

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMIA



**“CONTROL DEL MOHO GRIS (*Botrytis cinerea* Pers.) EN *Begonia rex*
CON FUNGICIDAS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS”**

Presentado por:

Pamela Alejandra Chávez Infante

Tesis para optar el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Lima – Perú
2016

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA

**“CONTROL DEL MOHO GRIS (*Botrytis cinerea* Pers.) EN *Begonia rex*
CON FUNGICIDAS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS”**

Presentado por:
PAMELA ALEJANDRA CHÁVEZ INFANTE

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO AGRONOMO**

Sustentada y Aprobada ante el siguiente jurado:

Ing. Mg. Sc. Walter Apaza Tapia
PRESIDENTE

Ing. Mg.Sc. Carlos Cadenas Giraldo
PATROCINADOR

Ing. José Palacios Vallejo
MIEMBRO

Dra. Luz Leonor Mattos Calderón
MIEMBRO

Lima - Perú
2016

*A mis padres Carlos y Lucy,
por ser el principal motivo y partícipes de
cada objetivo logrado.*

AGRADECIMIENTOS

- A Dios y a la Virgen de Guadalupe por cuidar mis pasos y darme voluntad a lo largo de mi vida y durante la realización del presente trabajo.
- A mis padres por estar presente en cada decisión. Por todo el esfuerzo y sacrificio para hacer de mí una mejor persona y profesional.
- Al Ing. Carlos Cadenas por patrocinar el presente trabajo de tesis, por su tiempo y paciencia.
- Al Ing. José Palacios por su apoyo y consejos, y por permitirme utilizar las instalaciones del Programa de Ornamentales.
- A la empresa ARVE por brindarme las plantas utilizadas en el ensayo.
- A los trabajadores del Laboratorio de Fitopatología y del Programa de Ornamentales por su colaboración.
- A mis familiares y amigos por sus oraciones, buenos deseos y ayuda durante la realización de mi tesis.

INDICE

I.	RESUMEN.....	1
II.	INTRODUCCIÓN.....	2
III.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
1.	DEL CULTIVO.....	4
1.1.	Reseña histórica.....	4
1.2.	Taxonomía.....	4
1.3.	Características.....	4
1.4.	Condiciones climáticas.....	5
1.5.	Manejo.....	6
2.	DEL PATÓGENO.....	6
2.1.	Importancia.....	6
2.2.	Taxonomía.....	7
2.3.	Sintomatología.....	8
2.4.	Características.....	8
2.5.	Ciclo de la enfermedad.....	8
2.6.	Epidemiología.....	10
2.7.	Control.....	11
2.7.1.	Cultural.....	11
2.7.2.	Químico.....	11
2.7.3.	Biológico.....	12
3.	CARACTERÍSTICAS DE LOS PRODUCTOS UTILIZADOS EN EL ENSAYO.....	13
3.1.	<i>Trichoderma harzianum</i>	13
3.2.	<i>Bacillus subtilis</i>	14
3.3.	Iprodione.....	15
3.4.	Carbendazim.....	16
3.5.	Azoxystrobin.....	16
3.6.	Fosfonato de potasio.....	17
3.7.	Agrostemin.....	17

IV.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
1.	UBICACIÓN.....	21
2.	MATERIAL VEGETAL DE ESTUDIO.....	21
3.	AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL PATÓGENO.....	22
4.	PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS EN LABORATORIO.....	23
4.1.	Prueba de enfrentamiento.....	23
4.2.	Prueba de envenenamiento.....	25
4.3.	Diseño experimental.....	26
5.	PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS EN VIVERO.....	27
5.1.	Tratamientos.....	27
5.2.	Diseño experimental.....	27
5.3.	Aplicaciones de fungicidas y bioestimulante.....	27
5.4.	Parámetros.....	28
5.4.1.	Incidencia.....	28
5.4.2.	Número total de hojas y número de hojas sanas.....	29
5.4.3.	Análisis económico.....	29
V.	RESULTADOS.....	30
1.	REGISTRO DEL CLIMA.....	30
2.	AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL PATÓGENO.....	31
3.	PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS EN LABORATORIO.....	33
3.1.	Crecimiento de <i>Botrytis cinerea</i> en la prueba de enfrentamiento y envenenamiento.....	33
3.2.	Crecimiento de controladores biológicos en la prueba de enfrentamiento.....	37
4.	PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS EN VIVERO.....	39
4.1.	Incidencia.....	39
4.2.	Número total de hojas.....	40
4.3.	Número de hojas sanas.....	43
4.4.	Análisis económico.....	46
VI.	DISCUSIONES.....	50
VII.	CONCLUSIONES.....	58
VIII.	RECOMENDACIONES.....	59
IX.	BIBLIOGRAFIA.....	60
X.	ANEXOS.....	65

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Datos meteorológicos.....	65
ANEXO 2. Promedios del crecimiento radial diario de <i>B. cinerea</i> en prueba de efectividad de productos en laboratorio.....	66
ANEXO 3. Promedios del crecimiento radial diario de los controladores biológicos <i>T. harzianum</i> y <i>B. subtilis</i> en la prueba de efectividad de productos en laboratorio.....	67
ANEXO 4. Promedios de la incidencia (%) por tratamiento de las evaluaciones realizadas en la prueba de efectividad de productos en vivero.....	68
ANEXO 5. Promedios del número total de hojas por tratamiento de las evaluaciones realizadas en la prueba de efectividad de productos en vivero.....	69
ANEXO 6. Promedios del número de hojas enfermas por tratamiento de las evaluaciones realizadas en la prueba de efectividad de productos en vivero.....	70
ANEXO 7. Costo de producción de 100 plantas con 3 aplicaciones.....	71
ANEXO 8. Costo de producción de 100 plantas con 6 aplicaciones.....	72
ANEXO 9. Costo total de producción para cada tratamiento.....	73

LISTA DE CUADROS

Cuadro N°1. Composición química del bioestimulante Agrostemin.....	19
Cuadro N°2. Tratamientos aplicados en la Prueba de enfrentamiento de <i>B.cinerea</i> con los controladores biológicos <i>T. harzianum</i> y <i>B. subtilis</i>	24
Cuadro N°3. Tratamientos y dosis aplicados en la Prueba de envenenamiento de <i>B. cinerea</i> frente a fungicidas.....	25
Cuadro N°4. Tratamientos, dosis y frecuencia de aplicación de la Prueba de efectividad de los productos en vivero.....	28
Cuadro N°5. Comparaciones del Crecimiento radial (cm) de <i>B. cinerea</i> en las pruebas de enfrentamiento y envenenamiento.....	34
Cuadro N°6. Comparación del Porcentaje de inhibición del Crecimiento (PIC) en las pruebas de enfrentamiento y envenenamiento.....	35
Cuadro N°7. Comparación de crecimiento de <i>B. cinerea</i> de cada tratamiento con el testigo de las pruebas de enfrentamiento y envenenamiento.....	37
Cuadro N°8. Comparación del crecimiento de los controladores biológicos <i>T. harzianum</i> y <i>B. subtilis</i> en la prueba de enfrentamiento de la prueba de efectividad de productos en laboratorio. Prueba de Duncan.....	37
Cuadro N°9. Comparación de los resultados de la Incidencia (%) de la prueba de efectividad de productos en vivero usando la prueba de Duncan para la última evaluación.....	39
Cuadro N°10. Comparación de Número total de hojas de la prueba de efectividad de productos en vivero de la última evaluación usando la Prueba de Duncan...	41
Cuadro N°11. Comparación de los resultados de Número de hojas sanas por planta de la última evaluación de la prueba de efectividad de productos en vivero.....	44
Cuadro N° 12. Nombre comercial y costo unitario de los productos utilizados en la prueba de efectividad de productos en vivero.....	47

Cuadro N° 13. Costo de aplicación de cada tratamiento en la Prueba de efectividad de productos en vivero.....	48
Cuadro N° 14. Análisis de ganancia por tratamiento para 100 plantas de acuerdo a % incidencia y número de hojas sanas.....	49

LISTA DE FIGURAS

Figura N°1. Ciclo de la enfermedad de <i>Botrytis cinerea</i>	9
Figura N°2. Lesión de <i>Botrytis cinerea</i> en hojas de <i>Begonia rex</i>	21
Figura N°3. Necrosis causada por <i>Botrytis cinerea</i> en hojas de <i>Begonia rex</i>	22
Figura N°4. Disposición de los discos extraídos de los aislamientos de biocontroladores y <i>Botrytis cinerea</i> en placas Petri para la prueba de enfrentamiento.....	24
Figura N°5. Disposición del disco extraído del aislamiento de <i>Botrytis cinerea</i>	26
Figura N°6. Temperatura mensual (°C) del año 2012.....	30
Figura N°7. Humedad relativa mensual (%) del año 2012.....	31
Figura N°8. Micelio de <i>Botrytis cinerea</i> en medio de cultivo PDA incubado a 20°C.....	32
Figura N°9. Estructuras de <i>Botrytis cinerea</i>	32
Figura N°10. Curva de desarrollo micelial (cm) diario de <i>B. cinerea</i> en los tratamientos de prueba de efectividad de productos en laboratorio.....	34
Figura N°11. Comparación del Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) en la prueba de efectividad de productos en laboratorio. Prueba de Tukey.....	36
Figura N°12. Curva de desarrollo de los controladores biológicos <i>T. harzianum</i> y <i>B. subtilis</i> en la prueba de enfrentamiento de la prueba de efectividad de productos en laboratorio.....	38
Figura N°13. Resultados de promedios del Porcentaje de Incidencia (%) de la prueba de efectividad de productos en vivero.....	40
Figura N°14. Evolución de promedios del número de hojas por planta en los tratamientos sin aplicación de Agrostemin.....	42
Figura N°15. Evolución de promedios del número total de hojas por planta en los tratamientos con aplicación de Agrostemin.....	43

Figura N°16. Evolución de promedios del número de hojas sanas por planta en los tratamientos sin aplicación de Agrostemin.....	45
Figura N°17. Evolución de promedios del número de hojas sanas por planta en los tratamientos con aplicación de Agrostemin.....	46

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se colectaron hojas de *Begonia rex* con síntomas de necrosis y con esporulaciones grises, de las cuales se aisló e identificó a *Botrytis cinerea*. En laboratorio se evaluó la inhibición del crecimiento de *B. cinerea*, sembrado micelio del patógeno en medio envenenado con los siguientes productos: Iprodione, Carbendazim, Azoxystrobin y Fosfonato de potasio; y enfrentándolo a colonias de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*. En vivero se realizó una prueba de efectividad de estos productos, utilizando también un bioestimulante (Agrostemin); se evaluaron las variables de porcentaje de incidencia, número de hojas totales, número de hojas sanas y se realizó un análisis económico para los 14 tratamientos. En las pruebas in vitro, se observó que dentro de los productos químicos el T3 (Iprodione) inhibió en un 100% el crecimiento del patógeno, seguido del T4 (Carbendazim) con 47%, y para los biológicos el T1 (*T. harzianum*) inhibió en un 24% y el T2 (*B. subtilis*) no presentó acción sobre *B. cinerea*. En la prueba en vivero, se llegó a la conclusión que el producto con mejor control sobre el patógeno en estudio fue el T6 (Iprodione + Agrostemin), ya que nos permitió tener una mayor cantidad de hojas sanas por planta y plantas aptas para la venta.

Palabras clave: *Botrytis cinerea*, *Begonia rex*, Agrostemin, productos biológicos, productos químicos.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas ornamentales son aquellas que se cultivan y comercializan con una finalidad decorativa debido a sus características estéticas como color, textura, aroma, forma del follaje, flores y frutos. Estas se dividen en plantas de jardín, plantas de follaje, flores de corte y flores de maceta (Buck, 2004).

En Perú, la producción económica de plantas ornamentales está orientado a especies introducidas y producidas en otros países (Dammert, 2003), como es el caso del género *Begonia*, que comprende más de mil especies entre las zonas tropicales de Asia, África y América. Y pueden ser usadas como plantas de maceta con flor o de follaje. Dentro de las begonias de follaje se encuentra la *Begonia rex*, una de las más conocidas y difundidas por sus numerosas variedades y que posee hojas vistosas de muchas formas y colores (Griffith, 1997). Estas características, sumadas a sus requerimientos lumínicos, hacen que ésta sea una especie muy utilizada como planta de interior.

Dentro de los patógenos que atacan a la *Begonia rex* se tiene diversos microorganismos del suelo como *Phytophthora* sp, *Pythium* sp, *Fusarium* sp, *Rhizoctonia* sp y *Erwinia carotovora*, los cuales producen pudriciones de raíz y cuello de las plantas, causando el debilitamiento de éstas y su posterior muerte en ataques más severos. También, existen patógenos que afectan la parte aérea como *Botrytis cinerea*, *Alternaria* sp, *Stemphylium* sp, *Erysiphe* sp, *Cercospora begoniae* y *Xanthomonas campestris* pv. *Begoniae*, que provocan necrosis, tizones y pudriciones en las hojas de las plantas. El *Tomato spotted wilt virus*, también está reportado infectando a la *Begonia rex* (Farr, 1989; Chase, 1987).

Dentro de los patógenos más importantes destaca *Botrytis cinerea*, que produce necrosis en las hojas de la *Begonia rex*, lo que le resta calidad comercial y disminuye su precio, o la hace no apta para su venta, debido a que debe tener sus hojas intactas con señales de turgencia y buena coloración; y que no lleven manchas sobre las hojas y tallos (Longman, 1982).

Este trabajo de investigación está orientado a contrastar la eficiencia entre el control químico y el control biológico de la enfermedad conocida como el “moho gris”, ocasionada por *B.*

cinerea en la especie de *B. rex*, buscando como alternativa ecológica el uso de controladores biológicos y de bioestimulantes para disminuir los daños ocasionados por este patógeno. Asimismo, evitar la resistencia creada por el uso excesivo de productos químicos. Por tales motivos se decidió realizar la presente investigación con los siguientes objetivos:

- Comparar la eficiencia curativa de fungicidas biológicos y fungicidas químicos en el control de *Botrytis cinerea* en el follaje de *Begonia rex*.
- Determinar el efecto que tiene la aplicación de un bioestimulante como potenciador del efecto de los fungicidas biológicos y químicos a evaluar.

II. REVISIÓN LITERARIA

2.1 DEL CULTIVO

2.1.1 Reseña histórica

Las especies del género *Begonia* son originarias en su mayoría de países tropicales y subtropicales, y reciben su nombre en honor a un botánico francés llamado Michel Begon (Longman, 1982). De este género se han desarrollado varios híbridos, siendo uno de ellos la *Begonia rex*; una planta de interior originaria en su forma pura de los bosques de la India Oriental, la cual fue cruzada con otros tipos de begonias rizomatozas y fue introducida como cultivo en los años 50 (Sociedad Americana de Begonias, 1980).

2.1.2 Taxonomía

La ubicación taxonómica de la *Begonia rex* (citado por Cano y Cano, 1994) es la siguiente:

- Reino : Plantae
- División : Magnoliophyta
- Clase : Magnoliopsida
- Subclase : Dileniidae
- Orden : Violales
- Familia : Begoniaceae
- Género : *Begonia*
- Especie : *Begonia rex*

1.1 Características

Las begonias por su sistema subterráneo se clasifican en fibrosas, tuberosas y rizomatosas. La *B. rex* está clasificada como una begonia rizomatosa, ya que posee un grueso rizoma, que es un tallo modificado. Esta estructura le permite tener reservas tanto de agua como de nutrientes, permitiendo a la planta sobrevivir en condiciones de estrés por agua o variaciones de temperatura (Morales, 2011; Sociedad Americana de Begonias, 1980).

Posee hojas ovaladas torcidas con un fondo de color negro-verde metálico y en el centro una franja ancha plateada con bordes color rojo púrpura. También produce flores pero estas son opacadas por su llamativo follaje (Morales, 2011; Sociedad Americana de Begonias, 1980).

La mayoría de las plantas de este género son herbáceas, perennes, con alguna suculencia en las hojas y tallos. Son monoicas y la producción de sus flores femeninas y masculinas se hayan separados en la misma inflorescencia (Morales, 2011; Cano y Cano, 1994).

En la actualidad se pueden encontrar en su mayoría híbridos provenientes de esta especie que se han ido adaptando al cultivo de interior. Generalmente se clasifican como *Begonia multi rex- cultorum*, cruces derivados de la *Begonia rex* y begonias rizomatosas (Jiménez, 1990).

1.2 Condiciones climáticas

Las temperaturas óptimas requeridas para el desarrollo de la *B. rex* son de 18 °C a 20 °C, y puede desarrollarse a temperaturas mínimas de 13 °C y 15 °C, en invierno y verano, respectivamente. Con respecto a la humedad relativa esta debe oscilar entre 60 % y 70 %, con lo cual también se evitaría condiciones favorables para patógenos. Además, que se requiere una buena aireación para su desarrollo (Vidalie, 2001; Longman, 1982).

Sin embargo, Morales (2011), menciona que para obtener una buena respuesta de desarrollo en las begonias, las temperaturas deben estar entre 18 °C y 26 °C, ya que si estas están por encima o por debajo del rango, presentarán problemas.

Además, la Sociedad Americana de Begonias (1980) indica que las begonias rizomatosas son plantas de temperaturas frías, debido a que tienen su mejor comportamiento en temperaturas de 14.4 °C a 22,2 °C, y que aquellas, que son utilizadas como plantas de follaje requieren una humedad alta para su desarrollo por lo que son cultivadas en lugares cerrados por esta razón.

1.3 Manejo

La propagación de las begonias puede ser mediante semilla botánica, semilla vegetativa o propagación *in vitro*, pero la más conocida para *B. rex* es mediante la propagación vegetativa

con esquejes de hoja, es decir, se ponen a enraizar segmentos de hoja de preferencia de 5 cm que contengan una nervadura consistente. El sustrato para enraizar los esquejes es de una capa de drenaje o grava, una de compost y 1 cm de arena gruesa. Una vez enterradas las porciones de las hojas se tratará de mantenerlas a una temperatura de 21 °C y tapadas con un plástico para conservar la humedad. El enraizamiento tarda 5 semanas, y cuando las plantas tienen de 3 a 4 hojas pueden ser trasplantadas a macetas. Además, la aplicación de luz para alargar el fotoperiodo suele ayudar en este tipo de propagación (Morales, 2011; Longman, 1982).

Las begonias de hojas deben alcanzar los 30 cm de altura y tener de 5 a 6 hojas nuevas por año. La floración se presenta en verano, pero es necesario eliminar las flores para permitir el desarrollo de las hojas (Longman, 1982).

El sustrato debe ser poco compacto y grueso, una mezcla de turba rubia o parda, cortezas y arena en relación 2:2:1. Además, debe tener un pH ligeramente ácido de 5 a 6, y evitar que la conductividad eléctrica sea mayor a 1.6 dS/m, ya que es una planta sensible a la salinidad. El riego debe ser dos veces por semana en verano y cada 10 días en invierno, evitando mojar las hojas. Y en la fertilización, el nitrato de calcio es importante para mejorar la calidad de las plantas, a parte de las aplicaciones de nitrógeno, fósforo y potasio (15-30-15). Se debe asegurar una buena iluminación y aireación para estas plantas, pero se debe evitar el contacto directo con la luz del sol (Vidalie, 2001; Morales, 2011).

2. DEL PATÓGENO

2.1 Importancia

Botrytis cinerea es el agente causal del moho gris en más de 200 especies de cultivos provocando pérdidas económicas severas, especialmente en cultivos de invernadero y ornamentales (Deising, 2009).

Es un patógeno versátil capaz de penetrar directamente en cualquier tejido u órgano de su hospedante en cualquier etapa de desarrollo, puede matar inmediatamente o permanecer sin ser detectado por un largo periodo, puede sobrevivir fuera de la planta y puede usar sistemas de recombinación sexual. Además, desarrolla resistencia rápidamente contra fungicidas (Deising, 2009).

B. cinerea es capaz de producir en varios cultivos enfermedades como pudriciones de fruto, pudriciones de tallo o canchros, ahogamiento de plántulas, pudriciones de tubérculos, manchas foliares o tizones. Normalmente aparece en las flores de las plantas, aunque hay reportes de que este hongo también infecta cultivos de follaje, que pueden producir o no flores. Dentro de las plantas ornamentales que afecta están el crisantemo, pelargonio, rosal, ciclamen, etc. y es el agente causal del moho gris, podredumbre gris o tizón de la begonia (Bigre, 1990; Agrios, 2005; Chase, 1987).

2.2 Taxonomía

La ubicación taxonómica de la *Botrytis cinerea* (Agrios, 2005) es la siguiente:

- Reino : Fungi
- División : Eumycota
- Subdivisión : Deuteromycotina
- Clase : Hyphomycetes
- Orden : Moniliales (Hyphales)
- Género : *Botrytis*
- Especie : *Botrytis cinerea*

El estado teleomorfo de *Botrytis cinerea* es *Botryotinia fuckeliana* de Bary y es raramente observado en la naturaleza (Agrios, 2005).

2.3 Sintomatología

Dentro de los síntomas que presenta *B. cinerea* están las manchas y marchitamientos en los tejidos de la hoja y del pétalo, podredumbre de la corona, canchros del tallo, podredumbre del esqueje y de las plántulas (The American Phytopathology Society, 2000).

Los síntomas del follaje aparecen primero debajo de las hojas cerca del extremo y se forma una lesión húmeda que se va alargando rápidamente y se vuelve necrótica, tomando con el tiempo un color marrón oscuro a negro (Chase, 1987).

Morales (2011), especifica que los ataques de *Botrytis* se reconocen por la formación de manchas pardas en las zonas blandas.

2.4 Características

Chase (1987) hace mención de la coloración de la colonia de *Botrytis cinerea* en medio papa dextrosa agar (PDA), la cual describe que es de color hueso al inicio y se vuelve gris pardo con el desarrollo de las esporas.

Según Barnett y Hunter (1972), *Botrytis* presenta conidióforos largos, delgados, rectos, septados, hialinos o pigmentados, ramificados de color pardo, a veces dicotómicos cerca al ápice, con células apicales alargadas o redondeadas que producen racimos de conidias unicelulares (8-14 x 6-9 *um*) de forma elipsoide a ovoide y hialinas o color cenizo que aparecen en una masa pardo grisácea; y están apoyadas sobre cortos esterigmas. También produce esclerocios irregulares, planos, duros y de color negro. Algunas especies producen a veces una fase perfecta, donde las ascosporas forman un apotecio (Barnett y Hunter, 1972; Agrios, 2005; Chase, 1987; The American Phytopathology Society, 2000).

2.5 Ciclo de la enfermedad

La infección primaria ocurre por medio de conidias diseminadas por acción del viento, éstas germinan y se sujetan a la superficie de la planta por medio de apresorios y emiten una hifa infectiva, dando lugar a la penetración, que puede darse directamente o mediante aberturas naturales y heridas, o por medio del crecimiento hifal del micelio de un tejido infectado en contacto con un tejido sano. En este caso, cuando parasita por primera vez ocurre la fase de instalación del patógeno y luego, con la ayuda de la poligalacturonasa y la protopectinasa ataca a los tejidos sanos cuando empieza a darse condiciones favorables (Bigre, 1990; The American Phytopathology Society, 2000; Deising, 2009).

Debido a la penetración del hongo se produce una lesión primaria, que es la formación de puntos necróticos que se van expandiendo en los siguientes días formando las lesiones secundarias, que se irán cubriendo de micelio y necrosando al follaje de donde se producirán nuevamente conidias por la reproducción asexual (Deising, 2009).

En cultivos axénicos, *B. cinerea* produce esclerotes que son poco observados en la naturaleza, pero sirven de estructura de conservación que al germinar pueden dar lugar a los apotecios, estructuras de reproducción sexual (Deising, 2009).

El ciclo de la enfermedad de *B. cinerea* se puede observar en la Figura N°1.

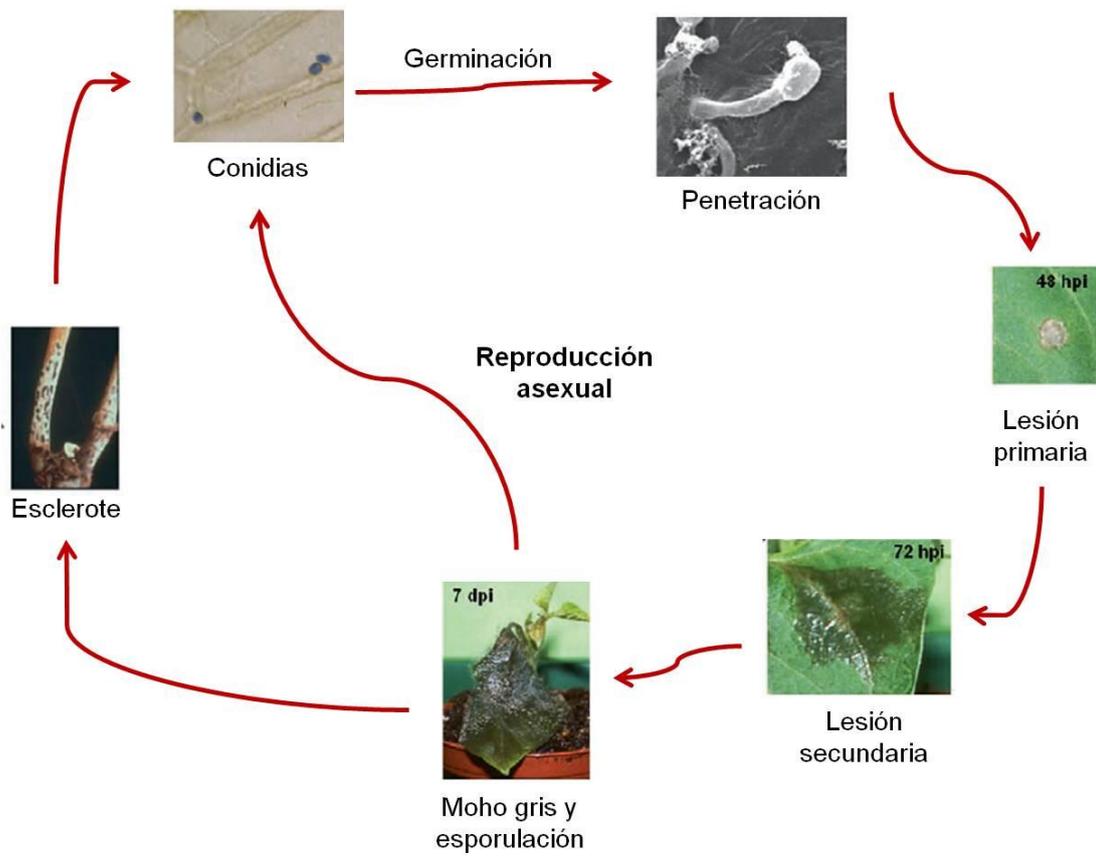


Figura N°1. Ciclo de la enfermedad de *Botrytis cinerea*. Elaborado a partir de Deising (2009).

2.6 Epidemiología

B. cinerea es considerado un hongo necrótrofo, ya que segrega enzimas degradantes de la pared celular y componentes fitotóxicos que hacen morir rápidamente al hospedante y le permite ser capaz de extraer nutrientes de tejido muerto (Deising, 2009).

Tiene un amplio rango de hospedantes y puede actuar dentro de una amplia variedad de temperaturas. Aunque la temperatura óptima de virulencia es de 15 a 20 °C, existe un crecimiento de 0 a 35 °C (The American Phytopathology Society, 2000).

Según Bigre (1990), las condiciones favorables para la infección son la elevada humedad por días lluviosos, las primaveras cálidas, y las temperaturas de 15 a 20 °C. Además, cuando las noches son frías, los días son cálidos y la humedad es alta, el patógeno esporula cubriendo las hojas y flores de un moho gris por la masa de conidias (Chase, 1987), que germinan con

la presencia de una película de agua con solutos (The American Phytopathology Society, 2000).

También es importante evitar el agua libre en la superficie de la planta, ya que permite la germinación de esporas de *B. cinerea*. Periodos de alta humedad relativa sumados a la temperatura adecuada favorecen el desarrollo de los brotes del moho gris (Yunis, 1994).

Williamson (1995), describe el comportamiento de las conidias secas y húmedas en la superficie de pétalos de rosas mantenidas en condiciones de humedad controlada. Observó que las conidias en todos los casos germinaron con una o más tubos germinativos, sin embargo, el subsecuente crecimiento y comportamiento del desarrollo de los tubos germinativos variaron considerablemente al tipo de inoculación. Las conidias secas germinaron en ausencia de la superficie de agua bajo humedades relativas entre 94 y 100 %, pero los tubos germinativos se mostraron más cortos que la conidia. Mientras que, en la inoculación con ayuda de un spray con agua, las conidias germinaron con un tubo germinativo largo.

Salinas (1989), trabajando con flores de gerbera, observó que los tubos germinativos de las conidias secas inoculadas fueron en su mayoría más cortas, menos del 1% de los tubos germinativos fueron más largos que 20 μm . Pero no solo la longitud de los tubos germinativos son influenciados con el tipo de inoculación de la conidia sino que también afecta la expresión de los síntomas, ya que en el primer caso, donde se utilizó conidias secas se encontraron lesiones necróticas comunes, en cambio los síntomas que causaron las conidias en suspensión acuosa fueron variados como lesiones necróticas de diferentes tamaños, pudrición parcial de una de las flores, o de toda la inflorescencia.

Según Elad (2007), un factor importante para la mortalidad de las conidias son los rayos UV de la luz solar debido a que las conidias expuestas directamente a la luz del sol en verano a medio día (cuando la temperatura es mayor), sobrevivieron minutos. Es por ello que afirma que a mayor tiempo de exposición solar, las conidias tendrán un menor porcentaje de germinación.

2.7 Control

2.7.1 Cultural

Las medidas culturales que se debe realizar para el control de *B. cinerea* son la eliminación de hojas viejas y restos de cultivo; la supresión de flores atacadas y evitar heridas. En condiciones cerradas, mantener una débil higrometría regulando la aireación y la calefacción, e instalando ventiladores con el fin de favorecer la circulación del aire (Bigre, 1990), tratar de mantener la temperatura alta durante el día para dar soporte a la producción del cultivo, pero también manejar las temperaturas de la noche pueden reducir las infecciones de *B. cinerea* (Yunis, 1994).

También se debe evitar los excesos de humedad, ya sea en los riegos o en el ambiente espaciando las plantas y garantizando la aireación (Morales, 2011).

2.7.2 Químico

Para poder prevenir el desarrollo de enfermedades se usa una serie de tratamientos químicos, los cuales son usualmente aplicados de acuerdo a las condiciones climáticas o a un calendario diseñado para contemplar periodos de máximo riesgo potencial de infección. Los productos de contacto o preventivos a menudo soportan mejor las condiciones de clima que los fungicidas sistémicos, sin embargo, estos últimos tienen la propiedad de poder atravesar los tejidos de la planta en la que fueron aplicados, siendo su eficiencia menos dependiente de la distribución en la superficie al momento de la aplicación (Evans, 1968).

Los ditiocarbamatos y los benzimidazoles son productos usados para el control del moho gris. Pero es necesario numerosas aplicaciones para su control, y especialmente estas deben ser preventivas antes de que los síntomas se presenten. Sin embargo, estos se están volviendo menos aceptables debido a que crean resistencia en el patógeno. Durante el tratamiento químico se recomienda que las plantas estén bien secas y que la temperatura no baje después del tratamiento (Bigre, 1990).

La Torre (1990), recomienda como tratamiento químico de *B. cinerea*, *B. squamosa* y *B. allii* el uso de Captan (2-3 kg ia/ha), Iprodione (0.5-1 kg ia/ha) y Vinclozolin (0.5-1 kg ia/ha).

2.7.3 Biológico

De acuerdo con James (1989) el control biológico desde el punto de vista de la fitopatología, es la reducción de la densidad del inóculo o actividades causantes de la enfermedad (crecimiento, infectividad, agresividad, virulencia, infección, síntomas, etc.) de un patógeno o parásito en su estado activo o dormante, por uno o más organismos realizado naturalmente

a través de la manipulación del medio ambiente, hospedante, antagonista o por producción masiva de uno o más antagonistas.

El uso de antagonistas es uno de los métodos que se ha estado probando últimamente para el control biológico de *Botrytis* sp. Estos antagonistas son microorganismos de naturaleza bacteriana o fúngica.

Bigre (1990) menciona que las pulverizaciones con *Trichoderma harzianum* tuvieron cierta eficacia contra *B. cinerea*, aunque fue un control menor que el de Iprodione. El uso de productos biológicos es una alternativa al control químico, ya que es más ecológico, pero presenta menos eficacia y esta depende mucho de las condiciones ambientales.

Hua Chen (2007), probó que *Bacillus subtilis* inhibe significativamente la germinación de esporas y la elongación de tubos germinativos de *B. cinerea* en un ensayo *in vitro* utilizando placas petri con agar.

También, Touré (2004) realizó ensayos donde aisló a *B. subtilis* de frutos de fresa y lo sembró en medio de cultivo PDA a 20 °C junto con patógenos fungosos para evaluar el desarrollo del antagonismo con cada uno de ellos. Y se observó que el porcentaje de inhibición del crecimiento de *B. cinerea* fue de 70 %.

3. CARACTERÍSTICAS DE LOS PRODUCTOS UTILIZADOS EN EL ENSAYO

3.1 *Trichoderma harzianum*

Trichoderma es el género de hongo predominante dentro de los agentes de biocontrol, esto se debe a su fácil propagación, rápido crecimiento y amplio espectro de hospedantes susceptibles a su ataque (Ferrera-Cerrato, 2007). Algunos de estos hospedantes reportados son *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp. y *Pythium* sp. en varios cultivos; también el oidio de *Catharantus* sp., y *Botrytis cinerea*, *Macrophina phaseolina*, *Sclerotinia* sp. y *Verticillium* sp., etc. (Vidhyasekaran, 2004)

Según Mont (2004) y Vidhyasekaran (2004) para poder controlar a los patógenos mencionados anteriormente *T. harzianum* presenta diferentes mecanismos de acción:

- a. Micoparasitismo, donde las hifas de este hongo atrapan a las hifas del patógeno y disuelven su pared celular por medio de enzimas fungitóxicas. La mayoría de

aislamientos del género *Trichoderma* encontrados que actuaban como micoparásitos de muchos fitopatógenos aéreos y del suelo han sido clasificados como *Trichoderma harzianum* Rifai.

- b. Capacidad de producción de antibióticos, ya que se ha reportado que *T. harzianum* produce 43 sustancias antibióticas, de las cuales algunas son importantes y asociadas con la actividad del biocontrol; éstos son el alquilpirona, isonitrilo, peptaibols, poliquetidos, diquetopiperazinas, sesquiterpenos y esteroides; la inducción de resistencia, aunque solo algunas especies lo hacen contra oidio, botrytis y el causante de la pudrición de raíz en algodón.
- c. Competencia por espacio y nutrientes, con la colonización del suelo o partes de la planta ocupando el espacio físico y evitando la multiplicación de los patógenos. Haciendo de esta manera que se inhiba el desarrollo de la colonia del patógeno como es el caso de las conidias de *B. cinerea* que necesita de nutrientes externos para su germinación e infección.
- d. Inactivación de las enzimas de los patógenos.
- e. Promueve el desarrollo de la planta e induce mecanismos de defensa de ella.

Además, Vidhyasekaran (2004) agrega como ejemplo que *B. cinerea*, depende de la producción de enzimas cutinolíticas, pectolíticas y celulocíticas para infectar a las plantas, pero las conidias de dos razas *T. harzianum* cuando son aplicadas a las hojas producen una serina proteasa que es capaz de degradar las paredes celulares, reduciendo la capacidad del patógeno para infectar la planta.

3.2 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis es una bacteria grampositiva que pertenece a la familia Bacillaceae y se caracteriza por ser una bacteria mesófila y aeróbica. Presenta esporas centrales o terminales elipsoidales a cilíndricas y de pared delgada. Las esporas no presentan un abultamiento distintivo. Producen nitritos a partir de nitratos y además sus endosporas le permiten soportar condiciones de calor y desecación del medio ambiente (Breed 1948, citado por Tarazona, 2009; Mont, 2004).

Varios biotipos de *B. subtilis* han mostrado actividad para suprimir patógenos de plantas y como bioestimulantes del desarrollo de estas. Su mecanismo de acción consiste en:

- a. Antagonismo directo, mediante la antibiosis y la competencia por recursos, ya que tiene la habilidad de formar metabolitos antibióticos in vitro, como la bacilina y lipopéptidos; y compete por la colonización de la rizósfera.
- b. Estimulación indirecta en la promoción del desarrollo de la planta, promoviendo la nodulación y secreción de factores de crecimiento como las citoquininas y auxinas. Y al permitir tener una raíz fortalecida podrá tener mayor capacidad de absorción de agua y nutrientes y la inducción de crecimiento permitirá a la planta poder escapar de la enfermedad
- c. Inducción de resistencia, acompañada con la inducción de varias proteínas relacionadas a la patogénesis (PR proteins), 1,3_β_glucanasas y quitinasas que tienen capacidad de causar lisis en la pared celular del hongo (Vidhyasekaran, 2004; Mont, 2004).

Además, Stein (2005) citado por Hua Chen (2007), afirma que entre las bacterias *B. subtilis* puede producir más de 24 sustancias antifúngicas con una considerable variedad de estructuras.

3.3 Iprodione

Es un producto que pertenece al grupo de las dicarboximidias, que tiene un buen grado de absorción y es de sistemicidad local, es decir, son de contacto, ya que no son rápidamente movilizados en la planta por el tejido vascular. Tiene una residualidad moderada, debido a que los depósitos permanecen biológicamente activos de 7 a 10 días (La Torre, 1989). Además, en soluciones acuosas son degradados por luz UV, pero relativamente estable en luz solar simulada, aparte que son rápidamente metabolizados en el suelo con formación de dióxido de carbono (Tomlin, 1997).

Presenta un modo de acción desconocido. Aunque, se cree que interfiere en actividades fundamentales del núcleo celular y del ADN, inhibiendo su síntesis y posiblemente interfiriendo en actividades de oxigenasas dependiente del citocromo P450. Tiene débil efecto en la síntesis de quitina, causa alteración del micelio provocando lisis en las hifas,

afecta la germinación de conidias. Puede causar resistencia con *Botrytis*, por lo que se recomienda no usarlo más de 2 o 3 veces por campaña, restringir las aplicaciones cuando la presión es alta, mantener periodos prolongados sin usar el producto y realizar rotación de productos (La Torre, 1989).

Presenta una actividad más preventiva que curativa. Controla muy bien a los géneros de *Botrytis*, *Monilinia*, *Alternaria*, *Rhizoctonia* y *Helminthosporium*. Se aplica normalmente en forma de aspersiones foliares y también en inmersiones de productos postcosecha y tratamiento de semilla (Agrios, 2005; La Torre, 1989)

3.4 Carbendazim

Pertenece al grupo de los Benzimidazoles, y es derivado y resultante de la degradación del benomilo (2_(metoxicarbomilamino)_benzimidazol). Tiene un movimiento acropétalo y un amplio espectro de acción contra ascomycetos, deuteromycetos y algunos basidiomycetos; sin embargo, no tiene efecto contra los oomycetos, controlando un amplio número de enfermedades fungosas en cereales, frutales, hortalizas, ornamentales y otros cultivos (La Torre, 1989; Lay, 2005)

Es un fungicida sistémico de acción erradicante, preventivo y curativo; y es absorbido por la planta a través del tallo, hojas y raíces, siendo conducido a través del xilema por la corriente transpiratoria a toda la planta (Lay, 2005).

Es específico en el sitio de acción. Bloquea la mitosis en la multiplicación celular y muestra afinidad por la β _tubulina inhibiendo su síntesis, ya que esta sustancia se encuentra en todas las células eucariotas por ende de los organismos fungosos. Puede inhibir la germinación de esporas, pero está en función a su concentración y del medio de cultivo; altera el desarrollo del tubo germinativo e inhibe fuertemente el crecimiento de hifas y haustorios de hongos susceptibles (La Torre, 1989).

3.5 Azoxystrobin

Pertenece al grupo de las estrobilurinas, compuesto relacionado con los metabolitos secundarios del hongo *Strobilurus tenacellus*. Tiene como mecanismo de acción el inhibir la respiración mitocondrial, bloqueando la transferencia de electrones del citocromo b al citocromo c, todo esto hace que haya una interrupción del ciclo de energía en la célula (Myresoti, 2008).

Es un fungicida protector, erradicante, traslaminar con propiedades sistémicas, que inhibe la germinación de esporas y crecimiento micelial, y también muestra actividad antiesporulante. Controla cepas patogénicas resistentes de inhibidores del 14_demetilasa, fenilamidas, dicarboxamidas o benzimidazoles (Tomlin, 1997).

3.6 Fosfonato de potasio

El fósforo en forma de ión fosfito actúa como un estimulante en la producción de defensas naturales contra el ataque de enfermedades fúngicas retardando el crecimiento del patógeno. Su acción puede ser tanto de prevención como curativa, y también estimula el crecimiento y se encarga del fortalecimiento de los tejidos en especial tronco, cuello y raíz de la planta (Carrera, 2011).

Un experimento en culantro donde se evalúa la acción de fosfonatos frente a diferentes enfermedades de esta planta como Cercospora, Alternaria y Bacteriosis, se obtiene como resultado que el mejor tratamiento fue el fosfonato de potasio a 2 cc/litro cada 15 días (Carrera, 2011).

Según un ensayo en medios de cultivo realizado por Iza (2011), se pudo observar que el Trichoderma se comportó susceptible al mezclarse con fosfonatos como el de calcio y potasio, fosetil aluminio e hipofosfito de potasio; en especial con el fosetil aluminio se inhibió por completo, y con los fosfonatos de calcio y potasio fue parcial. Y se llegó a comprobar que el mejor tratamiento fue el de hipofosfito de potasio más Trichoderma frente a la inoculación posterior de *Phytophthora infestans*.

En Perú, Ecuador, Kenya y Nepal se realizaron ensayos de campo para el control de *Phytophthora infestans* con diferentes tipos de fosfonatos, y se pudo demostrar que la acción de estos fue muy similar que la acción de los fungicidas químicos comerciales como el mancozeb o el clorotalonil (Kromann, 2012).

3.7 Agrostemin

Los bioestimulantes son compuestos orgánicos no hormonales constituidos a partir de aminoácidos activados de mediano y bajo peso molecular. Y sirven de precursores y activadores de múltiples rutas metabólicas que dan lugar a nuevos productos estructurales, metabolitos primarios, como aminoácidos de proteínas comunes, lípidos, glicéridos, nucleótidos, ácidos carboxílicos, y metabolitos secundarios como fitohormonas, enzimas,

vitaminas, fotosintatos, alcaloides, terpenoides, flavonoides, aceites esenciales, oligosacáridos, etc. Sin embargo, no sustituyen a los factores de fertilización en la planta ni es un regulador de crecimiento, sino que permiten una mejor utilización de estos, es decir, que ejerce mejores efectos en los cultivos bien fertilizados, y favorece la formación en la planta de sus propias hormonas. También incrementan los niveles de clorofila esenciales para la planta y su desarrollo, asegurando una mayor fotosíntesis y aumentando las defensas naturales a un nivel alto dando como resultado un cultivo lleno de energía y resistente al estrés. (Mendoza, 2004, Gross, 1985, De Liñan, 2000).

Además, aplicados al suelo o foliarmente actúa como racionalizante, ya que hace asimilable a los fertilizantes en toda su magnitud, crea además un medio ideal para la proliferación de microorganismos benéficos como bacterias y hongos que impiden el desarrollo de enfermedades (Canchari, 2005).

También tiene efecto regulador del metabolismo de microelementos, haciendo que los aminoácidos puedan formar quelatos con diferentes elementos, favoreciendo su transporte y penetración en el interior del tejido vegetal. Debido a esta cualidad de transporte de moléculas al interior de los tejidos vegetales, se aprovecha para mejorar la eficacia de los diversos productos fitosanitarios sistémicos o penetrantes (Canchari, 2005).

Se caracterizan por ser en mayor o menor medida directamente asimilables por las plantas con un consumo mínimo de energía, en especial cuando han soportado condiciones adversas tales como sequías, heladas, trasplantes, ataques de plagas o enfermedades, efectos tóxicos, consecuencia de la aplicación de productos fitosanitarios, etc (De Liñan, 2000).

Al favorecer la producción de fitohormonas como el ácido giberélico, citoquininas y auxinas, se puede disminuir la acción de algunos patógenos. Elad (1995) observó que el ácido giberélico genera resistencia sobre el moho gris al inhibir su desarrollo en flores de rosas, ya que puede retrasar la senescencia relacionada con el incremento de la permeabilidad de la membrana de los pétalos. Las auxinas y las citoquininas también incrementan la resistencia al moho gris en rosas a concentraciones que no afectan la producción de etileno.

El Agrostemin es un bioestimulante hecho a base de un extracto natural de algas de la especie *Ascophylum nodosum*. Estas algas tienen una serie de características recomendables. Con relación a su materia seca contienen mayor porcentaje de proteínas, grasas y vitaminas que los demás vegetales, esto es así porque debido a su pequeño tamaño y a que viven dentro del

agua no necesitan transformar una gran cantidad de su materia orgánica en la fibra leñosa que forma el esqueleto de las plantas superiores, cuya fibra no puede ser digerida por los animales. También juegan un papel importante en la fertilidad del suelo, ya que algunas algas azules son capaces de fijar el nitrógeno atmosférico. En algunas zonas costeras se utilizan como abono las algas que el mar arroja a las costas (Fuentes, 1998).

En el cuadro N°1 se representa la composición del bioestimulante Agrostemin obtenido de la ficha técnica del producto.

Cuadro N°1. Composición química del bioestimulante Agrostemin. Obtenido de la ficha técnica del producto.

Materia seca	24 %
Materia orgánica	11 – 14 %
Ceniza	11 – 14 %
Nitrógeno Total	0.25 – 0.5%
Fósforo	0.25 – 0.75%
Potasio soluble (KO)	3.5 – 4%
Magnesio (Mg)	0.12 – 0.19 %
Calcio (Ca)	0.03 – 0.05%
Boro (B)	325 – 350 ppm
Hierro (Fe)	413 – 475 ppm
Manganeso (Mn)	377 – 379 ppm
Cobre (Cu)	33 – 40 ppm
Zinc (Zn)	513 – 525 ppm
Cobalto (Co)	0.75 ppm
Molibdeno (Mo)	25 ppm
Niquel (Ni)	0.75 ppm

Casillas (1986) realizó un ensayo con rábanos utilizando bioestimulantes como Agrostemin, Ergostim, Agrovitae y Vitamina C, Y los 3 primeros productos conjuntamente con una buena fertilización aumentaron el contenido de materia verde y seca tanto en el área foliar como radicular.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en el vivero del Programa de Ornamentales en los meses de Junio a Agosto (2012) y en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria La Molina durante los meses de Junio a Setiembre (2012).

2. MATERIAL VEGETAL DE ESTUDIO

Las plantas de *Begonia rex* utilizadas para la prueba de efectividad de productos en vivero eran procedentes de la empresa ARVE con 3 o 4 hojas por planta aproximadamente y algunas de ellas presentaban la sintomatología típica correspondiente a *Botrytis cinerea*, como: necrosis oscura en los bordes de las hojas que se iba extendiendo como una lesión flácida a todo el contorno y hacia el centro de la hoja (Figura N°2)



Figura N°2. Lesión de *Botrytis cinerea* en hojas de *Begonia rex*.

Las begonias se mantuvieron bajo el tinglado del Programa de Ornamentales para proporcionarles las condiciones de sombra adecuada, ya que es una planta de interior y se debe evitar que tenga contacto directo con la luz solar.

Los envases que se utilizaron fueron macetas de polietileno y el sustrato fue una mezcla de turba y perlita, en porcentajes de 60 % y 40 %, respectivamente. La turba utilizada pertenece a la especie *Distichia muscoides* y contiene baja cantidad de sales solubles, es fácil de mezclar con otros componentes, no aporta cantidades significativas de nutrientes, retiene la humedad, y tiene un pH generalmente ácido. El riego se realizó semanalmente mediante inundación de pozas, donde se encontraban las plantas de begonia en sus respectivas macetas. La superficie del agua no sobrepasaba el borde de las macetas.

3. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL PATÓGENO

Se realizó un muestreo en hojas de *Begonia rex* para el presente trabajo. Se procedió a cortar algunas hojas que presentaban la sintomatología de necrosis relacionada con *Botrytis cinerea* (Figura N°3). Estas hojas no debían presentar una infección generalizada, es decir, que aún se podía observar tejido vivo y sin síntoma. Luego, las muestras se introdujeron en un sobre y se llevaron inmediatamente al laboratorio.



Figura N°3. Necrosis causada por *Botrytis cinerea* en hojas de *Begonia rex*.

El primer paso en el laboratorio fue el corte de las muestras; donde cada sección del tejido debía tener dimensiones de 1 x 0.5 cm, con un porcentaje de tejido sano y tejido enfermo de 50 % cada uno. Luego, fueron lavadas con agua corriente y después sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5 % por 5 minutos para eliminar cualquier contaminante y microorganismo superficial, se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril y se dejó secar dentro de la cámara de siembra sobre papel toalla estéril.

Las secciones del tejido desinfectado se sembraron en placas petri con un medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA) y fueron incubadas por 3 días a 20 °C. Las placas se sellaron con Parafilm. Una vez desarrollado el micelio, el aislamiento se purificó haciendo un repique en nuevas placas petri con PDA. Una vez obtenido el cultivo puro, se sembró en tubos inclinados con PDA para su conservación y posterior uso para las pruebas in vitro.

La identificación se hizo a partir del cultivo crecido en el PDA, del cual se realizó un montaje de las estructuras de propagación que se observaron al microscopio y fueron identificadas usando la clave de Barnett y Hunter (1972).

4. PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS EN LABORATORIO

En el presente ensayo se efectuaron dos pruebas: la prueba de enfrentamiento para realizar la evaluación con los controladores biológicos y la prueba de envenenamiento para el caso de los productos químicos.

4.1 Prueba de enfrentamiento

En esta prueba se evaluó el crecimiento micelial diario en centímetros de *Botrytis cinerea* en presencia de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* (Cuadro N°2). Para lo cual se sembraron dos discos en puntos opuestos de una placa petri que contenía el medio de cultivo PDA; uno de los discos fue extraído del aislamiento del patógeno y el otro disco del aislamiento de uno de los biocontroladores, el mismo procedimiento se realizó para el otro biocontrolador (Figura N°4). Así mismo, se utilizaron tres testigos, uno para *B. cinerea*, uno *T. harzianum* y otro para *B. subtilis*.

Cuadro N°2: Tratamientos aplicados en la Prueba de enfrentamiento de *B. cinerea* con los controladores biológicos *T. harzianum* y *B. subtilis*

TRATAMIENTOS	
T1	<i>Botrytis cinerea vs Trichoderma harzianum</i>
T2	<i>B. cinerea vs Bacillus subtilis</i>
Te 1	<i>Trichoderma harzianum</i>
Te 2	<i>Bacillus subtilis</i>
Te	<i>Botrytis cinerea</i>

Para realizar la medición diaria del crecimiento del micelio de los hongos y de la colonia de la bacteria, se marcaron las placas haciendo una línea horizontal y una vertical que se crucen en el centro de cada uno de los discos de tal manera que sirvan de guía para la medición. Se tomó la medida del crecimiento hacia el centro de la placa Petri como se indica en la Figura N°4.

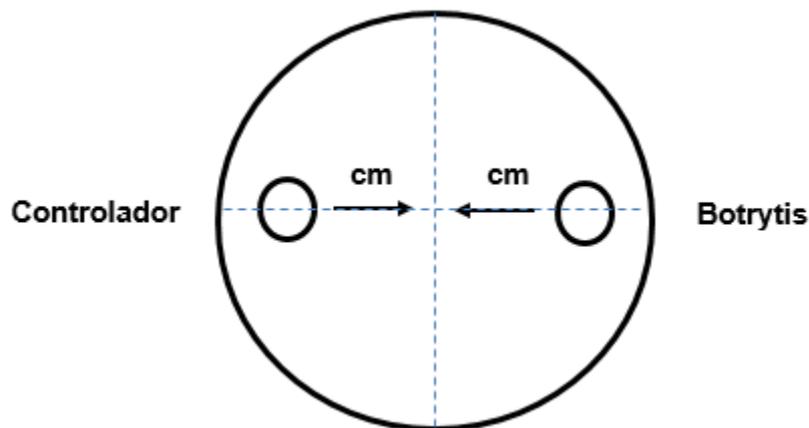


Figura N°4. Disposición de los discos extraídos de los aislamientos de biocontroladores y *Botrytis cinerea* en placa petri para la prueba de enfrentamiento.

4.2 Prueba de envenenamiento

La prueba de envenenamiento se realizó midiendo el crecimiento diario en centímetros de *B. cinerea* en medio de cultivo PDA donde se encontraban diluidos los productos químicos del ensayo, especificados en el Cuadro N°3. Se asignó codificación de T3 al T6, debido a que T1 y T2 corresponden a la prueba de enfrentamiento.

Cuadro N°3: Tratamientos y dosis aplicados en la Prueba de envenenamiento de *B. cinerea* frente a fungicidas.

	TRATAMIENTOS (i.a.)	DOSIS
T3	Iprodione	2 g/l
T4	Carbendazim	1 cc/l
T5	Azoxystrobin	0.5 g/l
T6	Fosfonato de potasio	5 cc/l

Se utilizaron matraces para realizar la mezcla de 100 ml del medio de cultivo PDA y los productos respectivos por tratamiento antes de ser vertido a las placas petri. Luego de transcurridos unos minutos, para que el medio se solidifique, se sembró, al centro de cada placa, un disco de agar de 0.5 cm de diámetro con micelio de *B. cinerea* obtenido del margen

de los cultivos (Figura N°5). Las placas sembradas se sellaron con Parafilm y se incubaron a 20 °C durante su evaluación.

También para facilitar la medición diaria del crecimiento las placas fueron marcadas con una línea horizontal y una vertical que cruzaban el centro de cada disco sembrado de micelio de *B. cinerea*. Se tomaron los datos de los 4 radios marcados por las líneas, como indica la Figura N°5.

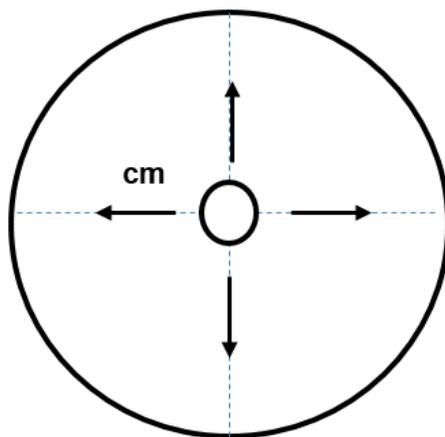


Figura N°5. Disposición del disco extraído del aislamiento de *Botrytis cinerea*.

Luego de realizar la medición diaria de crecimiento se halló el Porcentaje de inhibición de crecimiento para cada tratamiento con la siguiente fórmula:

$$PIC = \frac{(C - T) \times 100}{C}$$

C = Crecimiento radial del patógeno

T = Crecimiento radial del patógeno con tratamiento

4.3 Diseño experimental

Se usó un diseño completamente al azar (DCA) con un total de 6 tratamientos, 3 testigos, y 4 repeticiones por tratamiento.

Se utilizó el programa estadístico R para procesar los promedios de crecimiento diario. Usando las pruebas de Duncan, Tukey y Dunett, para analizar los resultados obtenidos.

5. PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS EN VIVERO

5.1 Tratamientos

Los tratamientos y dosis evaluados en el ensayo, se observan en el Cuadro N°4. Estos consisten en productos químicos y biológicos, mezclados en la mitad de los tratamientos con un bioestimulante con la finalidad de reforzar el efecto de los fungicidas.

5.2 Diseño experimental

Se hizo un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) en 3 bloques con 14 tratamientos. Cada tratamiento tuvo 8 repeticiones con una planta por repetición. Para analizar las variables de Incidencia, Número de hojas total y Número de hojas enfermas.

El programa estadístico donde se procesaron los datos fue R utilizando la prueba de Duncan.

5.3 Aplicaciones de fungicidas y bioestimulante

Las aplicaciones se realizaron de manera curativa. Para el caso de los tratamientos con *T. harzianum* y *B. subtilis* las aplicaciones fueron cada 7 días, para el Iprodione, Carbendazim, Fosfonato de potasio y testigos, fueron cada 14 días y finalmente para el Azoxystrobin, cada 21 días; haciendo un total de 6 aplicaciones para los dos controladores biológicos y 3 aplicaciones para los productos químicos y testigos, tal como se muestra en el cuadro N°4.

En la primera aplicación de Agrostemin, este fue aplicado al drench en los tratamientos que le correspondía, a una dosis de 2.5 cc/l con un volumen de solución por maceta de 50 ml, y los fungicidas se aplicaron foliarmente para cada tratamiento. Para las segundas aplicaciones, el Agrostemin se mezcló con el fungicida correspondiente dependiendo del tratamiento y se aplicaba foliarmente.

Cuadro N°4. Tratamientos, dosis y frecuencia de aplicación de la Prueba de efectividad de productos en vivero

	TRATAMIENTOS	DOSIS		FRECUENCIA DE APLICACIÓN
T1	<i>Trichoderma harzianum</i>	10 g/l		7 días
T2	<i>Trichoderma harzianum</i> + Agrostemin	10 g/l	2.5 cc/l	7 días
T3	<i>Bacillus subtilis</i>	7.5 g/l		7 días
T4	<i>Bacillus subtilis</i> + Agrostemin	7.5 g/l	2.5 cc/l	7 días
T5	Iprodione	2 g/l		14 días
T6	Iprodione + Agrostemin	2 g/l	2.5 cc/l	14 días
T7	Carbendazim	1 cc/l		14 días
T8	Carbendazima + Agrostemin	1 cc/l	2.5 cc/l	14 días
T9	Azoxystrobin	0.5 g/l		21 días
T10	Azoxystrobin + Agrostemin	0.5 g/l	2.5 cc/l	21 días
T11	Fosfonato de potasio	5 cc/l		14 días
T12	Fosfonato de potasio + Agrostemin	5 cc/l	2.5 cc/l	14 días
T13	Testigo	0		14 días
T14	Testigo + Agrostemin	0	2.5 cc/l	14 días

5.4 Parámetros

5.4.1 Incidencia

Se evaluó la incidencia a través del porcentaje de plantas enfermas en cada tratamiento. Se consideró plantas enfermas a todas aquellas que presentaban síntomas o signos de la enfermedad. Teniendo como referencia que síntoma es la apariencia que toma la planta hospedera al ser infectada por un patógeno; y que el signo se considera a toda aquella estructura del patógeno visible sobre la superficie de la planta (Agrios, 2005).

En esta investigación, la principal variable fue el porcentaje de incidencia porque en plantas ornamentales y en el caso específico de la *Begonia rex* se toma muy en cuenta al momento de la compra la apariencia de la planta, es decir que las hojas se encuentren intactas, con señales de vigor, que no lleven manchas sobre las hojas ni en los tallos (Longman, 1982).

5.4.2 **Número total de hojas y número de hojas sanas**

En cada tratamiento, se contó el número total de hojas por planta para observar su desarrollo y evolución en relación a las aplicaciones de los bioestimulantes. Así mismo, también se contabilizó el número de hojas enfermas para determinar el número de hojas sanas.

5.4.3 **Análisis económico**

Se hallará el costo de producción de las plantas de begonia y el costo de cada tratamiento, para obtener una ganancia por tratamiento en función de las plantas aptas para la venta, determinado por el número de hojas sanas.

IV. RESULTADOS

1. REGISTRO DEL CLIMA

Los registros de los datos meteorológicos de temperatura y humedad relativa se obtuvieron de la estación meteorológica “Alexander Von Humbolt” ubicado en la Universidad Nacional Agraria La Molina.

La temperatura mensual del año 2012 se muestra en la Figura N°6, donde se puede observar que las temperaturas medias correspondientes a los meses de Junio, Julio y Agosto son de 19.3°C, 18.5°C y 16.5°C. Teniendo temperaturas máximas de 22.4°C, 20.9°C y 18.7 °C; y mínimas de 16.1°C, 16.1°C y 14.4°C para los mismos meses.

La humedad relativa mensual se presenta en la Figura N°7, con valores de 84.5%, 85.3% y 90% para los meses de Junio, Julio y Agosto; y valores máximos de 93 % hasta 97% dentro de los meses del ensayo.

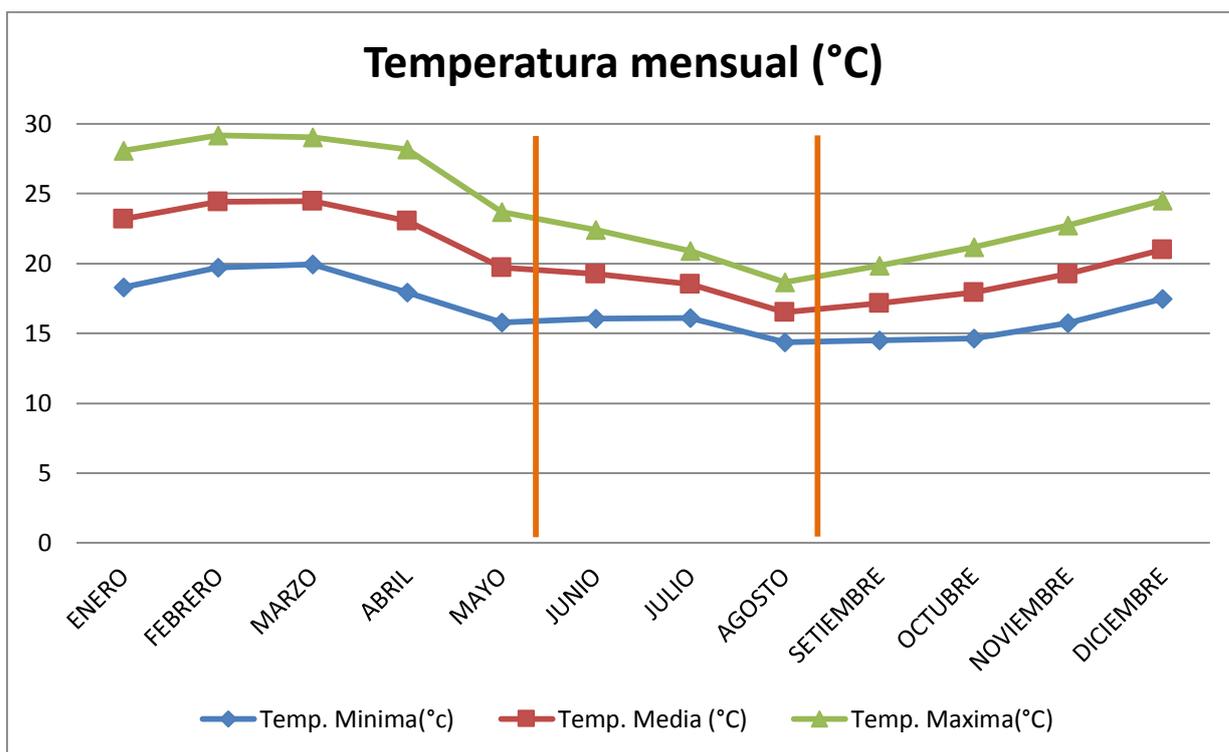


Figura N°6. Temperatura mensual (°C) del año 2012

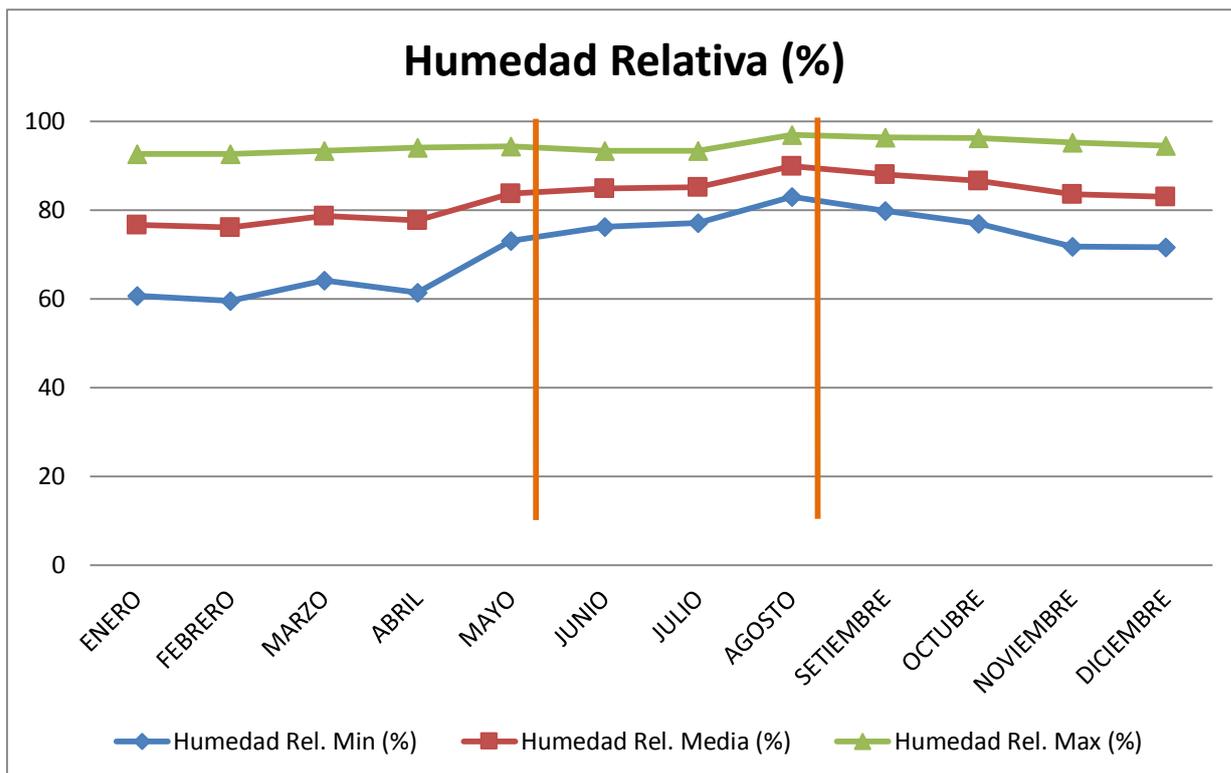


Figura N°7. Humedad relativa mensual (%) del año 2012

2. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL PATÓGENO

En los aislamientos obtenidos de las muestras de las plantas enfermas de *B. rex* se pudo observar micelio con apariencia de una masa algodonosa con una coloración blanquecina que se tornaba de una tonalidad más oscura hacia los extremos. Estas características la podemos observar en la Figura N°8.

El aislamiento de *B. cinerea* se incubó a una temperatura de 20 °C y alcanzó un crecimiento total al cuarto día, llenando toda la placa de micelio y entonces se pudo iniciar el repique a las nuevas placas con PDA. Luego de realizado el repique, el tiempo de incubación para que el micelio ocupara toda la superficie del medio fue de tres días, por lo que se puede decir que *B. cinerea* tiene un crecimiento radial rápido.

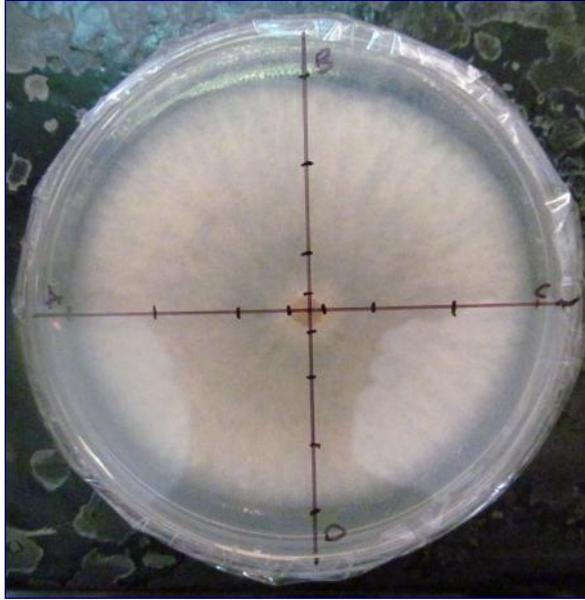


Figura N°8. Micelio de *Botrytis cinerea* en medio de cultivo PDA incubado a 20 °C.

Con la ayuda de un microscopio y de montajes realizados a partir del aislamiento, se pudo observar las estructuras de *B. cinerea* (Figura N°9), según lo descrito por Hunter y Barnett (1972). Además, se eligieron al azar 10 conidias y se midieron de largo y ancho, obteniendo como promedio de largo 12 μm y ancho 8 μm , cifras que coinciden por lo estipulado por Ellis (1971)

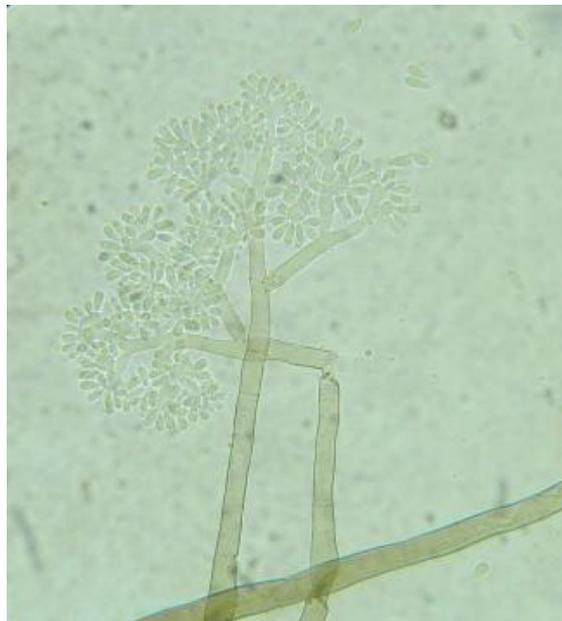


Figura N°9. Estructuras de *Botrytis cinerea*

3. PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS EN LABORATORIO

3.1 Crecimiento de *Botrytis cinerea* en la prueba de enfrentamiento y envenenamiento

La curva de crecimiento de *Botrytis cinerea* para cada tratamiento se muestra en la Figura N°10.

Según la prueba de homogeneidad de varianzas realizada, existe suficiente evidencia estadística para afirmar que hay diferencia significativa entre el crecimiento de *Botrytis cinerea* en los diferentes tratamientos.

Para realizar la prueba de Duncan se hizo una transformación de los resultados para incluir el dato correspondiente al T3 (Iprodione) que presentó 0 cm de crecimiento del patógeno. Este consistió en sacar la raíz cuadrada de los promedios del crecimiento micelial de *B. cinerea*.

El tratamiento que tuvo mayor efecto inhibitorio sobre el patógeno y tuvo diferencias significativas fue el T3 (Iprodione), seguido por T4 (Carbendazim) y por el T5 (Azoxystrobin) y luego por el T6 (Fosfonato de potasio). Con respecto a los controladores biológicos el T1 (*T. harzianum*) inhibió el crecimiento del patógeno menos que los productos químicos, aunque este fue mayor que el T2 (*Bacillus subtilis*) que fue el que menor efecto tuvo sobre *B. cinerea*, dando resultados similares que el testigo (Cuadro N°5).

Cuadro N°5. Comparación del Crecimiento radial (cm) de *B. cinerea* en las pruebas de enfrentamiento y envenenamiento. Prueba de Duncan para el cuarto día.

TRATAMIENTOS	CRECIMIENTO RADIAL (cm)
--------------	-------------------------

T	Treatment	Mean	Significance
Te	Testigo	3.4	a
T1	<i>T. harzianum</i>	2.6	b
T2	<i>B. subtilis</i>	3.68	a
T3	Iprodione	0	e
T4	Carbendazim	1.79	d
T5	Azoxystrobin	1.97	cd
T6	Fosfonato de potasio	2.19	c

CV: 5.68%

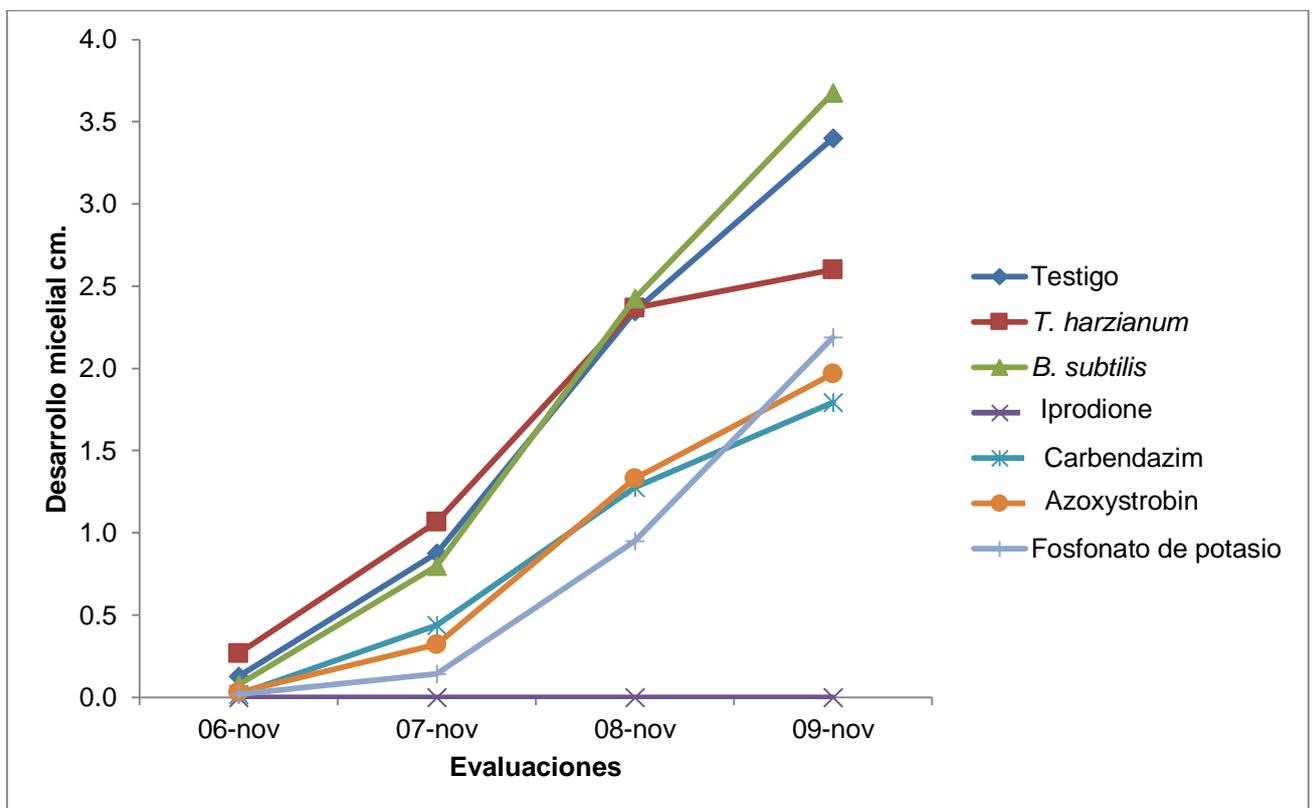


Figura N°10. Curva de desarrollo micelial (cm) diario de *B. cinerea* en los tratamientos de prueba de efectividad de productos en laboratorio

Se halló el porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) para cada tratamiento y se realizó la prueba de homogeneidad de varianzas dando un resultado diferencia significativa entre los resultados (Cuadro N°6). Luego de procesar los datos con la prueba de Tukey, se obtuvieron resultados concordantes con los resultados de la prueba de Duncan realizada para

la variable de crecimiento en centímetros. Los resultados también se puede observar en el gráfico de barras de la Figura N°11.

Cuadro N°6. Comparación del Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) en la prueba de enfrentamiento y envenenamiento. Prueba de Tukey.

TRATAMIENTOS		PIC	
Te	Testigo	0	d
T1	<i>T. harzianum</i>	24	c
T2	<i>B. subtilis</i>	-8	d
T3	Iprodione	100	a
T4	Carbendazim	47	b
T5	Azoxystrobin	42	b
T6	Fosfonato de potasio	36	bc

CV: 17%

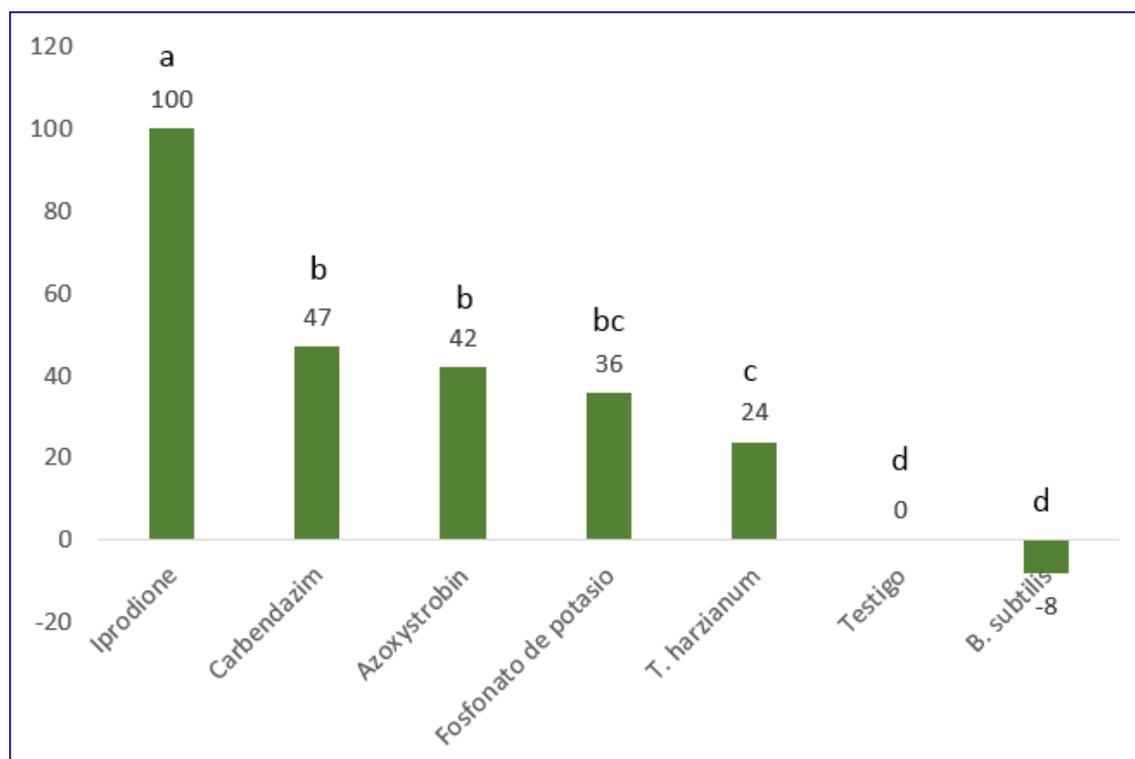


Figura N°11. Comparación del Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) en las pruebas de enfrentamiento y envenenamiento. Prueba de Tukey

También se realizó la prueba de Dunnet para comparar el comportamiento de cada uno de los tratamientos con el testigo y se obtuvo que T1 (*T. harzianum*), T3 (Iprodione), T4 (Carbedazim), T5 (Azoxystrobin) y T6 (Fosfonato de potasio) fueron los tratamientos que mayores diferencias tuvieron con respecto al testigo, y el T2 (*B. subtilis*), fue el que no tuvo diferencia comparado con el testigo (Cuadro N°7).

Cuadro N°7. Comparación de crecimiento de *B. cinerea* de cada tratamiento con el testigo de las pruebas de enfrentamiento y envenenamiento. Prueba de Dunnet.

	TRATAMIENTOS	DUNNET
T1- Te	<i>T. harzianum</i> -Testigo	***
T2-Te	<i>B. subtilis</i> -Testigo	n.s.
T3-Te	Iprodione - Testigo	***
T4-Te	Carbendazim-Testigo	***
T5-Te	Azoxystrobin-Testigo	***
T6-Te	Fosfonato de potasio-Testigo	***

3.2 Crecimiento de controladores biológicos en la prueba de enfrentamiento

Para esta evaluación en la prueba de homogeneidad de varianzas se rechaza la hipótesis por lo que se puede afirmar que al menos uno de los tratamientos es diferente al resto. Y para realizar esta comparación se realizó la prueba de Duncan cuyos resultados se encuentran en el Cuadro N°8.

Cuadro N°8. Comparación del crecimiento de los controladores biológicos *T. harzianum* y *B. subtilis* en la prueba de enfrentamiento de la prueba de efectividad de productos en laboratorio. Prueba de Duncan.

TRATAMIENTOS	CRECIMIENTO (cm)	
Te <i>T. harzianum</i>	3.5	a
T1(<i>T.harzianum</i> vs <i>B. cinerea</i>)	2.3	b
T2(<i>B. subtilis</i> vs <i>B. cinerea</i>)	0.2	c
Te <i>B. subtilis</i>	0.225	c

CV: 7.14%

Bajo las condiciones del ensayo, se observó que el crecimiento de *Bacillus subtilis* solo o en presencia de *Botrytis cinerea*, no presentó ninguna diferencia. En cambio *Trichoderma harzianum* tuvo mayor desarrollo en su crecimiento cuando estuvo solo que en presencia del patógeno (Figura N°12).

Ambos controladores biológicos presentaron características correspondientes a las descripciones de Barnett (1987) que menciona que a *T. harzianum* se le reconoce fácilmente por su crecimiento rápido y por el color verde de sus conidias. Toulé (2004) asocia el crecimiento de *B. subtilis* con la formación de un precipitado blanco que rodea a las colonias bacterianas frente a las zonas del micelio.

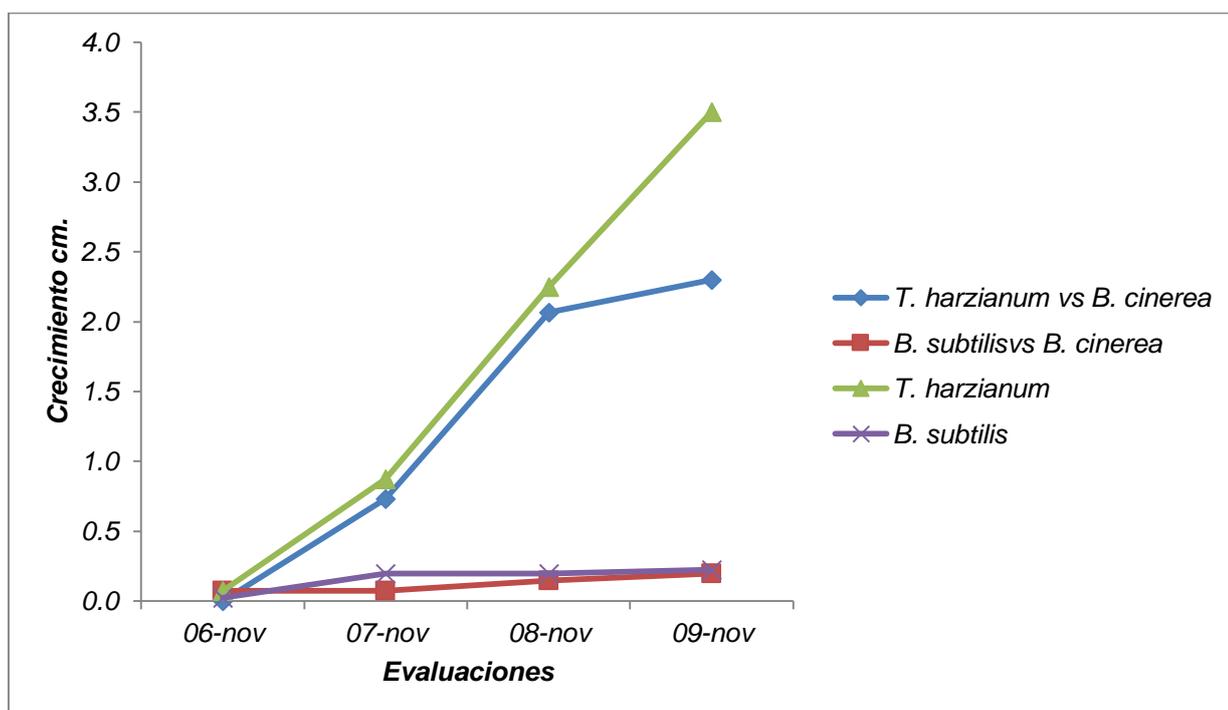


Figura N°12. Curva de desarrollo de los controladores biológicos *T. harzianum* y *B. subtilis* en la prueba de enfrentamiento de la prueba de efectividad de productos en laboratorio.

4. PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS EN VIVERO

4.1 Incidencia

Se sumaron las plantas enfermas por tratamiento de la última evaluación y se halló el porcentaje de incidencia, para después de realizar el análisis de varianza, con una previa transformación de arcoseno. Se pudo afirmar que si hay diferencia significativa entre los tratamientos (Cuadro 9), por lo que se concluye que los tratamientos con menores porcentajes de incidencia fueron el T3 (*B. subtilis*) y T4 (*B. subtilis* + Agrostemin), mientras que los tratamientos con porcentajes más altos de incidencia fueron el T2 (*T. harzianum* + Agrostemin), T9 (Azoxystrobin), T10 (Azoxystrobin + Agrostemin) y T12 (Fosfonato de potasio + Agrostemin). La prueba estadística que se utilizó fue Duncan y la comparación de estos resultados también se pueden observar en la Figura N°13.

Cuadro N°9. Comparación de los resultados de la Incidencia (%) de la prueba de efectividad de productos en vivero usando la prueba de Duncan para la última evaluación.

TRATAMIENTOS		INCIDENCIA %	
T1	<i>T. harzianum</i>	67%	ab
T2	<i>T. harzianum</i> + Agrostemin	71%	a
T3	<i>B. subtilis</i>	38%	cd
T4	<i>B. subtilis</i> + Agrostemin	25%	d
T5	Iprodione	46%	bc
T6	Iprodione + Agrostemin	63%	ab
T7	Carbendazim	63%	ab
T8	Carbendazim + Agrostemin	63%	ab
T9	Azoxystrobin	71%	a
T10	Azoxystrobin + Agrostemin	71%	a

T11	Fosfonato de potasio	63%	ab
T12	Fosfonato de potasio + Agrostemin	71%	a
T13	Testigo	67%	a
T14	Te + Agrostemin	59%	ab

CV: 10.6 %

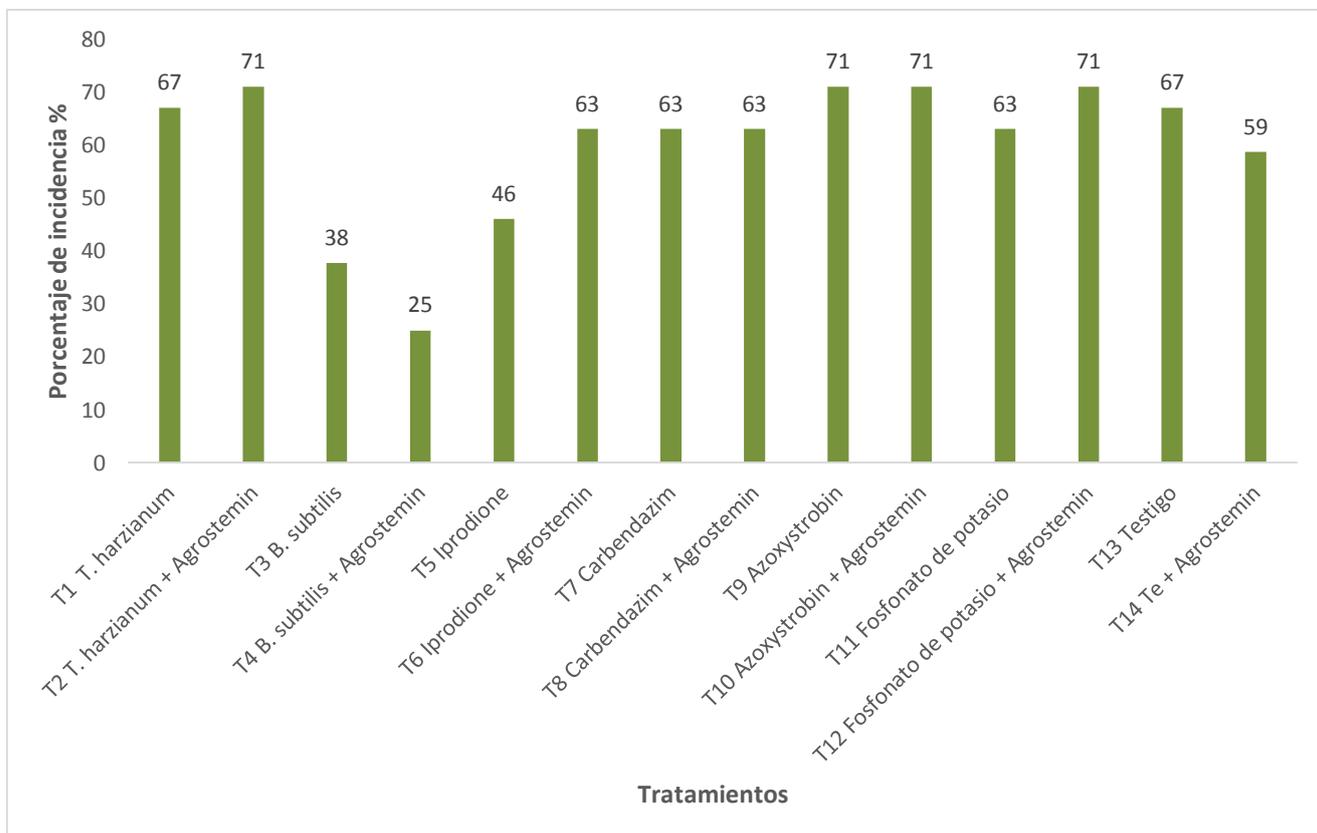


Figura N°13. Resultados de promedios del Porcentaje de Incidencia (%) de la prueba de efectividad de productos en vivero

4.2 Número total de hojas

Después de realizar el análisis de varianza de los resultados de la última evaluación para la variable número total de hojas por planta, se pudo afirmar que si hay diferencia significativa entre los tratamientos. La prueba estadística utilizada fue Duncan y además, se realizó una transformación de datos con fórmula de potencia (raíz cuadrada de x).

En el Cuadro N°10 se puede observar que el tratamiento con que obtuvo mayor cantidad de hojas fue el T6 (Iprodione + Agrostemin), seguido de los tratamientos T5 (Iprodione) y T2

(*T. harzianum* + Agrostemin). Y los tratamientos con menor cantidad de hojas por planta fueron el T11 (Fosfonato de potasio), T12 (Fosfonato de potasio + Agrostemin) y el T9 (Azoxystrobin).

Cuadro N°10. Comparación de Número total de hojas de la prueba de efectividad de productos en vivero de la última evaluación usando la Prueba de Duncan

TRATAMIENTOS		N° TOTAL DE HOJAS	
T1	<i>T. harzianum</i>	3.7	bcd
T2	<i>T. harzianum</i> + Agrostemin	4.8	ab
T3	<i>B. subtilis</i>	3.6	bcd
T4	<i>B. subtilis</i> + Agrostemin	3.4	bcd
T5	Iprodione	4.6	ab
T6	Iprodione + Agrostemin	5.7	a
T7	Carbendazim	4.0	bc
T8	Carbendazim + Agrostemin	3.4	bcd
T9	Azoxystrobin	2.9	cde
T10	Azoxystrobin + Agrostemin	4.3	abc
T11	Fosfonato de potasio	2.1	e
T12	Fosfonato de potasio + Agrostemin	2.8	de
T13	Testigo	4.2	abc
T14	Te + Agrostemin	3.6	bcd

CV: 7.7%

En la Figura N°14 se observa la evolución del número de hojas por planta en los tratamientos que no involucran el Agrostemin; donde se puede apreciar que de ese grupo los tratamientos que no presentaron un aumento en el número de hojas por planta fueron el T9 (Azoxystrobin) y T11 (Fosfonato de potasio). En cambio, la Figura N°15 muestra un gráfico con los tratamientos compuestos por fungicidas mezclados con el bioestimulante que

disminuyeron en el número de hojas fueron el T4 (*B. subtilis*), T8 (Carbendazim + Agrostemin), T12 (Fosfonato de potasio) Y T14 (Testigo + Agrostemin).

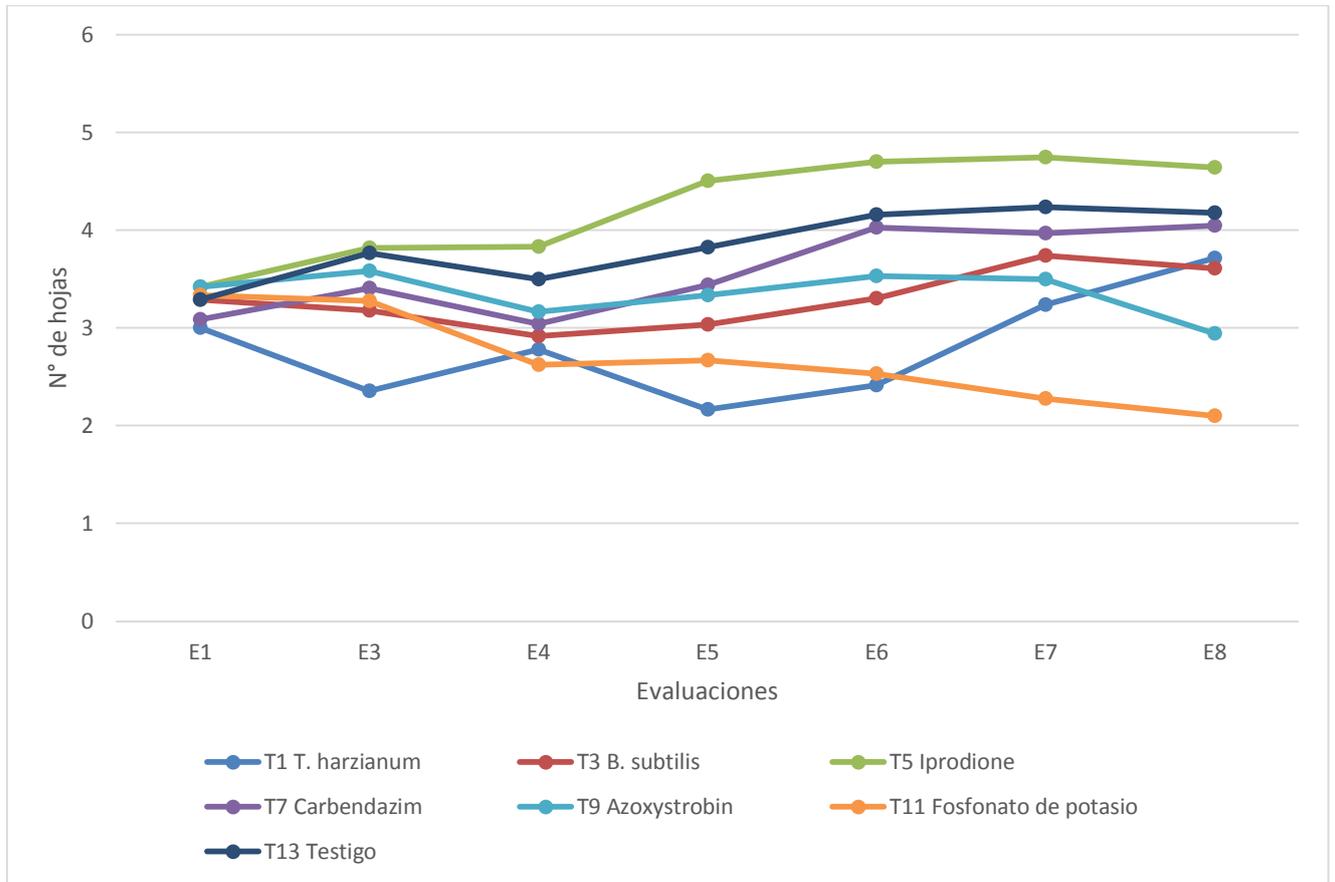


Figura N°14. Evolución de promedios del número total de hojas por planta en los tratamientos sin aplicación de Agrostemin

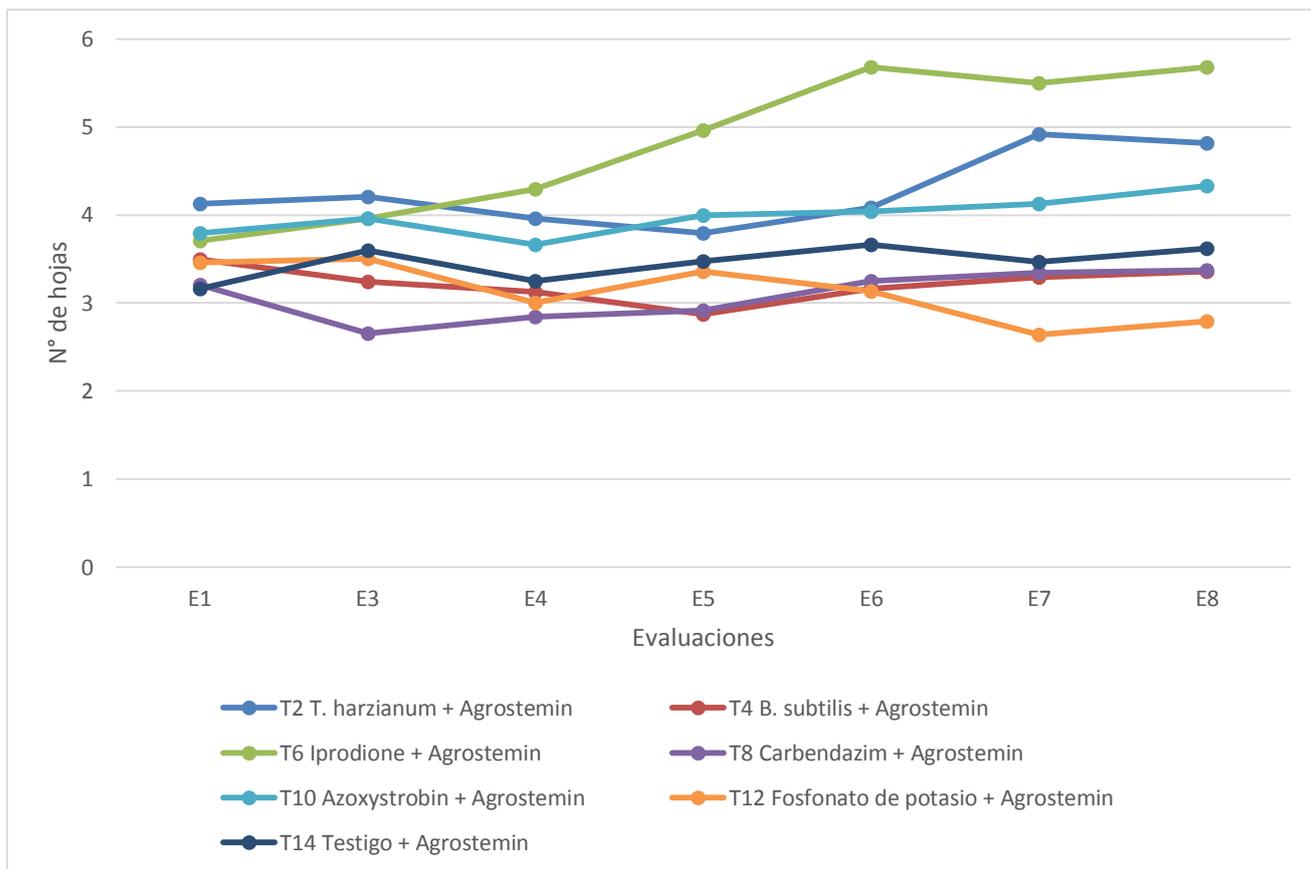


Figura N°15. Evolución de promedios del número total de hojas por planta en los tratamientos con aplicación de Agrostemin

4.3 Número de hojas sanas

Se utilizó el número total de hojas y el número de hojas enfermas por planta de cada tratamiento para hacer una comparación por tratamiento del número de hojas sanas o sin síntomas de moho gris. Estos resultados después del análisis de varianza presentaron diferencias significativas y se le realizó la prueba de Duncan (Cuadro N°11). Los datos sufrieron una transformación con la fórmula de potencia (raíz cuadrada de x).

El tratamiento con una mayor cantidad de hojas sanas fue T8 (Carbendazim + Agrostemin), seguido del T7 (Carbendazim) y T9 (Azoxystrobin); y el que tuvo menor cantidad de hojas libres de síntoma de Botrytis fue el T2 (*T. harzianum* + Agrostemin).

Además, en la Figura N°16 y Figura N°17 se muestra la evolución del número de hojas por planta sin moho gris en los tratamientos con Agrostemin y sin él, respectivamente. Para ambas situaciones se observa que los tratamientos con Iprodione son los que tienen mejores

resultados; y los tratamientos con Fosfonato de potasio los que presentaron resultados deficientes. También, los tratamientos que presentaron mayor cantidad de hojas sanas sin mezclarse con el bioestimulante fueron la Carbendazim y el testigo.

Cuadro N°11. Comparación de los resultados de Número de hojas sanas por planta de la última evaluación de la prueba de efectividad de productos en vivero

TRATAMIENTOS	N° HOJAS SANAS		
	Real	Transformado	
T1 <i>T. harzianum</i>	3.3	2.4	ef
T2 <i>T. harzianum</i> + Agrostemin	4.0	2.1	e
T3 <i>B. subtilis</i>	3.0	2.4	ef
T4 <i>B. subtilis</i> + Agrostemin	2.7	2.7	de
T5 Iprodione	3.9	2.9	d
T6 Iprodione + Agrostemin	5.0	4.2	c
T7 Carbendazim	3.5	4.9	ab
T8 Carbendazim + Agrostemin	2.7	5.5	a
T9 Azoxystrobim	2.6	4.3	bc
T10 Azoxystrobim + Agrostemin	3.8	3.7	c
T11 Fosfonato de potasio	1.4	3.7	c
T12 Fosfonato de potasio+Agrostemin	2.8	3.9	c
T13 Testigo	3.5	3.8	c
T14 Te + Agrostemin	3.2	3.7	c

CV: 3.9%

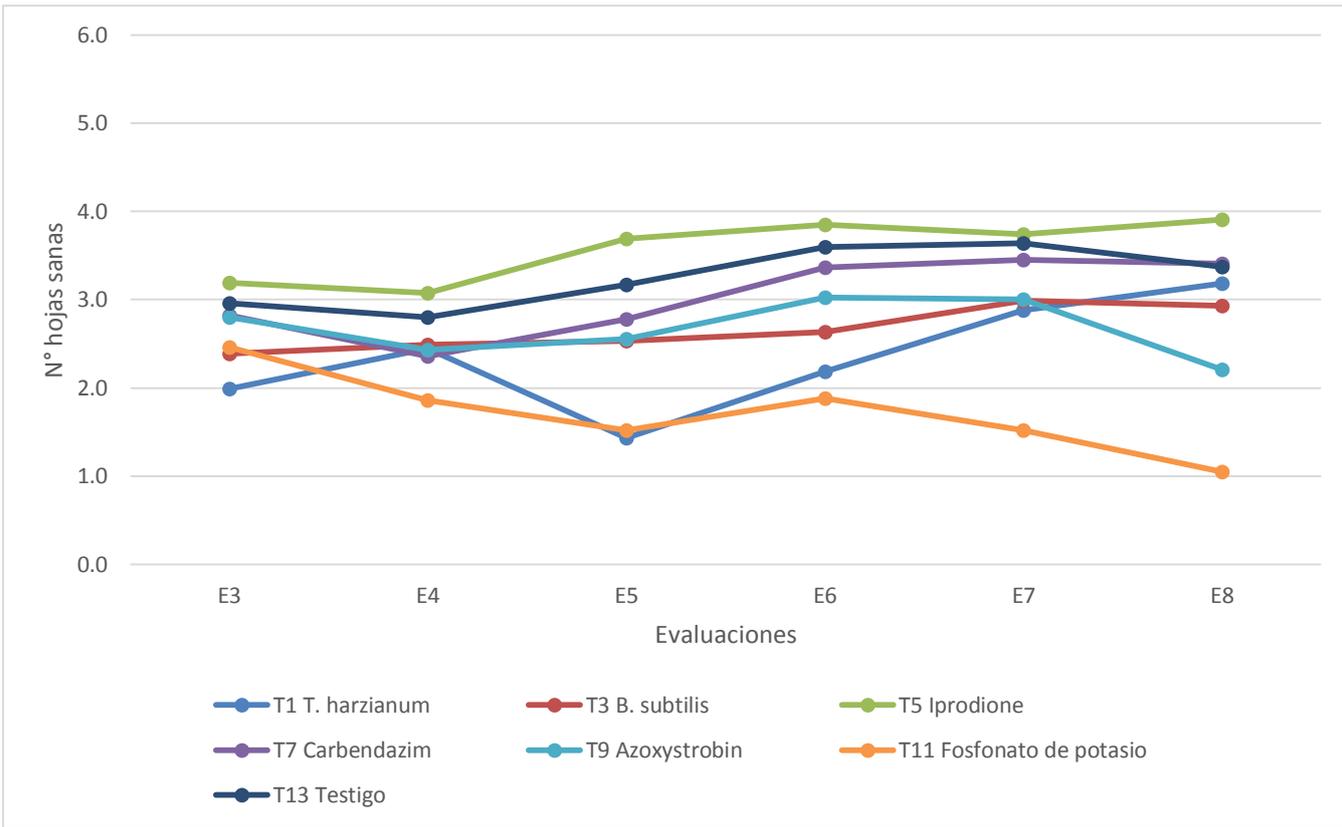


Figura N°16. Evolución de promedios del número de hojas sanas por planta en los tratamientos con aplicación de Agrostemin

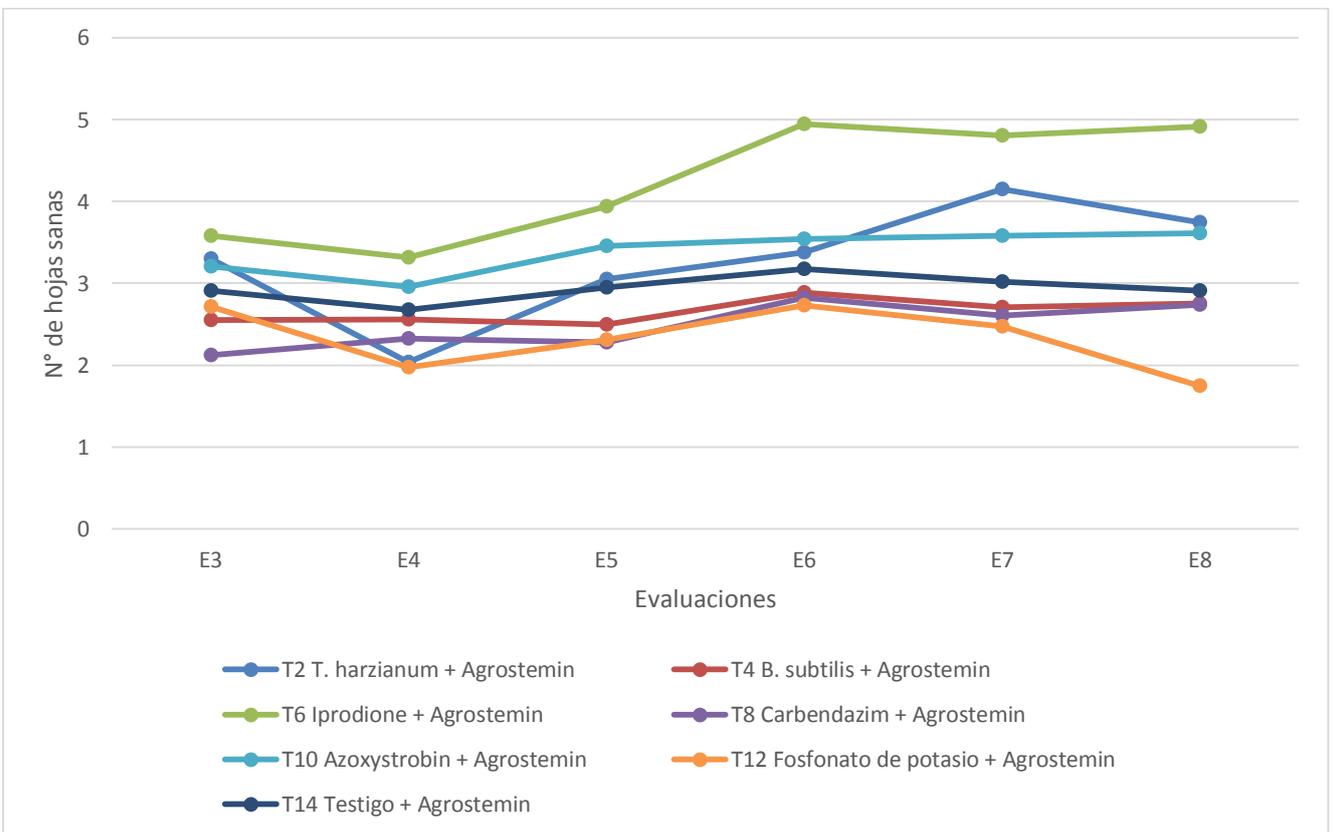


Figura N°17. Evolución de promedios del número de hojas sanas por planta en los tratamientos sin aplicación de Agrostemin

4.4 Análisis económico

En el Cuadro N° 12 se puede observar el costo unitario en soles y presentación de los

NOMBRE COMERCIAL	INGREDIENTE ACTIVO	PRESENTACIÓN	COSTO UNIT. (S/.)
Trichosil 50WP	<i>Trichoderma harzianum</i>	1 L	172
Bio splent 70 WP	<i>Bacillus subtilis</i>	1 L	126
Yarda 500 WP	Iprodione	1 L	144
Protexin 500 FW	Carbendazim	1 L	46
Stronsil 50 WG	Azoxystrobin	200 gr	137
Fitopron	Fosfonato de potasio	1 L	49
Agrostemin	Extracto de algas marinas	1 L	152

productos utilizados en los tratamientos, y en el Cuadro N° 13 se encuentra el costo de aplicación para cada tratamiento de acuerdo a la dosis y número de aplicaciones, dato que se llevó a la cantidad de 100 plantas para darle una mejor visibilidad. Por lo que se puede observar que los productos que representaron mayor gasto fueron el *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*.

Además, se halló el costo de producción para 100 plantas de Begonia para el caso de 3 aplicaciones y 6 aplicaciones (Anexo 7 y 8) para poder calcular la ganancia total por tratamiento en base a los resultados de porcentaje de incidencia y número de hojas sanas por planta considerando solamente los tratamientos que presentaron número de hojas sanas por planta mayores o cercanas a 4 (Cuadro N° 14). Se puede observar que los únicos tratamientos con plantas útiles para la venta fueron el T2 (*T. harzianum* + Agrostemin), T5 (Iprodione), T6 (Iprodione + Agrostemin) y el T10 (Azoxystrobin + Agrostemin), de los cuales el T6 fue el que permitió tener una mayor margen de ganancia con 335 nuevos soles para 100 plantas.

Cuadro N° 12. Nombre comercial y costo unitario de los productos utilizados en la prueba de efectividad de productos en vivero.

Cuadro N° 13. Costo de aplicación de cada tratamiento en la Prueba de efectividad de productos en vivero

TRATAMIENTOS		N° DE APLICACIONES	TOTAL AGUA UTILIZADA*	GASTO TOTAL DE PRODUCTO	COSTO S/. (8 PLANTAS)	COSTO S/. (100 PLANTAS)
T1	<i>Trichoderma harzianum</i>	6	1.5 L	15 gr	2.6	32.5
T2	<i>Trichoderma harzianum</i> + Agrostemin	6	1.5 L	15 gr 3.8 ml	3.2	40.0
T3	<i>Bacillus subtilis</i>	6	1.5 L	11.25 gr	1.4	17.5
T4	<i>Bacillus subtilis</i> + Agrostemin	6	1.5 L	11.25 gr 3.8 ml	2	25.0
T5	Iprodione	3	0.75 L	1.5 gr	0.2	2.5
T6	Iprodione + Agrostemin	3	0.75 L	1.5 gr 1.9 ml	0.5	6.3
T7	Carbendazim	3	0.75 L	0.75 ml	0.03	0.4
T8	Carbendazima + Agrostemin	3	0.75 L	0.75 ml 1.9 ml	0.33	4.1
T9	Azoxystrobin	3	0.75 L	0.375 gr	0.3	3.8
T10	Azoxystrobin + Agrostemin	3	0.75 L	0.375 gr 1.9 ml	0.6	7.5
T11	Fosfonato de potasio	3	0.75 L	3.75 ml	0.2	2.5
T12	Fosfonato de potasio + Agrostemin	3	0.75 L	3.75 ml 1.9 ml	0.5	6.3
T13	Testigo	0	0	0 ml	0	0.0
T14	Testigo + Agrostemin	3	0.75 L	1.9 ml	0.3	3.8

***Gasto de agua por aplicación = 250 ml**

Cuadro N° 14. Análisis de ganancia por tratamiento para 100 plantas de acuerdo a % incidencia y número de hojas sanas.

TRATAMIENTOS	COSTO TOTAL* S/.	COSTO BRUTO* S/.	GANANCIA* S/.	% INCIDENCIA	% PLANTAS SANAS	N° HOJAS SANAS	GANANCIA S/.(PLANTAS UTILES)
T1 <i>Trichoderma harzianum</i>	530.0	1100	570.0	67	33	3.3	0.0
T2 <i>Trichoderma harzianum</i> + Agrostemin	537.5	1100	562.5	71	29	4	163.1
T3 <i>Bacillus subtilis</i>	515.0	1100	585.0	38	62	3	0.0
T4 <i>Bacillus subtilis</i> + Agrostemin	522.5	1100	577.5	25	75	2.7	0.0
T5 Iprodione	480.6	1100	619.4	46	54	3.9	334.5
T6 Iprodione + Agrostemin	484.4	1100	615.7	63	37	5	227.8
T7 Carbendazim	478.5	1100	621.5	63	37	3.5	0.0
T8 Carbendazima + Agrostemin	482.2	1100	617.8	71	29	2.7	0.0
T9 Azoxystrobin	481.9	1100	618.2	71	29	2.6	0.0
T10 Azoxystrobin + Agrostemin	485.6	1100	614.4	71	29	3.8	178.2
T11 Fosfonato de potasio	480.6	1100	619.4	63	37	1.4	0.0
T12 Fosfonato de potasio + Agrostemin	484.4	1100	615.7	71	29	2.8	0.0
T13 Testigo	478.1	1100	621.9	67	33	3.5	0.0
T14 Testigo + Agrostemin	481.9	1100	618.2	59	41	3.2	0.0

***Costos para 100 plantas**

V. DISCUSIONES

Las plantas de *Begonia rex*, de donde se obtuvieron las muestras para el aislamiento de *Botrytis cinerea*, presentaban algunas hojas con necrosis color oscuro en los bordes, la cual iba avanzando con una apariencia húmeda al resto de la hoja, esto es correspondiente a la sintomatología de follaje causada por el patógeno en estudio descrita por Chase (1987) como una lesión húmeda que aparece por debajo de las hojas cerca del extremo que se va alargando rápidamente y se vuelve necrótica, tomando con el tiempo un color marrón oscuro a negro. Además, la necrosis observada iba avanzando de tal manera que causaba el desprendimiento total de la hoja.

Para realizar el diagnóstico del agente causal de la necrosis se observó que en los aislamientos en PDA del ensayo en laboratorio se obtuvo un micelio color blanquecino que se iba oscureciendo hacia los extremos de la placa petri, lo cual coincide con las colonias de *Botrytis cinerea* sobre PDA que obtuvo Chase (1987).

El crecimiento del micelio de *B. cinerea* para abarcar todo el área de la placa petri fue de 3 días, considerándolo un crecimiento rápido, ya que se incubó en condiciones de temperatura de 20 °C, las cuales son favorables para este patógeno.

En la prueba de efectividad de productos en laboratorio los tratamientos con mejores resultados se obtuvieron de los fungicidas químicos (Iprodione, Azoxystrobin y Carbendazim), siendo el T3 (Iprodione) el que inhibió por completo el crecimiento del micelio de *B. cinerea* debido a la lisis que provoca en esta estructura. Por otro lado los tratamientos con fungicidas biológicos como el *Trichoderma harzianum* y el *Bacillus subtilis* junto con el testigo permitieron mayor desarrollo del micelio.

A pesar que *Trichoderma* se caracteriza por tener una colonización rápida, comprobado en el aislamiento en ausencia de *B. cinerea* (Te *T. harzianum*); no logró inhibir al patógeno significativamente en la prueba de enfrentamiento, ya que también presenta un crecimiento rápido en condiciones favorables (20 °C). A comparación de aislamientos de *Trichoderma* realizados por Asran-Amal (2010), quien realizó una prueba de enfrentamiento con *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* y *Macrophomina phaseolina* e incubó los cultivos a 28 ± 3 °C y observó eficiencia en el control de estos patógenos. Además, afirma que la mejor condición

de temperatura para la actividad de la isoenzima quitinasa secretada por *T. harzianum* es a 30 °C, mayor a las producidas a las utilizadas en el ensayo (20 °C).

En el caso de *Bacillus*, el crecimiento de la colonia fue de 2 mm en ausencia y presencia de *Botrytis*, por lo que permitió un desarrollo completo del patógeno comparable con el testigo. Resultados que difieren a los de Santander (2012) en su prueba de enfrentamiento de *B. subtilis* y *Colletotrichum gloeosporioides* donde si hubo crecimiento del controlador y control del patógeno a una temperatura de incubación de 28 a 30 °C. Este poco desarrollo de la bacteria enfrentado con *Botrytis* y aislado se debió a que no se incubó a su temperatura óptima de desarrollo, que es 30 °C; esto explica su baja acción en la prueba de efectividad de productos de vivero donde las condiciones de temperatura promedio estuvieron entre 16 °C y 19 °C.

En el vivero las plantas de *B. rex* tuvieron las condiciones adecuadas para su desarrollo, se les proporcionó la sombra necesaria manteniéndolas bajo un tinglado, ya que son plantas que no necesitan de luz solar directa. Con respecto a la temperatura, esta se mantuvo dentro del óptimo, debido a que las temperaturas máximas estuvieron entre 18 °C y 22 °C, que corresponde a las indicaciones de la Sociedad Americana de Begonias (1980); y las mínimas oscilaron entre 14 °C y 16 °C, mayores a 13 °C que es lo mínimo recomendado por Longman (1982) en la época de invierno. Lo mismo ocurre con la humedad relativa que alcanzó valores de hasta 93 % y 97 %, dando las condiciones de humedad alta que requieren las begonias de follaje (Asociación Americana de Begonias, 1980).

Las temperaturas óptimas de infección para *B. cinerea* son de 15 °C a 20 °C (Chase, 1987), las cuales están dentro de las temperaturas medias reportadas por la estación metereológica (19.3 °C, 18.5 °C y 16.5 °C), esto favoreció el desarrollo de la enfermedad. Además, la humedad relativa como se mencionó anteriormente tuvo un alto porcentaje, lo que dio las condiciones óptimas para la germinación de conidias del inóculo secundario, ya que según Williamson (1995) estas germinan bajo humedades relativas de 94 % a 100 %. Por otra parte, al querer mantener a las plantas de begonia bajo sombra se evitó que las conidias de *B. cinerea* estuvieran expuesta a las luz solar directa por lo que su porcentaje de germinación se no vio afectado negativamente (Elad, 2007).

En la prueba de efectividad de productos en vivero, el tratamiento que tuvo menor incidencia fue el T4 (*B. subtilis* + Agrostemin), esto es debido a que las plantas de este tratamiento que habían estado presentando hojas enfermas, en la última evaluación se consideraron como plantas sanas, ya que se observó que las hojas con síntoma se habían necrosado en su totalidad hasta desprenderse de la planta, dejando solamente hojas sanas. Por lo que se podría decir que *B. subtilis* en realidad no tuvo un buen control en cuanto a porcentaje de incidencia, lo cual se refleja en la prueba de enfrentamiento, donde *B. subtilis* presentó un bajo porcentaje de inhibición del patógeno y un desarrollo deficiente en su aislamiento debido a la temperatura media menor a 30° C, la cual es la óptima para desarrollo para la bacteria.

Los tratamientos con los mayores porcentajes de incidencia fueron T2 (*T. harzianum* + Agrostemin), T9 (Azoxystrobin), T10 (Azoxystrobin + Agrostemin), T12 (Fosfonato de potasio + Agrostemin), seguidos de los tratamientos con Iprodione y Carbendazim. Esta baja acción de los fungicidas se puede explicar debido a que no se utilizaron adherentes o surfactantes que son adicionados para mejorar la eficiencia de los productos químicos, por medio de la mejora de la distribución sobre la superficie foliar o aumentando la solubilidad del ingrediente activo (Marsh, 1972).

Con respecto al fosfonato de potasio, este tratamiento no tuvo un desempeño favorable *in vitro*, ya que su acción es indirecta, es decir no actúa sobre el patógeno, sino que forma compuestos dentro de la planta, como las fitoalexinas, que van a servir de defensa natural contra el causante de la infección. Las fitoalexinas actúan directamente en contra de los fitopatógenos, promoviendo el desarrollo de la planta para atenuar los síntomas o hacerla tolerante a la enfermedad mediante la inhibición de la germinación de esporas, disminuyendo la elongación del tubo germinativo y el crecimiento micelial, además de suprimir la producción de toxinas del patógeno. Sin embargo, no tuvo un buen control sobre *Botrytis* en el ensayo, ya que existen patógenos que son menos sensibles o insensibles a las fitoalexinas de los hospederos o en otros casos que producen enzimas que detoxifican a las fitoalexinas del hospedero. Además, que el fosfonato de potasio como precursor del fosfito de potasio junto con la genética de la planta puede inducir un sistema de resistencia adquirida el cual para el caso puntual del este producto tiene una acción eficiente en Oomicetos (Velandia, 2012). Por tal motivo, no tuvo un buen comportamiento frente a *Botrytis cinerea*.

Los tratamientos con *T. harzianum* presentaron un control bajo en incidencia, lo cual difiere de Lisboa (2003), quien obtiene un buen control de *Botrytis* con aplicaciones de *Trichoderma* y *Bacillus*; y según sus resultados concluye que *Trichoderma* debe ser utilizado como un botryticida preventivo, siendo de gran importancia las aplicaciones oportunas y tempranas. Además, los resultados de incidencia con *Bacillus* fueron mejores que con *Trichoderma* y para el caso de momento de aplicación los porcentajes no tuvieron diferencia estadística entre realizar una sola aplicación durante la floración que realizar varias aplicaciones después. Por tal motivo, sería recomendable probar la acción de estos dos biocontroladores de manera preventiva.

Aunque los resultados del presente ensayo coinciden con The American Phytopathology Society (2000), que menciona que las pulverizaciones de *Trichoderma harzianum rifai* resultaron tener cierta eficacia contra *Botrytis* en ciclamen. Sin embargo, su efecto fue inferior que el tratamiento con Iprodione.

Con respecto a los productos químicos utilizados en cuanto a incidencia se esperaba un mejor control por parte del Carbendazim y el Azoxystrobin, que son fungicidas sistémicos por lo que tienen una acción curativa, a comparación del Iprodione que es de sistemicidad local (Lay, 2005; Tomlin, 1997). Sin embargo, este último no, presentó un porcentaje de incidencia bajo, esto pudo deberse a la frecuencia de aplicaciones que en el ensayo fue cada 14 días, número mayor al recomendado por La Torre (1989), 7 a 10 días.

En cuanto a los productos que se mostraron potenciados debido la aplicación del Agrostemin al disminuir la incidencia fueron: *Bacillus subtilis* y el Testigo, en cambio Iprodione, Fosfonato de potasio, *Trichoderma harzianum*, Carbendazim y Azoxystrobin presentaron porcentajes altos de incidencia en los tratamientos con aplicación del Agrostemin.

La disminución de incidencia en los dos tratamientos mencionados en el párrafo anterior, debido al uso de un bioestimulante como potenciador de los fungicidas utilizados, se puede deber a que los compuestos de este producto sirven de precursores y activadores de múltiples rutas metabólicas, que dan lugar a nuevos productos estructurales: (1) metabolitos como aminoácidos de proteínas comunes, lípidos, glicéridos, alcaloides, terpenoides, flavonoides, aceites esenciales, oligosacáridos, etc. (Gross, 1994), (2) hormonas (Gross, 1985), como el

ácido giberélico, auxinas y citoquininas que están relacionadas con la disminución del efecto de la senescencia en la planta, proceso ligado al estímulo de producción de etileno ocasionado por infecciones fungosas y otros estreses que sufre la planta, por lo que es posible que *B. cinerea* induzca la producción de etileno acelerando los procesos de senescencia a favor del desarrollo de la enfermedad (Elad, 1995).

Un ejemplo de lo afirmado es el trabajo de Elad (1995), donde observó que el ácido giberélico inhibe el desarrollo del moho gris en flores de rosas, ya que puede inhibir la senescencia relacionada con el incremento de la permeabilidad de la membrana de los pétalos. Este efecto de resistencia está basado en el retraso de la senescencia. Además, indica que las auxinas y las citoquininas también han incrementado la resistencia al moho gris en rosas a concentraciones que no afectan la producción de etileno.

Otra forma de resistencia de la planta a las enfermedades es a través de la producción de PR proteínas (proteínas relacionadas a la patogénesis) que son inducidas en las plantas atacadas por patógenos y están asociadas a reacciones necróticas. Algunas de estas proteínas son las quitinasas y las 1,3_β_gluconasas que atacan la pared celular de hongos como *B. cinerea* cuya pared celular está constituida por quitina y 1,3_β_glucano. Además, existen otras proteínas llamadas inhibidores de las proteasa que tiene el efecto de inhibición de la germinación y crecimiento de varios hongos, incluyendo al agente causal del moho gris (Elad, 1995). La producción de las PR proteínas puede ser promovida por la aplicación del bioestimulante a las plantas enfermas, participando como un potenciador de los tratamientos.

Para el caso de este ensayo la dosis utilizada de Agrostemin pudo no haber sido suficiente para estimular la producción necesaria de hormonas o PR proteínas para que la planta se defienda del patógeno. O no se empezó su aplicación en el momento oportuno. Además, el propósito del uso del bioestimulante mezclándolo con los fungicidas fue de soporte y de apoyo para la recuperación pronta de las plantas.

Los resultados similares de incidencia entre algunos tratamientos y testigos se puede deber a la respuesta hipertensiva de las plantas, que es un mecanismo de defensa ante la presencia de una infección y para poder detenerla, hace que las células epidermales reaccionen programando la muerte de algunas células, acompañado de una explosión oxidativa seguido

de la síntesis de fitoalexinas. Este proceso es efectivo con patógenos biótrofos, ya que ellos necesitan de células vivas para su nutrición, en cambio para necrótrofos como *B. cinerea* esta respuesta no ejerce control a causa de que este hongo por su hábito alimenticio puede aprovechar las células muertas para su nutrición y su crecimiento inicial, y poder lograr una plena patogenicidad, caso que pudo haber ocurrido en los tratamientos trabajados. Además, *Botrytis* secreta enzimas como el superóxido dismutasa y la catalasa que degradan el superóxido y peróxido liberados durante la explosión oxidativa; y es capaz de producir laccasa y otras enzimas que pueden degradar fitoalexinas.

Este es un caso parecido al de Bennet (1994) que inoculó a *B. cinerea* en hojas de lechuga promoviendo la acumulación de la lettucenin A, fitoalexina correspondiente al cultivo, la cual se fue asociando con las lesiones que limitaban la restricción de la dispersión de la enfermedad para detener la infección, pero cuando las hojas fueron inoculadas con suspensiones de micelio parece ser superado por los procesos de degradación y la enfermedad terminó por diseminarse (Bennett, 1994).

En cuanto a los resultados del testigo (T13), este no recibió ningún tipo de aplicación, incluyendo agua. Lo cual indica que comparando resultados de incidencia, una práctica cultural como el evitar agua superficial y humedad en la planta puede obtener resultados similares que el uso de algunos fungicidas químicos o biológicos en las condiciones de aplicación del presente ensayo, ya que no se le está dando las condiciones adecuadas de humedad y nutrientes para la inducción de la germinación de conidias. Lo cual también se evidencia al revisar el número de hojas sanas por planta, que es mayor en el T13, que coincide con el número total de hojas, ya que al presentar mayor infección las hojas se necrosaban y caían de la planta haciendo que disminuya el número total de hojas.

Al comparar los resultados los tratamientos combinados con Agrostemin que presentaron un aumento en el número total de hojas fueron T2 (*T. harzianum* + Agrostemin), T6 (Iprodione + Agrostemin), T10 (Azoxystrobin + Agrostemin) y el T12 (Fosfonato de potasio + Agrostemin). Por lo que se puede decir que el bioestimulante utilizado en el ensayo si evidenció en algunos casos acción sobre el desarrollo foliar de la planta. No obstante, este aumento de número de hojas fue ligero, lo cual se puede deber a la infección de *Botrytis*

cinerea, que no permitió un desarrollo pleno de la planta y a la dosis o momento de aplicación oportuno.

El análisis estadístico de resultados de la variable número total de hojas, indican que el tratamiento que obtuvo el mayor número fue el T6 (Iprodione + Agrostemin), junto con el T2 (*T. harzianum* + Agrostemin) y el T5 (Iprodione) que también alcanzaron valores altos. Dando evidencia de que a pesar de los altos porcentajes de incidencia que presentaron una buena emisión de hojas. Sin embargo, con respecto al número de hojas sanas el T8 (Carbendazim + Agrostemin) y T9 (Carbendazim) obtuvieron resultados mayores, seguido del T5 (Iprodione + Agrostemin) y T9 (Azoxystrobin) cuyos valores superaban las 4 hojas sanas por planta.

Observando ambas variables relacionadas al número de hojas se puede decir que el Iprodione es un producto que permitió el desarrollo de las begonias protegiendo las hojas que no habían sido infectadas con el moho gris y a las nuevas hojas, sin actuar sobre aquellas que presentaban síntomas, que se mantuvieron en las plantas durante las evaluaciones hasta su total necrosis, ya que el Iprodione es un producto de contacto (La Torre, 1989) y por lo tanto tiene una acción preventiva. Por tal motivo, el Iprodione solo protegió a las hojas libres de síntoma, haciendo esto que no se observe una mejora en incidencia a través de las evaluaciones. Además, al presentar una cantidad mínima de hojas enfermas, facilitaría la labor de eliminarlas, y se podría tener una planta con la cantidad de hojas y calidad necesarias para ser llevada a la venta.

Y luego de hacer el análisis económico y de hallar la ganancia obtenida por cada tratamiento de acuerdo a número de hojas e incidencia se observó que el T6 (Iprodione + Agrostemin) presentó mayor cantidad de plantas aptas para la venta y por lo tanto una mayor ganancia.

Por último, en cuanto al tema comercial, la aplicación foliar de los productos biológicos le dio a las hojas de las begonias una apariencia opaca y una coloración blanquecina en la superficie y parte basal de las hojas, causada por la sedimentación del fungicida después de haberse evaporado el agua. Este comportamiento sumado a la baja acción que tuvieron tanto en las pruebas in vitro como en vivero, hacen que no sean una opción a elegir para el control de *Botrytis* en *Begonia rex*.

VI. CONCLUSIONES

- El T3 (Iprodione) fue el tratamiento con mejor efecto sobre *Botrytis cinerea in vitro*, ya que inhibió por completo el crecimiento del micelio.

- En la variable de incidencia el menor porcentaje lo obtuvo el tratamiento T4 (*Bacillus subtilis* + Agrostemin).
- El T6 (Iprodione + Agrostemin) tuvo el mejor resultado en la variable de número total de hojas. Mientras que en la variable número de hojas sanas, los tratamientos con Carbendazim presentaron mejores resultados.
- Al culminar el ensayo y luego del análisis económico se concluyó que el T6 (Iprodione + Agrostemin) fue el tratamiento que presentó mejores resultados y que presentó una mayor cantidad de plantas aptas para la venta.
- Por los resultados obtenidos en el ensayo, se puede decir que el Agrostemin no está ligado a la disminución de incidencia, sino es un agente que interviene en la recuperación y desarrollo de las plantas.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar ensayos en donde se prueben diferentes dosis de aplicación para el Iprodione.

- Realizar pruebas con los productos que tuvieron un buen efecto pero incluyendo el uso de adherentes para asegurar la efectividad de los productos.
- Realizar ensayos similares que incluyan dos tipos de testigos; uno que no considere la aplicación de agua a las plantas y otro que sí, para comparar y cuantificar el crecimiento de *Botrytis* en medios donde se ha evitado condiciones favorables de humedad sobre las hojas y donde no.
- Realizar ensayos con aplicaciones preventivas los productos de Iprodione, Carbendazim, Azoxystrobin, Fosfonato de Potasio y *Trichoderma harzianum*.
- Realizar ensayos con aplicaciones de productos inductores de resistencia adquirida, de manera preventiva, como es el ácido salicílico.
- Realizar pruebas con frecuencias de aplicación más cortas, disminuyendo la cantidad de aplicaciones y/o rotando productos y control cultural.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. AGRIOS, G. N. 2005. Plant pathology. Fifth edition. Elsevier. USA. 922 pp.
2. American Begonian Society. Begonian. Volumen 47. July 1980. Page 184.

3. ASRAN-AMAL, A.; Sabet, K. K.; El Banna, O. H.; Moustafa-Mahmoud, S.M. 2010. In vitro antagonism of cotton seedlings me activities in *Trichoderma harzianum*.fungi and characterization of chitinase isozy. Saudi journal of biological sciences. Vol 17. Pages 153 – 157.
4. BARNETT, Dikinson, CH y Lucas, JA. 1987. Patología vegetal y patología de plantas. Edición Limusa. México. 312 pp.
5. BARNETT, H.L and Hunter, B. 1972. The illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company. Third edition. 241 pp.
6. BENNETT, M.H.; Gallagher, M.D.S.; Bestwick, C.S.; Rossiter, J.T and Mansfield, J.W. 1994. The phytoalexin response of lettuce to challenge by *Botrytis cinerea*, *Bremia lactuca* and *Pseudomona syringae* pv. *phaseolicola*. Physiol. Mol. Plant Phytol. 127: 617-633.
7. BIGRE, J P. 1990. Patología de los cultivos florales y ornamentales. Ediciones Mundi – Prensa. España. 233 pp.
8. BUCK, J.W.; Wise, K.A.; Mueller, D.S. 2004. Quarantines and Ornamental Rusts. APSnetFeature Online -2004-0204.
9. CANCHARI, G. 2005. Efecto de aplicación de cepas de Rhizobium, bioestimulantes y fertilización en el rendimiento de frijol canario (*Phaseolus vulgaris* L.) en condiciones de costa central. Tesis para optar el Título de Ingeniero Agrónomo. UNALM. 101 p.
10. CANO Y CANO, G. 1994. Taxonomía de plantas superiores. Editorial Trillas. Primera edición. México. 359 pp.
11. CARRERA, R. 2011. Evaluación del efecto de la aplicación Foliar de dos Fosfonatos en la prevención de enfermedades en el cultivo de Cilantro (*Coriandrum sativum*) en el cantón Riobamba, provincia de Chimborazo. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 91 p.
12. CASILLAS, V. *et al.* Análisis cuantitativo de la aplicación de cuatro bioestimulantes en el cultivo de rábano (*Raphanus sativus* L.). Acta agronomía 2: 185 – 195.

13. CHASE, A. R. 1987. Compendium of ornamental foliage plant diseases. APS Press. USA. 169 pp.
14. DAMMERT, M. 2003. La descentralización en el Perú a inicios del siglo XXI: de la reforma institucional al desarrollo territorial. Volumen II. CEPAL Serie Gestión Pública. Naciones Unidas - Santiago de Chile. 50 p.
15. DE LIÑAN, R. 2000. Vademecum de productos fitosanitarios y nutricionales. Agrotécnicas SL Madrid. 655 p.
16. DEISING, HB. 2009. The mycota: Plant relationships. Springer. Second edition. Germany. 398 pp.
17. ELAD, Y. and Evensen, K. 1995. Physiological Aspects of resistance to *Botrytis cinerea*. The American Phytopathology Society. Vol 85, No 6, 1995. 637–643 p.
18. ELAD, Y; Williamson, B; Tudzynski, P y Delen, N. 2007. Botrytis: Biology, Pathology and Control. Países bajos. 403 pp.
19. ELLIS, M. B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Vew. Surrey. England. 179 pp.
20. EVANS, E. 1968. Plant diseases and their chemical control. Black wells Scientific Publications. Oxford, England. 215 pp.
21. FARR, D. et al. 1989. Fungi on plants and plant products in the United States. APS Press. USA. 1252 pp.
22. FERRERA-CERRATO, R. 2007. Microbiología Agrícola. E. Trillas. México. 568 pp
23. FUENTES, JL. 1998. Botánica Agrícola. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Ediciones Mundi-Prensa. Quinta edición. España. 261 pp.
24. GRIFFITH, L. 1997. Tropical Foliage Plants. A Grower's Guide. Ball Publishing. Illinois. 318 pp.
25. GROSS, G. 1985. Introducción al estudio de los productos naturales. Informe Secretaría general de la OEA. USA. 450 pp.
26. HUA CHEN. 2007. Antagonistic effects of volatiles generated by *Bacillus subtilis* on spore germination and hyphal growth of the plant pathogen, *Botrytis cinerea*. Biotechnology Letters. Volume 30. Issue 5. 919 – 923 pp.

27. IZA, R. C. 2011. Interacción de cuatro Fosfonatos más *Trichoderma harzianum* para el control de Lancha de Papa (*Phytophthora infestans*), a nivel de Laboratorio. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Escuela politécnica superior de Chimboazo. Ecuador. 123 p.
28. JIMENEZ, R. Y M. CABALLERO. 1990. El cultivo industrial de plantas en maceta. Ediciones Horticultura S. L. Barcelona. 664 pp.
29. KROMANN, P. 2012. Use of Phosphonate to Manage Foliar Potato Late Blight in Developing Countries. *Plant disease* 7: 1008 – 1015.
30. LA TORRE, B. 1989. Fungicidas y nematicidas, avances y aplicabilidad. Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Chile. 18-24, 103, 105, 107 pp.
31. LA TORRE, B. 1990. Plagas de hortalizas. Manual de manejo integrado. Oficina regional de la FAO. Chile. 520 pp.
32. LAY, V. 2005. Etiología y control del agente causal de la pudrición de los frutos en melocotonero cv blanquillo (*Prunus persica* L Batsch) en el valle de Huaral. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo.
33. LISBOA, M. 2003. Efectividad de *Bacillus subtilis* y de una cepa nativa de *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia y severidad de pudrición gris (*Botrytis cinerea*) en vid. Universidad de Talca. Facultad de Ciencias agrarias. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Chile. 38 p.
34. LONGMAN, D. 1982. El cuidado de las plantas de interior. Editorial Blume. España p. 40
35. MARSH, R. W. 1972. Systemic fungicides. Longman group limited. Primera edición. Inglaterra. 254 pp.
36. MENDOZA, G. 2004. Efecto de bioestimulantes y ácidos húmicos en el rendimiento y calidad del cultivo del brócoli (*Brassica oleracea* L. variedad *italica* cv. Legacy). Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo.
37. MONT, R. 2004. El control biológico como componente del manejo integrado de enfermedades de las plantas. Perú. 50 – 56 p.
38. MORALES, C. 2011. Evaluación de sustratos y aplicación de hongos micorrízicos arbusculares en *Begonia* sp. Cuba. Cultivos tropicales. Vol 32 no 1

39. MYRESOTI, CK. 2008. Baseline sensitivity of *Botrytis cinerea* to pyraclostrobin and boscalid and control of anilnapiryimidinaand benzimidazol resistant strains by those fungicides. *Plant disease* 7: 979 – 984.
40. NAYLOR, J. 1976. Production, trade and utilization of seaweeds and seaweed products. FAO Fisheries Technical paper No 159.
41. SALINAS, J, Glandorf, DCM, Picavet FD y Verhoeff K. 1989. Effects of temperature, relative humidity and age of conidia on the incidence of spotting on gerbera flowers caused by *Botrytis cinerea*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 95, 51 – 64.
42. SANTANDER, A. 2012. Uso de *Trichoderma harzianun* rifai y *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn para el control de *Colletotrichum gloeosporioides* pens. causante de la antracnosis en mango (*Mangifera indica* l.) 100 pp.
43. STEIN, T. 2005. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Mol Microbiol* 56:845–857
44. TARAZONA, L. 2009. Control Biológico y químico de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary en Alcachofa (*Cynara scolymus* L.). Tesis para optar el grado de *Magister Scientiae* .UNALM. Lima - Perú. 84 pp.
45. THE AMERICAN PHYTOPATHOLOGY SOCIETY. 2000. Plagas y enfermedades de las plantas en maceta con flores y sus enfermedades infecciosas. Ediciones Mundi Prensa. Primera edición. España. 122 pp.
46. TOMLIN, CDS. 1997. The pesticide manual. British crop protection council. Décimo primera edición. 70, 71, 182-184, 724 pp.
47. TOURÉ, Y. 2004. Role of lipopeptides produce by GA1 in the reduction of grey mould caused by *Botrytis cinerea* on apple. Published on line. *Journal of applied Microbiology*. 96:1151-1160.

48. VELANDIA, J.; Viteri, S; Rosero; Rubio, N.; Tovar, F. 2012. Efecto del Fosfito de Potasio en Combinación con el Fungicida Metalaxyl + Mancozeb en el Control de Mildeo Velloso (*Peronospora destructor* Berk) en Cebolla de Bulbo (*Allium cepa* L.). Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín. Universidad Nacional de Colombia. Vol 65. no 1.
49. VIDALIE, H. 2001. Producción de flores y plantas ornamentales. Ediciones Mundi-Prensa. Tercera edición. España. 269 pp.
50. VIDHYASEKARAN, L. 2004. Concise Encyclopedia of Plant Pathology. Food Products Press. USA. 619 pp
51. WILLIAMSON, B; Duncan, G. H.; Harrison, J. G.; Harding, L. A.; Elad, Y and Zimand G. 1995. Effect of humidity on infection of rose petals by dry-inoculated conidia of *Botrytis cinerea*. Mycological research. 99, 1303 – 1310.
52. YUNIS, H.; Shtienberg, D.; Elad, Y. and Mahner, Y. 1994. Qualitative approach for modelling outbreaks of grey mold epidemics in nonheated cucumber greenhouses. Crop Prot. 13:99-104.

ANEXOS

ANEXO 1: Datos meteorológicos proporcionados por la estación meteorológica “Alexander Von Humbolt” de la UNALM. Año 2012.

MESES	Temperatura Mínima(°C)	Temperatura Media (°C)	Temperatura Máxima(°C)
ENERO	18.3	23.2	28.1
FEBRERO	19.7	24.4	29.2
MARZO	19.9	24.5	29.0
ABRIL	18.0	23.1	28.2
MAYO	15.8	19.7	23.7
JUNIO	16.1	19.3	22.4
JULIO	16.1	18.5	20.9
AGOSTO	14.4	16.5	18.7
SETIEMBRE	14.5	17.2	19.8
OCTUBRE	14.7	17.9	21.2
NOVIEMBRE	15.8	19.2	22.7
DICIEMBRE	17.5	21.0	24.5

MESES	Humedad Relativa Mínima (%)	Humedad Relativa Media (%)	Humedad Relativa Máxima (%)
ENERO	61	76.8	93
FEBRERO	60	76.2	93
MARZO	64	78.8	93
ABRIL	61	77.8	94
MAYO	73	83.8	94
JUNIO	76	84.9	93
JULIO	77	85.3	93
AGOSTO	83	90.0	97
SETIEMBRE	80	88.2	96
OCTUBRE	77	86.6	96
NOVIEMBRE	72	83.6	95
DICIEMBRE	72	83.1	95

ANEXO 2: Promedios del crecimiento radial diario de *B. cinerea* en prueba de efectividad de productos en laboratorio

TRATAMIENTOS		CRECIMIENTO RADIAL DIARIO (cm) DE <i>B. cinerea</i>			
		06-nov	07-nov	08-nov	09-nov
Te	Testigo	0.1	0.9	2.4	3.4
T1	<i>T. harzianum</i>	0.3	1.1	2.4	2.6
T2	<i>B. subtilis</i>	0.1	0.8	2.4	3.7
T3	Iprodione	0.0	0.0	0.0	0.0
T4	Carbendazim	0.0	0.4	1.3	1.8
T5	Azoxystrobin	0.0	0.3	1.3	2.0
T6	Fosfonato de potasio	0.0	0.1	1.0	2.2

ANEXO 3: Promedios del crecimiento radial diario de los controladores biológicos *T. harzianum* y *B. subtilis* en la prueba de efectividad de productos en laboratorio

TRATAMIENTOS		CRECIMIENTO RADIAL DIARIO (cm) DE BIOCONTROLADORES			
		06-nov	07-nov	08-nov	09-nov
T1	<i>T. harzianum</i> vs <i>B. cinerea</i>	0.0	0.7	2.1	2.3
T2	<i>B. subtilis</i> vs <i>B. cinerea</i>	0.1	0.1	0.2	0.2
Te 1	<i>T. harzianum</i>	0.1	0.9	2.3	3.5
Te 2	<i>B. subtilis</i>	0.0	0.2	0.2	0.2

ANEXO 4: Promedios de la incidencia (%) por tratamiento de las evaluaciones realizadas en la Prueba de efectividad de productos en vivero

TRATAMIENTOS		1° EVALUACION			2° EVALUACION			3° EVALUACION			4°EVALUACION			5°EVALUACION			6°EVALUACION		
		B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3
T1	<i>T. harzianum</i>	75*	37.5	50	50	37.5	50	75	50	37.5	87.5	37.5	62.5	62.5	37.5	50	75	25	62.5
T2	<i>T. harzianum</i> + Agrostemin	50	87.5	50	75	62.5	50	100	75	62.5	75	75	37.5	62.5	75	62.5	75	62.5	62.5
T3	<i>B. subtilis</i>	50	87.5	75	37.5	75	50	50	37.5	62.5	50	37.5	75	50	50	87.5	37.5	75	100
T4	<i>B. subtilis</i> + Agrostemin	75	25	62.5	75	50	75	50	50	62.5	25	62.5	50	25	62.5	50	37.5	62.5	62.5
T5	Iprodione	62.5	62.5	62.5	62.5	50	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	75	50	75	62.5	62.5	87.5	87.5
T6	Iprodione + Agrostemin	37.5	50	37.5	25	12.5	37.5	87.5	50	50	100	62.5	37.5	62.5	50	37.5	62.5	62.5	25
T7	Carbendazim	50	50	50	50	50	50	62.5	37.5	75	75	50	75	75	50	62.5	62.5	50	50
T8	Carbendazim + Agrostemin	50	62.5	50	37.5	62.5	50	62.5	62.5	37.5	62.5	62.5	50	25	62.5	37.5	25	87.5	50
T9	Azoxystrobin	62.5	50	50	50	75	62.5	75	75	50	75	87.5	50	37.5	50	50	37.5	37.5	62.5
T10	Azoxystrobin + Agrostemin	75	75	37.5	87.5	62.5	25	75	62.5	0	87.5	50	12.5	62.5	37.5	37.5	50	62.5	25
T11	Fosfonato de potasio	62.5	100	50	62.5	50	62.5	62.5	75	62.5	75	87.5	75	62.5	75	75	62.5	75	75
T12	Fosfonato de potasio + Agrostemin	100	62.5	50	87.5	75	37.5	100	87.5	62.5	75	87.5	50	75	50	37.5	62.5	50	12.5
T13	Testigo	75	62.5	87.5	75	62.5	62.5	50	37.5	87.5	62.5	37.5	87.5	50	12.5	87.5	62.5	50	50
T14	Te + Agrostemin	87.5	75	100	75	50	50	62.5	50	62.5	50	37.5	75	50	50	75	62.5	37.5	62.5

*Porcentaje de 8 plantas evaluadas

ANEXO 5: Promedios del número total de hojas por tratamiento de las evaluaciones realizadas en la prueba de efectividad de productos en vivero

TRATAMIENTOS		1° EVALUACION			2° EVALUACION			3° EVALUACION			4°EVALUACION			5°EVALUACION			6°EVALUACION		
		B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3
T1	<i>T. harzianum</i>	2.6	1.9	2.6	3.3	2.0	3.0	2.5	1.4	2.6	2.8	1.6	2.9	3.7	2.8	3.3	3.7	2.7	4.8
T2	<i>T. harzianum</i> + Agrostemin	4.5	3.6	4.5	4.0	3.6	4.3	3.6	3.3	4.5	3.5	4.0	4.8	4.8	5.2	4.8	5.2	5.2	4.1
T3	<i>B. subtilis</i>	3.3	3.1	3.1	3.1	3.1	2.5	3.3	2.9	3.0	3.9	2.9	3.2	4.4	3.3	3.5	4.4	3.1	3.3
T4	<i>B. subtilis</i> + Agrostemin	4.1	2.0	3.6	4.1	1.9	3.4	4.0	2.0	2.6	3.6	3.0	2.9	3.9	3.0	3.0	3.5	3.3	3.3
T5	Iprodione	3.3	4.6	3.6	3.3	4.8	3.5	3.4	5.3	4.8	3.7	5.4	5.0	3.6	5.5	5.2	4.0	5.5	4.4
T6	Iprodione + Agrostemin	3.9	4.0	4.0	4.1	4.3	4.5	5.1	4.9	4.9	6.7	5.4	5.0	6.0	5.4	5.1	6.2	5.4	5.5
T7	Carbendazim	3.5	2.9	3.9	3.8	2.4	3.0	3.8	2.7	3.9	4.3	3.3	4.5	4.3	3.3	4.3	4.1	4.0	4.0
T8	Carbendazim + Agrostemin	2.6	2.3	3.0	3.0	2.2	3.4	2.9	2.2	3.7	2.9	2.6	4.3	2.8	3.0	4.3	2.6	3.2	4.3
T9	Azoxystrobin	4.0	4.0	2.8	3.5	3.9	2.1	3.6	3.9	2.5	3.9	4.4	2.3	3.8	4.3	2.5	3.4	3.1	2.3
T10	Azoxystrobin + Agrostemin	4.8	4.0	3.1	4.1	4.1	2.8	4.4	4.9	2.8	4.3	4.8	3.1	4.1	5.0	3.3	4.4	5.1	3.5
T11	Fosfonato de potasio	3.3	3.3	3.3	2.5	2.6	2.8	2.6	2.9	2.6	2.3	2.9	2.4	2.3	2.5	2.0	2.0	2.5	1.8
T12	Fosfonato de potasio + Agrostemin	2.6	4.6	3.4	1.5	3.9	3.6	2.0	4.6	3.5	1.6	4.4	3.4	1.5	3.7	2.7	1.7	4.0	2.7
T13	Testigo	3.6	3.5	4.2	3.0	3.6	3.9	3.7	3.8	4.0	3.7	3.8	5.0	3.7	4.0	5.0	4.0	4.1	4.4
T14	Te + Agrostemin	3.6	2.9	4.3	3.1	2.8	3.9	3.1	2.7	4.6	3.4	2.6	5.0	3.8	2.4	4.1	4.0	2.9	4.0

ANEXO 6: Promedios del número de hojas enfermas por tratamiento de las evaluaciones realizadas en la prueba de efectividad de productos en vivero

TRATAMIENTOS		1° EVALUACION			2° EVALUACION			3° EVALUACION			4°EVALUACION			5°EVALUACION			6°EVALUACION		
		B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3
T1	<i>T. harzianum</i>	1.1	0.4	0.5	0.3	0.4	0.3	0.7	0.3	0.0	0.8	0.2	1.2	0.5	0.0	0.2	0.7	0.0	0.4
T2	<i>T. harzianum</i> + Agrostemin	0.6	1.0	0.6	0.9	1.3	0.6	4.1	0.9	0.8	0.7	1.0	0.5	0.5	1.0	0.6	0.8	0.8	0.6
T3	<i>B. subtilis</i>	0.6	1.0	1.3	0.4	1.1	0.9	0.5	0.3	0.5	0.4	0.3	0.8	0.4	0.6	1.0	0.3	0.7	1.3
T4	<i>B. subtilis</i> + Agrostemin	1.0	0.4	1.0	0.8	0.6	0.8	0.8	0.2	0.8	0.3	0.3	0.6	0.3	0.3	0.3	1.0	0.3	0.5
T5	Iprodione	0.9	0.8	0.6	0.8	0.6	0.5	0.9	0.8	0.7	0.6	0.9	1.0	0.7	0.9	1.0	0.9	1.0	1.2
T6	Iprodione + Agrostemin	0.6	0.8	0.7	0.4	0.3	0.5	1.4	0.8	0.8	1.3	1.0	0.8	0.8	0.8	0.6	0.8	1.0	0.3
T7	Carbendazim	0.8	0.4	0.7	0.8	0.4	0.6	0.8	0.3	1.0	0.7	0.4	0.8	0.7	0.4	0.8	0.7	0.3	0.5
T8	Carbendazim + Agrostemin	0.6	1.2	0.7	0.5	0.7	0.4	0.9	0.4	0.3	0.8	0.6	0.6	0.3	0.6	0.4	0.3	1.4	0.6
T9	Azoxystrobin	0.8	0.5	0.8	0.8	0.9	0.7	1.0	0.9	0.3	1.0	1.0	0.3	0.4	0.6	0.5	0.4	0.6	0.5
T10	Azoxystrobin + Agrostemin	1.0	1.0	0.6	0.9	1.0	0.4	1.0	1.1	0.0	1.0	0.5	0.1	0.6	0.4	0.5	0.5	0.8	0.4
T11	Fosfonato de potasio	1.0	2.6	0.9	0.6	0.8	1.1	0.9	0.7	0.7	1.0	1.4	1.0	0.5	0.8	0.6	0.7	1.0	0.6
T12	Fosfonato de potasio + Agrostemin	1.7	1.6	0.6	1.0	1.0	0.4	1.2	1.0	0.9	0.6	1.4	1.1	0.5	0.4	0.3	0.0	0.5	0.0
T13	Testigo	1.1	0.8	1.3	1.0	0.8	0.7	0.4	0.5	1.2	0.6	0.4	1.0	0.4	0.3	1.0	0.7	0.9	0.2
T14	Te + Agrostemin	1.1	0.8	1.3	1.0	0.6	0.4	0.7	0.4	0.6	0.6	0.3	0.7	0.3	0.4	0.7	0.5	0.3	0.6

ANEXO 7: Costo de producción de 100 plantas con 3 aplicaciones

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO UNITARIO S/.	COSTO TOTAL S/.
1. Costos Directos				
1.1 Propagación				61.6
Siembra	Jornal	0.125	21	2.6
Material vegetal	unidad	10	5	50.0
Arena	kg	2	1	2.0
Compost	kg	1	2	2.0
Bandeja	unidad	1	5	5.0
1.2 Trasplante				291.6
Macetas	unidad	100	1	100.0
Turba	L	30	2.8	84.0
Perlita	L	20	3	60.0
Llenado de macetas	Jornal	0.19	21	4.0
Trasplante	Jornal	0.125	21	2.6
1.3 Riegos				82.5
Regador	Jornal	0.5	21	10.5
Agua	Mes	3	24	72.0
1.4 Control fitosanitario				4.0
Aplicador	Jornal	0.19	21	4.0
1.5 Transporte de insumos	Global	1	40	40.0
				438.7
1.6 Imprevistos				21.9
5% de costos directos	%	0.05		21.9
Total Costos Directos				
2. Costos Indirectos				
2.1 Gastos administrativos				
8% de los Costos Directos	%	0.08		36.9
Total Costos Indirectos				
3. Costo Total de Producción				
				497.5

ANEXO 8: Costo de producción de 100 plantas con 6 aplicaciones

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO UNITARIO S/.	COSTO TOTAL S/.
1. Costos directos				
1.1 Propagación				61.6
Siembra	Jornal	0.125	21	2.6
Material vegetal	unidad	10	5	50.0
Arena	kg	2	1	2.0
Compost	kg	1	2	2.0
Bandeja	unidad	1	5	5.0
1.2 Trasplante				291.6
Macetas	unidad	100	1	100.0
Turba	L	30	2.8	84.0
Perlita	L	20	3	60.0
Llenado de macetas	Jornal	0.19	21	4.0
Trasplante	Jornal	0.125	21	2.6
1.3 Riegos				82.5
Regador	Jornal	0.5	21	10.5
Agua	Mes	3	24	72.0
1.4 Aplicaciones				8.0
Aplicador	Jornal	0.38	21	8.0
1.5 Transporte de insumos				40.0
1.6 Imprevistos				0.0
5% de costos directos	%	0.05		0.0
Total Costos Directos				
2. Costos Indirectos				
2.1 Gastos administrativos				
8% de los Costos Directos	%	0.08		35.4
Total Costos Indirectos				
3. Costo Total de Producción				478.1

ANEXO 9: Costo total de producción para cada tratamiento

TRATAMIENTOS		COSTO APLICACIÓN* S/.	COSTO PRODUCCIÓN* S/.	COSTO TOTAL* S/.
T1	<i>Trichoderma harzianum</i>	32.5	497.5	576.5
T2	<i>Trichoderma harzianum</i> + Agrostemin	40	497.5	584
T3	<i>Bacillus subtilis</i>	17.5	497.5	561.5
T4	<i>Bacillus subtilis</i> + Agrostemin	25	497.5	569
T5	Iprodione	2.5	478.1	524.9
T6	Iprodione + Agrostemin	6.25	478.1	528.65
T7	Carbendazim	0.375	478.1	522.775
T8	Carbendazima + Agrostemin	4.125	478.1	526.525
T9	Azoxystrobin	3.75	478.1	526.15
T10	Azoxystrobin + Agrostemin	7.5	478.1	529.9
T11	Fosfonato de potasio	2.5	478.1	524.9
T12	Fosfonato de potasio + Agrostemin	6.25	478.1	528.65
T13	Testigo	0	478.1	522.4
T14	Testigo + Agrostemin	3.75	478.1	526.15

*Costos para 100 plantas