

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**“CONTROL DEL MOHO GRIS (*Botrytis cinerea* Pers.) EN TOMATE  
(*Solanum lycopersicum*) cv. HUASCARÁN MEDIANTE FERTILIZANTES  
FOLIARES EN LA MOLINA”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:  
INGENIERO AGRÓNOMO**

**HUGO BENNY CASIMIRO MELGAREJO**

**LIMA-PERÚ**

**2022**

---

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación  
(Art. 24 - Reglamento de Propiedad Intelectual)**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**“CONTROL DEL MOHO GRIS (*Botrytis cinerea* Pers.) EN TOMATE  
(*Solanum lycopersicum*) cv. HUASCARÁN MEDIANTE  
FERTILIZANTES FOLIARES EN LA MOLINA”**

**HUGO BENNY CASIMIRO MELGAREJO**

Tesis para optar el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO**

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

.....  
Ing. M. S. Andrés Virgilio Casas Díaz  
**PRESIDENTE**

.....  
Ph. D. Liliana María Aragón Caballero  
**ASESOR**

.....  
Ph. D. Walter Eduardo Apaza Tapia  
**MIEMBRO**

.....  
Ing. Mg. Sc. Medali Heidi Huarhua Zaquinaula  
**MIEMBRO**

**LIMA - PERÚ**  
**2022**

## **DEDICATORIA**

*A mis padres, Hugo y Juana, por sus años de sacrificios dedicados a mi desarrollo personal y profesional. A mi hermano Bradhy por estar conmigo, y a mi tío Guidez por su gran apoyo.*

## **AGRADECIMIENTO**

A la profesora Ing. Mg. Sc. Liliana Aragón por su paciencia, sus consejos y siempre apoyo durante toda la ejecución de la investigación.

Al profesor Ing. Mg. Sc. Andrés Casas por estar siempre disponible para cualquier duda y darme las facilidades durante el desarrollo en campo.

A la Ing. Norma y Jossyn por darme la oportunidad y confianza de ejecutar la investigación.

A Cledy, Ana, Sra. Angelica, Sra. Olga, Sr. Jose y Sr. Javier por su gran apoyo en la fase de laboratorio.

El Sr. Willy, Sr. Marcelino, Sr. Tambini y Paola por su gran apoyo en las labores de campo.

A mis amigos Angie, Alexander, Stefany, Ursula, Daniel, Lisbeth, Marco, Gianella, Paola, Elizabeth, Soledad, Briguit y Diana por apoyarme y hacer placentera la ejecución de la investigación.

## ÍNDICE

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1	El tomate	3
2.1.1	Generalidades	3
2.1.2	Taxonomía	3
2.1.3	Descripción botánica	4
2.1.4	Requerimientos edafoclimáticos	5
2.1.5	Principales plagas y enfermedades	6
2.2	El moho gris ( <i>Botrytis cinerea</i> )	7
2.2.1	Generalidades	7
2.2.2	Taxonomía	8
2.2.3	Morfología	8
2.2.4	Biología	9
2.2.5	Estrategias de control	12
2.2.6	Variabilidad genética	13
2.3	Efecto de cobre, zinc y ácido cítrico en la protección vegetal	13
2.3.1	Cobre en la protección vegetal	14
2.3.2	Zinc en la protección vegetal	15
2.3.3	Ácido cítrico en la protección vegetal	16
2.4	Fertilizantes foliares	17
2.4.1	Mecanismos de absorción	17
2.4.2	Removilización de los nutrientes minerales	17
2.4.3	Fertilizantes foliares usados en los ensayos	18
2.5	Métodos para evaluar in vitro la actividad antifúngica	18
2.5.1	Método del medio envenenado	18
2.6	Medio PDA	19
<b>III.</b>	<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>20</b>
3.1	Fase laboratorio	20
3.1.1	Ubicación	20
3.1.2	Material biológico	20

3.1.3	Prueba de efectividad de los productos en laboratorio	20
3.1.4	Diseño experimental	22
3.2	Fase de campo	22
3.2.1	Ubicación del experimento	22
3.2.2	Tratamientos	22
3.2.3	Diseño experimental	23
3.2.4	Actividades de campo	24
3.2.5	Área de evaluación	28
3.2.6	Evaluación del efecto de los fertilizantes foliares en campo	29
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>33</b>
4.1	Fase laboratorio	33
4.2	Fase de campo	37
4.2.1	Incidencia y severidad de <i>B. cinerea</i> en follaje	37
4.2.2	Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) de la severidad foliar	41
4.2.3	Incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en flores	49
4.2.4	Incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en frutos	51
4.2.5	Calidad comercial de los frutos	56
4.2.6	Rendimiento	56
4.2.7	Fitotoxicidad	59
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>61</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>62</b>
<b>VII.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>63</b>
<b>VIII.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>72</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Descripción de los tratamientos que se usaron para evaluar el efecto antifúngico del crecimiento micelial de <i>B. cinerea</i> en laboratorio.....	21
<b>Tabla 2:</b> Descripción de los tratamientos que se utilizaron en la evaluación del control de <i>B. cinerea</i> en campo de tomate .....	23
<b>Tabla 3:</b> Área de las unidades experimentales en campo .....	28
<b>Tabla 4:</b> Diámetro promedio del crecimiento micelial de <i>Botrytis cinerea</i> (mm) de todos los tratamientos en las cinco evaluaciones, DDI: Días después de inoculación .....	33
<b>Tabla 5:</b> Resultados promedio del efecto antifúngico (E.A) en el crecimiento micelial de <i>Botrytis cinerea</i> de cada tratamiento a los seis días después de la inoculación (6 DDI), con la comparación de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ .....	35
<b>Tabla 6:</b> Promedio del porcentaje de incidencia de <i>B. cinerea</i> en el follaje de los bloques de todos los tratamientos en las semanas de evaluación, SDT: Semanas después del trasplante.....	37
<b>Tabla 7:</b> Promedio del porcentaje de severidad de <i>B. cinerea</i> en el follaje de los bloques de todos los tratamientos en las semanas de evaluación, SDT: Semanas después del trasplante.....	38
<b>Tabla 8:</b> Resultados promedio del porcentaje de severidad de <i>Botrytis cinerea</i> en el follaje de cada tratamiento a las 21 semanas después del trasplante (21 SDT), con la comparación de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ .....	39
<b>Tabla 9:</b> Resultados promedio de los valores de ABCPE de <i>Botrytis cinerea</i> en el follaje de cada tratamiento desde las 17 SDT a las 21 SDT, con la comparación de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ .....	41
<b>Tabla 10:</b> Promedio del porcentaje de incidencia de <i>B. cinerea</i> en flores de los bloques de todos los tratamientos en las semanas de evaluación, SDT: Semanas después del trasplante.....	49
<b>Tabla 11:</b> Resultados promedio del porcentaje de incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en flores de cada tratamiento a las 18 semanas después del trasplante (18 SDT), con la comparación de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ .....	50
<b>Tabla 12:</b> Promedio del porcentaje de incidencia de <i>B. cinerea</i> en frutos de los bloques de todos los tratamientos en las semanas de evaluación, SDT: Semanas después del trasplante.....	51
<b>Tabla 13:</b> Promedio del peso de frutos de las siete cosechas (t/ha) de los bloques de todos los tratamientos.....	57
<b>Tabla 14:</b> Rendimiento promedio de los bloques de todos los tratamientos, con la comparación de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ .....	57

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Ciclo biológico general y desarrollo del proceso infectivo de <i>Botrytis</i> spp. ....	10
<b>Figura 2:</b> Mancha V en hoja (a), pudrición en tallo (b) y frutos (c) por el moho gris. ....	11
<b>Figura 3:</b> Marcado de la placa Petri para facilitar la medida del diámetro de crecimiento micelial de <i>Botrytis cinerea</i> en laboratorio. ....	21
<b>Figura 4:</b> Distribución de los tratamientos de control de <i>B. cinerea</i> en el campo de tomate en cuatro bloques siguiendo el diseño en bloque completamente al azar (DBCA).....	23
<b>Figura 5:</b> Campo con camellones de 1.5 m de ancho y 40 m de largo.....	24
<b>Figura 6:</b> Plántulas de tomate utilizadas en el trasplante (a), labor de trasplante (b) y ubicación de la plántula en lomo del surco (c). ....	24
<b>Figura 7:</b> Cambio de surco 2 semanas después del trasplante (a) y cultivada 5 semanas después de trasplante (b).....	25
<b>Figura 8:</b> Abonado con 20 t/ha de compost (a) y fertilización (20-20-20) (b) del tomate al fondo del surco. ....	25
<b>Figura 9:</b> Riego por gravedad de acuerdo a las necesidades hídricas del cultivo. ....	26
<b>Figura 10:</b> Preparación de la solución de los fertilizantes foliares y los fungicidas (a), y aplicación según los tratamientos de control del moho gris en el tomate (b).....	26
<b>Figura 11:</b> Trampas amarillas para el control de la mosca minadora (a), aplicación del insecticida biológico Envivo (i.a. virus de la poliedrosis múltiple) para el control de <i>Tuta absoluta</i> (b), desmalezado por el contorno de la planta de tomate (c), azufrado de los brotes para el control de <i>Prodiplosis</i> sp. (d), eliminación de partes de la planta infectados por hongos (e) y preparación de trampas de melazas para el control de la mosca de la fruta del tomate (f).....	27
<b>Figura 12:</b> Labor de cosecha (a, b) y jabas con tomate (c).....	28
<b>Figura 13:</b> Daño típico del moho gris en hojas conocido como mancha V. ....	29
<b>Figura 14:</b> Incidencia en flores de tomate para la evaluación de <i>B. cinerea</i> flor sana (a) y flor con síntomas de <i>B. cinerea</i> (b).....	30
<b>Figura 15:</b> Incidencia en frutos de tomate para la evaluación de <i>B. cinerea</i> . frutos totalmente sanos (a) y frutos con ligero a severo daño sin valor comercial (b). ....	31
<b>Figura 16:</b> Comportamiento temporal del diámetro de crecimiento micelial (mm), durante los seis días después de la inoculación de un disco de micelio de <i>Botrytis cinerea</i> de 5 mm de diámetro. ....	34
<b>Figura 17:</b> Placas con el crecimiento del diámetro micelial de <i>Botrytis cinerea</i> (mm) a seis días de inoculación (6 DDI) del medio envenenado en los 5 tratamientos. ....	36

<b>Figura 18:</b> Fluctuaciones de precipitación (mm), temperatura (°C) y H.R. (%) en el periodo de campo del experimento. ....	38
<b>Figura 19:</b> Porcentaje de severidad de <i>Botrytis cinerea</i> en follaje de cada tratamiento a las 21 semanas después del trasplante (21 SDT), con la comparación de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ en el porcentaje de severidad. ....	40
<b>Figura 20:</b> Valores de ABCPE de <i>Botrytis cinerea</i> en el follaje de cada tratamiento desde las 17 SDT a las 21 SDT, con la comparación de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ en el valor de ABCPE. ....	42
<b>Figura 21:</b> Comportamiento temporal del porcentaje de severidad de <i>B.cinerea</i> en el follaje de Zy-1S, Fx-1S, Zy-2S y Fx-2S desde las 17 SDT a las 21 SDT, SDT: Semanas después del trasplante.....	43
<b>Figura 22:</b> Comportamiento temporal del porcentaje de severidad de <i>B.cinerea</i> en el follaje de TC2-Penthiopyrad desde las 17 SDT a las 21 SDT, SDT: Semanas después del trasplante.....	47
<b>Figura 23:</b> Comportamiento temporal del porcentaje de severidad de <i>B. cinerea</i> en el follaje de TC1-Azoxystrobin y Flutriafol desde las 17 SDT a las 21 SDT, SDT: Semanas después del trasplante.....	48
<b>Figura 24:</b> Porcentaje de incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en flores de cada tratamiento a las 18 semanas después del trasplante (18 DDT), con la comparación de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ en el porcentaje de incidencia. ....	50
<b>Figura 25:</b> Comportamiento temporal del porcentaje de incidencia de <i>B.cinerea</i> en flores de Zy-1S, Fx-1S, Zy-2S y Fx-2S desde la 13 SDT a las 18 SDT, SDT: Semanas después del trasplante.....	53
<b>Figura 26:</b> Comportamiento temporal del porcentaje de incidencia de <i>B.cinerea</i> en flores de TC1 y TC2 desde las 13 SDT a las 18 SDT, SDT: Semanas después del trasplante. ....	55
<b>Figura 27:</b> Promedio del porcentaje de frutos de cada tratamiento clasificado en: a) Primera: Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso mayor de 100 g, b) Segunda: Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso entre 50-100 g, c) Tercera: Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso menor a 50 g y d) No comercial: Fruto con daño físico, de plaga o enfermedad (Gonzales, 2016). ....	56
<b>Figura 28:</b> Rendimiento (t/ha) todos los tratamientos, con la comparación de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ .....	58
<b>Figura 29:</b> Porcentaje promedio de fitotoxicidad de cada tratamiento evaluada una semana después de acabar con las siete aplicaciones. Se utilizó la escala de Alzate <i>et al.</i> (2009) de 0 a 5: a) Escala 0: Planta iguales al testigo absoluto; b) Escala 1: Leve clorosis y presencia de pecas; c) Escala 2: Clorosis acentuada y ligera reducción distinguible en el crecimiento o presencia de pocas manchas; d)Escala 3: Inhibición del crecimiento, clorosis marcada y anormalidades morfológicas; e) Escala 4: Planta muy afectada sin posibilidad de recuperación, pero hay aún presencia de tejido verde y f) Escala 5: Necrosis y muerte de planta... ..	59

**Figura 30:** Hojas con fitotoxicidad escala 1 (leve clorosis y presencia de pecas), encontrados en el experimento..... 60

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1:</b> Labores de campo realizadas en el ensayo, en el periodo mayo-2020 a noviembre-2020.....	72
<b>Anexo 2:</b> Fuentes de variabilidad y grados de libertad del diseño experimental en laboratorio.....	73
<b>Anexo 3:</b> Diámetro del crecimiento micelial de <i>Botrytis cinerea</i> (mm) en las 5 evaluaciones de todos los tratamientos, DDI: Días después de inoculación.....	74
<b>Anexo 4:</b> Análisis de variancia del crecimiento micelial en mm de <i>Botrytis cinerea</i> a los 6 días después de inoculación (6 DDI) del medio envenenado realizado en el programa estadístico R-Studio.....	74
<b>Anexo 5:</b> Prueba de comparación de Tukey a un $\alpha = 0.05$ del crecimiento micelial (mm) de <i>Botrytis cinerea</i> a los 6 días después de inoculación (6 DDI) del medio envenenado realizado en el programa estadístico R-Studio.....	75
<b>Anexo 6:</b> Fuentes de variabilidad y grados de libertad del diseño experimental en campo.....	75
<b>Anexo 7:</b> Porcentaje de incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en follaje de todos los tratamientos, SDT: Semanas después del trasplante.....	75
<b>Anexo 8:</b> Porcentaje de severidad de <i>Botrytis cinerea</i> en follaje de todos los tratamientos, SDT: Semanas después del trasplante.....	76
<b>Anexo 9:</b> Análisis de variancia del porcentaje de severidad de <i>Botrytis cinerea</i> en follaje a 21 semanas después del trasplante (21 SDT) realizado en el programa estadístico R-Studio.....	77
<b>Anexo 10:</b> Prueba de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ del porcentaje de severidad de <i>Botrytis cinerea</i> en follaje a 21 semanas después del trasplante (21 SDT) realizado en el programa estadístico R-Studio.....	77
<b>Anexo 11:</b> Resultados de los valores de ABCPE de <i>Botrytis cinerea</i> en el follaje de cada tratamiento desde la 17 SDT a 21 SDT.....	78
<b>Anexo 12:</b> Análisis de variancia de los valores de ABCPE de <i>Botrytis cinerea</i> en el follaje de cada tratamiento desde la 17 SDT a 21 SDT realizado en el programa estadístico R-Studio.....	79
<b>Anexo 13:</b> Prueba de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ de los valores de ABCPE de <i>Botrytis cinerea</i> en el follaje de cada tratamiento desde la 17 SDT a 21 SDT realizado en el programa estadístico R-Studio.....	79
<b>Anexo 14:</b> Porcentaje de incidencia de <i>B. cinerea</i> en flores de los bloques de todos los tratamientos en las semanas de evaluación, SDT: Semanas después del trasplante.....	80

<b>Anexo 15:</b> Análisis de variancia del porcentaje de incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en flores a 18 semanas después del trasplante (18 SDT) realizado en el programa estadístico R-Studio.....	81
<b>Anexo 16:</b> Prueba de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ del porcentaje de incidencia de <i>Botrytis cinerea</i> en flores a 18 semanas después del trasplante (18 SDT) realizado en el programa estadístico R-Studio.....	81
<b>Anexo 17:</b> Porcentaje de incidencia de <i>B. cinerea</i> en frutos de los bloques de todos los tratamientos en las semanas de evaluación, SDT: Semanas después del trasplante.....	82
<b>Anexo 18:</b> Peso de frutos (t/ha) de todos los bloques de cada tratamiento.....	82
<b>Anexo 19:</b> Análisis de variancia del rendimiento de cada tratamiento realizado en el programa estadístico R-Studio. ....	83
<b>Anexo 20:</b> Prueba de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ del rendimiento de cada tratamiento realizado en el programa estadístico R-Studio. ....	84
<b>Anexo 21:</b> Porcentaje de frutos de cada tratamiento clasificado en: a) Primera (1°): Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso mayor de 100 g, b) Segunda (2°): Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso entre 50-100 g, c) Tercera (3°): Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso menor a 50 g y d) No comercial (N.C): Fruto con daño físico, de plaga o enfermedad (Gonzales, 2016); de los frutos de la segunda, tercera, cuarta, quinta y sexta cosecha.....	85

## RESUMEN

*Botrytis cinerea* es el fitopatógeno responsable de una amplia gama de síntomas en cultivos de gran importancia como el tomate. Su control tradicionalmente se basa en la aplicación de fungicidas químicos; sin embargo, su uso excesivo conduce al desarrollo de cepas resistentes, contaminación ambiental y efectos perjudiciales para la salud humana. Para reducir el uso intensivo de pesticidas actualmente se busca evaluar el efecto de nutrientes y sustancias orgánicas en el aumento de la defensa de la planta contra los fitopatógenos. Por ello, el objetivo del estudio fue evaluar el efecto de dos fertilizantes foliares que contienen cobre, zinc y ácido cítrico en el control del moho gris *Botrytis cinerea* en tomate cv. Huascarán. En la fase de laboratorio se evaluó el efecto de los fertilizantes foliares en la inhibición del crecimiento micelial a los 6DDI (días después de inoculación) con el método del medio envenenado en medio de cultivo PDA; y en campo se aplicaron los fertilizantes foliares por ocho semanas variando la frecuencia de aplicación en semanal y cada dos semanas. Los resultados mostraron que a nivel de laboratorio los fertilizantes foliares presentaron una alta eficacia en el control de *B.cinerea*; y en campo la mayoría de las aplicaciones tuvieron un control significativo de *B. cinerea* en el follaje pero no en flores ni en frutos. Estos resultados son importantes para desarrollar estrategias dirigidas a mejorar el control de la enfermedad y disminuir el uso masivo de fungicidas químicos

**Palabras claves:** *Botrytis cinerea*, actividad antifúngica, cobre, zinc, ácido cítrico

## ABSTRACT

*Botrytis cinerea* is the phytopathogen responsible for a wide range of symptom in crops of great importance such as tomato. Its control is traditionally based in the application of chemical fungicides; however, their excessive use leads to development of resistant strains, environmental pollution and harmful effects on human health. To reduce the intensive use of pesticides, it is currently sought to evaluate the effects of nutrients and organic substances in increasing the plant's defense against phytopathogens. Thus, the aim of the study was to evaluate the effects of two foliar fertilizers contain copper, zinc and citric acid in the control of gray mold *Botrytis cinerea* in "Huascarán" tomato. In the laboratory phase evaluated the effects of the foliar fertilizers on the inhibition of mycelial growth at 6DAI (days after inoculation) with poisoned PDA medium; and in the field phase, the foliar fertilizers were sprayed by eight weeks varying the frequency application in weekly and each two weeks. The results showed that in laboratory condition the foliar fertilizers exhibited a high efficiency in the control of *B. cinerea*, and in field the most of the foliar applications had a significant control of *B. cinenea* on foliage but no on flowers and fruits. These results are important to develop strategies leads to improve the disease control and decreasing the massive use of chemical fungicide.

**Keywords:** *Botrytis cinerea*, foliar fertilizers, copper, zinc, citric acid

## I. INTRODUCCIÓN

El tomate es una de las hortalizas de mayor consumo fresco e industrial en el mundo (Pérez, 2014). En el Perú su cultivo se dificulta por su susceptibilidad a muchas enfermedades, siendo la principal el moho gris (*Botrytis cinerea*) infectando hojas, tallo, flor y fruto (Tejada, 2014).

Este hongo se encuentra disperso a lo largo de nuestro país en cultivos como la fresa, vid, arándano, etc. Generando una pérdida económica importante al agricultor; por los daños no solo a nivel de campo sino también en postcosecha (Llanos, 2017). Es difícil de controlar porque es capaz de atacar cultivos en cualquier etapa de desarrollo, infecta cualquier órgano vegetal y tiene etapas asexuales y sexuales para sobrevivir en condiciones favorables o desfavorables (Espinosa, 2006).

Aunque hay varios tipos de estrategias de control que juegan un papel importante mitigando el desarrollo de este patógeno, tradicionalmente la práctica más utilizada ha sido el uso de fungicidas químicos (Dean *et al.*, 2012). Sin embargo, el uso excesivo de estos conduce al desarrollo de cepas resistentes, contaminación ambiental e incluso problemas de salud en los seres humanos lo que lleva a una producción de alto costo en la agricultura (Molina *et al.*, 2006).

En este contexto, se exigen enfoques innovadores como la optimización de la nutrición vegetal para superar los problemas causados por el uso intensivo de plaguicidas; además, mejorar la salud y el rendimiento de los cultivos. Se sabe que los nutrientes como el cobre y zinc están involucrados en la protección de plantas como la primera línea de defensa. Estos elementos esenciales afectan directamente la salud de las plantas activando enzimas que producen metabolitos de defensa (callos, lignina, fenoles) (Chmielowska *et al.*, 2010; Cabot *et al.*, 2019). Complementando a esto también se obtuvieron resultados positivos con el uso de antioxidantes (Elkorany & Mohamed, 2008).

Con ello como base, y con el fin de contribuir al manejo de la enfermedad en el país. El presente estudio busca evaluar el efecto de dos fertilizantes foliares que contienen cobre, zinc y ácido cítrico en el control del moho gris en tomate. Esperando que los resultados obtenidos contribuyan a desarrollar estrategias dirigidas a mejorar el control de la enfermedad y disminuir el uso masivo de fungicidas químicos en nuestro país. Finalmente, beneficiar a los agricultores al buscar alternativas de control efectivas contra el moho gris en el tomate no perjudiciales para su salud.

### **Objetivo principal**

1. Determinar el efecto de dos fertilizantes foliares que contienen cobre, zinc y ácido cítrico en el control del moho gris *Botrytis cinerea* en tomate cv. Huascarán.

### **Objetivos específicos**

1. Determinar el efecto antifúngico en el diámetro del crecimiento micelial (mm) de *Botrytis cinerea* de los fertilizantes foliares, bajo condiciones de laboratorio.
2. Determinar el control del moho gris en tomate por la aplicación directa de los fertilizantes foliares, bajo las condiciones agroecológicas de La Molina.
3. Evaluar el efecto de los fertilizantes en el desarrollo de la planta de tomate, bajo las condiciones agroecológicas de La Molina.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 El tomate**

#### **2.1.1 Generalidades**

Las formas botánicas del tomate de donde descienden los cultivares modernos son originarios de la región andina. Desde ahí fueron llevados a los sitios de domesticación ubicados en América Central, específicamente México (Escalona *et al.*, 2009; Rincón, 2003). Desde México fue llevado primero a España por los conquistadores, luego se difundió por toda Europa llegando finalmente al Oriente Medio, África y Asia por los españoles y portugueses (Escalona *et al.*, 2009).

Es una de las hortalizas más cultivadas en el mundo; su demanda va en aumento por su consumo fresco e industrial, manteniendo un crecimiento continuo de 2,5 % en los últimos 15 años (Pérez, 2014). Según una de las estadísticas de la FAO realizadas en el 2017, se sembraron 5.88 millones de hectáreas en el mundo con una producción de 241.49 millones de toneladas. En el Perú hasta el 2017, se sembró 5579 hectáreas con una producción de 219.9 mil toneladas (Cohen, 2019; MINAGRI, 2017).

#### **2.1.2 Taxonomía**

Según estudios filogenéticos, morfológicos y distribución de las plantas, se ha aceptado al tomate en el género *Solanum* tanto por taxónomos como por productores (Singh *et al.*, 2016).

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Tribu: Solaneae

Género: *Solanum*

Especie: *Solanum lycopersicum* L.

Nombre común: Tomate

FUENTE: ITIS, 2020

### 2.1.3 Descripción botánica

Es una planta dicotiledónea de porte arbustivo que puede ser perenne o anual, con dos hábitos de crecimiento (López, 2017). Los cultivares con crecimiento indeterminado presentan en la punta del tallo un ápice vegetal y en el ápice de las ramas se mantiene la dominancia de una yema vegetativa; resultando en plantas con crecimiento extenso, desordenado y sin límites. Y por otro lado los cultivares con crecimiento determinado termina el ápice del tallo en una inflorescencia y el ápice de las ramas emite eventualmente una inflorescencia terminal; resultando en plantas con crecimiento ordenado y limitado (Escalona *et al.*, 2009; Guillermo, 2007).

El sistema radicular del tomate es fibroso, robusto y pivotante con muchas raíces secundarias pudiendo alcanzar una profundidad de hasta 2 m. (Baudoin, 2017; Escalona *et al.*, 2009). El tallo principal es bastante sólido y ancho pudiendo alcanzar una altura de 0.40 a 2 m (Guillermo, 2007). De este se desarrollan hojas, tallos secundarios y racimos florales; y en la punta se encuentra el meristemo apical (Escalona *et al.*, 2009; López, 2017).

Las hojas son dentadas y frecuentemente rizadas de forma pinnada compuesta (Guillermo, 2007). Presenta de siete a nueve folíolos peciolados con bordes dentados, recubiertos por pelos glandulares; son de color verde por el haz y ceniciento por el envés. Las hojas se posicionan en el tallo de forma semierecta, horizontal o inclinada con disposición alternada (Baudoin, 2017; López, 2017).

La flor es perfecta y regular con el igual número de sépalos, pétalos y estambres pudiendo ser cinco más. Los estambres envuelven al ovario formando un cono estaminal, para evitar la polinización cruzada (Baudoin, 2017; López, 2017). Las flores se agrupan en inflorescencias de tipo racemosa compuesta, usualmente de dos a 12 flores; pero en algunos cultivares con frutas pequeñas pueden producir de 30 a más flores (Guillermo, 2007; Rincón, 2003).

El fruto es una baya carnosas dividida en su interior en dos a 18 lóculos, constituido por pericarpio, tejido placentario y semillas; su forma varía de esférica, ovalada, piriforme y casi cuadrada (Guillermo, 2007; López, 2017). Posee carbohidratos, potasio, fósforo, magnesio, vitaminas B1, B2, B5 y C; también, carotenoides siendo el principal licopeno (83%) (Palomo *et al.*, 2010). Esta gran cantidad de licopeno hace al fruto de tomate uno de los alimentos con gran poder antioxidante; previniendo enfermedades cancerígenas y cardíacas. Además, su rico contenido en cobre ayuda a la formación de glóbulos rojos (Pérez, 2014).

#### **2.1.4 Requerimientos edafoclimáticos**

##### **a. Temperatura**

El tomate es una especie rústica que se produce en una amplia gama de condiciones de clima; aunque, se desarrolla mejor en climas secos con temperaturas moderadas (Escalona *et al.*, 2009). En Perú, el cultivo se adapta a temperaturas entre los 10 y 26 °C. Temperaturas bajo de 10 °C afectan el desarrollo de la planta y la formación de flores, y en temperaturas mayores de 30 °C hay aborto de flores por problemas en la maduración de polen y se deteriora el fruto con rapidez (SENASA, 2020; INIA, 2018).

##### **b. Humedad relativa**

La humedad relativa del óptimo desarrollo del tomate se ubica entre 60% y 80%, favoreciendo así el desarrollo normal de la polinización y una buena producción. El exceso o déficit de humedad relativa producen desórdenes fisiológicos y la proliferación de enfermedades. Humedad relativa muy alta dificulta la fecundación, debido a que el polen se humedece, reduciendo la viabilidad del polen y baja su fijación al estigma (Escalona *et al.*, 2009; López, 2017).

### **c. Luminosidad**

Además de favorecer el crecimiento vegetativo de las plantas; la luminosidad también cumple un rol importante en el desarrollo reproductivo. El tomate requiere al menos 6 horas diarias de luz directa del sol para la formación de flores. Valores reducidos inciden negativamente en la fecundación; e intensidades de radiación excesiva también es perjudicial al provocar golpes de sol y coloración irregular en frutos (INIA, 2018; López, 2017).

### **d. Suelo**

El tomate no es exigente en calidad de suelo, puede desarrollarse en suelos arenosos y suelos pesados. Siendo su desarrollo óptimo en suelos con características medias, buen drenaje y profundidad mínima de 40 cm para el desarrollo radicular (Escalona *et al.*, 2009).

El tomate tolera suelos ácidos y ligeramente alcalinos, con un óptimo que oscila entre 5 a 6,5 de pH. Es moderadamente tolerante a la salinidad soportando valores máximos de C.E. 10 ds/m (Rincón, 2003).

### **2.1.5 Principales plagas y enfermedades**

Las plagas y enfermedades aparecen en todo el ciclo de vida del tomate, reduciendo drásticamente la producción. Para el adecuado control de estas plagas se debe tener en cuenta las siguientes técnicas: 1) Manejo preventivo a través del empleo de variedades resistentes a insectos y plagas, 2) Eliminar las principales fuentes de inóculo como son las partes infectadas de planta y malezas, 3) Detección temprana para determinar el nivel de plaga o enfermedad; y con ello, emplear un control químico o biológico adecuado y 4) Finalmente, alternar el cultivo de tomate con otras especies de familia botánica (FAO, 2013).

De acuerdo a SENASA (2020), las principales plagas que atacan el cultivo de tomate en Perú son:

-Polilla del tomate (*Tuta absoluta*): El insecto causa daño al cultivar al pegar hojas, dañar brotes y barrenar tallos tiernos.

-Mosca blanca (*Bemisia tabaci*): Los adultos y larvas succionan la savia de la planta, además, la plaga excreta mielecilla que favorece la aparición del hongo fumagina.

-Mosca minadora (*Lyriomyza huidobrensis*): Las larvas forman galerías en la parte interna de hojas jóvenes, reduciendo la capacidad fotosintética de la planta y perjudicando el rendimiento.

-Pulgones (*Myzuz persicae*): El insecto deforma hojas jóvenes arrugándolas y enrollándolas hacia abajo; además, excretan mielecilla que favorece la aparición del hongo fumagina.

-Gusano comedor de hojas (*Spodoptera eridania*): El insecto daña las hojas y perfora también los frutos.

De acuerdo a SENASA (2020), las principales enfermedades que atacan el cultivo de tomate en Perú son:

-Oidio (*Leveillula taurica*, anamorfo: *Oidiopsis taurica*): El hongo se observa en el envés hojas como un polvo blanco, a daños severos se extiende por toda la planta reduciendo el área fotosintética.

-Moho gris (*Botrytis cinerea*): El hongo produce lesiones en hojas, flores y podredumbre en frutos.

-Tizón temprano (*Alternaria solani*): Provoca lesiones color café con anillos concéntricos en toda la hoja. Cuando la enfermedad se extiende por la planta causa daños similares a los demás órganos de la planta

-Tizón tardío (*Phytophthora infestans*): La enfermedad ataca la parte aérea de la planta; en hojas se manifiesta como manchas irregulares húmedas, en tallos y frutos inmaduros aparecen manchas pardas.

## **2.2 El moho gris (*Botrytis cinerea*)**

### **2.2.1 Generalidades**

*Botrytis cinerea* es el patógeno responsable de una amplia gama de síntomas que varían dependiendo de los órganos y tejidos de las plantas. Este patógeno causa una pudrición suave en las frutas y hojas, lesiones marrones en frutas sin desarrollar, necrosis en los brotes, entre otros (Williamson *et al.*, 2007). En el país, el moho gris fue reportado por primera vez en 1942 infectando al cultivo de yuca (Eyzaguirre, 1972). Debido a la considerable incidencia del patógeno y a las repercusiones económicas que tiene en cultivos de importancia tales como vid, fresa, ornamentales, entre otros. Son muy numerosos los estudios sobre los posibles métodos de control, enfocando la mayor parte de las estrategias en el empleo de agentes químicos (Benito *et al.*, 2000).

### 2.2.2 Taxonomía

La mayoría de los taxónomos recomiendan que el nombre científico dado sea del estado sexual o estado teleomorfo denominado *Botryotinia fuckeliana*. Sin embargo, el binomio latino *Botrytis cinerea* es el término ampliamente reconocido; ya que, es la fase asexual o anamorfo más extendido en la naturaleza (Espinosa, 2006). Su posición taxonómica es la siguiente:

Reino: Fungí

Phylum: Ascomycota

Subphylum: Pezizomycotina

Clase: Leotiomycetes

Orden: Helotiales

Familia: Sclerotiniaceae

Género: *Botryotinia*

FUENTE: Williamson *et al.*, 2007.

### 2.2.3 Morfología

#### a. Micelio

El micelio está constituido por un conjunto de hifas o filamentos tabicados cilíndricos, que se multiplican vegetativamente mediante división citoplasmática. Cumple una doble función, primero como estructura de propagación de la enfermedad, causada por la dispersión del micelio en los restos vegetales infectados (tallos y hojas) y como estructura de soporte. A partir del micelio generalmente envejecido se originan diversas estructuras, como son los conidióforos y los esclerotes; cuya finalidad es la propagación y supervivencia ante condiciones adversas (Espinosa, 2006).

#### b. Conidióforos y conidias

Los conidióforos de todas las especies de *Botrytis*, excepto *B. spermophila* y *B. anthophila*, son altos, robustos, de color oscuro e irregular o dicotómicamente ramificados. Se originan principalmente de la masa hifal; aunque también, pueden hacerlo a partir de los esclerotes (Espinosa, 2006). Cerca del vértice de cada conidióforo se produce una serie de ramas cortas,

oscuras y septadas, cada una con una ampolla terminal en donde se desarrollan las conidias (Jarvis, 1977).

Las conidias son hialinas o pigmentadas, de forma elipsoidal, y algunas veces con uno a tres septas. Poseen un número variable y elevado de núcleos, oscilando entre los cinco y once (Espinosa, 2006).

### **c. Esclerotes**

Todas las especies de *Botrytis* forman esclerotes firmemente adheridos al sustrato y su morfología es de ayuda en la taxonomía. Se forman a partir de las hifas que se ramifican repetidamente y dicotómicamente, y se fusionan para formar la estructura. Al principio los esclerotes son hialinos, pero luego se vuelve marrón o negro debido a la deposición de pigmentos melánicos en la corteza exterior (Brierley, 1920).

### **d. Apotecio**

Los apotecios de *B. cinerea* son raros en el campo, pero son más comunes que en otras especies de *Botrytis*. La mayoría de las cepas son heterotálicas y portan uno u otro alelo del locus del tipo de apareamiento MAT1-1 o MAT1-2 (Faretra *et al.*, 1988).

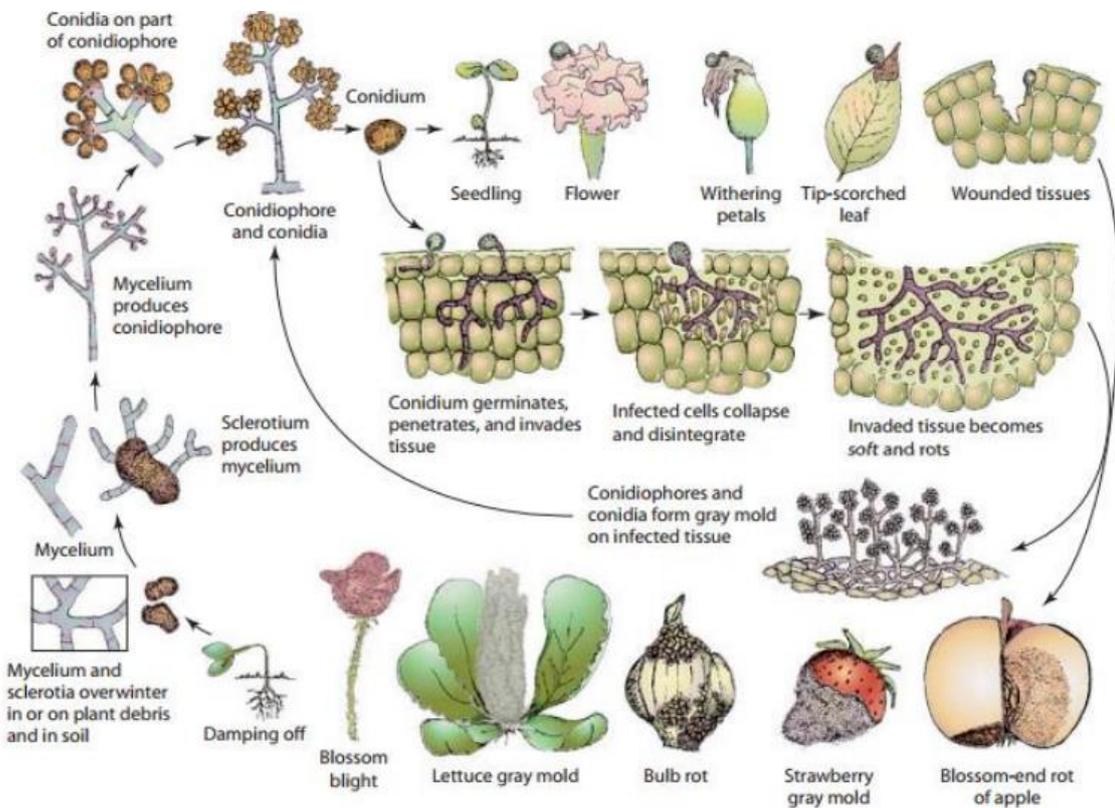
El apotecio es copulado, acechado y generalmente tiene un poco de color marrón (Espinosa, 2006). Las ascas son unitunicadas y largas; en cada punta presenta un tapón de poro apical. Las ascosporas, ocho por ascas, son uniseriadas, hialinas, lisas y de forma asimétrica (Jarvis, 1977).

## **2.2.4 Biología**

*Botrytis cinerea* como miembro del género *Botrytis* actúa como patógeno necrotrófico, infectando los tejidos del huésped e induciendo su necrosis. Además, es capaz de sobrevivir y formar estructuras de resistencia (esclerotes) en el tejido necrótico generado por la infección (Kan, 2006). De esta manera las fuentes de inóculo en el cultivo son múltiples, por su capacidad de infectar y sobrevivir en partes verdes y muertas del propio cultivo y de las malas hierbas adyacentes (Engelbrecht *et al.*, 2004).

### a. Ciclo biológico

El hongo puede existir en diferentes hábitats como micelio, conidias, esclerotes, apotecios y ascosporas, dispersándose por diferentes medios (Smith *et al.*, 1980).



**Figura 1: Ciclo biológico general y desarrollo del proceso infeccioso de *Botrytis* spp.**

FUENTE: Agrios, 2005

Los esclerotes se desarrollan dentro de los tejidos del huésped moribundo y representan un importante mecanismo de supervivencia en *B. cinerea*. La corteza melanizada y los  $\beta$ -glucanos protegen los esclerotes de la desecación, la radiación UV y el ataque microbiano durante largos períodos de tiempo (Backhouse & Willets, 1987). Los esclerotes producen conidióforos y conidias multinucleadas que sirven como fuente principal de inóculo en el campo (Williamson *et al.*, 2007).

Las conidias siguen un ciclo diurno bien definido de inicio, producción y disseminación que está regulado por las fluctuaciones de la temperatura y la humedad. Un rápido descenso de la humedad y con el aumento de la temperatura a primera hora de la mañana; hace que los conidióforos se tuerzan y se sequen para expulsar las conidias a las corrientes de aire (Jarvis, 1962), ya sea individualmente o en grupos pequeños (Harrison & Lowe, 1987).

Las conidias pueden moverse en las corrientes de aire de los cultivos vecinos; aunque, la mayoría de las conidias probablemente se generan a partir de fuentes primarias dentro del cultivo. El papel de los insectos vectores para *B. cinerea* ha sido reconocido sólo en los últimos 20 años. En la uva hay varios insectos que pueden dispersar conidias viables, ya sea en sus apéndices externos o incluso dentro del intestino, para depositar el inóculo en la superficie de las frutas (Williamson *et al.*, 2007). Una vez que las conidias llegan a la superficie susceptible del huésped, comienza la formación del tubo germinativo tras uno a tres horas en presencia de agua (Fourie & Holz, 1994).

El apresorio provoca una penetración directa a través de la epidermis del tejido, aunque no siempre ocurre y depende del grosor de la epidermis, característico de cada variedad. La penetración puede ocurrir también a través de tejidos completamente sanos y aberturas naturales como estomas o heridas. Otra vía es la entrada a través de órganos especializados de la planta, como glándulas secretoras y órganos florales (pistilo, estambres, unión entre sépalos), que suelen ser el origen de las infecciones latentes. Estas infecciones son especialmente importantes como fuente de inóculo secundario, que puede dar lugar a infecciones en el periodo precosecha a medida que la madurez de los frutos avanza y las defensas de la planta disminuyen o en el periodo postcosecha, provocando cuantiosas pérdidas dada la imposibilidad de ser detectadas (Calvo, 2013).

## **b. Síntomas en tomate**

El moho gris en tomate se manifiesta en peciolo, tallos, hojas y frutos de la planta; y en todo el periodo de cultivo. En las hojas ocasiona lesiones necróticas rodeadas de un halo negrozco; en el tallo aparecen lesiones acuosas, cancrosas y necróticas de color café, pudiendo estrangular el tallo parcial o totalmente. En las flores aparecen necrosis y en los frutos lesiones esféricas amarillas (INIA, 2018).



**Figura 2: Mancha V en hoja (a), pudrición en tallo (b) y frutos (c) por el moho gris.**

FUENTE: INIA, 2018.

### **2.2.5 Estrategias de control**

Debido a las gigantescas pérdidas económicas causadas por *B. cinerea*, se han llevado a cabo considerables estrategias para controlar el daño causado en el cultivo.

#### **a. Control químico**

El método de control más común es la aplicación de fungicidas químicos (Leroux, 2007). Sin embargo, existen dos problemas principales en la aplicación de fungicidas.

Por un lado, *B. cinerea* tiende a cambiar constantemente durante generaciones, ya que tiene conidias multinucleados. Las cepas resistentes a diferentes categorías de fungicidas son frecuentemente descubiertas. Por ejemplo, se observó que *B. cinerea* desarrollaba aislamientos resistentes cuando se usaron por primera vez fungicidas de benzimidazol (Bollen & Scholten, 1971). Las cepas resistentes a las dicarboximidas también se informaron poco después (Katan, 1982).

Por otro lado, la aplicación de fungicidas sintéticos es costosa; ya que, el control de *B. cinerea* generalmente requiere tasas de dosis más altas que otros patógenos fúngicos. Además, los fungicidas químicos son perjudiciales para el medio ambiente y los seres humanos, especialmente por sus residuos tóxicos (Molina *et al.*, 2006)

#### **Control cultural**

Son las prácticas de cultivo que van encaminadas a reducir los niveles de inóculo y crear condiciones ambientales que sean lo menos favorables a la infección. Hoy en día, las prácticas seguidas son la desinfección de semillas, la eliminación de restos de cultivos infectados, la rotación de cultivo, control de los niveles de fertilización, el control del riego en invernaderos, entre otros (Espinosa, 2006).

#### **b. Control biológico**

Este consiste en el uso de microorganismos que suelen colonizar las heridas de los tejidos vegetales utilizando todos los nutrientes disponibles, lo que dificulta la germinación de las esporas de otros organismos patógenos. Entre estos agentes de biocontrol destacan bacterias, nematodos y levaduras, así como diversos hongos o plantas (Espinosa, 2006).

A pesar de los numerosos resultados positivos, la aplicación de agentes biológicos no es todavía una estrategia para controlar el moho gris. Sólo en combinación con otros métodos se ha conseguido un control de la infección en un amplio rango de cultivos (Espinosa, 2006)

### **2.2.6 Variabilidad genética**

Dentro del género *Botrytis*, la especie *B. cinerea* se caracteriza por su gran variabilidad genética. Los primeros datos sobre taxonomía y variabilidad, proponen para esta especie dos tipos de variabilidad. Dependiendo de si el mecanismo a través del cual se genera es asexual o sexual (Lorbeer,1980).

#### **a. Variabilidad asexual**

La variabilidad asexual se debe a las hifas del hongo y que dan lugar a células multinucleadas y generalmente heterocarióticas. Los núcleos de una cepa podrían migrar al interior de las células de otra por anastomosis de hifas vecinas, produciendo un micelio heterocariótico (Hansen & Smith,1932).

#### **b. Reproducción sexual**

En la naturaleza, es muy poco frecuente encontrar apotecios de *B. cinerea*. Tras los numerosos cruzamientos realizados, se determinó que las cepas eran heterotálicas y esta compatibilidad está controlada por un gen con dos alelos MAT1-1 y MAT1-2 (Faretra *et al.*,1988).

### **2.3 Efecto de cobre, zinc y ácido cítrico en la protección vegetal**

En el intento de reducir los impactos negativos de los pesticidas químicos en el medio ambiente y la salud del consumidor. La optimización de la nutrición vegetal se desarrolló como un enfoque sostenible para mejorar la salud y rendimiento de los cultivos (Cabot *et al.*, 2019). En este campo se han desarrollado investigaciones que buscan evaluar el efecto de nutrientes y sustancias orgánicas que aumentan la defensa de la planta contra los fitopatógenos, para así minimizar la cantidad de pesticidas necesarios durante el control de la enfermedad.

### 2.3.1 Cobre en la protección vegetal

El cobre es un oligoelemento esencial para la vida. Participa en muchos procesos fisiológicos como la producción de energía, síntesis de fosfolípidos, hemoglobina, transporte y producción de ácido ribonucleico, cofactor de varias enzimas involucradas en la respiración, proteínas de transporte de electrones, entre otros (Lamichhane *et al.*, 2018; La torre *et al.*, 2018).

En la planta, es un micronutriente esencial; encontrándose en los tejidos de muchas especies concentraciones de 1 a 50  $\mu\text{g g}^{-1}$  de peso seco. La mayor parte se encuentra en los cloroplastos representando el 70 % del Cu total de la planta. Cumple un papel importante para la síntesis de clorofila y pigmentos vegetales; también, para el metabolismo de proteínas y carbohidratos (La torre *et al.*, 2018; Rai *et al.*, 2018).

Los compuestos antimicrobianos a base de cobre (CBAC) son productos alternativos para reducir el uso de fungicidas prohibidos por sus efectos negativos en la salud humana y la biodiversidad. En el manejo integrado de plagas se combina con cultivares resistentes, métodos de control culturales, físicos e incluso biológicos (Lamichhane *et al.*, 2018).

El cobre se utilizó en varias formulaciones para el control de patógenos desde la antigüedad. (Rai *et al.*, 2018). Es un componente común en muchos fungicidas y bactericidas en todo el mundo por tener efectos biocidas directos sobre los microorganismos (Chmielowska *et al.*, 2010; La torre *et al.*, 2018). Su efecto se demostró en ensayos *in vitro*, donde las nanopartículas cobre (CuNPs) causaron daños en las hifas y conidias fúngicas contra dos hongos patógenos de plantas *Alternaria alternata* y *Botrytis cinerea* (Ouda, 2014).

Entre las ventajas importantes del uso del cobre en la agricultura para el control de enfermedades. Está su alta toxicidad para los patógenos de planta, bajo costo, baja toxicidad para los mamíferos y su estabilidad química para evitar un lavado fácil de la superficie de las hojas y resistir periodos prolongados de lluvia (Chmielowska *et al.*, 2010, Lamichhane *et al.*, 2018).

Desempeña un papel esencial en la resistencia de enfermedades por regular muchas funciones fisiológicas. Participa en la fotosíntesis, respiración, metabolismo de la pared celular y percepción hormonal. Además, el estrés causado por el cobre induce la producción de peroxidasas que proveen resistencia a los patógenos al crear un ambiente altamente tóxico por la acumulación de una cantidad masiva de superóxidos (Chmielowska *et al.*, 2010; Rai

*et al.*, 2018). El cobre en planta, están involucrados en la acumulación de lignina y la suberina, que fortalece la pared celular y forma una barrera mecánica contra los agentes patógenos (Chmielowska *et al.*, 2010).

Las aplicaciones regulares de fertilizantes, fungicidas y bactericidas que contienen cobre al suelo y las hojas, causan fitotoxicidad afectando eventualmente en la planta diferentes procesos fisiológicos. El estrés por cobre inhibe la fijación de nitrógeno, provoca una alteración en la membrana y compite en la absorción con otros cationes esenciales. Estas alteraciones conducen en síntomas visibles como son el retraso en el crecimiento, necrosis, epinastia de las hojas, clorosis (Chmielowska *et al.*, 2010; Sonmez *et al.*, 2006). En tomate, la fitotoxicidad de cobre provoca clorosis en las hojas, una disminución del número final de frutos, peso de raíz seco y altura de la planta en las 4ta, 5ta y 6ta semanas (Marins & Mourato, 2016).

### **2.3.2 Zinc en la protección vegetal**

El zinc es un micronutriente esencial para el crecimiento y desarrollo. Juega un rol importante en la síntesis de proteína, almidón, tiene funciones estructurales y es un cofactor en cientos de enzimas. Además, desempeña una función fundamental en la respuesta de las plantas a las plagas y enfermedades. (Cabot *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2018). La deficiencia de Zn en las plantas provoca una gran reducción del rendimiento de los cultivos por la inhibición del crecimiento, la diferenciación y el desarrollo de las plantas (Malandrakis, 2019).

Las formulaciones antimicrobianas de Zn han surgido como componentes de fungicidas para frenar la colonización de fitopatógenos. Por su bajo costo, menor efecto tóxico en el ambiente e inhibidor de amplio espectro de enfermedades (Kalia *et al.*, 2020).

Su potencial antimicótico se comprobó contra diferentes grupos de fitopatógenos, como los ascomicetos (Kalia *et al.*, 2020). Estudios *in vitro* de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NP) inhibieron el crecimiento de *B. cinerea* y *P. expansum*, al afectar funciones celulares, causar deformación de hifas fúngicas e impedir el desarrollo de conidióforos y conidias; llevándolo finalmente a la muerte (He *et al.*, 2011).

Provee una defensa directa a la planta durante la colonización de hongos necrotróficos y posterior destrucción de los compartimientos celulares. Liberando una alta acumulación de

Zn en el espacio extracelular; siendo más tóxico para el patógeno que la planta (Cabot *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2018).

Además del efecto tóxico, las altas concentraciones de zinc en la hoja y el daño por patógenos desencadenan vías de señalización comunes. Como es el ácido salicílico y los jasmonatos (JA) que desempeñan papeles fundamentales en la defensa sistémica de las plantas. Se ha demostrado que la mejora de la tolerancia de la planta al Zn inducida por el JA, aumentó la tolerancia a hongos necrotróficos como *Botrytis cinerea* (Cabot *et al.*, 2019).

A pesar de ser un elemento esencial, su toxicidad en concentraciones altas causa retraso de crecimiento y reducción de rendimiento. Esta reducción es más marcada en el sistema radicular, causando una restricción en la división celular inhibiendo así el alargamiento de la raíz. El exceso de zinc también disminuye la translocación de hierro (Fe), manifestándose en una disminución de los niveles de clorofila (clorosis) (Chmielowska *et al.*, 2010; Rout & Das, 2003).

### **2.3.3 Ácido cítrico en la protección vegetal**

Una variedad de antioxidantes comerciales y naturales tienen el potencial para controlar enfermedades; también, mejorar el rendimiento y calidad de los cultivos. Uno de ellos es el ácido cítrico reportando efectos bactericidas, fúngicas y nematocida (Elkorany & Mohamed, 2008; Morgunov *et al.*, 2017)

Los antioxidantes captan radicales libres, compuestos que deterioran la membrana celular, generados por tejidos infectados por el patógeno o durante la senescencia, para formar compuestos inofensivos que controlan el deterioro del tejido y retrasar el desarrollo de la enfermedad (Elad, 1992; Elkorany & Mohamed, 2008). Además, son capaces de disminuir el ablandamiento de la fruta mediante la expresión antisenescente al gen pectato liasa (Elkorany & Mohamed, 2008).

En la planta, la aplicación de ácido cítrico altera la distribución de los carbohidratos hacia vías que presentan una mayor resistencia a condiciones desfavorables, como el tamaño de bulbos en nardos (*Polianthes tuberosa*) y en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) mayor biomasa de aceite esencial (Talebi *et al.*, 2014). Por otro lado, altas concentraciones pueden causar efecto alelopático, como se demostró en las plántulas de melón tratadas con altas concentraciones de ácido cítrico inhibieron el crecimiento de la radícula e hipocótilo (Zhang *et al.*, 2012).

## **2.4 Fertilizantes foliares**

La fertilización foliar es una técnica de nutrición de plantas que consiste en la aspersión del fertilizante líquido al follaje del cultivo. Su propósito no es reemplazar la fertilización edáfica, debido a que el abastecimiento de los principales nutrientes (nitrógeno, fósforo y potasio) es más económico y efectivo a través de la aplicación al suelo. Sino, es un método altamente eficiente para aplicar nutrientes necesarios o críticos en una etapa específica de la planta, principalmente nutrientes secundarios (calcio, magnesio y azufre) y micronutrientes (zinc, manganeso, hierro, cobre, boro y molibdeno). También es un medio para compensar las deficiencias de nutrientes del suelo o causadas por el medio ambiente (Basavaraj & Chetan, 2018).

### **2.4.1 Mecanismos de absorción**

Hay evidencias que demuestran que la absorción de materiales inorgánicos y orgánicos pueden ocurrir a través de las superficies de las hojas, el proceso es diferente al de las raíces, el nutriente debe pasar a través de la cutícula, pared celular y membrana en ese orden. En la primera etapa las sustancias aplicadas a la superficie de la hoja penetran la cutícula y la pared celular por difusión debido a su acumulación en las hojas creando una gradiente de concentración. Luego, las sustancias que han atravesado se absorben en la superficie de la membrana plasmática mediante una unión; y al final, las sustancias son absorbidas por el citoplasma a través de un proceso que requiere energía derivada metabólicamente. También se ha demostrado la absorción de iones por las estomas de las hojas (Fageria *et al.*, 2009).

### **2.4.2 Removilización de los nutrientes minerales**

La removilización de los nutrientes de los tejidos de la planta depende del tipo de nutriente absorbido y de la especie de planta. La movilidad de los macronutrientes en el tejido vegetal es alta, excepto para el calcio y azufre. Pero la movilidad de la mayoría de los micronutrientes es pobre, por eso normalmente los efectos positivos de la pulverización se limitan solo a los tejidos pulverizados y los síntomas de deficiencia se evidencian en los brotes que crecen luego (Fageria *et al.*, 2009).

### 2.4.3 Fertilizantes foliares usados en los ensayos

#### a. Zynergy

Es un fertilizante foliar constituido de un complejo único de cobre y zinc que corrige las deficiencias y mejora la salud de las plantas y la tolerancia al estrés abiótico (Omex, 2019).

**Composición:** Cobre (Cu) 2.11%, Zinc (Zn) 3.75 %, Sulfuro (SO<sub>3</sub>) 7.40 %, pH (10% de solución) 0.75-1.75.

#### b. Fx-31

Es un fertilizante líquido a base de hidrácidos con alta concentración de zinc (Zn) y cobre (Cu) quelatado con ácido cítrico (Farmex, 2013).

**Composición:** Cobre (Cu) 1.5 %, Azufre (S) 3.6 %, Potasio (K) 0.8 %, Zinc (Zn) soluble en agua 3.6 %, Ácido cítrico 15.4 %.

## 2.5 Métodos para evaluar in vitro la actividad antifúngica

En los últimos años, ha habido un creciente interés en investigar y desarrollar nuevos agentes biológicos o químicos de diversas fuentes para combatir la resistencia de patógenos; por lo tanto, se ha prestado mayor atención a los métodos de evaluación de la actividad antibacteriana o antifúngica. Varios bioensayos, como la difusión en disco, la difusión en pocillos y el caldo o la dilución en agar, son bien conocidos y se utilizan comúnmente. Pero otros, como los métodos de citofluorometría de flujo y bioluminiscentes no se usan ampliamente porque requieren equipo específico y una evaluación adicional para la reproducibilidad y estandarización (Mounyr *et al.*, 2016). En este trabajo se presentará una revisión del método medio envenenado que se utilizará para evaluar la susceptibilidad de *Botrytis cinerea*.

### 2.5.1 Método del medio envenenado

El método de medio envenenado se utiliza principalmente para evaluar el efecto antifúngico contra los hongos. El agente antifúngico o el extracto se incorpora en el medio fundido a una

concentración final deseada y se mezcla bien. Luego el medio se vierte en placas de Petri y se realiza la siembra de un pedazo de micelio de la zona de activo crecimiento. Después de incubar en condiciones adecuadas para la cepa fúngica analizada, se miden los diámetros de crecimiento fúngico en el control y las placas envenenadas estimando el efecto antifúngico (Mounyr *et al.*, 2016).

## **2.6 Medio PDA**

Potato Dextrose Agar (PDA) es un medio de uso general para cultivar diferentes hongos. Está compuesto por infusión de papa deshidratada, dextrosa ambos estimulantes del crecimiento de hongos y agar como agente solidificante. Muchos procedimientos estándar utilizan una cantidad específica de ácido tartárico estéril (10%) para bajar el pH de este medio a 3.5 +/- 0.1, lo que inhibe el crecimiento bacteriano. Y al cloranfenicol como un agente selectivo para inhibir el sobrecrecimiento bacteriano de microorganismos competidores, al tiempo que permite el aislamiento selectivo de hongos (Aryal, 2018).

### **III. METODOLOGÍA**

#### **3.1 Fase laboratorio**

##### **3.1.1 Ubicación**

El trabajo se desarrolló en el Laboratorio del Departamento de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM).

##### **3.1.2 Material biológico**

El desarrollo del trabajo se realizó con una cepa de *Botrytis cinerea* endémica de La Molina donada por el Laboratorio del Departamento de Fitopatología de la UNALM; previamente aislada, reconocida y purificada por el laboratorio. Luego, se multiplico la cepa en placas Petri con el medio PDA.

##### **3.1.3 Prueba de efectividad de los productos en laboratorio**

###### **a. Evaluación del efecto de los fertilizantes foliares en la inhibición del crecimiento micelial**

Para realizar este estudio se emplearon cinco tratamientos, utilizando dos fertilizantes foliares y un fungicida químico; cada tratamiento fue conformado por cuatro placas Petri. Para ello se procedió a preparar el medio de cultivo PDA el cual se vertió en cinco Erlenmeyers a la misma cantidad (100 ml) y posteriormente se esterilizó en la autoclave. Luego los fertilizantes foliares especificados en la tabla 1, fueron vertidos momentos antes del plaqueo, cuando el medio de cultivo se encontró a una temperatura adecuada de 45 °C aproximadamente. Una vez homogenizada la mezcla, esta se vertió en cuatro placas Petri estériles y se dejó solidificar (Llanos, 2017).

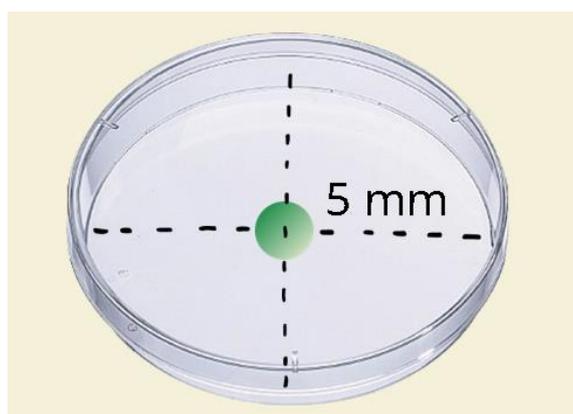
Una vez que el medio de cultivo quedó solidificado, se realizó la siembra de un pedazo de micelio de la zona de activo crecimiento de 0.5 cm de diámetro, al centro de cada placa Petri (figura 3). Con el tratamiento testigo se realizó el mismo procedimiento con la diferencia que el medio PDA no contó con ningún fertilizante foliar o fungicida. La placa sembrada se

selló con Parafilm y fueron colocadas en la incubadora a una temperatura de 25 °C (Chávez, 2016).

**Tabla 1: Descripción de los tratamientos que se usaron para evaluar el efecto antifúngico del crecimiento micelial de *B. cinera* en laboratorio**

Tratamiento	Nombre comercial	Ingrediente activo	Dosis
0	Testigo	-	-
1	Zynergy	Cu + Zinc	0.5 l/cil
2	Zynergy	Cu + Zinc	1 l/cil
3	Fx 31	Cu + Zinc+ Ácido cítrico	0.5 l/cil
4	Boscalid	Boscalid	250 g/cil

Después de incubar en condiciones adecuadas para la cepa fúngica analizada, se midió diariamente la distancia del diámetro del crecimiento micelial del hongo expresado en mm; sin tener en cuenta la distancia del disco de micelio colocado como inóculo. Esta evaluación se realizó hasta que el testigo cubrió totalmente la superficie de la placa. Para facilitar la medición diaria del crecimiento micelial, la placa se marcó con una línea horizontal y una línea vertical que cruzaron al centro de cada disco sembrado (Chávez, 2016). Luego de tomar los datos se calculó el promedio de los dos diámetros, marcados por las líneas, como indica en la figura 3 y de las repeticiones para realizar los análisis.



**Figura 3: Marcado de la placa Petri para facilitar la medida del diámetro de crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* en laboratorio.**

Con los diámetros del crecimiento fúngico del testigo y las placas envenenadas de la última evaluación, se estimó el efecto antifúngico mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Efecto antifúngico(\%)} = ((Dc-Ds) / Dc) \times 100$$

Donde:  $D_c$ = Diámetro de crecimiento en la placa testigo y  $D_s$ = Diámetro de crecimiento de la placa que contiene el agente antifúngico probado; los dos valores en mm (Mounyr *et al.*, 2016).

### **3.1.4 Diseño experimental**

La unidad experimental en las cinco evaluaciones fueron las placas Petri donde se realizó la siembra de una sección de medio de cultivo PDA en el que hubo desarrollo micelial del patógeno, variando por tratamiento el fungicida aplicado en el medio envenenado.

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con un total de cinco tratamientos y cuatro repeticiones por tratamiento. Los datos fueron procesados en el programa estadístico R-Studio utilizando ANOVA y pruebas de comparación de Tukey a un nivel de significancia ( $\alpha$ ) de 0.05.

## **3.2 Fase de campo**

### **3.2.1 Ubicación del experimento**

La fase de campo se realizó en una parcela perteneciente a la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina, ubicada en el departamento de Lima, provincia de Lima y distrito de La Molina.

### **3.2.2 Tratamientos**

Para la fase de campo se emplearon siete tratamientos, utilizando dos fertilizantes foliares y dos fungicidas químicos; sus ingredientes activos, dosis, forma y frecuencia de aplicación son especificados en la tabla 2.

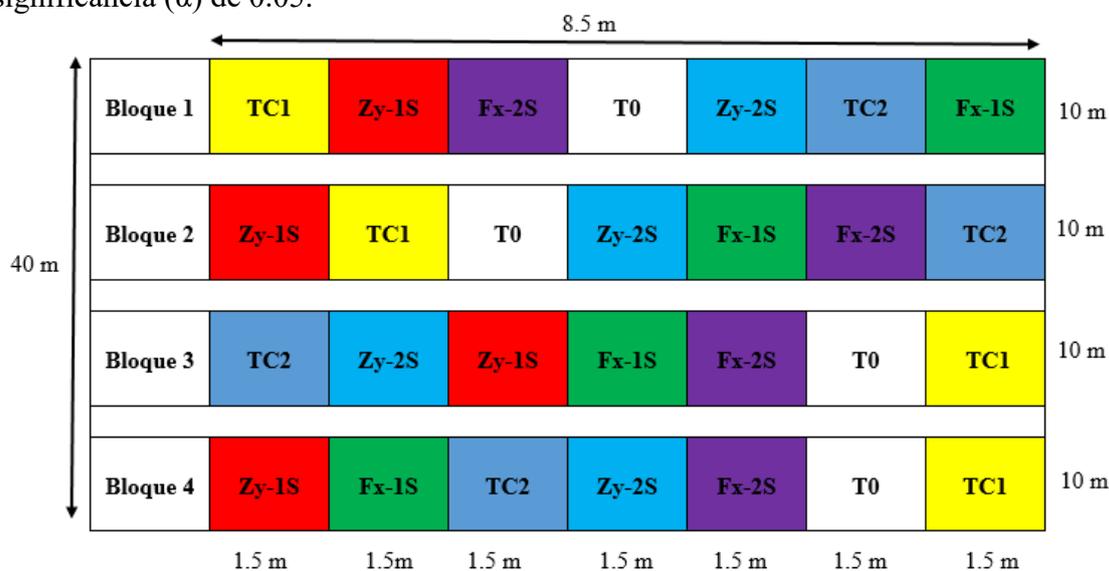
Las aplicaciones de los tratamientos iniciaron la octava semana después del trasplante y se prolongó por ocho semanas. La evaluación comprendió 10 semanas, desde el crecimiento vegetativo hasta el cuajado de frutos como etapa crítica de *Botrytis cinerea*.

**Tabla 2: Descripción de los tratamientos que se utilizaron en la evaluación del control de *B. cinerea* en campo de tomate**

Tratamiento	Nombre comercial	Código	Ingrediente activo	Dosis	Aplicación	Frecuencia de aplicación
0	Testigo	TO	-	-	Follaje	-
1	Zynergy	Zy-1S	Cu+Zn	1 l/cil	Follaje	Cada semana
2	Fx-31	Fx-1S	Cu+Zn+Ác.cítrico	0.5 l/cil	Follaje	Cada semana
3	Zynergy	Zy-2S	Cu+Zn	1 l/cil	Follaje	Cada 2 semanas
4	Fx-31	Fx-2S	Cu+Zn+Ác.cítrico	0.5 l/cil	Follaje	Cada 2 semanas
5	Authority	TC1	Azoxystrobin y Flutriafol	0.5 l/ha	Follaje	Cada semana
6	Fontelis	TC2	Penthiopyrad	1 l/ha	Follaje	Cada semana

### 3.2.3 Diseño experimental

Se utilizó un diseño en bloque completamente al azar (DBCA) con un total de siete tratamientos y cuatro bloques por tratamientos. Los datos fueron procesados en el programa estadístico R-Studio utilizando ANOVA y pruebas de comparación de Tukey a un nivel de significancia ( $\alpha$ ) de 0.05.



**Figura 4: Distribución de los tratamientos de control de *B. cinerea* en el campo de tomate en cuatro bloques siguiendo el diseño en bloque completamente al azar (DBCA).**

### 3.2.4 Actividades de campo

#### a. Preparación del terreno

Se realizó la preparación de terreno para descompactar y homogeneizar el suelo, a fin de lograr un óptimo desarrollo radicular de las plántulas después del trasplante. Además, de ayudar en el manejo de plagas y malezas.



*Figura 5:* Campo con camellones de 1.5 m de ancho y 40 m de largo.

#### b. Trasplante

El trasplante a campo definitivo se realizó con un distanciamiento de plantas de 0.6 m.



*Figura 6:* Plántulas de tomate utilizadas en el trasplante (a), labor de trasplante (b) y ubicación de la plántula en lomo del surco (c).

### c. Recalce

Se realizó el recalce en zonas donde la planta no se desarrolló adecuadamente, para así ayudar en la homogeneidad de los tratamientos.



**Figura 7:** Cambio de surco 2 semanas después del trasplante (a) y cultivada 5 semanas después de trasplante (b).

### d. Abonado y fertilización

El abonado y fertilización fue de forma manual y localizada, cumpliendo con los requerimientos de la planta según cada etapa fenológica.



**Figura 8:** Abonado con 20 t/ha de compost (a) y fertilización (20-20-20) (b) del tomate al fondo del surco.

### e. Riego

El riego fue de acuerdo a las necesidades del cultivo, para así evitar el debilitamiento de la planta por un déficit hídrico o problemas fitosanitarios causados por *Phytophthora* sp., *Pythium* sp., etc.



Figura 9: Riego por gravedad de acuerdo a las necesidades hídricas del cultivo.

### f. Desmalezado

El control de maleza se realizó con deshierbos manuales desde la instalación del campo hasta la cosecha.

### g. Aplicaciones de los tratamientos

Se realizaron ocho aplicaciones desde la octava a la décimo sexta semana después del trasplante, a excepción de la novena semana. La aspersion cubrió toda el área foliar y comenzó en la mañana para evitar que haya mucho viento y con cortinas para reducir la deriva.



Figura 10: Preparación de la solución de los fertilizantes foliares y los fungicidas (a), y aplicación según los tratamientos de control del moho gris en el tomate (b).

## h. Control fitosanitario

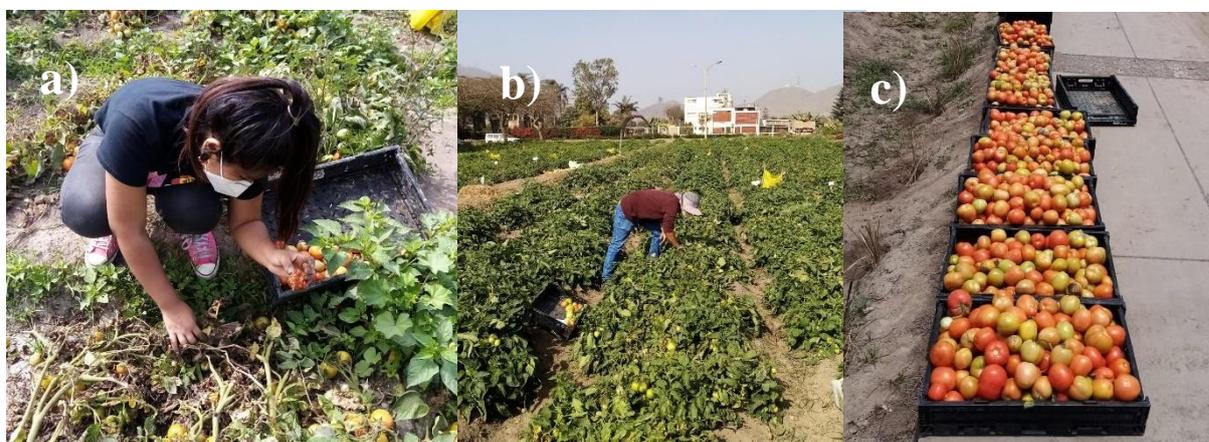
Para el control fitosanitario se basó en un manejo integrado de plagas y enfermedades que constituyó: 1) Control cultural: Buena preparación de terreno, desmalezado, control del riego, etc., 2) Control físico: Retiro de larvas o pupas de insectos y eliminación de partes de la planta infectados por hongos, 3) Control etológico: Uso de trampas amarillas y trampas de melazas, 4) Control biológico: No perjudicar la población de fauna benéfica del campo y 5) Control químico: Aplicaciones de fungicidas al periodo crítico de la enfermedad y azufrado.



**Figura 11:** Trampas amarillas para el control de la mosca minadora (a), aplicación del insecticida biológico Envivo (i.a. virus de la poliedrosis múltiple) para el control de *Tuta absoluta* (b), desmalezado por el contorno de la planta de tomate (c), azufrado de los brotes para el control de *Prodiplosis sp.* (d), eliminación de partes de la planta infectados por hongos (e) y preparación de trampas de melazas para el control de la mosca de la fruta del tomate (f).

## i. Cosecha

La cosecha se realizó cada semana desde la semana 16 después del trasplante, cuando gran cantidad de plantas presentan frutos con una coloración caramelo o rojizo (Gonzales, 2016).



*Figura 12: Labor de cosecha (a, b) y jabas con tomate (c).*

### 3.2.5 Área de evaluación

Cada unidad experimental fue una parcela que tuvo 1.5 m ancho con 10 m de largo. El área de las unidades experimentales que se emplearon en el trabajo se presenta en la tabla 3.

**Tabla 3: Área de las unidades experimentales en campo**

Área experimental de la parcela	
Número total de parcelas	28
Número de líneas por unidad experimental	1
Largo de la unidad experimental	10 m
Ancho de la unidad experimental	1.5 m
Área total de la unidad experimental	15 m <sup>2</sup>
Área experimental de los tratamientos	
Número de tratamientos	7
Número de bloques	4
Área total de los tratamientos	60 m <sup>2</sup>
Área del experimento	420 m <sup>2</sup>

### 3.2.6 Evaluación del efecto de los fertilizantes foliares en campo

#### a. Incidencia de *B. cinerea* en follaje

Se comenzó a evaluar a los 40 días después del trasplante, cuando la planta terminó su etapa de establecimiento y crecimiento primario (INIA, 2018). Considerando una planta infectada al presentar por lo menos un foliolo con síntomas y signos relacionados a *Botrytis cinerea* (figura 13). Con esta información se determinó la incidencia de la enfermedad en follaje (Ifo) mediante la siguiente fórmula:

$$\boxed{\text{IFo}(\%) = (\text{IP} / \text{TOP}) \times 100}$$

Donde: IFo (%)= Porcentaje de la incidencia en follaje, IP= Es el número de plantas infectadas y TOP=Número total de plantas evaluadas (Folgoa, 2007).



**Figura 13:** Daño típico del moho gris en hojas conocido como mancha V.

FUENTE: INIA, 2018

#### b. Severidad de *B. cinerea* en follaje

Se cuantificó directamente el área afectada por *Botrytis* en toda la planta (como unidad de evaluación) en intervalos semanales, a fin de consignar el avance de la enfermedad. Se siguió el mismo principio de evaluación de la ranca en papa (Bustamante *et al.*, 2008).

### c. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE)

Se utilizó el ABCPE para medir la cantidad total de enfermedad durante un periodo de tiempo (Mauricio, 2018). Utilizando la fórmula propuesta por Campbell & Madden (1990).

$$\text{ABCPE} = \sum_{i=1}^n \frac{Y_{i+1} + Y_i}{2} [T_{i+1} - T_i]$$

Donde:  $Y_i$  = Porcentaje de área foliar afectada por el patógeno en estudio el día  $i$  después de la siembra o trasplante,  $Y_{i+1}$  = Porcentaje de área foliar afectada por el patógeno en estudio el día  $i+1$  después de la siembra o trasplante,  $[T_{i+1} - T_i]$  = Número de días transcurrido de la primera evaluación (del área foliar afectada a la segunda evaluación),  $n$  = Número total de evaluaciones y  $i$  = Días de siembra o trasplante.

### d. Incidencia de *Botrytis cinerea* en flores

Para evaluar el daño causado por *B. cinerea* en flor solo se determinó su incidencia, debido que la presencia de la infección en el tejido conlleva a una pérdida de la estructura sin oportunidad de recuperar la flor a través de alguna medida fitosanitaria (Mauricio, 2018). Se determinó la incidencia de la enfermedad en flor (IF) mediante el conteo del número de flores sanas y enfermas en cada racimo flor cada semana después de la floración, mediante la siguiente fórmula.

$$\text{IF}(\%) = (\text{FA} / \text{FT}) \times 100$$

Donde; IF (%) = Porcentaje de incidencia en flor; FA = Número de flores afectadas; FT = Número de flores totales (sanas + enfermas) (Mauricio, 2018).



**Figura 14:** Incidencia en flores de tomate para la evaluación de *B. cinerea* flor sana (a) y flor con síntomas de *B. cinerea* (b).

FUENTE: Mauricio, 2018

### e. Incidencia de *Botrytis cinerea* en frutos

Para evaluar el daño causado por *B. cinerea* en fruto se determinó su incidencia, debido a que el fruto pierde su valor comercial al presentar un daño físico, de plaga o enfermedad (Gonzales, 2016). La incidencia se evaluó con el conteo de frutos dañados por *B. cinerea*, mediante la fórmula.

$$IFr(\%) = (TOA / TOT) \times 100$$

Donde; IFr (%) = Porcentaje de Incidencia en fruto; TOA= Número de frutos afectados; TOT= Número de frutos totales (sanos + enfermos).



**Figura 15:** Incidencia en frutos de tomate para la evaluación de *B. cinerea*. frutos totalmente sanos (a) y frutos con ligero a severo daño sin valor comercial (b).

FUENTE: Mauricio, 2018

### f. Calidad comercial de los frutos

Los frutos cosechados se categorizaron de acuerdo a la calidad comercial según los rangos establecido para el mercado nacional: a) Primera: Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso mayor de 100 g, b) Segunda: Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso entre 50-100 g, c) Tercera: Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso menor a 50 g y d) No comercial: Fruto con daño físico, de plaga o enfermedad (Gonzales, 2016).

#### **g. Rendimiento**

Se evaluó el rendimiento como la suma del peso de los frutos clasificados como primera, segunda y tercera de cada cosecha; los datos fueron llevados a toneladas por hectáreas.

#### **h. Fitotoxicidad por acción de los fertilizantes foliares**

La fitotoxicidad se evaluó una semana después de acabar con las ocho aplicaciones; utilizando la escala de Alzate *et al.* (2009) de 0 a 5: a) Escala 0: Planta iguales al testigo absoluto; b) Escala 1: Leve clorosis y presencia de pecas; c) Escala 2: Clorosis acentuada y ligera reducción distinguible en el crecimiento o presencia de pocas manchas; d) Escala 3: Inhibición del crecimiento, clorosis marcada y anomalías morfológicas; e) Escala 4: Planta muy afectada sin posibilidad de recuperación, pero hay aún presencia de tejido verde y f) Escala 5: Necrosis y muerte de planta.

#### **i. Datos meteorológicos**

Se registraron los datos de humedad relativa, precipitación y temperatura de la Estación Meteorológica Alexander Von Humboldt durante el desarrollo de la investigación.

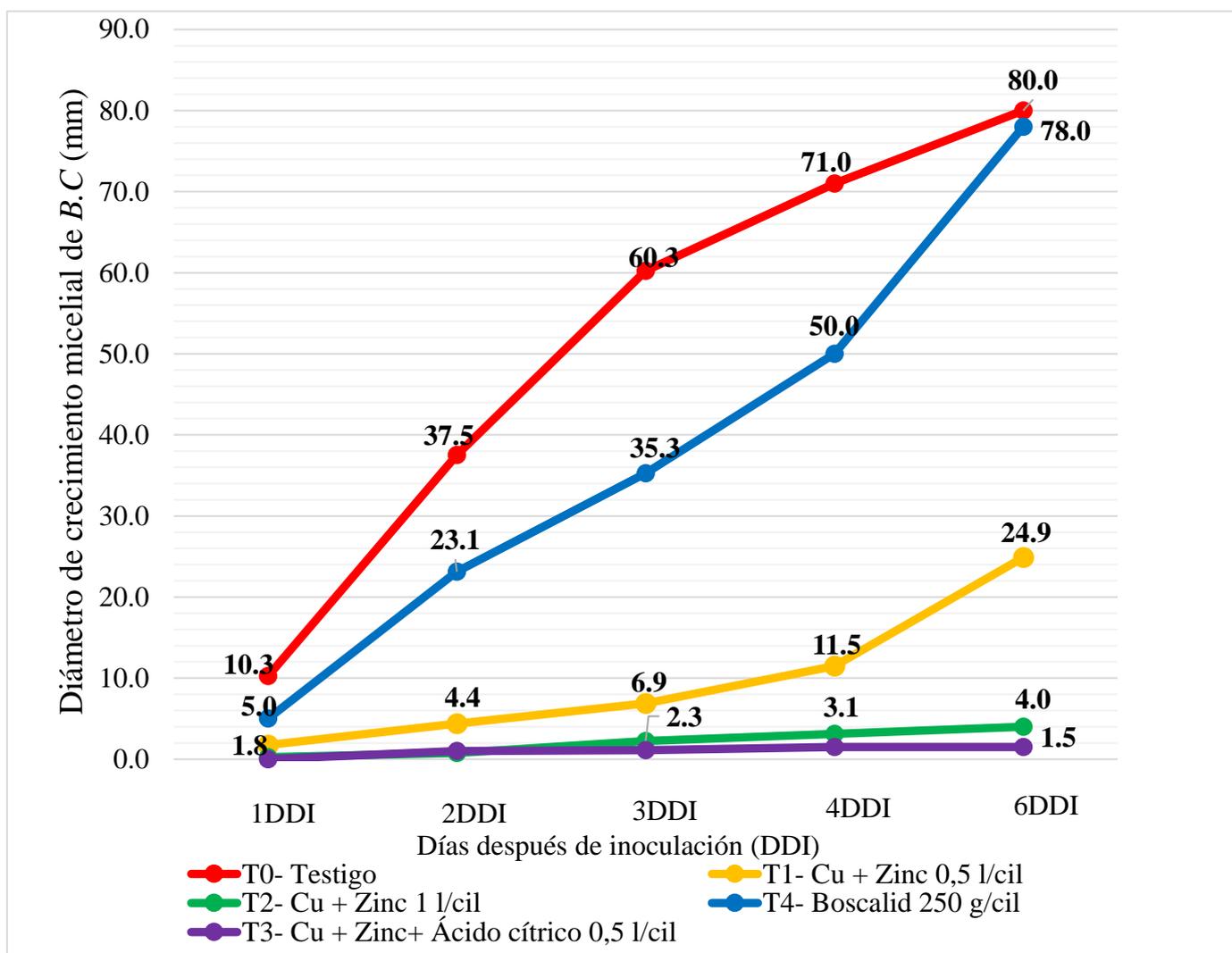
## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Fase laboratorio

De acuerdo a la tabla 4 y figura 16, el tratamiento T0-Testigo tuvo el mayor diámetro de crecimiento micelial (mm) en el primer día de evaluación superando los 10.00 mm; seguido del T4-Boscalid 250g/cil con 5 mm. Estos dos tratamientos presentaron los dos mayores valores hasta los 6 DDI (días después de inoculación). Por otro lado, el T2- Cu + Zinc 1 l/cil y T3- Cu + Zinc + Ácido cítrico 0,5 l/cil obtuvieron en las cinco evaluaciones los menores valores.

**Tabla 4: Diámetro promedio del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* (mm) de todos los tratamientos en las cinco evaluaciones, DDI: Días después de inoculación**

Tratamiento	1 DDI	2 DDI	3 DDI	4 DDI	6 DDI
T0-Testigo	10.25	37.50	60.25	71.00	80.00
T1-Cu + Zinc 0.5 l/cil	1.75	4.38	6.88	11.50	24.88
T2-Cu + Zinc 1 l/cil	0.25	0.75	2.25	3.13	4.00
T3-Cu + Zinc + Ácido cítrico 0.5 l/cil	0.00	1.00	1.13	1.50	1.50
T4-Boscalid 250 g/cil	5.00	23.13	35.25	50.00	78.00



**Figura 16:** Comportamiento temporal del diámetro de crecimiento micelial (mm), durante los seis días después de la inoculación de un disco de micelio de *Botrytis cinerea* de 5 mm de diámetro.

En la tabla 5 se presenta el diámetro de crecimiento micelial (mm) promedio de *Botrytis cinerea* a los 6 DDI. El tratamiento T0-Testigo tuvo el mayor diámetro de micelio con un promedio de 80.00 mm cubriendo toda la placa Petri. El segundo y tercero con mayor valor fue el T4-Boscalid 250g/cil y T1- Cu + Zinc 0,5 l/cil con promedios de 78.00 mm y 24.88 mm respectivamente. Finalmente, los dos menores diámetro del micelio fueron para T2- Cu + Zinc 1 l/cil y T3- Cu + Zinc+ Ácido cítrico 0.5l/cil con 4.00 mm y 1.50 mm, respectivamente.

**Tabla 5: Resultados promedio del efecto antifúngico (E.A) en el crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* de cada tratamiento a los seis días después de la inoculación (6 DDI), con la comparación de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$**

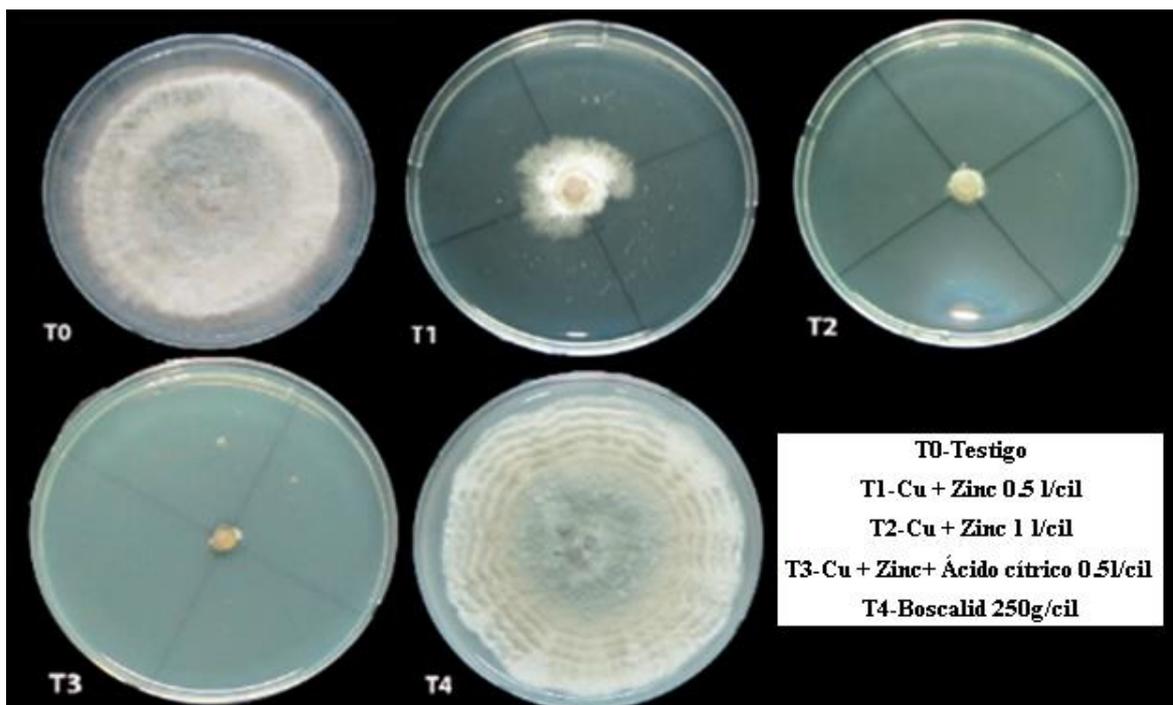
Tratamiento	Nombre comercial	Ingrediente activo	Dosis	Diámetro del micelio (mm) a 6 DDI	E.A. %
0	Testigo	-	-	80.00 a	0.00
4	Boscalid	Boscalid	250 g/cil	78.00 a	2.50
1	Zynergy	Cu + Zinc	0,5 l/cil	24.88 b	68.90
2	Zynergy	Cu + Zinc	1 l/cil	4.00 c	95.00
3	Fx 31	Cu + Zinc + Ácido cítrico	0,5 l/cil	1.50 c	98.13

C.V: 3.94

Los resultados de la prueba del medio envenenado muestran que todos los tratamientos, a excepción del T0-Testigo, tuvieron cierto efecto antifúngico en el diámetro del crecimiento micelial (mm) de *Botrytis cinerea*.

Dentro los tratamientos el único fungicida químico probado fue el T4-Boscalid 250g/cil, que actúa inhibiendo la enzima ubiquinona succinato reductasa ubicada en el complejo II mitocondrial, fundamental para el transporte de electrones de la respiración mitocondrial (BASF, 2017). Dentro de los fungicidas empleados en el control de *Botrytis* spp., boscalid pertenece a los fungicidas que originan más rápida resistencia conocido como resistencia monogénica, debido a que se produce una mutación en un solo gen del hongo (Lincango, 2018). Estudios realizados en cepas de *Botrytis* spp. con resistencia al boscalid, revelan que las mutaciones puntuales son en los codones H272R y H272Y de la succinato reductasa subunidad B(sdhB) (Fernández *et al.*, 2012).

En el experimento T4-Boscalid 250g/cil no presentó diferencia significativa con el T0-Testigo, siendo con excepción a este último el de menor efecto antifúngico con un valor 2.50 %. El resultado corresponde a los casos reportados de aislamientos resistentes a los fungicidas químicos, dentro de estos casos de resistencia al Boscalid (Lopes *et al.*, 2017).



**Figura 17: Placas con el crecimiento del diámetro micelial de *Botrytis cinerea* (mm) a seis días de inoculación (6 DDI) del medio envenenado en los 5 tratamientos.**

Los tratamientos foliares T1- Cu + Zinc 0,5 l/cil, T2- Cu + Zinc 1 l/cil y T3- Cu + Zinc + Ácido cítrico 0.5l/cil presentaron diferencias significativas con el testigo y T4-Boscalid 250g/cil. Debido a que las partículas de cobre causan efectos dañinos en las hifas y las conidias de *Botrytis cinerea* (Ouda, 2014). Igual para las partículas de Zn que inhiben el crecimiento del moho gris al afectar las funciones celulares, lo que causa deformación de las hifas fúngicas (He *et al.*, 2011).

Hubo un efecto de la dosis Cu + Zinc con valores de actividad antifúngica de 95,00 % para T2- Cu + Zinc 1 l/cil y de 68.90% para T1- Cu + Zinc 0,5 l/cil. Siendo el tratamiento con mayor efecto antifúngico el de mayor dosis, debido a una mayor cantidad de partículas de Cu y Zn. Dentro del patógeno las partículas de Cu y Zn generan especies reactivas de oxígeno (ROS) extremadamente dañinas, llevando a la desnaturalización de proteínas estructurales y enzimáticas; también, causan desestabilización y licuefacción de la membrana celular, orgánulos y macromoléculas celulares. Provocando deformación de hifas fúngicas e impedir el desarrollo de conidióforos y conidias; conduciendo finalmente a la muerte del patógeno (Kalia *et al.*, 2020; La torre *et al.*, 2018; Rai *et al.*, 2018).

Elkorany & Mohamed (2008) evaluaron el efecto de ciertos antioxidantes con el potencial de disminuir la incidencia de la enfermedad del moho gris (*Botrytis cinerea*) in vitro en fresa. Uno de estos fue el antioxidante natural ácido cítrico que en una concentración de 1 mM mostró efectos de inhibición sobre el crecimiento de colonias (16.14 %), esporulación (26.85 %) y germinación de conidias (21.25 %) comparado con el testigo. En el presente experimento, los resultados mostraron que el ácido cítrico mejoró la actividad antifúngica del tratamiento, complementándose bien con las partículas de Cu y Zn al presentar el T3- Cu + Zinc + Ácido cítrico 0.5l/cil el mayor efecto antifúngico con valor de 98, 13 % no difiriendo significativamente con el T2- Cu + Zinc + Ácido láctico 1 l/cil a pesar de tener el doble de dosis. Debido a que, el ácido cítrico tiene mecanismos inhibidores del crecimiento, como son la disminución del pH interno de la célula microbiana por la ionización de las moléculas de ácido no asociadas y la alteración de la permeabilidad de la membrana celular (Shokri, 2011).

## 4.2 Fase de campo

### 4.2.1 Incidencia y severidad de *B. cinerea* en follaje

La evaluación de la incidencia y severidad en hojas comenzó a las seis semanas después del trasplante (6 SDT). En las semanas de aplicación no se reportaron síntomas de la enfermedad foliar en ningún tratamiento. Después de una semana terminada las aplicaciones se detectó un aumento de la incidencia. El TO, Zy-2S y Fx-2S llegaron a tener todas las plantas infectadas a las 18 SDT; y TC1 y TC2 a las 19 SDT (tabla 6).

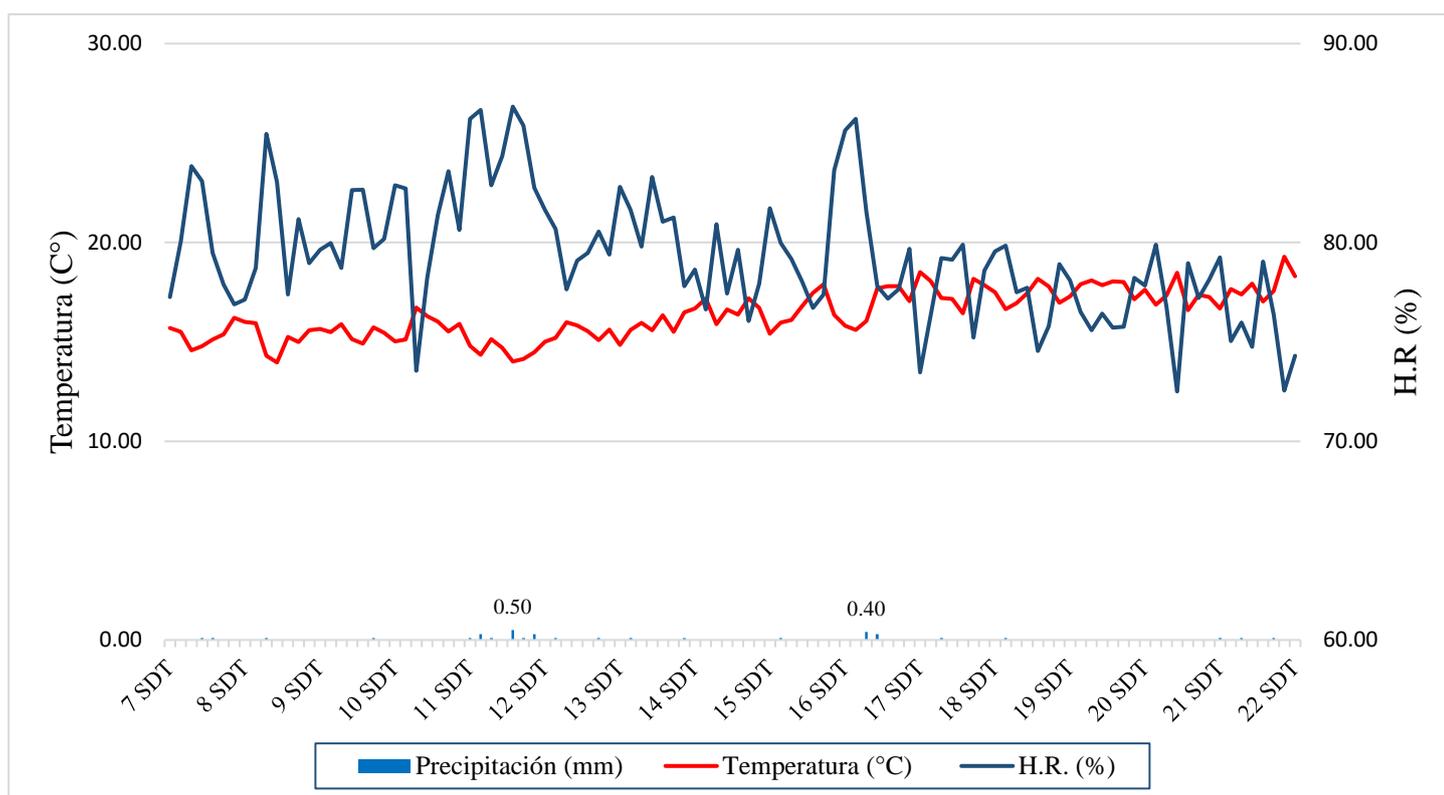
**Tabla 6: Promedio del porcentaje de incidencia de *B. cinerea* en el follaje de los bloques de todos los tratamientos en las semanas de evaluación, SDT: Semanas después del trasplante**

Tratamiento	Código	6 SDT	7 SDT	17 SDT	18 SDT	19 SDT
0	TO	0 %	0 %	27.4 %	100.0 %	100 %
1	Zy-1S	0 %	0 %	26.9 %	98.3 %	100 %
2	Fx-1S	0 %	0 %	12.3 %	98.3 %	100 %
3	Zy-2S	0 %	0 %	27.4 %	100.0 %	100 %
4	Fx-2S	0 %	0 %	20.0 %	100.0 %	100 %
5	TC1	0 %	0 %	3.3 %	68.3 %	100 %
6	TC2	0 %	0 %	5.0 %	55.0 %	100 %

**Tabla 7: Promedio del porcentaje de severidad de *B. cinerea* en el follaje de los bloques de todos los tratamientos en las semanas de evaluación, SDT: Semanas después del trasplante**

Tratamiento	Código	6 SDT	7 SDT	17 SDT	18 SDT	19 SDT	20 SDT	21 SDT
0	TO	0 %	0 %	0.31 %	4.50 %	25.81 %	64.55 %	79.46 %
1	Zy-1S	0 %	0 %	0.19 %	2.72 %	14.35 %	45.40 %	63.33 %
2	Fx-1S	0 %	0 %	0.13 %	2.02 %	7.68 %	33.35 %	60.86 %
3	Zy-2S	0 %	0 %	0.27 %	3.67 %	25.97 %	57.59 %	76.60 %
4	Fx-2S	0 %	0 %	0.20 %	3.02 %	13.73 %	45.00 %	66.92 %
5	TC1	0 %	0 %	0.03 %	0.88 %	4.48 %	16.67 %	34.17 %
6	TC2	0 %	0 %	0.05 %	0.70 %	4.45 %	16.25 %	34.42 %

Con respecto a la severidad (tabla 7), el T0 tuvo el mayor porcentaje a las 17 SDT con valor de 0.31 %, seguido de Zy-2S y Fx-2S con 0.27% y 0.20 % respectivamente. Estos tres tratamientos encabezaron el porcentaje de severidad en todas las semanas de evaluación. Los tratamientos foliares con aplicaciones semanales Zy-1S y Fx-1S; ocuparon el cuarto y quinto lugar en las evaluaciones. Por otro lado, los tratamientos con fungicidas químicos obtuvieron los menores valores.



**Figura 18: Fluctuaciones de precipitación (mm), temperatura (°C) y H.R. (%) en el periodo de campo del experimento.**

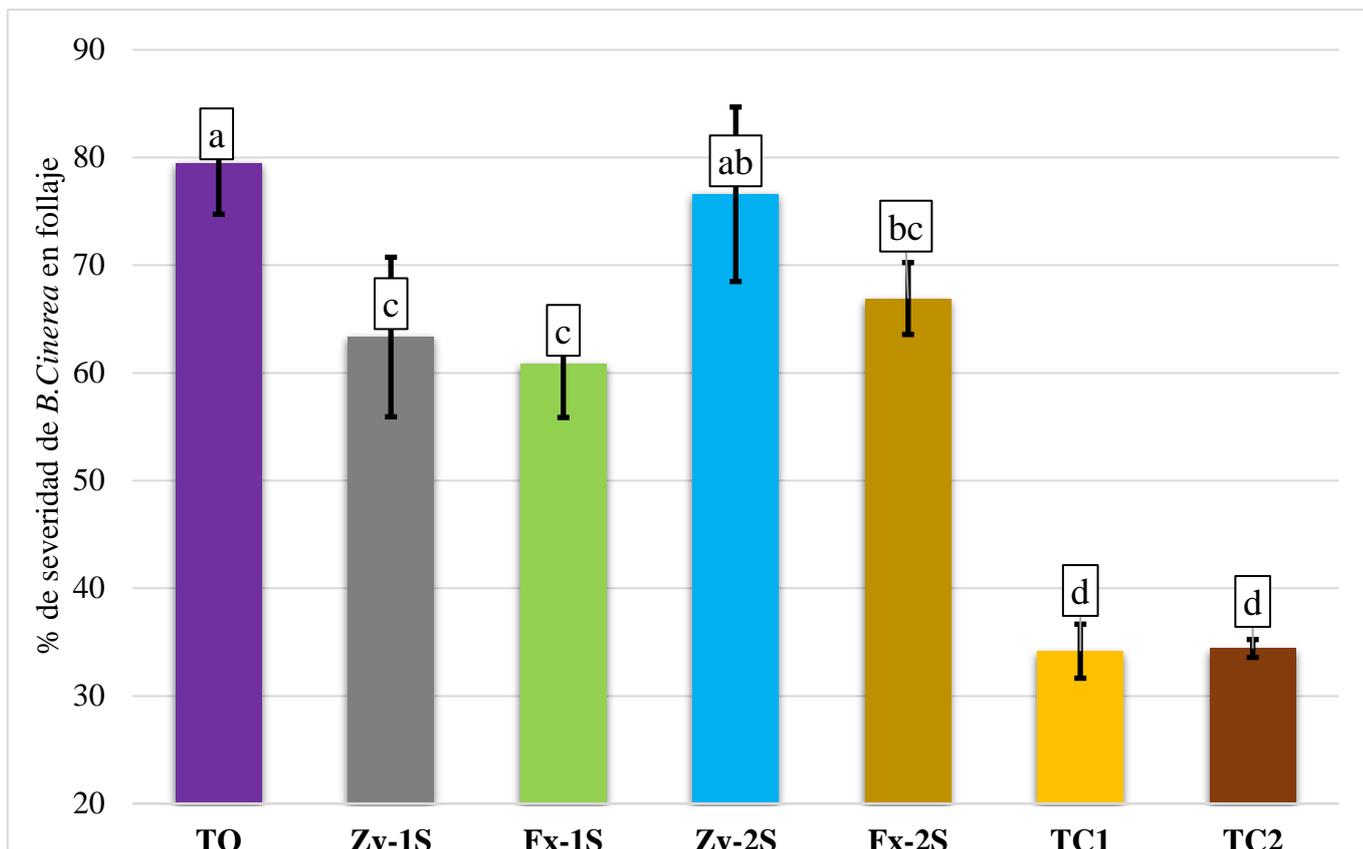
Las temperaturas de 20 a 30 C° y la humedad relativa superior a 90% son favorables para la germinación de las conidias de *B. cinerea*; las cuales penetran la epidermis de las plantas

dando así el inicio de la enfermedad (Van, 2005; La torre & Rioja, 2002). Otro factor determinante son las precipitaciones, así se presente condiciones favorables para la infección, no hay germinación de conidias o esta es extremadamente baja si no hay agua en las superficies de las hojas; ya sea por el rocío o las lluvias (La torre & Rioja, 2002).

Esto ocurrió a las 16 SDT, donde se detectó que las precipitaciones de 0.40 mm favoreció la infección y la dispersión de conidias (tabla 7). A las 11 y 12 SDT también se presentó precipitación de 0.50 mm (figura 18), pero no hubo un aumento de la incidencia y severidad foliar. Debido a que, la infección de las 17 SDT se dio en el periodo de cosecha; esta labor genera heridas por toda la planta y favorece la diseminación del inóculo. Además, el estado senescente de la planta facilitó la infección (Cristescu *et al.*, 2002; Elad & Evensen, 1995).

**Tabla 8: Resultados promedio del porcentaje de severidad de *Botrytis cinerea* en el follaje de cada tratamiento a las 21 semanas después del trasplante (21 SDT), con la comparación de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$**

Tratamiento	Código	Ingrediente activo	Frecuencia de aplicación	Porcentaje de severidad de <i>B. cinerea</i> en el follaje a las 21 SDT (%)
0	TO	-	-	79.46 a
3	Zy-2S	Cu+Zn	Cada 2 semanas	76.59 ab
4	Fx-2S	Cu+Zn+Ác.cítrico	Cada 2 semanas	66.91bc
1	Zy-1S	Cu+Zn	Cada semana	63.33 c
2	Fx-1S	Cu+Zn+Ác.cítrico	Cada semana	60.85 c
6	TC2	Penthiopyrad	Cada semana	34.41 d
5	TC1	Azoxystrobin y Flutriafol	Cada semana	34.16 d
C.V. (%): 7.56				



**Figura 19:** Porcentaje de severidad de *Botrytis cinerea* en follaje de cada tratamiento a las 21 semanas después del trasplante (21 SDT), con la comparación de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$  en el porcentaje de severidad.

A partir de las 18SDT (tabla7) se observa una disminución en el porcentaje de severidad de *Botrytis cinerea* foliar en los tratamientos con fertilizantes foliares. En especial en el tratamiento Fx-1S que obtuvo a las 19SDT la tercera parte del porcentaje de severidad del T0 y a las 20SDT la mitad.

En la tabla 8 y figura 19 se presenta el porcentaje de severidad de *Botrytis cinerea* en el follaje a las 21 SDT. El tratamiento T0 tuvo el mayor porcentaje de severidad con un promedio de 79.46 %, seguido de Zy-2S con un promedio de 76.59 %. El tercero, cuarto y quinto con mayor valor fue el Fx-2S, Zy-1S y Fx-1S con promedios de 66.91 %, 63.33 % y 60.85 % respectivamente. Finalmente, los dos menores valores fueron el TC2 y TC1 con 34.41 % y 34.16 % respectivamente.

Este comportamiento se debe en parte a la actividad antifúngica de los componentes de los fertilizantes foliares y los ingredientes activos de los fungicidas. El cobre y zinc aplicados en los tratamientos Zy-2S y Zy-1S inhibieron el crecimiento micelial y la germinación de esporas, por la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y toxicidad de iones

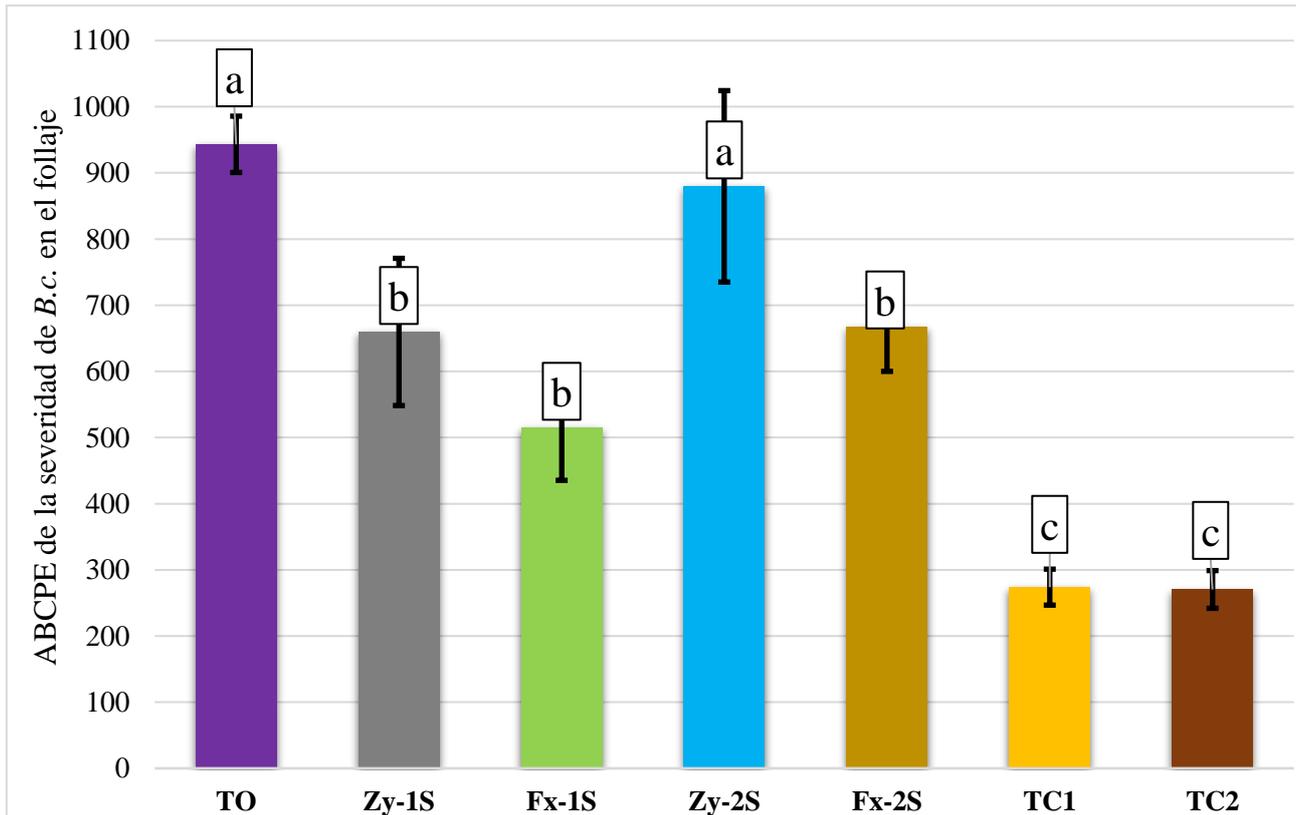
(Kalia *et al.*, 2020; La torre *et al.*, 2018, Rai *et al.*, 2018). En los tratamientos Fx-1S y Fx-2S, además del efecto antifúngico del cobre y zinc se adiciona el efecto del ácido cítrico que por ser un antioxidante capta los radicales libres generados por tejidos infectados retrasando el desarrollo de la enfermedad (Elad, 1992; Elkorany & Mohamed, 2008). Finalmente, los menores valores fueron para los tratamientos TC1 y TC2, debido a los ingredientes activos de los fungicidas Authority y Fontelis (CHEMINOVA, 2014; Farmagro, s.f.). Estos resultados se detallan con mayor exactitud en los párrafos siguientes.

#### 4.2.2 Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) de la severidad foliar

Con respecto a la ABCPE foliar (tabla 9 y figura 20) calculado desde la primera semana del incremento de la severidad foliar (17 SDT) hasta la última semana de evaluación (21 SDT). El T0 tuvo el mayor valor con 943.24, seguido de Zy-2S con 879.70. En tercer, cuarto y quinto lugar fue Fx-2S, Zy-1S y Fx-1S con 667.16, 659.62 y 514.79 respectivamente. Finalmente, los tratamientos con fungicidas químicos TC1 y TC2 obtuvieron los menores valores con 273.89 y 270.43 respectivamente.

**Tabla 9: Resultados promedio de los valores de ABCPE de *Botrytis cinerea* en el follaje de cada tratamiento desde las 17 SDT a las 21 SDT, con la comparación de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$**

Tratamiento	Código	Ingrediente activo	Frecuencia de aplicación	ABCPE
0	T0	-	-	943.24 a
3	Zy-2S	Cu+Zn	Cada 2 semanas	879.70 a
4	Fx-2S	Cu+Zn+Ác.cítrico	Cada 2 semanas	667.16 b
1	Zy-1S	Cu+Zn	Cada semana	659.62 b
2	Fx-1S	Cu+Zn+Ác.cítrico	Cada semana	514.79 b
5	TC1	Azoxystrobin y Flutriafol	Cada semana	273.89 c
6	TC2	Penthiopyrad	Cada semana	270.43 c
C.V. (%): 12.73				



**Figura 20:** Valores de ABCPE de *Botrytis cinerea* en el follaje de cada tratamiento desde las 17 SDT a las 21 SDT, con la comparación de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$  en el valor de ABCPE.

Para los tratamientos Zy-1S y Zy-2S se aplicó el producto Zynergy, un fertilizante foliar con una composición de cobre (Cu) del 2.11% y zinc (Zn) del 3.75 % (Omex, 2019). Estos componentes de Cu y Zn les permite presentar actividad antifúngica, disminuyendo el porcentaje de severidad foliar de *B. cinerea* en el follaje y los valores de ABCPE (tabla 8 y 9).

El cobre actúa como un biocida de amplio espectro (Lamichhane *et al.*, 2018). Los iones de cobre presente en la superficie de la planta por la aspersión foliar, ingresan al protoplasma celular de oomicetos, hongos y bacterias; por la afinidad de la partícula a los grupos carboxilos de la pared celular microbiana (La torre *et al.*, 2018, Rai *et al.*, 2018). Dentro del patógeno el cobre actúa en múltiples sitios generando especies reactivas de oxígeno (ROS) extremadamente dañinos. Llevando a la desnaturalización de proteínas estructurales y enzimáticas, que alteran la semipermeabilidad de la membrana celular y bloquea la actividad respiratoria; inhibiendo finalmente el crecimiento micelial y la germinación de las esporas (La torre *et al.*, 2018, Rai *et al.*, 2018).

Por otro lado, las partículas Zn pueden reducir el daño de hongos fitopatógenos debido al mecanismo múltiple de acción antimicrobiano. Como son la generación ROS, desestabilización y licuefacción de la membrana celular, orgánulos y macromoléculas celulares, y toxicidad debido a los iones de Zn; causando malformaciones de la pared y membrana celular de los micelios. También, suprime de las estructuras formadoras de esporas e inhibe su germinación (Kalia *et al.*, 2020).

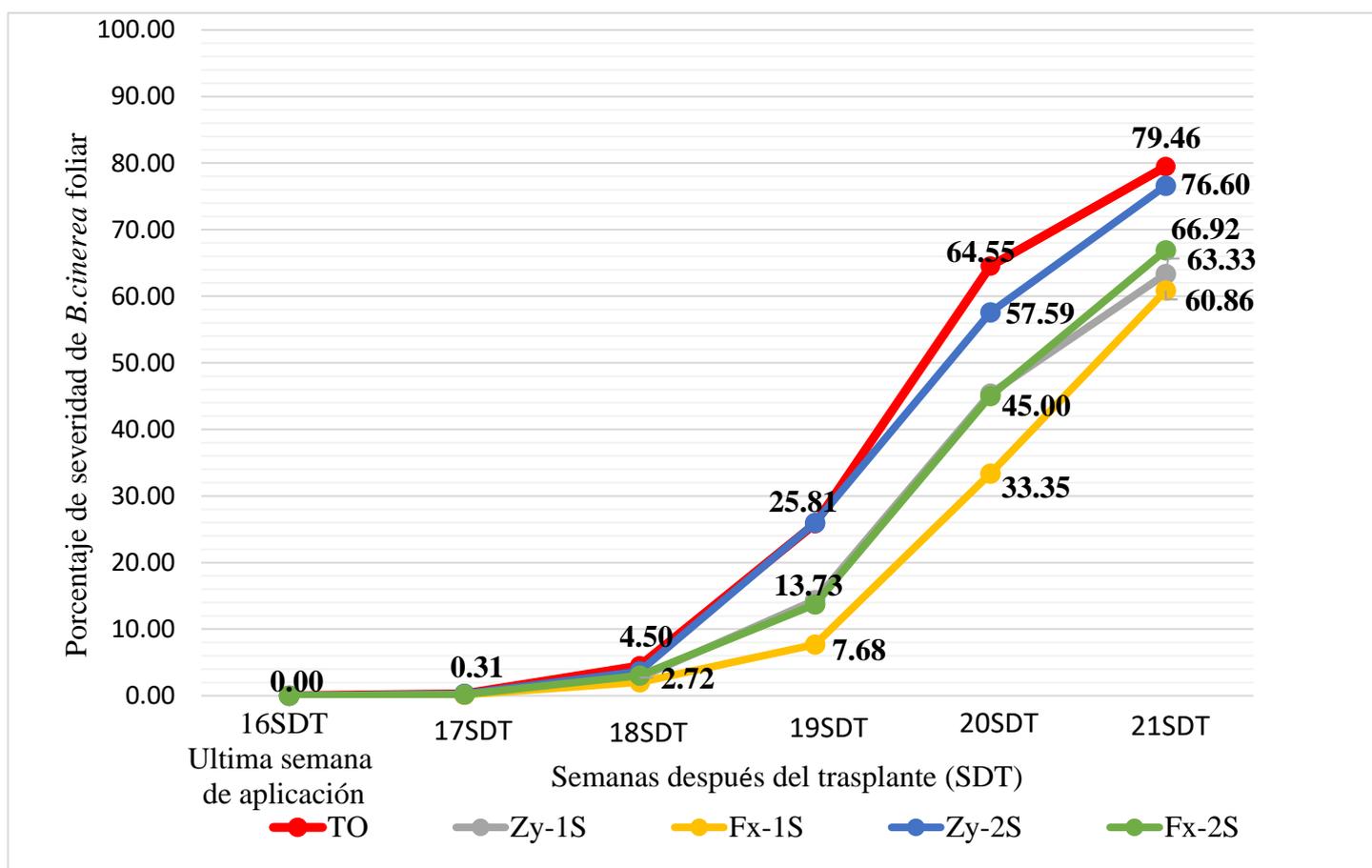


Figura 21: Comportamiento temporal del porcentaje de severidad de *B.cinerea* en el follaje de Zy-1S, Fx-1S, Zy-2S y Fx-2S desde las 17 SDT a las 21 SDT, SDT: Semanas después del trasplante.

Debido a que, es indispensable que las partículas de cobre y zinc estén presentes en las superficies de las hojas para presentar actividad antifúngica (La torre *et al.*, 2018). En el tratamiento Zy-2S, la aplicación realizada cada dos semanas de Zynergy no fue suficiente para que las partículas de cobre y zinc genere un efecto protector a largo tiempo (figura 21); reportándose en el tratamiento un porcentaje de severidad foliar similar al testigo hasta las 21 SDT. Esto resultó en un ABCPE de 879.70 y porcentaje de severidad de *B. cinerea* en el follaje de 76.59 % a las 21 SDT significativamente igual al del testigo.

Este efecto protector se evidenció en el tratamiento Zy-1S, donde se aplicó semanalmente el producto Zynergy; concentrando así mayores partículas de cobre y zinc en las hojas; causando un menor porcentaje de severidad foliar hasta las 19 SDT en comparación al testigo y Zy-2S. Lo cual resultó en un ABCPE de 659.62 significativamente menor al testigo y al Zy-2S. Además, permitió un porcentaje de severidad de *B. cinerea* en el follaje a las 21 SDT de 63.33%, también significativamente menor al testigo y al Zy-2S por la reducción del inoculo en las semanas anteriores.

Después de la aplicación foliar, los nutrientes son absorbidos por la planta a través de las superficies de las hojas, atravesando la cutícula, pared celular y membrana celular (Fageria *et al.*, 2009). En la planta el estrés causado por el cobre induce la producción de peroxidasas que proveen resistencia contra los patógenos colonizantes, al crear un ambiente altamente tóxico. Y también, está involucrado en la acumulación de lignina y la suberina, que fortalece la pared celular y forma una barrera mecánica contra los agentes patógenos (Chmielowska *et al.*, 2010).

Por otro lado, el Zn en la planta participa en la protección de la membrana celular contra el daño oxidativo causado por los radicales libres. Evitando la falta de estructura de la membrana celular, que puede conducir en una fuga de compuestos de bajo peso molecular como carbohidratos lo cual favorece la colonización de patógenos (Singh *et al.*, 2018). También, las altas concentraciones de Zn en la hoja y el daño por patógenos desencadenan vías de señalización comunes; como son el ácido salicílico y los jasmonatos (JA), que desempeñan papeles fundamentales en la defensa sistémica de las plantas. Se ha demostrado que la mejora de la tolerancia de la planta al Zn inducida por el JA, aumentó la tolerancia a hongos necrotróficos como *Botrytis cinerea* (Cabot *et al.*, 2019).

Debido a esto, a pesar de disminuir el efecto protector de las partículas de Cu y Zn por su desintegración en la superficie de las hojas con el paso de las semanas, el aumento de las defensas de la planta por el ingreso de estos nutrientes al tejido vegetal en los tratamientos Zy-2S y Zy-1S, favoreció a reducir porcentaje de severidad foliar a las 19, 20 y 21 SDT en comparación del testigo (figura 21). Siendo mayor la reducción en el tratamiento que se aplicó semanalmente el producto.

Para los tratamientos Fx-2S y Fx-1 se aplicó el producto Fx-31, un fertilizante foliar con una composición de cobre (Cu) del 1.5 %, zinc (Zn) del 3.6 % y ácido cítrico del 15.4 % (Farmex,

2013). A pesar de que se aplicó en el tratamiento Fx-2S el producto cada dos semanas, si se evidenció un efecto protector contrario al tratamiento Zy-2S, al presentar valores de porcentaje de severidad menor al testigo y similar al Zy-1S; resultando en un ABCPE de 667.16 significativamente menor al testigo y al Zy-2S. Además, permitió un porcentaje de severidad de *B. cinerea* en el follaje a las 21 SDT de 66.91%, también significativamente menor al testigo y al Zy-2S.

Esto debido a que, el fertilizante foliar Fx-31 además de presentar actividades antifúngicas de amplio espectro por las partículas de cobre y zinc como el tratamiento Zy-2S, tiene en su formulación ácido cítrico que fortaleció el efecto protector. Se ha demostrado que la pulverización de ácido cítrico a plantas de fresa crecidas en un campo naturalmente infectado del moho gris reflejó una supresión en incidencia de 41.87 % (Elkorany & Mohamed, 2008). Ya que, el ácido cítrico al ser un antioxidante capta radicales libres, compuestos que deterioran la membrana celular, generados por tejidos infectados por patógenos o durante la senescencia para formar compuestos inofensivos; disminuyendo el efecto dañino del patógeno sobre el tejido huésped y retrasar el desarrollo de la enfermedad (Elad, 1992; Elkorany & Mohamed, 2008).

Por la aplicación semanal del mismo producto Fx-31 en el tratamiento Fx-1S, aumentó la concentración de cobre, zinc y el efecto antioxidante del ácido cítrico; presentando una notable mejora en la reducción del porcentaje de severidad foliar para las 19 SDT, con un valor de 7.68% y 13.73% para Fx-1S y Fx-2S respectivamente. Se redujo la protección a las 20 SDT por la degradación de las partículas, presentando a esa semana un pico de aumento de la enfermedad (figura 21).

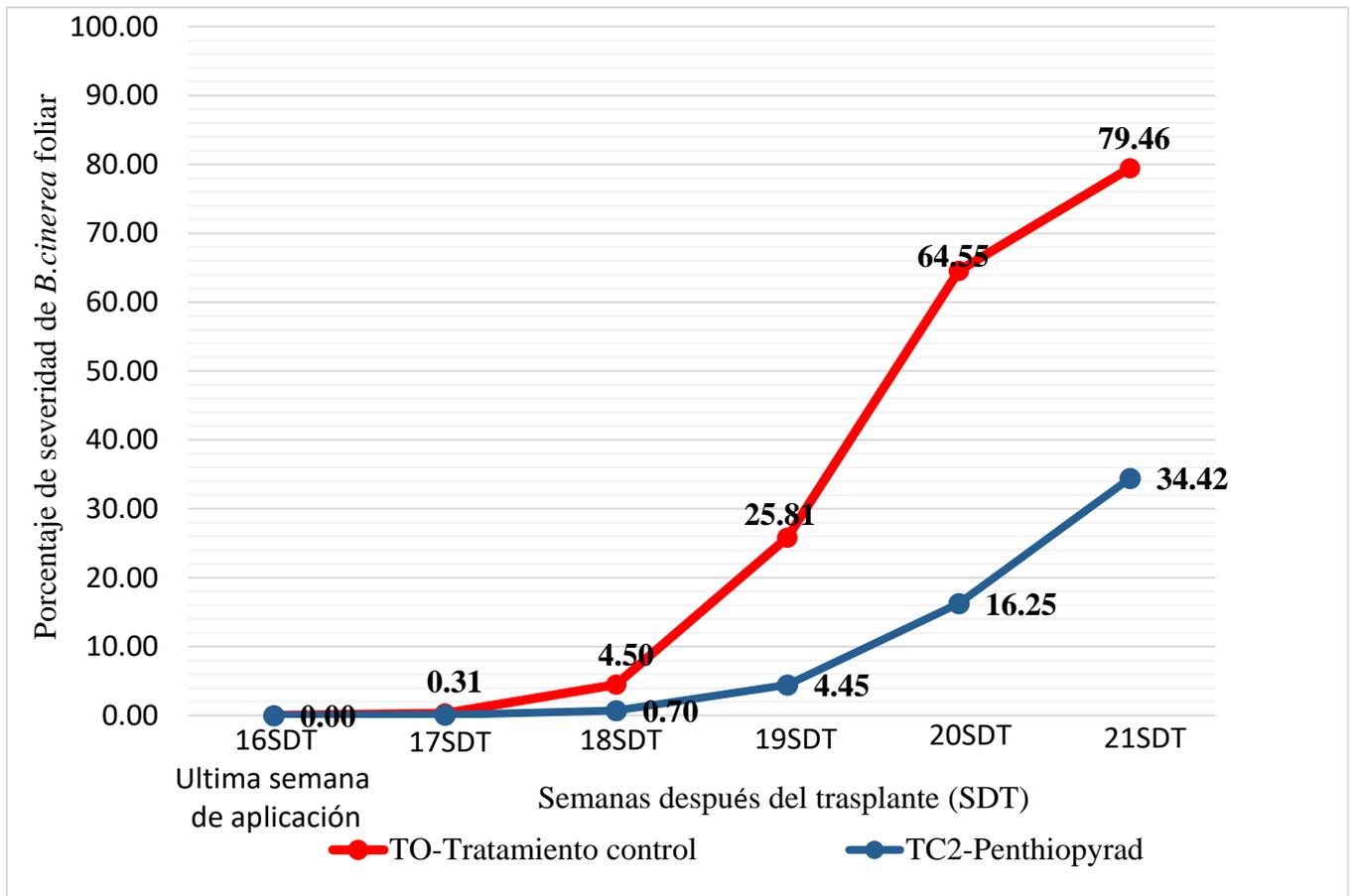
El ácido cítrico presente en la formulación del Fx-31 produce un efecto en planta, alterando la distribución de los carbohidratos hacia vías que presentan una mayor resistencia a condiciones desfavorables; como se demostró en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) que produjeron mayor biomasa y producción de aceite esencial (Talebi *et al.*, 2014).

Además, el ácido cítrico reduce la producción de etileno del tejido vegetativo; debido a que la conversión de ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) a etileno está mediado por la reacción de radicales libres. Esta inhibición de la producción de etileno controla eficazmente el moho gris, por ser un patógeno que coloniza tejidos envejecidos y su infección está asociada al aumento de la producción de etileno del tejido huésped (Elad,

1992). Estos efectos además del producido en planta por el cobre y zinc, aumentó el control de la enfermedad, permitiendo presentar los tratamientos Fx-2S y Fx-1S un porcentaje de severidad foliar y ABCPE menor a los tratamientos Zy-2S y Zy-1S en las semanas de evaluación.

El mecanismo de acción en múltiples sitios del cobre, zinc y el ácido cítrico dificulta el desarrollo de cepas resistentes de patógenos. En oomicetos y hongos no se han reportado resistencia a diversos compuestos de cobre según lo informado por el Comité de Acción de Resistencia a los Fungicidas. En el caso del Zn, su efecto antimicótico se comprobó contra diferentes grupos fitopatógenos, como los ascomicetos (*Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium graminearum*, *Penicillium expansum*) (Kalia *et al.*, 2020; La torre *et al.*, 2018). Por lo tanto, no se obtuvo un menor porcentaje de severidad foliar en los tratamientos Zy-2S, Zy-1S, Fx-2S y Fx-1S debido a la desintegración de las partículas produciendo un menor efecto protector en las últimas semanas de evaluación.

El producto utilizado como tratamiento TC2 fue Fontelis, un fungicida químico traslaminar y sistémico de amplio espectro de actividad (Farmagro, s.f.). Su ingrediente activo es el penthiopyrad que actúa en el complejo enzimático II de la cadena respiratoria mitocondrial; por lo cual, el patógeno no puede producir energía vital (Martiagricola, 2017; Yanase *et al.*, 2013).

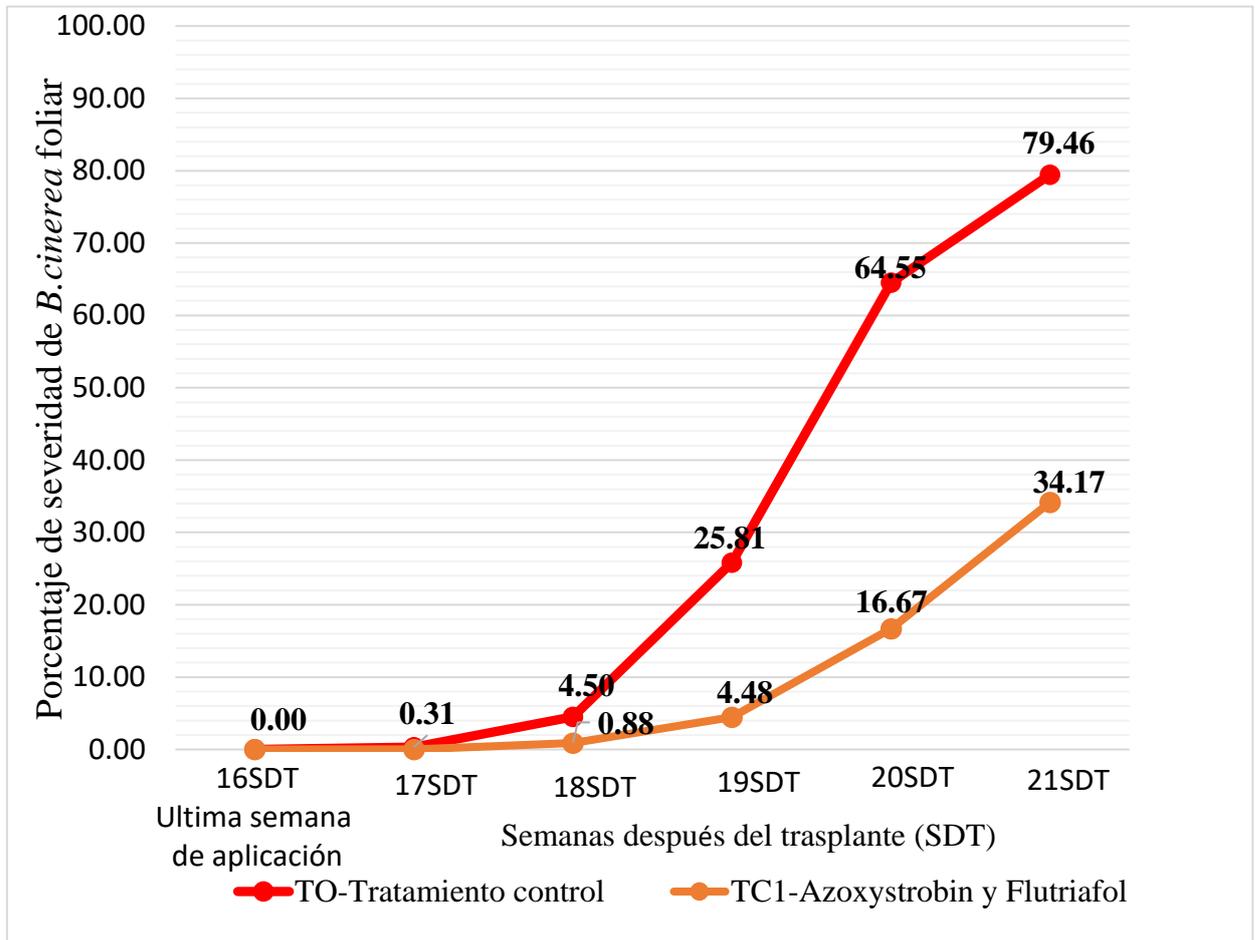


**Figura 22: Comportamiento temporal del porcentaje de severidad de *B.cinerea* en el follaje de TC2-Penthiopyrad desde las 17 SDT a las 21 SDT, SDT: Semanas después del trasplante.**

Las primeras cuatro semanas después de la última aplicación, se mantuvo el efecto protector del producto Fontelis, logrando disminuir los síntomas de la enfermedad foliar comparándolo con el testigo (figura 22); lo cual resultó en un menor progreso de la enfermedad con un valor de ABCP de 270.43, significativamente menor al testigo (T0) y los tratamientos con los fertilizantes foliares probados (tabla 9). Esto debido a que el penthiopyrad queda retenido por mayor tiempo en las ceras epicuticulares de hojas y frutos, por sus propiedades lipofílicas; disminuyendo su lavado por lluvia o/y riego y favoreciendo a un control residual del producto (Martiagricola, 2017).

Con la protección del ingrediente activo penthiopyrad en las primeras semanas después de la aplicación se redujo el porcentaje de severidad de *B. cinerea* en el follaje de 34.41 % significativamente menor que el testigo con 79.46 % y de tratamientos fertilizantes foliares probados a las 21 SDT (tabla 8). No se puede reducir la severidad de *B. cinerea* en el follaje menor al 30%, debido a que se perdió el control residual. Además, el moho gris es un patógeno con la capacidad de desarrollar resistencia a fungicida en poco tiempo; de los 580 aislados de *B. cinerea* analizados en 27 fincas durante 2014, 2015 y 2016 en Huelva y

Málaga, se detectaron cepas con resistencia mediana para penthiopyrad (25%); pudiendo así posiblemente sobrevivir fuentes de inóculo después de la última aplicación. (Fernández *et al.*, 2017).



**Figura 23:** Comportamiento temporal del porcentaje de severidad de *B. cinerea* en el follaje de TC1-Azoxystrobin y Flutriafol desde las 17 SDT a las 21 SDT, SDT: Semanas después del trasplante.

El producto utilizado como tratamiento TC1 fue Authority, un fungicida de amplio espectro con dos ingredientes activos, azoxystrobin y flutriafol (CHEMINOVA, 2014). Azoxystrobin inhibe la respiración mitocondrial al unirse al citocromo bc1 del hongo (Chuan-ging *et al.*, 2011; Leroux *et al.*, 2010). Y flutriafol es un triazol que inhibe la biosíntesis de esteroides (Cotterill, 1991; Santana *et al.*, 2009). Las primeras cuatro semanas después de la última aplicación, se mantuvo el efecto protector del producto, logrando disminuir los síntomas de la enfermedad foliar comparándolo con el testigo (figura 23); lo cual resultó en un valor de ABCPE de 273.89, significativamente menor al tratamiento testigo y a los tratamientos con los fertilizantes foliares (tabla 9) (CHEMINOVA, 2014).

Con la protección de los ingredientes activos las primeras semanas después de la aplicación se redujo el porcentaje de severidad de *B. cinerea* en el follaje a 34.16 %, significativamente menor que el testigo con 79.46 % y de tratamientos fertilizantes foliares probado a las 21 SDT. Si bien, la mezcla de dos ingredientes activos con diferente mecanismo de acción azoxistrobina y flutriafol perteneciente al grupo 3 y grupo 11 del FRAC respectivamente; permite disminuir la capacidad de desarrollar cepas resistentes del patógeno (US EPA, 2015). Se encontró cepas resistentes a la azoxistrobina en *B. cinerea* con una frecuencia de 1,14% para la fresa en Xiasha, Zhejiang (Chuan-ging *et al.*, 2011); sobreviviendo así posiblemente fuentes de inóculo semanas después de la última aplicación y con la desintegración de los ingredientes activos no se pudo reducir la severidad de *B. cinerea* en el follaje menor al 30 %.

#### 4.2.3 Incidencia de *Botrytis cinerea* en flores

La evaluación de este parámetro comenzó a las 8 SDT, pero recién a las 13 SDT se detectaron los primeros valores en el T0, presentando este último en las siguientes evaluaciones los mayores valores, seguido de Zy-2S y Fx-2S. Los tratamientos foliares con aplicaciones semanales Zy-1S y Fx-1S; ocuparon el cuarto y quinto lugar en todas las evaluaciones. Por otro lado, los tratamientos con fungicidas químicos obtuvieron los menores valores.

**Tabla 10: Promedio del porcentaje de incidencia de *B. cinerea* en flores de los bloques de todos los tratamientos en las semanas de evaluación, SDT: Semanas después del trasplante**

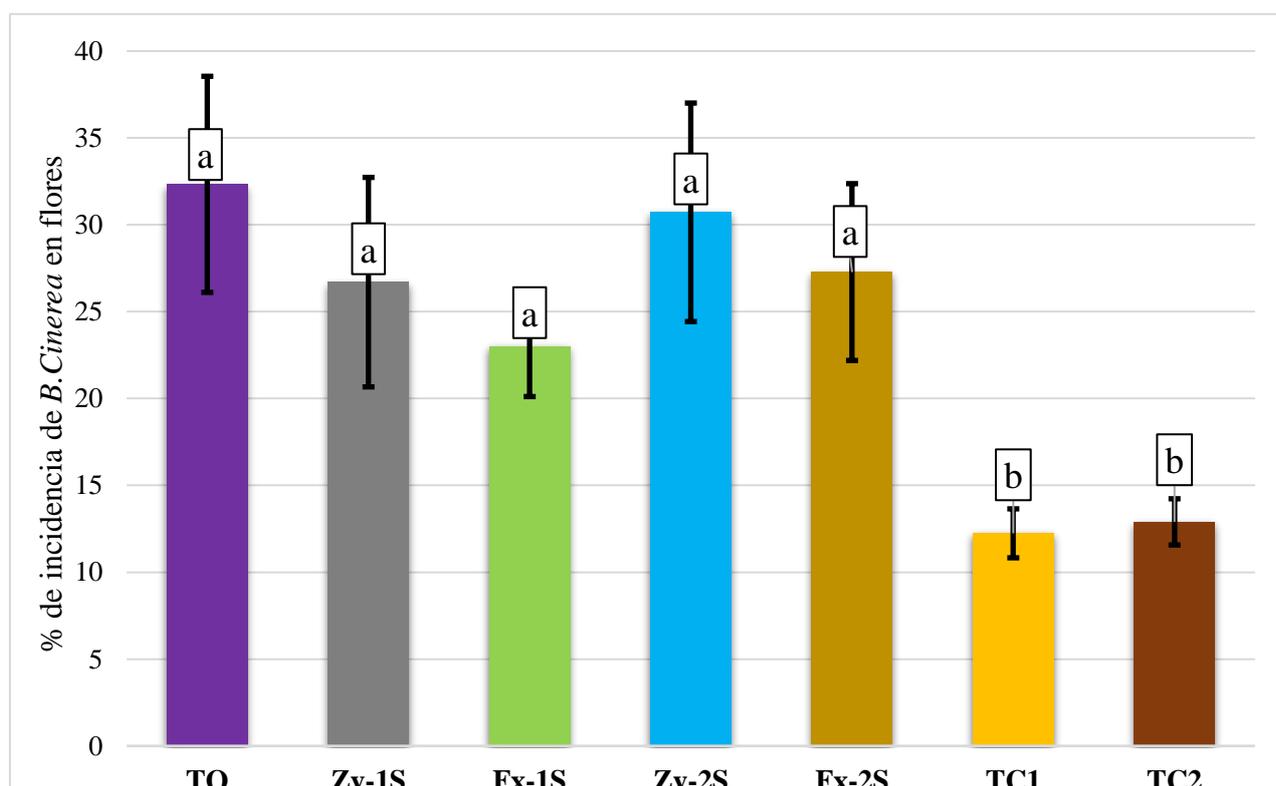
Tratamiento	Código	13 SDT	14 SDT	15 SDT	16 SDT	17 SDT	18 SDT
0	TO	0.52 %	4.70 %	20.64 %	25.13 %	29.98 %	32.33 %
1	Zy-1S	0 %	3.15 %	13.81 %	17.29 %	21.55 %	26.70 %
2	Fx-1S	0 %	2.62 %	13.16 %	13.87 %	15.30 %	23.02 %
3	Zy-2S	0 %	2.38 %	18.89 %	23.42 %	26.26 %	30.72 %
4	Fx-2S	0 %	2.36 %	13.75 %	16.70 %	18.50 %	27.28 %
5	TC1	0 %	0 %	1.38 %	5.06 %	7.32 %	12.24 %
6	TC2	0 %	0 %	1.67 %	5.43 %	8.61 %	12.90 %

A las 18 SDT el tratamiento T0 tuvo el mayor porcentaje de incidencia de *B. cinerea* en flores con un promedio de 32.33 %, seguido de Zy-2S con un promedio de 30.72 %. El tercero, cuarto y quinto con mayor valor fue el Fx-2S, Zy-1S y Fx-1S con promedios de 27.28 %, 26.70 % y 23.02 % respectivamente. Finalmente, los dos menores valores fueron el TC2 y TC1 con 12.90 % y 12.24 % respectivamente (tabla 11).

**Tabla 11: Resultados promedio del porcentaje de incidencia de *Botrytis cinerea* en flores de cada tratamiento a las 18 semanas después del trasplante (18 SDT), con la comparación de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$**

Tratamiento	Código	Ingrediente activo	Frecuencia de aplicación	Porcentaje de incidencia de <i>B. cinerea</i> en flores a las 18 SDT (%)
0	TO	-	-	32.33 a
3	Zy-2S	Cu+Zn	Cada 2 semanas	30.72 a
4	Fx-2S	Cu+Zn+Ác.cítrico	Cada 2 semanas	27.28 a
1	Zy-1S	Cu+Zn	Cada semana	26.70 a
2	Fx-1S	Cu+Zn+Ác.cítrico	Cada semana	23.02 a
6	TC2	Penthiopyrad	Cada semana	12.90 b
5	TC1	Azoxystrobin y Flutriafol	Cada semana	12.24 b

C.V. (%): 18.31



**Figura 24: Porcentaje de incidencia de *Botrytis cinerea* en flores de cada tratamiento a las 18 semanas después del trasplante (18 DDT), con la comparación de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$  en el porcentaje de incidencia.**

#### 4.2.4 Incidencia de *Botrytis cinerea* en frutos

La evaluación de este parámetro comenzó a las 8 SDT, pero recién a las 14 SDT se detectaron los primeros valores en Fx-2S y Fx-1S con 0.14% y 0.03% respectivamente. A las 16 SDT, Zy-2S y Zy-1S tuvieron los mayores valores con 0.20% para los dos, aparecieron frutos infectados en TC2 y TC1 a las 17 SDT con una incidencia de 0.07% y 0.05. TO superó a todos los otros tratamientos a las 17 y 18 SDT con valores de 0.49% y 1.75% respectivamente (tabla 12).

En la última evaluación (19 SDT), el tratamiento T0 tuvo el mayor porcentaje de incidencia con un promedio de 1.67 %, seguido de Fx-2S con un promedio de 1.33 %. El tercero, cuarto y quinto con mayor valor fue el Zy-2S, Zy-1S y Fx-1S con promedios de 1.26 %, 0.84 % y 0.71 % respectivamente. Finalmente, los dos menores valores fueron el TC1 y TC2 con 0.38 % y 0.32 % respectivamente.

**Tabla 12: Promedio del porcentaje de incidencia de *B. cinerea* en frutos de los bloques de todos los tratamientos en las semanas de evaluación, SDT: Semanas después del trasplante**

Tratamiento	Código	14 SDT	15 SDT	16 SDT	17 SDT	18 SDT	19 SDT
0	TO	0.00 %	0.04 %	0.07 %	0.49 %	1.75 %	1.67 %
1	Zy-1S	0.00 %	0.13 %	0.20 %	0.39 %	1.18 %	0.84 %
2	Fx-1S	0.03 %	0.08 %	0.14 %	0.30 %	0.88 %	0.71 %
3	Zy-2S	0.00 %	0.00 %	0.20 %	1.11 %	1.68 %	1.26 %
4	Fx-2S	0.14 %	0.11 %	0.15 %	0.39 %	1.26 %	1.33 %
5	TC1	0.00 %	0.00 %	0.03 %	0.05 %	0.11 %	0.38 %
6	TC2	0.00 %	0.00 %	0.00 %	0.07 %	0.13 %	0.32 %

En el experimento se registró síntomas en flores y frutos a partir de las 13 SDT, esto debido a que la presencia de una leve precipitación en las 12 SDT favoreció a la esporulación y dispersión del inóculo por el agua libre en la superficie del tejido (figura 18), a pesar de no presentar periodos largos de alta humedad (>90%) y temperatura de 20°C para la infección de flores y frutos (Molina *et al.*, 2004). Por lo cual, al humedecer la flor se crea un medio favorable para el desarrollo rápido del hongo, si se mantiene por largos periodos el hongo esporula cubriendo toda la flor con una masa gris (Chaves & Wang, 2004, De Granada, 1992; La torre *et al.*, 2002; Molina *et al.*, 2004).

Además, como la floración empezó a las 7 SDT y fructificación a las 9 SDT, hubo flores senescentes y frutos maduros que son susceptibles a la penetración del patógeno, al ser

*Botrytis cinerea* un patógeno necrotrófico oportunista que coloniza fácilmente tejidos débiles, dañados, senescentes o muertos. Y la resistencia de los tejidos particularmente en frutas y flores, disminuye con el envejecimiento o la maduración (Cristescu *et al.*, 2002; Elad & Evensen, 1995)

No se reportó alto índice de incidencia en frutos, no mayor a 2%, en todos los tratamientos hasta la última semana de evaluación (tabla 12); debido a que, los frutos inmaduros son resistentes a la pudrición por *B. cinerea*, volviéndose cada vez más susceptible con la maduración (Shah *et al.*, 2012). Durante la cosecha, iniciada las 17 SDT, se extraían frutos semimaduros con una coloración de epidermis acaramelada, esto disminuyó la cantidad de frutos maduros susceptibles a la infección.

Además, el grosor de la cutícula de los frutos del tomate proporciona resistencia mecánica a la penetración al moho gris, tomando más tiempo su degradación por el patógeno. Cuando la cutícula está intacta evita la difusión de soluciones celulares, limitando la disponibilidad de agua y nutrientes en la superficie de la planta. También, la hidrofobicidad de las ceras cuticulares reduce la acumulación de agua en la superficie del tejido por lluvia, riego o condensación (Elad & Evensen, 1995).

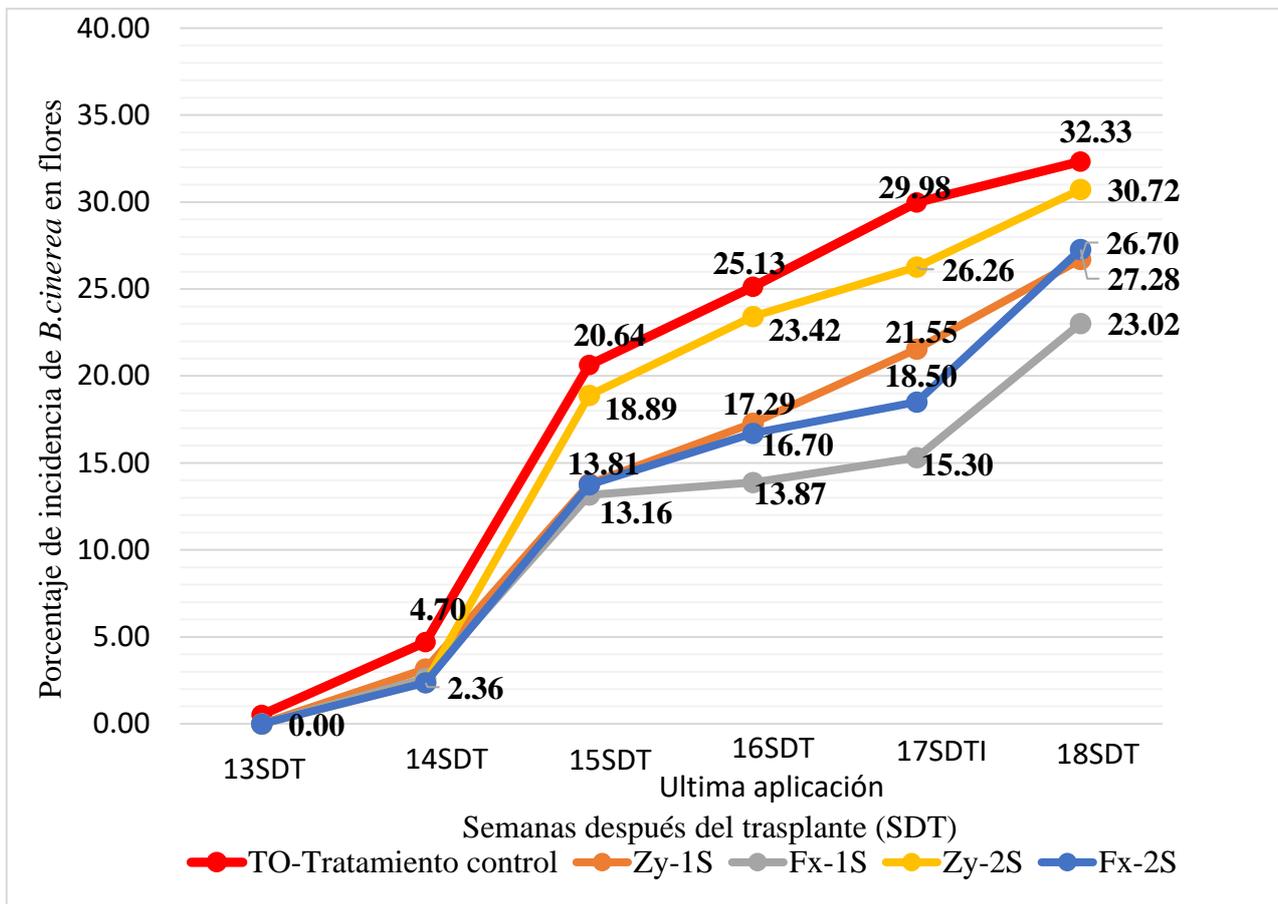


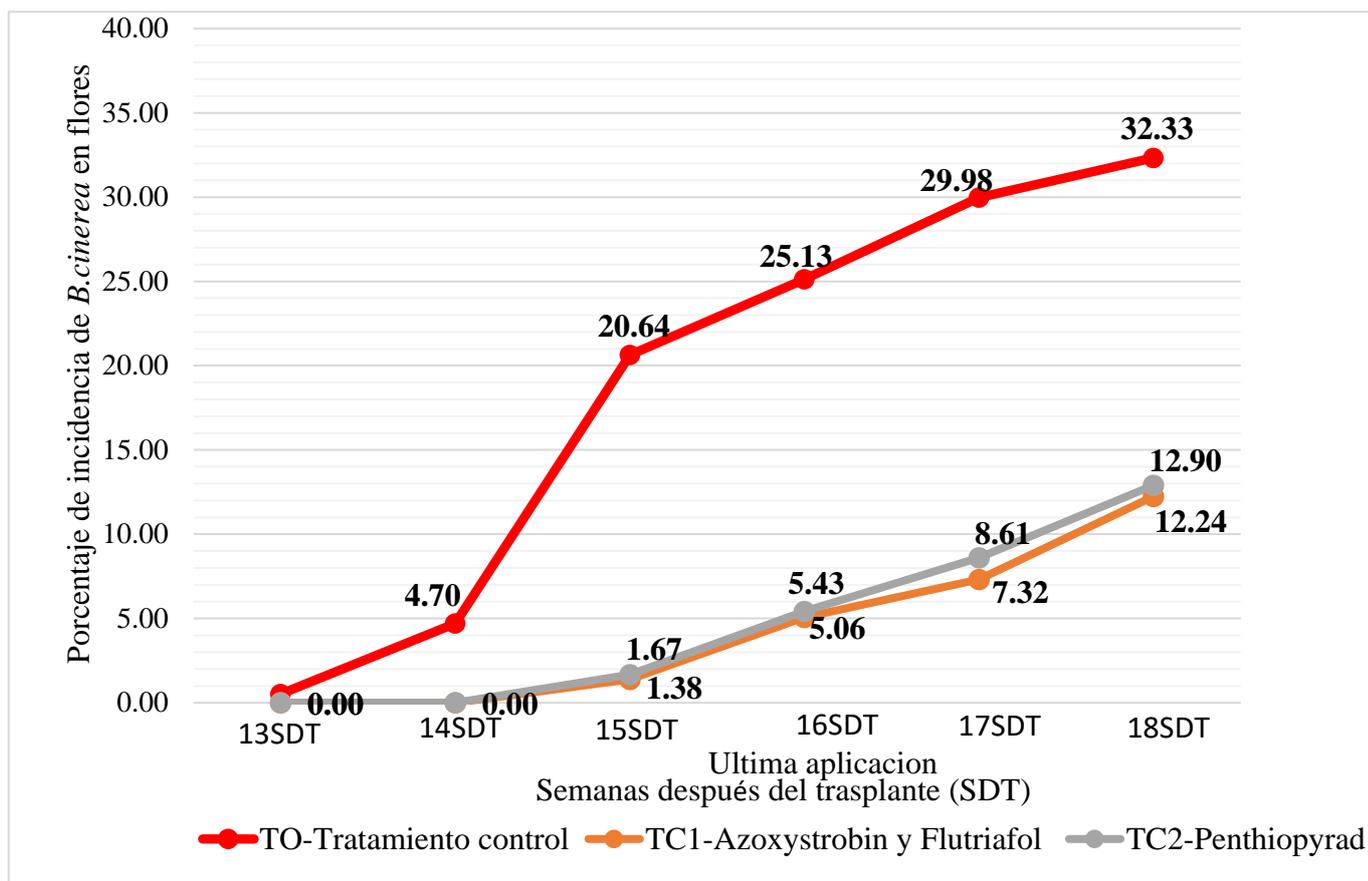
Figura 25: Comportamiento temporal del porcentaje de incidencia de *B.cinerea* en flores de Zy-1S, Fx-1S, Zy-2S y Fx-2S desde la 13 SDT a las 18 SDT, SDT: Semanas después del trasplante.

Con respecto a la incidencia de *B. cinera* en flores; aunque la última aplicación fue realizada a las 16 SDT, no se reportó una significativa reducción de la incidencia en flores con respecto al testigo, con valores a las 18 SDT de 26.70%, 30.72% y 32.33 para Zy-1S, Zy-2S y T0 respectivamente; a pesar de que, las partículas de cobre y el zinc dañan al patógeno (Kalia *et al.*, 2020; La torre *et al.*, 2018; Rai *et al.*, 2018). Debido a que la aspersion de la solución debe caer y cubrir a toda la flor para evitar cualquier infección, ya que el daño causado por *B. cinerea* en flor conlleva a una pérdida de estructura (Mauricio, 2018). Además, como generalmente las flores se ubicaban detrás de las hojas, la mayoría de las partículas que proporcionaban un efecto protector quedaban retenidas en el follaje.

La estructura de la flor es de poca duración (Cristescu *et al.*, 2002; Elad & Evensen, 1995); por ello, tampoco se aprovechó a largo plazo el efecto en planta del cobre, por su inducción de peroxidasa que proveen resistencia a patógenos y fortalecimiento de la pared celular por la acumulación de lignina y suberina (Chmielowska *et al.*, 2010; Rai *et al.*, 2018). Ni del zinc, al desintoxicar los radicales de superóxidos evitando la falta de estructura y posterior fuga de compuestos de bajo peso molecular como carbohidratos (Cabot *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 20189).

En los tratamientos Fx-1S y Fx-2S que además contar con el efecto antifúngico de las partículas cobre y el zinc, se adicionó el efecto del ácido cítrico. Un antioxidante que capta radicales libres generados por tejidos infectados por el patógeno o envejecimiento, para formar compuestos inofensivos y retrasar el desarrollo de la enfermedad (Elad, 1992; Elkorany & Mohamed, 2008). Este efecto adicional del ácido cítrico redujo notoriamente el porcentaje de incidencia en flor en comparación con el testigo; desde la primera semana de aplicación hasta la última (16 SDT). Después su efecto se vio notablemente reducido siendo las 17 y 18 SDT los puntos de inflexión, habiendo una menor reducción en el tratamiento Fx-1S por las aplicaciones semanales (figura 25). Por ello y al no evidenciar el efecto protector de cobre y zinc por lo explicado anteriormente, no se reportó una significativa reducción de la incidencia en flores con respecto al testigo, con valores a las 18 SDT de 23.02 %, 27.28% y 32.33 para Fx-1S, Fx-2S y T0 respectivamente.

El fungicida de amplio espectro utilizado para el tratamiento TC1 fue Authority, que impide el desarrollo micelial y la germinación de esporas por sus dos ingredientes activos, azoxystrobin al inhibir la respiración mitocondrial y flutriafol la biosíntesis de bioesteroles (CHEMINOVA, 2014). Y para TC2 fue el Fontelis con su ingrediente activo penthiopyrad que inhibe la succinato deshidrogenasa (SDHI), por lo cual, el patógeno no puede producir energía vital en forma de ATP (Farmagro, s.f; Yanase *et al.*, 2013).

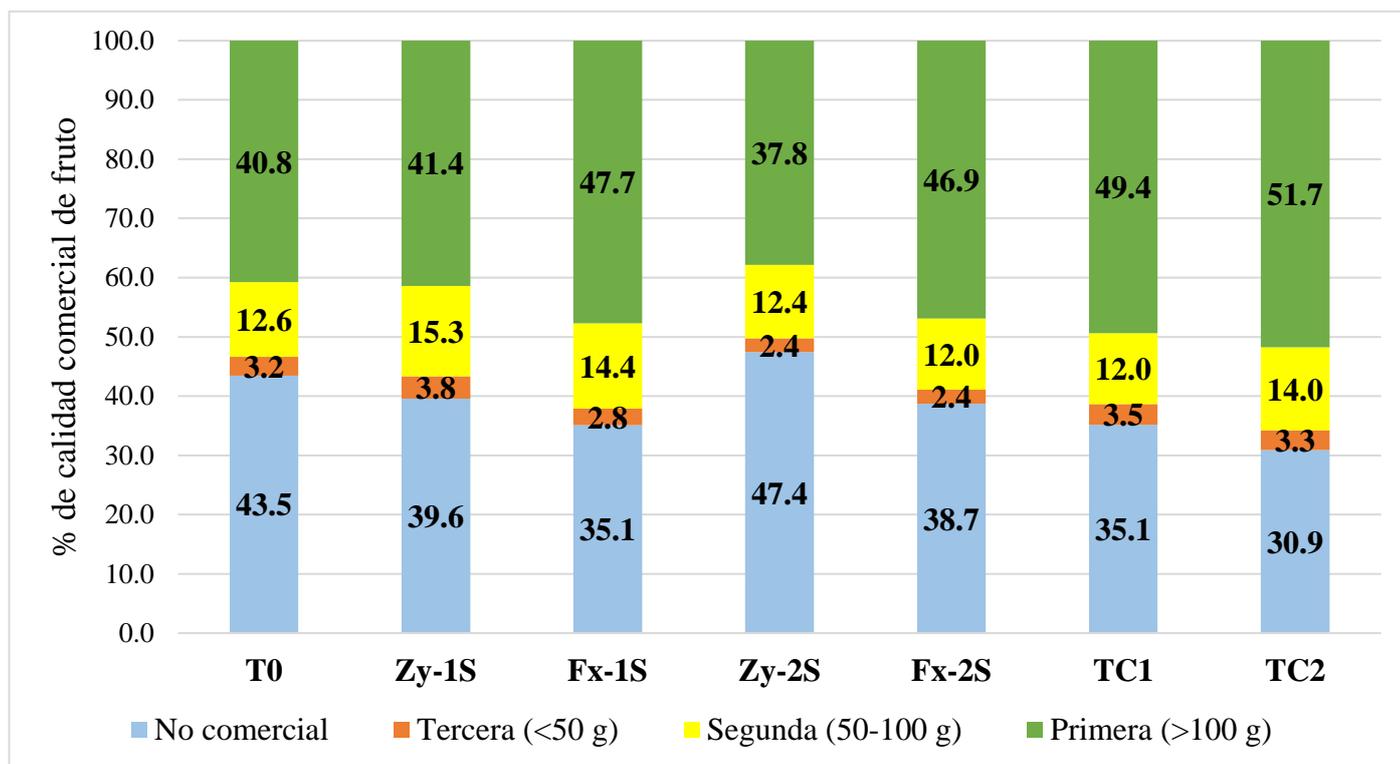


**Figura 26: Comportamiento temporal del porcentaje de incidencia de *B.cinerea* en flores de TC1 y TC2 desde las 13 SDT a las 18 SDT, SDT: Semanas después del trasplante.**

Con la protección de los ingredientes activos de TC1 y TC2 y desde las 8SDT hasta las 16 SDT, y su acción preventiva, curativa con propiedades translaminares y sistémicas que se esparce por toda la estructura de la flor (CHEMINOVA, 2014; Farmagro, s.f.). Hubo notable reducción de la incidencia de *B. cinerea* en flores en comparación con el testigo en las 6 semanas de evaluación (figura 26); reportando en las 18 SDT incidencia en las flores de 12.90 % y 12.24 % significativamente menor que el testigo con 32.33 % y de tratamientos fertilizantes foliares. No se reportaron valores menores debido a que la susceptibilidad en la infección de flores, aumenta con el envejecimiento (Cristescu *et al.*, 2002; Elad & Evensen, 1995). Y el daño causado por *B. cinerea* en flor conlleva a una pérdida de la estructura sin oportunidad de recuperar la flor a través de alguna medida fitosanitaria (Mauricio, 2018).

#### 4.2.5 Calidad comercial de los frutos

Los frutos de la segunda, tercera, cuarta, quinta y sexta cosecha fueron clasificados de acuerdo a la calidad comercial, según los rangos establecido para el mercado nacional (figura 27).



*Figura 27:* Promedio del porcentaje de frutos de cada tratamiento clasificado en: a) Primera: Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso mayor de 100 g, b) Segunda: Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso entre 50-100 g, c) Tercera: Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso menor a 50 g y d) No comercial: Fruto con daño físico, de plaga o enfermedad (Gonzales, 2016).

#### 4.2.6 Rendimiento

En total se realizaron siete cosechas desde las 16 SDT a las 22 SDT; en la tercera, cuarta y quinta cosecha se obtuvieron los mayores pesos de frutos (tabla 13).

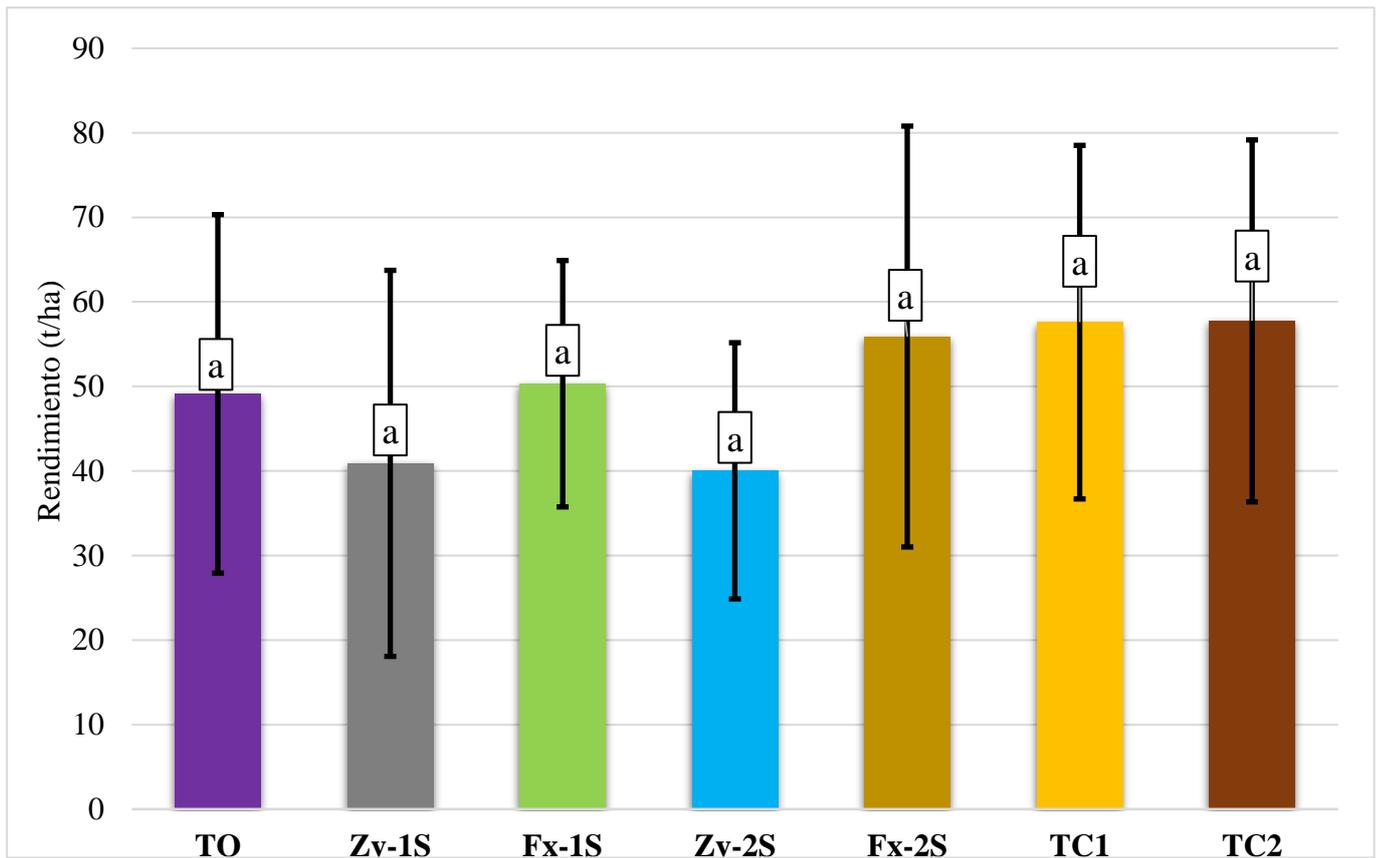
**Tabla 13: Promedio del peso de frutos de las siete cosechas (t/ha) de los bloques de todos los tratamientos**

Tratamiento	Código	16 SDT	17 SDT	18 SDT	19 SDT	20 SDT	21 SDT	22 SDT
0	TO	2.94	1.86	8.38	13.47	15.10	5.87	1.50
1	Zy-1S	2.62	1.97	7.10	10.86	10.12	6.64	1.57
2	Fx-1S	2.54	2.09	6.71	10.50	17.30	8.49	2.67
3	Zy-2S	2.75	1.45	7.26	10.69	9.88	6.59	1.41
4	Fx-2S	2.88	1.39	7.0	14.86	16.50	9.62	3.66
5	TC1	2.29	1.19	7.09	15.84	15.56	11.21	4.43
6	TC2	2.14	1.40	7.40	13.31	17.87	10.28	5.35

**Tabla 14: Rendimiento promedio de los bloques de todos los tratamientos, con la comparación de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$** 

Tratamiento	Código	Ingrediente activo	Frecuencia de aplicación	Rendimiento (t/ha)
6	TC2	Penthiopyrad	Cada semana	57.75 a
5	TC1	Azoxystrobin y Flutriafol	Cada semana	57.60 a
4	Fx-2S	Cu+Zn+Ác.cítrico	Cada 2 semanas	55.90 a
2	Fx-1S	Cu+Zn+Ác.cítrico	Cada semana	50.32 a
0	TO	-	-	49.12 a
1	Zy-1S	Cu+Zn	Cada semana	40.90 a
3	Zy-2S	Cu+Zn	Cada 2 semanas	40.02 a

C.V. (%): 19.99



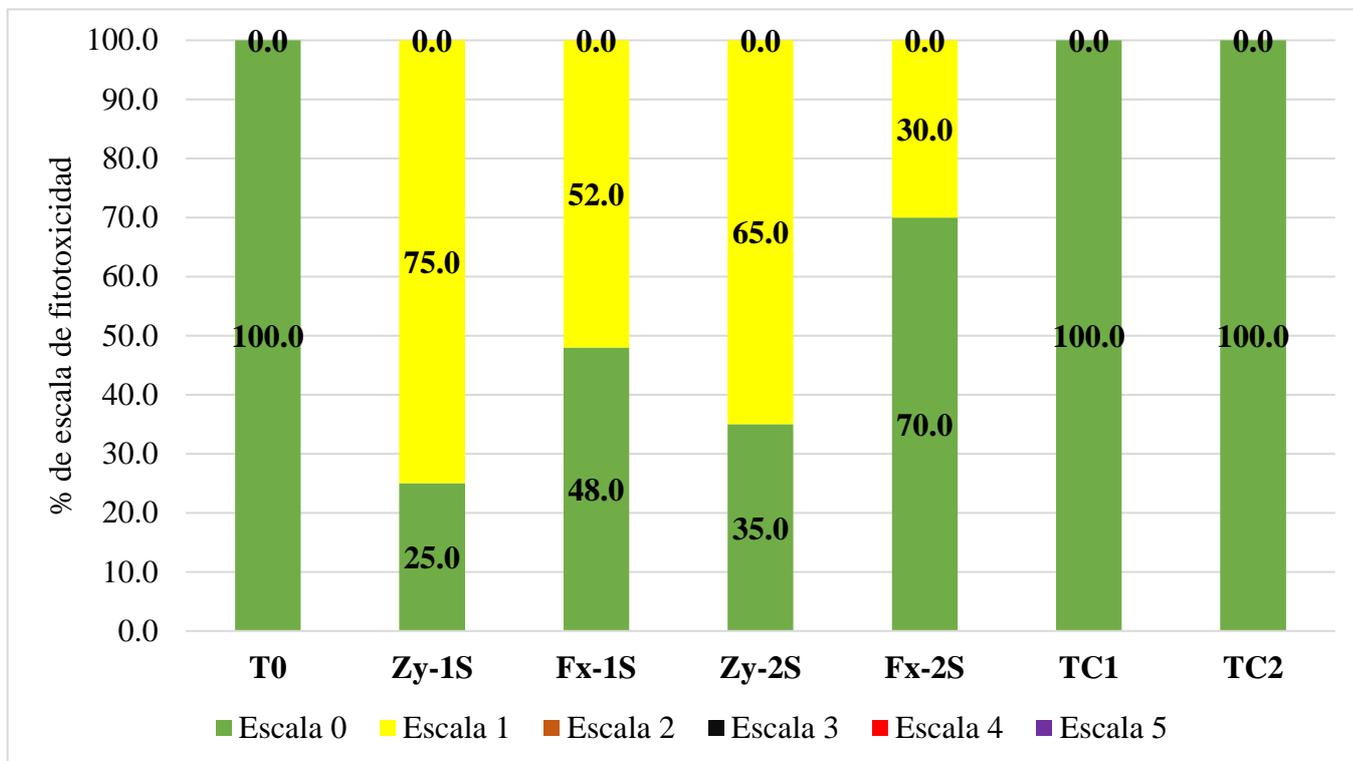
**Figura 28:** Rendimiento (t/ha) todos los tratamientos, con la comparación de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$ .

A pesar de no presentar diferencia significativa de rendimiento ningún tratamiento con el testigo (tabla 14), cabe resaltar los tratamientos con valores de rendimiento mayores a 50 t/ha. Como los tratamientos Fx-1S y Fx-2S con valores de rendimiento 50.32 y 55.90 t/ha (figura 28) y con casi 50% de calidad comercial primera diferente al 40% del testigo, por el efecto de los antioxidantes que pueden mejorar el rendimiento y calidad (Elkorany & Mohamed, 2008).

También los tratamientos TC2 y TC1 con valores de 57.75 y 57.60 t/ha respectivamente (figura 28) y con casi 50% de calidad comercial primera diferente al 40% del testigo. Esto debido a la reducción significativa en la severidad foliar en el periodo de cosecha, disminuyendo el daño causado por *B. cinerea* en las hojas y estas pueden realizar una fotosíntesis eficiente. Además, la reducción significativa de la incidencia en flores permitió tener mayores flores que luego pueden convertirse en frutos.

#### 4.2.7 Fitotoxicidad

Los resultados obtenidos en la evaluación de la fitotoxicidad de cada tratamiento una semana después de acabar con las siete aplicaciones, se especifica en la figura 29.



**Figura 29:** Porcentaje promedio de fitotoxicidad de cada tratamiento evaluada una semana después de acabar con las siete aplicaciones. Se utilizó la escala de Alzate *et al.* (2009) de 0 a 5: a) Escala 0: Planta iguales al testigo absoluto; b) Escala 1: Leve clorosis y presencia de pecas; c) Escala 2: Clorosis acentuada y ligera reducción distinguible en el crecimiento o presencia de pocas manchas; d) Escala 3: Inhibición del crecimiento, clorosis marcada y anormalidades morfológicas; e) Escala 4: Planta muy afectada sin posibilidad de recuperación, pero hay aún presencia de tejido verde y f) Escala 5: Necrosis y muerte de planta.

Con la aplicación foliar de los tratamientos Zy-1S, Zy-2S, Fx-1S y Fx-2, hubo un incremento de cobre y zinc en los tejidos de la planta, principalmente hojas. La concentración elevada de cobre celular conduce en un aumento de las concentraciones reactivas de oxígeno (ROS), como el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y el radical hidroxilo (OH<sup>-</sup>) causando estrés oxidativo, evidenciándose en las hojas síntomas de clorosis, manchas necróticas y quemaduras en los márgenes (Lamichhane *et al.*, 2018; La Torre *et al.*, 2018). Y la fitotoxicidad del zinc disminuye la translocación de hierro (Fe), manifestándose en una disminución de los niveles de clorofila (clorosis) (Cabot *et al.*, 2019; Rout & Das, 2003).

Como los síntomas de fitotoxicidad de estos nutrientes se evidencian principalmente en las hojas, se clasificó esta en cinco escalas específicas y los resultados se muestran en la figura 29. Con los fertilizantes foliares, dosis y periodo de aplicación utilizados en el experimento, se reportó en la investigación solo hojas con síntomas de escala 1 (figura 30).

De acuerdo a la figura 29, los tratamientos Fx-1S y Fx-2S presentaron menor porcentaje de hojas con fitotoxicidad escala 1 comparado con los tratamientos Zy-1S y Zy-2S, debido a la protección dada por el ácido cítrico al captar radicales libres producto del daño al tejido y formar compuestos inofensivos (Elkorany & Mohamed, 2008). Por otro lado, se detectó mayor porcentaje de hojas con fitotoxicidad escala 1 en las aplicaciones semanales de los fertilizantes foliares, Zy-1S y Fx-1S, por una mayor concentración de cobre y zinc en las hojas.

En los tratamientos TC1 y TC2 no se detectaron plantas con algún síntoma de toxicidad, debido a la dosis usada en el experimento fue la señalada por la ficha técnica de los productos para *Botrytis cinerea* en tomate (tabla 2). Para TC1 se señala la dosis de 0.5 l/ha y para TC2 la dosis de 1 l/ha (Farmagro, s.f; Farmex, 2019).



**Figura 30:** Hojas con fitotoxicidad escala 1 (leve clorosis y presencia de pecas), encontrados en el experimento.

## V. CONCLUSIONES

1. Bajo condiciones de laboratorio; los tratamientos foliares mostraron un mayor efecto antifúngico significativo en el diámetro del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* (mm) a los 6 DDI con respecto al testigo. Siendo los de mayores valores T3- Cu + Zinc + Ácido cítrico 0.5l/cil y T2- Cu + Zinc 1 l/cil superando al 90%. El único tratamiento químico probado T4-Boscalid 250g/cil fue el de menor efecto antifúngico, no difiriendo significativamente con el T0-Testigo.
2. Bajo las condiciones agroecológicas de La Molina; la aplicación directa de los fertilizantes foliares, a excepción del Zy-2S, mostraron un efecto significativo en la reducción del porcentaje de severidad de *B. cinerea* en el follaje a las 21 SDT y en los valores de ABCPE con respecto al testigo. Presentando un mayor control en aquellos tratamientos que se aplicaron semanalmente el fertilizante foliar. Por otro lado, no hubo efecto significativo de los tratamientos foliares en la reducción del porcentaje de incidencia de *Botrytis cinerea* en flores ni en frutos.
3. Bajo las condiciones agroecológicas de La Molina; los tratamientos Fx-1S y Fx-2S presentaron mayores valores de rendimiento y porcentaje de calidad comercial comparado con el testigo. Por otro lado, todos los tratamientos foliares presentaron cierto porcentaje de fitotoxicidad de escala 1; detectándose mayor porcentaje en aquellos tratamientos que se aplicaron semanalmente el fertilizante foliar.

## VI. RECOMENDACIONES

- Se ha demostrado que la cepa utilizada por *Botrytis cinerea* presentó resistencia al fungicida químico T4-Boscalid 250g/cil, bajo condiciones de laboratorio. Lo cual sería recomendable confirmar los resultados con un experimento bajo condiciones de campo en cultivos que presenten fuerte ataque de este patógeno como son arándano, fresa, tomate, entre otros.
- Se ha comprobado que la aspersión de las partículas antifúngicas debe estar presente en toda la superficie de la planta para un mayor control. Por lo tanto, sería recomendable probar los mismos productos en más semanas de aplicación y con máquinas aspersoras que puedan cubrir toda la planta.
- Probar otros fertilizantes foliares con composiciones de Cu, Zn y ácido cítrico para conocer su efecto en el control de otros patógenos y en diferente cultivo.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. New York, U.S: Academic Press.
- Alzate, D.; Gonzalo, M.; Afanador, L.; Durango, D.; García, C. (2009). Evaluación de la fitotoxicidad y la actividad antifúngica contra *Colletotrichum acutatum* de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*), limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y sus componentes mayoritarios. *VITAE*, 16(1), 116-125.
- Aryal, S. (2018, 15 de agosto). Microbiology Info: Potato Dextrose Agar (PDA)- Principle, Uses, Composition, Procedure and Colony Characteristics. *Microbiology Info.com*. Recuperado de <https://microbiologyinfo.com/potato-dextrose-agar-pda-principle-uses-composition-procedure-and-colony-characteristics>.
- Backhouse, D. & Willets, H. (1987). Development and structure of infection cushions of *Botrytis cinerea*. *Transactions of the British Mycological Society*, 89(1), 89-95.
- Basavaraj, P. & Chetan, H. (2018). Foliar fertilization of nutrients. *Marumegh*, 3(1).
- BASF. (2017). Cantus®, fungicida para vegetales. *BASF*. Recuperado de <https://floragrovvet.com.ec/wp-content/uploads/2017/03/CantusBoscalid.pdf>.
- Baudoin, A. (2017). Manual técnico de producción de tomate con enfoque de buenas prácticas agrícolas. *BIVICA: VDRA*. Recuperado de <https://www.bivica.org/files/tomate-manual-tecnico.pdf>.
- Benito, P.; Arranz, M.; Eslava, P. (2000). Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17, 43-46.
- Bollen, G. & Scholten, G. (1971). Acquired resistance to benomyl and some other systemic fungicides in a strain of *Botrytis cinerea* in cyclamen. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 77(3), 83-90.
- Brierley, W.B. (1920). On a form of *Botrytis cinerea* with colourless sclerotia. *Royal Society*, 210, 83-114.
- Bustamante, N.; Pérez, W.; Aragón, L. (2008). Control químico del tizón tardío (*Phytophthora infestans*) de la papa “canchán” en Huasahuasi, Junín. *Fitopatología*, 43(1), 32-40.

- Cabot, C.; Martos, S.; Llugany, M.; Gallego, B.; Tolra, R.; Poschenrieder, C. (2019). A Role for Zinc in Plant Defense Against Pathogens and Herbivores. *Plant Sci*, 10.
- Calvo, G.C. (2013). *Control de la podredumbre por Botrytis cinerea mediante la aplicación de Candida sake CPA-1 y otras estrategias alternativas a los fungicidas químicos en uva de vinificación* (tesis doctoral). Universidad de Lleida, Lleida, España.
- Campbell, C. & Madden, L. (1990). *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York, U.S: Wiley.
- Chaves, N. & Wang, A. (2004). Combate del moho gris (*Botrytis cinerea*) de la fresa mediante *Gliocladium roseum*. *Agronomía Costarricense*, 28(2), 73-85.
- Chávez, P.A. (2016). *Control de Moho Gris (Botrytis cinerea Pers.) en Bengonia rex con fungicidas químicos y biológicos* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Cheminova. (2014). Ficha técnica Authority® 250 SC. *Cheminova*. Recuperado de [http://www.cheminova.co/download/fichas\\_tecnicas/fungicidas/creft087\\_authority\\_250\\_sc\\_\\_16jun15.pdf](http://www.cheminova.co/download/fichas_tecnicas/fungicidas/creft087_authority_250_sc__16jun15.pdf)
- Chmielowska, J.; Veloso, J.; Gutiérrez, J.; Silvar, C.; Díaz, J. (2010). Cross-protection of pepper plants stressed by copper against a vascular pathogen is accompanied by the induction of a defence response. *Plant Sciences*, 178, 176-182.
- Chuan-ging, Z.; Ya-hui, L.; Lan, D.; Guo-nian, Z. (2011). Shift of sensitivity of *Botrytis cinerea* to azoxystrobin in greenhouse vegetables before and after exposure to the fungicide. *Phytoparasitica*, 39(3), 293–302. doi:10.1007/s12600-011-0159-3.
- Cohen, J.A. (2019). *Estrategias de abonamiento en el cultivo orgánico de tomate miniatura (Solanum lycopersicum var. cerasiforme) en La Molina* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Cotterill, P.J. (1991). Biological mode of action of soil-applied flutriafol in controlling take-all of wheat. *Soil Biology and Biochemistry*, 23(4), 323–329. doi:10.1016/0038-0717(91)90186-n.
- Cristescu, S.; De Martinis, D.; Lintel Hekkert, S.; Parker, D.; Harren, F. (2002). Ethylene Production by *Botrytis cinerea* In Vitro and in Tomatoes. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(11), 5342–5350. doi:10.1128/AEM.68.11.5342-5350.2002.
- De Granada, E. G. (1992). Consideraciones sobre *Botrytis cinerea* Pers., agente causal de la pudrición de las flores. *Agronomía Colombiana*, 9(2), 196-201.

- Dean, R.; Van, J.; Pretorius, Z.; Hammond-Kosack, K.; Di Pietro, A.; Spanu, P.; Rudd, J.;...Foster, G. (2012). The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430.
- Elad, Y. (1992). The use of antioxidants (free radical scavengers) to control grey mould (*Botrytis cinerea*) and white mould (*Sclerotinia sclerotiorum*) in various crops. *Plant Pathology*, 41(4), 417-426. doi:10.1111/j.1365-3059.1992.tb02436.x.
- Elad, Y. & Evensen, K. (1995). Physiological Aspects of Resistance to *Botrytis cinerea*. *The American Phytopathological Society*, 85(6), 637-643.
- Elkorany, A. & Mohamed, R. (2008) . The use of antioxidants to control grey mould and to enhance yield and quality of strawberry. *Journal of Agricultural* 7(1), 1-30.
- Engelbrecht, R.; Pringle, K.; Holz, G. (2004). Occurrence of fruit-decaying fungi on adult male. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 25(2), 48-53.
- Escalona, V.; Alvarado, P.; Monardes, H.; Urbina, C.; Martin, A. (2009). Manual De Cultivo De Tomate. *Hortyfresco.uchile*. Recuperado de [http://www.hortyfresco.uchile.cl/docs/manuales\\_innova/Manual\\_cultivo\\_tomate.pdf](http://www.hortyfresco.uchile.cl/docs/manuales_innova/Manual_cultivo_tomate.pdf).
- Espinosa, M. (2006). *Estudio de la Variabilidad Genética y Organización Cromosómica en el Hongo Fitopatógeno Botrytis cinerea* (tesis doctoral). Universidad de Cádiz, Andalucía, España.
- Eyzaguirre, G. (1972). *Comparativo de 7 fungicidas para el control de Botrytis cinerea en Cítricos* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Fageria, N.; Barbosa, F.; Moreira, A.; Guimaraes, C. (2009). Foliar Fertilization of Crop Plants. *Journal of Plant Nutrition*, 32, 1044-1064.
- FAO. (2013). *El cultivo de tomate con buenas prácticas agrícolas en la agricultura urbana y periurbana*. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i3359s.pdf>.
- Faretra, F.; Antonacci, E.; Pollastro, S. (1988). Sexual behaviour and mating system of *Botryotinia fuckeliana*, teleomorph of *Botrytis cinerea*. *Journal of General Microbiology* 134(9), 2543-2550.
- Farmagro. (s.f.). *Ficha técnica Fontelis®*. Recuperado de [http://www.farmagro.com.pe/media\\_farmagro/uploads/ficha\\_tecnica/fontelis\\_-\\_ft.pdf](http://www.farmagro.com.pe/media_farmagro/uploads/ficha_tecnica/fontelis_-_ft.pdf)
- Farmex (2019). *Ficha técnica Authority 250 SC*. Recuperado de <https://www.farmex.com.pe/uploads/productos/ft/ft-fungicida/authority-250-sc-ft.pdf>

- Farmex. (2013). *Presentación de Fx-31*. Recuperado de <https://es.slideshare.net/christianriegaabuapara/presentacin-frac-en-cebolla-y-fx-31>.
- Fernández, D.; Pérez, A.; Torés, J.; de Vicente, A. (2017). Resistencia a múltiples fungicidas en *Botrytis cinerea* en fresa. *Agrícola Vergel*, 327-330.
- Fernández, D; Chen, F.; Schnabel, G. (2012). Resistance to pyraclostrobin and boscalid in *Botrytis cinerea* isolates from strawberry fields in the Carolinas. *Plant Dis.*, 96, 1198-1203.
- Folgoa, F. J. (2007). *Modelling the Climate in Unheated Tomato Greenhouses and Predicting Botrytis cinerea Infection* (tesis doctoral). Universidad de Évora, Évora, Portugal.
- Fourie, J. & Holz, G. (1994). Infection of plum and nectarine flowers by *Botrytis cinerea*. *Plant Pathology*, 43(2), 309-315.
- Gonzales, J.E. (2016). *Rendimiento y calidad de tomate (Solanum lycopersicum L. cv. Katya) empleando cuatro láminas de riego bajo condiciones de cañete* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina; Lima, Perú.
- Guillermo, J. (2007). Características de la planta. Conjunto Tecnológico para la Producción de Tomate. *Universidad de Puerto Rico*. Recuperado de <https://www.upr.edu/eea/wp-content/uploads/sites/17/2016/03/TOMATE-Character%20de-la-Planta-v2007.pdf>
- Hansen, H. & Smith, R. (1932). The mechanism of variation in imperfect fungi: *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 22(12), 953-964.
- Harrison, J. & Lowe, R. (1987). Wind dispersal of conidia of *Botrytis* spp. pathogenic to *Vicia faba*. *Plant Pathol*, 36(1), 5-15.
- He, L.; Liu, Y.; Mustapha, A.; Lin, M. (2011). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological Research*, 166(3), 207-215.
- INIA. (2018). *Manual de cultivo del tomate al aire*. Recuperado de <https://www.inia.cl/wp-content/uploads/ManualesdeProduccion/11%20Manual%20Tomate%20Aire%20Libre.pdf>.
- ITIS. (18 de mayo de 2020). *Integrated Taxonomic Information System of North America*. Recuperado de [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=521671#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=521671#null).
- Jarvis, W. (1962). Splash dispersal of spores of *Botrytis cinerea*. *Nature*, 193-599.

- Jarvis, W. (1977). *Botryotinia and botrytis species: taxonomy, physiology, and pathogenicity*. Research Station.
- Kalia, A.; Abd-Elsalam, K.; Kuca, K. (2020). Zinc-Based Nanomaterials for Diagnosis and Management of Plant Diseases: Ecological Safety and Future Prospects. *Journal of Fungi*, 6(4), 222–224. doi:10.3390/jof6040222
- Kan, J.V. (2006). Licensed to kill: the lifestyle of a necrotrophic plant pathogen. *Trends in Plant Science*, 11(5), 247-253.
- Katan, T. (1982). Resistance to 3,5-dichlorophenyl-N-cyclic imide ('dicarboximide') fungicides in the grey mould pathogen *Botrytis cinerea* on protected crops. *En Plant Pathology*, 31(2), 133–141.
- Lamichhane, J.; Osdaghi, E.; Behlau, F.; Köhl, J.; Jones, J.; Aubertot, J. (2018). Thirteen decades of antimicrobial copper compounds applied in agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 38(3). doi:10.1007/s13593-018-0503-9.
- La Torre, A.; Iovino, V.; Caradonia, F. (2018). Copper in plant protection: current situation and prospects. *Phytopathologia Mediterranea*, 57(2), 201–236. doi: 10.14601/Phytopathol\_Mediterr-23407
- La Torre, B.; Rioja, M.; Lillo, C. (2002). Efecto de la temperatura en el desarrollo de la infección producida por *Botrytis cinerea* en flores y bayas de uva de mesa. *Ciencia e investigación Agraria: Revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, 29(3), 145–152.
- La Torre, B. & Rioja, M. (2002). Efecto de la temperatura y de la humedad relativa sobre la germinación de conidias de *Botrytis cinerea*. *Ciencia e investigación agraria*, 29(2), 67-72.
- Leroux, P. (2007). *Botrytis: Biology, Pathology and Control: Chemical Control of Botrytis and its Resistance to Chemical Fungicides*. Springer.
- Leroux, P.; Gredt, M.; Leroch, M.; Walker, A. (2010). Exploring Mechanisms of Resistance to Respiratory Inhibitors in Field Strains of *Botrytis cinerea*, the Causal Agent of Gray Mold. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(19), 6615–6630. doi:10.1128/aem.00931-10.
- Lincango, A.L. (2018). *Pruebas de sensibilidad de tres fungicidas monogénicos para el moho gris (Botrytis sp.) en el cultivo de rosa (Rosa sp.)* (Tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador, Pichincha, Ecuador.

- Llanos, A.K. (2017). *Control de Botrytis cinerea Pers. en fresa (Fragaria x ananassa Duch.) cv. Aromas mediante fungicidas biológicos y químicos en Huaral* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Lopes, U.; Laércio, Z.; Nayara, P.; Osorio, G.; Freitas, L. (2017). Resistance of *Botrytis cinerea* to fungicides controlling gray mold on strawberry in Brazil. *Plant Protection*, 76(2), 266-272.
- López, L.M. (2017). Manual técnico del cultivo de tomate *Solanum lycopersicum*. *Mag.go.cr: Inta*. Recuperado de <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-10921.pdf>.
- Lorbeer, J. W. (1980). *The Biology of Botrytis: Variation in Botrytis and Botryotinia*. New York, U.S: *Academic Press*.
- Malandrakis, A.; Kavroulakis, N.; Chrysikopoulos, C. (2019). Use of copper, silver and zinc nanoparticles against foliar and soil-borne plant pathogens. *Science of The Total Environment*, 670, 292–299. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.03.210.
- Marins, L. & Mourato, M. (2016). Effect of Excess Copper on Tomato Plants: Growth Parameters, Enzyme Activities, Chlorophyll and Mineral Content. *Journal of Plant Nutrition*, 29(12), 71-79.
- Martiagricola. (2017). *DuPont™ Fontelis® control de enfermedades*. Recuperado de: <https://www.martiagricola.com/doc/blog/072003-1346292.pdf>
- Mauricio, O. (2018). *Aproximación al manejo de afecto de Botrytis cinerea en cultivos de tomate producido en el municipio de Fómeque, Cundinamarca* (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- MINAGRI. (2017). *Boletín Estadístico de la Producción Agrícola y Ganadera 2017 Trimestre I, II, III y IV*. Recuperado de <http://siea.minagri.gob.pe/siea/?q=produccion-agricola-y-ganadera-2017>
- Molina, G.; de La Rotta, M.; Torres, E. (2004). Incidencia de infecciones quiescentes de *Botrytis cinerea* en flores y frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth.). *Agronomía Colombiana*, 22 (2): 101-109
- Molina, G.; Zaldúa, S.; González, G.; Sanfuentes, E. (2006). Selección de hongos antagonistas para el control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros forestales en Chile. *Bosque*, 27(2), 126-134.
- Morgunov, I.; Kamzolova, S.; Dedyukhina, E.; Chistyakova, T.; Lunina, J.; Mironov, A.; Stepanova, N;... Vainshtein, M. (2017). Application of organic acids for plant

- protection against phytopathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(3), 921–932. doi:10.1007/s00253-016-8067-6.
- Mounyr, B.; Moulay, S.; Saad K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.
- Omex. (2019). *Omex Synergy*. Recuperado de <https://www.omex.com/wp/wpcontent/uploads/2019/01/Zynergy.pdf>.
- Ouda, S.M. (2014). Antifungal Activity of Silver and Copper Nanoparticles on Two Plant Pathogens, *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea*. *Research Journal of Microbiology*, 9(1), 34-42.
- Palomo, I.; Moore-Carrasco, R.; Carrasco, G.; Villalobos, P.; Guzmán, L. (2010). Tomato consumption prevents the development of cardiovascular events and cancer: Epidemiologic antecedents and action mechanisms. *IDESIA*, 28(3), 121-219.
- Pérez, D.K. (2014). Evaluación del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en monocultivo y asociado bajo manejo orgánico en La Molina (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Rai, M.; Ingle, A.; Pandit, R.; Paralikar, P.; Shende, S.; Gupta, I.; Biswas, J;...Silvério da Silva, S (2018). Copper and copper nanoparticles: Role in management of insect-pests and pathogenic microbes. *Nanotechnology Reviews*, 7(4), 303–315. doi:10.1515/ntrev-2018-0031.
- Rincón, H. (2003). Calidad y producción de tomate bola (*Lycopersicon esculentum*) bajo el sistema de cultivo sin suelo (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Coahuila, México.
- Rout, G. & Das, P. (2003). Effect of Metal Toxicity on Plant Growth and Metabolism. *Agronomie*, 23, 3-11.
- Santana, M.; Rodrigues, K.; Durán, R; Alfonso, M.; Vidal, L.; Campos, F.; De Oliveira, I;... Faro, L. (2009). Evaluation of the effects and mechanisms of action of flutriafol, a triazole fungicide, on striatal dopamine release by using in vivo microdialysis in freely moving rats. *Ecotoxicology and Environmental*, 72(5), 0–1571. doi:10.1016/j.ecoenv.2009.01.004.
- SENASA. (2020). *Guía para la implementación de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) para el cultivo de Tomate*. Recuperado de <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/1092200/Gu%C3%ADa-BPA%20Tomate.pdf>

- Shah, P.; Powell, A.; Orlando, R.; Bergmann, C.; Gutierrez-Sanchez, G. (2012). Proteomic Analysis of Ripening Tomato Fruit Infected by *Botrytis cinerea*. *Journal of Proteome Research*, 11(4), 2178–2192. doi:10.1021/pr200965c
- Shokri, H. (2011). Evaluation of inhibitory effects of citric and tartaric acids and their combination on the growth of *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, and *Malassezia furfur*. *Comparative Clinical Pathology*, 20(5), 543–545. doi:10.1007/s00580-011-1195-6.
- Singh, A; Singh, N.; Shadma, A; Singh, T.; Hussain, I. (2018). Zinc oxide nanoparticles: a review of their biological synthesis, antimicrobial activity, uptake, translocation and biotransformation in plants. *Journal of Materials Science*, 53, 185–201.
- Singh, M.; Prasanna, H.; Tiwari, S.; Gujar, R.; Karkute, G. (2016). Biology of *Solanum Lycopersicum* (tomato). *Researchgate: Indian Institute of Vegetable Research*.
- Smith, C.; Jarvis, W.; Verhoeff, K. (1980). *The biology of Botrytis: Epidemiology*. London, UK: Academic press.
- Sonmez, S.; Kaplan, M.; Sonmez, K.; Kaya, H.; Uz, I. (2006). High levels of copper application to soil and leaves reduce the growth and yield of tomato plants. *Scientia Agricola*, 63 (3), 213-218.
- Talebi, M.; Hadavi, E.; Jaafari, N. (2014). Foliar Sprays of Citric Acid and Malic Acid Modify Growth, Flowering, and Root to Shoot Ratio of (*Gazania rigens* L.): A Comparative Analysis by ANOVA and Structural Equations Modeling. *Advances in Agriculture*, 2014, 1–6. doi:10.1155/2014/147278
- Tejada, J.L. (2014). *Respuesta de productos inductores de la defensa en el control del mohogris (Botrytis cinerea Mill.) en cultivo de tomate* (Tesis de maestría). Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, Ica, Perú.
- US EPA. (2015). *Pesticide Product Label, Azoxystrobin 296 g/L + Flutriafol 218 g/L*. Recuperado de: [https://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_search/ppls/000279-03596-20151008.pdf](https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/ppls/000279-03596-20151008.pdf)
- Van, J.A. (2005). Infection strategies of *Botrytis cinerea*. *Acta Horticulturae*, 669, 77–90. doi:10.17660/ActaHortic.2005.669.9
- Williamson, B.; Elad, Y.; Tudzynski, P.; Denle, N. (2007). *Botrytis cinerea*: The cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 561–58.

- Yanase, Y.; Katsuta, H.; Tomiya, K.; Enomoto, M.; Sakamoto, O. (2013). Development of a novel fungicide, penthiopyrad. *Journal of Pesticide Science*, 38(3), 167–168. doi:10.1584/jpestics.j13-01.
- Zhang, Z.; Sun, H.; Chen, W.; Lin, W. (2012). Allelopathic effects of organic acid allelochemicals on melon. *Acta Ecologica Sinica*, 33(15), 4591-4598.

## VIII. ANEXOS

### Anexo 1: Labores de campo realizadas en el ensayo, en el periodo mayo-2020 a noviembre-2020.

Fecha	Actividad	Características
16/05	Almácigo	Sustrato 1 arena:2 musgo:2 remix
16/06	Preparación de terreno	10 camellones de 1.5 m entre camellón y 40 m de largo
18/06	Riego	Requerimientos del cultivo
19/06	Marcado de terreno	Insumos: Cal y huincha
20/06	Trasplante	Distancia entre plante de 0.6 m Producto Envivo ( i.a. virus de la poliedrosis múltiple nuclear)
25/06	Fumigación	
25/06	Azufrado	Puntos de crecimiento
26/06	Trampas amarillas	22 trampas en todo el terreno
30/06	Llenado de estiércol	35 sacos de compost
02/07	Riego	Requerimientos del cultivo
03/07	Desmalezado	Manual
04/07	Desmalezado	Manual
04/07	Recalce	11 plántulas
07/07	Abonado	20 t/ha de compost
07/07	Cambio de surco	Tractor
08/07	Fumigación	Dipel 1:1000
10/07	Azufrado y desentierro	Puntos de crecimiento
18/07	Riego	Requerimientos del cultivo
18/07	Azufrado	Puntos de crecimiento
25/07	Formación de botones florales	
25/07	Desmalezado	Manual
27/07	Fumigación	Envivo
29/07	Cultivadora	Tractor
30/07	Azufrado	Puntos de crecimiento
01/08	Paneles y cálculo de agua	Tratamientos
04/08	Riego	Requerimientos del cultivo
06/08	Fumigación	Envivo
08/08	Azufrado	Puntos de crecimiento
08/08	Huecos para fertilización	En fondo de surco
08/08	Floración	
12/08	Fertilización	20-20-20
15/08	Aplicación de los tratamientos	1° aplicación
15/08	Azufre	Puntos de crecimiento
15/08	Fructificación	
15/08	Riego	Requerimientos del cultivo
20/08	Fumigación	Envivo

22/08	Desmalezado	No se aplicó 2° aplicación de los tratamientos
28/08	Fumigación	Envivo
29/08	Aplicación de los tratamientos	3° aplicación
29/08	Azufrado	Puntos de crecimiento
05/09	Riego	Requerimientos del cultivo
05/09	Aplicación de los tratamientos	4° aplicación
05/09	Azufrado	Puntos de crecimiento
11/09	Fumigación	Envivo
12/09	Aplicación de los tratamientos	5° aplicación
15/09	Riego	Requerimientos del cultivo
19/09	Aplicación de los tratamientos	6° aplicación
22/09	Trampas para mosca	Mezcla de 1 kg de azúcar en agua, 1 litro de agua potable y 10ml de spinosad (30 trampas)
24/09	Riego	Requerimientos del cultivo
26/09	Aplicación de los tratamientos	7° aplicación
30/09	Fumigación	Piretrina
3/10	Aplicación de los tratamientos	8° aplicación
6/10	Cosecha	1° cosecha
7/10	Fumigación	Piretrina
13/10	Riego	Requerimientos del cultivo
13/10	Cosecha	2° cosecha
17/10	Evaluación	Incidencia y severidad
17/10	Desmalezado	Manual
20/10	Cosecha	3° cosecha
22/10	Riego	Requerimientos del cultivo
24/10	Evaluación	Incidencia y severidad
27/10	Cosecha	4° cosecha
31/10	Cosecha	4° cosecha
3/11	Cosecha	5° cosecha
3/11	Riego	Requerimientos del cultivo
4/11	Cosecha	5° cosecha
10/11	Cosecha	6° cosecha
14/11	Cosecha	7° cosecha

**Anexo 2: Fuentes de variabilidad y grados de libertad del diseño experimental en laboratorio.**

Fuentes de variabilidad	Grados de libertad
Tratamientos	4
Error experimental	15
Total	19

**Anexo 3: Diámetro del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* (mm) en las 5 evaluaciones de todos los tratamientos, DDI: Días después de inoculación.**

Tratamiento	Repetición	1 DDI	2 DDI	3 DDI	4 DDI	6 DDI
<b>T0</b> <b>Testigo</b>	R1	12.50	40.00	63.50	73.50	80.00
	R2	8.00	36.50	59.50	68.50	80.00
	R3	11.50	39.00	61.50	72.50	80.00
	R4	9.00	34.50	56.50	69.50	80.00
<b>T1</b> <b>Cu + Zinc 0.5 l/cil</b>	R1	2.00	4.00	6.00	12.00	23.00
	R2	1.00	4.00	6.50	10.50	24.50
	R3	2.50	4.50	8.00	12.00	28.50
	R4	1.50	5.00	7.00	11.50	23.50
<b>T2</b> <b>Cu + Zinc 1 l/cil</b>	R1	0.00	0.50	2.00	3.00	3.50
	R2	0.00	1.00	2.00	2.50	4.00
	R3	0.00	0.00	2.00	3.00	4.00
	R4	1.00	1.50	3.00	4.00	4.50
<b>T3</b> <b>Cu + Zinc + Ácido cítrico 0.5 l/cil</b>	R1	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	R2	0.00	1.00	1.00	1.50	1.50
	R3	0.00	1.00	1.00	1.50	1.50
	R4	0.00	1.00	1.50	2.00	2.00
<b>T4</b> <b>Boscalid 250 g/cil</b>	R1	2.50	22.00	36.00	47.50	79.50
	R2	3.50	20.50	26.50	46.50	75.50
	R3	8.50	27.00	38.00	52.00	77.00
	R4	5.50	23.00	40.50	54.00	80.00

**Anexo 4: Análisis de variancia del crecimiento micelial en mm de *Botrytis cinerea* a los 6 días después de inoculación (6 DDI) del medio envenenado realizado en el programa estadístico R-Studio.**

Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamiento	4	24096	6024	2723 <2e-16 ***
Residuals	15	33	2	
-----				
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1				

Anexo 5: Prueba de comparación de Tukey a un  $\alpha = 0.05$  del crecimiento micelial (mm) de *Botrytis cinerea* a los 6 días después de inoculación (6 DDI) del medio envenenado realizado en el programa estadístico R-Studio.

<b>Mean Square Error: 2</b>					
<b>Tratamiento, means</b>					
	<b>Dt</b>	<b>stdr</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	
<b>Testigo</b>	80.000	0.0000000	4	80.0	80.0
<b>Trat-1</b>	24.875	2.4958299	4	23.0	28.5
<b>Trat-2</b>	4.000	0.4082483	4	3.5	4.5
<b>Trat-3</b>	78.000	3.6285902	4	75.5	80.0
<b>Trat-4</b>	1.500	0.4082483	4	1.0	2.0
<b>Alpha: 0.05 ; DF Error: 15</b>					
<b>Critical Value of Studentized Range: 4.366985</b>					
<b>Minimun Significant Difference: 3.087924</b>					
Treatments with the same letter are not significantly different.					
	<b>Dt groups</b>				
<b>Testigo</b>	80.000				<b>a</b>
<b>Trat-4</b>	78.000				<b>a</b>
<b>Trat-1</b>	24.875				<b>b</b>
<b>Trat-2</b>	4.000				<b>c</b>
<b>Trat-3</b>	1.500				<b>c</b>

Anexo 6: Fuentes de variabilidad y grados de libertad del diseño experimental en campo.

Fuentes de variabilidad	Grados de libertad
Tratamientos	6
Bloques	3
Error experimental	18
Total	27

Anexo 7: Porcentaje de incidencia de *Botrytis cinerea* en follaje de todos los tratamientos, SDT: Semanas después del trasplante.

Tratamiento	Bloque	6 SDT	7 SDT	17 SDT	18 SDT	19 SDT
<b>T0 Testigo</b>	B1	0 %	0 %	35.71%	100.00%	100.00%
	B2	0 %	0 %	33.33%	100.00%	100.00%
	B3	0 %	0 %	33.33%	100.00%	100.00%
	B4	0 %	0 %	7.14%	100.00%	100.00%

<b>Zy-1S</b>	B1	0 %	0 %	27.38%	100.00%	100.00%
	B2	0 %	0 %	33.33%	100.00%	100.00%
	B3	0 %	0 %	33.33%	93.33%	100.00%
	B4	0 %	0 %	33.33%	100.00%	100.00%
<b>FX-1S</b>	B1	0 %	0 %	7.69%	100.00%	100.00%
	B2	0 %	0 %	26.92%	93.33%	100.00%
	B3	0 %	0 %	21.43%	100.00%	100.00%
	B4	0 %	0 %	13.33%	100.00%	100.00%
<b>Zy-2S</b>	B1	0 %	0 %	14.29%	100.00%	100.00%
	B2	0 %	0 %	0.00%	100.00%	100.00%
	B3	0 %	0 %	12.26%	100.00%	100.00%
	B4	0 %	0 %	53.85%	100.00%	100.00%
<b>Fx-2S</b>	B1	0 %	0 %	21.43%	100.00%	100.00%
	B2	0 %	0 %	20.00%	100.00%	100.00%
	B3	0 %	0 %	14.29%	100.00%	100.00%
	B4	0 %	0 %	27.39%	100.00%	100.00%
<b>TC1</b>	B1	0 %	0 %	33.33%	80.00%	100.00%
	B2	0 %	0 %	13.33%	80.00%	100.00%
	B3	0 %	0 %	33.33%	66.67%	100.00%
	B4	0 %	0 %	0.00%	46.67%	100.00%
<b>TC2</b>	B1	0 %	0 %	20.00%	46.67%	100.00%
	B2	0 %	0 %	0.00%	66.67%	100.00%
	B3	0 %	0 %	6.67%	66.67%	100.00%
	B4	0 %	0 %	6.67%	40.00%	100.00%

**Anexo 8: Porcentaje de severidad de *Botrytis cinerea* en follaje de todos los tratamientos, SDT: Semanas después del trasplante.**

Tratamiento	Bloque	6 SDT	7 SDT	17 SDT	18 SDT	19 SDT	20 SDT	21 SDT
<b>T0 Testigo</b>	B1	0 %	0 %	0.36%	5.00%	30.71%	63.21%	76.43%
	B2	0 %	0 %	0.33%	4.07%	23.00%	61.00%	75.67%
	B3	0 %	0 %	0.47%	4.80%	26.67%	64.00%	79.67%
	B4	0 %	0 %	0.07%	4.14%	22.86%	70.00%	86.07%
<b>Zy-1S</b>	B1	0 %	0 %	0.33%	3.93%	18.00%	56.67%	69.00%
	B2	0 %	0 %	0.07%	2.27%	16.20%	44.67%	59.67%
	B3	0 %	0 %	0.27%	2.00%	11.67%	33.33%	54.67%
	B4	0 %	0 %	0.08%	2.69%	11.54%	46.92%	70.00%
<b>FX-1S</b>	B1	0 %	0 %	0.21%	2.64%	6.57%	23.93%	56.43%
	B2	0 %	0 %	0.13%	1.40%	5.47%	31.67%	59.00%
	B3	0 %	0 %	0.15%	1.79%	8.29%	36.79%	60.00%
	B4	0 %	0 %	0.00%	2.27%	10.40%	41.00%	68.00%
<b>Zy-2S</b>	B1	0 %	0 %	0.54%	5.31%	41.54%	65.00%	87.69%

	B2	0 %	0 %	0.21%	2.43%	22.14%	57.86%	76.07%
	B3	0 %	0 %	0.20%	3.60%	22.00%	50.00%	68.33%
	B4	0 %	0 %	0.14%	3.36%	18.21%	57.50%	74.29%
<b>Fx-2S</b>	B1	0 %	0 %	0.33%	3.93%	18.67%	50.00%	68.67%
	B2	0 %	0 %	0.13%	2.13%	11.07%	39.67%	62.67%
	B3	0 %	0 %	0.33%	3.73%	15.00%	40.33%	66.00%
	B4	0 %	0 %	0.00%	2.27%	10.20%	50.00%	70.33%
<b>TC1</b>	B1	0 %	0 %	0.00%	1.07%	5.67%	19.67%	35.00%
	B2	0 %	0 %	0.07%	1.00%	4.80%	15.33%	33.67%
	B3	0 %	0 %	0.07%	0.93%	4.80%	13.33%	31.00%
	B4	0 %	0 %	0.00%	0.53%	2.64%	18.33%	37.00%
<b>TC2</b>	B1	0 %	0 %	0.07%	0.67%	3.60%	15.67%	33.33%
	B2	0 %	0 %	0.13%	0.93%	4.07%	16.33%	34.33%
	B3	0 %	0 %	0.00%	0.80%	6.87%	19.00%	35.33%
	B4	0 %	0 %	0.00%	0.40%	3.27%	14.00%	34.67%

Anexo 9: Análisis de variancia del porcentaje de severidad de *Botrytis cinerea* en follaje a 21 semanas después del trasplante (21 SDT) realizado en el programa estadístico R-Studio.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
<b>Bloque</b>	3	195	65.1	3.227	0.0471*
<b>Tratamiento</b>	6	8132	1355.4	67.145	2.43e-11 ***
<b>Residuals</b>	18	363	20.2		

-----

**Signif. codes:** 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Anexo 10: Prueba de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$  del porcentaje de severidad de *Botrytis cinerea* en follaje a 21 semanas después del trasplante (21 SDT) realizado en el programa estadístico R-Studio.

<b>Study: SH ~ trt</b>					
<b>HSD Test for SH</b>					
<b>Mean Square Error: 20.2</b>					
<b>Tratamiento, means</b>					
	<b>SH</b>	<b>std</b>	<b>r</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>
<b>Fx-1S</b>	60.8575	4.9934515	4	56.43	68.00
<b>Fx-2S</b>	66.9175	3.3466140	4	62.67	70.33
<b>T0</b>	79.4600	4.7357224	4	75.67	86.07
<b>TC1</b>	34.1675	2.5163913	4	31.00	37.00

<b>TC2</b>	34.4150	0.8340064	4	33.33	35.33
<b>Zy-1S</b>	63.3350	7.4168479	4	54.67	70.00
<b>Zy-2S</b>	76.5950	8.1034540	4	68.33	87.69

**Alpha: 0.05 ; DF Error: 18**

**Critical Value of Studentized Range: 4.673132**

**Minimun Significant Difference: 10.50156**

Treatments with the same letter are not significantly different.

**SH groups**

<b>T0</b>	79.4600	<b>a</b>
<b>Zy-2S</b>	76.5950	<b>ab</b>
<b>Fx-2S</b>	66.9175	<b>bc</b>
<b>Zy-1S</b>	63.3350	<b>c</b>
<b>Fx-1S</b>	60.8575	<b>c</b>
<b>TC2</b>	34.4150	<b>d</b>
<b>TC1</b>	34.1675	<b>d</b>

**Anexo 11: Resultados de los valores de ABCPE de *Botrytis cinerea* en el follaje de cada tratamiento desde la 17 SDT a 21 SDT.**

Tratamiento	Bloque	17-18 SDT	18-19 SDT	19-20 SDT	20-21 SDT	ABCPE
<b>T0 Testigo</b>	B1	18.75	125.00	328.75	488.75	961.25
	B2	15.40	94.73	294.00	478.33	882.47
	B3	18.43	110.13	317.33	502.83	948.73
	B4	14.75	94.50	325.00	546.25	980.50
<b>Zy-1S</b>	B1	14.93	76.77	261.33	439.83	792.87
	B2	8.17	64.63	213.03	365.17	651.00
	B3	7.93	47.83	157.50	308.00	521.27
	B4	9.69	49.81	204.62	409.23	673.35
<b>FX-1S</b>	B1	10.00	32.25	106.75	281.25	430.25
	B2	5.37	24.03	129.97	317.33	476.70
	B3	6.79	35.25	157.75	338.75	538.54
	B4	7.93	44.33	179.90	381.50	613.67
<b>Zy-2S</b>	B1	20.46	163.96	372.88	534.42	1091.73
	B2	9.25	86.00	280.00	468.75	844.00
	B3	13.30	89.60	252.00	414.17	769.07
	B4	12.25	75.50	265.00	461.25	814.00
<b>Fx-2S</b>	B1	14.93	79.10	240.33	415.33	749.70
	B2	7.93	46.20	177.57	358.17	589.87
	B3	14.23	65.57	193.67	372.17	645.63
	B4	7.93	43.63	210.70	421.17	683.43
<b>TC1</b>	B1	3.73	23.57	88.67	191.33	307.30

	B2	3.73	20.30	70.47	171.50	266.00
	B3	3.50	20.07	63.47	155.17	242.20
	B4	1.87	11.12	73.42	193.67	280.07
TC2	B1	2.57	14.93	67.43	171.50	256.43
	B2	3.73	17.50	71.40	177.33	269.97
	B3	2.80	26.83	90.53	190.17	310.33
	B4	1.40	12.83	60.43	170.33	245.00

Anexo 12: Análisis de variancia de los valores de ABCPE de *Botrytis cinerea* en el follaje de cada tratamiento desde la 17 SDT a 21 SDT realizado en el programa estadístico R-Studio.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
<b>Bloque</b>	3	36886	12295	2.096	0.137
<b>Tratamiento</b>	6	1705278	284213	48.443	3.85e-10 ***
<b>Residuals</b>	18	105606	5867		

-----

-

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Anexo 13: Prueba de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$  de los valores de ABCPE de *Botrytis cinerea* en el follaje de cada tratamiento desde la 17 SDT a 21 SDT realizado en el programa estadístico R-Studio.

Study: ABCPE ~ trt					
HSD Test for ABCPE					
Mean Square Error: 5867					
Tratamiento, means					
	ABCPE	std	r	Min	Max
<b>Fx-1S</b>	514.7900	79.45476	4	430.25	613.67
<b>Fx-2S</b>	667.1575	67.11892	4	589.87	749.70
<b>T0</b>	943.2375	42.56681	4	882.47	980.50
<b>TC1</b>	273.8925	27.20863	4	242.20	307.30
<b>TC2</b>	270.4325	28.48922	4	245.00	310.33
<b>Zy-1S</b>	659.6225	111.29406	4	521.27	792.87
<b>Zy-2S</b>	879.7000	144.66824	4	769.07	1091.73

Alpha: 0.05 ; DF Error: 18

Critical Value of Studentized Range: 4.673132

Minimum Significant Difference: 178.9724

Treatments with the same letter are not significantly different.

SH groups		
T0	943.2375	a
Zy-2S	879.7000	a
Fx-2S	667.1575	b
Zy-1S	659.6225	b
Fx-1S	514.7900	b
TC2	273.8925	c
TC1	270.4325	c

**Anexo 14: Porcentaje de incidencia de *B. cinerea* en flores de los bloques de todos los tratamientos en las semanas de evaluación, SDT: Semanas después del trasplante.**

Tratamiento	Bloque	13 SDT	14 SDT	15 SDT	16 SDT	17 SDT	18 SDT
<b>T0</b> <b>Testigo</b>	B1	0.52%	5.81%	24.62%	30.24%	36.34%	33.55%
	B2	0.44%	6.49%	22.46%	27.23%	31.13%	40.35%
	B3	0.80%	2.74%	19.49%	23.71%	29.12%	29.70%
	B4	0.30%	3.77%	15.98%	19.36%	23.33%	25.73%
<b>Zy-1S</b>	B1	0 %	4.39%	13.97%	22.42%	33.27%	33.97%
	B2	0 %	2.91%	15.32%	18.17%	13.47%	25.56%
	B3	0 %	2.16%	5.94%	9.32%	12.14%	19.37%
	B4	0 %	3.14%	20.03%	19.24%	27.32%	27.91%
<b>FX-1S</b>	B1	0 %	4.78%	13.04%	12.55%	14.35%	22.69%
	B2	0 %	1.68%	5.89%	9.51%	10.09%	19.36%
	B3	0 %	2.03%	19.25%	17.49%	17.70%	26.43%
	B4	0 %	1.98%	14.48%	15.93%	19.05%	23.61%
<b>Zy-2S</b>	B1	0 %	1.76%	25.95%	35.59%	38.15%	39.85%
	B2	0 %	2.54%	20.16%	21.14%	22.88%	27.90%
	B3	0 %	2.03%	10.91%	15.00%	18.34%	25.60%
	B4	0 %	3.21%	18.54%	21.94%	25.66%	29.52%
<b>Fx-2S</b>	B1	0 %	2.59%	16.79%	24.89%	28.40%	33.59%
	B2	0 %	2.48%	11.66%	12.56%	13.16%	25.02%
	B3	0 %	2.15%	10.60%	11.33%	12.84%	21.73%
	B4	0 %	2.23%	15.95%	18.03%	19.61%	28.79%
<b>TC1</b>	B1	0 %	0.00%	1.23%	5.87%	8.68%	12.14%
	B2	0 %	0.00%	1.77%	4.54%	5.03%	11.01%
	B3	0 %	0.00%	1.75%	5.17%	8.19%	14.24%
	B4	0 %	0.00%	0.77%	4.65%	7.38%	11.57%
<b>TC2</b>	B1	0 %	0.00%	1.28%	6.81%	10.25%	14.01%
	B2	0 %	0.00%	1.50%	3.33%	6.67%	11.14%
	B3	0 %	0.00%	2.26%	6.50%	9.94%	13.86%
	B4	0 %	0.00%	1.64%	5.07%	7.58%	12.58%

Anexo 15: Análisis de variancia del porcentaje de incidencia de *Botrytis cinerea* en flores a 18 semanas después del trasplante (18 SDT) realizado en el programa estadístico R-Studio.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
<b>Bloque</b>	3	123.2	41.07	2.199	0.123
<b>Tratamiento</b>	6	1576.1	262.69	14.065	6.25e-06 ***
<b>Residuals</b>	18	336.2	18.68		

---

**Signif. codes:** 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Anexo 16: Prueba de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$  del porcentaje de incidencia de *Botrytis cinerea* en flores a 18 semanas después del trasplante (18 SDT) realizado en el programa estadístico R-Studio.

**Study: SFL ~ trt**  
**HSD Test for SFL**

**Mean Square Error: 18.68**  
**Tratamiento, means**

	SH	std	r	Min	Max
<b>Fx1S</b>	23.0225	2.914371	4	19.36	26.43
<b>Fx2S</b>	27.2825	5.099225	4	21.73	33.59
<b>T0</b>	32.3325	6.225905	4	25.73	40.35
<b>TC1</b>	12.2400	1.410886	4	11.01	14.24
<b>TC2</b>	12.8975	1.335874	4	11.14	14.01
<b>Zy1S</b>	26.7025	6.037259	4	19.37	33.97
<b>Zy2S</b>	30.7175	6.297187	4	25.60	39.85

**Alpha: 0.05 ; DF Error: 18**  
**Critical Value of Studentized Range: 4.673132**  
**Minimum Significant Difference: 10.09872**

Treatments with the same letter are not significantly different.

	SFL	groups
<b>T0</b>	32.3325	a
<b>Zy-2S</b>	30.7175	a
<b>Fx-2S</b>	27.2825	a
<b>Zy-1S</b>	26.7025	a
<b>Fx-1S</b>	23.0225	a
<b>TC2</b>	12.8975	b
<b>TC1</b>	12.2400	b

**Anexo 17: Porcentaje de incidencia de *B. cinerea* en frutos de los bloques de todos los tratamientos en las semanas de evaluación, SDT: Semanas después del trasplante.**

Tratamiento	Bloque	14 SDT	15 SDT	16 SDT	17 SDT	18 SDT	19 SDT
<b>T0 Testigo</b>	B1	0.00%	0.00%	0.14%	1.19%	2.53%	2.03%
	B2	0.00%	0.15%	0.13%	0.35%	1.12%	1.22%
	B3	0.00%	0.00%	0.00%	0.34%	2.23%	1.97%
	B4	0.00%	0.00%	0.00%	0.09%	1.09%	1.47%
<b>Zy-1S</b>	B1	0.00%	0.22%	0.46%	0.73%	1.63%	1.56%
	B2	0.00%	0.16%	0.22%	0.35%	1.02%	0.71%
	B3	0.00%	0.13%	0.11%	0.41%	1.06%	0.65%
	B4	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%	0.99%	0.45%
<b>FX-1S</b>	B1	0.10%	0.33%	0.55%	0.73%	1.40%	1.26%
	B2	0.00%	0.00%	0.00%	0.22%	0.95%	0.58%
	B3	0.00%	0.00%	0.00%	0.15%	0.61%	0.62%
	B4	0.00%	0.00%	0.00%	0.08%	0.55%	0.39%
<b>Zy-2S</b>	B1	0.00%	0.00%	0.62%	3.60%	4.75%	3.30%
	B2	0.00%	0.00%	0.17%	0.34%	1.02%	0.75%
	B3	0.00%	0.00%	0.00%	0.24%	0.60%	0.57%
	B4	0.00%	0.00%	0.00%	0.26%	0.35%	0.41%
<b>Fx-2S</b>	B1	0.37%	0.30%	0.47%	0.94%	2.15%	2.03%
	B2	0.20%	0.13%	0.13%	0.08%	0.35%	0.94%
	B3	0.00%	0.00%	0.00%	0.38%	2.06%	1.30%
	B4	0.00%	0.00%	0.00%	0.17%	0.50%	1.04%
<b>TC1</b>	B1	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.07%	0.66%
	B2	0.00%	0.00%	0.11%	0.19%	0.23%	0.35%
	B3	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.07%	0.22%
	B4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.07%	0.28%
<b>TC2</b>	B1	0.00%	0.00%	0.00%	0.07%	0.29%	0.68%
	B2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.15%
	B3	0.00%	0.00%	0.00%	0.21%	0.22%	0.30%
	B4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.15%

**Anexo 18: Peso de frutos (t/ha) de todos los bloques de cada tratamiento.**

Tratamiento	Bloque	1° cosecha	2° cosecha	3° cosecha	4° cosecha	5° cosecha	6° cosecha
<b>T0 Testigo</b>	B1	3.33	2.21	9.75	12.60	13.58	5.87
	B2	4.31	4.09	12.48	18.48	20.35	10.46
	B3	3.02	0.96	6.98	14.07	20.78	6.35
	B4	1.09	0.17	4.33	8.72	5.67	0.80
<b>Zy-1S</b>	B1	4.59	4.08	8.58	16.98	14.07	7.78
	B2	2.47	2.20	10.64	13.20	13.39	7.69

	B3	2.53	0.95	6.63	11.50	12.20	10.59
	B4	0.89	0.65	2.56	1.76	0.83	0.50
<b>FX-1S</b>	B1	3.55	5.21	9.85	10.20	21.00	7.14
	B2	3.15	1.93	7.44	11.54	17.28	16.04
	B3	2.28	0.73	5.61	7.80	23.43	7.79
	B4	1.20	0.51	3.95	12.45	7.49	2.98
<b>Zy-2S</b>	B1	2.81	2.24	7.76	7.68	7.97	3.03
	B2	5.29	2.07	10.63	15.07	14.40	9.51
	B3	1.52	0.75	8.20	11.67	11.05	9.99
	B4	1.38	0.74	2.44	8.34	6.09	3.83
<b>Fx-2S</b>	B1	3.78	2.14	10.43	21.63	22.44	8.42
	B2	4.75	2.57	10.79	17.15	25.21	9.57
	B3	1.74	0.66	4.59	14.77	12.33	17.44
	B4	1.25	0.20	2.22	5.87	6.02	3.04
<b>TC1</b>	B1	3.53	1.63	9.97	17.73	19.39	10.18
	B2	2.06	2.17	10.92	23.11	21.15	15.59
	B3	2.57	0.68	5.23	12.86	10.61	13.44
	B4	0.99	0.28	2.24	9.68	11.11	5.61
<b>TC2</b>	B1	2.67	2.92	12.16	13.96	26.43	10.46
	B2	3.02	1.78	7.85	17.24	27.17	11.23
	B3	1.62	0.64	6.25	8.49	5.56	8.61
	B4	1.25	0.27	3.33	13.54	12.32	10.83

Anexo 19: Análisis de variancia del rendimiento de cada tratamiento realizado en el programa estadístico R-Studio.

	<b>Df</b>	<b>Sum Sq</b>	<b>Mean Sq</b>	<b>F value</b>	<b>Pr(&gt;F)</b>
<b>Bloque</b>	3	6972	2323.9	23.041	2.18e-06
<b>Tratamiento</b>	6	1342	223.6	2.217	0.089
<b>Residuals</b>	18	336.2	18.68		
-----					
<b>Signif. codes:</b> 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

Anexo 20: Prueba de medias de Tukey a un  $\alpha = 0.05$  del rendimiento de cada tratamiento realizado en el programa estadístico R-Studio.

**Study: Rdt ~ trt**  
**HSD Test for SFL**

**Mean Square Error:** 100.9  
**Tratamiento, means**

	<b>Rdt</b>	<b>std</b>	<b>r</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>
<b>Fx1S</b>	50.325	14.57060	4	29.6	60.8
<b>Fx2S</b>	55.900	24.89431	4	20.2	74.7
<b>T0</b>	49.125	21.20635	4	21.3	72.8
<b>TC1</b>	57.600	20.91937	4	31.9	80.8
<b>TC2</b>	57.750	21.41440	4	34.0	76.7
<b>Zy1S</b>	40.900	22.83813	4	7.4	58.3
<b>Zy2S</b>	40.025	15.15088	4	24.2	59.0

**Alpha:** 0.05 ; **DF Error:** 18  
**Critical Value of Studentized Range:** 4.673132  
**Minimum Significant Difference:** 23.47057

Treatments with the same letter are not significantly different.

	<b>SFL</b>	<b>groups</b>
<b>TC2</b>	57.750	a
<b>TC1</b>	57.600	a
<b>Fx2S</b>	55.900	a
<b>Fx1S</b>	50.325	a
<b>T0</b>	49.125	a
<b>Zy1S</b>	40.900	a
<b>Zy2S</b>	40.025	a

**Anexo 21: Porcentaje de frutos de cada tratamiento clasificado en: a) Primera (1°): Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso mayor de 100 g, b) Segunda (2°): Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso entre 50-100 g, c) Tercera (3°): Frutos sin daños de enfermedades y plagas con un peso menor a 50 g y d) No comercial (N.C): Fruto con daño físico, de plaga o enfermedad (Gonzales, 2016); de los frutos de la segunda, tercera, cuarta, quinta y sexta cosecha.**

Tratamiento	Bloque	2 cosecha				3 cosecha				4 cosecha				5 cosecha				6 cosecha			
		N.C.	3°	2°	1°	N.C.	3°	2°	1°												
<b>T0 Testigo</b>	B1	44.4	0.8	2.4	52.4	23.1	0.2	13.7	63.0	50.9	3.8	13.0	32.3	45.9	2.1	12.5	39.5	55.3	2.9	13.1	28.7
	B2	21.8	0.0	2.3	75.9	11.8	1.8	16.0	70.3	21.8	8.7	28.3	41.3	35.7	5.4	12.6	46.4	62.0	2.1	12.5	23.4
	B3	53.7	1.4	8.9	36.0	14.2	3.1	16.0	66.7	33.8	4.1	14.0	48.2	23.7	8.8	21.0	46.5	62.9	3.8	19.0	14.3
	B4	85.5	2.5	5.1	6.9	29.4	4.7	15.3	50.5	42.4	4.0	14.9	38.7	61.6	2.3	11.4	24.7	89.7	0.7	0.0	9.6
<b>Zy-1S</b>	B1	27.7	0.3	6.6	65.4	14.9	4.3	19.6	61.2	33.8	5.5	24.9	35.8	41.8	6.2	15.5	36.5	47.7	10.6	18.0	23.6
	B2	22.7	0.0	7.2	70.2	19.1	1.7	22.5	56.8	32.2	5.0	8.1	54.8	48.4	6.4	13.1	32.1	51.1	3.5	20.4	25.0
	B3	44.4	0.0	3.8	51.8	11.9	2.5	14.9	70.8	22.1	6.4	18.7	52.8	53.2	3.5	10.8	32.5	53.9	1.4	13.0	31.6
	B4	17.6	7.3	31.4	43.6	35.1	7.1	27.1	30.7	70.1	4.0	14.9	11.1	76.6	0.0	8.8	14.6	66.8	0.0	6.6	26.6
<b>FX-1S</b>	B1	8.0	1.0	19.3	71.7	11.7	2.6	26.4	59.2	49.4	3.2	12.2	35.2	30.6	3.8	15.0	50.5	59.4	2.5	10.3	27.8
	B2	17.9	0.0	0.0	82.1	12.6	1.8	10.2	75.4	42.4	4.1	14.3	39.3	36.2	4.0	15.4	44.3	59.0	2.0	13.0	26.1
	B3	47.7	0.0	3.1	49.2	6.3	5.1	22.7	65.9	38.7	2.2	13.9	45.1	38.4	4.7	16.6	40.3	55.5	0.9	14.8	28.8
	B4	26.6	1.6	17.8	53.9	17.4	1.6	15.6	65.3	34.7	2.5	10.3	52.5	43.7	9.2	17.3	29.9	65.4	3.3	19.6	11.8
<b>Zy-2S</b>	B1	63.0	0.0	4.2	32.8	43.6	1.5	12.9	42.0	53.7	5.3	11.9	29.1	53.7	4.2	8.5	33.6	71.2	1.3	10.3	17.2
	B2	37.0	0.0	3.9	59.1	17.1	2.0	19.1	61.8	36.7	7.7	21.9	33.7	38.4	3.3	14.3	44.0	48.4	2.4	27.4	21.9
	B3	52.7	0.0	0.0	47.3	25.5	1.2	11.1	62.3	42.2	4.4	9.0	44.4	58.0	3.4	9.6	29.0	50.5	2.5	21.8	25.3
	B4	61.3	0.0	7.2	31.5	45.9	0.6	14.8	38.7	32.8	2.6	11.4	53.2	52.0	3.4	17.0	27.6	64.9	1.3	11.4	22.4

<b>Fx-2S</b>	B1	36.4	0.0	1.1	62.5	21.7	1.2	13.7	63.3	26.2	5.4	21.6	46.8	42.9	4.2	10.3	42.6	64.6	1.1	10.6	23.7
	B2	37.6	0.0	2.0	60.4	9.0	0.6	16.9	73.5	27.5	3.0	23.6	45.9	37.7	5.3	14.8	42.1	58.5	1.7	15.0	24.8
	B3	39.2	0.0	3.8	57.0	12.2	3.5	20.9	63.4	36.1	4.8	12.6	46.5	26.3	5.9	13.7	54.1	38.3	2.0	15.9	43.8
	B4	52.9	0.0	0.0	47.1	24.6	3.9	12.4	59.1	42.3	2.9	12.8	42.0	63.8	1.9	10.4	23.9	76.7	0.0	7.9	15.4
<b>TC1</b>	B1	41.3	0.9	1.9	55.9	31.5	3.3	12.0	53.3	23.7	7.9	18.1	50.3	35.9	4.8	11.5	47.7	61.3	0.9	9.8	28.0
	B2	34.2	0.0	2.2	63.6	11.6	1.2	12.1	75.1	12.0	5.3	16.1	66.6	26.2	6.5	17.2	50.0	48.5	0.2	16.1	35.2
	B3	24.4	0.0	5.8	69.8	21.2	2.2	5.4	71.2	34.4	4.0	11.3	50.3	29.8	6.0	19.3	44.9	53.5	3.8	17.5	25.3
	B4	72.8	2.8	0.0	24.5	20.7	5.9	17.5	55.9	16.2	6.6	18.0	59.3	42.1	5.7	16.6	35.6	61.6	2.1	11.3	25.0
<b>TC2</b>	B1	18.0	0.6	10.1	71.3	14.9	1.9	18.5	64.7	34.2	4.3	19.4	42.1	28.9	5.8	14.2	51.1	49.7	2.8	11.8	35.7
	B2	19.8	1.2	0.0	79.1	10.7	1.9	13.4	74.1	18.3	10.9	24.7	46.1	16.7	5.4	16.3	61.6	67.0	0.7	10.2	22.1
	B3	39.7	0.0	3.1	57.2	15.3	6.7	7.6	70.4	32.4	4.3	13.3	50.0	59.4	3.3	9.4	27.9	43.7	6.2	14.5	35.6
	B4	7.9	0.0	31.9	60.2	24.2	0.7	12.5	62.6	18.6	3.2	13.5	64.7	43.8	4.3	23.2	28.8	55.1	2.6	12.5	29.8