

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA

DETERMINACIÓN *IN PLANTA* DE *Trichoderma atroviride*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* COMO CONTROLADORES BIOLÓGICOS PARA LOS FITOPATÓGENOS *Botrytis cinerea* y *Cercospora* sp. EN UVILLA (*Physalis peruviana*).

Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Microbiología

CARLA MICAELA YÉPEZ HIDALGO

Quito, 2024

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Disertación de Licenciatura en Microbiología de la candidata Carla Micaela Yépez Hidalgo ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Mtr. Jeniffer Yáñez Altuna', is centered on the page.

Mtr. Jeniffer Yáñez Altuna

Directora de la Disertación

Quito, 28 junio 2024

DEDICATORIA

A Dios, mi familia y amigos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme la una familia amorosa, comprensiva y leal. A mi padre que me cuidó lo que más pudo en la tierra y ahora lo hace desde el cielo, que mis esfuerzos y mis los logros son por él. Al amor incondicional de mi madre por ser una fuente constante de inspiración que día a día me daba fuerzas para estudiar, trabajar y poder salir adelante, a mis hermanos que les amo me apoyan siempre y me dan sus mejores consejos, esto también fue por ustedes. A mi tía que me apoyó todo el tiempo y me dio su cariño, esfuerzo y confianza. A mi abuelita que con sus oraciones me ayudaba a no rendirme y a mi Tommy.

Agradezco a mis amigos de carrera, Jonathan Tobar que se quedó desde el inicio hasta el fin de mi vida universitaria apoyándome y dándome sus consejos, a Alexis Quintana que me ayudó y estuvo conmigo en mi proceso de titulación transmitiéndome sus conocimientos y corrigiéndome cuando fuese necesario, A Chantal Morales que estuvo siempre en mis mejores y peores momentos que me ayudo y se quedó. A mis compañeros de trabajo, a mi jefes y mis mejores amigos Ángel Machasilla, Valeria Regalado, Camila Villa, Doménica Paredes, Alexis Cevallos, Cecilia Aguilar y Sebastián Núñez donde las risas y el apoyo nunca faltaron por su paciencia, comprensión y por ofrecerme siempre una palabra de aliento cuando más lo necesitaba. Sus muestras de cariño y apoyo fueron cruciales para mantenerme motivada. A Priscila y Cristian que me acompañaron en la recta final de mi carrera gracias por todo.

A mis profesores que me escuchaban y me entendían cuando mi trabajo era igual de importante que mi carrera universitaria, por su constante ánimo y comprensión en los momentos más difíciles. Sus valiosos consejos y su vasto conocimiento han sido esenciales.

Quisiera expresar mi más profundo agradecimiento a mi profesora, y tutora de tesis Jeniffer Yáñez, por su invaluable guía y apoyo durante todo el proceso de realización de esta disertación. Su dedicación, paciencia y vasto conocimiento fueron fundamentales para el desarrollo y la culminación de este trabajo. Desde el inicio, me brindó una orientación clara y constructiva, siempre dispuesta a ofrecer sus conocimientos y a resolver mis dudas. Sus comentarios críticos y sugerencias no solo mejoraron la calidad de este trabajo, sino que también enriquecieron mi formación académica y profesional.

Finalmente, agradezco a todas las instituciones y personas que de alguna manera contribuyeron a la realización de esta disertación.

A todos ustedes, mi más sincero agradecimiento.

MANUSCRITO PARA LA PUBLICACIÓN

Revista

Revista de Ciencias de la Vida La Granja

Título

Determinación in planta de *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* como controladores biológicos para los fitopatógenos *Botrytis cinerea* y *Cercospora* sp. en uvilla (*Physalis peruviana*).

Autores

Carla Micaela Yépez Hidalgo*, Jeniffer Marcela Yáñez Altuna**.

Correo electrónico

*cmyepe@puce.edu.ec, **jyanez989@puce.edu.ec.

Dirección

Laboratorio de Fitopatología y Control Biológico, Carrera de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

El siguiente trabajo de investigación se presenta en el formato de la Revista Ecuatoriana Ciencias de la vida La Granja partir de la siguiente página.

1

2

3

4

5

6

7

Sección (Marcar)Artículo científico Revisión Bibliográfica Punto de vista Special Issue" Sustentabilidad Organizacional, Desarrollo y Gestión Ambiental"

8

Determinación *in planta* de *Trichoderma spp.*, *Bacillus subtilis*

9

y *Pseudomonas fluorescens* como controladores biológicos

10

para los fitopatógenos *Botrytis cinerea* y *Cercospora sp.* en

11

uvilla (*Physalis peruviana*).

12

In-plant determination of *Trichoderma spp.*, *Bacillus subtilis*

13

and *Pseudomonas fluorescens* as biological controllers for the

14

phytopathogens *Botrytis cinerea* and *Cercospora sp.* in uvilla

15

(*Physalis peruviana*).

16

Micaela Yépez¹,

17

1 Laboratorio de Fitopatología y Control Biológico, Pontificia Universidad Católica del

18

Ecuador.16

19

170102, Quito, Ecuador.17

20

*Autor para correspondencia: cmyepe@puce.edu.ec

21

22

RESUMEN

23

La uvilla (*Physalis peruviana L.*) es un fruto importante para la economía de los agricultores del

24

Ecuador y también por su calidad nutricional. Sin embargo, durante el cultivo se enfrenta a plagas

25

y enfermedades, especialmente, las causadas por hongos del género *Cercospora spp.* y *Botrytis*

26

cinerea. En el país, las investigaciones sobre dichos patógenos son limitadas. Esto ha creado un

27

vacío en torno a correctas prácticas de control y que, en su mayoría, se centran en métodos

28

químicos. Por ello, la necesidad de evaluar *in vivo* las interacciones de biocontroladores eficaces

29

como *Trichoderma atroviride*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*. En este estudio se

30 evaluaron dichas cepas, individualmente y en consorcio para contra los hongos *B. cinerea* y
31 *Cercospora* sp. en uvilla. Se utilizaron plántulas de uvilla de 28 días de crecimiento a las que se
32 inoculó los patógenos con discos de micelio y cuatro días después se inocularon los
33 biocontroladores. Para la inoculación de las bacterias se ajustó a una concentración $1,5 \times 10^8$
34 UFC, mientras que para los hongos de 10^6 conidias/ml. A los 50 días, luego de la inoculación,
35 se registraron datos de longitud del tallo y cantidad de hojas. Como resultados, la incidencia y la
36 severidad de las dos enfermedades se redujeron y en algunos casos fueron eliminadas por
37 completo. Además, la altura de planta y el número de hojas medidos en las plantas infectadas
38 con *B. cinerea* y *Cercospora* sp. que recibieron a los biocontroladores en consorcio, superaron a
39 los controles y a los microorganismos evaluados individualmente. En conclusión, las cepas
40 ensayadas pueden ser utilizadas como biocontroladores y biofertilizantes en el cultivo de uvilla,
41 cuando las enfermedades mancha gris (*Cercospora* sp.) y moho gris (*B. cinerea*) se presenten.

42

43 **ABSTRACT**

44 *Goldenberry (Physalis peruviana L.) is an economically and nutritionally important crop in*
45 *Ecuador. However, its cultivation is affected by various pests and diseases, particularly those*
46 *caused by fungi of the genus Cercospora spp. and Botrytis cinerea. Research on these pathogens*
47 *in the country is limited, leading to an over-reliance on chemical control methods with their*
48 *consequent environmental and health impacts. Therefore, there is a need to evaluate in vivo the*
49 *interactions of effective biocontrol agents such as Trichoderma atroviride, Bacillus subtilis, and*
50 *Pseudomonas fluorescens. In this study, these strains were evaluated individually and in*
51 *consortium against the fungi B. cinerea and Cercospora sp. in goldenberry. Twenty-eight-day-old*
52 *goldenberry seedlings were inoculated with pathogen mycelial discs and four days later, the*
53 *biocontrol agents were inoculated. The concentration of the bacteria was adjusted to 1.5×10^8*
54 *CFU, while the concentration of the fungi was 10^6 conidia/ml. At 50 days after inoculation, data*
55 *on stem length and number of leaves were recorded. As a result, the incidence and severity of*
56 *both diseases were reduced and in some cases completely eliminated. Additionally, plant height*
57 *and number of leaves measured in plants infected with B. cinerea and Cercospora sp. that*
58 *received the biocontrol agents in consortium exceeded those of the controls and the individually*
59 *evaluated microorganisms. In conclusion, the strains tested can be used as biocontrol agents and*

60 *biofertilizers in goldenberry cultivation when grey spot (Cercospora sp.) and grey mold (B.*
61 *cinerea) diseases are present.*

62 **Palabras clave**

63 *Physalis peruviana*, hongos fitopatógenos, PGPR, controladores biológicos, PIRC.

64 **Keywords**

65 *Physalis peruviana*, phytopathogenic fungi, PGPR, biological controllers, PIRC.

66

67 **1. Introducción**

68 La uvilla (*Physalis peruviana L.*) es una especie vegetal nativa de la región de los Andes. Se
69 caracteriza por ser una planta perenne, herbácea, arbustiva y fuertemente ramificada. En el
70 Ecuador, los principales ecotipos que se cultivan son la colombiana o keniana, ambateña y
71 ecuatoriana. Esta fruta se destaca por sus características antioxidantes naturales que posee en
72 relación con otras frutas (Brito, Espín, Villacrés, Vaillan, Medina y Badillo, 2008).

73 La uchuva o uvilla es conocida desde mucho tiempo atrás, pero su potencial para ser cultivado
74 intensamente es reciente, justificado principalmente por la presencia de compuestos bioactivos,
75 como ácido ascórbico, compuestos fenólicos, fitoesteroles y carotenoides. Los compuestos
76 bioactivos, han sido asociados al combate de células cancerígenas, al retardo de los efectos del
77 envejecimiento precoz y a la disminución de la incidencia de enfermedades crónico-
78 degenerativas (Ramadan, 2011).

79 La uvilla es un superalimento, esta cualidad, ha hecho que su participación en el mercado
80 ecuatoriano aumente notablemente. De tal manera, se estima una producción de 700 hectáreas
81 por año (Líderes, 2019), y así se extiende su cultivo por los valles interandinos del país. Las
82 principales amenazas para este tipo de cultivo, por lo general son las plagas (artrópodos) y
83 microorganismos patógenos presentes en la naturaleza. Dichos agentes, llegan a causar gran
84 daño a la estructura de la planta, lo que se traduce en grandes pérdidas económicas. Otros
85 autores nombran varias enfermedades en donde las más comunes son: la muerte descendente,
86 el mal del semillero, la mancha gris, la esclerotiniosis, el secamiento descendente de ápice del
87 cáliz y los daños producidos por nematodos (Góngora y Rojas, 2006). Tal es el ejemplo de la
88 mancha gris, esta enfermedad es causada por el género fúngico *Cercospora*, lo cual se evidencia
89 por la aparición de manchas notorias e irregulares que luego adquieren un color gris a nivel de
90 las hojas y capuchones (Fuertes et al., 2021).

91 *B. cinerea* es un patógeno fúngico común de las plantas, que se ha estudiado ampliamente
92 debido a las pérdidas económicas que causa en la producción y el almacenamiento de cultivos
93 (Torbati, Arzanlou, Ashtiani, & Golmohamadi, 2019). Esta enfermedad es tradicionalmente
94 tratada con agroquímicos que generan perjuicios a las plantaciones, al ambiente y la salud
95 pública. (Zin y Badaluddin, 2020).

96 La presencia de estas enfermedades repercute en distintos síntomas en la uvilla, se dan
97 alteraciones en cuanto a color y forma de las hojas, irregularidades en la estructura del tallo,
98 manchas en el follaje, algunas de ellas pueden atacar en distintas etapas del crecimiento de esta
99 planta. Todo lo mencionado anteriormente se puede dar debido a alteraciones en el suelo o en
100 irregularidades presentes en la temperatura de la zona (Pássaro, 2014) o debido al clima en el
101 que se encuentra el cultivo, ya que en climas cálidos favorecen su desarrollo.

102 Para controlar este tipo de enfermedades y plagas que se pueden presentar en el cultivo de uvilla
103 se utilizan diversos métodos de prevención o combate. Entre ellos el control de tipo biológico en
104 el uso de microorganismos benéficos como agentes antagonistas a estos patógenos, que en la
105 cantidad suficiente pueden mantener la plaga en un nivel en el cual no haga daño (Quinga, 2021).
106 Por ello, la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (AGROCALIDAD) plantea una
107 estrategia basada en la combinación de técnicas como: control biológico, manipulación del
108 hábitat, modificación de las prácticas culturales y el uso de variedades resistentes (Agrocalidad,
109 2016). De esta manera, el control biológico busca la manera de promover el uso de bacterias y
110 hongos como alternativas más rentables y menos nocivas tanto para el ambiente como para la
111 planta. Dicho de otra manera, se introduce un organismo para que se produzca un cambio en la
112 comunidad presente e impida o minimice el desarrollo de un agente patógeno sin dañar a la
113 planta (Mondino y Vero, 2006). Los antagonistas microbianos, a comparación de los
114 agroquímicos, son amigables con el medio ambiente, la salud humana y en relación mucho más
115 económicos.

116 Existen varios microorganismos biocontroladores. Sin embargo, la literatura resalta a
117 *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* como los más efectivos. Dichos
118 agentes, han sido probados en otras plantas como el tomate, la cebolla, el ajo, entre otras. Entre
119 los resultados más notorios, se destacan la reducción del porcentaje de la enfermedad y también
120 el porcentaje de inhibición el crecimiento de matices vasculares de las infecciones (Mera, 2021).

121 Dichos efectos, se traducen directamente en la obtención de mejores rendimientos y
122 minimización de pérdidas causadas por fitopatógenos (Séraphin, Muiru y Mutitu, 2020).

123 La determinación de la capacidad antagónica de los microorganismos biocontroladores sigue
124 varias etapas. El método *in planta* utiliza escalas pequeñas de laboratorio para evidenciar la
125 acción de los biocontroladores en donde expone a la planta como huésped para los análisis
126 (Agrios, 2005). Los biocontroladores tienen una amplia gama de mecanismos de acción. Por
127 ejemplo, *T. atroviride*, es un género fúngico que se encuentra, frecuentemente, sobre tejidos
128 vegetales en descomposición. Es un microorganismo dominante en los suelos, debido a su
129 naturaleza agresiva y su capacidad metabólica para competir con otros microorganismos
130 (Rosero, 2008). Además, *T. atroviride* tiene la capacidad de parasitar a otros hongos lo que se
131 conoce como hiperparasitismo o micoparasitismo. Su modo de acción es complejo e incluye
132 quimiotaxismo, antibiosis y parasitismo (Elósegui, 2006). Por su parte Flores Olivas (2020),
133 reportó que las cepas de *B. subtilis* tienen el mismo efecto promotor de crecimiento, aun cuando
134 pudieran producir distintas concentraciones de metabolitos promotores de crecimiento. También
135 existen registros de Pilar et al., (2005) de cultivos de *P. fluorescens*, que mostraron que estas
136 cepas inhiben el crecimiento de estos fitopatógenos entre un 60 y 90% por la producción de
137 sideróforos y compuestos antibióticos lo que las hacen efectiva para el control biológico.

138 En este contexto, esta investigación busca evaluar la capacidad inhibitoria y biofertilizante en
139 conjunto e individual *in planta* de los tres biocontroladores *T. atroviride*, *B. subtilis*. y *P.*
140 *fluorescens*, durante el desarrollo de la planta de uvilla afectadas por los hongos fitopatógenos
141 *B. cinerea* y *Cercospora* sp. Este estudio pretende que los ensayos realizados y los resultados
142 obtenidos en esta investigación contribuyan a establecer nuevas estrategias de control
143 fitosanitario en cultivos de uvilla en el país.

144 **2. Materiales y Métodos**

145 **2.1 Reactivación de cepas bacterianas y fúngicas**

146 Las cepas de las bacterias *B. subtilis* (B5-OJI) y *P. fluorescens* (SnR6), se sembraron en el medio
147 de cultivo Agar Nutritivo (AN) e incubadas a 25 ± 2 ° C por 48 horas. Por otro lado, los hongos *T.*
148 *atroviride* (T3), *B. cinerea* (OT-05-10) y *Cercospora* sp. (ET-24) fueron inoculados en medio
149 extracto de hojas de uvilla – avena - agar (UAA) e incubados a 25 ± 2 ° C por cinco días. Se

150 comprobaron características morfológicas y pureza de cultivos mediante tinción de Gram
151 (bacterias) y tinción de azul de lactofenol (hongos).

152

153 **2.2 Agar Extracto de hojas de uvilla-avena**

154 Se ajustó y modificó la metodología de Rengifo et al., (2002), la siguiente forma: 15g de hojas
155 jóvenes de uvilla, se lavaron con agua corriente, se picaron y se licuaron en 125 ml de agua
156 destilada estéril durante 3 minutos. El extracto se filtró a través de dos capas de gasa. Por otro
157 lado, se mezclaron 5g de harina de avena en 125 ml de ADE y se llevó a cocción, luego se filtró
158 a través de gasa. Posteriormente se mezclaron las dos soluciones en relación volumétrica 1:1,
159 se ajustó el pH a 7,0 con NaOH 2N y se adicionaron 1,5g de agar-agar por cada 100ml del medio
160 y se esterilizó en autoclave.

161

162 **2.3 Pruebas en plántulas de uvilla**

163 Plántulas de uvilla de 28 días de crecimiento sin síntomas o signos de la enfermedad, obtenidas
164 de la empresa Terrafertil/ Nature's Heart (Tabacundo, Pichincha), fueron transferidas a 51
165 macetas con 500 gramos sustrato estéril marca Lambert LM-GPS y distribuidas en tres controles
166 positivos y tres controles negativos. Las plantas fueron mantenidas en condiciones de
167 invernadero con una temperatura promedio de 34.2 °C y la humedad de 24% y regadas cada 2
168 días a capacidad de campo.

169 Los fitopatógenos se inocularon al quinto día en las plántulas de uvilla a través de discos de 7
170 mm de diámetro con micelio de 12 días de crecimiento. Los discos se inocularon en las hojas por
171 triplicado de forma aleatoria, y después de cuatro días se inocularon los controladores biológicos
172 en suelo. El inóculo bacteriano se produjo mediante fermentación líquida de las dos cepas
173 seleccionadas de *B. subtilis* y *P. fluorescens*, y consistió en inocular una asada de una colonia
174 en platos Petri con medio BHIA (Brain Heart Infusion Agar). Los platos se incubaron a 25°C
175 durante 24 horas y se midió la absorbancia en espectrofotómetro con una densidad óptica de
176 625 nm para llegar a una concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml (Soria, 2020). El inóculo de *B. subtilis*
177 y *P. fluorescens* se colocó en una proporción de 12 ml de cada inóculo por cada 500 gramos del
178 sustrato. El inóculo del biocontrolador fúngico se desarrolló a partir de cajas Petri con *T. atroviride*
179 de 10 días de crecimiento fueron lavadas con agua estéril y las conidias fueron filtradas utilizando

180 gasa y embudo. La concentración de las esporas para producir infección fue de 1×10^6
181 conidias/ml. Las conidias se contabilizaron con cámara de Neubauer, y la concentración fue
182 calculado con la fórmula planteada por Cañedo y Ames (2004):

$$183 \quad \frac{\text{Conidias}}{\text{mL}} = \text{Número de conidias} \times 25,000 \times \text{Factor de dilución} \quad (1)$$

184 Los hongos fitopatógenos inoculados en las hojas de la planta de uvilla permanecieron bajo
185 condiciones de invernadero durante un periodo de cuatro días, luego de este tiempo se aplicaron
186 los tratamiento biocontroladores con las suspensiones de los tres microorganismos
187 anteriormente mencionados. Después de 50 días de la inoculación de los controladores
188 biológicos se tomaron datos de la altura de las plantas y el número de hojas.

189

190 **2.4 Incidencia y Severidad**

191 La incidencia de la enfermedad se calculó con los datos recopilados a los 50 días de después de
192 la inoculación inicial, utilizando la fórmula establecida por Arguedas Gamboa et al., (2018). Para
193 determinar la incidencia, se contabilizó el número de plantas que mostraron síntomas de la
194 enfermedad y se expresó como un porcentaje del número total de plantas observadas durante
195 un período de 50 días.

$$196 \quad I (\%) = \frac{\text{Total de plantas enfermas}}{\text{Total de plantas sanas}} \times 100 \quad (2)$$

197 Por otro lado se estableció una escala de cuatro niveles para evaluar la severidad de la
198 enfermedad en plantas, comparando plantas sanas con diferentes grados de afectación bajo
199 condiciones de invernadero (Cristiane-Delmadi et al., 2018).

200 Grado 0: No se observan síntomas de marchitez vascular; el tallo está rígido y turgente, con
201 hojas verdes y extendidas. Grado 1: Se observa clorosis amarillenta en las hojas basales
202 ligeramente marchitas y una pérdida leve de turgencia. Los síntomas son poco evidentes. Grado
203 2: Los síntomas de marchitez y sequedad de las hojas son claros, con tallos que muestran una
204 pérdida moderada de turgencia. La planta presenta encopamiento, marchitez y sequedad de las
205 hojas. Grado 3: Se observa necrosis vascular del tallo (pudrición seca), pérdida total de hojas y
206 un tamaño reducido de la planta.

207 La severidad de la enfermedad se calculó con la fórmula:

$$208 \quad S = \frac{\sum (n \times V)}{3 \times N} \times 100 \quad (3)$$

209 Donde n es el número de plantas en cada categoría de infección, V es el valor numérico de las
210 categorías de infección, N es el total de plantas en el ensayo y 3 es la constante del número de
211 réplicas (Yendyo et al., 2017; Estupiñán y Ossa 2007). Cabe recalcar que los datos de severidad
212 fueron también recopilados a los 50 días después de la inoculación.

213

214 **2.5 Análisis estadísticos**

215 La investigación fue organizada en un diseño completo aleatorio, en el cual se evaluó por
216 triplicado los tres biocontroladores (*B. subtilis*, *P. fluorescens* y *T. atroviride*), así como también,
217 los controles blancos (sano) y negativos (enfermo) enfrentando a los fitopatógenos *B. cinerea* y
218 *Cercospora sp.* Se ensayaron un total de 51 unidades experimentales y las variables medidas
219 fueron altura de planta y número de hojas, datos que ayudan a comparar la eficiencia de los
220 biocontroladores contra los fitopatógenos durante el desarrollo de la planta. Con los resultados
221 obtenidos se realizó el análisis de varianza (ANOVA) para medir diferencias significativas entre
222 los tratamientos y se realizó la prueba post hoc de Tukey. Estas pruebas estadísticas se
223 procesaron en el programa IBM SPSS Statistics, con un nivel de significancia de 95%. Previo a
224 la aplicación del análisis de varianza se confirmó la normalidad y homogeneidad de los datos.

225

226 **3. Resultados**

227 Las cinco cepas de los microorganismos en estudio fueron exitosamente reactivadas.
228 *Cercospora sp.* mostró un desarrollo lento en el medio APZ (Agar papa zanahoria), misma que
229 no presentó esporulación ni características de crecimiento *in vitro*. En el presente trabajo se
230 desarrolló el medio de cultivo UAA (Extracto de hojas de uvilla - harina de avena - agar), el cual
231 mostró sus bondades para inducir el crecimiento y esporulación de las esporas, logrando
232 obtenerlas dentro de colonias circulares de borde definido que se extendieron a lo largo de toda
233 la placa (Figura 1).

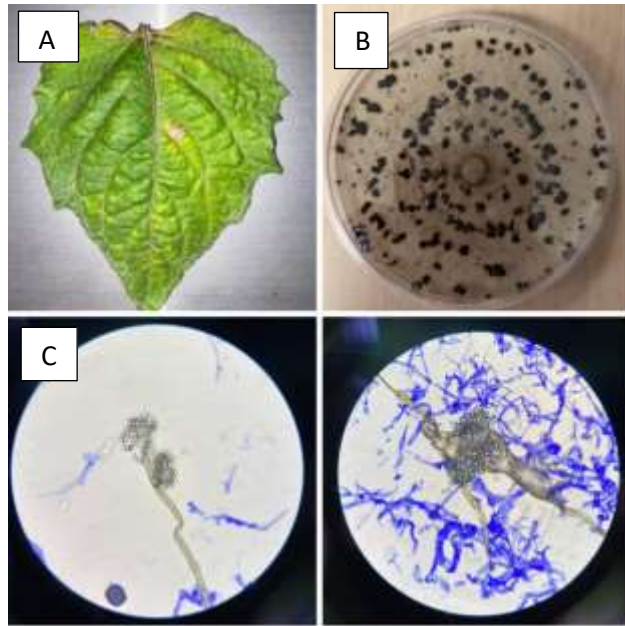


234 **Figura 1.** *Cercospora* sp. Los paneles de la izquierda corresponden a las manchas foliares
235 generadas por el hongo. A la derecha se presenta la morfología macroscópica en medio UAA y
236 microscópica con aumento de 100x.

237

238 Las lesiones producidas por *Cercospora* sp. se manifestaron inicialmente en las hojas con
239 pequeñas áreas necróticas con tamaños que oscilaron entre 3 y 5 mm de diámetro (Figura 1).
240 Por lo general se encuentran limitadas por las nervaduras de las hojas. Algunas de estas lesiones
241 presentaron pequeños halos de color amarillo, y a medida que el patógeno avanzó, las marcas
242 necróticas formaron anillos concéntricos.

243 Las colonias de *B. cinerea* en MEA mostraron crecimiento con micelio aéreo de textura esponjosa
244 y color crema blanquecino en toda la superficie de la caja. Las colonias alcanzaron un crecimiento
245 óptimo en los dos medios de cultivo probados. Se desarrollaron esclerocios de color negro a los
246 10 días de crecimiento, de tamaño irregular, organizados al azar. La microscopía mostró que
247 todos los conidióforos se presentaron de color marrón oscuro y a manera de racimo de uvas o
248 individuales, los conidios son ovoides color marrón oscuro (Figura 2).



249

250 **Figura 2.** *Botrytis cinerea*. A) Hoja infectada. B) Morfología macroscópica en medio MEA. C)
 251 Morfología microscópica (100x).

252

253 El efecto controlador de los microorganismos en estudio fue medido a los 50 días después de la
 254 inoculación y los resultados se observan en la tabla 1.

255 La incidencia de la mancha gris *Cercospora* sp. a los 50 días después de la inoculación del
 256 patógeno en las plántulas de uvilla fue 66,7% para el tratamiento individual de *T. atroviride*, y
 257 33,3% para los tratamientos individuales de *B. subtilis* y *P. fluorescens*. Los tratamientos en
 258 consorcios tuvieron menor incidencia y en la mayoría de los casos se presentó 0%. De igual
 259 manera la incidencia de moho gris *B. cinerea* a los 50 días después de la inoculación del
 260 patógeno fue de 66,7% para los tratamientos de *T. atroviride*, *P. fluorescens* y el consorcio *T.*
 261 *atroviride* + *P. fluorescens*. Los tratamientos que tuvieron menor incidencia fueron aquellos que
 262 presentaron valores de 0 durante el período de observación, siendo estos los consorcios de *T.*
 263 *atroviride* + *B. subtilis* - *B. subtilis* + *P. fluorescens* - *T. atroviride* + *B. subtilis* + *P. fluorescens*.
 264 Los tratamientos que presentaron mayor severidad de mancha gris provocada por *Cercospora*
 265 sp. fueron *T. atroviride*, *B. subtilis* y *P. fluorescens*, el cual va de 1,6 a 9,5 dependiendo del grado
 266 de severidad en los que fueron ubicados. Mientras, que para el patógeno de *B. cinerea* la
 267 severidad fue mayor alcanzando un rango de 1,6 a 12,7 tal como lo muestra la tabla 1.

268

269 **Tabla No 1.** Porcentaje de incidencia y severidad de la enfermedad a los 50 días después de la
 270 inoculación de los biocontroladores.

Tratamiento	<i>Cercospora sp.</i>			<i>Botrytis cinerea</i>				
	Incidencia	Severidad			Incidencia	Severidad		
		Grado				Grado		
		1	2	3		1	2	3
<i>Trichoderma atroviride</i>	66,7	3,2	9,5	0,0	66,7	3,2	9,5	0,0
<i>Bacillus subtilis</i>	33,3	0,0	9,5	0,0	33,3	1,6	9,5	4,8
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	33,3	1,6	3,2	0,0	66,7	1,6	9,5	0,0
<i>T. atroviride</i> + <i>B. subtilis</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>T. atroviride</i> + <i>P. fluorescens</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	66,7	0,0	12,7	0,0
<i>B. subtilis</i> + <i>P. fluorescens</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>T. atroviride</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. fluorescens</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

271 *Los valores obtenidos representan la incidencia y severidad de tres réplicas diferentes del
 272 mismo ensayo, durante en el enfrentamiento con el patógeno.

273

274 En cuanto al efecto biofertilizante (tabla 2), el tratamiento que produjo un mayor desarrollo de la
 275 planta con una mayor altura y cantidad de hojas ante *Cercospora sp.* fue *T. atroviride* + *B. subtilis*
 276 + *P. fluorescens*, con valores registrados de $30,33 \pm 6,42$ en número de hojas y $53 \pm 1,73$ en
 277 centímetros de altura le sigue *B. subtilis* y *P. fluorescens*, las cuales presentan un número
 278 promedio de hojas de $23 \pm 4,58$ y $55,33 \pm 4,16$ cm de altura. En contraste, el tratamiento que
 279 demostró un menor efecto controlador sobre las plantas fue *T. atroviride* debido a que posee un
 280 valor de $7 \pm 1,73$ para el número de hojas y $33 \pm 3,60$ cm para la altura de la planta.

281 **Tabla No 2.** Promedio de los resultados obtenidos en los ensayos de la capacidad
 282 biocontroladora de los tratamientos individuales y conjuntos en plántulas de uvilla a los 50 días
 283 de la inoculación. Tukey $p < 0.05$.

Tratamiento	<i>Botrytis cinerea</i>		<i>Cercospora sp.</i>	
	Número de hojas	Altura en centímetros	Número de hojas	Altura en centímetros
<i>Trichoderma atroviride</i>	$33 \pm 3,6$ ^{bc}	$32,6 \pm 6,4$ ^{ab}	$7 \pm 1,7$ ^{ab}	$33 \pm 3,6$ ^a
<i>Bacillus subtilis</i>	$48,3 \pm 4,9$ ^d	$50,3 \pm 3,5$ ^{cd}	$14,6 \pm 4,0$ ^{cde}	$48,3 \pm 4,9$ ^{bc}
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	$32,7 \pm 8,7$ ^{ab}	$37,3 \pm 8,6$ ^{abc}	$9 \pm 1,7$ ^{bcd}	$32,6 \pm 8,7$ ^a
<i>T. atroviride</i> + <i>B. subtilis</i>	$50,7 \pm 5,9$ ^{cd}	$57 \pm 3,6$ ^d	$13,3 \pm 4,1$ ^{bcde}	$50,6 \pm 5,8$ ^{bc}
<i>T. atroviride</i> + <i>P. fluorescens</i>	$48,7 \pm 2,3$ ^{ab}	$24,3 \pm 4,0$ ^a	$17,6 \pm 4,9$ ^{aef}	$48,6 \pm 2,3$ ^{bc}
<i>B. subtilis</i> + <i>P. fluorescens</i>	$55,3 \pm 4,2$ ^{bc}	$43,6 \pm 4,9$ ^{bcd}	$23 \pm 4,5$ ^{ef}	$55,3 \pm 4,1$ ^c
<i>T. atroviride</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>P. fluorescens</i>	$53 \pm 1,7$ ^d	$52,6 \pm 2,5$ ^d	$30,3 \pm 6,4$ ^f	$53 \pm 1,7$ ^c
Control blanco (sin inóculos)	$36 \pm 2,6$ ^a	31 ± 4 ^{ab}	$4,3 \pm 1,1$ ^a	$36 \pm 2,6$ ^a
Control positivo (enfermo)	$32,3 \pm 1,2$ ^{ab}	$32,3 \pm 1,1$ ^{ab}	$8,3 \pm 2,0$ ^{bc}	$32,3 \pm 1,1$ ^a

284 *Los valores que tienen diferente letra difieren estadísticamente

285

286 En la evaluación de los tratamientos como biofertilizantes (Figura 3), se encontraron diferencias
287 significativas al compararlos con los controles ($p \leq 0.05$). Los tratamientos mostraron resultados
288 con valores de $8,3 \pm 2,0$ y $32,3 \pm 1,1$ en referencia a la altura y cantidad de hojas, mientras que
289 el control sano presentó valores de $4,33 \pm 1,15$ y $36 \pm 2,64$ respectivamente. El tratamiento que
290 produjo un mayor desarrollo de la planta presentando mayor altura y mayor cantidad de hojas
291 ante *B. cinerea* fue el consorcio de *T. atroviride* + *B. subtilis* + *P. fluorescens* al registrar un valor
292 53 ± 1.73 y $52,66 \pm 2,51$ seguido de *T. atroviride* + *B. subtilis* con valores de 50.66 ± 5.85 y $57 \pm$
293 $3,60$ al igual que *B. subtilis* que individualmente registro valores de 48.33 ± 4.93 y 50.33 ± 3.51
294 mientras que el tratamiento que menos eficacia fue *T. atroviride* con 33 ± 3.60 y 32.66 ± 6.42 .



295 **Figura 3.** Inoculación por método de discos de agar. A) *Cercospora* sp. B) *B. cinerea*
296
297

298 El tratamiento más efectivo (Tabla 2) contra *Cercospora* sp. y *B. cinerea* fue el tratamiento 7,
299 este consorcio de microorganismos benéficos no solo promovió el crecimiento vegetal, sino que
300 también ofreció una protección significativa contra el patógeno (Figura 3).

301 El segundo tratamiento más efectivo fue la combinación de *B. subtilis* y *P. fluorescens* para
302 *Cercospora* sp. y *T. atroviride* y *B. subtilis* al igual que *B. subtilis* individual, estos resultados
303 subrayan la eficacia superior de los consorcios de microorganismos en comparación con los
304 tratamientos individuales. Teniendo en cuenta el control negativo y control sano indica que los
305 tratamientos tuvieron un efecto positivo en el crecimiento vegetal (Figura 3).

306

307 **4. Discusión:**

308 El fitopatógeno *Cercospora* sp. se caracteriza por provocar la muerte de la planta debido a que
309 esta consume todos sus nutrientes según el estudio realizado por Valero et al. (2019). Siendo
310 este una de las causantes del moho gris en las plantas de uvilla. A nivel de laboratorio. el medio
311 de cultivo APZ no fue eficiente en la producción de esporas de *Cercospora* sp., por tal motivo, se
312 desarrolló el medio de cultivo UAA (Rengifo et al., 2002), favoreciendo la producción de esporas
313 en este fitopatógeno. En este medio, se obtuvieron colonias circulares de borde definido que se
314 extendieron a lo largo de toda la placa.

315 Como se resalta en el estudio de Sotomayor et al. (2022) la inoculación de microorganismos
316 benéficos en plántulas de aguacate en etapas tempranas de crecimiento promovió
317 significativamente su desarrollo vegetativo. Teniendo como resultado un incremento en las
318 variables altura de planta, diámetro de tallo, la biomasa y la actividad fotosintética en
319 comparación con el grupo control o testigo.

320 Se describe a *B. cinerea* como un género fúngico común de las plantas, que se ha estudiado
321 ampliamente debido a las pérdidas económicas que causa en la producción y el almacenamiento
322 de cultivos (Torbatí, Arzanlou, Ashtiani, & Golmohamadi, 2019). Esta enfermedad es
323 tradicionalmente tratada con agroquímicos que generan perjuicios a las plantaciones, al
324 ambiente y la salud pública. Elad y Freeman (2002) indican que la fase de penetración es crucial
325 para un manejo eficaz de la enfermedad mediante el uso de productos biológicos. Esto se debe
326 principalmente a la dependencia de *Botrytis* de nutrientes externos para su germinación. Los
327 conidios del patógeno son susceptibles a los antibióticos y las enzimas líticas producidas por
328 microorganismos utilizados en el biocontrol. La reducción de la enfermedad a través del
329 biocontrol se fundamenta en la disminución de la capacidad saprofita del patógeno, la reducción
330 de la diseminación de esporas, la disminución de su virulencia y la inducción de resistencia en la
331 planta huésped, lo cual es eficaz contra infecciones latentes.

332 El patógeno actúa en condiciones de bajas temperaturas, ocasionando pérdidas significativas en
333 las cosechas almacenadas durante largos períodos, incluso cuando se mantienen a
334 temperaturas entre 0 y 10°C. Es raro que las esporas germinadas penetren directamente en los
335 tejidos con crecimiento activo; sin embargo, pueden ingresar a través de heridas o después de

336 un tiempo, desarrollando micelio sobre los pétalos de flores en presencia de marchitez, follaje en
337 declive o escamas de bulbos muertos (Agrios, 1997) por este motivo se utilizó el método de
338 discos de agar.

339 Aunque *Trichoderma* se muestra muy prometedor en aplicaciones agrícolas, todavía existen
340 algunos desafíos en el desarrollo y aplicación de *Trichoderma* (Rubio et al., 2014; Zhang et al.,
341 2018; Phoka et al., 2020; Santos et al., 2020; Wang H. et al., 2022). Debido a que las
342 preparaciones de esporas de *Trichoderma* son generalmente preparaciones de hongos vivos, a
343 menudo se ven afectadas por diversos factores naturales durante su uso, como la humedad, la
344 temperatura, la acidez y la alcalinidad del suelo, así como también la comunidad microbiana del
345 suelo (Chiriboga et al., 2015). En condiciones de campo, los resultados de las pruebas de campo
346 son inestables y la eficacia del control biológico se debilita. Además, la vida útil de los agentes
347 de control biológico es relativamente corta y algunos microorganismos deben almacenarse a
348 bajas temperaturas para asegurar concentraciones microbianas viables durante su uso (Santos
349 et al., 2012)

350 Koike & Bolda (2016) señalan que entre las estrategias para controlar las plantaciones se
351 establece un método de control integral que incluye: Control químico, cultural y biológico. Los
352 hallazgos de este estudio están en consonancia con las observaciones de Poveda y Eugui
353 (2022), quienes sostienen que el uso de microorganismos, incluyendo hongos como *Trichoderma*
354 spp. y bacterias como *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp., tiene efectos positivos en los cultivos.
355 La combinación de estos microorganismos aumenta el potencial como promotores del
356 crecimiento vegetal y agentes de control biológico.

357 **4. Conclusiones**

358 Los consorcios formados de *T. atroviride*, *P. fluorescens* y *B. subtilis*, tuvieron el mayor efecto
359 inhibitorio ante los patógenos de la uvilla *B. cinerea* y *Cercospora* sp. seguido de *B. subtilis* y *P.*
360 *fluorescens* para *Cercospora* mientras que el consorcio de *T. atroviride* + *B. subtilis* y el
361 tratamiento individual de *B. subtilis* tuvieron igual efecto inhibitorio para *B. cinerea*.

362

363 **Agradecimientos**

364 A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por el financiamiento de la investigación. Al
365 laboratorio de Fitopatología y Control Biológico. Especial agradecimiento a la empresa
366 TERRAFERTIL por proporcionar las plantas de uvilla para realizar la presente investigación.

367

368

369 Referencias

370 Agrios, G. (2012) Fitopatología. 3.a edn. Academic Press Inc. Disponible en
371 <<https://bibliotecaia.ism.edu.ec/Repo-book/f/FitopatologiaGeorgeN-Agrios.pdf>>
372 [Consulta: 10 junio 2024].

373 Aguilar, J. (2020) Identificación del hongo fitopatógeno *Phoma* spp. aislado a partir de plantas de
374 Uvilla (*Physalis peruviana* L.) en localidades de zona norte y centro-norte de la serranía
375 ecuatoriana. Tesis de pregrado no publicada. Pontificia Universidad Católica del
376 Ecuador [En línea]. Disponible en
377 <[http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/18033/Trabajo%20de%20titulac](http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/18033/Trabajo%20de%20titulac%20i%20c3%20b3n%20%2811%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y%20George%20N-Agrios.pdf)
378 <[i%20c3%20b3n%20%2811%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y%20George%20N-](http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/18033/Trabajo%20de%20titulac%20i%20c3%20b3n%20%2811%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y%20George%20N-Agrios.pdf)
379 <[Agrios.pdf](http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/18033/Trabajo%20de%20titulac%20i%20c3%20b3n%20%2811%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y%20George%20N-Agrios.pdf)> [Consulta: 20 junio 2024].

380 Altamirano, M. (2010) Estudio de la cadena productiva de uvilla (*Physalis peruviana* L.) en la
381 Sierra Norte del Ecuador. Tesis de pregrado no publicada. Universidad San Francisco
382 de Quito [En línea]. Disponible en
383 <<http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/950/1/95220.pdf>> [Consulta: 12 junio
384 2024].

385 Basantes, G. (2015) Producción de Uvilla (*Physalis Peruviana* L.) con dos abonos orgánicos
386 humus y gallinaza y dos dosis en la finca Gabriela del cantón Pangua provincia de
387 Cotopaxi 2014. Tesis de pregrado no publicada. Universidad Técnica de Cotopaxi [En
388 línea]. Disponible en <[http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/3516/1/T-UTC-](http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/3516/1/T-UTC-00793.pdf)
389 <[00793.pdf](http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/3516/1/T-UTC-00793.pdf)> [Consulta: 24 junio 2024].

390 Cañedo, V. y Ames, T. (2004) Manual de laboratorio para el manejo de hongos
391 entomopatógenos. 1.a edn. International Potato Center [En línea]. Disponible en
392 <<http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>> [Consulta: 24 mayo
393 2024].

394 Caviedes Alarcon, D., C. (2010). Aislamiento y selección de *Pseudomonas* Sp. y *Bacillus* sp.,
395 promotoras del crecimiento vegetal en cultivo de Uchuva (*Physalis peruviana* L.) con
396 actividad antagonica frente a *Fusarium oxysporum* (2010) [En línea]. Tesis de pregrado
397 no publicada. Pontificia Universidad Javeriana. Disponible en
398 <[https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8628/tesis588.pdf?seque](https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8628/tesis588.pdf?sequence=1)
399 <[nc e=1](https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8628/tesis588.pdf?sequence=1)> [Consulta: 18 junio 2024].

400 Chicaiza, G. (2008). Inventario de enfermedades fungosas de la uvilla (*Physalis peruviana*) en
401 las parroquias de Yaruquí y Amaguaña del Cantón Quito, provincia de Pichincha. Tesis
402 de pregrado no publicada. Universidad Estatal de Bolívar [En línea]. Disponible en
403 <<http://dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/73/3/02.pdf>> [Consulta: 24 mayo
404 2024].

405 Chiriboga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). *Trichoderma* spp. para el control biológico de
406 enfermedades. *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)* [En
407 línea]. Disponible en <[https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/93599511/BVE17038725e-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/93599511/BVE17038725e-libre.pdf?1667495629=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DProtocolos_para_formulacion_y_aplicacion.pdf&Expires=171954529&Signature=gJ7omrJrbCNHiwA-blckyQOkc1hucLj-h2ljJqiXaLWsk9HWdp2TwmCh6z2-8hnVj8ODJM1K52yCfqTOK-)
408 <[libre.pdf?1667495629=&response-content-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/93599511/BVE17038725e-libre.pdf?1667495629=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DProtocolos_para_formulacion_y_aplicacion.pdf&Expires=171954529&Signature=gJ7omrJrbCNHiwA-blckyQOkc1hucLj-h2ljJqiXaLWsk9HWdp2TwmCh6z2-8hnVj8ODJM1K52yCfqTOK-)
409 <[disposition=inline%3B+filename%3DProtocolos_para_formulacion_y_aplicacion.pdf&](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/93599511/BVE17038725e-libre.pdf?1667495629=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DProtocolos_para_formulacion_y_aplicacion.pdf&Expires=171954529&Signature=gJ7omrJrbCNHiwA-blckyQOkc1hucLj-h2ljJqiXaLWsk9HWdp2TwmCh6z2-8hnVj8ODJM1K52yCfqTOK-)
410 <[Expires=171954529&Signature=gJ7omrJrbCNHiwA-blckyQOkc1hucLj-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/93599511/BVE17038725e-libre.pdf?1667495629=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DProtocolos_para_formulacion_y_aplicacion.pdf&Expires=171954529&Signature=gJ7omrJrbCNHiwA-blckyQOkc1hucLj-h2ljJqiXaLWsk9HWdp2TwmCh6z2-8hnVj8ODJM1K52yCfqTOK-)
411 <[h2ljJqiXaLWsk9HWdp2TwmCh6z2-8hnVj8ODJM1K52yCfqTOK-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/93599511/BVE17038725e-libre.pdf?1667495629=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DProtocolos_para_formulacion_y_aplicacion.pdf&Expires=171954529&Signature=gJ7omrJrbCNHiwA-blckyQOkc1hucLj-h2ljJqiXaLWsk9HWdp2TwmCh6z2-8hnVj8ODJM1K52yCfqTOK-)

x1r4l8Ht655yH75GQekwtFEm~FBMOMn1Dd7fk2W5zSlchs9GOiDy6~Y7ims~zgvBn5
~IYV9JovGSUyE23OQz3FWCA~b~JceEfBGpZaP3INypMrjKJKVF6CJyW6dDNFpliQr
cwwq4ygpENq~zpVNypfmZ7242ePLoyNZKHBwrblOIII5x6253SLye89jaSISqze10kVW
SbUP6-
Y8yO186vLIWdH7ESuiNDtOy4HaQl5azojm703UHQYPLg3Rk67EXB9cg__&Key-Pair-
Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA> [Consulta: 10 junio 2024].

Control Bío (2015) Uso de BACILLUS SUBTILIS como biofungicida en agricultura y jardinería [En línea]. Disponible en <https://controlbio.es/es/blog/c/76_uso-de-bacillus-subtilis-como-biofungicida-en-agricultura-y-jardineria.html> [Consulta: 10 junio 2024].

Danay, I. et al. (2008) 'MECANISMOS DE ACCIÓN DE trichoderma FRENTE a HONGOS FITOPATÓGENOS', Protección Vegetal [En línea], 24(1). Disponible en <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002&lng=es&tlng=es.> [Consulta: 20 mayo 2024].

Díaz, J., Chaves, W. y Yanez, J. (2015). Caracterización molecular y análisis filogenético de hongos microscópicos asociados a manchas foliares en hojas de uvilla (*Physalis peruviana* L.) en varias localidades del cantón Quito, Pichincha. REVISTA ECUATORIANA DE MEDICINA Y CIENCIAS BIOLÓGICAS [En línea]. Disponible en file:///C:/Users/micae/Downloads/22-11-PB.pdf [Consulta: 21 mayo 2024].

Elad, Y., & Freeman, S. (2002) Biological Control of Fungal plant Pathogens. En F. Kempken, Agrikultural Applications. The Mycota, Vol 11. Berlin: Springer. Disponible en <https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/30992/Télez%20J.%202022.%20Botrytis%20spp.%20estado%20actual%20del%20biocontrol..pdf?sequence=1&isAllowed=y>. [Consulta: 6 de junio 2024].

Estupiñan, H. y Ossa, J. (2005). Efecto del agente causal de la marchitez vascular de la Uchuva 26 (*Physalis peruviana*) el hongo *Fusarium oxysporum schlecht* sobre algunas solanáceas y otras especies cultivadas afectadas por formas especiales del microorganismo. Tesis de pregrado no publicada, Pontificia Universidad Javeriana. [En línea]. Disponible en <<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8319/tesis293.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> [Consulta: 12 junio 2024].

Fernández Barbosa, R.J. y Suárez Meza, C.L. (2009) 'View of Antagonismo in vitro de Trichoderma harzianum Rifai sobre Fusarium oxysporum Schlecht f. sp passiflorae en maracuyá (*Passiflora edulis* Sims var. Flavicarpa) del municipio zona bananera colombiana. | Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín', Universidad Nacional de Colombia, [En línea], 62(1). Disponible en <<https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/24872/25404>> [Consulta: 11 junio 2024].

Góngora, A. y Rojas, P. (2006) Incidencia de las enfermedades en Uchuva *physalis peruviana*, por estado fenológico y de acuerdo con la ubicación en los diferentes estratos de la planta, en el departamento de Cundinamarca. Tesis de pregrado no publicada. Pontificia Universidad Javeriana. Disponible en <<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8260/tesis244.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> [Consulta: 10 junio 2024].

Gregorí Valdés, B. S. (2004) Estructura y actividad de los antifúngicos. Disponible en <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000200012> [Consulta: 20 junio 2024].

Hernández-Melchor, D.J., Ferrera-Cerrato, R. y Alarcón, A. (2019) 'Trichoderma: IMPORTANCIA AGRÍCOLA, BIOTECNOLÓGICA, y SISTEMAS DE FERMENTACIÓN PARA PRODUCIR BIOMASA y ENZIMAS DE INTERÉS INDUSTRIAL', Chilean Journal Of Agricultural & Animal Science. Disponible en <<https://doi.org/10.4067/s0719-38902019005000205>> [Consulta: 10 junio 2024].

- 464 Izzeddin y Medina (2010) 'Efecto del control biológico por antagonistas sobre fitopatógenos en
465 vegetales de consumo humano', SALUS [En línea], 15(3), pp. 8-12. Disponible en
466 <http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-71382011000300005.>
467 [Consulta: 10 junio 2024].
- 468 Jáuregui Correa, J., C. (2018). Perspectivas de la Ciencia y la tecnología (2019) Aplicación de
469 consorcios microbianos en la agricultura. Disponible en
470 <https://issuu.com/facultadingenieria/docs/perspectivas_maqueta_200219.>
471 [Consulta: 15 mayo 2024].
- 472 Matute Calle, P. F. (2019) CONTROL BIOLÓGICO DEL MOHO GRIS (*Botrytis cinerea*) EN
473 CULTIVOS DE FRESA (*Fragaria vesca* L.) MEDIANTE HONGOS FILAMENTOSOS
474 ANTAGONISTAS. Tesis de pregrado no publicada. Pontificia Universidad Católica del
475 Ecuador. [En línea] Disponible en
476 <[http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/14680/Disertaci%C3%B3n%20-%20Alexander%20Silva%20segunda%20correcci%C3%B3n.pdf?sequence=1&isAllo%20wed=y](http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/14680/Disertaci%C3%B3n%20Final%20-%20Alexander%20Silva%20segunda%20correcci%C3%B3n.pdf?sequence=1&isAllo%20wed=y).> [Consulta: 24 mayo 2024].
- 480 Mehmood, N. et al. (2023) 'Multifaceted Impacts of Plant-Beneficial *Pseudomonas* spp. in
481 Managing Various Plant Diseases and Crop Yield Improvement', ACS Omega [En
482 línea], 8(25), pp. 22296-22315. Disponible en
483 <<https://doi.org/10.1021/acsomega.3c00870>.> [Consulta: 10 junio 2024].
- 484 Mohammed, E. et al. (2004) 'Biocontrol por *Streptomyces rochei* –Ziyani–, de lapodredumbre del
485 pimiento (*Capsicum annum* L.) causada por *Phytophthora capsici*', Universidad de
486 Murcia [En línea], 26. Disponible en
487 <<https://revistas.um.es/analesbio/article/view/30471/29651>.> [Consulta: 10 junio 2024].
- 488 Mondino, P y Vero, S. (2006.). Control biológico de patógenos en plantas. EN: Área Agraria;
489 Montevideo: Udelar. CSEP [En línea]. 161 p.
- 490 Palacios (2013) Evaluación de la respuesta a la fertilización química y orgánica de la Uvilla
491 *Physalis peruviana* L. en la provincia de Imbabura- cantón Antonio Ante. Tesis de
492 pregrado no publicada. Escuela Politécnica Nacional. Disponible en
493 <<https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/6798/1/CD-5159.pdf>.>
- 494 Paredes, M, Yáñez, J. y Marcial, M.. (2021) 'Identificación de *Cercospora* spp. como agente
495 causal de mancha foliar en cultivos de uvilla (*Physalis peruviana* L.) en la Sierra norte
496 del Ecuador', Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas (REMCB)/Revista
497 Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas (REMCB) (En Línea), 42(2). Disponible
498 en <<https://doi.org/10.26807/remcb.v42i2.899>.> [Consulta: 10 junio 2024].
- 499 Pássaro Carvalho y Moreno, D.A. (2014) *Physalis peruviana* L.: FRUTA ANDINA PARA EL
500 MUNDO [En línea]. 1.a edn. Disponible en <<https://www.vidarium.org/libros/uchuva-physalis-peruviana-l-fruta-andina-para-el-mundo/#:~:text=es%20una%20de%20las%20frutas,de%20vitaminas%20y%20antioxidantes%20naturales>.> [Consulta: 10 junio 2024].
- 504 Pérez, A.A. et al. (2020) 'Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. in vitro como potenciales
505 biofungicidas para el cont', Agriscientia [En línea], 37(2), pp. 21-33. Disponible en
506 <<https://doi.org/10.31047/1668.298x.v37.n2.29419>.> [Consulta: 15 mayo 2024].
- 507 Pilar, Frias y Gisela, G. (2008) 'Evaluación de cepas de *Pseudomonas* SP para el control de
508 hongos fitopatógenos que afectan cultivos de interés económico', Instituto Cubano de
509 Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar [En línea], 29(3), pp. 40-44.
510 Disponible en <<https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120688007.pdf>.> [Consulta: 29
511 mayo 2024].
- 512 Płaza et al. (2011) 'Study of antifungal activity of bacillus species cultured on agro-industrial
513 wastes', Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus [En línea], 11(5), pp. 169-182.
514 <http://www.hortorumcultus.actapol.net/pub/11_5_169.pdf.

- 515 Poblete, J.C. (2010) 'El cultivo de la uvilla crece en el país', *El Comercio*. Disponible en
516 <<https://www.elcomercio.com/actualidad/negocios/cultivo-de-uvilla-crece-pais.html>>
517 [Consulta: 29 mayo 2024].
- 518 Puente et al. (2010) 'Physalis peruviana Linnaeus, the multiple properties of a highly functional
519 fruit: A review', *Food Research International* [En línea], 44(7), pp. 1733-1740. Disponible
520 en
521 <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/121543/PUENTE_2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y> [Consulta: 20 junio 2024].
- 523 Santos, A., García, M., Costes, M., Villamizar, A. (2012) 'Efecto de la formulación sobre la vida
524 útil de bioplaguicidas a base de dos aislamientos colombianos de *Trichoderma*
525 *koningiopsis* Th003 y *Trichoderma asperellum* Th034', *Revista Iberoamericana de*
526 *Micología* [En línea], 29(3), pp. 150-156. Disponible en
527 <<https://doi.org/10.1016/j.riam.2011.11.002>> [Consulta: 10 junio 2024].
- 528 Silva (2006) Diagnóstico de la problemática actual de enfermedades en el cultivo de uchuvas
529 *Physalis peruviana* L en el departamento de Antioquia. Tesis de pregrado no publicada.
530 Universidad Javeriana. Disponible en
531 <<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8256/tesis240.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> [Consulta: 20 junio 2024].
- 533 Soria (2020) Evaluación in vitro e in planta de la acción conjunta biocontroladora de cepas de
534 *Pseudomonas* spp. y *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium oxysporum* YC-3 en plántulas
535 de uvilla (*Physalis peruviana* L.). Tesis de pregrado no publicada. Pontificia Universidad
536 Católica del Ecuador. Disponible en
537 <<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/18040/Trabajo%20de%20titulaci%C3%B3n%20%2818%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> [Consulta: 20 junio
538 2024].
- 540 Sosa et al. (2011) 'Evaluación del método de conservación en papel de filtro en dos cepas de
541 *Bacillus subtilis* Cohn mediante la actividad antagónica frente a *Rhizoctonia solani*
542 Kühn', *Fitosanidad* [En línea], 15(1), pp. 45-50. Disponible en
543 <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1562-30092011000100007>
544 [Consulta: 20 junio 2024].
- 545 Tejera, Heydrich y Rojas (2011) 'Antagonismo de *Bacillus* spp. frente a hongos fitopatógenos del
546 cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.)', *Protección Vegetal* [En línea], 2(27). Disponible en
547 <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522012000200008>
548 [Consulta: 20 junio 2024].
- 549 Vera (2021) Evaluación in planta de la efectividad de cepas de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp.
550 como controladores biológicos de *Fusarium oxysporum* en Uvilla (*Physalis peruviana*
551 L.). Tesis de Grado. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Disponible en
552 <<http://www.repositorio.abc>> [Consulta: 15 junio 2024].
- 553 Vizcaino Cabezas y Betancourt Herrera, R.A. (2016) Guía de buenas prácticas agrícolas para
554 el cultivo de Uvilla, Agrocalidad. AGROCALIDAD. Disponible en
555 <<https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2022/02/Copia-de-Gui%C3%A1-de-BPA-para-Uvilla.pdf>> [Consulta: 15 junio 2024].
- 557 Yao, X. et al. (2023) 'Trichoderma and its role in biological control of plant fungal and nematode
558 disease', *Frontiers In Microbiology* [En línea], 14, p. National Library of Medicine.
559 Disponible en <<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>> [Consulta: 15 junio
560 2024].
- 561 Zin, N. y Badaluddin, N. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture
562 applications. *Annals of Agricultural Sciences* [en línea], 65, 168-178. Disponible en
563 <<https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.09.003>> [consulta: 29 junio 2024].



Firma de la estudiante

Carla Micaela Yépez Hidalgo

Quito, 28 de junio de 2024



Firma de la Directora de disertación

Mtr. Jeniffer Yánez Altuna

Quito, 28 de junio de 2024

Firma de la Coordinadora de carrera

Dra Diana Astorga

Quito, 28 de junio de 2024