



Evaluación de cepas de *Trichoderma* para el control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en el cultivo del cáñamo (*Cannabis sativa* L.) variedad Cherry Oregon Hemp

Vargas Quito, Jeanneth Patricia

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Ing. Landázuri Abarca, Pablo Aníbal, Mgtr.

02 de agosto del 2023



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Certificación:

Certifico que el trabajo de titulación: **Evaluación de cepas de *Trichoderma* para el control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en el cultivo del cáñamo (*Cannabis sativa* L.) variedad Cherry Oregon Hemp**, fue realizado por la señorita: **Vargas Quito, Jeanneth Patricia**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 02 de agosto del 2023



Ing. Landázuri Abarca, Pablo Aníbal, Mgtr.

C. C. 170826234-8

Resultados de la herramienta para la verificación y/o análisis de similitud de contenidos



Vargas_J_final_2 -plagio.docx

Scan details

Scan time:
August 2th, 2023 at 16:37 UTC

Total Pages:
38

Total Words:
9420

Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
● Identical	2.9%	272
● Minor Changes	0.6%	61
● Paraphrased	1.6%	150
○ Omitted Words	0%	0

AI Content Detection



Text coverage
● AI text
○ Human text



Ing. Landázuri Abarca, Pablo Anibal, Mgtr.

C. C. 170826234-8



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Vargas Quito, Jeanneth Patricia**, con cédula de ciudadanía No 172135044-3, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo titulación: **Evaluación de cepas de *Trichoderma* para el control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en el cultivo del cáñamo (*Cannabis sativa* L.) variedad **Cherry Oregon Hemp****, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 02 de agosto del 2023

.....

Vargas Quito, Jeanneth Patricia

C.C.: 172135044-3



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura
Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Autorización de Publicación

Yo, **Vargas Quito, Jeanneth Patricia**, con cédula de ciudadanía No. 172135044-3 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **Evaluación de cepas de *Trichoderma* para el control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en el cultivo del cáñamo (*Cannabis sativa* L.) variedad Cherry Oregon Hemp** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios es de mi responsabilidad.

Sangolquí, 02 de agosto del 2023,

.....
Vargas Quito, Jeanneth Patricia

C.C.: 172135044-3

Dedicatoria

A Dios por ser mi guía, por acompañarme a lo largo de mi carrera y por darme la sabiduría, fortaleza para alcanzar mis objetivos.

Mis padres queridos Germán y Rosa por ser mi fuente de inspiración, constancia y perseverancia, por inculcarme valores, por estar presente todo este camino darme ese aliento de continuar, nunca dejarme desvanecer, por ser el soporte y estar siempre junto a mí en todo momento. A mi mami por demostrarme que el amor es la fuerza más grande que existe y a mi papi por mostrarme que el esfuerzo y sacrificio vale la pena.

A mí querida hermana Alexandra por todo el apoyo incondicional, por ser la persona en que más confié, por estar presente cuando me sentía desorientada, ayudarme a seguir adelante y por darme sus palabras de fe y esperanza.

A toda mi familia por todas las bendiciones y por sus consejos.

Jeanneth Patricia Vargas Quito

Agradecimiento

Le agradezco a Dios por haberme guiado a lo largo de mi carrera.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE y a la carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA un profundo agradecimiento por haberme abierto las puertas y permitirme formarme en ella y adquirir conocimiento para desarrollarme como profesional.

A la Estación Experimental Santa Catalina INIAP, y al invernadero automatizado INIAP Sangolquí por permitirme realizar el proyecto de investigación.

Al Ingeniero Pablo Landázuri, por ser mi director de tesis, bríndame sus conocimientos y guiarme en la realización de la investigación.

A la Ingeniera Cristina Tello, por ser mi codirectora de tesis, por darme las herramientas necesarias durante la realización de este trabajo de investigación, por brindarme su amistad y apoyo incondicional, darme consejos de vida tanto personal como profesional.

Al Ingeniero Jorge Merino, quien me proporcionó las plantas para el desarrollo del proyecto de investigación.

Al Ingeniero Pablo Jaramillo, por su apoyo para el desarrollo del proyecto de investigación.

Al Ingeniero Juan Tigrero por guiarme, apoyarme en todo lo largo de la carrera.

Finalmente, a todas mis amigas por estar presente en los momentos más difíciles y por reír junto a mí siempre.

Jeanneth Patricia Vargas Quito

Índice de contenidos

Carátula	1
Certificación:	2
Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	3
Responsabilidad de Autoría	4
Autorización de Publicación	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimiento	7
Índice de contenidos	8
Índice de tablas.....	12
Índice de figuras.....	13
Resumen	15
Abstract.....	16
CAPÍTULO 1	17
INTRODUCCIÓN	17
Antecedentes	17
Justificación e Importancia	18
Objetivos	20
Objetivo general.....	20
Objetivos específicos	20
Hipótesis	20
CAPÍTULO II	21
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA Y REFERENCIAL	21
Marco Referencial	21
Cáñamo (<i>Cannabis sativa</i> L.)	21

Clasificación taxonómica.....	21
Requerimientos del cultivo	21
Desarrollo del cultivo.....	22
Variedad Cherry Oregon Hemp.....	23
<i>Botrytis cinerea</i>	23
Clasificación taxonómica de <i>Botrytis cinerea</i>	24
Características morfológicas.....	24
Ciclo biológico y aspectos epidemiológicos.....	25
Síntomas de la enfermedad	26
Manejo convencional	27
Control biológico.....	28
<i>Trichoderma</i>	29
Generalidades	29
Clasificación taxonómica de <i>Trichoderma</i>	29
Características morfológicas.....	29
Mecanismos de acción del <i>Trichoderma</i> spp.	30
CAPÍTULO III	32
MATERIALES Y MÉTODOS	32
Ubicación de la investigación	32
Metodología	32
Primera etapa: Prueba de antagonismo <i>in vitro</i> , entre seis cepas de <i>Trichoderma</i> spp. frente al fitopatógeno <i>Botrytis cinerea</i>	32
Manejo del experimento	33
Obtención de aislamiento de <i>B. cinerea</i>	33
Multiplicación de <i>Trichoderma</i> spp.....	34
Factores en estudio	35

Unidad Experimental.....	35
Tratamientos para comparar.....	35
Análisis estadístico	35
Variable a evaluar	36
Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial	36
Segunda etapa: Evaluación bajo invernadero, el potencial de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp. para el manejo de <i>B. cinerea</i> en el cultivo de cañamo.....	37
Manejo del experimento	38
Trasplante de las plántulas de cañamo.....	38
Multiplicación masiva de cepas de <i>Trichoderma</i> en sustrato de arroz.....	38
Preparación del inóculo de <i>Botrytis cinerea</i> en las plantas de cañamo	39
Aplicación de los tratamientos.....	40
Factores de estudio	40
Distribución de los tratamientos	40
Análisis estadístico	41
Variables a evaluar.....	42
Altura de la planta	42
Diámetro del tallo de las plantas	42
Porcentaje de materia seca radicular	43
Peso de inflorescencias (cogollos).....	43
Incidencia	44
Severidad	44
CAPÍTULO IV	46
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	46
Resultados	46

Primera etapa: Prueba de antagonismo <i>in vitro</i> , entre seis cepas de <i>Trichoderma</i> spp. frente al fitopatógeno <i>Botrytis cinerea</i>	46
Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial	46
Segunda Etapa: Evaluación bajo invernadero, el potencial de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp. para el manejo de <i>B. cinerea</i> en el cultivo de cáñamo.....	47
Variables agronómicas	47
Altura de las plantas	47
Diámetro de las plantas	47
Biomasa radicular	47
Rendimiento.....	48
Incidencia y severidad	49
Área bajo la curva del progreso de la enfermedad.....	51
Discusión.....	52
CAPÍTULO V	57
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	57
Conclusiones.....	57
Recomendaciones.....	58
Bibliografía	59

Índice de tablas

Tabla 1 <i>Tratamientos para comparar en la etapa de laboratorio.....</i>	35
Tabla 2 <i>Escala de antagonismos propuesta por Bell et al. (1982).....</i>	37
Tabla 3 <i>Distribución de los tratamientos en la etapa de campo en el cultivo de cáñamo para el manejo de B. cinerea.....</i>	41
Tabla 4 <i>Escala de severidad de Botrytis cinerea en el cultivo de Cannabis sativa L.</i>	45
Tabla 5 <i>Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de las cepas de Trichoderma spp., para el control in vitro de B. cinerea. EESC- Cutuglagua-Mejía 2022</i>	46
Tabla 6 <i>Variables agronómicas con el uso cepas de Trichoderma spp., para el cultivo de cáñamo</i>	48
Tabla 7 <i>Porcentaje de incidencia y severidad de B. cinerea evaluada entre tratamientos</i>	49

Índice de figuras

Figura 1	<i>Conidios sobre conidióforos libres de Botrytis cinerea observadas en microscopio....</i>	<i>25</i>
Figura 2	<i>Representación del ciclo de la vida de Botrytis cinerea</i>	<i>26</i>
Figura 3	<i>Síntomas de Botrytis cinerea en la planta de Cannabis Sativa L</i>	<i>27</i>
Figura 4	<i>Características morfológicas representativas de Trichoderma spp.....</i>	<i>30</i>
Figura 5	<i>Características del aislamiento de Botrytis cinerea obtenidas de cogollos de cáñamo que presentaron la enfermedad. EESC-Cutuglagua-Mejía 2022</i>	<i>34</i>
Figura 6	<i>Multiplicación de cepas de Trichoderma spp. en medio de cultivo PDA en la EESC-Cutuglagua-Mejía 2022.</i>	<i>34</i>
Figura 7	<i>Esquema general para los enfrentamientos duales entre las cepas antagonistas y el hongo fitopatógeno.....</i>	<i>36</i>
Figura 8	<i>Trasplante de las plántulas de cáñamo en el invernadero automatizado INIAP Hacienda el Prado, Sangolquí 2022</i>	<i>38</i>
Figura 9	<i>Multiplicación masiva de las cepas de Trichoderma 1, 3, 6 en sustrato de arroz. EESC 2022</i>	<i>39</i>
Figura 10	<i>Aplicación de tratamientos en plantas de cáñamo en la evaluación de cepas de Trichoderma spp. para el manejo Botrytis cinerea bajo invernadero. Invernadero automatizado INIAP Hacienda el Prado, Sangolquí, 2022.....</i>	<i>40</i>
Figura 11	<i>Croquis experimental</i>	<i>41</i>
Figura 12	<i>Evaluación de altura de planta de cáñamo en la evaluación de cepas de Trichoderma spp. para el manejo de Botrytis cinerea bajo invernadero. Hacienda el Prado, Sangolquí, 2022.....</i>	<i>42</i>
Figura 13	<i>Evaluación de peso de la raíz en el laboratorio de control Biológico EESC.....</i>	<i>43</i>
Figura 14	<i>Peso de cogollos en el laboratorio de control Biológico EESC</i>	<i>43</i>

Figura 15 <i>Esquema visual de la segmentación del cogollo para la identificación del grado de severidad donde cada cuadrante representa el 5 % del área del cogollo, suponiendo que la suma de las dos caras del cogollo forma el 100%</i>	44
Figura 16 <i>Prueba de antagonismo de Trichoderma spp., frente a B. cinerea, EESC 2022</i>	47
Figura 17 <i>Plantas de cáñamo después de ser tratadas con diferentes cepas de Trichoderma spp. bajo invernadero. Invernadero automatizado INIAP Hacienda el Prado, Sangolquí, 2022</i>	49
Figura 18 <i>Porcentaje de incidencia de B. cinerea por efecto del uso de cepas de Trichoderma evaluada entre tratamientos por semana</i>	50
Figura 19 <i>Porcentaje de severidad de B. cinerea por efecto del uso de cepas de Trichoderma evaluada entre tratamientos por semana.....</i>	50
Figura 20 <i>Incidencia de la enfermedad de B. cinerea comparado con los tratamientos de las cepas de Trichoderma en las plantas de cáñamo.....</i>	51
Figura 21 <i>Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) por efecto de las cepas Trichoderma en los tratamientos</i>	52

Resumen

El moho gris causado por el fitopatógeno *Botrytis cinerea*, es las enfermedades más destructivas del cultivo de cáñamo (*Cannabis Sativa* L.), la cual su control está basado en la aplicación de agroquímicos. La presente investigación, se realizó en el Departamento de Protección Vegetal de la EESC-INIAP. El objetivo es evaluar mediante pruebas de antagonismo *in vitro*, empleando seis cepas de *Trichoderma* spp. frente al fitopatógeno *Botrytis cinérea*, se realizaron bajo un diseño completamente al azar, se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR). Todas las cepas de *Trichoderma* spp., mostraron un rápido crecimiento, sin embargo, se observó que la cepa 1,3 mostraron mayor diferencia significativa seguido por la cepa 6 *Trichoderma virens*. Una vez concluida la fase de laboratorio, se seleccionaron las cepas más eficaces como controladores y un testigo, fueron aplicados en las plantas de cáñamo para evaluar bajo invernadero el potencial de las tres cepas de *Trichoderma* spp. Al evaluar las variables agronómicas, el rendimiento no se presentó diferencias significativas entre tratamiento aplicados con *Trichoderma*, sin embargo, el tratamiento 1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp), tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*) presentaron un mayor promedio del peso de los cogollos, además que el tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*), presentó ser más efectivo para el crecimiento de las plantas y en la biomasa de las raíces. Referente a la incidencia y severidad se determinó que no se encontraron diferencias significativas para los tratamientos aplicados con *Trichoderma* spp. sin embargo, los tratamientos 1 y 3 presentaron promedios mejores para control.

Palabras clave: CONTROL BIOLÓGICO, CANNABIS SATIVA, TRICHODERMA SPP., BOTRYTIS CINEREA.

Abstract

The gray mold caused by the phytopathogen *Botrytis cinerea*, is the most destructive disease of the hemp crop (*Cannabis Sativa* L.), whose control is based on the application of agrochemicals. The present investigation was carried out in the Plant Protection Department of the EESC-INIAP. The objective is to evaluate through in vitro antagonism tests, using six strains of *Trichoderma* spp. against the phytopathogen *Botrytis cinerea*, they were carried out under a completely randomized design, the percentage of radial growth inhibition (PICR) was evaluated. All *Trichoderma* spp. strains showed rapid growth, however, it was observed that strain 1.3 showed the greatest significant difference followed by strain 6 *Trichoderma virens*. Once the laboratory phase was completed, the most effective strains were selected as controllers and a control were applied to the hemp plants to evaluate the potential of the three *Trichoderma* spp. strains under greenhouse conditions. When evaluating the agronomic variables, the yield did not present significant differences between treatments applied with *Trichoderma*, however, treatment 1 (Strain 1 *Trichoderma* spp), treatment 2 (Strain 6 *Trichoderma virens*) presented a higher average weight of the buds, in addition than treatment 2 (Strain 6 *Trichoderma virens*), presented to be more effective for plant growth and root biomass. Regarding the incidence and severity, it was determined that no significant differences were found for the treatments applied with *Trichoderma* spp. however, treatments 1 and 3 presented better averages for control.

Keywords: BIOLOGICAL CONTROL, *CANNABIS SATIVA*, *TRICHODERMA SPP.*, *BOTRYTIS CINEREA*.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

La producción de cáñamo (*Cannabis sativa* L.) a nivel mundial ha tenido un gran avance tras la reciente legalización debido a que presenta compuestos vegetales de alto valor convirtiéndose en unos de los más importantes. Generando interés no solo en el sector académico, hacedores de política y representantes de la sociedad civil sino también en inversionistas y empresarios (Ángeles *et al.* 2014). En el Ecuador, la actividad de la producción de cáñamo se presenta como una potencial alternativa para la economía del país (Fuentes *et al.* 2020).

El cultivo de *Cannabis sativa* L. en el Ecuador, cuenta con el apoyo de las vigentes reformas de Código Orgánico Integral Penal en cuanto al uso autorizado del cáñamo con fines de producción, industrialización y comercialización; las cuales han provocado la expansión del sector; además que el cultivo cuenta con condiciones ambientales óptimas para su establecimiento, no obstante estas mismas condiciones son propicias para el desarrollo de fitopatógenos que son una limitante para la producción de cáñamo (Coba, 2020).

Una de las enfermedades más importantes en el cultivo de cáñamo es causado por el hongo *Botrytis cinerea*, que ha ocasionado graves pérdidas en más de 200 especies de cultivos en el mundo (Williamson *et al.* 2007); este hongo tiene la capacidad de afectar sus flores o cogollos y los tallos. Las infecciones en las flores suelen ocurrir debido a que están cubiertas por tricomas que contienen a los metabolitos secundarios llamados cannabinoides (Sánchez y Rincón, 2021) ocasionado graves pérdidas.

Por esta razón en la actualidad se buscan nuevas alternativas con sustancias no contaminantes y de rápida biodegradación, las cuales tengan la capacidad de controlar al fitopatógeno de interés (Camacho, 2021). Dentro de este género se encuentra *Trichoderma* spp., que ha demostrado ser eficiente por sus diversas capacidades metabólicas, destacando

su capacidad para producir antibióticos, competencia por nutrientes y espacio, parasitismo, promoción de crecimiento vegetal y respuestas de defensa de las plantas (Brotman *et al.* 2010).

En contexto es la razón por la cual se propone evaluar la actividad de las cepas del género *Trichoderma* spp., con el propósito de brindar una nueva estrategia que logre controlar eficazmente a *Botrytis cinerea*, permitiendo la reducción del uso y aplicación de agroquímicos, ya que estos controladores biológicos al ser biodegradables y no tóxicos constituyen una alternativa sostenible para el manejo de los cultivos, minimizando los daños al medio ambiente y permiten la reducción de recursos económicos para el agricultor, con producciones de mejor calidad.

Justificación e Importancia

El Ecuador presenta condiciones climáticas y una ubicación favorable para realizar instalaciones de cultivos de cáñamo, permitiendo ser factible y tener un mayor rendimiento. Actualmente en el país ya existen empresas formales y legales que han optado por la siembra de esta planta, siendo localizadas principalmente en Tabacundo, Pichincha. Por primera vez en febrero del 2021, se emitieron siete licencias para trabajar en esta industria que fueron otorgadas por el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), permitiendo el desarrollo del cultivo (Labomera, 2022). Según el grupo Cannamerica y las cifras del Ministerio de Producción, Comercio Exterior y Pesca, esta industria va en auge, donde hasta octubre del 2022 existían 150 productores las cuales generan nuevas fuentes de empleo y equilibran la economía (El Universo, 2023).

La planta de cannabis es un cultivo rústico que a pesar de tener pocas plagas y enfermedades, estas pueden afectar de manera significativa la productividad, entre las enfermedades más importantes que perjudican los racimos florales y a los tallos de la planta está *Botrytis cinerea* (Punja, 2018); este patógeno provoca amenazas en todas las etapas de producción, poscosecha y su almacenamiento, causando pérdidas económicas significativas, al mismo tiempo al aplicar productos químicos se corre el riesgo de que se puedan contaminar

mínimamente el producto final y por tanto no cumplir con requisitos de calidad, para su comercialización (Punja *et al.* 2019). Este patógeno es más destructivo en tejidos maduros o senescentes sin embargo este hongo puede ingresar en tejidos jóvenes en etapas tempranas del desarrollo del cultivo, permanecer inactivo durante algún tiempo, y causar la pudrición cuando las condiciones ambientales sean propicias (Williamson *et al.* 2007).

En la actualidad, existen productores que aplican fungicidas están dirigidos a otros cultivos agrícolas con ingredientes activos que contienen metalaxil, estrobilurinas, fludioxonil, fluopiram y pirimetanil para brindar un control efectivo para moho gris (Punja, 2021). Sin embargo, el producto destinado para fines médicos y alimenticios deben cumplir con prácticas agroecológicas para cumplir con los requisitos que exige el mercado internacional, según la legislación ecuatoriana de la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARSCA) los productos terminados de uso y consumos humano que contengan cannabis no psicoactivo o cáñamo no podrán contener residuos de plaguicidas Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARSCA, 2021). Para lo cual se debe realizar la prevención del desarrollo de la enfermedad se requiere aplicar manejo de buenas prácticas agrícolas, las cuales permiten prevenir grandes daños por el patógeno, sin embargo, el uso del control biológico permite inhibir de manera significativa el crecimiento del patógeno y así de ofrecer una alternativa a la utilización de fungicidas sintéticos (Punja, 2021).

Con la aplicación del control biológico, se fomenta el uso de medidas alternativas sostenibles, eficaces y de baja toxicidad, asegurando al productor obtener materia prima libre de agroquímicos y conservando el medio ambiente.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar cepas de *Trichoderma* para el control moho gris (*Botrytis cinerea*) en el cultivo del cáñamo (*Cannabis sativa* L.) variedad Cherry Oregon Hemp.

Objetivos específicos

- Evaluar mediante pruebas de antagonismo *in vitro*, empleando seis cepas de *Trichoderma* spp. frente al fitopatógeno *Botrytis cinerea*.
- Evaluar bajo invernadero el potencial de las tres cepas de *Trichoderma* spp. seleccionadas para el manejo de *B. cinerea* en el cultivo de cáñamo, variedad Cherry Oregon Hemp.

Hipótesis

- Ho₁: Ninguna cepa de *Trichoderma* spp. presenta antagonismo estadísticamente significativo sobre *Botrytis cinerea*, bajo condiciones de laboratorio.
- H1₁: Al menos una cepa de *Trichoderma* spp. presenta antagonismo estadísticamente significativo sobre *Botrytis cinerea*, bajo condiciones de laboratorio.
- Ho₂: Ninguna cepa de *Trichoderma* spp. es eficaz para el manejo de *Botrytis cinerea* en condiciones de invernadero.
- H1₂: Al menos una cepa de *Trichoderma* spp. es eficaz para el manejo de *Botrytis cinerea* en condiciones de invernadero.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA Y REFERENCIAL

Marco Referencial

Cáñamo (*Cannabis sativa* L.)

Cannabis sativa L., es una planta anual herbácea originaria de Asia, ampliamente extendida por regiones templadas y subtropicales del mundo. Es una de las fuentes más antiguas de fibra textil, además posee propiedades medicinales y alimenticias. De acuerdo al conocimiento popular, se le han atribuido propiedades analgésicas, relajantes musculares, antidepresivas, hipnóticas, inmunosupresoras, antiinflamatorias, ansiolíticas, broncodilatadoras, entre otras, además esta planta es la más antiguas que producen efectos psicotrópicos (Ángeles *et al.* 2014).

La diferencia entre el cáñamo y la marihuana es la morfología y composición. El cáñamo produce tetrahidrocannabinol (TCH) inferior al 1%, además tiene otras sustancias no psicoactivas como cannabidiol (CBD), principal producto de comercialización para la medicina, cosméticos, alimentos e higiene doméstica (Coba, 2021).

En la actualidad se acepta que el género *Cannabis* esté formado únicamente por *Cannabis sativa* L. y de aquí se derivan tres subespecies el *Cannabis Sativa Sativa*, el *Cannabis Sativa ruderalis* y el *Cannabis Sativa Indica* (Colodron, 2019).

Clasificación taxonómica

Pertenece al reino Plantae, a una superdivisión espermatofita (plantas con semilla), división Magnoliophyta (plantas con flores), clase Magnoliopsida (Dicotiledóneas), orden Urticales, familia Cannabáceas, género *Cannabis*, especie *Cannabis sativa* Carlos Linneo 1753 (Thomas y ElSohly, 2016).

Requerimientos del cultivo

- El cáñamo requiere periodos exentos de heladas de cinco meses o más para producir

semillas y cuatro meses para la producción de fibra (Fassio *et al.* 2013).

- Temperatura: los rangos para un desarrollo óptimo del cultivo se encuentran entre 20 a 25°C durante el día y de 13 a 21°C durante la noche.
- Humedad relativa: debe estar entre un 60 a 70% dentro de este rango se favorece el desarrollo.
- Fotoperiodo: Requiere suficiente luz durante su primera y segunda etapa de crecimiento entre 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad (Ángeles *et al.* 2014), no obstante, en la tercera etapa que es la floración requiere menos horas de luz entre 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (Fassio *et al.* 2013).
- Suelo: tiene un mejor desarrollo en suelos de estructura franco-limosa, franco arcilloso o arcillo limosa, con un pH entre 5 y menor a 7,5 (Fassio *et al.* 2013).

Desarrollo del cultivo

El ciclo de vida de *C. sativa* tiene cuatro fases: germinación y emergencia, crecimiento vegetativo, floración y senescencia.

Germinación y emergencia: la temperatura óptima es de 24°C y sin presencia de luz, el proceso dura aproximadamente entre tres a siete días (Fassio *et al.* 2013), en el caso de que el cultivo sea a campo abierto es recomendable germinar en macetas o semilleros, y el trasplante debe realizarse cuando las plantas midan 20 cm de alto (Palma, 2020).

Crecimiento Vegetativo: Su crecimiento es lento al principio hasta que tienen sus 5 pares de hojas verdaderas, sin embargo, después el tallo crece rápidamente formando entre 7 a 12 pares de hojas en cual el primer par de hojas tiene un foliolo, el segundo tiene tres, el tercero cinco y así sucesivamente hasta alcanzar los once foliolos (Fassio *et al.* 2013). En esta etapa dependerá de la variedad y suele comprender entre 3 a 16 semanas, además cuando el cultivo se encuentra en el interior es recomendable exponer a la luz por 18 horas al día y

controlar la humedad (mayor a 40%) y una temperatura que oscile entre 20°C a 30°C (Venini, 2022).

Floración: Es la etapa más larga puede durar entre 8 a 11 semanas, en esta se debe tener precaución debido a que se encuentra en crecimiento, además en esta etapa las hojas cambian de opuestas a alternadas, al mismo tiempo permite diferenciar las plantas hembras y masculinas donde las plantas hembras poseen una elongación y tienen un cáliz tubular simétrico (Fassio *et al.* 2013), en caso de las plantas masculinas se presenta en forma de garra curva, otro punto es que la floración en los machos es antes que de las hembras aproximadamente dos semanas (Palma, 2020).

Senescencia: Cuando las plantas maduran se cortan en la base o se cortan las ramas principales por separado, también se realizan cortes de las hojas permitiendo un secado rápido que requiere de menos espacio y almacenamiento, teniendo en cuenta que los cogollos deben ser tratados con cuidado, evitando tocarlos debido a que estas pueden estallar sus glándulas de resina malogrando la buena conservación de esta (Palma, 2020).

Variedad Cherry Oregon Hemp

Es un cultivar que contiene un alto contenido de CBD (Cannabidiol), además que proporciona niveles bajos de THC (Tetrahidrocanabiol), asimismo es conocida por su tamaño compacto y poseer buen rendimiento de aceite de CBD (Rhizo Sciences, 2021).

Cherry Oregon es una variedad del cáñamo que puede medir alrededor de 1,21 a 1,60 metros de altura en interiores y en exteriores hasta 3 metros. Produce hasta 480 gramos por metro cuadrado en interiores y en exteriores 950 gramos por planta (Silver river seeds, 2023). Las plantas tienen buena resistencia a la intemperie y a las plagas, y crecen bien sin soportes (Rhizo Sciences, 2021).

Botrytis cinerea

Es un hongo macrófito que causa pérdidas severas a una gran variedad de cultivos. Conocido como el moho gris, o podredumbre gris la cual causa destrucción en tejidos maduros

o senescentes, se reproducen a través de conidios o esporas asexuales que se dispersan fácilmente a través del agua, viento o cualquier actividad física (Williamson *et al.* 2007).

Este patógeno puede ingresar a los tejidos en etapas tempranas del desarrollo del cultivo y permanece inactivo hasta que las condiciones ambientales permitan desarrollarse, no solo produce daños en cultivos a campo abierto o en invernadero, sino que además puede causar pérdidas en postcosecha (Williamson *et al.* 2007).

Este hongo ataca principalmente en los racimos florales y tallos. Debido a que en los racimos florales retienen humedad, lo que provoca un dañando al cultivo, ocasionado pérdidas en el caso de producir sustancias no psicoactivas o semillas y el segundo lugar en afecta a los tallos, causando daños en la producción en variedades para fibra (Fassio *et al.* 2013). Este patógeno al infectar los racimos florales destruyen directamente las yemas, causando pérdidas de hasta un 20% en su rendimiento (Punja, 2021).

Clasificación taxonómica de *Botrytis cinerea*

Este patógeno pertenece al reino Fungi, filo Ascomyceta, clase Leotiomycetes, orden Helotiales, familia: Sclerotiniaceae, género: *Botrytis* y a la especie: *Botrytis cinerea* Pers., 1801 (Vázquez, 2020).

Características morfológicas

Botrytis cinerea se caracteriza por poseer una gran cantidad de conidios. Los conidióforos se originan principalmente de la masa hifal aunque puede producirse de esclerocios (Romero y Granados, 2018).

Conidios: son la estructura principal para la dispersión, así como una de las estructuras que presentan resistencia sobre superficies vegetales, manteniendo su viabilidad y su capacidad infectiva durante el desarrollo del cultivo (Romero y Granados, 2018)

Clamidosporas: se forman a partir de la transformación del micelio y son liberados por la disgregación de las hifas, regularmente aparecen en cultivos envejecidos (Romero y Granados, 2018).

Esclerocios: son órganos pluricelulares que durante temperaturas bajas el hongo permanece en hibernación, cuyas dimensiones oscilan entre 1-5 mm de sección transversal y 1-5 mm de sección longitudinal (Romero y Granados, 2018).

Figura 1

Conidios sobre conidióforos libres de Botrytis cinerea observadas en microscopio



Nota. Recuperado de (Sautua, 2023).

Ciclo biológico y aspectos epidemiológicos

Las condiciones propicias para la enfermedad son temperaturas alrededor de los 18°C, con una humedad relativa superior al 90% (Koppert, 2022). El ciclo de infección puede ser dividido en seis etapas (Figura 2):

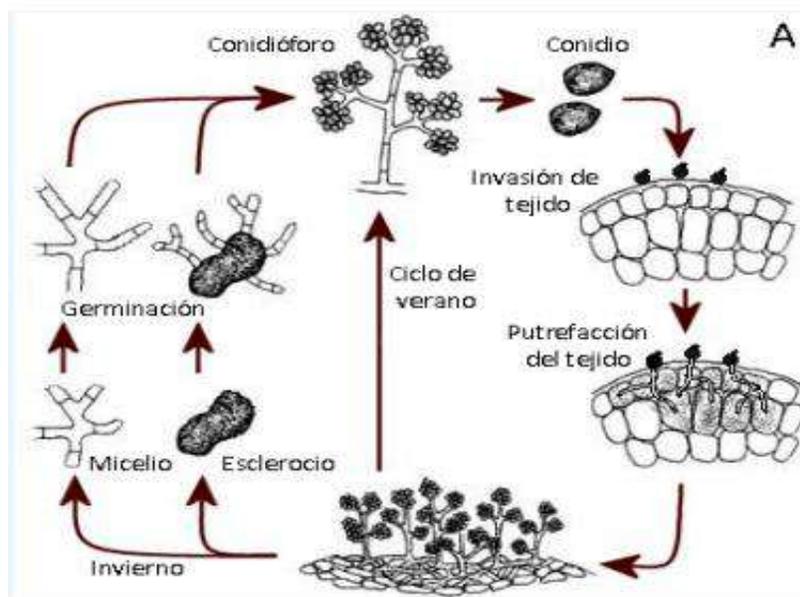
1. Se inicia con la adhesión de los conidios que se encuentran sobre la superficie del huésped.
2. La germinación si las condiciones son favorables
3. La penetración al tejido, esta puede ser a través de heridas o aberturas naturales, en la cual participan distintas enzimas.
4. La excreción de toxinas o la combinación de las mismas continuando con la muerte

de las células adyacentes dando lugar a una lesión primaria, sin embargo, en algunos casos aparece la fase de latencia en la cual la planta logra controlar al patógeno.

5. Diseminación en el tejido vegetal, originando la colonización.
6. Finalmente realizan la esporulación del hongo sobre el tejido necrosado, iniciando una nueva generación de conidios (Romero y Granados, 2018).

Figura 2

Representación del ciclo de la vida de *Botrytis cinerea*



Nota. Recuperado de (Lumbreras, 2017).

Síntomas de la enfermedad

Botrytis cinerea se puede presentar desde los semilleros ocasionado necrosis de los tejidos más débiles, asimismo se presenta en hojas donde se observa una necrosis que se secará rápidamente y se desvanecen al mínimo roce, mientras que, en el tallo el hongo hará que éste tenga un color marrón, se encuentre frágil y ulcerado (Arcuma, 2016). En los cogollos se presenta aspecto pálido, con tonalidad gris, en algunos casos el color será verde-azulada.

La textura del cogollo también se volverá más seca y en etapas más avanzadas se observa una especie de capa de algodón (Figura 3) (Arcuma, 2016).

Figura 3

Síntomas de Botrytis cinerea en la planta de Cannabis Sativa L.



Nota. a) Hoja afectada por *B. cinerea*, b) Tallo afectado por *B. cinerea*, c) Cogollo afectado por *B. cinerea*. Recuperado de (Arcuma, 2016)

Manejo convencional

Las maneras de prevenir la proliferación del hongo *Botrytis cinerea* son:

Controlar la humedad: El hongo *B. cinerea* se ve favorecido por la humedad alta, se procura que la humedad ambiental se mantenga por debajo del 50% (Mar, 2023).

Limpiar el cultivo frecuentemente: eliminar materia orgánica en descomposición o agua estancada para prevenir su desarrollo, además se debe eliminar los brotes infectados (Mar, 2023).

Riego matutino: Se lo debe realizar en la mañana ya que comienza su actividad metabólica las plantas, además si se lo realiza por la tarde incrementa demasiado la humedad durante la noche, de igual manera el riego excesivo en floración es muy peligroso (Mar, 2023).

Sistema de ventilación: procurar que los cultivos de invernadero estén suficientemente ventilados y evitar altas densidades de plantaciones (Mar, 2023).

Control biológico

El prolongado aumento de la población humana requirió la búsqueda de nuevos caminos para incrementar la producción de alimentos; en el cual los agricultores usan plaguicidas sintéticos de forma indiscriminada, afectando de manera significativa la salud humana, el medio ambiente y la biodiversidad, esto ha provocado en la población un rechazo al uso del control químico en la producción agrícola (Viera *et al.* 2020), debido a esto surgió investigaciones sobre el uso de controladores biológicos benéficos, que permiten reducir los efectos negativos de los patógenos y generar respuestas positivas en las plantas (Vinale *et al.* 2008).

El control biológico es una práctica agrícola que se basa en la utilización de organismos naturales (depredadores, parasitoides, entomopatógenos y antagonistas) con el fin de reducir la densidad de poblaciones de plagas (Senasa, 2016). Este método ha sido reconocido como una de las visiones a largo plazo más efectivas y rentables para el manejo de plagas invasoras (Motta y Murcia, 2011).

Existen dos tipos de control biológico los cuales son: clásico y aumentativo. El control biológico clásico es cuando se introducen enemigos naturales seguros para la fauna o flora local para el control de una plaga, con el objetivo de reducir permanentemente la densidad del patógeno en un área grande (Van y Abell, 2008); mientras que, el control biológico aumentativo consiste en incrementar los enemigos naturales existentes mediante crías en laboratorio para luego ser liberados varias veces en el año, siendo más efectivo en cultivos de invernadero (Van y Abell, 2008).

Trichoderma

Generalidades

Las especies pertenecientes al género *Trichoderma* spp., son hongos saprofitos los cuales se caracterizan por ser agentes de control biológico, se encuentran distribuidos en material celulósico y la rizófora de las plantas (Osorio, 2017) Este tipo de hongo se pueden aislar de bosques o suelos agrícolas y se pueden cultivar fácilmente *in vitro* (Brotman *et al.* 2010). Las colonias tienen una coloración blanca-verdosa-amarillenta en el medio de cultivo, sin embargo, en el anverso presenta una coloración amarilla, ámbar o amarilla-verdosa (Osorio, 2017). Entre sus características microscópicas se observan tres tipos de propágulos como son las hifas, clamidosporas y conidios hialinos no verticilados (Osorio, 2017).

Clasificación taxonómica de *Trichoderma*

Pertenece al reino Fungi, división Mycota, clase Hyphomycetes, orden Moniliales, familia Moniliaceae, género: *Trichoderma* Persoon, 1801 (Infante *et al.* 2009)

Características morfológicas

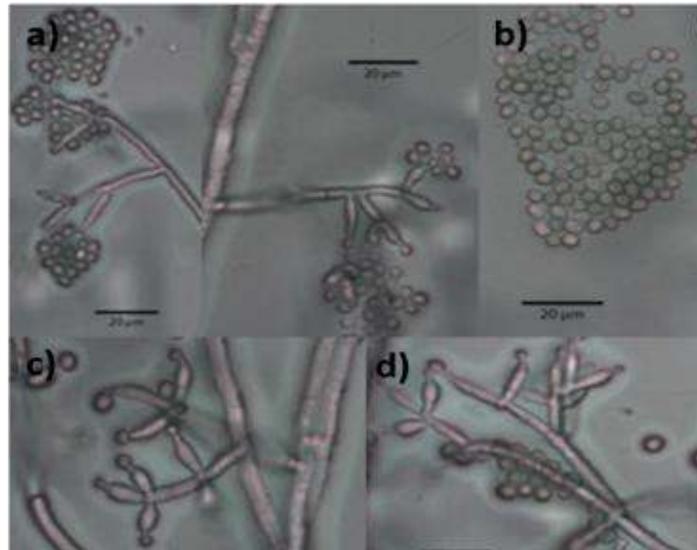
Conidióforos: Tienen la forma de árbol más o menos piramidal, atenuada hacia arriba, ramas en su mayoría emparejadas y aumentando en longitud de arriba hacia abajo, ramas sustituidas por fiálides (Siddiquee, 2017).

Conidios: Presentan una forma ovoidal o globosa, de color verde claro y los bordes lisos. Se encuentran incrustadas en las fiálides a manera de un racimo bien definido (Acurio y España, 2016). Permitiendo asegurar la generación del hongo durante gran parte del periodo vegetativo (Infante *et al.* 2009).

Clamidosporas: Tienen una apariencia globosa o subglobosas que se encuentran en la parte terminal o intermedio de las hifas y pueden llegar a medir 15 μm de diámetro (Castro y Rivillas, 2012). Son estructuras que toleran condiciones adversas permitiendo la supervivencia del hongo (Infante *et al.* 2009).

Figura 4

Características morfológicas representativas de *Trichoderma* spp.



Nota. (a) Fialides y conidios; (b) conidios; y (c,d) Se observaron conidióforos con un aumento de 400X. Recuperado de (Siddiquee, 2017).

Mecanismos de acción del *Trichoderma* spp.

El género *Trichoderma* tiene varios modos de acción o mecanismos para controlar los patógenos de las plantas, que incluyen:

Competencia: Se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), presentando plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, asimismo posee una colonización agresiva en condiciones adversas para sobrevivir, principalmente, en forma de clamidosporas (Infante *et al.* 2009). Tiene capacidad de movilizarse y tomar los nutrientes del suelo como es el carbono y nitrógeno permitiendo al hongo colonizar más rápido, según el reporte de (Anke *et al.* 1991).

Micoparasitismo: Es el proceso en la interacción entre el antagonista – patógeno, ocurre en cuatro etapas que son: 1) crecimiento quimiotrófo, 2) reconocimiento, 3) adhesión y enrollamiento y 4) la actividad lítica (Zamudio, 2016). En esta última etapa degradan las

paredes celulares del patógeno y posibilitan la penetración de las hifas de *Trichoderma* (Castro y Rivillas, 2012).

Antibiosis: Tiene la capacidad de generar compuestos orgánicos volátiles y no volátiles tóxicos los cuales juegan un papel importante en la inhibición y desarrollo de fitopatógenos con los que hacen contacto físico (Infante *et al.* 2009).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en dos etapas, conforme a los objetivos específicos planteados. En la primera etapa (fase de laboratorio), se obtuvo un aislado del hongo fitopatógeno y de las cepas de hongos benéficos, los cuales se identificaron morfológicamente previo a la evaluación de pruebas de antagonismo en laboratorio; posteriormente, en la segunda etapa (fase de invernadero), se realizaron evaluaciones en el invernadero del al hongo benéfico seleccionado en la fase de laboratorio.

Ubicación de la investigación

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) del INIAP, en el laboratorio de Control Biológico del Departamento de Protección Vegetal y en el invernadero automatizado del INIAP en la Hacienda el Prado, Selva alegre, Sangolquí.

En la primera etapa se realizó en los laboratorios del Departamento de Protección Vegetal de la EESC, ubicada en el cantón Mejía a una altitud de 3064 m.s.n.m. Las condiciones ambientales que se manejan son: temperatura promedio de 12,2°C y Humedad relativa 77,3% Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI, 2022) .

Para la segunda etapa se llevó a cabo en el invernadero automatizado INIAP, ubicado en la Hacienda el Prado, Sangolquí a una latitud de 0°23'21.69"S, longitud de 78°24'50.89"O y a una altitud de 2745 m.s.n.m. Las condiciones ambientales que se manejan son: Temperatura promedio 20,55°C y humedad relativa de 62,99% (Espín, 2021).

Metodología

Primera etapa: Prueba de antagonismo *in vitro*, entre seis cepas de *Trichoderma* spp. frente al fitopatógeno *Botrytis cinerea*.

En esta etapa se desarrolló en laboratorio, en la que se realizó las pruebas de antagonismo para evaluar seis cepas de *Trichoderma* spp. frente a *B. cinerea* aislado de

plantas enfermas de cáñamo para posteriormente realizar su purificación en medios de cultivo PDA, además se realizó la multiplicación de las cepas de *Trichoderma* spp. pertenecientes al área de control Biológico del EESC-INIAP.

Manejo del experimento

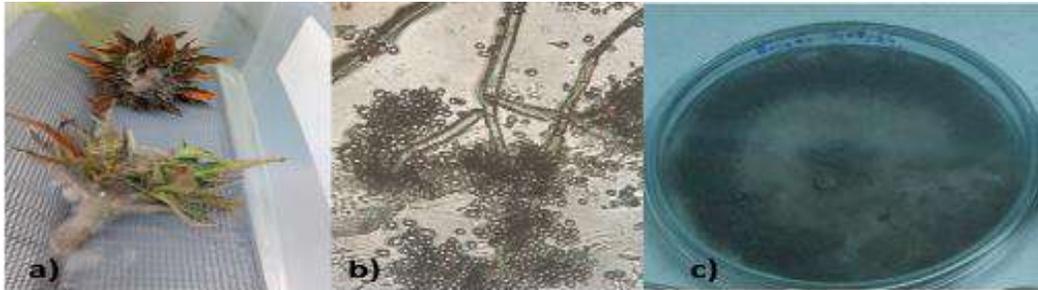
Obtención de aislamiento de *B. cinerea*

Para el aislamiento de fitopatógeno *B. cinerea*, se recolectaron muestras de cogollos de *Cannabis Sativa* variedad Cherry Oregon Hemp., que presentaron la enfermedad. Las muestras se transportaron al laboratorio en fundas plásticas. Con las muestras obtenidas se realizó la limpieza de hojas senescentes, se procedió a preparar las cámaras húmedas y se dejó en incubación a temperatura ambiente por 8 días.

En la cámara húmeda los cogollos presentaron la formación de un micelio grisáceo en su superficie, la cual con ayuda de una aguja de disección se tomó el micelio y se sembró en medio de cultivo PDA a una temperatura de 18 °C, durante 5 días (Larios *et al.* 2020); donde se obtuvo un rápido crecimiento inicialmente del micelio presentándose de un color café claro y con el tiempo se volvió un color pardo, además que la colonia presentó a nivel macroscópico en su exterior un micelio de color blanquecino y en el interior un color negruzco (Figura 5), luego se realizó la observación en el microscopio óptico donde se permitió diferenciar las estructuras de los conidióforos y conidios.

Figura 5

Características del aislamiento de *Botrytis cinerea* obtenidas de cogollos de cáñamo que presentaron la enfermedad. ESCC-Cutuglagua-Mejía 2022



Nota. *Botrytis cinerea* en a) cámara húmeda b) microscopio óptico (Conidióforo y conidios) c) Crecimiento en el cultivo PDA (micelio algodónoso).

Multiplicación de *Trichoderma* spp.

Del cepario perteneciente al área de Control biológico de la ESCC se tomaron cepas de *Trichoderma* spp., y se realizó la multiplicación en condiciones asépticas en el medio de cultivo PDA, se incubó a 25°C durante 3 días desde la siembra o hasta el aparecimiento de las colonias (Gams y Bissett, 2002), y se realizaron 10 repeticiones de cada una de las cepa de *Trichoderma* spp.

Figura 6

Multiplicación de cepas de *Trichoderma* spp. en medio de cultivo PDA en la EESC-Cutulagua-Mejía 2022.



Nota. Autoría propia.

Factores en estudio

- Se evaluaron seis cepas de *Trichoderma* spp.

Unidad Experimental

La unidad experimental estará representada por una caja Petri con PDA donde se realizará el enfrentamiento de *Botrytis cinerea* con cada una de las cepas de *Trichoderma* spp.

Tratamientos para comparar

Se utilizaron seis cepas de *Trichoderma* spp. Tabla 1.

Tabla 1

Tratamientos para comparar en la etapa de laboratorio

Tratamiento	Cepa	Código
1	Cepa 1 <i>Trichoderma</i> spp.	C1
2	Cepa 2 <i>Trichoderma</i> spp.	C2
3	Cepa 3 <i>Trichoderma</i> spp.	C3
4	Cepa 4 <i>Trichoderma</i> spp.	C4
5	Cepa 5 <i>Trichoderma</i> spp.	C5
6	Cepa 6 <i>Trichoderma virens</i>	C6

Nota. Autoría propia.

Análisis estadístico

Los tratamientos fueron dispuestos bajo un diseño completamente al azar con 10 repeticiones, cuyo modelo matemático es:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Efecto del antagonismo

μ = media general

T_i = efecto de la i -ésima cepa de *Trichoderma*

ϵ_{ij} = error experimental

El análisis estadístico se realizó en el programa INFOSTAT versión 2020, se obtuvo el análisis de varianza y para la separación de medias se realizó la prueba de Tukey 5%.

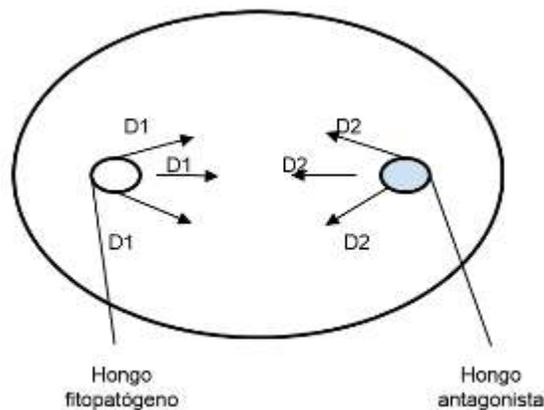
Variable a evaluar

Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial

Las pruebas se realizaron en cajas Petri con PDA, cada hongo (*B. cinerea* y *Trichoderma* spp.) se colocaron en un extremo (aproximadamente de 2 cm del borde), empleando discos de 5 mm de diámetro que provinieron de cajas de cultivos monospóricos (Figura 7) (Pincay *et al.* 2021) Además, se sembraron testigos tanto las cepas de *Trichoderma* spp. y *Botrytis cinérea* las cuales se incubaron a una temperatura de 25°C y se midieron con una frecuencia de 24 horas hasta las 72 horas, en donde el crecimiento radial fue medido con un calibrador(Larios *et al.* 2020).

Figura 7

Esquema general para los enfrentamientos duales entre las cepas antagonistas y el hongo fitopatógeno



Nota. Distancia del crecimiento del micelio (D),
Adaptado de (Samaniego *et al.* 2018).

Para la evaluación del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PICR), se adoptó la fórmula propuesta por Fokkema (1973), citado por (Larios *et al.* 2020).

$$\% I = \frac{D1 - D2}{D1} * 100$$

Donde:

%I= porcentaje de inhibición del crecimiento micelial

D1= diámetro del crecimiento micelial del testigo (mm);

D2= diámetro del crecimiento micelial del influenciado (mm).

Adicionalmente, con la escala propuesta por Bell citado por (Ferrer *et al.* 2021) en la Tabla 2, sirve de referencia para determinar el antagonismo al evaluar la competencia por sustrato, con dicha escala se toma en cuenta la invasión de la superficie, colonización y esporulación de las cepas de *Trichoderma* spp. sobre *Botrytis cinerea*.

Tabla 2

Escala de antagonismos propuesta por Bell et al. (1982)

Clase	Características
I	Crecimiento de <i>Trichoderma</i> spp., que cubrió toda la superficie del medio y redujo el crecimiento del patógeno.
II	Crecimiento de <i>Trichoderma</i> spp., que cubrió al menos $\frac{2}{3}$ partes del medio.
III	<i>Trichoderma</i> spp., y fitopatógenos crecieron $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{2}$ la superficie del medio, uno no se sobrepuso al otro.
IV	Hongo patógeno creció al menos $\frac{2}{3}$ partes del medio y resistió a la invasión de <i>Trichoderma</i> spp.
V	Crecimiento del patógeno que cubrió toda la superficie del medio.

Nota. Recuperado de (Ferrer *et al.* 2021).

Segunda etapa: Evaluación bajo invernadero, el potencial de las cepas de *Trichoderma* spp. para el manejo de *B. cinerea* en el cultivo de cáñamo.

En las plantas de cáñamo se evaluaron las tres cepas de *Trichoderma* spp, seleccionadas en la etapa anterior, debido a su respuesta *in vitro* frente a *B. cinerea*. Entre las

variables evaluadas fueron la altura y el diámetro del tallo las cuales se midieron cada ocho días después de ser trasplantadas hasta su cosecha. La incidencia y severidad se evaluó cada ocho días desde que la planta presentó signos de la enfermedad hasta su cosecha.

Manejo del experimento

Trasplante de las plántulas de cáñamo

Se realizó la siembra de las plántulas de cáñamo en macetas, usando como sustrato turba, pomina y humus en una relación 3:2:1, para garantizar el buen desarrollo radicular y foliar.

Figura 8

Trasplante de las plántulas de cáñamo en el invernadero automatizado INIAP Hacienda el Prado, Sangolquí 2022



Nota. a) Plántulas de cáñamo b) Siembra en macetas c) Colocación de líneas de riego por goteo.

Multiplicación masiva de cepas de *Trichoderma* en sustrato de arroz

Previo a la aplicación de los tratamientos, se partió de la multiplicación masiva de las cepas de *Trichoderma* en sustrato de arroz. Se pesaron 200 gramos de arroz y se colocaron 80 ml de agua destilada, seguidamente se colocó en la autoclave para su esterilización durante 15 minutos (Covacevich y Consolo, 2014).

Para la inoculación del sustrato arroz se colocaron cinco pedazos de 1 cm² aproximadamente del agar colonizado con el hongo seleccionado. Las bolsas inoculadas se incubaron a 24°C durante 6 días, luego se colocaron en luz indirectamente por 6 días.

La multiplicación masiva se realizó 2 semanas antes de la aplicación de los tratamientos en las plantas (Figura 9).

Figura 9

Multiplicación masiva de las cepas de Trichoderma 1, 3, 6 en sustrato de arroz. EESC 2022



Nota. Autoría propia.

Preparación del inóculo de *Botrytis cinerea* en las plantas de cáñamo

La preparación del inóculo se realizó a partir de los aislamientos obtenidos en la purificación de *B. cinerea*, en la que se realizó un lavado con agua destilada estéril. Se procedió a realizar una cámara húmeda, en donde con la ayuda de una pipeta se colocó el inóculo y se dejaron reposar 5 días, en donde se realizó la activación del fitopatógeno. Posteriormente se realizó el lavado con agua destilada estéril a los cogollos infectados con *B. cinerea* para obtener la suspensión de conidios, se ajustó a una concentración de 1×10^5 conidios ml⁻¹, mediante el conteo en la cámara de Neubauer (Mercader *et al.* 2006). La aplicación de la suspensión de conidios se realizó vía foliar mediante un compresor de aire y se aplicó una vez en horas de la tarde.

Aplicación de los tratamientos

Para realizar la aplicación de cada tratamiento, se obtuvo las esporas de *Trichoderma* lavando con agua destilada estéril el sustrato de arroz. La suspensión de conidios obtenida se ajustó a 1×10^6 conidios ml^{-1} , mediante el conteo en la cámara de Neubauer (Valenzuela *et al.* 2019). La aplicación de la suspensión de esporas se realizó vía foliar mediante un compresor de aire y vía drench, se aplicó cada 20 días en horas de la tarde.

Figura 10

Aplicación de tratamientos en plantas de cáñamo en la evaluación de cepas de Trichoderma spp. para el manejo Botrytis cinerea bajo invernadero. Invernadero automatizado INIAP Hacienda el Prado, Sangolquí, 2022



Nota. Autoría propia.

Factores de estudio

Tres cepas de *Trichoderma* spp. seleccionadas.

Distribución de los tratamientos

En este estudio, en el cultivo de cáñamo se aplicaron 4 tratamientos, en ella se probaron tres cepas de *Trichoderma* spp. seleccionadas en la fase de laboratorio, además se incluyó un testigo enfermo sin control Tabla 3.

Tabla 3

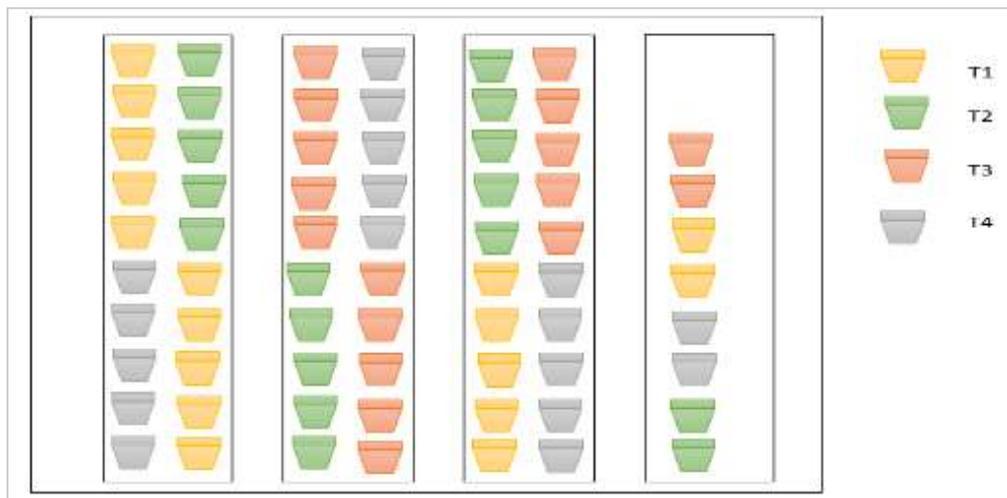
Distribución de los tratamientos en la etapa de campo en el cultivo de cañamo para el manejo de *B. cinerea*

Tratamiento	Cepa	Código
1	Cepa 1 <i>Trichoderma</i> spp.	T1
2	Cepa 6 <i>Trichoderma virens</i>	T2
3	Cepa 3 <i>Trichoderma</i> spp.	T3
4	Testigo enfermo sin control	T4

Nota. Autoría propia.

Figura 11

Croquis experimental



Nota. T1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp.); T2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*); T3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.); T4 (Testigo enfermo con *Botrytis cinerea*).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico descriptivo. Los tratamientos fueron dispuestos bajo un diseño completamente al azar cuyo modelo matemático es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Efecto del biocontrolador

μ = media general

T_i = efecto de la i -ésima cepa de biocontrolador

ϵ_{ij} = error experimental

Posteriormente, obtenidos los datos se realizó la prueba de Tukey 5% para separación de medias. Los análisis se realizaron en el programa INFOSTAT versión 2020.

Variables a evaluar

Se evaluaron para esta fase:

Altura de la planta

Se midió con un flexómetro, desde el cuello de la planta hasta el ápice del tallo, se registró en centímetros, esta medición se realizó cada 8 días después del trasplante obteniendo 15 evaluaciones.

Figura 12

Evaluación de altura de planta de cáñamo en la evaluación de cepas de Trichoderma spp. para el manejo de Botrytis cinerea bajo invernadero. Hacienda el Prado, Sangolquí, 2022



Nota. Autoría propia.

Diámetro del tallo de las plantas

Con la ayuda de un calibrador se realizó la medición en tres secciones tanto en la parte baja, media y alta de la planta y se registró en centímetros, esta medición se realizó cada 8 días después del trasplante obteniendo 15 evaluaciones.

Porcentaje de materia seca radicular

Al realizar la cosecha también realizó la toma de las raíces de cada planta, se obtuvo el peso fresco en gramos para posteriormente colocarlas en fundas de papel, debidamente etiquetadas para ser llevadas al laboratorio para un secado a temperatura ambiente durante 20 días para determinar el porcentaje de materia seca.

Figura 13

Evaluación de peso de la raíz en el laboratorio de control Biológico EESC.



Nota. Autoría propia.

Peso de inflorescencias (cogollos)

Una vez realizada la cosecha se llevaron al laboratorio para un secado a temperatura ambiente, durante 41 días, después se obtuvo el peso en gramos para determinar el rendimiento de la planta.

Figura 14

Peso de cogollos en el laboratorio de control Biológico EESC



Nota. Autoría propia.

Incidencia

Para la evaluación de la incidencia se procedió a observar todos los cogollos (flores) de cada tratamiento. La evaluación de esta variable se realizó a la onceava semana del inicio del ensayo hasta la cosecha obteniendo 5 lecturas. El porcentaje de incidencia se calculó con la fórmula citada por (Villacis, 2021):

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de plantas u } \text{órganos afectados}}{\text{total de plantas analizadas}} * 100$$

Severidad

Para la severidad de igual manera se midió semanalmente desde la onceava semana del inicio del ensayo hasta la cosecha obteniendo 5 lecturas. En donde se realizó de manera minuciosa la observación a los cogollos de cada una de las ramas para la identificación de *B. cinerea* (Figura 15) la cual se realizó una apreciación visual del porcentaje del área afectada. Además, se utilizó la fórmula citada por (Villacis, 2021) .

Figura 15

Esquema visual de la segmentación del cogollo para la identificación del grado de severidad donde cada cuadrante representa el 5 % del área del cogollo, suponiendo que la suma de las dos caras del cogollo forma el 100%



Nota: Recuperado de (Sánchez y Rincón, 2021).

$$\% \text{ severidad} = \frac{\text{área de tejido afectado}}{\text{área total del tejido}} * 100$$

Tabla 4

Escala de severidad de *Botrytis cinerea* en el cultivo de *Cannabis sativa* L.

Grado	Severidad
0	Planta sin evidencia sintomatológica de <i>Botrytis cinerea</i>
1	Aparición de sintomatología de <i>Botrytis cinerea</i> afectando al menos al cáliz floral y/u hoja.
2	Presencia de síntomas de <i>Botrytis cinerea</i> del 1 al 5% del cogollo.
3	Presencia de síntomas de <i>Botrytis cinerea</i> del 5% al 20% del cogollo.
4	Presencia de síntomas de <i>Botrytis cinerea</i> mayor al 20% del cogollo

Nota. Recuperado de (Sánchez y Rincón, 2021).

Para comparar las diferencias entre los tratamientos se calculó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) a partir del porcentaje del área de la planta afectada por el patógeno, la primera lectura se realizó desde que se presente la enfermedad, con lecturas obtenidas durante la etapa de floración hasta su cosecha y se utilizó la siguiente fórmula para calcular ABCPE propuesta por (Yuen y Forbes, 2009).

$$ABCPE = [L1 + 2 * (L2 + L3 + \dots LN - 1) + Ln] * t/2$$

Donde:

L1 (%) = primera lectura

Ln (%) = última lectura

Ln-1 (%) = penúltima lectura

T= tiempo entre lecturas

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

Primera etapa: Prueba de antagonismo *in vitro*, entre seis cepas de *Trichoderma* spp. frente al fitopatógeno *Botrytis cinerea*.

Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial

El análisis de varianza respecto a la capacidad antagónica de seis cepas de *Trichoderma* spp. vs *Botrytis cinerea*, evaluadas a las 72 horas, se determinó que existen diferencias significativas entre cepas (Tabla 5; Figura 16). La cepa 1 *Trichoderma* spp obtuvo 27,97 % de inhibición y la cepa 3 *Trichoderma* spp. obtuvo 26,08 % de inhibición, seguida por la cepa 6 *Trichoderma virens* con un 21,52 % de inhibición, mientras que la cepa 2 *Trichoderma* spp. presento un menor porcentaje de inhibición del 11,90%.

Tabla 5

Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de las cepas de Trichoderma spp., para el control in vitro de B. cinerea. EESC- Cutuglagua-Mejía 2022

Tratamientos	gl	% de inhibición	F	p-valor
Cepa 2 <i>Trichoderma</i> spp. (T2)	1	11,90 ± 2,17 c	37,94	<0,0001
Cepa 4 <i>Trichoderma</i> spp. (T4)	1	18,86 ± 2,83 b		
Cepa 5 <i>Trichoderma</i> spp. (T5)	1	18,23 ± 3,28 b		
Cepa 6 <i>Trichoderma virens</i> (T6)	1	21,52 ± 3,63 b		
Cepa 3 <i>Trichoderma</i> spp. (T3)	1	26,08 ± 2,00 a		
Cepa 1 <i>Trichoderma</i> spp. (T1)	1	27,97 ± 3,60 a		

Nota. Promedio ± desviación estándar, F, p-valor; medias de letras diferentes en la misma columna, son estadísticamente diferentes (p>0,05).

Figura 16

Prueba de antagonismo de *Trichoderma* spp., frente a *B. cinerea*, EESC 2022



Nota. Autoría propia.

Segunda Etapa: Evaluación bajo invernadero, el potencial de las cepas de *Trichoderma* spp. para el manejo de *B. cinerea* en el cultivo de cáñamo.

Variables agronómicas

Altura de las plantas

Los resultados de altura de planta mostraron diferencias significativas con un coeficiente de variación de 18,59%. En el que se destacó el tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*) con una altura de 67,36 cm en comparación al tratamiento 4 (Testigo sin control) que tuvo una altura de 54,64 cm (Tabla 6).

Diámetro de las plantas

Los resultados de diámetro del tallo de la planta no fueron significativos con un coeficiente de variación del 12%. Sin embargo, el tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*) presentó un mayor diámetro de tallo de 0,86 cm seguido por el tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.) con diámetro de tallo de 0,84 cm, con respecto al tratamiento 4 (Testigo sin control) que presentó un diámetro de tallo de 0,78 cm (Tabla 6).

Biomasa radicular

Al realizar el ANOVA se registraron diferencias significativas tanto para el peso fresco, peso seco, y porcentaje de materia seca de las raíces. En peso fresco el tratamiento 1 (Cepa 1

Trichoderma spp.) presentó un peso de 34 gramos seguido por el tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*) con peso de 31 gramos. En el peso seco de las raíces dos tratamientos tuvieron el mismo rango de significancia, en el que consta el tratamiento 1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp.) presentó un peso de 14,60 gramos seguido por el tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*) con peso de 18,84 gramos. En el porcentaje de materia seca de las raíces el tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*) obtuvo un 59,26% de materia seca a diferencia del tratamiento 4 (Testigo sin control) con un 41,34% de materia seca (Tabla 6).

Rendimiento

Al efectuar el ANOVA no se registró diferencias estadísticas entre los tratamientos aplicados con *Trichoderma* spp. Sin embargo, se destaca el tratamiento 1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp.) con un peso de 55,06 gramos y el tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*) con un peso de 55,04 gramos, mientras que el tratamiento 4 (Testigo sin control) presentó un peso de 37,1 gramos (Tabla 6).

Tabla 6

Variables agronómicas por efecto de la aplicación de cepas de Trichoderma spp., para el cultivo de cáñamo

Fuentes de variación	Altura	Diámetro del tallo	Biomasa radicular			Rendimiento
			Peso fresco	Peso seco	%Materia seca	
P-valor	*	-	*	*	*	*
F	3,87	2,25	6,52	10,42	9,01	6,59
T1	63,75 ± 7,26 ab	0,79 ± 0,08 a	34 ± 23,51 a	14,60 ± 9,95 a	44,18 ± 9,21 b	55,06 ± 4,77 a
T2	67,36 ± 11,13 a	0,86 ± 0,13 a	31 ± 10,3 ab	18,84 ± 8,16 a	59,26 ± 11,74 a	55,04 ± 11,18 a
T3	58,39 ± 9,52 ab	0,84 ± 0,08 a	14,43 ± 7,87 c	5,89 ± 2,80 b	42,85 ± 10,77 b	50,52 ± 7,36 a
T4	54,64 ± 13,86 b	0,78 ± 0,09 a	17,41 ± 9,54 bc	7,43 ± 5,11 b	41,34 ± 9,57 b	37,1 ± 17,99 b

Nota. Promedio ± desviación estándar, F, p-valor; Tratamiento 1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp.); Tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*); Tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.); Tratamiento 4 (Testigo sin control). Los valores en la columna seguidos por una letra presentan diferencias significativas ($P > 0,05$).

Figura 17

Plantas de cáñamo después de ser tratadas con diferentes cepas de *Trichoderma* spp. bajo invernadero. Invernadero automatizado INIAP Hacienda el Prado, Sangolquí, 2022



Nota. Autoría propia.

Incidencia y severidad

Al realizar el análisis de varianza para incidencia y severidad mostraron diferencias significativas para las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. Con respecto a la incidencia el tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.) presentó una reducción obteniendo 0,51% de incidencia respecto al tratamiento 4 (Testigo sin control) que fue de 3,74 %. Mientras que la severidad de igual manera el tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.) se destacó al tener 1,37 % respecto al tratamiento 4 (Testigo sin control) que fue de 9,49 % (Tabla 7) (Figura 20).

Tabla 7

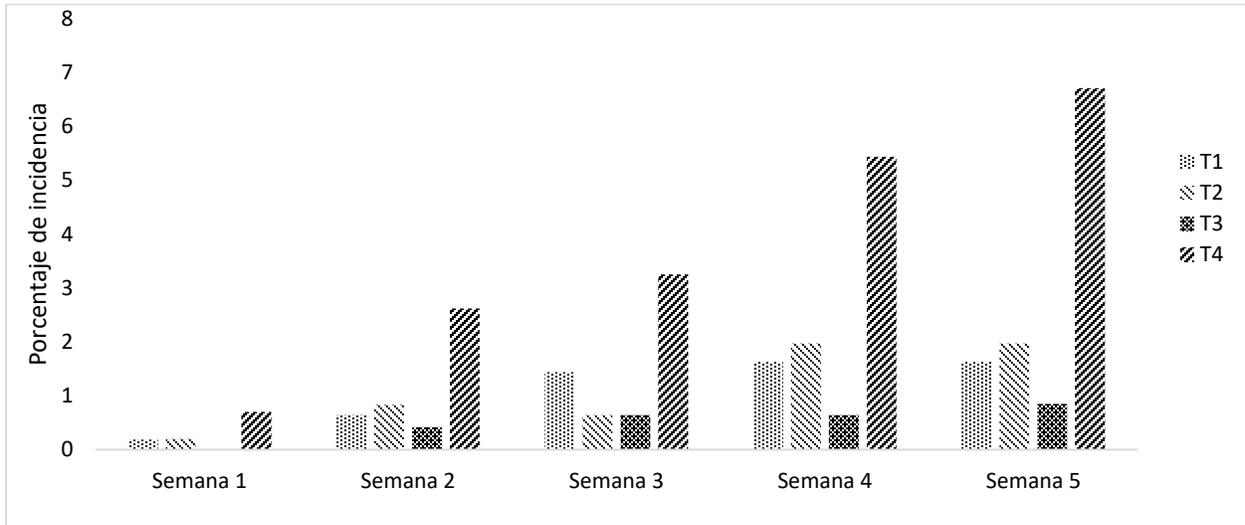
Incidencia y severidad de *B. cinerea* por efecto de las cepas *Trichoderma* evaluadas entre tratamientos

Fuentes de variación	Incidencia	Severidad
P-valor	*	*
F	13,64	5,55
T1 (Cepa 1 <i>Trichoderma</i> spp.)	1,11 ± 1,14 b	3,21 ± 5,04 b
T2 (Cepa 2 <i>Trichoderma virens</i>)	1,12 ± 1,19 b	7,12 ± 7,39 ab
T3 (Cepa 3 <i>Trichoderma</i> spp.)	0,51 ± 0,91 b	1,37 ± 2,90 b
T4 (Testigo sin control)	3,74 ± 2,37 a	9,49 ± 7,63 a

Nota. Promedio ± Desviación estándar, F y p-valor; letras distintas indican diferencia significativa ($p > 0,05$).

Figura 18

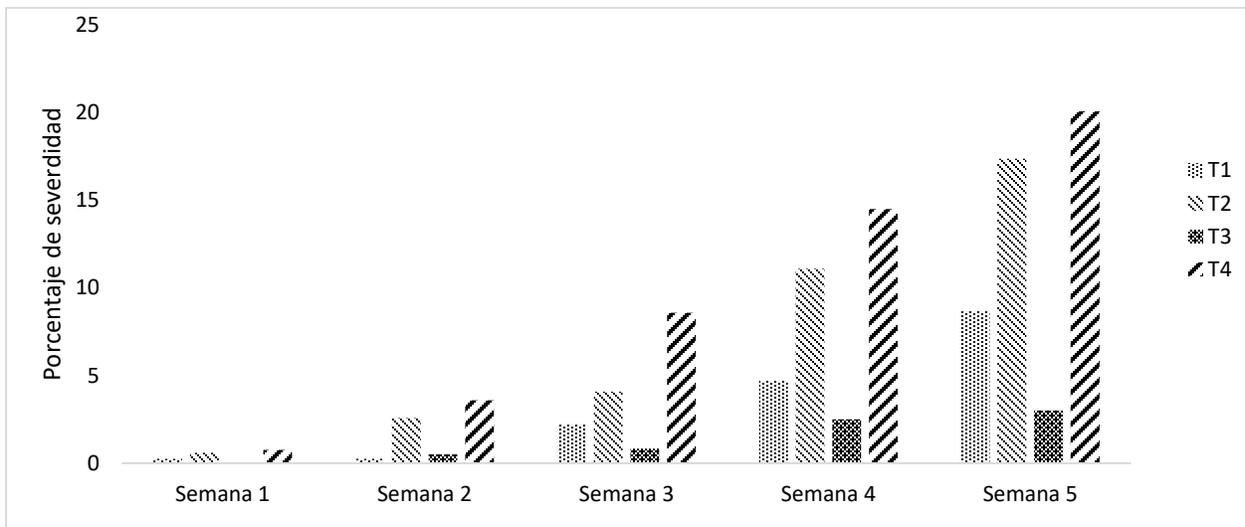
Porcentaje de incidencia de *B. cinerea* por efecto del uso de cepas de *Trichoderma* evaluada entre tratamientos por semana



Nota. Tratamiento 1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp.); Tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*); Tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.); Tratamiento 4 (Testigo sin control).

Figura 19

Porcentaje de severidad de *B. cinerea* por efecto de las cepas *Trichoderma* evaluada entre tratamientos por semana



Nota. Tratamiento 1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp.); Tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*); Tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.); Tratamiento 4 (Testigo sin control).

Figura 20

Incidencia de la enfermedad de B. cinerea comparado con los tratamientos de las cepas de Trichoderma en las plantas de cáñamo



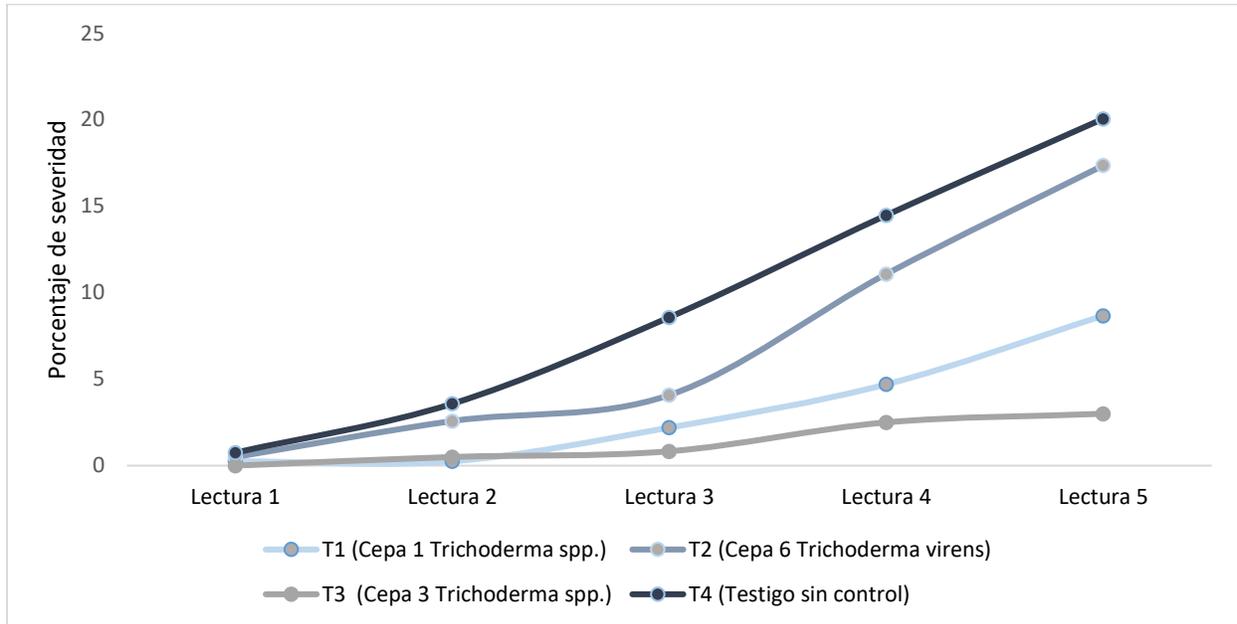
Nota. Tratamiento 1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp.); Tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*); Tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.); Tratamiento 4 (Testigo sin control).

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad

En la figura 21 se observa los promedios de cada uno de los tratamientos en donde el tratamiento sin control (T4) presenta 9,49% con respecto al Tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.) presentó 1,13%.

Figura 21

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) por efecto de las cepas *Trichoderma* en los tratamientos



Nota: Tratamiento 1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp.); Tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*); Tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.); Tratamiento 4 (Testigo sin control).

Discusión

Botrytis cinerea es una enfermedad que en *Cannabis Sativa* puede arruinar la cosecha tanto en floración como durante el almacenamiento. Al utilizar las cepas de *Trichoderma* contra el fitopatógeno *Botrytis cinerea* nos permitió conocer los mecanismos de acción que tiene para competir el espacio, nutrientes y el micoparasitismo.

En el presente ensayo el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PICR) de las cepas de *Trichoderma* spp., estudiadas a las 72 horas se observa que la cepa 1 y la cepa 3, obtuvieron el mayor PICR, con 27,97% y 26,08%, respectivamente; las cuales presentaron el mismo rango de significancia; mientras que el menor porcentaje de inhibición lo obtuvo para el tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma* spp.), con un porcentaje de 11,90%, lo que concuerda con el estudio realizado por (Acosta *et al.* 2021) en donde realizaron cultivos duales con cepas

nativas *Trichoderma* spp. frente a *Botrytis* sp. mostrando diferencias altamente significativas, sin embargo, nos indica que una cepa presentó un menor grado de inhibición como fue el caso de *T. harzianum* (MCHT07) con 6.81 % inferior al resto; con esto se afirma que no todas las cepas de *Trichoderma* spp. tienen el mismo mecanismo de competencia, micoparasitismo y antibiosis siendo estas menos eficientes para el control de *Botrytis cinerea*.

Las confrontaciones realizadas entre cepas de *Trichoderma* y *B. cinerea* se observó el mecanismo de acción micoparasitismo, donde (Infante *et al.* 2009) afirma que durante este proceso las hifas de *Trichoderma* se adhieren, se enrollan y penetran lo cual conlleva al debilitamiento del patógeno, llegando a tener crecimiento directamente hacia el patógeno, de acuerdo con los resultados obtenidos en este ensayo en donde pudo observar que las cepas 1,3 realizaron el mismo proceso debido a que hubo un crecimiento hacia el patógeno.

En el presente ensayo al usar las cepas de *Trichoderma* nos permitió conocer cómo influye en la altura y diámetro del tallo de las plantas de cáñamo. Se reportó que el tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*) presentó una altura promedio de 67,36 cm, mientras el Tratamiento 4 (Testigo sin control) presentó 54,64 cm de altura, y a su vez para el diámetro del tallo el tratamiento 2 (Cepa *Trichoderma virens*) presentó ser mayor con un 0,86 cm con respecto a las tratadas con las cepas 1, 3.

Se conoce que al usar cepas del género de *Trichoderma* como biocontrolador también tiene la capacidad de producir metabolitos como el ácido-3-indolacético (AIA) una hormona inductora del crecimiento. Al observar las diferencias entre los tratamientos inoculados con *Trichoderma* spp.; el tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*) se destacó con una altura superior, lo que concuerda con estudio de (Candelero *et al.* 2015) en donde estudia diferentes especies de *Trichoderma* como promotoras de crecimiento en plántulas de *Capsicum chinense* Jacq., en la que usan *Trichoderma virens* obtuvieron promedios mayores en el crecimiento de la planta.

Igualmente, en otro estudio menciona que existen especies de *Trichoderma* que no producen metabolitos promotores de crecimiento como lo afirma (Hoyos *et al.* 2009) en su trabajo sobre el crecimiento y estimulación en frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) con *Trichoderma* donde evaluaron 101 cepas en la que mostró que este género de hongos puede producir efectos positivos, nulos o incluso negativos sobre el crecimiento en las plantas, lo que concuerda con el tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.) presentó una altura igual al del testigo sin control.

El presente ensayo mostró dos rangos de significación en el porcentaje de materia seca, en que el tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*) mostraron tener mayor porcentaje con 59,26 % respectivamente, mientras que, el tratamiento 1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp.), tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.) y el tratamiento 4 (Tratamiento sin control) presentaron el mismo rango de significación con un porcentaje de 44,18; 42,85; 41,34% respectivamente.(Contreras *et al.* 2009), en su estudio muestra que la cepa de *Trichoderma virens* presentó características fenotípicas relacionadas con las auxinas, que permiten un desarrollo de las raíces laterales y producción de biomasa, como se presentó en este ensayo donde el Tratamiento 2 perteneciente a *Trichoderma virens* tuvo mayor porcentaje de raíces secundarias lo cual queda demostrado que al aplicar microorganismos benéficos ayudan a la estimulación del crecimiento de las raíces.

En el presente ensayo mostró dos rangos de significación en el rendimiento donde el tratamiento 1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp.), tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*) y tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.), se encuentran en el mismo grupo en la cual tienen un promedio de 55,06; 55,04; 50,52 gramos respectivamente, con respecto al en el tratamiento 4 (tratamiento sin control) con 37,10 gramos, lo que concuerda con (Kakabouki *et al.* 2021), en su estudio sobre la colonización de *Trichoderma harzianum* sobre el desarrollo, crecimiento y el contenido de CBD del cáñamo (*Cannabis sativa L.*), en la cual nos presenta que no hubo diferencias significativas en el rendimiento; sin embargo, obtuvo diferencias entre variedades,

en la que la variedad Felina presento un 61,70 g/planta mayor a la variedad Fedora 17 con un valor de, 55,19 g/planta; no obstante en otro estudio evaluaron el efecto *Trichoderma* aplicando de manera foliar sobre *Passiflora caerulea* L. la cual presentó diferencias significativas en el rendimiento aplicando diferentes dosis en la que el T1 con 10^6 UFC ml⁻¹ tiene el mismo rendimiento que el control y que el tratamiento T2 con 10^8 UFC ml⁻¹ tiene un mayor rendimiento (Şesan *et al.* 2020), con lo que concuerda con el ensayo realizado donde el tratamiento 1,2 y3 comparten rango de significancia.

En el presente ensayo con respecto a la incidencia de *B. cinerea* el tratamiento con menor porcentaje fue el T3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.) con 0,51%, en comparación al T4 (Tratamiento sin control) que presentó un mayor porcentaje de incidencia con un 3,74%; mientras que para la severidad el tratamiento 1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp.) y el tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.) obtuvieron un porcentaje de severidad menor con un 2,21; 1,37%. (Silva y Sandoval, 2004) en su estudio menciona que utilizó diferentes tipos de cepas *Trichoderma* spp. para controlar a *B. cinerea* en Leucadendron, algunas de las cepas no presentaron ser un buen biocontrolador como es el caso de la cepa de *Trichoderma virens* que mostró un menor control, lo que coincide con el ensayo donde el tratamiento 2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*) presentó el mismo efecto en las plantas de cáñamo.

Cabe mencionar que en la figura 18 y 19 podemos observar que al iniciar la enfermedad en los diferentes tratamientos esta va incrementando en el tiempo, no obstante, al examinar entre tratamientos existe una diferencia en el desarrollo en el grado de severidad en el cual el T3 y T1 en donde no redujo la tasa infección, sin embargo, ayuda a la disminución de la esporulación. (O'Neill *et al.* 1996). Asimismo, en otro estudio indicaron que al emplear cepas de *Trichoderma harzianum* y *lignorum* en fresa tuvieron una incidencia menor sobre *B. cinerea* en comparación con el tratamiento químico.

Asimismo podemos mencionar que al realizar aplicaciones tanto foliares como drench permite que la enfermedad no progrese con la misma intensidad como lo hace el tratamiento 4

(Testigo sin control) que los tratamientos aplicados con *Trichoderma* que presentaron un menor grado de severidad respectivamente, como lo menciona (Lee *et al.* 2006), en donde realizaron aplicaciones de formulación granular de mezcla en la siembra y una pulverizaciones foliares en la cual obtuvieron una reducción del patógeno *B. cinerea* en el cultivo de pepino, debido a que se presentó la inhibición directa del patógeno.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- Al evaluar las cepas de *Trichoderma* mostraron un efecto antagónico sobre *B. cinerea*, destacando las cepas C1, C3 quienes registraron un índice de antagonismo tipo 1 cubriendo toda la superficie del medio y reduciendo el crecimiento del patógeno, mientras que para las cepas C4, 5, 6 presentaron un índice de antagonismo tipo 2 cubriendo 2/3 del medio y finalmente con menos efecto fue la cepa C2 que creció la mitad de la superficie sin sobreponerse al patógeno.
- De las cepas seleccionadas la incidencia y severidad de *B. cinerea* en cáñamo se encontró una disminución con respecto al testigo, en el grado de incidencia no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados con *Trichoderma* spp. Sin embargo, con respecto a la severidad se destacó el tratamiento T3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.), presentando un grado 2 con una disminución de síntomas de *Botrytis cinerea* entre 1 al 5% en el cogollo.
- Las plantas de cáñamo aplicadas, con los tratamientos de *Trichoderma* no presentaron diferencias significativas con respecto al rendimiento, sin embargo, los tratamientos 1, 2 alcanzaron los mejores promedios de peso de cogollos.
- El tratamiento T2 (Cepa 6 *Trichoderma virens*), presentó una mayor altura, así como también en el peso fresco, peso seco y porcentaje de materia seca de raíz que los tratamientos T1 (Cepa 1 *Trichoderma* spp.) y T3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.).

Recomendaciones

- Se recomienda para el control de *Botrytis cinerea* en cáñamo el tratamiento 3 (Cepa 3 *Trichoderma* spp.) ya que disminuyó la incidencia y severidad de la pudrición del cogollo.
- Se recomienda realizar otro tipo propagación para *Trichoderma*, las cuales cumplan con los requerimientos nutricionales para su crecimiento y desarrollo.
- Se recomienda evaluar el uso del tratamiento 3 (Cepa 3 de *Trichoderma* spp.) con diferentes concentraciones, durante las etapas de prefloración y floración.
- Se recomienda realizar una combinación de los tratamientos 3, 2 debido a que el tratamiento 3 mostró gran capacidad para control de *Botrytis cinerea* y el tratamiento 2 mejoró las características agronómicas de la planta de cáñamo.

Bibliografía

- Acosta, L. T., Azania, D. K., y Azania, R. (2021). Cultivo dual in vitro de cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a *Botrytis* sp. patógeno de *Passiflora ligularis* Juss. *Revista de Investigación Agropecuaria Science and Biotechnology*, 1(4), 43–55.
<https://doi.org/10.25127/riagrop.20214.720>
- Acurio, R., y España, C. (2016). Aislamiento, caracterización y evaluación de *trichoderma* spp. como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). *La Granja*, 25(1), 53.
<https://doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>
- Ángeles, G., Brindis, F., Niizawa, S., y Martínez, R. (2014). *Cannabis sativa* L., una planta singular. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 45(4), 1–6.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952014000400004&lng=es&tlng=es.
- Anke, H., Kinn, J., Bergquist, K.-E., y Sterner, O. (1991). Production of siderophores by strains of the genus *Trichoderma*. *Biology of Metals*, 4(3), 176–180.
<https://doi.org/10.1007/BF01141311>
- Arcuma. (7 de noviembre de 2016). *La Botrytis cinerea en la marihuana - Blog Arcuma*.
<https://www.arcuma.com/dr.cannabis/botrytis-cinerea-marihuana.html>
- Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria ARSCA. (2021). *Instructivo externo inscripción de productos terminados de uso y consumo humano que contengan Cannabis no psicoactivo o cáñamo*. https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2021/04/Borrador-IE_Inscripcion-de-productos-terminados-de-uso-y-consumo-humano-que-contengan-canamo.pdf
- Brotman, Y., Kapuganti, J., y Viterbo, A. (2010). *Trichoderma*. *Current Biology*, 20(9), R390–R391. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.02.042>

- Camacho, A. (12 de febrero de 2021). *Cannabis testing; análisis de plaguicidas*.
<https://blog.analitek.com/cannabis-testing-analisis-de-plaguicidas-0-1>
- Candelerero, D., Cristóbal, A., Reyes, R., Tun, S., Gamboa, A., y Ruíz, S. (2015). *Trichoderma spp. promotoras del crecimiento en plántulas de Capsicum chinense Jacq. y antagónicas contra Meloidogyne incognita*. *Phyton (Buenos Aires)*, 84(1), 113–119.
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572015000100016&lng=es&tlng=es.
- Castro, Á., y Rivillas, C. (2012). *Trichoderma spp modos de acción eficacia y usos en el cultivo de café*. Cenicafé. <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/577/1/038.pdf>
- Coba, G. (8 de mayo de 2020). *Un nuevo tipo de “flor” viene al rescate de los floricultores*. Primicias. <https://www.primicias.ec/noticias/economia/nuevo-cultivo-flor-rescate-floricultores-covid/>
- Coba, G. (5 de agosto de 2021). *En Ecuador, 144 productos con CBD están autorizados para la venta*. Primicias. <https://www.primicias.ec/noticias/economia/productos-cbd-cannabis-autorizados-venta/>
- Colodron, D. (1 de agosto de 2019). *Cannabis Sativa L y sus diferentes especies*. The Beemine Lab. <https://thebeeminelab.com/cannabis-sativa-l-rompiendo-el-mito-de-la-hierba-parte-2/>
- Contreras, H., Macías, L., Cortés, C., y López, J. (2009). *Trichoderma virens, a Plant Beneficial Fungus, Enhances Biomass Production and Promotes Lateral Root Growth through an Auxin-Dependent Mechanism in Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 149(3), 1579–1592.
<https://doi.org/10.1104/PP.108.130369>
- Covacevich, F., y Consolo, V. F. (5 de mayo de 2014). *Manual de protocolos. Herramientas Para El Estudio y Manipulación de Hongos Micorrícicos Arbusculares y Trichoderma*, 3–24.

https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/108183/CONICET_Digital_Nro.a4735b83-3-2019-4ed0-bd08-d4bfaacfe40_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

El Universo. (19 de febrero de 2023). Ecuador será el punto de encuentro de la industria regional del cannabis. *El Universo*.

<https://www.eluniverso.com/noticias/economia/ecuador-sera-el-punto-de-encuentro-de-la-industria-regional-del-cannabis-nota/>

Espín, L. (2021). *Sistema inteligente de aprendizaje automático mediante el uso de un vehículo aéreo no tripulado (UAV) para el monitoreo de Oidium (sphaerotheca pannosa) en el cultivo de rosas de exportación en el Ecuador*. [Trabajo de titulación, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE]. <http://repositorio.espe.edu.ec/jspui/handle/21000/24469>

Fassio, A., Rodríguez, M. J., y Ceretta, S. (2013). *Cañamo (Cannabis sativa L.)*. INIA.

https://catalogo.latu.org.uy/opac_css/doc_num.php?explnum_id=2348

Ferrer, M., Romero, O., Andrade, P., Sánchez, P., Rivera, J. A., y Fernández, S. P. (2021).

Antifungal activity of *Trichoderma harzianum* and *T. koningiopsis* against *Fusarium solani* in seed germination and vigor of Miahuateco chili seedlings. *Mexican Journal of Phytopathology*, 39(2). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2101-5>

Fuentes, E. M., Patricia, L., y Arcos, A. (2020). El Cañamo (*Cannabis sativa L.*) para uso industrial y farmacéutico: una visión desde la industria alimentaria. *CienciAmérica*, 9(4), 99–106. <https://doi.org/10.33210/CA.V9I4.350>

Gams, W., y Bissett, J. (2002). Morphology and Identification of *Trichoderma*. En: Kubicek, C.P. and Harman, G.E., Eds., *Trichoderma and Gliocladium: Basic Biology, Taxonomy and Genetics* (pp. 3–31). Taylor y Francis.

Hoyos, L., Orduz, S., y Bissett, J. (2009). Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris L.*) by *Trichoderma*. *Biological Control*, 51(3), 409–416.

<https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2009.07.018>

- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología INAMHI. (2022). *Estadística agroclimática Decadal*. https://www.inamhi.gob.ec/meteorologia/boletines/bol_agr_dec.pdf
- Infante, D., Martínez, B., González, N., y Rreyes, Y. (2009). Mecanismos de acción Trichoderma frente a hongos Fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14–21.
https://www.researchgate.net/publication/262498589_MECANISMOS_DE_ACCION_DE_Trichoderma_FRENTE_A_HONGOS_FITOPATOGENOS
- Kakabouki, I., Tataridas, A., Mavroeidis, A., Kousta, A., Karydogianni, S., Zisi, C., Kouneli, V., Konstantinou, A., Folina, A., Konstantas, A., y Papastylianou, P. (2021). Effect of Colonization of Trichoderma harzianum on Growth Development and CBD Content of Hemp (Cannabis sativa L.). *Microorganisms*, 9(3), 518.
<https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9030518>
- Koppert. (5 de mayo de 2022). *Moho gris*. Koppert Ecuador.
<https://www.koppert.ec/retos/control-de-las-enfermedades/moho-gris/>
- Labomersa. (18 de mayo de 2022). *El Cannabis y sus avances en el Ecuador – Labomersa*.
<https://labomersa.com/2022/04/16/el-cannabis-y-sus-avances-en-el-ecuador/>
- Larios, O. E., López, É. Y., Curiel, A., Ruíz, F. de J., Solano, R., y Serrato, M. Á. (2020). Evaluación in vitro de métodos contra Botrytis cinerea. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(3), 593–606. <https://doi.org/10.29312/REMEXCA.V11I3.2077>
- Lee, S. K., Sohn, H. B., Kim, G. G., y Chung, Y. R. (2006). Enhancement of Biological Control of Botrytis cinerea on Cucumber by Foliar Sprays and Bed Potting Mixes of Trichoderma harzianum YC459 and Its Application on Tomato in the Greenhouse. *The Plant Pathology Journal*, 22(3), 283–288. <https://doi.org/10.5423/PPJ.2006.22.3.283>
- Lumbreras, P. (2017). *Influence of PO212 and the circadian rhythm on the resistance of pepper to Botrytis cinerea*. [Trabajo de fin de máster, Universidad de Coruña].

https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/19459/LumbrerasIglesias_Pilar_TFM_2017.pdf?sequence=2

- Mar, M. (5 de junio de 2023). Botrytis en la marihuana: Cómo prevenir y eliminar. *Blog sobre Marihuana y Cannabis*. <https://www.matillaplant.com/blog/botrytis-en-la-marihuana-como-prevenir-y-eliminar.html>
- Mercader, G., Flores, S., Vargas, G., y Von, E. (2006). Selección de hongos antagonistas para el control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros forestales en Chile. *Bosque (Valdivia)*, 27(2), 126–134. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002006000200007>
- Motta, P. A., y Murcia, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 6, 77–90. <https://doi.org/10.4136/1980-993X>
- O'Neill, T. M., Niv, A., Elad, Y., y Shtienberg, D. (1996). Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato stem wounds with *Trichoderma harzianum*. *European Journal of Plant Pathology*, 102(7), 635–643. <https://doi.org/10.1007/BF01877244>
- Osorio, E. (2017). Control biológico de fitopatógenos mediante aislados de *Trichoderma* spp. *Agro Productividad*, 10(3), 9–14. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/961>
- Palma, C. (2020). *Análisis del proceso de producción de cannabis medicinal con alto porcentaje de cannabidiol*. [Trabajo de Investigación, Universidad Católica San Pablo]. <https://repositorio.ucsp.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/a7c6f854-b871-4abe-89ab-603a1690aea7/content>
- Pincay, A., Noboa, M., Viera, W., Herrera, K., León, A., y Jackson, T. (2021). *Evaluación in vitro del potencial antagonista de Trichoderma sp. y hongos endófitos de mora (Rubus glaucus Benth) para el control de Botrytis cinerea*. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.4917695>

- Punja, Z. K. (2018). Flower and foliage-infecting pathogens of marijuana (*Cannabis sativa* L.) plants. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 40(4), 514–527.
<https://doi.org/10.1080/07060661.2018.1535467>
- Punja, Z. K. (2021). Emerging diseases of *Cannabis sativa* and sustainable management. *Pest Management Science*, 77(9), 3857–3870. <https://doi.org/10.1002/PS.6307>
- Punja, Z. K., Collyer, D., Scott, C., Lung, S., Holmes, J., y Sutton, D. (2019). Pathogens and Molds Affecting Production and Quality of *Cannabis sativa* L. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1120. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.01120/BIBTEX>
- Rhizo Sciences. (6 de julio de 2021). *Cherry Oregon*. <https://rhizosciences.com/about/>
- Romero, B., y Granados, E. (27 de abril de 2018). *Botrytis, biología del patógeno: la base de un control químico eficiente*. Syngenta Ornamentales.
<https://www.syngentaornamentales.co/news/articulo/botrytis-biologia-del-patogeno-la-base-de-un-control-quimico-eficiente>
- Samaniego, L. M., Harouna, M., Corbea, O., Rondón, A. J., y Placeres, I. (2018). Aislamiento, identificación y evaluación de cepas autóctonas de *Trichoderma* spp. antagonistas de patógenos del suelo. *Revista de Protección Vegetal*, 33(3).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522018000300003&lng=es&tlng=es.
- Sánchez, E., y Rincón, H. (2021). *Evaluación del efecto de bioestimulantes (Quitosano y Gluconato de Cu) en el control de Botrytis cinerea en una variedad de Cannabis sativa L. quimiotipo – CBD, Marinilla, Antioquia, Colombia*. [Proyecto de investigación, Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas].
<https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/4394/Evaluaci%C3%B3n%20del%20efecto%20de%20bioestimulantes%20%28Quitosano%20y%20Gluconato%20de%20Cu%29%20en%20el%20control%20de%20Botrytis%20cinerea%20en%20una%20variedad%20de%20Cannabis%20sativa%20L.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Sautua, F. (6 de julio de 2023). *Moho gris de la frutilla (Botrytis cinerea)*.
https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=835
- Senasa. (29 de noviembre de 2016). *Importancia del Control Biológico de plagas en la agricultura peruana - SENASA al día*.
<https://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/importancia-del-control-biologico-de-plagas-en-la-agricultura-peruana/>
- Şesan, T., Oancea, A., Ştefan, L., Mănoiu, V., Ghiurea, M., Răut, I., Constantinescu, D., Toma, A., Savin, S., Bira, A., Pomohaci, C., y Oancea, F. (2020). Effects of Foliar Treatment with a Trichoderma Plant Biostimulant Consortium on Passiflora caerulea L. Yield and Quality. *Microorganisms*, 8(1), 123. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010123>
- Siddiquee, S. (2017). Morphology-Based Characterization of Trichoderma Species. *SpringerLink*, 41–73. https://doi.org/10.1007/978-3-319-64946-7_4
- Silva, C., y Sandoval, B. (2004). *Alternativas de control de botrytis cinerea en leucadendron (proteaceae)*. [Tesis de pregrado, Universidad de Talca].
<http://dspace.otalca.cl/bitstream/1950/1477/1/CSilvaG.pdf>
- Silver river seeds. (2023). *Chery OG*. Silverriverseeds.
<https://silverriverseeds.com/producto/cherry-og/>
- Thomas, B., y ElSohly, M. (2016). The Botany of Cannabis sativa L. *The Analytical Chemistry of Cannabis*, 1–26. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804646-3.00001-1>
- Valenzuela, N. L., Viveros, F. M. L., Ortega, A. R., Vite, A. P., y Hernández, A. O. (2019). Trichoderma posible micoparásito de Sporisorium reilianum y su influencia en el rendimiento de maíz. *Entreciencias: Diálogos En La Sociedad Del Conocimiento*, 7(20).
<https://doi.org/10.22201/ENESL.20078064E.2019.20.67345>
- Van, R., y Abell, K. (2008). Classical and Augmentative Biological Control. In *Encyclopedia of Ecology* (pp. 486–492). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63768-0.00039-1>

- Vázquez, J. (16 de diciembre de 2020). *Botrytis cinerea: características, taxonomía, síntomas, control*. Liferder. <https://www.liferder.com/botrytis-cinerea/>
- Venini, M. (2 de abril de 2022). *Cultivo de Marihuana: Todo lo que Hay que Saber*. El Planteo. <https://elplanteo.com/todo-sobre-el-proceso-de-cultivo-de-marihuana/>
- Viera, W., Tello, C., Martínez, A., Navia, D., Medina, L., Delgado, A., Perdomo, C., Pincay, A., Báez, F., Vásquez, W., y Jackson, T. (2020). Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 128–149. <https://doi.org/10.36610/J.JSAB.2020.080200128>
- Villacis, A. S. (2021). *Evaluación de tres productos alternativos para control de Oídio (Oidium sp.) en el cultivo de mora (Rubus glaucus Benth) en la parroquia de Huachi grande*. [Proyecto de investigación, Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/34297/1/Tesis-296%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-%20Villacis%20Zamora%20Adriana%20Soraya.pdf>
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E., Marra, R., Woo, S., y Lorito, M. (2008). Trichoderma–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2007.07.002>
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., y Van Kan, J. (2007). Botrytis cinerea: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 561–580. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2007.00417.X>
- Yuen, J., y Forbes, G. (2009). Estimating the Level of Susceptibility to *Phytophthora infestans* in Potato Genotypes. *Phytopathology*®, 99(6), 782–786. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-6-0782>
- Zamudio, J. (4 de octubre de 2016). *Que es el Hongo Trichoderma, mecanismos de acción, usos: Control e hongos fitopatógenos*. Agrotransfer Conocimiento Sin Fronteras.

<https://www.agrotransfer.org/index.php/articulo-tecnico/795-que-es-el-hongo-trichoderma-mecanismos-de-accion-usos-control-de-hongos-fitopatogenos>