



Pontificia Universidad Católica del Ecuador

Sede Ibarra

ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES

INFORME FINAL DEL PROYECTO

TEMA:

Evaluación in vitro del control biológico de oidio (*Uncinula necátor*) mediante la aplicación de *Trichoderma spp* aislada del cultivo de Vid (*Vitis vinífera*).

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

INGENIERO AGROPECUARIO

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN:

Gestión Sostenible y Aprovechamiento de los Recursos Naturales.

SUBLINEA: Desarrollo y sostenibilidad

AUTOR: Estalin Aldair Pérez Pozo

ASESOR: MSc. Santiago Xavier Mafla Andrade

Ibarra, 27 de febrero de 2024

Ibarra, 27 de febrero de 2024

MSc. Santiago Xavier Mafla Andrade

ASESOR

CERTIFICA:

Haber revisado el presente informe final de investigación, el mismo que se ajusta a las normas vigente en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales (ECAA), de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI); en consecuencia, autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.



(f).....

MSC. Santiago Xavier Mafla Andrade

C.C.: 1002658399

PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El jurado examinador, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI):



(f).....

MSc. Santiago Xavier Mafla Andrade

C.C.: 1002658399



(f).....

PhD. Diego Manuel León Tapia

CC. 1711668895



(f).....

MSc. Edwin del Pozo

CC. 1001756566

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo ESTALIN ALDAIR PÉREZ POZO, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 de Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, que manifiesta textualmente: “Se reconoce facultad de los autores y demás titulares de derecho de disponer de sus derechos o autorizar de sus obras o prestaciones, a título gratuito u oneroso, según las condiciones que determinen. Esta facultad podrá ejercerse mediante licencias libres, abiertas y otros modelos alternativos de licenciamiento o la renuncia”.

Ibarra, 27 de febrero del 2024



f):

ESTALIN ALDAIR PÉREZ POZO

C.C.: 0450128475

AUTORÍA

Yo, ESTALIN ALDAIR PÉREZ POZO, portador de la cédula de ciudadanía N° 0450128475, declaro que la presente investigación es de total responsabilidad del autor, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.



f):

Estalin Aldair Pérez Pozo

C.C.: 0450128475

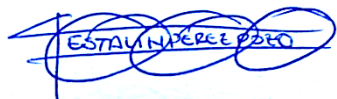
DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, ESTALIN ALDAIR PÉREZ POZO, con C.C.: 0450128475, autor del trabajo de grado intitulado: Evaluación in vitro del control biológico de oidio (*Uncinula necator*) mediante la aplicación de *Trichoderma spp* aislada del cultivo de vid (*Vitis vinífera*). previo a la obtención del título profesional de Ingeniería Agropecuaria, en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCESI el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Ibarra, 27 de febrero del 2024



f):


ESTALIN ALDAIR PÉREZ POZO

C.C.: 0450128475

**DECLARACIÓN DE COMPORTAMIENTO ÉTICO EN LA ELABORACIÓN,
DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

Por medio de la presente declaro conocer y aplicar en la elaboración, desarrollo y evaluación de Proyecto de Titulación: Evaluación in vitro del control biológico de oidio (*Uncinula necator*) mediante la aplicación de *Trichoderma spp* aislada del cultivo de vid (*Vitis vinífera*), lo propuesto en el Código de Ética de la investigación y el aprendizaje de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, aprobado por el Consejo Superior de la PUCE con fecha 16 de febrero de 2023.

Para constancia firma:



f):

Estalin Aldair Pérez Pozo
Estudiante que ejecuta el trabajo de Titulación
C.C/ Pasaporte: 0450128475
Carrera: Ingeniería Agropecuaria

Ibarra, 27 de febrero del 2024

DEDICATORIA

Este proyecto de tesis va dedicado a mi madre, Cristina Pozo una mujer ejemplar, luchadora, fuerte y honrada que con sus consejos, enseñanzas y amor incondicional me a dado todo, quien ha sido mi principal motor he inspiración durante todo este proceso para poder alcanzar este objetivo.

También a mi padre, César Pérez un hombre ejemplar quien ha sido el pilar fundamental durante todo este proceso.

A mi hermano, Alejandro Pérez quien es la luz de mis ojos y hoy en día la inspiración para cumplir todos mis objetivos.

A mi novia Doménica Torres por estar siempre para mí y ser mi apoyo incondicional en todo este duro proceso.

Estalin Aldair Pérez Pozo

AGRADECIMIENTO

En esta meta alcanzada de mi vida quiero agradecer a Dios por guiarme y darme las fuerzas necesarias para poder superar cualquier obstáculo que se me han presentado durante todo este trayecto y por bendecirme cada día de mi vida.

También a mis padres y hermano quienes a pesar de todo me han apoyado en todo momento económicamente y moralmente, sin importar ninguna circunstancia.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede-Ibarra por brindarme los conocimientos necesarios para ser un buen profesional, por los valores inculcados durante todo el trayecto de mi carrera y por todos los buenos momentos que pase en esta prestigiosa institución.

Al MSc. Santiago Mafla, asesor de mi trabajo de titulación, quien con su paciencia, conocimientos y experiencia me ha guiado de una manera correcta para no cometer errores y obtener un trabajo de calidad.

A la empresa Agrovitis Caranqui quien me facilito con algunos materiales para poder realizar la fase experimental.

Estalin Aldair Pérez Pozo

ÍNDICE

Contenido

PORTADA.....	
CERTIFICA:	i
PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	ii
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS	iii
AUTORÍA	iv
DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN	v
DECLARACIÓN DE COMPORTAMIENTO ÉTICO EN LA ELABORACIÓN, DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN	vi
DEDICATORIA	vii
AGRADECIMIENTO	viii
ÍNDICE	i
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO I	3
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO II	5
OBJETIVOS	5
2.1. Objetivo general	5
2.2. Objetivos específicos	5
2.3. Hipótesis	5
CAPÍTULO III	6
ESTADO DEL ARTE	6
3.1. Cultivo de la uva (vid)	6
3.1.1. Generalidades	6
3.1.2. Clasificación Taxonómica del Cultivo.	7
3.1.3. Morfología de la vid	7

3.1.4. Valor nutricional	9
3.1.5. Requerimientos de temperatura del cultivo	10
3.1.6. Tipos de suelo	11
3.2. El cultivo de uva en Ecuador	11
3.2.1. Importancia económica	12
3.3. Oidio	13
3.3.1. Agente causal	13
3.3.2. Ciclo biológico del oídio	14
3.3.3. Comportamiento del oídio respecto a la temperatura	14
3.3.4. Comportamiento del oídio respecto a la humedad	15
3.3.5. Signos y sintomatología	15
3.3.6. Afectaciones del oidio en la vid	15
3.4. Manejo integrado de oídio en la vid	16
3.4.1. Control químico	16
3.4.2. Control biológico	16
3.4.3. Antecedentes	17
3.5. Métodos de control biológico con <i>Trichoderma spp</i>	19
3.5.1. <i>Trichoderma spp</i> como controlador de oidio	19
3.5.2. Pruebas de antagonismo	20
CAPÍTULO IV	21
MATERIALES Y MÉTODOS	21
4.1. Materiales, equipos e insumos	21
4.1.1. Insumos	21
4.1.2. Equipos	21
4.1.3. Reactivos	22
4.1.4. Material biológico	22
4.2. Métodos	22
4.2.1. Diseño experimental	22
4.2.2. Tratamientos	23
4.3. Preparación de la investigación	24
4.3.1. Identificación de muestras	24
4.3.2. Recolección de muestras	24

4.4. Aislamiento del hongo patógeno	25
4.4.1. Purificación de muestras	25
4.4.2. Crecimiento de colonias puras de oidio	25
4.4.3. Aislamiento de <i>Trichoderma spp</i>	26
4.4.4. Preparación de dosis del antagonista	27
4.4.5. Dosis del control químico	28
4.4.6. Análisis de la acción antimicrobiana	28
4.5. Determinación de la mejor dosis de <i>Trichoderma spp</i> en hojas con síntomas de oidio mediante pruebas en cámaras húmedas	29
4.5.1. Elaboración de cámaras húmedas	29
4.5.2. Evaluación de la mejor dosis	30
4.6. Variables	30
4.6.1. Variable/s Independiente/s	30
4.6.2. Variable/s dependiente/s	30
4.7. Ubicación del área de estudio	30
4.7.1. Recolección de muestra de <i>Trichoderma spp</i>	30
4.7.2. Recolección de muestras del hongo oídio	30
4.7.3. Área de estudio	30
CAPÍTULO V	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
5.1. Pruebas de normalidad y homogeneidad de la varianza	33
5.2. Caracterización molecular	35
5.3. Análisis de la acción antimicrobiana de diferentes dosis de <i>Trichoderma spp.</i> a través de pruebas en laboratorio.	36
5.3.1. Crecimiento micelial del hongo fitopatógeno	36
5.4. Determinación de la mejor dosis de <i>Trichoderma spp.</i> en hojas inoculadas con oídio mediante pruebas en cámaras húmedas.	39
5.4.1. Crecimiento diametral de la lesión en la zona infectada	39
5.5. Determinación de la mejor dosis en campo	42
CAPÍTULO VI	45
CONCLUSIONES	45
CAPÍTULO VII	46
RECOMENDACIONES	46

CAPÍTULO VIII	47
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
ANEXOS	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Taxonomía de la vid	7
Tabla 2	Composición y valor nutricional del fruto de <i>Vitis vinifera L.</i>	10
Tabla 3	Esquema de análisis de varianza ADEVA	24
Tabla 4	Descripción de tratamientos	24
Tabla 5	Tratamientos de cámaras húmedas	30
Tabla 6	Prueba de normalidad Shapiro Wilk y homogeneidad Bartlett test de las variables evaluadas.....	35
Tabla 7	Crecimiento del patógeno en la evaluación in vitro del hongo <i>Trichoderma spp</i> como potencial antagonista en el control de oidio	37
Tabla 8	Análisis de varianza para el crecimiento micelial de oidio en la evaluación in vitro del hongo <i>Trichoderma spp</i> como potencial antagonista en el control de la enfermedad.	37
Tabla 9	Promedio de absorvancia en la medición del crecimiento de <i>Trichoderma spp</i> y oídio por medio de espectrofotometría	38
Tabla 10	Crecimiento diametral de la lesión en hojas infectadas por oidio	39
Tabla 11	Análisis de varianza para el crecimiento de la lesión.	40
Tabla 12	Crecimiento diametral de la lesión del fitopatógeno (prueba Tukey =0,05)	41
Tabla 13	Análisis de varianza para la determinación de la mejor dosis en campo	42
Tabla 14	Número de hojas infectadas por el fitógeno (Prueba Tukey= 0,05)	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Aislamiento del hongo patógeno en caja petri.....	25
Figura 2 Cámara de Neunaber que se utilizó para el conteo de esporas	28
Figura 3 Cuadro de conteo de esporas	29
Figura 4 Ubicación de los laboratorios en la PUCE-I	32
Figura 5 Ubicación de la granja ECAA	33
Figura 6 Identificación molecular	36
Figura 7 Rangos para el crecimiento micelial del patógeno (cm) por tratamiento en la evaluación in vitro del hongo <i>Trichoderma spp</i> como potencial antagonista en el control de la enfermedad causada por oidio	39
Figura 8 Rangos para el crecimiento diametral (cm) de la lesión en la zona infectada por tratamiento en la determinación de la mejor dosis en el control de oidio	42
Figura 9 Rangos para el número de hojas infectadas por el fitopatógeno en la determinación de la mejor dosis en el control de oidio en campo	45

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Recolección de muestra de suelo para el aislamiento de <i>Trichoderma Spp</i>	53
Anexo 2 Recolección de muestras de hojas de vid con síntomas de oidio	53
Anexo 3 Aplicación de las dosis, en plantas bajo condiciones controladas	54
Anexo 4 Crecimiento micelial del hongo de oidio	54
Anexo 5 Crecimiento de <i>Trichoderma spp</i> en caldo nutritivo	55
Anexo 6 Conteo de esporas por medio de la cámara de Neubauer	55
Anexo 7 Siembra de tratamiento para la confrontación	55
Anexo 8 Medición con un calibrador de la confrontación de <i>Trichoderma spp</i> y oidio	56
Anexo 9 Elaboración de cámaras húmedas	56
Anexo 10 Sintomatología de oidio sin ningún tratamiento de cámara húmeda	57
Anexo 11 Crecimiento de la lesión, aplicada el tratamiento de <i>Trichoderma spp</i>	57
Anexo 12 Vista microscópica de oidio	57
Anexo 13 Base de datos para la secuenciación molecular	58

RESUMEN

A nivel global, los alimentos que se cultivan son cada vez más nocivos para la salud humana, principalmente debido a la elevada presencia de residuos químicos. Uno de los problemas fundamentales radica en la utilización excesiva e inapropiada de insumos agrícolas para combatir enfermedades fúngicas en los cultivos de vid. Es por esto que una de las alternativas para disminuir el uso de fungicidas químicos, para manejo de oídio, es el control biológico que disminuye los residuos químicos en la fruta. Las variedades pertenecientes al género *Trichoderma* son reconocidas como unas de las más utilizadas en funciones de control biológico, desempeñando en algunas situaciones un papel antagonista frente a hongos y bacterias fitopatógenos. El principal objetivo de esta investigación fue la evaluación in vitro de *Trichoderma spp.* aislada frente a oídio en el cultivo de la vid. La investigación se la realizó en los laboratorios de la PUCE-I, cantón Ibarra, provincia de Imbabura en donde se utilizó un diseño completamente al azar con dos dosis de *Trichoderma spp.* (1×10^3 UFC/ml y 1×10^5 UFC/ml) y un testigo como controlador químico (Myclobutanil), con tres repeticiones en cada tratamiento. Se empleó la técnica de cultivos duales para poder determinar la mejor dosis, obteniendo que la dosis 1×10^5 UFC/ml fue la mejor en el control del patógeno. También se realizó la técnica de cámaras húmedas en donde se inoculó hojas de vid con el hongo patógeno aislado y con la *Trichoderma spp.* las mediciones respectivas del crecimiento diametral se realizaron a los 15 días en donde se evidenció que con la dosis de 1×10^5 ml de *Trichoderma spp.* se obtuvo un mejor control del hongo patógeno. También como estudio complementario se realizó el conteo de células de oídio por el período de 10 horas por la técnica de espectrofotometría y se realizó las evaluaciones de las dosis en campo para poder constatar la validez de la investigación.

Palabras clave: *Trichoderma spp.*, oídio, control biológico.

ABSTRACT

Globally, the foods that are grown are increasingly harmful to human health, mainly due to the high presence of chemical residues. One of the fundamental problems lies in the excessive and inappropriate use of agricultural inputs to combat fungal diseases in grapevine crops. This is why one of the alternatives to reduce the use of chemical fungicides, to manage powdery mildew, is biological control that reduces chemical residues in the fruit. Varieties belonging to the genus *Trichoderma* are recognized as some of the most used in biological control functions, playing in some situations an antagonistic role against phytopathogenic fungi and bacteria. The main objective of this research was the in vitro evaluation of *Trichoderma* spp. isolated against powdery mildew in grape cultivation. The research was carried out in the laboratories of the PUCE-I, canton Ibarra, province of Imbabura where it was used in a completely randomized design with two doses of *Trichoderma* spp (1×10^3 ufc/ml and 1×10^5 UFC/ml) and a control as a chemical controller (Myclobutanil), with three repetitions in each treatment. The dual culture technique was used to determine the best dose, obtaining better results in controlling the pathogen with the 1×10^5 ml dose. The humid chamber technique was also carried out where vine leaves were inoculated with the isolated pathogenic fungus and with *Trichoderma* spp. The respective measurements of diametral growth were carried out after 15 days, where it was evident that with the dose of 1×10^5 UFC/ml of *Trichoderma* spp, better control of the pathogenic fungus was obtained. Also as a complementary study, the counting of powdery mildew cells was carried out for a period of 10 hours using the spectrophotometry technique and the dose evaluations were carried out in the field to verify the validity of the research.

Keywords: *Trichoderma* spp, powdery mildew, biological control.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El cultivo de vid es una actividad de gran relevancia a escala global, dado el impacto económico que genera en los países que se dedican a su cultivo. La producción se utiliza principalmente para la elaboración de jugos, consumo fresco, pasas, destilados y la producción de vino, siendo estos dos últimos de especial importancia en términos económicos (Freire, 2022).

En Ecuador, con condiciones climáticas propicias para el desarrollo y adaptación del cultivo de uva, destaca especialmente en ciertas zonas de la costa, como Santa Elena, y la serranía, como Tungurahua lo cual representa ingresos importantes para medianos y grandes productores. En la actualidad, la extensión de tierra destinada a este cultivo se encuentra aproximadamente entre 120 y 130 hectáreas, distribuidas en diversas localidades como Imbabura, Cotacachi, Valle del Chota, Tungurahua, El Oro y Manabí, aunque la producción actual es relativamente baja (Valero, 2017).

El oidio es una enfermedad muy temida en el cultivo de vid, debido a que puede atacar a todos los órganos verdes y ser el causante de daños en zonas vitivinícola, el rango de daño va a depender de las variedades de la vid y las condiciones climatológicas de cada año, en algunos casos puede provocar la pérdida total del cultivo (Oliva, 2020).

De igual manera, ahora en la actualidad se observa un mal manejo de plagas y enfermedades en la agricultura, durante todo el tiempo se ha realizado controles químicos, teniendo como consecuencia que, conforme pasa el tiempo aquellas plagas y enfermedades se van haciendo más resistentes, lo cual requiere dosis de químicos más elevadas dejando altos contenidos de residualidad de los agroquímicos en los productos agrícolas que son destinados para el consumo humano, ocasionando problemas graves en la salud de los consumidores.

Las altas dosis de aplicaciones de agroquímicos no solo afectan a la salud de los productores y consumidores, sino que se ve afectado también el medio ambiente debido a que estos agroquímicos tardan mucho tiempo en descomponerse.

Es por eso que se busca una alternativa biológica urgente, mediante *Trichoderma spp*, para la disminución de la contaminación y enfermedades tanto en el cultivo como en los seres humanos (Andrade et al., 2019).

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Evaluar in vitro el control biológico de oidio (*Uncinula necátor*) mediante la aplicación de *Trichoderma spp* en el cultivo de Vid (*Vitis vinífera*).

2.2. Objetivos específicos

- Analizar la acción antifúngica de diferentes dosis de *Trichoderma sp* aislada de suelos de cultivo de vid contra el oidio mediante pruebas de laboratorio.
- Determinar la mejor dosis de *Trichoderma spp* en hojas con síntomas de oidio mediante pruebas en cámaras húmedas.

2.3. Hipótesis

- **H0:** Ninguna dosis de *Trichoderma spp* tiene acción antifúngica ante el hongo patógeno oidio (*Uncinula necátor*).
- **HA:** Al menos una dosis de *Trichoderma spp* tiene acción antifúngica ante el hongo patógeno oidio (*Uncinula necátor*).

CAPÍTULO III

ESTADO DEL ARTE

3.1. Cultivo de la uva (vid)

3.1.1. Generalidades

La vid, parte de la familia de las vitáceas, su origen es en la región que se ubica entre el Mar Caspio y Asia Menor, desde donde se propagó por las naciones costeras del Mediterráneo. Se cree que la uva fue la primera fruta que el ser humano cultivó. Los colonos españoles desempeñaron un papel fundamental al introducir la uva en América, desde donde se difundió a lo largo y ancho del continente (González et al., 2021).

La vid produce la uva, se caracteriza por ser una fruta pequeña y dulce que crece en racimos que pueden contener entre 6 y 300 unidades. Las uvas son recomendadas consumirse frescas o se utilizan en la elaboración de mosto, vino y vinagre. En el mercado, se encuentran gran variedad de uva, incluyendo las principales como el cardinal, fantasy sedles, crinson sedles, ribiera, ribol, italia, red glob, benitaka, thomson sedles, centenal sedles, flame sedles, perlete sedles, river y quebranta (Bravo et al., 2021).

La vid es una fruta que se adapta a gran diversidad de terrenos. Debido a que existe una amplia gama de porta injertos, la vid es cultivable en zonas de gran exigencia. La disponibilidad de materia orgánica en el terreno se considera un factor de gran importancia. Un suelo con valores inferiores al 1.5% es considerado pobre en materia orgánica para el cultivo de la vid, y porcentajes superiores al 2.5% se consideran ricos en este sentido (Sotomayor, 2020).

La composición de la vid es un 80% de agua y aporta alrededor de 70 calorías por cada 100 gramos, es decir, su densidad calórica es baja ya que aporta menos calorías en más volumen lo cual contribuye a dar saciedad y a moderar la ingesta de alimentos. Dentro de su composición existen ciertas sustancias que pueden brindar grandes beneficios a la salud (Yáñez, 2011).

3.1.2. Clasificación Taxonómica del Cultivo.

En la Tabla 1 se muestra la clasificación taxonómica de la vid.

Tabla 1

Taxonomía de la vid

Taxonomía de la vid	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta.
Clase	Magnoliopsida
Orden	Vitales
Familia	Vitaceae
Género	<i>Vitis</i>
Especie	<i>V. vinífera.</i>

Nota: Según Baudrit (1990) la vid presenta esta división taxonómica

3.1.3. Morfología de la vid

La vid, originaria de Asia, se clasifica como una planta semileñosa y tiene el potencial de alcanzar alturas notables si no se aplican técnicas de poda de manera oportuna a lo largo de su proceso de crecimiento. Es esencial llevar a cabo la poda para proporcionar soporte y estructura al cultivo, mejorando así la productividad de la planta.

Latorre (2016), nos menciona que la vid está constituida por las siguientes partes detalladas a continuación:

- **Raíz**

En la mayoría de los casos, se encuentran bajo tierra y desempeñan diversas funciones, como aclarar la planta al suelo, facilitar la absorción de agua y minerales, y acumular sustancias de reserva.

- **Tronco**

Presenta una apariencia retorcida y agrietada, cubierta por una corteza. Su altura puede variar dependiendo de la variedad y del sistema de conducción seleccionado. La función principal del tronco es proporcionar soporte a los brazos y pámpanos (se explica más adelante), dirigir el flujo de agua y savia, y almacenar sustancias de reserva.

- **Brazos**

Los brazos de la vid tienen la responsabilidad de conducir los nutrientes y distribuir la vegetación y los frutos en el espacio. Estos brazos sostienen los tallos del año, que se llaman pámpanos cuando son herbáceos y sarmientos cuando se han lignificado.

- **Sarmiento**

Las nuevas ramas que la vid produce cada año se llaman pámpanos en su fase inicial. Estos pámpanos están formados por una sucesión de nudos y entrenudos, y llevan consigo las yemas, las hojas, los zarcillos y los racimos.

- **Pulgar**

Un pulgar de la vid es una parte del sarmiento que se deja durante la poda de la cepa y que contiene un número variable de yemas.

Partes de la uva

- **Pulpa**

La principal composición de la pulpa de la uva es el agua, siendo el componente predominante. El segundo componente más relevante, aunque no menos importante, es el azúcar.

- **Piel u hollejos**

En la piel de la uva se encuentran los compuestos responsables del sabor y el color. Los taninos presentes en la piel son los encargados de proporcionar estructura y textura a los vinos tintos. Los antocianos, que también se encuentran en la piel, son responsables del color.

- **Pepitas y Raspón**

Además de la presencia de taninos, las pepitas y el raspón contienen aceites amargos.

- **Pruina**

Es una fina capa de cera presente en la cutícula del hollejo o piel también llamada flor. En la pruina se encuentran las levaduras que realizarán la fermentación alcohólica.

3.1.4. Valor nutricional

La composición de las uvas puede variar ligeramente según se trate de uvas blancas o negras. En general, su aporte en hidratos de carbono es mayor que en otras frutas, por eso proporcionan mucha energía. Son hidratos de carbono de fácil asimilación como la glucosa, la fructosa, sacarosa, dextrosa y levulosa. Las uvas son ricas en compuestos fenólicos, destacando los estilbenos (resveratrol) y los flavonoides. Algunos autores indican que, tanto la uva negra como el vino tinto, poseen una mayor cantidad de fitonutrientes que las otras variedades de uva y vino (Pantoja, 2019).

Tabla 2

Composición y valor nutricional del fruto de Vitis vinifera L.

Parámetros	Contenido/100g de sustancia comestible
Agua	81,1 (g)
Energía	67 (kcal)
Proteínas	0,68 (g)
Hidratos de carbono	15,2 (g)
Lípidos	0,28 (g)
Fibra	
Fibra total	1,5 (g)
Vitaminas	
Vitamina A (Retinol)	5,5 (µg)
Carotenos totales	33 (µg)
Beta-caroteno	33 (µg)
Vitamina E	0,63 (mg)
Vitamina B1	0,05 (mg)
Vitamina B2	0,03 (mg)
Niacina 0,23	0,23 (mg)
Vitamina B6	0,07 (mg)
Folatos	43 (µg)
Vitamina C	4,2 (mg)
Minerales	
Calcio	12 (mg)

Hierro	0,41 (mg)
Fósforo	19 (mg)
Magnesio	7,6 (mg)
Zinc	0,05 (mg)
Selenio	1,7 (µg)
Sodio	2 (mg)
Potasio	197 (mg)
Esteroles	Esteroles
Esteroles totales	4 (mg)
Beta-sitosterol	3 (mg)
Compuestos bioactivos especiales	
Kaempferol	Trazas (mg)
Quercetina	1,4 (mg)
Miricetina	0,45 (mg)
Ácidos orgánicos	
Ácido cítrico	23 (mg)
Ácido clorogénico	13 (mg)
Acido málico	327 (mg)
Acido tartárico	530 (mg)

Nota. Souci et al. (2000); Moreiras et al. (2001); Olmedilla et al. (2001); USDA (2002).

3.1.5. Requerimientos de temperatura del cultivo

Históricamente, las uvas han sido cultivadas y prosperan principalmente en regiones que se encuentran entre los 34-49 grados de latitud en ambos hemisferios. Aunque es posible cultivarlas en latitudes superiores, siempre que se disponga de áreas soleadas a baja altitud o en regiones tropicales secas con acceso a riego. Su desarrollo óptimo se observa en climas con veranos prolongados y secos, así como inviernos fríos. La temperatura máxima en el mes más cálido debe superar los 18-20 °C, y en el mes más frío, no debería descender por debajo de 0 °C.

Temperaturas inferiores a 17 °C disminuyen la velocidad de acumulación de azúcares y prolongan el proceso de maduración. De manera similar, temperaturas extremadamente altas y baja humedad también pueden reducir la tasa de acumulación de azúcar debido a la disminución de la fotosíntesis. La elevada humedad aumenta el riesgo de enfermedades y plagas. La lluvia o

la niebla durante la floración pueden ocasionar una mala cuajada. Un período de crecimiento prolongado es esencial para lograr una adecuada maduración de las uvas (Yara, 2023).

3.1.6. Tipos de suelo

Las uvas se pueden cultivar en una diversidad de tipos de suelos, abarcando desde los muy arenosos hasta los arcillosos, y pueden adaptarse a niveles variables de fertilidad. Su desarrollo óptimo se logra en suelos fértiles y profundos que permiten una expansión radicular de hasta 3 a 5 metros o incluso más. Por otro lado, terrenos excesivamente arcillosos, poco profundos, con deficiente drenaje o presencia de sales y otras toxinas no son adecuados para una producción óptima, ya que presentan limitada disponibilidad de nutrientes.

La disponibilidad de nutrientes está condicionada por diversos factores, tales como el pH del suelo, la concentración de nutrientes, la profundidad de las raíces, el suministro de agua en el suelo y el uso de cultivos de cobertura o mulching. La vid prefiere un pH neutro, aunque puede tolerar un rango que va desde 4,5 hasta 8,5. Por ejemplo, en suelos alcalinos con un pH de 7,3 o superior, la vid se encuentra propensa a sufrir clorosis por falta de hierro. (Yara, 2023).

3.2. El cultivo de uva en Ecuador

La uva es altamente demandada en el mercado ecuatoriano debido a su delicioso sabor y su valioso aporte nutricional, que ofrece diversos beneficios para la salud. Ecuador, con su diversidad climática y suelos propicios, es capaz de producir uvas de diferentes variedades y de alta calidad. Entre las regiones adecuadas para este cultivo se encuentran los valles de Ibarra, Pomasqui, Guayllabamba, Tumbaco, Patate, Loja, Catamayo y Santa Isabel, así como las zonas costeras de Portoviejo, Manta, Manglar Alto y Santa Elena. Sin embargo, algunos de estos lugares aún no han sido aprovechados para llevar a cabo esta actividad (Santander et al., 2016).

La Provincia de Santa Elena destaca como la principal zona de cultivo de uva en Ecuador. Según los expertos, una ventaja considerable que tiene el país en el cultivo de la vid es que la cosecha se realiza en meses en los que no se produce en Chile ni en los Estados Unidos. Según los datos recopilados por el MAGAP en 2010, la empresa "Figalsa" opera el viñedo más

extenso de Ecuador y lidera la producción del reconocido vino nacional denominado "Paradoja". Además, existen otros viñedos registrados en el país, según la información proporcionada por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). También se señala la presencia de plantaciones más pequeñas y huertos de uva en áreas específicas como Portoviejo, Santa Ana, Eloy Alfaro y Tungurahua, según datos del mismo instituto (Valero, 2017).

Según la afirmación de Rodríguez (2010), en los países del hemisferio sur, la temporada de cosecha de uva se inicia en los meses de enero, febrero y marzo, a diferencia de Estados Unidos, donde la cosecha ocurre entre junio y agosto. Esta discrepancia en los calendarios de cosecha permite que Ecuador, durante los meses de abril, mayo, octubre, noviembre y diciembre, tenga la oportunidad de abastecer la demanda interna. Rodríguez destaca que, durante estos meses, el país ofrece productos que no están disponibles en ninguna otra parte del mundo.

En Ecuador, las variedades de uva de mesa más populares incluyen Cardinal (de color rojo violeta), Alphonse Lavallé (de color negro azulado), Italia (de color amarillento), Ribiera (de color negro) y Red Globe (de color rojo violeta). Sin embargo, el área de producción de uvas en el país es bastante limitada. En el año 2009, se produjo 397 toneladas métricas, una cantidad insuficiente para satisfacer las demandas internas del país (Yáñez, 2011).

3.2.1. Importancia económica

Gonzales menciona que, la uva de mesa importada al mercado exhibe una calidad excepcional, y productores como locales, ese es el estándar con el que se nos evalúa. Necesitamos alcanzar un nivel de frutas de exportación equiparable a los mejores mercados, lo que nos obliga a mantener altos estándares de calidad y a seguir procesos distintos de otras industrias en el mundo. En la misma línea, señala que la superficie dedicada al cultivo de uva de mesa en Ecuador abarca unas 250 hectáreas, según los registros del Ministerio de Agricultura.

Además, destacó que la industria se está concentrando en dos aspectos principales: la producción de variedades sin semillas y la expansión de las exportaciones. Dada las dificultades que ha presentado el mercado local durante la temporada de producción de Perú, ha surgido un

mensaje claro y unánime dentro de la asociación de que debemos orientarnos hacia la exportación en la actualidad (Pineda, 2019).

El cultivo de la vid es una actividad de gran importancia económica a nivel mundial. En el año 2015 se cultivaron más de 7.5 millones de ha de vid en el mundo, los cuales produjeron 274.4 millones, de hectolitros (hl), en donde se comenta que el consumo de vino se ha estabilizado.

La provincia de Santa Elena, cumple las condiciones climáticas para la viticultura, por tener características muy parecidas al vecino país Perú, específicamente la zona de Piura. García (2017), alude la primera referencia moderna acerca de la viticultura ecuatoriana, insinuando que, en el país el desarrollo de la viticultura podría ser uno de los cultivos con mayor potencial, señalando la posibilidad de que, con el manejo adecuado del cultivo se produzcan uvas todo el año. Santa Elena cuenta con una superficie de 3,690 km² que cubren bosques y montes, pastos naturales y cultivados. En el territorio se presentan dos variedades de uva de mesa, Red Globe y Crimson seedless (Loor y Pino, 2022).

3.3. Oidio

3.3.1. Agente causal

El oídio es ocasionado por el hongo *Uncinula necator*, perteneciente al orden *Erisiphales*. Esta enfermedad se caracteriza por la formación de una capa pulverulenta de color blanco en las hojas, compuesta por el micelio y las conidias del hongo. El micelio es superficial y bien desarrollado, dando origen a los conidióforos desde una célula pie con forma de T invertida. Estos conidióforos son alargados y constantes de dos o más células. Las conidias, también conocidas como oidias, se generan en el extremo apical y se liberan cuando alcanzan la madurez. Una conidia madura presenta una forma cilíndrica o elipsoidal, con dimensiones de 40 a 50 micrómetros de longitud por 15-17 micrómetros de espesor, y contiene un protoplasma denso, granulado y refringente (Icochea, 2017).

3.3.2. Ciclo biológico del oídio

El oídio tiene la capacidad de afectar todos los órganos verdes de la vid, que incluyen las hojas, tallos, frutos e inflorescencias. Dado que se trata de un parásito que depende de tejido vivo, como las hojas y los racimos, para su desarrollo y propagación, esta característica resulta crucial para gestionar eficazmente la enfermedad.

(Gómez et al., 2020) nos menciona lo siguiente, este patógeno puede atacar la vid a lo largo de toda la temporada de crecimiento, aunque la susceptibilidad de los diferentes órganos varía según la época del año. Durante la floración, las flores y las bayas son particularmente propensas, mientras que los peciolo de las hojas y los brotes son susceptibles en cualquier momento durante la temporada.

El hongo entra en una fase de inactividad dentro de las yemas y los sarmientos. Cuando se inicia el crecimiento de nuevos brotes y las condiciones ambientales son favorables, el hongo comienza su proceso de desarrollo. Una vez que alcanza la madurez, inicia la reproducción asexual al generar conidias, las cuales son dispersadas por el viento, propagando de esta manera la enfermedad a través de todos los elementos verdes de la vid (Rodríguez, 2015).

3.3.3. Comportamiento del oídio respecto a la temperatura

- Rápido crecimiento y esporulación del micelio: 23°C – 30°C.
- Crecimiento óptimo: 26°C.
- Inhibición de germinación de conidias: de 35°C a más.
- Muerte del patógeno: 40°C.

3.3.4. Comportamiento del oídio respecto a la humedad

- Alta germinación de conidias: 40%-100%.
- Germinación óptima de ascosporas: 100%.
- Máxima incidencia y severidad: 85%.

3.3.5. Signos y sintomatología

Inicialmente, en la superficie de las hojas, se observan manchas blancas que indican la presencia del hongo en el huésped. La producción de esporas, conocida como esporulación, tiene lugar en un lapso de 5 a 7 días desde el comienzo de la infección. Estas esporas pueden visualizarse en cualquier tejido verde de la planta, incluyendo frutos, raquis, hojas y partes florales. Las conidias de este hongo son especialmente sensibles a la luz solar directa, por lo que las lesiones tienden a desarrollarse en la cara inferior de las hojas expuestas. En hojas que se encuentran en sombra, las lesiones se manifiestan en ambos lados de la hoja (Alarcón, 2023).

Las esporas en las áreas afectadas aparecen como una especie de polvo blanco a grisáceo, con una apariencia distintiva que se asemeja a la ceniza (Puelles y Sepúlveda, 2012).

3.3.6. Afectaciones del oidio en la vid

Oliva (2020) nos menciona en su investigación las afectaciones del oidio en la vid. El *Uncinula necator* puede atacar a todas las zonas verdes de la vid. Su desarrollo se presenta en las hojas, brotes, sarmientos y racimos. Los daños causados por este hongo pueden llegar a ser críticos, reduciendo la producción y calidad de la uva.

- **Daños en las hojas:** En las hojas aparece un polvillo blanco, como manchas harinosas, tanto en la superficie como en el envés de la hoja. Provoca deformaciones y marchitamiento de la hoja, si el ataque es intenso.
- **Daños en brotes y sarmientos:** En los brotes y sarmientos se puede observar manchas difusas de color verde oscuro, que crece y cambia de tonalidad más oscuras al avanzar la vegetación, incluso llegan a ser de color negro dependiendo si aumenta la lignificación de la viña (según adquiere mayor la consistencia de madera). Esto provoca un mal agostamiento del sarmiento, reduciendo la acumulación de reservas en las yemas.
- **Daños en racimos y granos** Los síntomas se asemejan a los de las hojas, al comienzo aparece un polvillo blanco, como ceniza, que en poco tiempo recubre toda la superficie del grano. En el racimo el daño es más grave, ya que el hongo puede detener el crecimiento de la piel del grano, agrietándolo y afectando a la producción. Si el ataque se presenta cuando los granos tienen un tamaño de un guisante es muy problemático, ya que se secan y se caen.

3.4. Manejo integrado de oídio en la vid

3.4.1. Control químico

Es más efectivo cuando se integra con prácticas culturales. El enfoque del manejo debe centrarse en un control preventivo durante la fase de infección primaria, que ocurre al inicio de la temporada de crecimiento.

El tratamiento debe iniciarse tempranamente, cuando los brotes líderes alcanzan entre 5 y 10 cm de longitud, manteniendo un programa de aplicaciones periódicas según la persistencia del producto, hasta la maduración de las bayas. Al elegir el tipo de producto a aplicar, es crucial considerar el estado fenológico de la vid y los fungicidas previamente utilizados para evitar el desarrollo de cepas resistentes.

En líneas generales, el tratamiento comienza en la fase inicial de brotación mediante el uso de productos a base de azufre. Esto se realiza para controlar el micelio latente y prevenir su afectación a los brotes. Durante la floración, no se aplican productos líquidos de azufre, ya que favorecen la escorrentía. Por esta razón, se emplean productos pertenecientes a diversos grupos químicos (Puelles y Sepúlveda, 2012).

Los fungicidas desempeñan un papel crucial en el control de enfermedades, siempre y cuando se utilicen de manera responsable y se salvaguarde la salud humana. Sin embargo, existen alternativas como el control biológico que se emplean para reducir la dependencia de agroquímicos, previniendo el desarrollo de resistencia y siendo respetuosas con el medio ambiente.

3.4.2. Control biológico

El control biológico se define como la acción que reduce la cantidad o la propagación del agente patógeno responsable de una enfermedad, gracias a la intervención de organismos externos. Por lo general, este control se lleva a cabo introduciendo antagonistas en condiciones ambientales controladas, especialmente en términos de humedad y temperatura, aunque las investigaciones de campo son limitadas. La eficacia de estos agentes biológicos puede ser afectada por la presencia de otros microorganismos y por cambios abruptos en la temperatura.

Los antagonistas emplean diversos mecanismos de acción para combatir a los agentes patógenos, por lo que la selección cuidadosa del microorganismo controlador es esencial en base a esta información. Sin embargo, el control biológico se enfrenta a un mercado con márgenes de utilidad reducidos, lo que hace necesario aplicar tratamientos que impliquen combinaciones de antagonistas que sean complementarios en lugar de competir entre sí. Esto conlleva a una mayor eficacia, una disminución en la frecuencia de aplicaciones y en los costos del tratamiento (Serrano y Galindo, 2017).

Existen varias técnicas *in vitro* en el control biológico, como pruebas de cultivos duales y el uso de cámaras húmedas, entre otras (Romainville, 2022).

3.4.3. Antecedentes

En Maharashtra (India), realizaron ensayos a escala preliminar, pequeña escala y escala de campo para seis aislados de *Trichoderma*, de las cuales cinco fueron obtenidos de la colección de cultivos microorganismos de la agricultura nacional (NAIMCC) de ICAR-NBAIM, y una cepa de *Trichoderma aspereloides* la cual fue obtenida de laboratorio de patología de plantas de ICAR-NRCG. De las cuales los aislados de NAIMCC-F-01938 y NAIMCC-F-01965 (cepas obtenidas de la colección de cultivos de microorganismos de la agricultura nacional de Mau-India) fueron superiores a los otros cuatro aislados de *Trichoderma*, reduciendo la enfermedad en un 43,67-50,36% y 35,71- 53.40% respectivamente (Garnetti, 2022).

En la Habana - Cuba, resaltaron la importancia que tiene el conocimiento profundo de los mecanismos de acción que pueden presentar los diferentes aislados de *Trichoderma*. Este conocimiento es vital desde el punto de vista práctico, debido a que permite una adecuada y mejor selección de aislamientos con mayor potencialidad para el control de diferentes fitopatógenos. Mientras más modos de acción estén presentes en un aislamiento, mayor será la eficacia del mismo en el control del fitopatógeno, y por ende, menor el daño que puede causarle al cultivo (Escobar, 2018).

En Chiguagua - México, aislaron seis cepas de *Trichoderma spp.* TC74 de chile jalapeño, TvVA y TbVA de nogal, TvB y TbB de menta y TS01 de durazno. Las cepas TS01,

TC74 y TvB mostraron mayor actividad micoparásita in vitro. La tasa de crecimiento del patógeno se redujo prácticamente a la mitad al confrontarse con las cepas TC74, TvB y TS01, lo que al final del experimento se reflejó en una reducción del 51, 47 y 45% de su crecimiento, respectivamente ($P < 0.002$), y mostrando así una mayor actividad antagónica sobre *Phytophthora capsici* (Morales, 2016).

En Cusco - Perú, determinó el efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en la incidencia y severidad de *Mycena citricolor* (ojo de pollo) sacc del café. *T. viride* mostró una reducción en el incremento de la incidencia de *M. citricolor* con un 5,88% en comparación a los demás tratamientos. En cuanto a la severidad de *M. citricolor* la combinación de *T. harzianum* y *T. viride* mostraron una reducción de 35,62% (Quishpe, 2020).

En Trujillo - Perú, determinaron el efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre hongos causantes de enfermedades en frutos de postcosecha de *Carica papaya* L. “papaya amarilla”, (*Rhizopus nigricans*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Stemphylium lycopersici*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporu* y *Lasiodiplodia theobromae*). Con respecto al estudio de la competencia por nutrientes y espacio *A. alternata*, *S. lycopersici* y *L. theobromae*, fueron los hongos que resistieron mejor la acción antagónica de *T. harzianum*, con crecimientos promedio de 3,32; 3,13 y 3,25 cm respectivamente; en cambio *F. oxysporum* mostró una gran susceptibilidad a la acción antagónica de 6 *T. harzianum* con un crecimiento micelial promedio de 1,92 cm. En cuanto a la capacidad antagónica de *T. harzianum* sobre los hongos fitopatógenos fue en promedio de grado 2 (Gómez, 2015).

En Tacna - Perú, determinaron el grado de control de dos hongos de *Trichoderma* sobre el oídio en los racimos de las plantas de vid. Se aplicó 10 mL de inóculo de *Trichoderma*, constituido por una suspensión densa de conidios, por aspersion sobre los racimos de las plantas de vid con cinco repeticiones por tratamiento. *Trichoderma sp.* TL (cepa nativa) presentó un grado 6 de control sobre el oídio y *T. harzianum* un grado 5 en la disminución de infección de oídio en los racimos de uva. Concluyeron que el mayor grado de control encontrado en *Trichoderma sp.* TL sea porque es una especie nativa propia del lugar de Tacna, en comparación al otro *Trichoderma* que es proveniente de fuera de Tacna (Lara, 2021).

3.5. Métodos de control biológico con *Trichoderma spp*

3.5.1. *Trichoderma spp* como controlador de oidio

Trichoderma spp destaca como un agente de control biológico debido a varias ventajas significativas. Su rápido crecimiento y desarrollo son notables, y, además, produce una abundante cantidad de enzimas, especialmente cuando se detecta la presencia de hongos fitopatógenos. Su capacidad para prosperar en una amplia variedad de sustratos facilita su producción a gran escala para su implementación en la agricultura (Andrade et al., 2019).

La gran tolerancia de *Trichoderma spp.* a condiciones ambientales extremas y a hábitats afectados por hongos patógenos lo convierte en un bioagente de control eficiente. Así mismo, su capacidad para sobrevivir en entornos con altos niveles de agroquímicos y otros compuestos químicos es una característica valiosa. Además, su variabilidad genética actúa como un reservorio de posibilidades para el control biológico, adaptándose a diferentes sistemas de producción y cultivo.

Se ha demostrado que *Trichoderma spp.* ejerce su acción contra una amplia variedad de hongos fitopatógenos transmitidos por suelo y aire, consolidando su versatilidad y eficacia en el control biológico (Chiriboga et al., 2015).

Una vez que se obtienen cantidades significativas, se procede a la cosecha y, finalmente, se realiza la formulación para que el producto llegue al productor. La cantidad de esporas se controla mediante el uso de microscopios, asegurando así la entrega constante de un producto de calidad a los agricultores. La suspensión final no contiene conservantes, por lo que debe aplicarse lo más rápido posible después de su producción, preferiblemente en un plazo de tres días, conservado bajo condiciones controladas de temperatura (Chiriboga et al., 2015).

3.5.2. Pruebas de antagonismo

La realización de pruebas de antagonismo representa un paso esencial en la evaluación de la capacidad de un microorganismo específico como agente de biocontrol. El indicador

directo de su potencial radica en el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) obtenido para cada cepa.

Entre las diversas pruebas disponibles, se encuentra la técnica de cultivos duales, que implica la colocación de hongos o microorganismos a evaluar en los extremos de una caja Petri. En esta técnica, se evalúa el control según el crecimiento del halo de los hongos sometidos a prueba.

Otra prueba relevante es la técnica de cámaras húmedas, que facilita la observación y el seguimiento de la presencia y propagación de una enfermedad específica. Este método implica la disposición de especímenes u muestras del órgano bajo evaluación en un entorno saturado de humedad relativa. Además, se requiere realizar lecturas periódicas para detectar cualquier cambio en la cámara, lo que posibilita la identificación de la presencia de la enfermedad y la eliminación de las muestras afectadas. La implementación de esta técnica demanda un entorno con instalaciones que cumplan con estándares de asepsia y una humedad relativa uniforme (Hoyos., et al, 2019).

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales, equipos e insumos

4.1.1. Insumos

- Fundas de papel
- Fundas siplock
- Pipetas volumétricas
- Asa
- Vasos de precipitación
- Micropipetas
- Cajas Petri
- Frascos boeco
- Puntas
- Estilete
- Tijeras
- Algodón
- Gradillas
- Tubos de ensayo
- Bandejas de aluminio

4.1.2. Equipos

- Balanza analítica (modelo: adam PW254) (serie: AE4383736)
- Estufa (serie: 1210180008)
- Cámara de flujo laminar N_BIOTEK®
- Autoclave (ican clave)
- Congelador (thermoscientific™)

4.1.3. Reactivos

- Papa Dextrosa Agar (PDA TM MEDIA)
- Caldo nutritivo (TM MEDIA)
- Funguicida con ingrediente activo Myclobutanil
- Sabouraud dextrose agar

4.1.4. Material biológico

- Cepas de *Trichoderma spp* aisladas de suelos agrícolas.
- Hojas de vid infestadas con *Uncinula necator* “oidio”.

4.2. Métodos

4.2.1. Diseño experimental

En esta investigación se realizó un diseño experimental completamente al azar (DCA), con 4 tratamientos y 3 repeticiones, teniendo en total 12 unidades experimentales. En esta investigación se utilizó como unidad experimental una caja Petri de 9,5 cm de diámetro y dos de ancho conjuntamente con 20 ml de Papa dextrosa agar (PDA).

En el ensayo de confrontación se utilizó una caja Petri como unidad experimental, teniendo un total de 12 cajas Petri. En cada caja Petri se colocó las dosis respectivas de cada tratamiento juntamente con el hongo patógeno, para realizar la prueba de antagonismo cuyos procedimientos y cantidades utilizada se explican a continuación en cada punto de este capítulo.

El ensayo de crecimiento de espectrofotometría se realizó por medio de la valoración del crecimiento de los hongos en tubos de ensaño con caldo LB, se hizo 3 repeticiones en tubos de ensaño para cada tratamiento.

También se realizó la aplicación de tratamientos en campo como estudio complementario, teniendo como unidad experimental una planta, se utilizó 3 plantas para cada tratamiento más un testigo teniendo en cuenta un total de 12 unidades experimentales.

Tabla 3*Esquema de análisis de varianza ADEVA*

FV	GL
Total	12
Tratamientos	4
Error	8

*Nota: Elaboración propia.***4.2.2. Tratamientos**

En esta investigación se utilizaron cuatro tratamientos, lo cuales fueron los siguientes: dos dosis de *Trichoderma spp* (variable independiente), un control químico Prelude siendo este el ingrediente activo el Myclobutanil en dosis de 1000 ppm y un testigo.

Tabla 4*Descripción de tratamientos*

Tratamiento	Simbología	Descripción
Uno	T1	1×10^3 UFC/ml
Dos	T2	1×10^5 UFC/ml
Tres	T3	Control químico con Prelude (1000 ppm)
Cuatro	T4	Testigo

Nota: Esta tabla muestra la descripción de los tratamientos.

Se ha realizado investigaciones sobre la aplicación de *Trichoderma spp* con dosis altas en general para diversas especies de cultivos, en esta presente investigación se evaluó dosis más bajas debido a diversos factores como nos menciona Espinoza (2018), que el uso excesivo de *Trichoderma spp* en el control de hongos y enfermedades en altas dosificaciones puede causar algunos daños que se menciona en los siguientes puntos:

- **Fitotoxicidad:** Dosificaciones excesivas de *Trichoderma spp* pueden ser perjudiciales para las plantas y causar fitotoxicidad. Esto puede manifestarse como marchitamiento, necrosis foliar o retraso en el crecimiento de las plantas.
- **Alteración del equilibrio microbiano del suelo:** El uso excesivo de *Trichoderma spp* puede alterar el equilibrio microbiano natural del suelo, lo que puede conducir a la supresión de otras poblaciones microbianas beneficiosas o a la proliferación de patógenos no deseados.
- **Impacto ambiental:** Las dosis altas de *Trichoderma spp* pueden tener un impacto ambiental negativo al introducir grandes cantidades de organismos modificadores en el ecosistema. Esto podría afectar la biodiversidad del suelo y los ecosistemas circundantes (Alburquerque, 2021).

4.3. Preparación de la investigación

4.3.1. Identificación de muestras

Para la toma de muestras del hongo patógeno primero se hizo una investigación bibliográfica para poder identificar en campo los síntomas y daños que causa este hongo. según (Puelles y Sepúlveda, 2012) inicialmente, en la superficie de las hojas, se observan manchas blancas que indican la presencia del hongo en el huésped. La producción de esporas, conocida como esporulación, tiene lugar en un lapso de 5 a 7 días desde el comienzo de la infección. Estas esporas pueden visualizarse en cualquier tejido verde de la planta, incluyendo frutos, raquis, hojas y partes florales.

4.3.2. Recolección de muestras

Una vez que se analizó toda la información se procedió a la toma de muestras. Las muestras fueron tomadas en la provincia de Imbabura, ciudad de Ibarra, parroquia Caranqui. Las hojas fueron cortadas en el peciolo con la ayuda de una tijera de poda, algo muy importante fue que para cada hoja se desinfecto la tijera con alcohol.

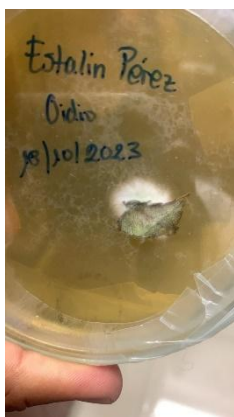
Una vez tomadas las muestras se colocaron en fundas de papel selladas a temperatura ambiente y a una humedad del 50-60%, para ser trasladadas al laboratorio de microbiología de la PUCE-I.

4.4. Aislamiento del hongo patógeno

Una vez que las muestras fueron llevadas a laboratorio se procedió hacer un corte con la ayuda de un bisturí en la zona infectada por el hongo, se colocó en el plato Petri con 20 ml del medio de cultivo (Sabouraud Dextrose Agar) previamente esterilizado para su crecimiento. Se dejó en la incubadora a 35°C por un período de 5 días para poder observar el crecimiento del hongo, esta técnica fue utilizada por (Muñoz, 2020).

Figura 1

Aislamiento del hongo patógeno en caja Petri



4.4.1. Purificación de muestras

Después del periodo de incubación y una vez que haya crecido el hongo, se tomó una muestra con el asa en una parte donde haya mayor presencia de micelio y se colocó en nuevos platos petri con el medio de cultivo teniendo 3 resiembras sucesivas. Después se procedió a seleccionar los platos petri con un mayor y mejor crecimiento del hongo de acuerdo a la caracterización microscópica (color, textura, forma del micelio y crecimiento de la colonia).

4.4.2. Crecimiento de colonias puras de oidio

Una vez que se obtuvo un mejor crecimiento de colonias puras en las cajas Petri, se hizo un raspado con el asa y se sembró en tubos de ensayo de 10ml con agar-agar previamente

esterilizados. Las muestras fueron dejadas en la estufa por un período de 5 días a una temperatura de 30°C, siguiendo el protocolo (Aldas, 2021).

4.4.3. Aislamiento de *Trichoderma spp*

Siguiendo el protocolo utilizado por (Junes, 2019), en su investigación el aislamiento se lo realizó de la siguiente manera:

Las muestras de suelos para obtener las cepas de *Trichoderma spp* se obtuvieron del sector de El Hato de Mira provincia del Carchi donde hay la presencia de bosque y que no hayan pasado por ninguna aplicación de tratamientos químicos o alguna especie de hongos.

Cabe recalcar que no se extrajo las muestras de suelo del mismo sitio donde se produce la vid porque todos en general habían pasado por tratamientos químicos que pueden afectar a la presencia de *Trichoderma spp* entonces para evitar cualquier problema se prefirió mejor extraer las muestras de suelo del lugar antes mencionado.

- **Muestras de suelo:** Se recolectaron tres muestras de suelo de manera aleatoria. Se extrajo aproximadamente 1 kg de suelo en bolsas de papel, cada muestra de suelo se obtuvo de unos 10-15 cm de profundidad.
- **Protocolo de aislamiento:** Obtenido las muestras se llevó a las instalaciones del laboratorio de microbiología de la PUCE-I, donde el procesamiento de las muestras se realizó homogenizando el suelo y tomando una submuestra de 10 gramos, colocándola en 90 mL de agua destilada esterilizada y agitando durante 20 a 30 min. Posteriormente se tomó una alícuota de 1 ml que se diluyó en un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril. Estas diluciones se realizaron por tres veces consecutivas. De las tres diluciones se tomó una alícuota de 0,1 ml que se depositó en las placas Petri contenido con medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) y con ayuda de un asa previamente esterilizado se dispersó uniformemente toda la superficie. Se llevó a incubar a 25°C por cuatro a cinco días; monitoreando el crecimiento del hongo de interés (Covacevich, 2020).

4.4.4. Preparación de dosis del antagonista

Para este proceso se utilizó una cámara de Neubauer, en el cual se colocó una muestra de 100 uL del hongo preparado en caldo nutritivo. Se realizó el conteo de esporas con ayuda del microscopio compuesto y el lente de 40X. Se hizo el procedimiento en 5 cuadros medianos (cuatro esquinas y el centro), de cada uno de los hemisferios de la cámara según lo establecido por (Salinas, 2019).

Posteriormente se utilizó el tubo con el mayor promedio de esporas y se realizaron diluciones para tener las dosis de los tratamientos. Para obtener las dosis de 1×10^3 UFC/ml se colocó 1 ml del tubo seleccionado y se aforo con 9 ml de caldo nutritivo nuevo esterilizado, para la dosis 1×10^5 se utilizó 3ml del tubo selecto y se aforo hasta 10 ml con el nuevo caldo nutritivo.

Figura 2

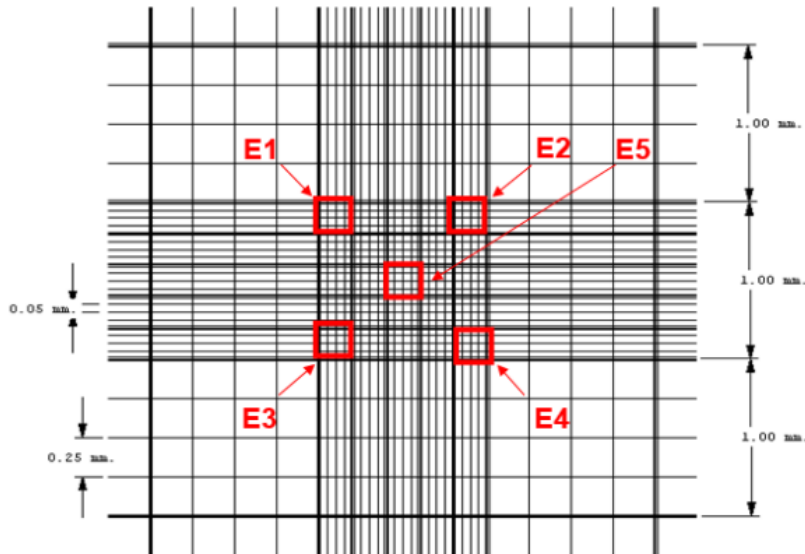
Cámara de Neunaber que se utilizó para el conteo de esporas



La Figura 2 muestra los cuadrados medianos de un hemisferio individual donde se llevó a cabo el recuento de esporas del probable antagonista. Estos cuadrados centrales se subdividen en 16 segmentos más pequeños, utilizados para la localización de las esporas.

Figura 3

Cuadro de conteo de esporas



Nota. Adaptado de Salinas (2019).

4.4.5. Dosis del control químico

Se evaluó un control químico siendo el ingrediente activo el Myclobutanil, se pesó 1 gramo del ingrediente activo, luego se disolvió en 5 ml de agua destilada y posteriormente se aforó hasta 100 ml. A partir de esta solución, se tomó 1 ml, siguiendo el protocolo de diluciones en plato agar de Rondón y Sanabria (2016). Se colocó en tubo de ensayo cuyo contenido inicial fue 9ml de agua destilada. Se utilizó 1 ml de esta dilución para la prueba de antagonismo (Rondón y Sanabria, 2016).

4.4.6. Análisis de la acción antimicrobiana

Se realizó la técnica de cultivos duales, en el cual se colocó 20 ml del medio de cultivo en el plato Petri, luego se sembró el patógeno aislado con las diluciones establecidas con caldo nutritivo, a 0.5 cm del borde de la caja y a 6 cm se colocó los tratamientos respectivos, igualmente almacenados en caldo nutritivo.

La siembra de hongos y tratamientos se la realizó con la ayuda de unos discos elaborados con papel Parafilm y con una pinza de disección. Luego de esto se dejó a temperatura ambiente, en un lugar oscuro para no tener alteraciones de temperatura por luz o humedad.

4.5. Determinación de la mejor dosis de *Trichoderma spp* en hojas con síntomas de oidio mediante pruebas en cámaras húmedas

Se evaluó las dos mejores dosis con mayor control en la técnica de cultivos duales, además se utilizó el control químico y un testigo (sin control), con tres repeticiones.

Tabla 5

Tratamientos de cámaras húmedas

Tratamiento	Simbología	Descripción
Uno	T1	1×10^3 UFC/ml de <i>Trichoderma spp</i>
Dos	T2	1×10^5 UFC/ml de <i>Trichoderma spp</i>
Tres	T3	Control químico con Prelude (1000 ppm)
Cuatro	T4	Sin ningún control (solamente con agua destilada)

Nota: El autor

4.5.1. Elaboración de cámaras húmedas

Se colocó papel toalla mojado con agua destilada esterilizada en una bandeja y sobre ello se puso las hojas sanas sin presencia de la enfermedad, para ser inoculadas con el hongo patógeno y también con las dosis del control biológico.

4.5.2. Evaluación de la mejor dosis

Se utilizó un atomizador manual y se aplicó 5 ml de cada tratamiento, de acuerdo a las dosis establecidas en la Tabla 3. Se dejó incubar por 15 días y se determinó la severidad de

acuerdo al crecimiento diametral de la lesión (variable dependiente), en la zona infectada, siguiendo la metodología de (Barrios et al. 2016) y (López et al, 2018).

4.6. Variables

4.6.1. Variable/s Independiente/s

- Dosis de *Trichoderma spp* (esporas/ml)

4.6.2. Variable/s dependiente/s

- Halos inhibitorios (mm)
- Crecimiento diametral en la hoja infectada

4.7. Ubicación del área de estudio

4.7.1. Recolección de muestra de *Trichoderma spp*

Las muestras de suelo para el aislamiento de la *Trichoderma spp* fueron recolectadas de un bosque ubicado en el caserío el Hato de Mira, cantón Mira, provincia del Carchi.

4.7.2. Recolección de muestras del hongo oídio

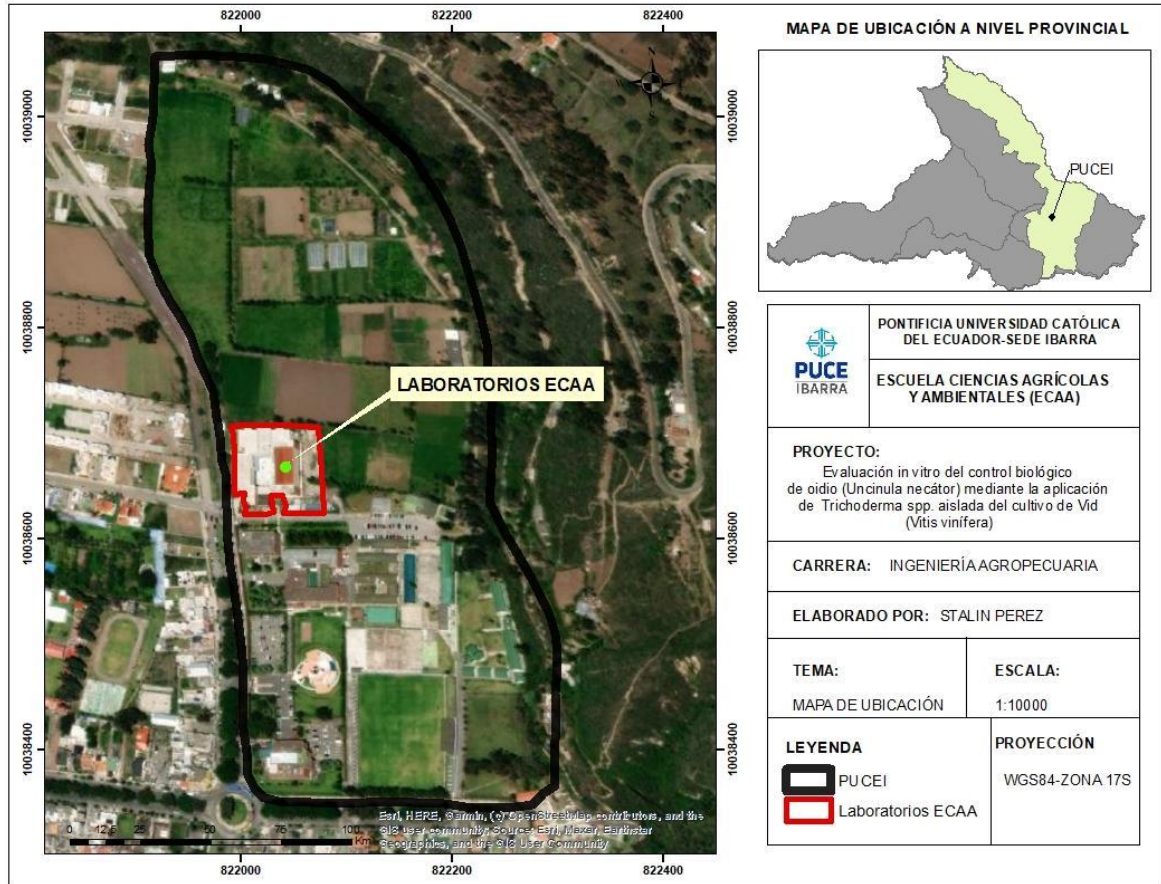
Las hojas, tallos y frutos fueron recolectadas de la empresa Agrovitis Caranqui, ubicada en la ciudad de Ibarra-parroquia Caranqui.

4.7.3. Área de estudio

Esta investigación la etapa experimental se la desarrollo en los laboratorios de microbiología y biotecnología de la PUCE-SI, que se encuentra ubicada en la ciudad de Ibarra, provincia de Imbabura.

Figura 4

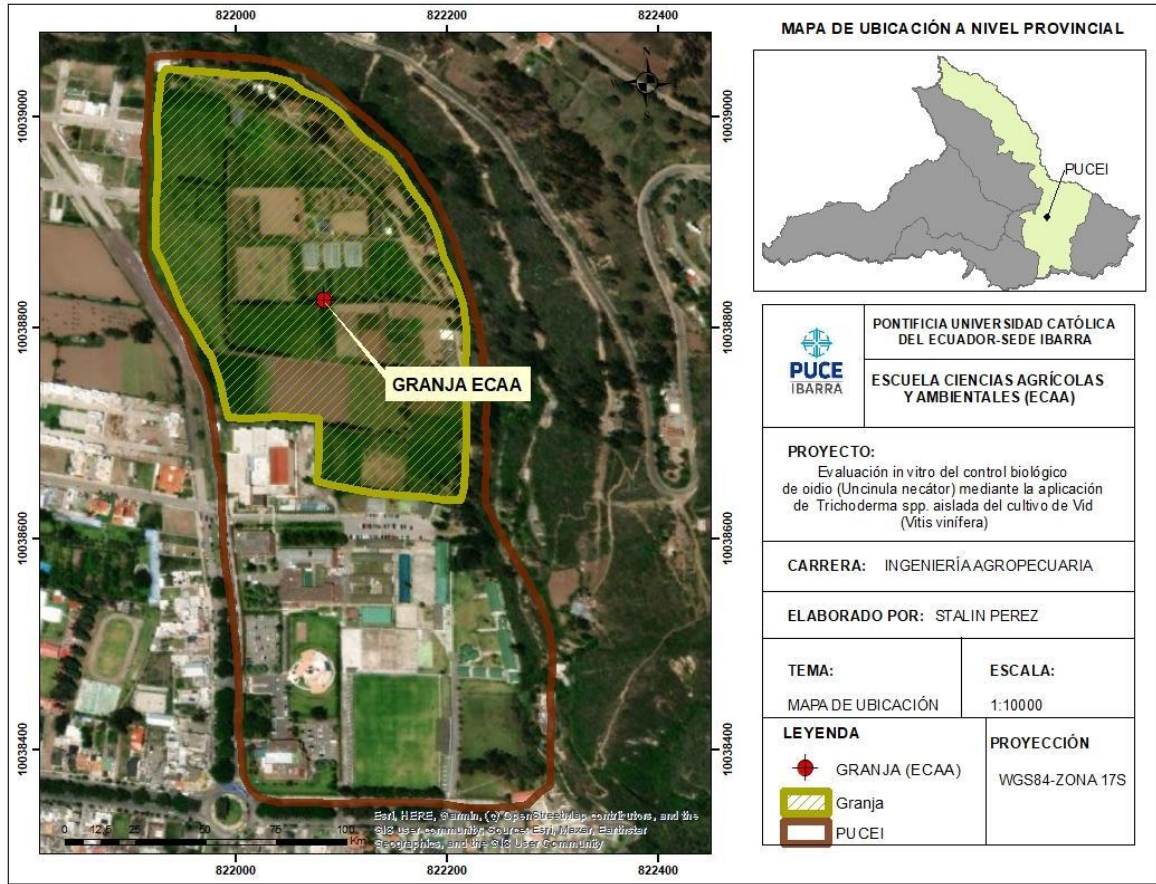
Ubicación de los laboratorios en la PUCE-I



Nota: Ubicación de la sede universitaria elaborado por medio de Arcgis.

Figura 5

Ubicación de la granja ECAA



Nota: Ubicación de la granja ECAA, mapa elaborado por medio del programa ARCGIS

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Pruebas de normalidad y homogeneidad de la varianza

Se realizaron las pruebas de normalidad y homogeneidad, para cada uno de los resultados de las variables evaluadas, con la finalidad de tener una validación del experimento. Los datos se observan en la Tabla 6, y se puede determinar que se encuentran distribuidos normalmente.

Tabla 6

Prueba de normalidad Shapiro Wilk y homogeneidad Bartlett test de las variables evaluadas

Variable	Observaciones	Promedio (cm)	Desviación estándar	p value (Shapiro Wilk)	p value (Bartlett test)
Crecimiento micelial del patógeno					
Crecimiento a los 4 días					
Tratamiento 1	3	2,33	1,41	0,95	0,7645
Tratamiento 2	3	2,5	1,41		
Tratamiento 3	3	1,66	1,41		
Tratamiento 4	3	2,33	1,41		
Crecimiento a los 8 días					
Tratamiento 1	3	3,16	1,21	0,92	0,4852
Tratamiento 2	3	2,83	1,21		
Tratamiento 3	3	2,83	1,21		

Tratamiento 4	3	3,16	1,21		
Crecimiento a los 12 días					
Tratamiento 1	3	3,83	1,10		
Tratamiento 2	3	3,16	1,10	0,94	0,6831
Tratamiento 3	3	4,5	1,10		
Tratamiento 4	3	6,16	1,10		
Variable	Observaciones	Promedio (cm)	Desviación estándar	p value (Shapiro Wilk)	p value (Bartlett test)

Crecimiento del hongo en cámaras húmedas

Crecimiento a los 5 días

Tratamiento 1	3	1,83	1,55		
Tratamiento 2	3	1,5	1,55	0,95	0,5844
Tratamiento 3	3	1,3	1,55		
Tratamiento 4	3	2,16	1,55		

Crecimiento a los 10 días

Tratamiento 1	3	2,26	1,31		
Tratamiento 2	3	3	1,31	0,93	0,3859
Tratamiento 3	3	2,76	1,31		
Tratamiento 4	3	4,5	1,31		

Crecimiento a los 15 días

Tratamiento 1	3	4,5	1,31		
Tratamiento 2	3	3,83	1,31	0,97	0,8990
Tratamiento 3	3	7,5	1,31		
Tratamiento 4	3	9,66	1,31		

5.2. Caracterización molecular

Se obtuvo un porcentaje de identidad del 98% entre la muestra aislada del patógeno y el espécimen de *Erysiphe Necator* de acuerdo a la base de datos del NCBI.

Cebador: Citocrom

Secuencia:

```

ttcatgg tcacaagtat cgcattttct ataatactat tggccgttgg gttaaatgta
ttgagccagt tgctgttccg tagaccctac gagccaccag ttgtattca ttggtttcca
ataattggaa gtacaatttc gtaggaatt gatccatata aattttattt tgattgtaga
gccaaagtaa gtagagctct ttacatgcc catctccaga tcattaacat acatcttita
gtatggagac atttttacat ttattctcct cgggaaaaaa gtaacagtct atctgggact
tcaaggtaat aattttatac ttaatgggaa gttaaaagat gtcaacgccg aagagattta
cactaattta acaactccgg tctttggaag agatgttgta tatgattgtc caaattccaa
actcatggaa caaaaaaagg tccgtaaag gtcgagtagt aattt

```

Figura 6

Identificación molecular

NCBI Taxonomy Browser

Entrez PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy BioCollections

Search for [] as complete name [x] lock Go Clear

Display 3 levels using filter: none

Erysiphe necator

Taxonomy ID: 52586 (for references in articles please use NCBI:txid52586)

current name

Erysiphe necator Schwein., 1832
 |homotypic synonym: *Uncinula necator* (Schwein.) Burrill, 1892

Genbank common name: **grape powdery mildew**
 NCBI BLAST name: **powdery mildews**
 Rank: **species**
 Genetic code: [Translation table 1 \(Standard\)](#)
 Mitochondrial genetic code: [Translation table 4 \(Mold Mitochondrial; Protozoan Mitochondrial; Coelenterate Mitochondrial; Mycoplasma; Spiroplasma\)](#)

[Lineage \(full\)](#)
 cellular organisms; Eukaryota; Opisthokonta; Fungi; Dikarya; Ascomycota; saccharomyceta; Pezizomycotina;
 leotiomyceta; sordariomyceta; Leotiomycetes; Erysiphales; Erysiphaceae; Erysiphe

Entrez records		
Database name	Subtree links	Direct links
Nucleotide	2,996	2,995
Protein	13,935	13,935
Genome	1	1
Popset	41	41
PubMed Central	666	666
Gene	106	106
SRA Experiments	63	63
Identical Protein Groups	12,291	12,291
BioProject	10	10
BioSample	61	61
Assembly	8	8
PubChem BioAssay	48	48
Taxonomy	2	1

Molecularmente *Uncinula necator* es el mismo que *Erysiphe necator* según la investigación realizada por Burrill (1892).

5.3. Análisis de la acción antimicrobiana de diferentes dosis de *Trichoderma spp.* a través de pruebas en laboratorio.

5.3.1. Crecimiento micelial del hongo fitopatógeno

En la Tabla 7, se muestra el crecimiento micelial del fitopatógeno obtenido tras los datos tomados en un período de 12 días.

Tabla 7

Crecimiento del patógeno en la evaluación in vitro del hongo Trichoderma spp como potencial antagonista en el control de oidio

Tratamientos	Dosis de <i>Trichoderma spp</i> (UFC/ml)	Crecimiento micelial del patógeno (cm)
T1	1x10 ³	3,83
T2	1x10 ⁵	3,16

T3	Control químico	4,5
T4	Testigo (agua destilada)	6,16

Para la variable de crecimiento micelial del hongo de oidio, se observa que el tratamiento 2, T2 (1×10^5 UFC/ml de *Trichoderma spp*), presentó un mayor control, ya que se pudo evidenciar un mínimo crecimiento del hongo causante de la enfermedad (3,16 cm), mientras que el testigo T4 (Testigo), presentó un mayor crecimiento del fitopatógeno (6,16 cm).

La tabla que se presenta a continuación muestra el análisis de varianza para la variable crecimiento micelial del fitopatógeno.

Tabla 8

Análisis de varianza para el crecimiento micelial de oidio en la evaluación in vitro del hongo Trichoderma spp como potencial antagonista en el control de la enfermedad.

F. V	S.C	G.L	C.M	F	P-valor
Tratamientos	14,92	3	4,97	7,96	0,0087
Error	5	8	0,63		
Total	19,92	11			
CV (%)	7,96				

Nota. F.V: Fuentes de variación, G.L: Grados de libertad, S.C: Suma de cuadrados, C.M: Cuadrados medios, Fo: valor de F calculado, F0.05: valor de F tabulado al 5% con un 95% de valor alfa de confiabilidad.

Para la variable crecimiento micelial del patógeno, tras el análisis ANOVA, se detectó que existen diferencias significativas con un p-valor (0,0087).

Esto indica que al menos un tratamiento fue diferente a los demás para la variable en estudio. De igual manera el coeficiente de variación fue de 17,90 %, por lo que existe una variabilidad de datos.

La prueba Tukey al 5% para el crecimiento del patógeno (Figura 7), muestra que evidentemente existen cuatro rangos dentro de los cuales se encuentran los tratamientos en estudio. Se obtuvo que el tratamiento T2 se encontró en el rango “a”, siendo el mejor control

inhibiendo el crecimiento micelial del patógeno. A diferencia del tratamiento T4, que se ubicó en el rango “b” y presentó un menor control en el crecimiento micelial. El tratamiento T3 obtuvo el rango “ab” y T1 el rango “a”.

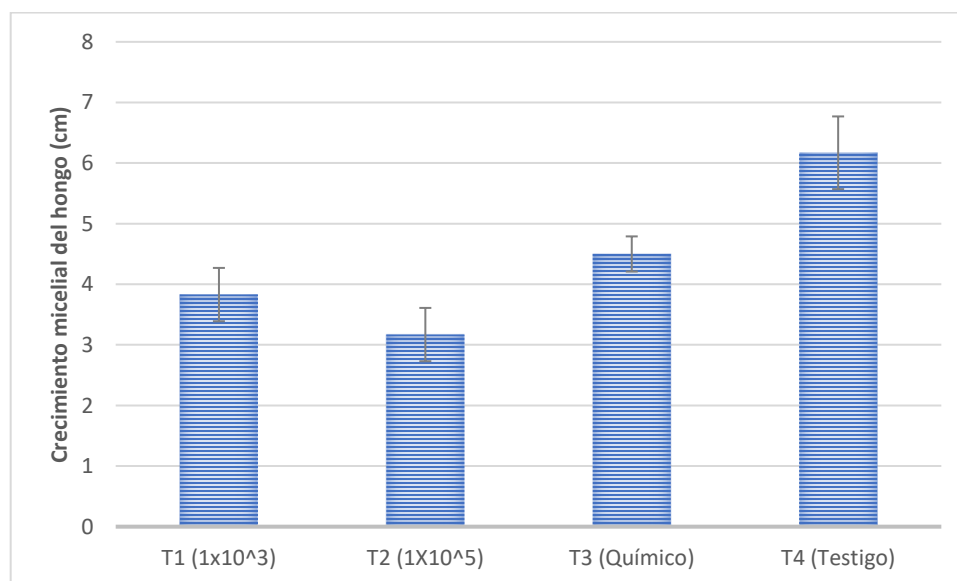
Tabla 9

Crecimiento micelial del fitopatógeno (Prueba Tukey = 0,05)

Crecimiento Micelial del fitopatógeno			
TRATAMIENTOS	MEDIAS	N	E.E
T1 (1x10 ³)	3,83	3	0,44 a
T2 (1X10 ⁵)	3,17	3	0,44 a
T3 (Químico)	4,5	3	0,29 ab
T4 (Testigo)	6,17	3	0,60 b

Figura 7

Rangos para el crecimiento micelial del patógeno (cm) por tratamiento en la evaluación in vitro del hongo Trichoderma spp como potencial antagonista en el control de la enfermedad causada por oidio



El crecimiento final que se obtuvo en esta investigación fue al día 12, obteniendo los siguientes resultados bajo una prueba Tukey al 5%, que básicamente esta prueba nos ayuda a

comparar las medias entre tratamientos. Como se observa en la Figura 7, el tratamiento T2 se encontró en el rango “a”, debido a que presentó un crecimiento micelial de oidio de 3,16 cm, mientras que el tratamiento T3 tuvo el rango “ab” porque su inhibición fue menor, ya que el hongo causante de la enfermedad obtuvo un crecimiento micelial de 4,5 cm; sin embargo, este obtuvo su máximo crecimiento (6.16 cm) con el tratamiento T4.

Los datos obtenidos en esta investigación se asemejan con los datos obtenidos por Fajardo (2008) en donde demostró que la confrontación antagonista entre la cepa *Trichoderma spp.* y el hongo fitopatógeno oidio, reveló resultados notables, siendo en el primer día de evaluación, se observó que la cepa experimentó un crecimiento de 14 mm, superando a oidio, que mostró un crecimiento de 10 mm. En el segundo día, la cepa continuó destacándose con un crecimiento de 37 mm, mientras que oidio alcanzó solo 16 mm. El tercer día demostró un aumento significativo para, con un crecimiento de 62.3 mm, en comparación con oidio, que creció 18 mm. En el cuarto día, la cepa tuvo un crecimiento de 86.3 mm, mientras que oidio, experimentó una reducción a 6.7 mm. En el quinto día de evaluación, la cepa continuó su crecimiento alcanzando los 93 mm, mientras que oidio, decreció a 0 mm, deteniendo completamente su crecimiento.

5.4. Determinación de la mejor dosis de *Trichoderma spp.* en hojas inoculadas con oidio mediante pruebas en cámaras húmedas.

5.4.1. Crecimiento diametral de la lesión en la zona infectada

La Tabla 10 muestra el crecimiento diametral de la lesión ocasionada por oidio y su desarrollo con los tratamientos evaluados, en un período de 15.

Tabla 10

Crecimiento diametral de la lesión en hojas infectadas por oidio

Tratamiento	Dosis de <i>Trichoderma spp</i> (UFC/ml)	Crecimiento de la lesión (cm)
T1	1x10 ³	3,66
T2	1x10 ⁵	2,63
T3	Prelude (1000 ppm)	6,2

T4	Sin control	7,5
----	-------------	-----

Para la variable crecimiento diametral de la lesión en la zona infectada, se analiza que el tratamiento T2 (1×10^5 ufc/ml de *Trichoderma spp*), presentó un mayor control en el desarrollo de la enfermedad, esto debido a que el crecimiento de la infección al término de 15 días fue de 2,63 cm; mientras que en el tratamiento T4 (sin ningún control), el crecimiento fue de 7,5 cm, alcanzando un gran desarrollo de la lesión.

Tabla 11

Análisis de varianza para el crecimiento de la lesión

F. V	S.C	G. L	C.M	F	P-valor
Tratamientos	45,21	3	15,07	41,10	<0,001
Error	2,93	8	0,37		
Total	48,14	11			
CV (%)	8				

Nota. F.V: Fuentes de variación, G.L: Grados de libertad, S.C: Suma de cuadrados, C.M: Cuadrados medios, Fo: valor de F calculado, F0.05: valor de F tabulado al 5% con un 95% de valor alfa de confiabilidad, *: Diferencias significativas.

Para la variable crecimiento diametral de la lesión, tras el análisis ANOVA, se determinó que existen diferencias significativas al 5% entre los tratamientos, por lo que se define que al menos un tratamiento fue distinto a los demás. Así mismo, el coeficiente de variación fue de 12,11%, por lo que existe una desviación estándar de los datos con respecto a la media y demostrando que la investigación es viable.

La prueba Tukey al 5% (Figura 8), para el crecimiento diametral de la lesión en la zona infectada indica que existen cuatro rangos entre los tratamientos evaluados. De tal forma, se determinó que el tratamiento T4 está en el rango “b”, el T3 en el “b”, el T2 en “a” y el T1 en rango “a”.

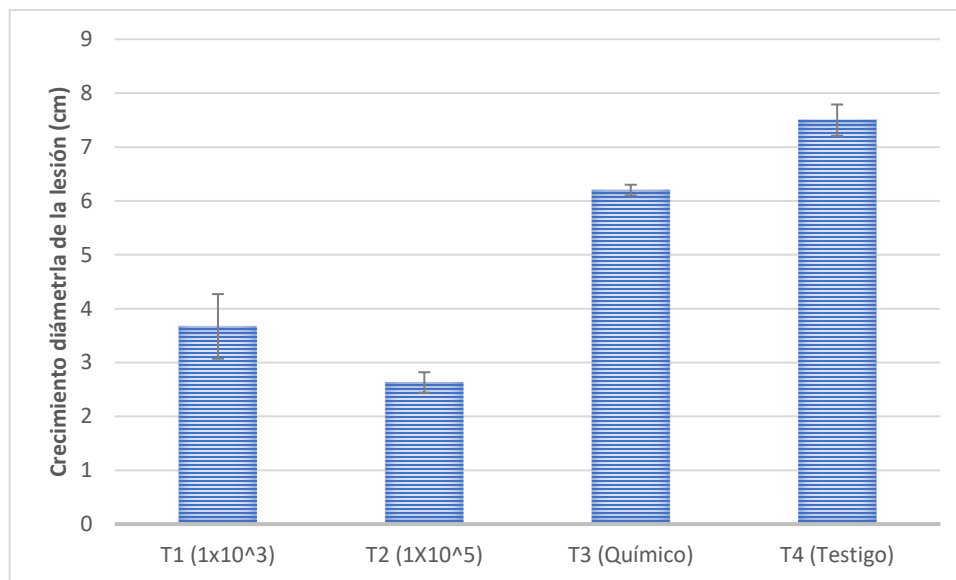
Tabla 12

Crecimiento diametral de la lesión del fitopatógeno (Prueba Tukey = 0,05)

Crecimiento diametral de la zona infectada			
TRATAMIENTOS	MEDIAS	N	E. E
T1 (1×10^3)	3,67	3	0,60 a
T2 (1×10^5)	2,63	3	0,19 a
T3 (Químico)	6,20	3	0,10 b
T4 (Testigo)	7,50	3	0,29 b

Figura 8

Rangos para el crecimiento diametral (cm) de la lesión en la zona infectada por tratamiento en la determinación de la mejor dosis en el control de oidio



Como muestra la Figura 8, el tratamiento T2 obtuvo el rango “a”, debido a que tuvo un crecimiento del diámetro de la infección de 2,63 cm siendo este el mejor control; sin embargo, el tratamiento T4 que no tiene ningún control, se encontró en el rango “b” ya que su crecimiento diametral fue mayor que el mencionado anteriormente 7,5 cm.

Los resultados obtenidos se relacionan con los logrados por Landero (2013), quien dio a conocer que cepas de *Trichoderma spp* lograron reducir la severidad en el diámetro de la lesión

causada por *Uncinula Necator Burr*, en frutos de papaya, alcanzando una eficiencia del 77,40%. Esto confirma la capacidad antagónica de *Trichoderma spp* frente al agente causante de la enfermedad. Además, se refuerza el control de *Trichoderma spp* sobre el fitopatógeno en estudio gracias a la investigación llevada a cabo por Gaviria-Hernández et al., (2013). En su estudio, señalaron que el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de los productos a base de *Trichoderma lignorum* y *T. harzianum* varió entre el 61% y el 65% para oídio, y entre el 77% y el 79% para *C. acutatum*, consolidando así los resultados de la presente investigación respecto a la influencia de *Trichoderma spp* como antagonista.

5.5. Determinación de la mejor dosis en campo

5.5.1. Análisis de varianza para la determinación de la mejor dosis en campo

Tabla 13

Análisis de varianza para la determinación de la mejor dosis en campo

F. V	S.C	G. L	C.M	F	P-valor
Tratamientos	67,67	3	22,56	11,28	0,0030
Error	16	8	2,00		
Total	83,67	11			
CV (%)	14,87				

Nota. F.V: Fuentes de variación, G.L: Grados de libertad, S.C: Suma de cuadrados, C.M: Cuadrados medios, Fo: valor de F calculado, F0.05: valor de F tabulado al 5% con un 95% de valor alfa de confiabilidad, *: Diferencias significativas.

Para la variable de la determinación de la mejor dosis en campo, tras el análisis ANOVA, se determinó que existen diferencias significativas al 5% entre los tratamientos con un p-valor <0,0030. Así mismo, el coeficiente de variación fue de 14,87%.

La prueba Tukey al 5% (Figura 9), para la determinación de la mejor dosis en campo, indica que existen cuatro rangos entre los tratamientos evaluados. De tal forma, se determinó que el tratamiento T4 está en el rango “b”, el T3 en el “b”, el T2 en “a” y el T1 en rango “a”.

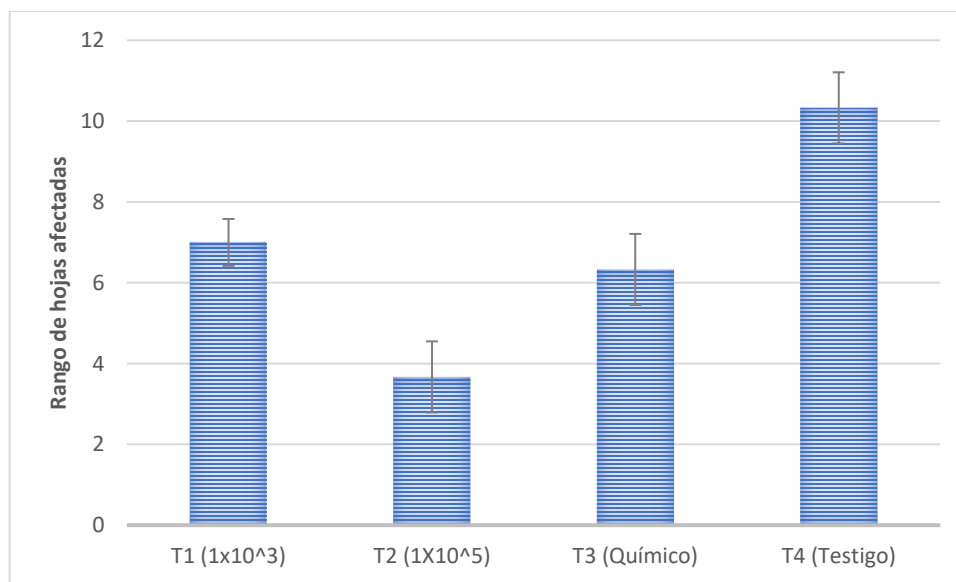
Tabla 14

Número de hojas afectadas por el fitopatógeno (Prueba Tukey = 0,05)

Crecimiento diametral de la zona infectada			
TRATAMIENTOS	MEDIAS	N	E. E
T1 (1×10^3)	7,00	3	0,58 ab
T2 (1×10^5)	3,67	3	0,88 a
T3 (Químico)	6,33	3	0,88 a
T4 (Testigo)	10,33	3	0,88 b

Figura 9

Rangos para el número de hojas infectadas por el fitopatógeno en la determinación de la mejor dosis en el control de oidio en campo



Los datos finales obtenidos en esta investigación al día 7 después de haber aplicado los tratamientos, obteniendo los siguientes resultados bajo una prueba Tukey al 5%, que básicamente esta prueba nos ayuda a comparar las medias entre tratamientos. Como se observa en la Figura 9, el tratamiento T2 se encontró en el rango “a”, debido a que presentó una media de 3,67, mientras que el tratamiento T1 tuvo el rango “a” con una media de 7 y el T4 tuvo un rango de “b” con una media de 10,33.

Tovar (2008) pudo evidenciar el alto grado de biocontrol ejercido por parte de las cepas de *Trichoderma spp* sobre el hongo *R. solani*. Esto se confirmó por la apariencia saludable de las plantas, ausencia de síntomas de la enfermedad y valores superiores de las variables de longitud de la parte aérea y pesos evaluados, con relación a los tratamientos de control de crecimiento y control de la infección hacia el día 23 del ensayo.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

- El análisis de la acción antimicrobiana de diferentes dosis de *Trichoderma spp.* con la prueba de cultivos duales permitió determinar que el tratamiento T2 (1×10^5 UFC/ml) presentó un crecimiento micelial de oidio de 3,16 cm, siendo este el mejor control, debido a que con el tratamiento T4 (testigo) el patógeno alcanzó un crecimiento de 6,16 cm.
- En la determinación de la mejor dosis de *Trichoderma spp.* en hojas inoculadas con síntomas de oidio en cámaras húmedas, se evidenció que en el tratamiento T2 (1×10^5 UFC/ml) el crecimiento diametral de la lesión fue de 2,63 cm, mientras que en hojas sin ningún control la lesión se desarrolló un 7,5cm. Logrando una inhibición considerable frente al desarrollo de la enfermedad.
- La aplicación en campo como estudio complementario a esta investigación, mostraron resultados positivos con la aplicación de *Trichoderma spp.*, obteniendo mejores resultados con la dosis de 1×10^5 teniendo una media de 3,67 de inhibición de la enfermedad.
- Según los análisis realizados molecularmente el *Uncinula necator* es igual a la cepa encontrada de *Erysiphe necator* esto lo confirma Burrell en sus estudios realizados sobre este hongo patógeno.

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

- Se recomienda aplicar la mejor dosis a campo abierto en diferentes cultivos afectados por oídio, con la finalidad de obtener una alternativa biológica de control del hongo y por ende evitar el uso excesivo de químicos que es perjudicial para la salud y el medio ambiente.
- Realizar ensayos con los aislamientos de *Trichoderma spp* nativos frente a otras especies de hongos fitopatógenos que causan enfermedades en los diferentes cultivos.
- Evaluar varias cepas de *Trichoderma spp* aisladas de viñedos para seleccionar aquellas con mayor capacidad antagónica contra *Uncinula necátor*.
- Realizar ensayos con dosis de *Trichoderma spp* más altas frente a hongos patógenos.
- Los hallazgos respaldan la viabilidad de incorporar *Trichoderma spp*, en programas de manejo integrado de plagas en la producción de uva, especialmente en sistemas de agricultura ecológica donde se busca minimizar el uso de pesticidas químicos.

CAPÍTULO VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMA. (22 de 08 de 2022). *Manejo Integrado de Oidium (Erysiphe necator) en cultivo de Vid.* [Mensaje en un blog]. Recuperado de: <https://www.adama.com/peru/es/blog/manejo-integrado-de-oidium-erysiphe-necator-en-cultivo-de-vid>
- Alburqueque Andrade Diana & Gusqui Mata, Roberto. (2018). Eficacia de fungicidas químicos para el control in vitro de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas. *Arnaldoa*, 25(2), 489-498. <https://dx.doi.org/http://doi.org/10.22497/arnaldoa.252.25209>
- Andrade Hoyos P., Luna Cruz A., Osorio Hernández E., Molina Gayosso E., Landero Valenzuela N., Barrales Cureño H. (2019). Antagonismo de Trichoderma spp. vs hongos asociados a la marchitez de Chile. *Revista Mexicana de ciencias agrícolas*. 10(6), 1259-1272. Epub 02 de octubre de 2020. Recuperado de: <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1326>
- Bravo Ávila D., Gutiérrez Gamboa G., Moreno Simunovic Y. (2021). Caracterización vitícola de la variedad Carignan (Vitis vinífera L.) ubicada en la zona de secano del Valle del Maule, Chile. *RIVAR* (Santiago), 8(22), 18-35. Recuperado de: <https://dx.doi.org/10.35588/rivar.v8i22.4769>
- BBC News Mundo. (14 de Agosto de 2019). *Qué son los flavonoides, por qué son buenos y en qué alimentos los puedes encontrar.* Obtenido de: <https://www.bbc.com/mundo/noticias-49347782>
- Burrill. (1892). *Uncinula necator (Schwein.)*. Obtenido de *Uncinula necator (Schwein.)*: <https://www.gbif.org/es/species/181180958>
- Carranza Concha, J. (2010). Influencia del procesado en el valor nutricional de la uva blanca. [Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia]. Recuperado de: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/6960/tesisUPV3198.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Chiriboga, H., Gómez G., y Garcés K. (2015). Trochodrma spp. para el control biológico de enfermedades . *Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura*. 1-28. Recuperado de:

<https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2647/BVE17038725e.pdf;jsessionid=A422BD8E0B845A4B0205B6BF90170C03?sequence=1>

González Fuentes J., Lozano Cavazos C., Preciado Rangel P., Troyo Diéguez E., Rojas Duarte A., Rodríguez Ortiz J., (2021). Fertilización orgánica contra convencional en el rendimiento, atributos morfológicos y calidad de fruto de tomate uva en un sistema de subirrigación no recirculante. *Terra Latinoamericana*, 39, e897. Epub 02 de julio de 2021. <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.897>

Fajardo Navarrete, P.C. (2008). *Evaluación del crecimiento “in vitro” de trichoderma spp. en dos medios de cultivo y su antagonismo frente a los hongos fitopatógenos fusarium spp., sclerotinia spp., y rhizopus spp.* [Tesis de grado, Eescuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López” “Espam “MFL”]. Repositorio ESPAM.

Freeire Brito, C. X. (2002). *Propuesta estratégica para el cultivo de uva en la cuenca baja del río Guayas* [Tesis de grado]. <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/3633/1/D-31495.pdf>

Garnetti, C.A. (2022). *Ensayos de supervivencia de Trichoderma spp. en semillas de trigo peleteadas.* [Tesis de grado, Universidad Nacional de la Plata]. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/146608>

Junes, G. (2019). *Evaluación de la capacidad antagónica in vitro de cepas de Trichoderma aisaldas de suelos agrícolas frente a Erysiphe necator “oidio”.* ICA: Facultad de Ciencias Biológicas.

Lara, N. (2020). *Evaluación del grado de control mediante la aplicación de Trichoderma spp.* [Tesis de grado, Universidad Autónoma de Chile]. <https://symborg.com/es/actualidad/4-usos-del-hongo-trichoderma-en-agricultura/>

Latorre Leal M., (2016). *Polifenoles de la uva.* [Tesis de grado, Universidad de Complutense Madrid, Madrid, España] Recuperado de: <https://rednatura.com/inicio/material/SemillaUva.pdf>

Landero, N. (2013). *Extractos vegetales y Trichoderma spp. en el control de Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz y Sacc. en frutos de papaya maradol (Carica papaya L.) en postcosecha* [Tesis de Postgrado, Colegio de Postgraduados]. Repositorio Institucional – Colegio de Postgraduados.

- Loor Reyes J., Pino Peralta S. (2022). La producción agrícola no tradicional de uva y su incidencia en el desarrollo rural en la provincia Santa Elena, periodo 2010-2020. *Revista de la facultad de ciencias económicas de la universidad de Guayaquil*. Volumen (3), 1-39. Recuperado de: <https://revistas.ug.edu.ec/index.php/fce/article/view/1618/2373>
- Oliva Oller, P.R. (2020). Periodos críticos de las principales enfermedades de la vid en dos zonas del valle central de Tarija, Bolivia. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 7(2), 58-65. Recuperado en 18 de enero de 2024, de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2409-16182020000200008&lng=es&tlng=es.
- Pineda, J.A. (7 de Marzo de 2019). *Industria de la uva de mesa de Ecuador busca aumentar sus exportaciones*. Obtenido de Industria de la uva de mesa de Ecuador busca aumentar sus exportaciones: <https://www.portalfruticola.com/noticias/2019/03/07/industria-de-la-uva-de-mesa-de-ecuador-busca-aumentar-sus-exportaciones/>
- Puelles Tamsec J., Sepúlveda Ramírez P. (2012). Oidio de la vid. *Revista INIA*. Epub 10 de noviembre de 2012. Recuperado de: <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/40688/NR38777.pdf>
- Romainville Izaguirre., M. (21 de 03 de 2022). *Uva de mesa: crece la necesidad de usar biofungicidas en el control del oídio*. Obtenido de: <https://redagricola.com/uva-de-mesa-crece-la-necesidad-de-usar-biofungicidas-en-el-control-del->
- Rondón, O., Sanabria, N. (2016). Respuesta in vitro a la acción de fungicidas para el control de oídio, *Uncinula Necator*, en frutos de mango. *Agronomía Trop*, 56(2), 219-235. Obtenido de: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002192X2006000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Serrano Carreón, L. Galindo Fentanés, E. (2017). Control biológico de organismos fitopatógenos: un reto multidisciplinario. *Revista de la academia Mexicana de ciencia*, Volumen (58), 23-34. <https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/index.php/ediciones-antteriores/36-vol-58-num-1-enero-marzo-2007/comunicaciones-libres34/81-control-biologico-de-organismos-fitopatogenos-un-reto-multidisciplinario#:~:text=El%20control%20biol%C3%B3gico%20es%20el,las%20plantas%20o%20sus%20productos.>

Sotomayor Salazar, J., P. (2020). *Vid (Vitis vinifera L.)*. Frutales: especies con potencial en el secano interior. <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/7031/NR32269.pdf?sequence=9&isAllowed=y>

Terralia . (2023). *AMPELOMICES QUISQUALIS*. Obtenido de AMPELOMICES QUISQUALIS: https://www.terralia.com/vademecum_de_productos_fitosanitarios_y_nutricionales/view_composition?composition_id=2503

Tovar Castaño, J.C. (2008). Evaluación de la capacidad antagonista “in vivo” frente a aislamientos de *Trichoderma spp* frente al hongo fitopatógeno *Rhizotocnia solani* [Tesis de grado, Pontificia Universidad Javeriana Facultad de ciencias carrera de microbiología y veterinaria]. Repositorio Institucional – Pontificia Universidad Javeriana.

Valero Borja, I. (2017). *Análisis de las buenas prácticas agrícolas en el cultivo de uva*. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos, Ecuador]. Obtenido de: <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/3314/E-UTB-FACIAGING%20AGRON-000085.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Yáñez Arias, G. E. (2011). *Proyecto de factibilidad para la creación de una microempresa productora y comercializadora de uva para la ciudad de Quito ubicada en el sector de Tumbaco*. [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana sede Quito, Quito, Ecuador]. Recuperado de: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/4854/1/UPS-QT02542.pdf>

Yara. (2023). *Principios agronómicos en uva de mesa*. Nutrición vegetal uva de mesa. Obtenido de Principios agronómicos en uva de mesa. Recuperado de 2023: <https://www.yara.com.ec/nutricion-vegetal/uva-de-mesa/principios-agronomicos-en-uva-de-mesa/>

Zaragoza, J. (09 de 03 de 2023). *Uvas: Propiedades, beneficios y valor nutricional de las uvas*. [Mensaje en un blog]. Obtenido de: Uvas propiedades, beneficios y valor nutricional de las uvas: <https://farmazara.es/blog/dietetica/alimentos/uvas/>

ANEXOS

Fase campo

ANEXO 1



Recolección de muestra de suelo para el aislamiento de *Trichoderma Spp*

ANEXO 2



Recolección de muestras de hojas de vid con síntomas de oidio

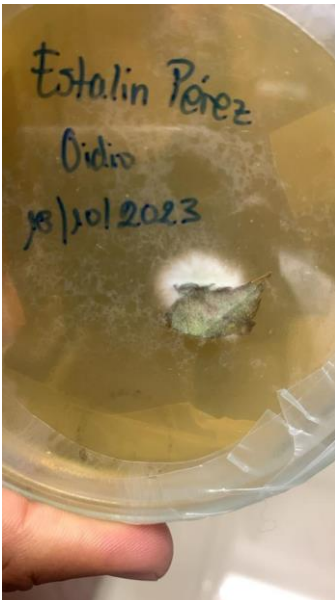
ANEXO 3



Aplicación de las dosis, en plantas bajo condiciones controladas

Fase de laboratorio

ANEXO 4



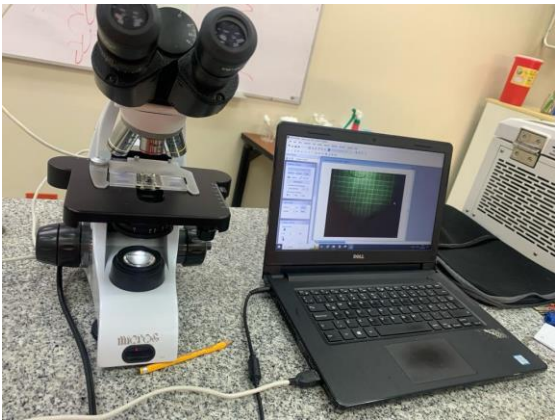
Crecimiento micelial del hongo de oídio

ANEXO 5



Crecimiento de *Trichoderma spp* en caldo nutritivo

ANEXO 6



Conteo de esporas por medio de la cámara de Neubauer

ANEXO 7



Siembra de tratamiento para la confrontación

ANEXO 8



Medición con un calibrador de la confrontación de *Trichoderma spp* y oidio

ANEXO 9



Elaboración de cámaras húmedas

ANEXO 10



Sintomatología de oidio sin ningún tratamiento de cámara húmeda

ANEXO 11



Crecimiento de la lesión, aplicada el tratamiento de *Trichoderma spp*

ANEXO 12



Vista microscópica de oidio

