigmentos en este estudio radica en que éstos le confieren a la flor resistencia, las antocianinas que son los más importantes en la coloración de la rosa por ejemplo le confieren defensa frente a herbívoros y patógenos, además de protección frente a bajas temperaturas y protección frente a radiación UV; por ende las variedades que carecen de pigmento no cuentan con esta función biológica que cumple el mismo (Narbona, Buide, Casimiro, & del Valle, 2014; OGTR, 2005).

Según el estudio realizado por Williamson y colaboradores (1995), probaron el efecto de la humedad sobre pétalos de rosa inoculados con *B. cinerea*, determinando que los pétalos desarrollaron lesiones dentro de las 24 h con humedades relativas por encima de 94%, y la necrosis fue grave después de 48 h (Williamson et al., 1995). Estas condiciones se tienen en campo en época lluviosa, es por eso que en los meses de junio, julio y agosto en todas las variedades se observa las incidencias de *B. cinerea* más bajas en los dos años estudiados.

En la Gráfica 14 se puede observar que el año 2017 fue más lluvioso que el 2016, sin embargo estadísticamente las variedades Explorer e Iguazú, mostraron diferencias significativas en sus tratamientos, presentando medias más bajas de incidencia en el 2017, por tanto la incidencia disminuyó con la aplicación semanal de *Trichoderma* sp. en campo, para estas dos variedades. Las variedades Freedom, Limonada, Vendela, Mondial, White Chocolate y Brighton no mostraron diferencias significativas en sus tratamientos, es decir que la incidencia se mantuvo durante los dos años.

No se puede establecer un patrón en todas las variedades respecto a la incidencia y la cantidad de lluvia acumulada, sin embargo las variedades con sensibilidad baja (incidencias

máximas <1%), Freedom y Explorer; no presentan un brote no controlado de la enfermedad luego del verano (octubre, noviembre y diciembre), las variedades con sensibilidad media-baja (incidencias máximas entre 1 y 5%) Iguazú y Limonada, tienen porcentajes de incidencia similar en los meses de abril, mayo y junio; con los meses de octubre, noviembre y diciembre. Por último las variedades con sensibilidad alta y media-alta (incidencias máximas >9%) tienen un patrón similar de presentar brotes no controlados luego del verano (lluvia acumulada >200mm).

En conclusión, se disminuyó el consumo de fungicidas químicos para *B. cinerea* en un 4%, esto significa 26.92 kg de ingredientes activos contaminantes al año que se dejaron de usar en campo. Y esta disminución representó un ahorro del 47% (39,066.71 dólares) en la compra de fungicidas químicos para este blanco biológico.

El ingrediente activo Ciprodinil y Fludioxinil de categoría toxicológica III (ligeramente peligrosos) tuvieron una disminución significativa durante el año 2017 de aplicaciones semanales de *Trichoderma* sp., los ingredientes activos Flyopyram, Procloraz, Prioclostrobin, Thiram, Azoxystrobin y Ácido Oxalínico se consumieron en menor cantidad en el año 2017; mientras que Hidróxido de cobre y Procymidone tuvieron un consumo ligeramente mayor en este mismo año. El ingrediente activo Imminoctadine Tris de categoría toxicológica II (moderadamente peligrosos) tuvo una disminución muy marcada en el 2017.

Las diferencias de niveles de sensibilidad en las variedades entre otras cosas está dada por el color de la variedad, es así que las variedades rojas que alcanzan incidencias máximas <1% (Freedom y Explorer) e incidencias máximas entre 1 y 5% (Iguazú), poseen antocianinas que le confieren defensa ante patógenos, además de otras características.

La incidencia de *B. cinerea* en todas las variedades es muy baja o nula en el período de julio a septiembre, lo cual tiene una relación directa con la cantidad de lluvia acumulada. En todas las variedades excepto Freedom, Explorer e Iguazú, se observa que luego de ese período de sequía las incidencias empiezan a subir luego de acumularse más de 200mm de lluvia en el mes de octubre tanto en el 2016 como en el 2017.

Las variedades Explorer e Iguazú presentan diferencias significativas entre tratamientos, lo que quiere decir una disminución en la incidencia de *B. cinerea* en el 2017, respecto del 2016. Las variedades Freedom, Limonada, Mondial, Vendela, White Chocolate y Brighton, no presentan diferencias significativas entre tratamiento, esto significa que la incidencia de *B. cinerea* se mantiene en los dos años.

Se recomienda para las variedades con sensibilidad alta y media-alta a *B. cinerea* establecer un programa de protección contra la enfermedad en el mes de septiembre para evitar que cuando la lluvia acumulada supere los 200mm la incidencia de la enfermedad incremente drásticamente, esto entre productos biológicos y químicos logrando un manejo sustentable de la enfermedad en campo.

Igualmente, analizar más variedades y poder establecer patrones de comportamiento de la enfermedad, así como también hacer un seguimiento del año 2018 en campo y observar incidencias de *B. cinerea* en un segundo año de aplicaciones semanales del biopreparado a base de *Trichoderma* sp.

BIBLIOGRAFÍA

- Beever, R. E., & Weeds, P. L. (2007). Taxonomy and genetic variation of botrytis and botryotinia. In *Botrytis: Biology, Pathology and Control* (pp. 29–52). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3_3
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249–260. <https://doi.org/1139-6709>
- Carvalho, F. P., Nhan, D., Zhong, C., Tavares, T., & Klaine, S. (1998). RASTREO DE PLAGUICIDAS EN LOS TRÓPICOS. Retrieved May 9, 2018, from https://www.iaea.org/sites/default/files/40305692430_es.pdf
- Chavez, M. (2006). *Producción de Trichoderma sp. y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (Dendranthema grandiflora)*. Pontificia Universidad Javeriana. Retrieved from <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis286.pdf>
- Droby, S., & Lichter, A. (2007). Post-harvest botrytis infection: Etiology, development and management. In *Botrytis: Biology, Pathology and Control* (pp. 349–367). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3_19
- Elad, Y. (2001). Biological control of *Botrytis cinerea*. *Th General Assembly/Wprs Bulletin*, 26(9), 7–8. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Yigal_Elad/publication/286776083_Biological_control_of_Botrytis_cinerea/links/566d92a008ae62b05f0b2448/Biological-control-of-Botrytis-cinerea.pdf
- Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., & Delen, N. (2007). *Botrytis: Biology, pathology and control*. (Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski, & N. Delen, Eds.), *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Dordrecht: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3>
- Elad, Y., Zimand, G., Zaqs, Y., Zuriel, S., & Chet, I. (1993). Use of *Trichoderma harzianum* in combination or alternation with fungicides to control cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial greenhouse conditions. *Plant Pathology*, 42(3), 324–332. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1993.tb01508.x>
- FAO. (2017). FAOSTAT. Retrieved April 26, 2018, from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>
- FHIA. (2007). DETERIORO POSCOSECHA DE LAS FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS POR HONGOS Y BACTERIAS. *Fhia*, (4), 2–4. Retrieved from http://www.fhia.org.hn/downloads/fhia_informa/fhiainfdic2007.pdf
- GAD, P. M. (2015). Plan de Ordenamiento y Desarrollo Cantonal Pedro Moncayo, 138. Retrieved from <http://www.pedromoncayo.gob.ec/documentos/ord2015/PDOT.pdf>
- García, R., Durán, M. A., & Riera, R. (2006). Producción De Biomasa De *Trichoderma Harzianum* Por Fermentación Líquida. *Redalyc.Org*, 10(4), 1–2. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/2091/209116183008.pdf>
- Heisey, P. W., & Norton, G. W. (2007). Chapter 53 Fertilizers and other farm chemicals. In *Handbook of Agricultural Economics* (Vol. 3, pp. 2741–2777). [https://doi.org/10.1016/S1574-0072\(06\)03053-2](https://doi.org/10.1016/S1574-0072(06)03053-2)
- INEC. (2014). Uso y Manejo de Agroquímicos en la Agricultura 2014. Retrieved April 26, 2018, from http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/plaguicidas/Plaguicidas-2014/Modulo_Uso_y_Manejo_de_Agroquimicos.pdf
- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14–21. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v24n1/rpv02109.pdf>

- Jaklitsch, W. M., Samuels, G. J., Dodd, S. L., Lu, B. S., & Druzhinina, I. S. (2006). *Hypocrea rufa*/Trichoderma viride: A reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia. *Studies in Mycology*, 56, 135–177. <https://doi.org/10.3114/sim.2006.56.04>
- Narbona, E., Buide, M., Casimiro, I., & del Valle, J. (2014). Polimorfismos de color floral : causas e implicaciones evolutivas. *Ecosistemas*, 23(3), 36–47.
- OGTR. (2005). The Biology and Ecology of Rosa x hybrida (Rose). Retrieved from [http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/rose-3/\\$FILE/biologyrose1.pdf](http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/rose-3/$FILE/biologyrose1.pdf)
- PROEcuador. (2018). Ficha Técnica de Ecuador – 2018 – PRO ECUADOR. Retrieved April 20, 2018, from <https://www.proecuador.gob.ec/ficha-tecnica-de-ecuador/>
- Rajesh, R. W., Rahul, M. S., & Ambalal, N. S. (2016). Trichoderma: A significant fungus for agriculture and environment. *African Journal of Agricultural Research*, 11(22), 1952–1965. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10584>
- Rodríguez, M. J. (2007). ANÁLISIS DEL IMPACTO EN EL SECTOR FLORÍCOLA ECUATORIANO, EL IMPUESTO A LA SALIDA DE DIVISAS ESTABLECIDO POR EL GOBIERNO DEL ECUADOR EN EL PERÍODO 2007-2011. UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS. Retrieved from <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/3048/1/UDLA-EC-TLNI-2013-01%28S%29.pdf>
- Samuels, G. (2004). Changes in taxonomy, occurrence of the sexual stage and ecology of Trichoderma spp. *Phytopathology*, (94), 195–206.
- Schuster, A., & Schmoll, M. (2010). Biology and biotechnology of Trichoderma. *Appl Microbiol Biotechnol*, (87), 787–799. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2632-1>
- Sivila, N., & Alvarez, S. (2013). *Produccion artesanal de trichoderma*. (S. Alvarez, Ed.) (1ra. Edici). Jujuy-Argentina. Retrieved from <http://www.cedaf.fca.unju.edu.ar/assets/manual-de-trichoderma-2013---sivila-alvarez.pdf>
- Túqueres, L. (2016). RESPUESTA DEL CULTIVO DE ROSA (*Rosa sp.*) A LA APLICACIÓN DE TRICHODERMA (*Trichoderma harzianum*) PARA EL MANEJO DE BOTRYTIS (*Botrytis cinerea*) Pers.Fr. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/10154/1/T-UCE-0004-91.pdf>
- Varona, M. E., Tolosa, J. E., Cárdenas, O., Torres, C. H., Pardo, D., Carrasquilla, G., & Frumkin, H. (2005). Descripción del uso y manejo de plaguicidas en las empresas de flores afiliadas a Asocolflores. *Biomédica*, 25, 377–389. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v25n3/v25n3a13.pdf>
- Williamson, B., Duncan, G. H., Harrison, J. G., Harding, L. A., Elad, Y., & Zimand, A. N. D. G. (1995). Effect of humidity on infection of rose petals by dry-inoculated conidia of *Botrytis cinerea*. *Mycol. Res.*, 99(11), 1303–1310. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)81212-4](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)81212-4)
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & Van Kan, J. A. L. (2007, September). *Botrytis cinerea*: The cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x>
- Zapata, R., Quiroga, M., Murillo, B., Agüero, D., Lisi, B., & Mena, P. (2012). TRICHODERMA spp BIOCONTROLADOR Y PROMOTOR DE CRECIMIENTO: UNA ALTERNATIVA AL USO DE AGROQUÍMICOS EN CULTIVOS INTENSIVOS, 16, 47–55.
- Zhu, H. (2010). *Strategies to Improve the Post-Harvest Characteristics of the Cut Rose Flower: Botrytis Susceptibility, Transgenic Resistance, and Differential Gene Expression during the onset of Bent Neck and Petal Bluing*. North Carolina State University . Retrieved from

<https://repository.lib.ncsu.edu/bitstream/handle/1840.16/6429/etd.pdf?sequence=1>