PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

CARRERA DE MICROBIOLOGÍA

MECANISMOS DE BIOCONTROL DE *Trichoderma* spp. FRENTE A PATÓGENOS DE *Physalis peruviana* L.

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en Microbiología

NICOLÁS SEBASTIÁN ULLOA RODRÍGUEZ

Quito, 2024

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Disertación de Licenciatura en Microbiología del candidato Nicolás Sebastián Ulloa Rodríguez ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.



Mtr. Jeniffer Yánez Altuna

Directora de la Disertación

Quito, 28 junio 2024

DEDICATORIA

A mi familia y amigos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres por su apoyo durante todo el transcurso de la carrera, por creer en mí y en mis capacidades, por enseñarme las virtudes de la responsabilidad, perseverancia y honestidad y porque su sabiduría y guía ha sido, es y será la razón por la cual que he llegado hasta el lugar donde me encuentro hoy en día. A mis abuelos Marco y Susana por nunca dejar su rol como padres amorosos y como ejemplos de superación, constancia y dedicación. Y en un todo porque su elección de creer en la prosperidad en conjunto es la razón por la cual estoy aquí en un hogar. A mi hermano por su fe en mí de llegar lejos a pesar de los problemas que he tenido durante el transcurso de mi vida. Y, en general, a todos y cada uno de los miembros de familia que me han otorgado el privilegio de ser considerado parte de su vida.

Agradezco a mi directora de tesis, la Mtr. Jeniffer Yánez, debido a que este trabajo no habría sido posible sin sus valiosos conocimientos y experiencia que me han impulsado a interesarme por la micología, así como también agradezco la oportunidad que me ha otorgado de ser parte de su laboratorio y sus proyectos. También es necesario expresar agradecimientos a todo el personal de laboratorio que me han apoyado durante la realización de este trabajo y en mi formación como profesional y como ser humano, especialmente a mi amigo y colega de carrera Alexis Quintana Cueva, quien no ha escatimado en esfuerzo y tiempo para ayudarme cada que lo necesitaba.

A todos y cada uno de mis amigos que he hecho durante este tramo de mi existencia y que se han mantenido a mi lado a pesar de mis falencias. Que quede en constancia que ningún humano se hace solo y por ende he decido gratificarlos de manera sincera por ser una familia extendida, un hogar lejos de casa, una brisa cálida en el invierno más frío.

MANUSCRITO PARA LA PUBLICACIÓN

Revista

Revista La Granja

Titulo

Mecanismos de biocontrol de *Trichoderma* spp. frente a patógenos *de Physalis peruviana*

Autores

Nicolás Sebastián Ulloa Rodríguez*, Jeniffer Marcela Yánez Altuna**

Correo electrónico

*nsulloa@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 La Granja a partir de la siguiente página.

Normas para autores: https://lagranja.ups.edu.ec/pdf/granja/normas.pdf

LA GRANJA

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

Mecanismos de biocontrol de *Trichoderma* spp. frente a patógenos *de Physalis peruviana* L.

Biocontrol mechanisms of Trichoderma spp. against Physalis peruviana pathogens

RESUMEN

La uvilla (*Physalis peruviana* L.) es una planta productora de frutos apreciados en el mercado internacional por su perfil nutricional y medicinal. Ecuador posee 700 hectáreas sembradas con esta planta y sus exportaciones aumentaron desde 2019. Para mantener la productividad, se requiere controlar fitopatógenos como *R. solani* y *Aspergillus* sp. empleando productos químicos que causan contaminación ambiental. Sin embargo, estos productos pueden ser reemplazados por *Trichoderma* spp., un hongo microscópico que interactúa y genera compuestos que inhiben los fitopatógenos. En este estudio se emplearon *T. gamsii*, *T. harzianum* y *T. atroviride* para evaluar la inhibición in vitro del crecimiento de *R. solani* y *Aspergillus* sp. mediante mecanismos biocontroladores. Las técnicas incluyeron cultivo dual *in vitro*, la técnica del plato invertido y la técnica de la comida envenenada, con cálculos de porcentaje de inhibición de crecimiento radial. *T. harzianum* mostró la mayor inhibición frente a *R. solani* y *Aspergillus* sp. en cultivo dual con un PICR de 60,73% ± 8,78% y 24,24% ± 5,25, respectivamente. *T. gamsii* obtuvo la mayor inhibición por compuestos volátiles frente a *Aspergillus* sp. y *R. solani* con un PICR correspondiente de 32,23% ± 2,54% y 25,53% ± 1,23%. *T. harzianum* y *T. atroviride* presentaron la mayor inhibición por compuestos no volátiles frente a *R. solani* y *Aspergillus* sp. con un PICR respectivo de 18,85% ± 3,37% y 59,69 ± 2,60%. En conclusión, *T. harzianum* y *T. gamsii* son los organismos que inhiben el crecimiento de los fitopatógenos con mayor eficiencia por antagonismo y compuestos volátiles, respectivamente.

La uvilla (*Physalis peruviana L.,*.) es una planta productora de frutos apreciados en el mercado internacional por su perfil nutricional y medicinal. Ecuador posee 700 hectáreas sembradas con esta planta y sus exportaciones aumentaron desde 2019. Para mantener la productividad, se requiere controlar fitopatógenos como *R. solani* y *Aspergillus* sp. empleando productos químicos que causan contaminación ambiental. Sin embargo, estos productos pueden ser reemplazados por *Trichoderma* spp., un hongo microscópico que interactúa y genera compuestos que inhiben los fitopatógenos. En este estudio se emplearon *T. gamsii*, *T. harzianum* y *T. atroviride* para evaluar la inhibición in vitro del crecimiento de *R. solani* y *Aspergillus* sp. mediante mecanismos biocontroladores. Las técnicas incluyeron cultivo dual *in vitro*, la técnica del plato invertido y la técnica de la comida envenenada, con cálculos de porcentaje de inhibición de crecimiento radial. *T. harzianum* mostró la mayor inhibición frente a *R. solani* y *Aspergillus* sp. en cultivo dual con un PICR de 60,73% ± 8,78% y 24,24% ± 5,25, respectivamente. *T. gamsii* obtuvo la mayor inhibición por compuestos volátiles frente a *Aspergillus* sp. y *R. solani* con un PICR correspondiente de 32,23% ± 2,54% y 25,53% ± 1,23%. *T. harzianum* y *T. atroviride* presentaron la mayor inhibición por compuestos no volátiles frente a *R. solani* y *Aspergillus* sp. con un PICR respectivo de 18,85% ± 3,37% y 59,69 ± 2,60%. En conclusión, *T. harzianum* y *T. gamsii* son los organismos que inhiben el crecimiento de los fitopatógenos con mayor eficiencia por antagonismo y compuestos volátiles, respectivamente.

ABSTRACT

Physalis peruviana, known as uvilla, is a fruit-producing plant appreciated in the international market for its nutritional and medicinal profile. Ecuador has 700 hectares planted with this plant and Its exports have increased since 2019. To maintain its agricultural productivity, it is necessary to control phytopathogens such as R. solani and Aspergillus sp. using chemicals that cause environmental pollution. However, these products can be replaced by Trichoderma spp., a microscopic fungus that interacts and generates compounds that inhibit phytopathogens. In this study, T. gamsii, T. harzianum and T. atroviride were used to evaluate the in vitro growth inhibition of R. solani and Aspergillus sp. through biocontrol mechanisms. Techniques included dual in vitro culture, the inverted plate technique, and the poisoned meal technique, with calculations of percent radial growth inhibition. T. harzianum showed the greatest inhibition against R. solani and

Aspergillus sp. in dual culture with a PIGR of 60.73% ± 8.78% and 24.24% ± 5.25, respectively. T. gamsii obtained the highest inhibition by volatile compounds against Aspergillus sp. and R. solani with a corresponding PIGR of 32.23% ± 2.54% and 25.53% ± 1.23%. T. harzianum and T. atroviride showed the greatest inhibition by non-volatile compounds against R. solani and Aspergillus sp. with a respective PIGR of 18.85% ± 3.37% and 59,69 ± 2,60%. In conclusion, T. harzianum and T. gamsii are the organisms that inhibit the growth of phytopathogens with greater efficiency through antagonism and volatile compounds, respectively.

Palabras clave

Hongos fitopatógenos, metabolitos, compuestos volátiles, antagonismo, biocontrol,

Keywords

Phytopathogenic fungi, metabolites, volatile compounds, antagonism, biocontrol.

1. Introducción

La agricultura es una de las actividades económicas más importantes alrededor del mundo. Se estima que alrededor del 40 por ciento de la población mundial obtiene ingresos gracias a esta actividad, y se proyecta que el valor de la producción bruta agrícola ascienda a 3,90 billones de dólares estadounidenses para 2024 (Statista Market Insights, 2023). Sin embargo, anualmente la producción mundial de cultivos alimentarios enfrenta pérdidas de hasta un 40 por ciento debido a plagas y enfermedades de plantas. Esto genera pérdidas en el comercio agrícola que ascienden a más de 220 mil millones de dólares estadounidenses (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2019).

Para Ecuador, las pérdidas el sector agrícola, independientemente de si son causadas por agentes bióticos o abióticos, son un problema grave debido a que los ingresos de la agricultura representan alrededor del 8 por ciento del producto interno bruto del país. Además, estas pérdidas perjudican directamente a pequeños productores que componen el 64 por ciento de este sector, así como también a los 2,4 millones de trabajadores del sector agrícola (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, s.f.). Las enfermedades de plantas son una condición de daño y deterioro que es causada por factores bióticos y abióticos. En particular, los factores bióticos son agentes vivos y patógenos responsables de las enfermedades infecciosas de plantas y poseen la capacidad de transmitirse

desde una planta infectada o sus restos a otras que se encuentren sanas. Los microorganismos causantes de enfermedad incluyen bacterias, hongos, nematodos y virus, y su control asegura el correcto desarrollo de los cultivos y el mantenimiento de su productividad (Commission On Higher Education Regional Office III, 2021). Dentro de los fitopatógenos se encuentran varias especies de hongos, los cuales se caracterizan por permanecer latentes en tejidos vegetales tanto vivos como muertos, hasta que existan las condiciones propicias para su proliferación y desarrollo dentro de los tejidos de la planta hospedadora. Especies de los géneros *Fusarium, Rhizoctonia, Sclerotinia, Aspergillus*, etc., son considerados como hongos patógenos importantes de plantas debido a que causan afecciones como royas, marchitez, tizón, sarna, agallas, cancro, muerte regresiva, antracnosis, manchas foliares, espirales y pudrición de la raíz en cultivos (Jain et al. 2019). Dentro de las plantas productoras de frutos que son susceptibles a infecciones por hongos fitopatógenos se encuentra *Physalis peruviana* L. Esta planta pertenece a la familia Solanaceae y según Legge (1974, citado en Fischer, Almanza-Merchán y Miranda, 2014) es originaria de las zonas andinas peruanas. Sus frutos son apreciados en el mercado internacional debido a su perfil nutricional compuesto por vitaminas, ácido cítrico, carbohidratos, fibra y fenoles (Maruenda et al., 2018), así como también por minerales como fósforo, potasio (Mokhtar, Swailam y Embaby, 2018) y hierro (Miranda y Fischer, 2021) y por agentes anticancerígenos y antioxidantes (El-Beltagi et al., 2019). Además, posee un, efecto benéfico sobre las defensas del cuerpo humano ante enfermedades (Aman y Masood, 2020) (Álvarez-Herrera, Vélez y Jaime-Guerrero, 2022). Desde la incursión de Ecuador a la exportación de la uvilla al mercado norteamericano en 2019, su demanda ha ido en aumento. Las exportaciones a Estados Unidos de América y Canadá de este producto pasaron de 3500 kilogramos en 2019 a 6000 kilogramos para 2023 (Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario, 2023). Debido a que la uvilla se está convirtiendo en una fuente de ingresos importante dentro del sector agrícola, es necesario plantear estrategias que protejan las aproximadamente 700 hectáreas del cultivo en Ecuador de organismos fitopatógenos como, por ejemplo, las especies de los géneros *Fusarium, Phytophthora, Alternaria, Botrytis*, *Aspergillus*, *Rhizoctonia,* etc., a fin de disminuir los estragos que estos puedan causar a la productividad tanto como patógenos en pre y/o post cosecha (Parker, 2012; Primicias, 2019). Dentro de los patógenos más importantes de *P. peruviana* se encuentran las especies del género *Rhizoctonia* y *Aspergillus*. *R. solani* es

responsable del aparecimiento de fitopatologías como el ahogamiento de las plántulas y la pudrición de tallo y raíz producidas por un deficiente transporte hídrico y nutricional en la planta (Vega, 2023), mientras que *Aspergillus* sp. es causante de moho negro, el cual causa el daños y deterioro en los frutos. Por otro lado, *Aspergillus* sp. también está relacionado con intoxicaciones alimentarias debido al consumo de frutos contaminados con este hongo o sus micotoxinas (Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo, 2021). Para proteger a los cultivos de posibles infestaciones con organismos patógenos se emplean estrategias para controlarlos como, por ejemplo, la aplicación de productos químicos. Sin embargo, debido a que estos productos contaminan el suelo y disminuyen el rendimiento de las cosechas, producto de la disminución de la actividad microbiológica y bioquímica del suelo que, a su vez, es resultado de la acumulación progresiva de residuos químicos en los ecosistemas tratados (Baćmaga, Wyszkowska y Kucharski, 2019). Por tanto, se plantean estrategias alternativas al uso de agroquímicos y pesticidas, como el control biológico (Lahlali et al., 2022). El control biológico utiliza a parásitos, patógenos y depredadores de organismos fitopatógenos con el objetivo de evitar su proliferación y los daños que pueden causar a los cultivos (Dreistadt, UC Statewide IPM Program y UC Davis, 2014). Dentro de los controladores biológicos de interés para la agricultura se encuentran los hongos del género *Trichoderma*. Son hongos ascomicetos oportunistas y cosmopolitas que poseen la capacidad de controlar fitopatógenos mediante sus interacciones con estos como: competencia (crecimiento acelerado del organismos antagonista y absorción eficiente de nutrientes del sustrato), antibiosis (secreción de metabolitos volátiles y no volátiles tóxicos para fitopatógenos) y micoparasitismo (formación de estructuras en forma de gancho que se unen a hifas de fitopatógenos, causando presión física sobre ellas y degradación de su pared celular, permitiendo la adquisición de carbono y nitrógeno de la presa) (Ayvar-Serna et al., 2019; Harman et al., 2004; Infante et al., 2009; Sánchez-Espinosa, Villarruel-Ordaz y Maldonado Bonilla, 2021; Yao et al. 2023). Halifu y colaboradores (2020) demostraron que *T. virens* ZT05 posee un efecto inhibidor contra *Rhizoctonia solani* gracias a que los compuestos volátiles y no volátiles que produce (ej: peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa, proteínas solubles, malondialdehído y glutatión peroxidasa dependiente de selenio) afectan a las proteínas miceliales de este último. Abdelmoaty y colaboradores (2022) señalaron que *Trichoderma* sp. promueve el crecimiento y desarrollo de raíces y brotes de plantas debido a la producción de

auxinas y sustancias relacionadas, a la par de que inducen a la resistencia en las raíces ante patógenos y su efecto. Ren et al., (2022) encontraron que seis de las veinte cepas evaluadas del género *Trichoderma* inhibieron el crecimiento de *Aspergillus flavus* ITEM 9 (Af-9) de tres días de edad en cultivos duales *in vitro* entre el 13 % y el 65 %. A pesar de estas investigaciones, todavía no se ha evaluado la capacidad inhibitoria de los compuestos volátiles y no volátiles generados por *T. harzianum, T. atroviride* y *T. gamsii* frente a los hongos fitopatógenos de uvilla *R. solani* y *Aspergillus* sp. Además, se desconocen las interacciones que tienen esas especies del género *Trichoderma* con los patógenos pre y post cosecha de uvilla anteriormente mencionados, los cuales causan pérdidas económicas en los cultivos de este alimento. Por tanto, esta investigación se centrará en la evaluación *in vitro* de los mecanismos de biocontrol de *T. harzianum, T. atroviride* y *T. gamsii* frente a los fitopatógenos *Rhizoctonia solani* y *Aspergillus* sp.

2. Materiales y Métodos

2.1. Reactivación y cultivo de cepas fúngicas

Las especies fúngicas pre identificadas como *T. harzianum, T. gamsii, T. atroviride, Aspergillus sp.* y *R. solani*, almacenadas en la colección de hongos del Laboratorio de Fitopatología y Control Biológico de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador bajo los códigos LFCB-CB-068, T25, LFCB-CB-028, JC-02 y RS001, se reactivaron en agar PDA. Las cepas fueron incubadas a una temperatura de 25 ± 3°C durante siete días (Awad et al., 2018).

2.3. Pruebas de antagonismo

2.3.1. Cultivo dual *in vitro*

El ensayo de cultivo dual se realizó siguiendo el método (Método-I) descrito por Rahman, M. A., Begum, M. F., y Alam, M. F. (2009) para evaluar el antagonismo de las especies del género *Trichoderma* frente a los fitopatógenos *R. solani* y *Aspergillus* sp. Se colocaron discos de agar de 10 mm de diámetro provenientes de cultivos de *T. harzianum, T. atroviride* y *T. gamsii* de siete días de edad en la periferia de las placas Petri de 90mm de diámetro con agar PDA y en el extremo contrario de la placa se colocaron discos de 10mm de diámetro provenientes de cultivos de *R. solani* y *Aspergillus* sp. de máximo cuatro días de edad (cada tratamiento se replicó por triplicado). Los controles consistieron en placas Petri (90mm de diámetro) con PDA a los cuales

se les inocularon en el centro, discos de agar de 10mm de diámetro con micelio de los hongos fitopatógenos (Figura 1). Los cultivos fúngicos se incubaron bajo las condiciones de 25 ± 3°C hasta cinco días o hasta que el cultivo se estabilizó. Se midió el radio micelial de los micelios de los hongos fitopatógenos cada 24 horas por un tiempo máximo de siete días y se registraron los resultados.

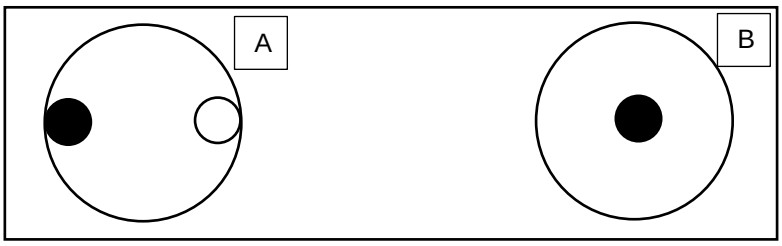


Figura 1. Representación gráfica de los cultivos duales. A) Modelo propuesto por Rahman, Begum y Alan (2009) en el caso de *T. harzianum, T. gamsii* y *T. atroviride* contra *R. solani* y *Aspergillus* sp. B) Modelo propuesto por Rahman, Begum y Alan (2009) en el caso de los controles negativos.

La interacción colonial entre los fitopatógenos y los hongos antagonistas se evaluó siguiendo el protocolo de Ren et al. (2022) basado en las claves provistas por Skidmore y Dickinson (1976) y Chand y Logan (1984), descritas por Whipps (1987). Los tipos de interacción colonial posibles son: a) Tipo 1: El organismo antagonista supera el crecimiento del patógeno y se detiene su crecimiento, b) Tipo 1/2: El organismo antagonista supera el crecimiento del patógeno, pero el patógeno sigue en crecimiento, c) Tipo 2/1: El patógeno supera el crecimiento del organismo antagonista, pero el antagonista sigue en crecimiento, d) Tipo 2: El patógeno supera el crecimiento del organismo antagonista y se detiene su crecimiento, e) Tipo 3: Ligera inhibición mutua (zona de inhibición ≤ 2 mm de ancho) y f) Tipo 4: Fuerte inhibición mutua (zona de inhibición ≤ 4 mm de ancho).

2.3.2. Técnica de la comida envenenada (Poisoned food technique)

La prueba de inhibición por compuestos no volátiles fue realizada en base al protocolo provisto por Nene y Thapliyal (1993) y descrito por Yogalakshmi (2021) y Tapwal y Pandey (2016). Se inocularon dos discos de agar de 10mm de diámetro de cada especie del género *Trichoderma* en tres matraces cónicos que contengan 100 ml de caldo PDB, respectivamente. La incubación de los matraces se realizó por siete días con una agitación constante de 150 revoluciones por minuto y bajo 28°C de temperatura (Yogalakshmi, 2021). El sobrenadante se recolectó y se lo

centrifugó a 9000 revoluciones por minuto por 10 minutos. Luego, se filtraron los compuestos no volátiles secretados por *T. harzianum, T. atroviride* y *T. gamsii* por medio de filtro miliporo de 0,20 µm GVS Life Sciences® a fin de separar físicamente a las partículas de medida superior al diámetro de poro de esta membrana semipermeable (Yogalakshmi, 2021). Tras filtrar los compuestos no volátiles, se prepararon 720 ml de PDA repartidos en cuatro frascos (180 ml de agar PDA por frasco) y se suplementaron de forma respectiva 20 ml de los compuestos no volátiles producidos por cada especie de *Trichoderma* a cada medio no solidificado a 40°C, a fin de obtener una concentración final de 10% (v/v). Se repartieron los agares PDA suplementados con compuestos no volátiles en cajas Petri (seis unidades experimentales por cada especie del género *Trichoderma*) y se los dejó solidificar (Yogalakshmi, 2021). Los fitopatógenos *Aspergillus* sp. y *R. solani* se inocularon mediante discos de agar de 10mm de diámetro en el centro de cajas Petri con PDA suplementado con compuestos no volátiles por triplicado. Los controles consistieron en placas Petri (90mm de diámetro) con PDA a los que se les inocularon en el centro discos de agar de 10mm de diámetro de los hongos fitopatógenos (Figura 1). Todas las unidades experimentales se incubaron a 28°C por siete días. Se midió el radio micelial de los hongos fitopatógenos cada 24 horas hasta los siete días y se registraron los resultados (Tapwal y Pandey, 2016).

2.3.3. Técnica del plato invertido (Inverted plate technique)

La prueba de inhibición por compuestos volátiles fue realizada en base al protocolo provisto por Dennis y Webster (1971) y descrito por Intana, Kheawleng y Sunpapao (2021). Las unidades experimentales se prepararon colocando discos de agar de 10mm de diámetro de las especies *T. harzianum, T. gamsii* y *T. atroviride* con una edad máxima de siete días en el centro de placas Petri de 90mm de diámetro con PDA por triplicado (el micelio no entra en contacto con el medio de cultivo). Este procedimiento se realizó nuevamente para los hongos fitopatógenos *R. solani* y *Aspergillus* sp. con 3 a 5 días de crecimiento. Las bases de los platos Petri inoculados con los hongos fitopatógenos se invirtieron y fueron colocadas sobre las bases de los platos Petri inoculadas con especies del género *Trichoderma*. Los bordes de ambas placas se alinearon y se sellaron con doble capa de Parafilm (Figura 2). Los controles consistieron en placas Petri (90mm de diámetro) que contuvieran agar PDA a los cuales se le inocularon en el centro discos de agar

de 10mm de diámetro de los hongos fitopatógenos (Figura 1). La incubación de las placas se realizó a temperatura ambiente y se registraron las medidas del radio de *R. solani* y *Aspergillus* sp. cada 24 horas hasta los siete días.

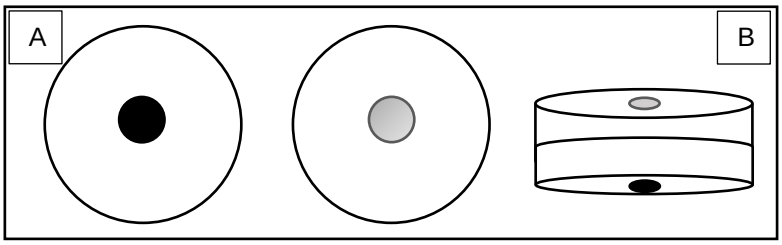


Figura 2. Representación de la técnica del plato invertido. A) Modelo de cultivo de *Trichoderma* spp. (negro) y modelo de cultivo de *R. solani* y *Aspergillus* sp. (gris) previos a la unión de ambos platos. B) Modelo propuesto por Dennis y Webster (1971) de la técnica del plato invertido para el caso de *T. harzianum, T. gamsii* y *T. atroviride* contra *R. solani* y *Aspergillus* sp.

2.4. Cálculo del porcentaje de crecimiento radial

Los radios miceliales de los hongos fitopatógenos registrados fueron utilizados en la fórmula de cálculo del porcentaje de inhibición de crecimiento radial propuesta por Skidmore y Dickinson (1976):

$$PICR = \frac{[R1-R2]}{R1} x100$$

Donde: 1) R1 representa el radio micelial de *Aspergillus* sp. y *R. solani* en las placas y 2), R2 representa el radio micelial de los fitopatógenos tras su enfrentamiento contra las cepas *Trichoderma* spp. empleadas o contra sus compuestos generados. De esta forma se obtuvo el porcentaje de inhibición del crecimiento radial para cada unidad experimental con respecto a los controles. Todos los datos obtenidos se registraron para posteriores análisis estadísticos.

2.5. Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos en cada técnica empleada en el estudio fueron sometidos a pruebas de homogeneidad y normalidad mediante las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk, respectivamente. Posteriormente, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) y pruebas post hoc de Tukey con una probabilidad de 95% cuando amerita. Todos los análisis se ejecutaron empleando el software estadístico IBM SPSS Statistics versión 27.

3. Resultados y Discusión

Las especies del género *Trichoderma* mostraron características fenotípicas propias de su naturaleza, lo que coincide con lo descrito en la literatura (Figura 3) (Abdel-Azeem et al., 2019; López-Mondéjar, 2011; Martínez, Infante y Reyes, 2013; Valdés, 2014; Gonzalez Basso, Di Barbaro y Ribero, 2024).

De igual forma, los caracteres de *R. solani* y *Aspergillus* sp. coincidieron con lo reportado en otras investigaciones (Figuras 4 y 5). Se destaca la presencia de esclerocios en las colonias de *R. solani.* Las observaciones microscópicas presentaron conidióforos caracterizados por un estípite de paredes gruesas y de gran tamaño con un ápice hinchado y conidios globosos de varios colores y con forma elíptica a oblonga dispuestos en cadenas en el caso de *Aspergillus* sp., mientras que en el caso de *R. solani* se presentaron hifas septadas con ramificaciones en ángulo recto de color marrón (Ajayi-Oyetunde and Bradley, 2017; Sugui et al., 2015; van Leeuwen, 2009). Las cepas *Aspergillus* sp. y *R. solani* mostraron un desarrollo rápido en medio PDA de aproximadamente una semana y cuatro días, respectivamente. Las observaciones del crecimiento de *R. solan*i están acordes a lo reportado por Pérez et al. (2020).

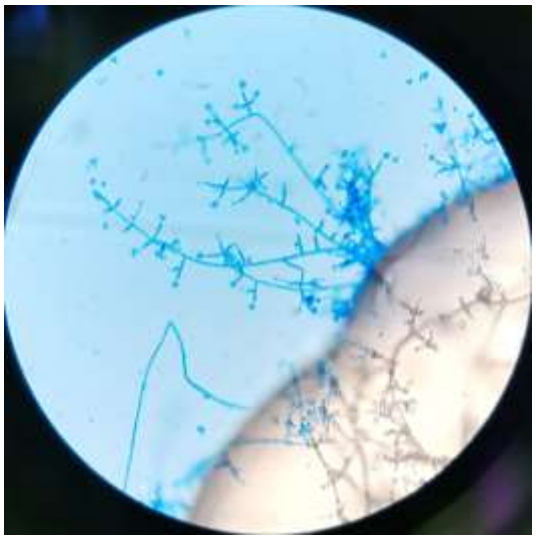


Figura 3. Micelio y estructuras reproductivas de *Trichoderma* spp. a 40X de aumento.

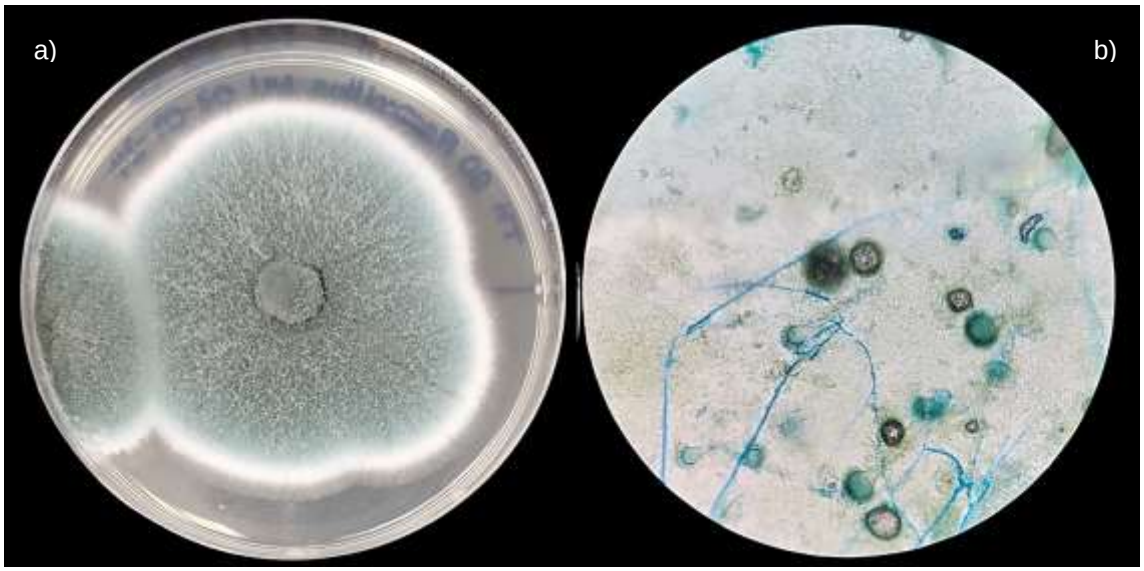


Figura 4. a) Colonia de *Aspergillus* sp. de cuatro días de crecimiento en medio PDA. b) Micelio de *Aspergillus* sp. a 40X de aumento**.**



Figura 5. a) Colonia de *R*. *solani* de cuatro días de crecimiento en medio PDA. a1) Esclerocios. B) Micelio de *R*. *solani* a 40X de aumento*.*

En la prueba de cultivo dual, la cepa *T. harzianum* presentó el mayor efecto inhibitorio ante los patógenos de uvilla *Aspergillus* sp. y *R. solani* seguido por las cepas *T. gamsii* y *T. atroviride* (Figuras 6 y 7). Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) al comparar los tratamientos de todas las cepas de *Trichoderma* frente al control. La cepa *T. harzianum* se situó como el mejor agente antagónico al registrar un PICR del 24,24% ± 5,25% y de 60,73% ± 8,78% frente a *Aspergillus* sp. y *R. solani*, respectivamente. *T. gamsii* y *T. atroviride* frente a *Aspergillus* sp. representaron un porcentaje de inhibición radial cercano al 20%, mientras que para *R. solani* solo *T. gamsii* obtuvo un porcentaje de inhibición de crecimiento radial que supera el 50% (Tabla 1). La evaluación de las interacciones entre colonias se observó que *T. harzianum*, *T. gamsii* y *T.*

atroviride mantienen una interacción colonial de tipo ½ hasta las 96 horas de desarrollo, debido a que los fitopatógenos mantienen su crecimiento a pesar del crecimiento de los biocontroladores. A partir de las 120 horas se reportó una relación de tipo 1, se evidencia la disminución del crecimiento de los fitopatógenos y a la progresiva colonización por parte de los antagonistas como se observa en las figuras 6 y 7 (Chand y Logan, 1984; Skidmore y Dickinson, 1976; Whipps, 1987). Los resultados de las interacciones coloniales de *T. harzianum y T. gamsii* están acorde a las reportadas por Ren et al. (2022) en su evaluación de cepas de *T. harzianum* y *T. gamsii* frente a *Aspergillus flavus* ITEM 9 (Af-9) en cultivos duales *in vitro* tras 21 días de incubación. El resultado de la inhibición de crecimiento radial de *T. harzianum* sobre *R. solani* es cercano al PICR de 66,7% reportado por Pérez-González et al. (2023), mientras que el PICR obtenido en cultivo dual por parte *T. atroviride* son cercanos al 56,47% reportado por Pérez et al. (2020) para la cepa *T. atroviride* CBa3.

Tabla 1. Datos de los cultivos duales. Promedio y desviación estándar del PICR (porcentaje de inhibición de crecimiento radial). Tipo de interacción (Ren et al. 2022).

Especie antagonista	*Rhizoctonia solani*			*Aspergillus* sp.		
	PICR (%)	Tipo de interacción		PICR (%)	Tipo de interacción	
		96 horas	120 horas		96 horas	120 horas
T. harzianum	60,73 ± 8,78^{b}	½	1	24,24 ± 5,25^{a}	½	1
T. gamsii	54,98 ± 6,63^{ab}	½	1	19,19 ± 3,50^{a}	½	1
T. atroviride	39,66 ± 4,98^{a}	½	1	15,66 ± 6,83^{a}	½	1

Todos los tratamientos presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a los valores de control mediante ANOVA unidireccional. Todas las cepas evaluadas mostraron una interacción colonial inicial de tipo ½ tras 96 horas de incubación y una relación final de tipo 1 tras 120 horas.

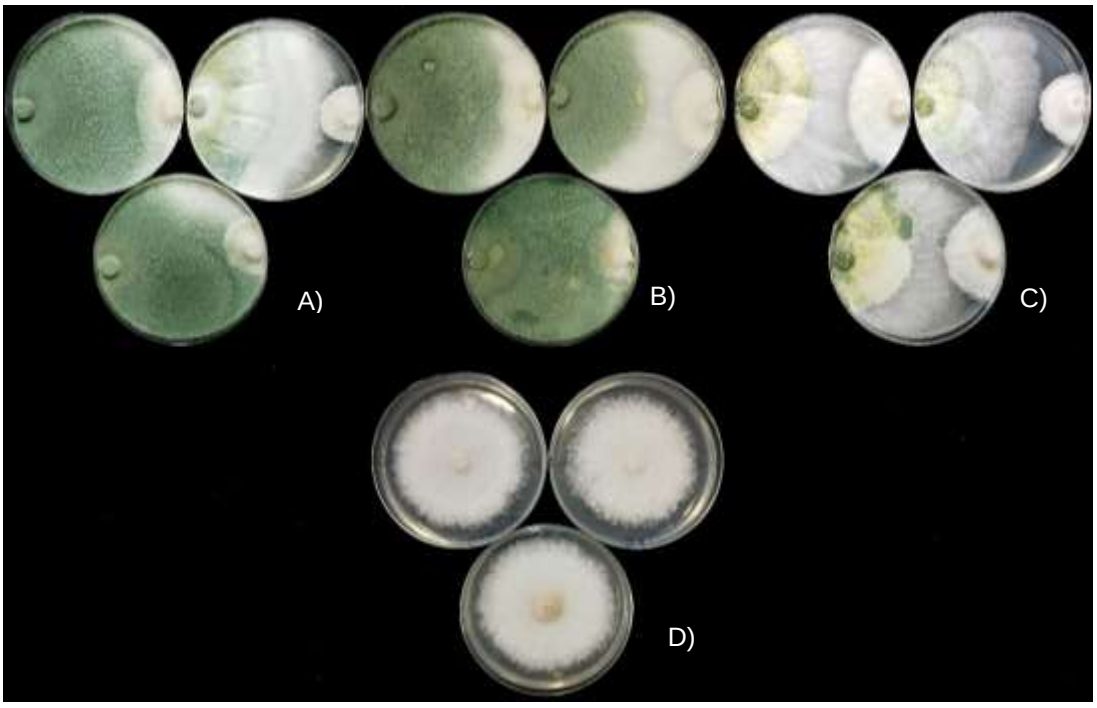


Figura 6. Cultivos duales *in vitro* de *Trichoderma* spp. (Periferia izquierda del plato Petri) y *R. solani* (Periferia derecha del plato Petri) tras 120 horas de incubación: A) *T. harzianum,* B) *T. gamsii,* C) *T. atroviride,* D) Control *R. solani*

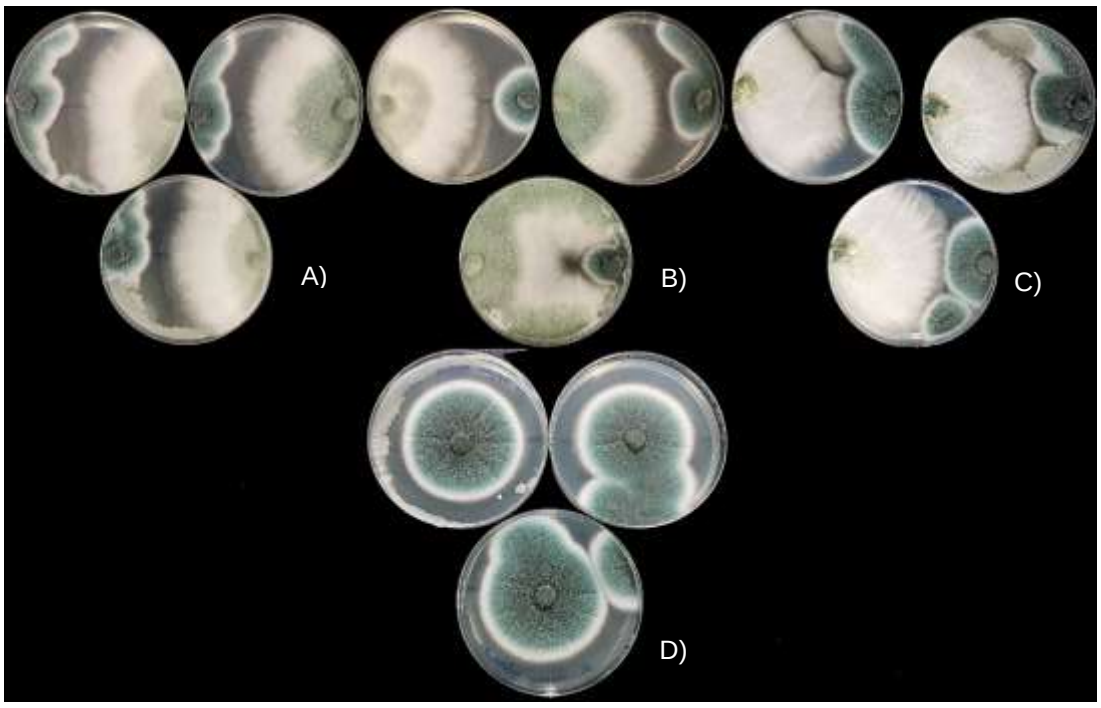


Figura 7. Cultivos duales *in vitro* de *Trichoderma* spp. (Periferia izquierda del plato Petri) y *Aspergillus* sp. (Periferia derecha del plato Petri) tras 120 horas de incubación: A) *T. harzianum*, B) *T. gamsii*, C) *T. atroviride*, D) Control de *Aspergillus* sp.

En el ensayo de plato invertido se obtuvo que la cepa *T. gamsii* presentó el mayor efecto inhibitorio por compuestos volátiles ante los patógenos de uvilla *Aspergillus sp*. y *R. solani* seguido por las cepas *T. harzianum* y *T. atroviride* (Figuras 8 y 9). Tanto para el caso de

Aspergillus sp. como para el de *R. solani* se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) al comparar los tratamientos de todas las cepas de *Trichoderma* frente a los controles. La cepa *T. gamsii* se situó como el mejor agente antagónico por metabolitos volátiles al registrar un valor de PICR del 32,23% ± 2,54% y de 25,53% ± 1,23% frente a *Aspergillus* sp. y *R. solani*, respectivamente (Tabla 2). Todas las cepas evaluadas obtuvieron valores de PICR superiores al 20% frente a *R. solani* y a *Aspergillus* sp. En contraposición a los resultados de estudios previos, la cepa evaluada *T. harzianum* no superó el 40% de PICR frente a *R. solani* por compuestos volátiles como lo reportó por Safari Motlagh et al. (2022), mientras que la cepa evaluada de *T. atroviride* no obtuvo un PICR en torno al 40% frente el mismo patógeno como lo reportó Raut et al. (2014). Hasta el momento de la preparación de este documento, no se encontraron trabajos investigativos relacionados a los compuestos volátiles producidos por *T. harzianum, T. gamsii* y *T. atroviride* y su efecto sobre el crecimiento radial de *Aspergillus* sp. Sin embargo, se ha evidenciado que los compuestos volátiles de *T. gamsii* YIM PH30019 obtuvieron tasas de inhibición de hasta el 45%, 37,5%, 38,6% y 46,3% frente a *Epicocum nigrum, Scytalidium lignicola, Phoma herbarum* y *Fusarium flocciferum*, respectivamente (Chen et al., 2015). Mientras que, el porcentaje de inhibición de los compuestos volátiles de *T. atroviride* LZ42 frente a *F. oxysporum* fue del 54,57% y las tasas de inhibición de los compuestos volátiles de *T. harzianum* T34 y J3-16 frente *B. cinerea* fueron del 26,72% ± 8.38 y 20,34% ± 4,19, correspondientemente (Rao et al., 2022; Rubio et al., 2023).

Tabla 2. Datos de la técnica del plato invertido. Promedio y desviación estándar del PICR (porcentaje de inhibición de crecimiento radial).

Especie antagonista	*Rhizoctonia solani*	*Aspergillus* sp.
	PICR (%)	PICR (%)
T. harzianum	22,22 ± 2,04[a]	22,82 ± 4,31[ab]
T. gamsii	25,53 ± 1,23[a]	32,23 ± 2,54[b]
T. atroviride	21,99 ± 1,42[a]	20,47± 6,78[a]

Todos los tratamientos presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a los valores de control mediante ANOVA unidireccional.

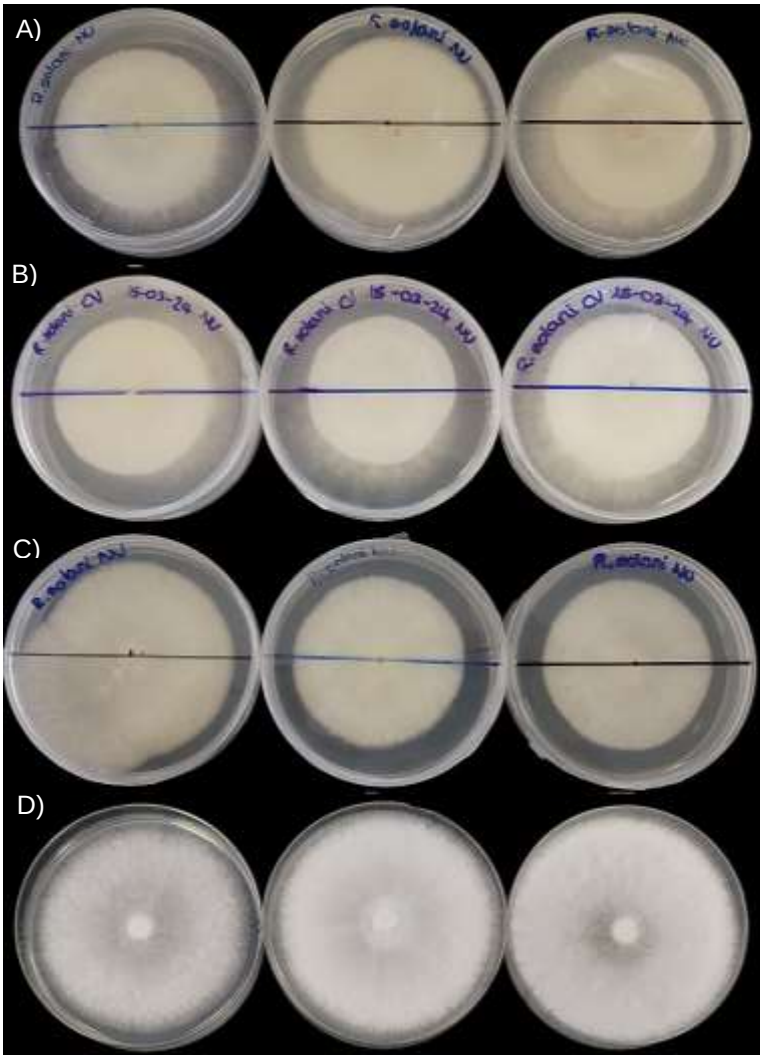


Figura 8. Técnica del plato invertido tras 72 horas de incubación contra *R. solani*. A) *T. harzianum*, B) *T. gamsii*, C) *T. atroviride*, D) Control negativo de *R. solani*

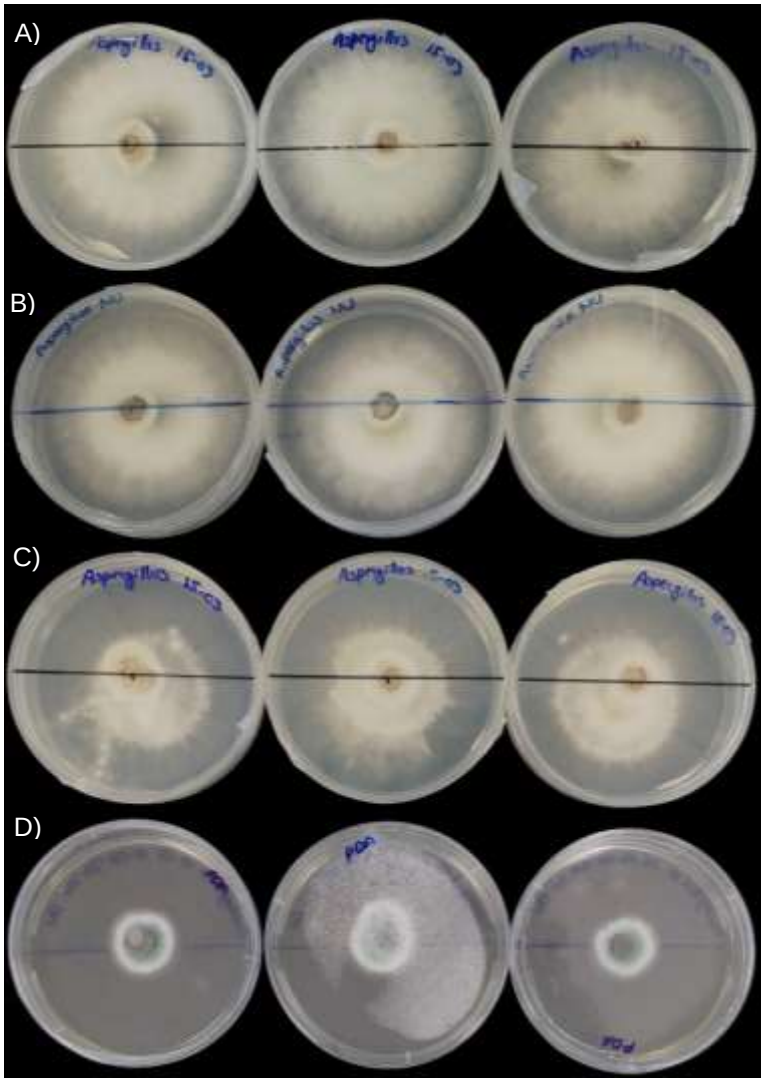


Figura 9. Técnica del plato invertido tras 72 horas de incubación contra *Aspergillus* sp. A) *T. harzianum,* B) *T. gamsii*, C) *T. atroviride*, D) Control negativo de *Aspergillus* sp.

La técnica de la comida envenenada presentó las cepas *T. harzianum* y *T. atroviride* con el mayor efecto inhibitorio por compuesto no volátiles frente a los patógenos de uvilla *R. solani* y *Aspergillus* sp. Tanto para el caso de *Aspergillus* sp. como para el de *R. solani* se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) al comparar los tratamientos de todas las cepas de *Trichoderma* frente a los controles. La cepa *T. harzianum* se situó como el mejor agente antagónico por metabolitos no volátiles frente a *R. solani* al registrar un valor de PICR del 18,85% ± 3,37%, mientras que *T. atroviride* fue el mejor agente frente a *Aspergillus* sp. con un valor de 59,69% ± 2,60%. La inhibición por compuestos no volátiles de *T. harzianum* y *T. atroviride* obtuvieron un PICR superior al 10% frente a *R. solani.* Por otro lado, *T. atroviride* y *T. gamsii* obtuvieron un PICR superior al 15% frente a *Aspergillus* sp. (Tabla 3). No existen trabajos enfocados en el efecto de los compuestos no volátiles de *T. harzianum, T. gamsii* y *T. atroviride*

sobre los fitopatógenos *R. solani* y *Aspergillus* sp. Sin embargo, se ha reportado que los compuestos no volátiles *T. harzianum* C4A tiene un porcentaje de inhibición del 39.04% ± 2.43% frente a *M. perniciosa* (concentración de 10 µg/mL de medio PDA) (Chóez-Guaranda et al., 2023). Por otro lado, los compuestos no volátiles de *T. harzianum* obtuvieron una tasa de inhibición frente a *B. sorokiniana, D. halodes. A. alternata* y *F. proliferatum* de 53,06%, 40,81%, 28,72% y 6,97%, respectivamente (concentración final de 25% v/v) (Yassin, Mostafa y Al-Askar, 2022).

Tabla 3. Datos de la técnica de la comida envenenada. Promedio y desviación estándar del PICR (porcentaje de inhibición de crecimiento radial).

Especie antagonista	*Rhizoctonia solani*	*Aspergillus* sp.
	PICR (%)	PICR (%)
T. harzianum	18,85 ± 3,37[a]	7,52 ± 3,95[a]
T. gamsii	9,26 ± 1,10[b]	15,71 ± 3,78[b]
T. atroviride	11,82 ± 1,92[a]	59,69 ± 2,60[c]

Todos los tratamientos presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a los valores de control mediante ANOVA unidireccional.

Se destaca que todas las cepas de *Trichoderma* evaluadas inhibieron la formación de esclerocios en *R. solani* tanto en cultivo dual *in vitro* como en los ensayos de la técnica de la comida envenenada y de la técnica del plato invertido. Estos resultados sugieren que los compuestos volátiles y no volátiles producidos por las cepas evaluadas no desencadenan la agregación de hifas y la formación progresiva de estas estructuras de supervivencia y de dispersión en campo en el micelio de *R. solani* como si lo realiza al estar en condiciones desfavorables (ej: estrés nutricional o ambiental) o ante estímulos como las especies reactivas de oxígeno (ej: el superóxido, O_2-, o el peróxido de hidrógeno, H_2O_2) (Feng et al., 2016; Georgiou et al., 2006; Lin et al., 2023; Papapostolou y Georgiou, 2010; Wang et al., 2018).

Conclusiones

Todas las cepas evaluadas en el estudio son organismos antagonistas que inhiben el crecimiento de los fitopatógenos *Aspergillus* sp*. y R. solani,* así como también, la formación de estructuras de resistencia como los esclerocios. Cabe destacar que *T. harzianum* y *T. gamsii* fueron las

cepas que obtuvieron la mayor inhibición de crecimiento radial al presentar un eficiente antagonismo que detiene el crecimiento de los patógeno hasta colonizarlos completo y una generación de compuestos volátiles inhiben el crecimiento de estos. Por otro lado, *T. atroviride* y *T. harzianum* registraron la mayor capacidad inhibitoria por compuestos no volátiles frente a *Aspergillus* sp. y *R. solani* de forma respectiva. La inhibición por compuestos volátiles demostró ser el mecanismo de mayor capacidad inhibitoria frente a *Aspergillus* sp. en comparación con la inhibición por compuestos no volátiles, con la excepción de *T. atroviride*. Mientras que, el antagonismo de contacto directo inhibe a *R. solani* con mayor efectividad para todas las cepas de *Trichoderma* spp. Por otro lado, se propone a *T. harzianum*, *T. gamsii y T. atroviride* como prometedoras cepas de inhibición de fitopatógenos debido a la inhibición del crecimiento de *R. solani* y *Aspergillus* sp. por antibiosis, por antagonismo directo, por antibiosis de compuestos volátiles y por antibiosis por compuestos no volátiles, respectivamente. Por tanto, se recomienda realizar estudios sobre su capacidad inhibitoria frente a otros fitopatógenos a futuro e identificar los compuestos que los controladores biológicos produjeron en este estudio.

Agradecimientos

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por el financiamiento de la investigación adjudicado a través del proyecto “Diagnóstico de problemas fitosanitarios y agentes de control biológico asociados a uvilla (*Physalis peruviana*) en el Ecuador 2022-2023”.

Referencias

Abdel-Azeem, A.M., Abdel-Azeem, M.A., Abdul-Hadi, S.Y. y Darwish, A.G. (2019). *Aspergillus*: Biodiversity, Ecological Significances, and Industrial Applications. *Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi*, [en línea] pp.121–179. doi:https://doi.org/10.1007/978-3-030-10480-1_4.

Abdelmoaty, S., Khandaker, M.M., Mahmud, K., Majrashi, A., Alenazi, M.M. y Badaluddin, N.A. (2022). Influence of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus thuringiensis* with reducing rates of NPK on growth, physiology, and fruit quality of Citrus aurantifolia. *Brazilian Journal of Biology*, [en línea] 82. doi:https://doi.org/10.1590/1519-6984.261032.

Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (2023). *La uvilla ecuatoriana llega a El Salvador*. [en línea] AGROCALIDAD. Disponible en: https://www.agrocalidad.gob.ec/la-uvilla-ecuatoriana-llega-a-el-salvador/#:~:text=El%20consumo%20de%20uvilla%20crece. [Consultado 1 mayo 2024].

Ajayi-Oyetunde, O.O. y Bradley, C.A. (2017). *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean. *Plant Pathology*, [en línea] 67(1), pp.3–17. doi:https://doi.org/10.1111/ppa.12733.

Aman, F. y Masood, S. (2020). How Nutrition can help to fight against COVID-19 Pandemic. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, [en línea] 36(COVID19-S4). doi:https://doi.org/10.12669/pjms.36.covid19-s4.2776.

Álvarez-Herrera, J.G., Vélez, J.E. and Jaime-Guerrero, M. (2022). Characterization of cape gooseberry (Physalis peruviana L.) fruits from plants irrigated with different regimens and calcium doses. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas/Revista colombiana de ciencias hortícolas*, [en línea] 16(1). doi:https://doi.org/10.17584/rcch.2022v16i1.13269.

Awad, N.E., Kassem, H.A., Hamed, M.A., El-Feky, A.M., Elnaggar, M.A.A., Mahmoud, K. y Ali, M.A. (2018). Isolation and characterization of the bioactive metabolites from the soil derived fungus *Trichoderma viride*. *Mycology*, [en línea] 9(1), pp.70–80. doi:https://doi.org/10.1080/21501203.2017.1423126.

Ayvar-Serna, S., Estrada-Corrales, J.M., Gallegos, W.V.C. y Jiménez, M.I.C. (2019). Identificación y antibiosis in vitro de *Trichoderma* spp., contra hongos fitopatógenos foliares. *FORO DE ESTUDIOS SOBRE GUERRERO*, [en línea] 6(1), pp.49–61. Disponible en: https://revistafesgro.cocytieg.gob.mx/index.php/revista/article/view/537/390 [Consultado 29 mayo 2024].

Baćmaga, M., Wyszkowska, J. y Kucharski, J. (2019). The biochemical activity of soil contaminated with fungicides. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, [en línea] 54(4), pp.252–262. doi:https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1553908.

Chand, T. y Logan, C. (1984). Antagonists and parasites of *Rhizoctonia solani* and their efficacy in reducing stem canker of potato under controlled conditions. *Transactions of the British Mycological Society*, [en línea] 83(1), pp.107–112. doi:https://doi.org/10.1016/s0007-1536(84)80250-8.

Chen, J.-L., Sun, S.-Z., Miao, C.-P., Wu, K., Chen, Y.-W., Xu, L.-H., Guan, H.-L. y Zhao, L.-X. (2015). Endophytic *Trichoderma gamsii* YIM PH30019: a promising biocontrol agent with hyperosmolar, mycoparasitism, and antagonistic activities of induced volatile organic compounds on root-rot pathogenic fungi of *Panax notoginseng*. Journal of Ginseng Research, [en línea] 40(4), pp.315–324. doi:https://doi.org/10.1016/j.jgr.2015.09.006.

Chóez-Guaranda, I., Espinoza-Lozano, F., Reyes-Araujo, D., Romero, C., Manzano, P., Galarza, L. y Sosa, D. (2023). Chemical Characterization of *Trichoderma* spp. Extracts with Antifungal Activity against Cocoa Pathogens. Molecules/Molecules online/Molecules annual, [en línea] 28(7), pp.3208–3208. doi:https://doi.org/10.3390/molecules28073208.

Commission On Higher Education Regional Office III (2021). *Unit 1. Module 5. Causes of Plant Diseases*. [en línea] CHEDRO3. Disponible en: https://chedro3.ched.gov.ph/wp-content/uploads/2021/12/05.Causes-of-Plant-Diseases.pdf [Consultado 1 mayo 2024].

Dennis, C. y Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. *Transactions of the British Mycological Society*, [en línea] 57(1), pp.41-IN4. doi:https://doi.org/10.1016/s0007-1536 (71)80078-5.

Dreistadt, S.H., UC Statewide IPM Program y UC Davis (2014*). Biological Control and Natural Enemies of Invertebrates*. [en línea] Integrated Pest Management. Disponible en: https://ipm.ucanr.edu/legacy_assets/pdf/pestnotes/pnbiocontrol.pdf [Consultado 1 mayo 2024].

El-Beltagi, H.S., Mohamed, H.I., Safwat, G., Gamal, M. y Megahed, B.M.H. (2019). Chemical Composition and Biological Activity of *Physalis peruviana* L. *Gesunde Pflanzen*, [en línea] 71(2), pp.113–122. doi:https://doi.org/10.1007/s10343-019-00456-8.

Feng, S., Shu, C., Wang, C., Jiang, S. y Zhou, E. (2016). Survival of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA, the Causal Agent of Rice Sheath Blight, under Different Environmental Conditions. *Journal of Phytopathology*, [en línea] 165(1), pp.44–52. doi:https://doi.org/10.1111/jph.12535.

Fischer, G., Almanza-Merchán, P.J. y Miranda, D. (2014). Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, [en línea] 36(1), pp.01-15. doi:https://doi.org/10.1590/0100-2945-441/13.

494 Georgiou, C.D., Patsoukis, N., Papapostolou, I. y Zervoudakis, G. (2006). Sclerotial
495 metamorphosis in filamentous fungi is induced by oxidative stress. *Integrative and*
496 *Comparative Biology*, [en línea] 46(6), pp.691–712.
497 doi:https://doi.org/10.1093/icb/icj034.
498 Gonzalez Basso, V., Di Barbaro, G. y Ribero, G. (2024). *Trichoderma* spp.: characteristics and
499 applications. *Journal of applied biotechnology & bioengineering*, [en línea] 11(1), pp.18–
500 22. doi:https://doi.org/10.15406/jabb.2024.11.00354.
501 Halifu, S., Deng, X., Song, X., Song, R. y Liang, X. (2020). Inhibitory Mechanism of *Trichoderma*
502 *virens* ZT05 on *Rhizoctonia solani*. *Plants*, [en línea] 9(7), p.912.
503 doi:https://doi.org/10.3390/plants9070912.
504 Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. y Lorito, M. (2004). Trichoderma species —
505 opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, [en línea] 2(1),
506 pp.43–56. doi:https://doi.org/10.1038/nrmicro797.
507 Infante, D., Martínez, B., González, N. y Reyes, Y. (2009). MECANISMOS DE ACCIÓN DE
508 Trichoderma FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS. *Revista de Protección Vegetal*,
509 [en línea] 24(1), pp.14–21. Disponible en:
510 http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002
511 [Accessed 29 May 2024].
512 Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (2021). *Aspergillus spp. - Agentes*
513 *Biológicos - Hongo - Portal INSST - INSST*. [en línea] Portal INSST. Disponible en:
514 https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/aspergillus-spp [Consultado
515 28 mayo 2024].
516 Intana, W., Kheawleng, S. y Sunpapao, A. (2021). *Trichoderma asperellum* T76-14 Released
517 Volatile Organic Compounds against Postharvest Fruit Rot in Muskmelons (Cucumis
518 melo) Caused by *Fusarium incarnatum*. *Journal of Fungi*, [en línea] 7(1), p.46.
519 doi:https://doi.org/10.3390/jof7010046.
520 Jain, A., Sarsaiya, S., Wu, Q., Lu, Y. y Shi, J. (2019). A review of plant leaf fungal diseases and
521 its environment speciation. *Bioengineered*, [en línea] 10(1), pp.409–424.
522 doi:https://doi.org/10.1080/21655979.2019.1649520.Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane,
523 N., Kenfaoui, J., Esmaeel, Q., El Hamss, H., Belabess, Z. y Barka, E.A. (2022).
524 Biological Control of Plant Pathogens: A Global Perspective. *Microorganisms*, [en línea]
525 10(3), p.596. doi:https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596.
526 Lin, Y.-C., Liu, H.-H., Tseng, M.-N. y Chang, H.-X. (2023). Heritability and gene functions
527 associated with sclerotia formation of *Rhizoctonia solani* AG-7 using whole genome
528 sequencing and genome-wide association study. *Microbial genomics*, [en línea] 9(3).
529 doi:https://doi.org/10.1099/mgen.0.000948.

530 López-Mondéjar, R. (2011). *Detección y Cuantificación de Trichoderma harzianum, y Evaluación*
531 *de su Actividad Biocontrol frente a la Fusariosis Vascular del Melón mediante la*
532 *Aplicación de Herramientas Moleculares*. [en línea] *Repositorio Institucional de la*
533 *Universidad de Alicante*. Disponible en:
534 https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/22767/1/Tesis_Mondejar.pdf [Consultado 2
535 mayo 2024].
536 Martínez, B., Infante, D. y Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas
537 en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, [en línea] 28(1), pp.1–11. Disponible en:
538 http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522013000100001
539 [Consultado 2 mayo 2024].
540 Maruenda, H., Cabrera, R., Cañari-Chumpitaz, C., Lopez, J.M. y Toubiana, D. (2018). NMR-
541 based metabolic study of fruits of Physalis peruviana L. grown in eight different Peruvian
542 ecosystems. *Food Chemistry*, [en línea] 262, pp.94–101.
543 doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.032.
544 Miranda, D. y Fischer, G. (2021). SOCIEDAD COLOMBIANA DE CIENCIAS HORTÍCOLAS.
545 *Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas*. [en línea]
546 doi:https://doi.org/10.17584/IBerries.
547 Mokhtar, S.M., Swailam, H.M. y Embaby, H.E.-S. (2018). Physicochemical properties, nutritional
548 value and techno-functional properties of goldenberry (Physalis peruviana) waste
549 powder concise title: Composition of goldenberry juice waste. *Food Chemistry*, 248,
550 pp.1–7. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.117.
551 Nene, Y.L. y Thapliyal, P.N. (1993). *Fungicides in Plant Disease Control*. Science Publishers.

552 Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (2019). *La FAO*
553 *presenta 2020 como Año Internacional de la Sanidad Vegetal*. [en línea] FAO.
554 Disponible en: https://www.fao.org/news/story/es/item/1253562/icode/ [Consultado 1
555 mayo 2024].
556 Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (s.f.). *Ecuador en una*
557 *mirada*. [en línea] FAO. Disponible en: https://www.fao.org/ecuador/fao-en-
558 ecuador/ecuador-en-una-mirada/es/ [Consultado 1 mayo 2024].
559 Papapostolou, I. y Georgiou, C.D. (2010). Hydrogen peroxide is involved in the sclerotial
560 differentiation of filamentous phytopathogenic fungi. *Journal of Applied Microbiology*,
561 [en línea] 109(6), pp.1929–1936. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04822.x.
562 Parker, C. (2012). Physalis peruviana (Cape gooseberry). *CABI Compendium*, [en línea] CABI
563 Compendium. doi:https://doi.org/10.1079/cabicompendium.40713.
564 Pérez, A.A., Pérez, M.A., Martínez Coca, B., Rollhaiser, I.N. y Blengini, M.C. (2020).
565 Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. in vitro como potenciales biofungicidas
566 para el control de *Rhizoctonia solani* Kühn en la papa. *Agriscientia*, [en línea] 37(2),
567 pp.21–33. doi:https://doi.org/10.31047/1668.298x.v37.n2.29419.
568 Primicias (2019). *Ecuador exporta por primera vez uvilla fresca a Estados Unidos*. [en línea]
569 Primicias. Disponible en: https://www.primicias.ec/noticias/economia/ecuador-
570 exportacion-uvilla-estados-unidos-comercio/ [Consultado 28 mayo 2024].
571 Rahman, M.A., Begum, M.F. y Alam, M.F. (2009). Screening of Trichoderma Isolates as a
572 Biological Control Agent against *Ceratocystis paradoxa* Causing Pineapple Disease of
573 Sugarcane. *Mycobiology*, [en línea] 37(4), pp.277–285.
574 doi:https://doi.org/10.4489/MYCO.2009.37.4.277.
575 Rao, Y., Zeng, L., Jiang, H., Mei, L. y Wang, Y. (2022). *Trichoderma atroviride* LZ42
576 releases volatile organic compounds promoting plant growth and suppressing *Fusarium*
577 wilt disease in tomato seedlings. BMC Microbiology, [en línea] 22(1).
578 doi:https://doi.org/10.1186/s12866-022-02511-3.
579 Raut, I., Badea-Doni, M., Calin, M., Oancea, F., Vasilescu, G., Sesan, T. y Jecu, L. (2014). Effect
580 of Volatile and Non-Volatile Metabolites from *Trichoderma* spp. against Important
581 Phytopathogens. REV. CHIM. (Bucharest) ♦, [en línea] 65(11). Disponible en:
582 https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=246592c392c06cbf
583 62c5762598825fd29007aaa2 [Consultado 25 mayo 2024].
584 Ren, X., Branà, M.T., Haidukowski, M., Gallo, A., Zhang, Q., Logrieco, A.F., Li, P., Zhao, S. y
585 Altomare, C. (2022). Potential of *Trichoderma* spp. for Biocontrol of Aflatoxin-Producing
586 *Aspergillus flavus*. *Toxins*, [en línea] 14(2), p.86.
587 doi:https://doi.org/10.3390/toxins14020086.
588 Safari Motlagh, M.R., Jahangiri, B., Kulus, D., Tymoszuk, A. y Kaviani, B. (2022). Endophytic
589 Fungi as Potential Biocontrol Agents against *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, the Causal
590 Agent of Rice Sheath Blight Disease. Biology, 11(9), p.1282.
591 doi:https://doi.org/10.3390/biology11091282. Rubio, M.B., Monti, M.M., Gualtieri, L.,
592 Ruocco, M., Hermosa, R. y Monte, E. (2023). *Trichoderma harzianum* Volatile Organic
593 Compounds Regulated by the THCTF1 Transcription Factor Are Involved in Antifungal
594 Activity and Beneficial Plant Responses. Journal of Fungi, [en línea] 9(6), pp.654–654.
595 doi:https://doi.org/10.3390/jof9060654.
596 Sánchez-Espinosa, A.C., Villarruel-Ordaz, J.L. y Maldonado Bonilla, L.D. (2021). Mycoparasitic
597 antagonism of a Trichoderma harzianum strain isolated from banana plants in Oaxaca,
598 Mexico. *Biotecnia*, [en línea] 23(1), pp.127–134.
599 doi:https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i1.1310.
600 Skidmore, A.M. y Dickinson, C.H. (1976). Colony interactions and hyphal interference between
601 *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. *Transactions of the British Mycological*
602 *Society*, [en línea] 66(1), pp.57–64. doi:https://doi.org/10.1016/s0007-1536(76)80092-
603 7.
604 Statista Market Insights (2023). *Agriculture - Worldwide*. [en línea] Statista. Disponible en:
605 https://www.statista.com/outlook/io/agriculture/worldwide#revenue [Consultado 1 mayo
606 2024].
607 Sugui, J.A., Kwon-Chung, K.J., Juvvadi, P.R., Latgé, J.-P. y Steinbach, W.J. (2015). *Aspergillus*
608 *fumigatus* and Related Species. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, [en línea]
609 5(2). doi:https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019786.

Tapwal, A. y Pandey, H. (2016). In vitro evaluation of *Trichoderma* species for virulence efficacy on *Botryodiplodia palmarum*. *Current Life Sciences*, [en línea] 2(3), pp.86–91. doi:http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.61073.

van Leeuwen, M.R. (2009). *Natamycin and the germinating spore*. [en línea] dspace.library.uu.nl. Disponible en: https://dspace.library.uu.nl/handle/1874/34136 [Consultado 20 mayo 2024].

Valdés Ríos, E.L. (2014). Caracteres principales, ventajas y beneficios agrícolas que aporta el uso de *Trichoderma* como control biológico. *Revista Científica Agroecosistemas*, [en línea] 2(1). Disponible en: https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/40 [Consultado 26 mayo 2024]. Vega, P. (2023). Plagas asociadas al cultivo de aguaymanto (*Physalis peruviana*) en el distrito de Chinchao, Huánuco 2018. *Revista investigación agraria*, [en línea] 5(3), pp.36–49. doi.org/10.47840/reina.5.3.1950.

Wang, Y., Branicky, R., Noë, A. y Hekimi, S. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *The Journal of Cell Biology*, [en línea] 217(6), pp.1915–1928. doi.org/10.1083/jcb.201708007.

Whipps, J.M. (1987). EFFECT OF MEDIA ON GROWTH AND INTERACTIONS BETWEEN A RANGE OF SOIL-BORNE GLASSHOUSE PATHOGENS AND ANTAGONISTIC FUNGI. *New Phytologist Foundation*, [en línea] 107(1), pp.127–142. doi.org/10.1111/j.1469-8137.1987.tb04887.x.

Yao, X., Guo, H., Zhang, K., Zhao, M., Ruan, J. y Chen, J. (2023). *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology*, [en línea] 14. doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551.

Yassin, M.T., Mostafa, A.A.-F. y Al-Askar, A.A. (2022). In vitro antagonistic activity of Trichoderma spp. against fungal pathogens causing black point disease of wheat. Journal of Taibah University for Science, [en línea] 16(1), pp.57–65. doi.org/10.1080/16583655.2022.2029327.

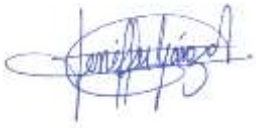
Yogalakshmi, S., Thiruvudainambi, S., Kalpana, K., Thamizh Vendan, K. y Oviya, R. (2021). Antifungal activity of *Trichoderma atroviride* against *Fusarium oxysporum*.f.sp.*lycopersici* causing wilt disease of tomato. *Journal of Horticultural Sciences*, [en línea] 16(2), pp.241–250. doi.org/10.24154/jhs.v16i2.1066.



Firma de la estudiante

Nicolás Sebastián Ulloa Rodríguez

Quito, 28 de junio de 2024



Firma del director/a de disertación

Mtr. Jeniffer Yánez Altuna

Quito, 28 de junio de 2024

Firmado electrónicamente por:
DIANA ASTORGA GARCIA

Firma de la Coordinadora de carrera

PhD. Diana Astorga García

Quito, 28 de junio de 2024