

**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO
SÁNCHEZ CARRIÓN**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA, INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS Y AMBIENTAL**

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE BIOCONTROLADORES
SOBRE *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary EN EL CULTIVO DE
TOMATE (*Solanum lycopersicum* L) EN HUARAL**

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

SERGIO ROBERTO INCA GARAY

HUACHO-PERU

2021

**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO
SÁNCHEZ CARRIÓN**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA, INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS Y AMBIENTAL**

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE BIOCONTROLADORES
SOBRE *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary EN EL CULTIVO DE
TOMATE (*Solanum lycopersicum* L) EN HUARAL**

Sustentado y aprobado ante el Jurado evaluador



PhD. Contreras Liza, Sergio Eduardo

Presidente



Mg.Sc. Quispe Ojeda, Teodosio Celso

Secretario



Mg.Sc. Mendoza Nieto, Eroncio

Vocal



Dra. María del Rosario Utia Pineda

Asesor

HUACHO-PERU

2021

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado primeramente a Dios por otorgarme salud y perseverancia para lograr mis objetivos, a mi madre Karina por su apoyo incondicional , por sus concejos y motivación que me han sabido encaminar para ser una persona de bien , a mi padre Roberto por ser ejemplo de esfuerzo, y por ser perseverante conmigo, a mi abuela Gloria que siempre me apoyo y por ser un ejemplo de superación y fuerza, a mi asesor , Dr. Utia Pinedo, María del Rosario por el apoyo para la elaboración de la presente tesis, y finalmente a la persona que me motivo e inspiro a ser una mejor persona, que me enseñó a no tener miedo a los cambios y nuevas oportunidades que se te presentan y seguir avanzando para cumplir con mis objetivos CLVR, a todos ustedes que fueron partícipes de este proceso con mucho cariño y amor.

AGRADECIMIENTO

El presente proyecto no hubiera sido posible sin el apoyo profesional de mi asesor Dr. Utia Pinedo, María del Rosario y el apoyo incondicional del Ing. Roberto Hugo Tirado Malaver que fueron participes en cada momento del presente proyecto de investigación.

Dicen que la mayor herencia que pueden dejar los padres son los estudios, sin embargo, mis padres me han dado mucho más que particularmente creo son más importantes como buenos valores, que me han permitido trazar mi propio camino.

Asimismo, deseo agradecer a todos mis maestros que me supieron aconsejar y educar, que me sirvieron de mucho en mi vida.

Finalmente agradecer a mi familia que siempre estuvo apoyándome en todo momento y a todas las personas que estuvieron conmigo durante este proceso, gracias por su incondicional apoyo, y también agradecer a las personas que me ponían trabas y obstáculos en mi camino, y mucho más a los que me exigían, porque gracias a ellos siempre quise dar lo mejor de mí.

INDICE

	Página
Carátula	i
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
INDICE	v
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: Planteamiento del problema	2
1.1 Descripción del problema	2
1.2 Formulación del problema	2
1.2.1. Problema General	2
1.2.2. Problemas Específicos	2
1.3. Objetivos de la investigación	3
1.3.1 Objetivo general	3
1.3.2 Objetivos específicos	3
1.4. Justificación de la investigación	3
1.5. Delimitaciones del estudio	4
1.5.1 Delimitación espacial	4
1.5.2 Delimitación temporal	4
1.5.2 Delimitación social	4
1.6. Viabilidad del estudio	4
CAPÍTULO II: Marco teórico	5
2.1 Antecedentes de la investigación	5
2.2 Bases teóricas	6
2.2.1. Origen del tomate	6
2.2.2 Taxonomía	6
2.2.3 Descripción botánica	7
2.2.4 Fenología del cultivo	8
2.2.5 Requerimiento de suelo	9
2.2.6 Requerimiento de clima	9

2.2.7 Características del moho blanco (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>)	10
2.2.8 Ciclo de vida y biología del hongo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	11
2.2.9 Infección del hongo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en plantas	11
2.2.10 Sintomatología de la enfermedad del hongo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	12
2.2.11 Manejo de control del hongo patógeno moho blanco	15
2.4 Formulación de hipótesis	16
2.4.1. Hipótesis general	16
2.4.2. Hipótesis específicas	16
CAPÍTULO III. METODOLOGIA	17
3.1 Diseño metodológico	17
3.1.1 Ubicación	17
3.1.2 Materiales e insumos	17
3.1.3 Diseño experimental	18
3.1.4 Tratamientos	18
3.1.5 Características del área experimental	18
3.1.6 Variables a evaluar	19
3.1.7 Conducción del experimento	20
3.2 Población y muestra	24
3.2.1 Población	24
3.2.2 Muestra	24
3.3 Técnicas de recolección de datos	25
3.4 Técnicas para el procesamiento de la información	25
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	26
CAPÍTULO V. DISCUSIONES	35
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	40
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ANEXOS.	45

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Propuesta del ANVA (análisis de variancia)	17
Tabla 2. Cuadro de la operacionalización de variables	19
Tabla 3. Tratamientos a estudiar	20
Tabla 4. ANVA para el grado de severidad de la enfermedad de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> utilizando biocontroladores asociadas al tomate	25
Tabla 5. Comparación de medias para la severidad de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> utilizando biocontroladores asociadas al tomate	25
Tabla 6. ANVA para el porcentaje de incidencia de la <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> utilizando biocontroladores asociadas al tomate	26
Tabla 8. Comparación en el porcentaje de incidencia de la <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> utilizando biocontroladores asociadas al tomate	26
Tabla 9. ANVA para el avance del ABCPE de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> utilizando biocontroladores asociadas al tomate	27
Tabla 10. Comparación de medias el avance del ABCPE de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> utilizando biocontroladores asociadas al tomate	27
Tabla 11. ANVA para la eficiencia de control de la enfermedad de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> utilizando biocontroladores en tomate	28
Tabla 12. Comparación de medias para la eficiencia de control de la enfermedad de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> utilizando biocontroladores en tomate.	28
Tabla 13. ANVA para la altura de la planta de tomate utilizando biocontroladores en tomate.	29
Tabla 14. Comparación de medias para la altura de la plantade tomate	30
Tabla 15. ANVA para el peso fresco de la raíz del tomate	31
Tabla 16. Comparación de medias para el pesofresco de la raíz del tomate	32
Tabla 17. ANVA para el pesofresco de la parte aérea del tomate	33
Tabla 18. Comparación para el pesofresco de la parte aérea del tomate	34

Tabla 19. ANVA en el rendimiento del tomate	36
Tabla 20. Comparación para rendimiento del tomate	37
Tabla 21. Datos de campo para severidad	47
Tabla 22. Datos de campo para incidencia	47
Tabla 23. Datos de campo para ABCPE	47
Tabla 24. Datos de campo para eficiencia de control de la enfermedad de moho blanco	48
Tabla 25. Datos de campo para altura de planta	48
Tabla 26. Datos de campo para peso fresco de la raíz	48
Tabla 27. Datos de campo para peso fresco del follaje del tomate	49
Tabla 28. Datos de campo para rendimiento del tomate (g planta ⁻¹)	49

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Croquis experimental del campo	18
Figura 2. Evaluando plantas de tomate con síntomas de la enfermedad	50
Figura 3. Evaluación de tallos (A) y presencia de muerte de ramas (B)	50
Figura 4. Fase de laboratorio: Aislamiento e Identificación de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	51
Figura 5. Fase de campo: preparación del sustrato	52
Figura 6. Fase de campo: instalación del tomate	53
Figura 7. Asignación de los tratamientos	54
Figura 8. Aplicación de los tratamientos	55
Figura 9. Cosecha del tomate	56

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en el control de *Sclerotinia sclerotiorum* en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima. **Métodos:** El estudio se llevó a cabo en Huando – Huaral - Lima. Se aplicaron biocontroladores, un fungicida químico y un testigo sin control en cada bloque, haciendo un total de 5 tratamientos; en unidad experimental de 4 surcos y a una distancia entre planta de 0,5 m. Las variables evaluadas fueron: severidad, incidencia, ABCPE, eficiencia de control, tamaño de planta, peso fresco de la raíz y parte aérea de la planta y rendimiento de tomate. Se usó el diseño de bloques completos al azar y la prueba de Tukey al 5% para comparar los tratamientos. **Resultados:** *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum* reportaron menor porcentaje de incidencia de la enfermedad de *S. sclerotiorum* con 25 y 12.5% y baja severidad con un grado de 1. *Bacillus subtilis* fue el más eficiente con 76,25% de control debido a su menor valor de ABCPE, además, presentó un mayor tamaño de planta con 78.5cm, peso fresco de raíz (11,05 g) y de la parte aérea (32,98 g), además reportó mayor rendimiento con 1535 g planta⁻¹ de tomate cv. Aisha. **Conclusión:** *T. harzianum* y *B. subtilis* presentaron influencia significativa en el control de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum*, además *Bacillus subtilis* reportó mayor rendimiento de tomate cv. Aisha en Huaral – lima.

Palabras claves: Biocontrolador, cepas, fungicida, incidencia, severidad.

ABSTRAC

Objective: To evaluate the effect of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* on the control of *Sclerotinia sclerotiorum* in tomato cultivation cv. Aisha in Huaral - Lima.

Methods: The study was carried out in Huando - Huaral - Lima. Biocontrollers, a chemical fungicide and an uncontrolled control were applied in each block, making a total of 5 treatments; in experimental unit of 4 rows and at a distance between plant of 0.5 m. The variables evaluated were: severity, incidence, ABCPE, control efficiency, plant size, fresh root weight and aerial part of the plant and tomato yield. The randomized complete block design and the 5% Tukey test were used to compare the treatments.

Results: *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* reported the lowest incidence rate of *S. sclerotiorum* disease with 25 and 12.5% and low severity with a grade of 1. *Bacillus subtilis* was the most efficient with 76.25% control due to its lower value of ABCPE, in addition, presented a larger plant size with 78.5cm, fresh root weight (11.05 g) and the aerial part (32.98 g), also reported higher yield with 1535 g plant⁻¹ of tomato cv. Aisha

Conclusion: *T. harzianum* and *B. subtilis* presented significant influence in the control of *Sclerotinia sclerotiorum* disease, in addition *Bacillus subtilis* reported a higher yield of tomato cv. Aisha in Huaral - Lima.

Keywords: Biocontroller, strains, fungicide, incidence, severity.

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Lycopersicon sculentum* Mill) es la segunda hortaliza más importante del mundo debido a la aceptación de los consumidores por su nivel nutritivo que posee (Monzón, 2016). Sin embargo, es afectado por diferentes plagas y enfermedades, de las cuales la enfermedad llamada moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*) el cual es un hongo patógeno que produce una de las enfermedades de importancia en el cultivo de tomate en toda la costa central del Perú, limitando su producción.

Hoy en día, el manejo fitosanitario del tomate en especial el moho blanco requiere un extenso uso de fungicidas durante el ciclo del cultivo. En un intento por reducir la contaminación ambiental y humana, se han empleado métodos alternativos. Esta nueva forma de producción agrícola puede clasificarse de diferentes maneras, dependiendo de los principios involucrados, empleando el control biológico (Silveira et al., 2015).

El manejo de este hongo patógeno se realiza usando fungicidas químicos que muchas veces al ser aplicados no logran resultar como se espera, siendo ineficaz el control lo que provoca en los agricultores optar por otras estrategias para controlar, ya que esta enfermedad causa pérdidas económicas muy importantes en el tomate (Ayala, 2014). Las prácticas de control biológica tienen como objetivo reducir el número de esclerocios en el suelo o crear condiciones desfavorables para el desarrollo de la enfermedad (Derbyshire y Denton, 2016).

Existe una alternativa de manejo del control del hongo *S. sclerotiorum* el cual es el uso de controladores biológicos que permite reducir el excesivo uso de los fungicidas químicos para controlar la enfermedad de este hongo mencionado. Por lo que el uso de agentes biocontroladores deben ser tomados en cuenta en los programas de manejo integrado, siendo necesario su aplicación en el momento indicado y las dosis de acuerdo al cultivo y su grado de ataque del hongo patógeno, asimismo, se debería incluir el control cultural, físico y genético para el control total de las enfermedades del tomate (Tarazona, 2009). Por lo que es necesario realizar uso del control biológico para el control efectivo del hongo patógeno “*S. sclerotiorum*” en comparación con el control químico en tomate bajo condiciones de Huando- Huaral-Lima.

CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

Los daños en el cultivo de tomate por parte de este hongo fitopatógeno ocasionan pérdidas económicas en los productores. Lo que provoca el uso del control químico de moho blanco del tomate lo cual genera una serie de problemas como desequilibrio del control natural, problemas en la salud del aplicador y la contaminación del ambiente y mayores gastos en los agricultores. Por lo que, al aumentar la conciencia sobre los fertilizantes químicos y pesticidas, es importante buscar alternativas que permitan desarrollar un control más efectivo y sostenible para el agricultor y esto podría dar uso con las cepas microbianas específicas que tienen capacidad para actuar como promotores potenciales del crecimiento de las plantas y agentes de control biológico (Ouhaibiet al., 2016). Ante esta problemática se propone evaluar la eficacia que tiene los biocontroladores como el *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en el moho blanco y su influencia en la productividad del tomate, en Huando, Huaral provincia de Lima.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Cuál es el efecto de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en el control de *Sclerotinia sclerotiorum* en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima?

1.2.2 Problemas específicos

¿Cuál de los biocontroladores tendrá menor grado de severidad y la incidencia de *Sclerotinia sclerotiorum*, en tomate en Huaral – Lima?

¿Cuál de los biocontroladores tendrá mayor eficiencia de control, respecto al ABCPE en Huaral – Lima?

¿Cuál será el efecto de los biocontroladores sobre el moho blanco en función en el rendimiento de tomate en Huaral – Lima?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en el control de *Sclerotinia sclerotiorum* en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima.

1.3.2 Objetivos específicos

Evaluar la severidad y la incidencia de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum*, en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima.

Determinar la eficiencia de los biocontroladores con respecto al ABCPE en Huaral – Lima.

Evaluar el rendimiento de tomate cv. Aisha con respecto al control de la *Sclerotinia sclerotiorum* en Huaral – Lima.

1.4 Justificación de la investigación

Sclerotinia sclerotiorum es un hongo patógeno de importancia que vive en el suelo donde se siembra el tomate. La infección de la planta ocurre por germinación micelológica de esclerocios o por ascosporas liberadas por apotecios durante la germinación carpogénica de esclerocios. Los esclerocios germinantes miceliogénicos son la principal fuente de infección en el procesamiento de los cultivos de tomate que llevan a la putrefacción de la parte aérea que entra en contacto con el suelo (Purdy, 1979 citado para Ouhaibiet al., 2016). Además, actualmente no se dispone de resistencia conocida al moho blanco para el tomate y no se ha registrado ningún fungicida para el control de patógenos. Por lo tanto, el control biológico usando microorganismos nativos y naturales dentro de la rizosfera del tomate puede ser efectivo para controlar la enfermedad (Ouhaibiet al., 2016). Además, estos biocontroladores podrían ser útiles como biofertilizantes y biofungicidas y el crecimiento de las plantas una vez que su efectividad haya sido probada en condiciones de campo. (Ouhaibiet al., 2016).

1.5 Delimitaciones del estudio

1.5.1 Delimitación espacial

Este experimento se realizó en la finca “La Herradura” la cual se encuentra en Huando ubicada en la provincia de Huaral del departamento de Lima, geográficamente se ubica a una longitud de 77°10'12.28"O y latitud de 11°29'8.19"S, a una altura de 247 msnm.

1.5.2 Delimitación temporal

El estudio se ejecutó entre el mes de agosto de 2018 a enero del 2019.

1.5.3 Delimitación social

En cuanto a la delimitación social esta tesis fue socialmente justa ya que sus resultados permiten dar solución a los problemas que genera el hongo *S. sclerotiorum*, no usando fungicidas químicos dañinos para la salud del agricultor y del medio ambiente en el cultivo de tomate cv. Aisha.

1.6 Viabilidad del estudio

El análisis y determinación de la tesis es una investigación viable por lo que los recursos económicos fueron parte del tesista para realizar el proyecto, y con apoyo de los productores de tomate de la zona de Huando distrito de Huaral provincia de Lima, en cuanto a los recursos humanos, el tesista aportó con la mano de obra en cuanto a la aplicación de los tratamientos y durante el crecimiento y desarrollo del cultivo apoyo los agricultores de tomate.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

Pinedo (2017) menciona que el tomate es un cultivo hortícola anual ampliamente distribuido alrededor del mundo y con un gran valor nutricional especialmente por su contenido de vitaminas y antioxidantes.

El moho blanco provocado por *Sclerotinia sclerotiorum* es un hongo patógeno que vive en los suelos y es causante de la enfermedad del moho blanco, el cual produce síntomas como la podredumbre húmeda cubierta por un micelio blanco algodonoso en la superficie del suelo y/o tejido hospedador produciendo eventualmente estructuras de resistencia denominadas esclerodos (Cardoso, 1990 citado por Ethur, 2001).

Ethur et al. (2005) indicaron que *Trichoderma spp.* es un prometedor agente de biocontrol, en su estudio de investigación aislaron y trataron varios hongos controladores de los esclerocios de *S. sclerotiorum*, como *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, pero solo los aislados de *Trichoderma* demostraron la capacidad de inhibir el crecimiento micelial de *S. sclerotiorum*. Chitrampalam et al. (2008), mientras probaban productos biológicos comerciales formulados con *T.harzianum*, *Gliocladiumvirens*, *C.minitans* y *Bacillus subtilis* para el manejo del moho blanco, observaron que el producto formulado con *C. minitans* era capaz de controlar *S. sclerotiorum*.

López (2010) seleccionaron tres cepas bacterianas con capacidad antagónica a *S. sclerotiorum in vitro* y en tejidos vegetales, siendo estas cepas identificadas como *P. putida*, *B. amyloliquefaciens* y *B. subtilis*, los cuales pertenecen al grupo de bacterias utilizadas como agentes de biocontrol de fitopatógenos.

Zhou y Boland (1998) señalan que el biocontrolador *Trichoderma* son usados para reducir los de esclerocios del moho blanco que habita en el suelo donde se cultivan las plantas. Estos hongos tienen un alto potencial en el biocontrol y se usa mucho en diferentes sistemas patológicos.

Dos Santos y Dhingra (1982) citado por Pieckenstain (2002) sostienen que la aplicación con *Trichoderma* en los suelos cultivados con concentraciones de 108 conidios de este biocontrolador logra obtener 100% de esclerocios parasitados y en consecuencia permite perder su actividad a los 60 días aproximadamente en el campo agrícola, influyendo en una buena producción del cultivo.

Tarazona (2009) indica que al determinar la eficiencia del control biológico y químico para controlar *Sclerotinia sclerotiorum*. Encontraron que los químicos redujeron 100% del micelio de *S. sclerotiorum* visto en el día siete. Asimismo, el producto a base de sulfato de cobre pentahidratado con una dosis de 2 l ha⁻¹ logró reducir 97.5%. Por otro lado, los biocontroladores como el *Bacillus subtilis* 3 l ha⁻¹ redujo 100% de *S.sclerotiorum*, con el uso de *Trichoderma harzianum* a dosis de 0,3 kg ha⁻¹ redujo alrededor de 33,3%.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Origen del tomate

Se encontraron evidencia de que el origen del tomate fue en América tropical es decir que se originó inicialmente por plantas silvestres y luego los habitantes comenzaron con la domesticación sobre todo en los Andes de Sudamérica que forman parte de países como Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile, encontrándose mayor biodiversidad y variabilidad en plantas silvestres y nativas del tomate (Valadez, 1998 citado por Gonzales, 2016). Asimismo, Janick (1965) citado por Gonzales (2016) menciona que el tomate se originó en Sudamérica y se introdujo a Europa entre el 1540 a 1545 siendo los españoles que conquistaron fueron lo llevaron al viejo continente.

2.2.2 Taxonomía

El cultivo de tomate se encuentra dentro de los siguientes taxones (ITIS): el reino pertenece al plantae, la división es magnoliophyta y a la clase magnoliopsida y subclase asteridae, en cuanto al Orden esta pertenece a la solanales y a la familia solanáceas, y al género es *Solanum* y la especie *lycopersicum*. Siendo el nombre científico *Solanum lycopersicum* “tomate”.

2.2.3 Descripción Botánica

a. Tipo de planta

El tomate es una planta de tipo perene, y se produce anualmente de forma rastrera. Posee dos tipos de crecimiento, uno de ellos es el crecimiento indeterminado el cual crece de verticalmente ya que su ápice produce una yema vegetativa en cambio el segundo crecimiento indeterminado el tamaño es limitado ya que cuenta con una yema floral en el ápice Cisneros, 2013).

b. Raíz

La raíz tiene un sistema constituido por una raíz pivotante que logra sostener toda la planta y de ella se forma raíces laterales los cuales son fibrosas y tiene pelos absorbentes de nutrientes y el agua, se puede desarrollar más de un metro de diámetro. En cuanto a la profundidad de 21 a 50 cm que contiene alrededor de 81% del total de raíces (Rodríguez y Morales, 2007).

c. Tallo

El tallo del tomate es herbáceo con una forma acilindrada y angular. En la superficie del tallo tiene tricomas que liberan secreciones viscosas de un color amarillento verdoso. El tamaño del tallo varía entre los 31 cm y puede llegar a más de 100 m de altura según el tipo de crecimiento de la variedad que se este sembrando y estas pueden ser determinado e indeterminado (Rodríguez y Morales, 2007).

d. Hojas

Las hojas de la planta de tomate son pinnadas y compuestas con peciolo y con bordes dentados, los cuales están constituidos entre 7 y 9 folíolos en su superficie tienen pelos que tienen glándulas que liberan sustancias viscosas cuando estas están siendo atacadas. Las hojas están insertadas sobre el tallo de forma alternada (Monzón, 2016).

e. Flores

Las flores del tomate se forman en racimos y son ramificados constituidos en los diferentes tipos y se puede observar de 3 y 10 flores y según las especies que llegan a más de 50 (Maroto, 2002). Tienen un color amarillento (Rodríguez y Morales, 2007). La flor es hermafrodita y son perfectas ya que cuentan con pétalos y sépalos. Este tipo de flor que le permite tener autopolinización (Rodríguez y Morales, 2007).

f. Fruto

El fruto del tomate es una baya con peso aproximadamente de 100 a 600g. Esta constituido por tejidos que cubren las semillas. Una vez que la flor se autopoliniza se inicia la fructificación el ovario se empieza a engrosarse dando forma al fruto y este termina al llegar su máximo peso y comienza a tomar una coloración llegando a su madurez, para luego cosecharse cortándose del peciolo (Cisneros, 2013).

2.2.4 Fenología del cultivo

El tomate está constituido durante su crecimiento pasa por diferentes estadios en el ciclo total (Nuez et al., 1999). Se divide en las siguientes etapas.

La etapa de inicio, está conformada por la germinación de la semilla y su emergencia a través del suelo formando sus primeras 5 hojas que le permite fotosintetizar, el tiempo que recurre toda esta etapa depende de la variedad que se esta sembrando y puede estar entre 20 a 30 días (Bolaños, 2001).

La etapa vegetativa, comienza luego de la etapa de inicio, se forma en esta etapa el follaje de la planta de tomate, y depende del tipo de crecimiento determinado o indeterminado que posee el tomate. La duración en esta etapa depende del crecimiento y de la variedad utilizada. El fin de esta etapa se da hasta que aparece el botón florar. La planta florece entre 51- 80 días, desde la fase inicial (Bolaños, 2001).

La etapa reproductiva y de maduración, en esta etapa se inicia desde el botón floral el cual puede durar entre 50 a 80 días, según la variedad, para luego pasar al estado de fructificación que tiene una duración de 31 a 41 días, sin embargo dependerá del crecimiento en el tomate (Bolaños, 2001).

2.2.5 Requerimiento de suelo

El cultivo de tomate se siembra en suelos que tienen textura y estructuras de diferentes tipos, pero tener en claro que estos suelos deben ser sueltos y con buen drenaje, por lo que se debe realizar un buen manejo de preparación antes de instalar el cultivo, contando con las propiedades químicas del suelo como la conductividad y el pH el cual se lleva bien entre 6.1 a 6.9 (Cisneros, 2013). Las raíces del tomate pueden penetrar eventualmente hasta 1,20m de profundidad si no hay barreras a su penetración. Por esta razón y bajo condiciones ideales, el tomate debe recibir riegos profundos que mojen más que la capa superficial del suelo (Pinedo, 2017). El agua es una fuente importante en la producción del tomate, por lo que es necesario contar con la evapotranspiración que tiene el cultivo para determinar el requerimiento hídrico en las plantas y lograr una buena producción, ya que los frutos del tomate más del 90% es agua y el resto son sólidos solubles (Gonzales, 2016).

2.2.6 Requerimiento de clima

Entre los requerimientos del clima que exige el tomate para un buen desarrollo tenemos la temperatura. En tanto en el día la temperatura que necesita el tomate durante el día está entre 19 y 31°C y la temperatura nocturna se encuentre en 13 a 17°C (Cisneros, 2013). La humedad relativa que necesita el tomate está entre 60 y 80%, lo cual permite un buen desarrollo, en cuanto a los vientos deben ser ligeros. La radiación debe estar entre 0.80 a 0.90 MegaJoules m² son más requeridos durante las etapas de floración y fructificación (Cisneros, 2013).

2.2.7 Características del moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*)

Sclerotinia sclerotiorum es un patógeno fúngico necrotrófico ascomiceto homotálico disperso en forma de ascosporas en el aire o esclerocios en el suelo. Es uno de los hongos patógenos más devastadores y cosmopolitas en las plantas en diferentes suelos e infectan a más de 500 especies de plantas y cultivos. Asimismo, se considera que este hongo patógeno muy grave en muchos cultivos sobre todo en tomate porque es capaz de infectar múltiples órganos como las raíces, tallos, frutas y flores, además, puede sobrevivir durante muchos años en los suelos (Dutta et al., 2016).

La ocurrencia generalizada, el daño extenso a los cultivos, la falta de resistencia duradera del huésped y la dificultad general de manejar las enfermedades causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* han sido el ímpetu para una investigación exhaustiva sobre este patógeno. También se sabe que el patógeno inflige daños y pérdidas considerables en varias plantas de cultivo económicamente importantes en el subcontinente indio. Aunque se sabe que *S. sclerotiorum* afecta el sistema de producción de cultivos de la India durante varias décadas, el impacto se siente mucho más en los últimos años, especialmente en las zonas subtropicales durante los inviernos, probablemente con la aparición de formas virulentas del patógeno junto con los cambios climáticos. condiciones a proporciones más favorables. Los investigadores también se han sentido atraídos por los trabajos para comprender mejor la etiología, la fisiología, la genética molecular del patógeno, etc., para desarrollar una estrategia de gestión holística para contener este patógeno vegetal emergente (Dutta et al., 2016).

Según la literatura publicada, el rango acumulativo de huéspedes en las plantas aumentando casi doce veces durante las últimas tres décadas. Sin embargo, hay muchos anfitriones importantes del patógeno que pueden no ser informados formalmente, pero se sabe que están infectados como lo muestran varios estudios sobre el manejo y otros aspectos. Dichos cultivos incluyen varios vegetales que incluyen guisantes, hortalizas como el tomate, cucurbitácea como el repollo, y entre varios cultivos de legumbres, incluido el frijol (Dutta et al., 2016).

2.2.8 Ciclo de vida y biología

Con respecto al ciclo del patógeno este pasa el invierno como esclerocios en el suelo, es decir cuando el suelo está en descanso el *S. sclerotiorum* está en forma de esclerocios en el suelo. Los esclerocios que se encuentran en la superficie o también en lado superior alrededor de 2-3 cm del suelo logran germinar y producen cuerpos reproductivos sexuales llamado también apotecia. Cada esclerotio produce una o varias apotecias. Los apotecios tienen forma de copa y son blancos, aunque también pueden ser amarillos y marrones. Los ascos cilíndricos-clavados se producen en la apotecia. Las temperaturas entre 11-15 °C son favorables para la formación de apotecia. Las ascosporas son expulsadas y transportadas por el viento a las plantas. Una vez que se ha producido un crecimiento fúngico suficiente en el tejido muerto o senescente, estos patógeno comienzan a invadir los tallos sanos de las plantas. Se requieren largos períodos de humedad continua alrededor de 16-72 h, ya sea tanto para la infección por ascosporas en el tejido senescente como para la posterior infección de la parte viva de la planta. Es probable que cualquier afección que contribuya a la mala circulación del aire y la retención de humedad agrave la enfermedad (Babadoost, 2014).

2.2.9 Infección

El daño durante la infección, forma grandes lesiones blancas/grises en los tallos de la planta huésped, lo que perturba el desarrollo de la planta y disminuye el rendimiento. Debido a su capacidad para producir estructuras de almacenamiento a largo plazo llamadas esclerocios, el inóculo de *S. sclerotiorum* puede persistir durante largos períodos en el suelo (Derbyshire y Denton-Giles, 2016).

En el proceso de infección el hongo produce enzimas que degradan la pared celular, además se sabe que el ácido oxálico producido por el hongo juega un papel importante en la patogénesis (López, O. 2010).

2.2.10 Sintomatología

El moho blanco generalmente se observa por primera vez en el tomate sobre el momento de la floración. La infección generalmente comienza en las axilas de las hojas o en las articulaciones del tallo donde se caen los pétalos de las flores. Las áreas empapadas de agua se desarrollan en estos sitios. Posteriormente se invaden los tallos, que se vuelven de color gris claro, y las plantas se tiñen. Durante el clima fresco y húmedo, el micelio algodonero a menudo es evidente en los tallos enfermos. Los esclerocios se producen en estera de micelios. También se forman fácilmente dentro de los tallos, asumiendo una forma alargada en la dirección de la cavidad del tallo. El hongo también puede ingresar a las plantas en la línea del suelo, especialmente si hay tejido senescente. El crecimiento micelial explica cierta propagación de planta a planta, especialmente en casos de crecimiento exuberante. La fruta también puede estar infectada. Típicamente, la fruta infectada es gris y se descompone rápidamente en podredumbre acuosa. A menudo se desarrolla un anillo de esclerocios alrededor del cáliz (Babadoost, 2014).

El síntoma de las enfermedades de esclerotinia es más o menos similar independientemente de las plantas o partes de la planta afectadas. En la mayoría de los casos, es el signo del crecimiento fúngico algodonero blanco o grisáceo blanco en las partes afectadas de la planta que se conoce popularmente como "moho blanco". Los síntomas pueden ser visibles en cualquier parte de una planta. Se puede postular que cuando el inóculo inicial es un esclerocio transmitido por el suelo, las partes de la planta cercanas a la región del suelo se ven afectadas, mientras que las ascosporas del patógeno transmitidas por el aire pueden iniciar la enfermedad en cualquier parte aérea de una planta, incluyendo frutas, flores, hojas, ramitas, ramas jóvenes del tallo, etc. los resultados del trabajo realizado en Bengala Occidental mostraron que en los casos de *Phaseolus vulgaris* las vainas verdes, tallos, pedicelos, ramas jóvenes y bases del pecíolo estaban cubiertas por micelios blancos de algodón densos bajo un rango de temperatura de 16 -20 °C junto con la humedad de las partes aéreas y la alta humedad del suelo (Dutta et al., 2016).

2.2.11 Manejo de control del hongo patógeno “moho blanco”

Además, actualmente no se dispone de resistencia conocida al moho blanco para el tomate y no se ha registrado ningún fungicida para el control de patógenos en Túnez. Por lo tanto, el control biológico utilizando microorganismos indígenas y naturales dentro de la rizosfera del tomate puede ser efectivo para controlar la enfermedad (Ouhaibi et al., 2016).

Los agentes de biocontrol han recibido una considerable atención por el control de las enfermedades de las plantas transmitidas por el suelo y por el aire. Biocontrol es ecológico, seguro y puede proporcionar protección a largo plazo al cultivo. La reducción de la incidencia y la gravedad de la podredumbre del tallo de *Sclerotinia* se ha demostrado en numerosos estudios y se logró un control exitoso de la enfermedad utilizando hongos (Ouhaibi et al., 2016).

El análisis de la información disponible a través de la literatura indica que los trabajadores en India han tratado principalmente de abordar el problema del manejo de *S. sclerotiorum* a través de agentes de control biológico, químicos, productos botánicos, enmiendas del suelo y enfoques culturales. La mayoría de los investigadores trabajaron en estrategias de gestión ecológicamente seguras, como el control biológico, los extractos de plantas y microbios, no solo debido a la creciente preocupación por el impacto adverso de los productos químicos en las formas de vida y el medio ambiente, sino también debido a la naturaleza del *S. sclerotiorum*, la medida de control duradera es difícil de lograr a menos que se adopten estrategias de manejo biointensivo (Dutta et al., 2016).

Varios trabajadores utilizaron veintiocho tipos diferentes de microorganismos antagonistas, de los cuales la mayoría se basó en *T.harzianum* y *T.viride* solo o en modo de consorcio con diferentes especies de los mismos antagonistas o con completamente diferentes tipos de antagonistas para combatir las enfermedades de esclerotinia, vale la pena mencionar *T. harzianum* + *B. subtilis*. También la integración de varios antagonistas con el modo de aplicación estratificado temporalmente, como el tratamiento de semillas con *T. harzianum*, son necesarias varias especies de *Bacillus*, entre el uso de productos orgánicos de plantas (Dutta et al., 2016).

Con respecto al biocontrol, Pieckenstain (2002) hace mención que existe 3 estrategias para controlar hongos patógenos: la primera es manteniendo un índice normal de la población del patógeno, la segunda es neutralizar la infección a la planta y el tercero es reducir el crecimiento del hongo patógeno y las estructuras de reserva del patógeno.

Asimismo, se debe aplicar antagonistas sobre el hongo patógeno con la finalidad de reducir el ataque y eliminación de las estructuras de reservas que se encuentran en el suelo para evitar la emergencia del hongo y así tener campos libres de estos patógenos (Pieckenstain, 2002).

2.3 Definiciones conceptuales

- **Célula hifal:** Se refiere a una estructura que cuenta con filamentos ovales o circulares en forma de red que posee las células hifales del hongo patógeno. Estas células son largas y forma tubular sujetas en el exterior con paredes celulares hechas de proteínas a base de quitina. Además, el agrupamiento de estas células mencionadas o hifas se le llaman micelio.
- **Control biológico:** Es un tipo de control que forma parte del manejo integrado de plagas y enfermedades, los cuales son un conjunto de diferentes controles tanto físico, cultural, químico y genético, que permiten un control efectivo de las plagas insectos, hongos, bacterias y virus. Este tipo de control se basa es reducir o parasitar los patógenos con el uso de microorganismos biológicos, por el cual el control es más eficaz.
- **Control químico:** Este tipo de control se basa en uso de químicos cuyos ingredientes activos son los que reducen el avance de los patógenos. Sin embargo, es el ingrediente activo el que provoca incidencia en la salud de los humanos al consumir el productovegetal el cual se le aplico dicho ingrediente activo, asimismo, provoca alteraciones en los aplicadores del producto, y son dañinos también para el ambiente donde se cultivan y aplican dichos productos ya que estos van a la atmosfera o pueden contaminar los ríos o lagos.
- **Esclerodos:** Es una estructura del hongo *Sclerotinia sclerotiorum* que permiten al hongo sobrevivir en el suelo hasta por 12 años.

- **Evapotranspiración:** Este es un término de mucha importancia ya que gracias a ello se puede determinar las necesidades hídricas de todas las plantas ya sean estas anuales o perennes como lo frutales. Este término es compuesto de dos factores; la primera es la evaporación del agua a través del suelo y la segunda es la transpiración normal de toda planta, sumando da la evapotranspiración.
- **Esclerotes:** Masa dura compuesta de micelio entretrejido. Resistente a las condiciones ambientales adversas. Visibles a simple vista.
- **Esclerocio:** Un esclerocio consiste en agrupaciones compactadas de células hifales formando una masa dura y en ellas contienen alimento las cuales lo usaran para sobrevivir en el suelo mucho tiempo y puede resistir ambientes adversos. Por lo que esta masa de micelios es una estructura de supervivencia de los hongos patógenos y al sembrar el cultivo estos pueden germinar y desarrollarse infectando a la raíz e ingresar a la planta como parásito.
- **Esclerotiniosis:** La enfermedad prooducida por el agente causal *Sclerotinia sclerotiorum*, el cual provoca enfermedades en diferentes plantas o cultivos, así también en malezas o plantas que no se cultivan. Esta enfermedad causa la llamada moho blanco o podredumbre blanca.
- **Hospedante:** Se refiere a las plantas que han sido infectadas por un hongo, insecto, bacteria u otro microorganismo que son parásitos es decir sobreviven a costas del otro organismo usando sus reservas de alimento, lo que provoca una reducción en la productividad del cultivo parasitado.
- **Moho blanco:** Síntoma producido por el hongo *Sclerotinia sclerotiorum*, los cuales reducen la productividad del cultivo al que ataca sino se realiza alguna práctica para combatirla.
- **Patogénesis:** Los hongos o microorganismo patógenos al infectar a la planta ya sea a través del suelo o en el aire y luego de parasitar en diferentes órganos de las plantas producen la enfermedad y según el microorganismo tiene diferente denominación a la enfermedad y también los síntomas son diferentes en cada planta y de la enfermedad provocada por estos.

2.4 Formulación de hipótesis

2.4.1 Hipótesis general

Ho: No existe efecto de *T. harzianum* y *B. subtilis* en el control de *S. sclerotiorum* en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima.

Ha: Existe efecto de *T. harzianum* y *B. subtilis* en el control de *S. sclerotiorum* en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima.

2.4.2 Hipótesis específica

Ho: No existe diferencias significativas entre los biocontroladores sobre la severidad y la incidencia de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum*, en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima.

Ha: Existe diferencias significativas entre los biocontroladores sobre la severidad y la incidencia de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum*, en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima.

Ho: No Existe diferencias significativas entre la eficiencia de los biocontroladores con respecto al ABCPE en Huaral – Lima.

Ha: Existe diferencias significativas entre la eficiencia de los biocontroladores con respecto al ABCPE en Huaral – Lima.

Ho: No existe diferencias significativas en el rendimiento de tomate cv. Aisha con respecto al control de la *Sclerotinia sclerotiorum* en Huaral – Lima.

Ha: Existe diferencias significativas en el rendimiento de tomate cv. Aisha con respecto al control de la *Sclerotinia sclerotiorum* en Huaral – Lima.

CAPÍTULO III. METODOLOGIA

3.1 Diseño metodológico

3.1.1 Ubicación

Este experimento se realizó en la finca “La Herradura” la cual se encuentra en Huando ubicada en la provincia de Huaral del departamento de Lima, geográficamente se ubica a una longitud de 77°10'12.28"O y latitud de 11°29'8.19"S, a una altura de 247 msnm.

3.1.2 Materiales e insumos

Los materiales de campo e insumos usados en la investigación fueron:

- Cuaderno de campo
- Fungicidas químicos
- Biocontroladores
- Vaso con medida
- Bandejas
- Tijera
- compost
- Calculadora.
- USB.
- Lampa
- Carretilla
- Urea
- Fosfato diamónico.
- Cloruro de potasio
- Insecticidas
- Semillas de tomate cultivar Aisha.

3.1.3 Diseño experimental

El diseño experimental se usó el diseño de bloques completamente al azar usando el análisis de varianza (ANVA) para determinar diferencias en tratamientos y bloques y la comparación de los tratamientos en estudio se usó la Prueba de Tukey al 5% de probabilidades.

Tabla 1

Esquema del análisis de varianza

Fuente de variación	Grados Libertad(GL)	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fcal	CV
Bloq.(Bloques)	3	SCbloque	SCbloque/3	CMblo/CME	
Trat.(Tratamientos)	4	SCtratam	SCtratam/4	CMtrata/CME	
Error	12	SC error	SCerror/12	CMerror/CME	
Total	19	SC total	SC total/19	CMtotal/CME	

3.1.4 Tratamientos

Los tratamientos asignados para esta investigación se observa en la tabla 2.

Tabla 2

Tratamientos a estudiar

N°	Controladores biológicos	Dosis	Momento de aplicación
T1	Carbendazim	1 l ha ⁻¹	Siembra (trasplante)
T2	Sulfato de cobre pentahidratado	2 kg ha ⁻¹	Siembra (trasplante)
T3	<i>Trichoderma harzianum</i> cepa OBTh55	0,3 kg ha ⁻¹	Siembra (trasplante)
T4	<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST 713	0,22 l ha ⁻¹	Siembra (trasplante)
T5	Testigo sin control	0	Siembra (trasplante)

Fuente propia

3.1.5 Características del área experimental

Área del experimento:

Características del campo experimental

- Área experimental: 812 m²
- Ancho campo experimental: 28 m
- Longitud campo experimental: 29 m
- N^a de bloques: 4

Características de la unidad experimental

- Ancho Unidad Experimental: 4.5 m
- Longitud Unidad Experimental: 5 m
- Área Unidad Experimental: 22.5 m²
- Distanciamiento entre los surcos: 1.5 m
- Distanciamiento entre planta: 0.5 m

Dimensiones del campo experimental

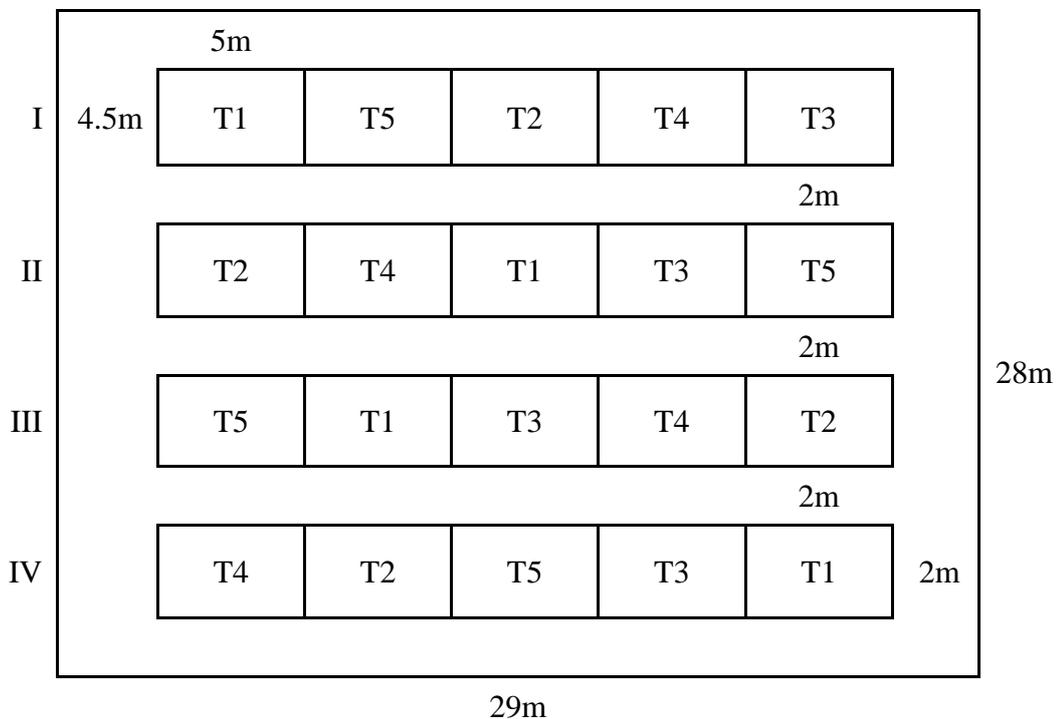


Figura 1. Croquis experimental del campo

3.1.6 Variables a evaluar

Las variables a evaluar se realizaron de acuerdo a la evaluación del desarrollo de la enfermedad.

Severidad

La Severidad de la enfermedad en el cuello y las raíces también se evaluó mediante una escala arbitraria de 0-5 donde: 0 = ningún síntoma, 1 = 0-25% de pardeamiento de la raíz, 2 = 26-50% de pardeamiento de la raíz, 3 = 51-75% de pardeamiento de la raíz, 4 = 76-100% del pardeamiento de la raíz, y 5 = muerte de la planta (Ouhaibi-Ben et al., 2016).

Incidencia de la enfermedad (%)

Se realizaron contajes de plantas infectadas con síntomas del hongo moho blanco en todas las plantas de cada tratamiento y se expresó en porcentaje (%). La incidencia de la enfermedad también se estimó utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{Incidencia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de plantas infectadas}}{\text{N}^\circ \text{ plantas totales}} \times 100$$

Obtención del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE)

Se midió el grado de avance del moho blanco en todo el ciclo vegetativo el cual permitió determinar el ABCPE. Hallando así la incidencia de la enfermedad en el tiempo.

Evaluación de parámetros agronómicos del cultivo de tomate

Con el fin de conocer el efecto de la incorporación de diferentes dosis de los biocontroladores y el efecto de *Sclerotinia sclerotiorum* en el cultivo del tomate, se tomaron las medidas directas del:

Altura de planta

Se midió el tamaño de cada 10 plantas de tomate por tratamiento, midiendo desde la base al último brote y se expresó en cm.

Número de fruto por planta

En la cosecha se realizó el conteo de frutos de tomate cosechados en 10 plantas de tomate por tratamiento experimental.

Rendimiento

Se realizó el pesado de los frutos cosechados en 10 plantas de tomate por tratamiento en una balanza analítica y se expresó en g planta⁻¹ de tomate.

3.1.7 Conducción del experimento

La conducción del experimento se realizó en dos fases, siendo la primera la fase laboratorio y la fase de campo, a continuación se muestra las fases.

Fase de laboratorio

Aislamiento e identificación de *Sclerotinia sclerotiorum*.

El patógeno *S. sclerotiorum* utilizado en este estudio se aisló de plantas de tomate que muestran síntomas de podredumbre del tallo en campos de Huaral. Para el aislamiento de patógenos, los esclerocios individuales que se extrajeron de los tallos en descomposición o de las raíces infectadas y los tallos se esterilizaron en la superficie sumergiéndolos en hipoclorito de sodio en 2 minutos, se enjuagó 3 veces con agua destilada y se secaron. Estas muestras se llevaron a las placas sobre medio de Agata Dextrosa Potato (PDA) suplementado con sulfato de estreptomicina (300 mg/mL p/v) y se incubaron a 25°C (Zhang y Xue, 2010).

Los tapones miceliales, tomados del borde de las colonias de crecimiento activo, se transfirieron a las placas de Petri que contenían PDA para obtener cultivos puros de *S. sclerotiorum*. Los cultivos madre se mantuvieron a 4 °C hasta su uso. El hongo se probó preliminarmente para determinar su patogenicidad en las plántulas de tomate y se volvió a aislar de los infectados experimentalmente cumpliendo los postulados de Koch (Ouhaibi-Ben et al., 2016).

Multiplicación de esclerotes usado como inóculo para la fase de campo

Se utilizaron los esclerotes del moho blanco como inóculo para realizar la contaminación con el sustrato que se colocará en los plantines de tomate y así se pueda realizar la infecte el hongo patógeno y empiece a parasitar a nuestras plantas de tomate cv. Aisha en Huando. Teniendo en cuenta que el suelo posee también los esclerotes del hongo patógeno, sin embargo, se realizó esta inoculación para infectar de la enfermedad para asegurar el ataque de este hongo patógeno.

Fase de campo

Preparación del sustrato para el almacigo de tomate

Se realizó el proceso de almacigo para obtener plantines usando sustrato preparado. El sustrato consistió de una mezcla de 30 % de tierra de chacra, 30 % de musgo, 30 % de arena y 10 % de compost.

Siembra de tomate en las bandejas

En cada una de las bandejas con sustrato se sembraron tres semillas y se regaron cada tres a cuatro días, contando con la humedad efectiva del sustrato y mantenerlo a capacidad de campo. En esta fase se realizaron las aplicaciones de los inóculos de *S. sclerotiorum* con la finalidad de asegurar el inicio de la enfermedad en las plántulas y esto se va observando de acuerdo a los síntomas.

Preparación del material vegetal

Se plantaron los plantines de tomate en el campo experimental alrededor de 30 días realizado la siembra en las bandejas, teniendo en cuenta que estos plantines ya están infectados con el moho blanco, asegurando la inoculación efectiva del hongo *S. sclerotiorum*. Inmediatamente después del transplante se aplicará un riego pesado. Posteriormente los riegos serán interdiarios y luego 2 veces por semana.

Aplicación de los tratamientos

Una vez que las plantines fueron colocados en el campo, se realizaron las aplicaciones foliares de los biocontrolados y del fungicida, teniendo en cuenta sus dosis. En cuanto a la dosis del fungicida esta fue sugerida por los agricultores que realizan en los campos de tomate, en cambio los biocontroladores se realizaron mediante lo propuesto en la parte descrita por tratamientos. Por otro lado, el tratamiento 5 el cual es el testigo, no realizaron ninguna aplicación, pero si se realizó la inoculación de la enfermedad de *S. sclerotiorum* desde el almacigo.

3.2 Población y muestra

3.2.1 Población

En el experimento se ejecutó en un área neta experimental de 812 m², total de área sembrada en la localidad de Huando ubicada en la provincia de Huaral-Lima.

3.2.2 Muestra

Fue de 10 plantas de tomate cv. Aisha, de los surcos centrales en cada unidad experimental de 22.5 m² para cada variable.

3.3 Técnicas de recolección de datos

El procedimiento se realizó tanto en campo como en laboratorio, para el cual se usó el registro de evaluaciones por bloque y tratamiento del campo experimental de las evaluaciones de biométricas en el campo, se empleará la siguiente cartilla (ANEXO 2).

3.4 Técnicas para el procesamiento de la información

Para los procesamientos de los datos reportados en campo se usaron software estadístico SAS (versión 9.3).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

4.1 Severidad de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum* en tomate

En la Tabla 4, se muestra que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0.01$). Sin embargo, no existen diferencias estadísticas entre los bloques. El coeficiente de variación fue de 23.41% que indica buena precisión experimental y por lo tanto hay confiabilidad en el experimento.

Tabla 4

ANVA para el grado de severidad de Sclerotinia sclerotiorum utilizando biocontroladores asociadas al tomate

Fuente de Variabilidad	GL	SC	CM	F-Cal	P-valor	C.V. (%)
Bloque	3	0,60	0,20	0,83	0,5038	23,41
Tratamiento	4	26,30	6,58	27,41	<,0001	
Error	12	2,90	0,24			
Total	19	29,80				

NS = No significativo, * = Significativo, ** = Altamente significativo

Los resultados obtenidos nos muestran que los biocontroladores y el fungicida difieren entre sí (Tabla 5). Se observa que el tratamiento testigo sin control superó estadísticamente a todos los tratamientos presentando el mayor grado de severidad de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum* con 4,25, seguido por el tratamiento sulfato de cobre quien obtuvo un promedio de 2,25 de severidad siendo diferente estadísticamente al tratamiento de Carbendazim con 1,5 de severidad y por último se muestran los biocontroladores *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* quienes obtuvieron la menor escala de severidad con grado de 1.

Tabla 5

Comparación de medias para el grado de severidad (escala 1-5) de Sclerotinia sclerotiorum utilizando biocontroladores asociadas al tomate

Tratamientos	Promedios (escala)
Testigo	4,25 a
Sulfato de cobre	2,25 b
Carbendazim	1,50 c
<i>Trichoderma harzianum</i>	1,00 c
<i>Bacillus subtilis</i>	1,00 c

Diferencia significativa mínima = 1,00

4.2 Incidencia de *Sclerotinia sclerotiorum* en tomate

El ANVA de la Tabla 6, indica que en los tratamientos hubo diferencias estadísticas significativas ($p < 0,01$). El coeficiente de variación fue de 9.88% el cual indica buena precisión experimental y por lo tanto hay confiabilidad en el experimento.

Tabla 6

ANVA para el porcentaje de incidencia de Sclerotinia sclerotiorum utilizando biocontroladores asociadas al tomate

Fuente de Variabilidad	GL.	SC.	CM.	F-Cal	P-Valor	C.V. (%)
Bloque	3	80,00	26,67	1,19	0,3565	9,88
Tratamiento	4	22570,00	5641,50	250,78	<0,001	
Error	12	270,00	22,50			
Total	19	22920,00				

NS = No significativo, * = Significativo, ** = Altamente significativo

En la Tabla 7, muestra que los biocontroladores tuvieron diferencias significativas en el porcentaje de incidencia de *Sclerotinia sclerotiorum* en comparación con los demás tratamientos, reportando al testigo sin control quien obtuvo porcentaje mucho mayor que los demás con incidencia de *Sclerotinia sclerotiorum* de 100%, seguido por sulfato de cobre con 75% de incidencia.

Con respecto al fungicida Carbendazim que presento 27,5% de incidencia similar estadísticamente a *Trichoderma harzianum* y por último el biocontrolador *Bacillus subtilis* reportó el porcentaje de incidencia más bajo con 12,50%.

Tabla 7

Comparación en el porcentaje de incidencia de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum* utilizando biocontroladores asociadas al tomate

Tratamientos	Promedios (%)
Testigo	100,00 a
Sulfato de cobre	75,00 b
Carbendazim	27,50 c
<i>Trichoderma harzianum</i>	25,00 c
<i>Bacillus subtilis</i>	12,50 d

Diferencia significativa mínima = 10,69

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

4.3 Avance del ABCPE de la enfermedad de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum* utilizando biocontroladores asociadas al tomate

La Tabla 8, muestra que en tratamientos existieran diferencias estadísticas significativas en los tratamientos estudiados para el avance del ABCPE ($p < 0,01$). El coeficiente de variación fue de 10,38% el cual indica buena precisión experimental y por lo tanto los datos son confiables.

Tabla 8

ANVA para el avance del ABCPE de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum* utilizando biocontroladores asociadas al tomate

Fuente de Variabilidad	GL.	SC.	CM.	F-Cal	P-Valor	C.V. (%)
Bloque	3	723,75	241,25	0,27	0,8488	10,38
Tratamiento	4	1381205	345301,25	380,32	<,0001	
Error	12	10895	907,92			
Total	19	1392823				

NS = No significativo, * = Significativo, ** = Altamente significativo

Los resultados obtenidos indican que los tratamientos difieren entre sí (Tabla 9), donde se observa al testigo sin control con el mayor porcentaje de avance del ABCPE de *Sclerotinia sclerotiorum* con 800, seguido por sulfato de cobre con 282,5 de ABCPE. Seguido por un grupo con resultados homogéneos correspondientes a carbendazim que presento 140 ABCPE, *Trichoderma harzianum* con 135 ABCPE y por último *Bacillus subtilis* reportó el valor de ABCPE más bajo con 92,5.

Tabla 9

Comparación de medias para el área bajo la curva del progreso de *Sclerotinia sclerotiorum* utilizando biocontroladores asociadas al tomate

Tratamientos	Promedios (unidades)
Testigo	800 a
Sulfato de cobre	282,5 b
Carbendazim	140 c
<i>Trichoderma harzianum</i>	135 c
<i>Bacillus subtilis</i>	92.5 c

Diferencia significativa mínima = 67.91

4.4 Eficiencia de control de *Sclerotinia sclerotiorum* utilizando biocontroladores

En la Tabla 10, se aprecia diferencias estadísticas altamente significativas para los biocontroladores, mientras que en bloques no existen diferencias significativas ($p < 0,01$). El coeficiente de variación fue de 20,21% el cual indica buena precisión experimental y por lo tanto los datos son confiables.

Tabla 10

ANVA para la eficiencia de control de *Sclerotinia sclerotiorum* utilizando biocontroladores en tomate.

Fuente de Variabilidad	GL.	SC.	CM.	F-Cal	P-Valor	C.V. (%)
Bloque	3	1000,00	333,33	3,27	0,0592	20,21
Tratamiento	4	14325,00	3581,25	35,08	<,0001	
Error	12	1225,00	102,08			
Total	19	16550,00				

NS = No significativo, * = Significativo, ** = Altamente significativo

Los biocontroladores tuvieron efectos significativos control de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum* utilizando biocontroladores en tomate (Tabla 11), reportando al *Bacillus subtilis* quien presentó el mayor porcentaje de eficiencia de control de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum* con 76,25%, seguido por *Trichoderma harzianum* junto al fungicida Carbendazim con promedios de 63,75% respectivamente. El sulfato de cobre presento 46,25% de eficiencia.

Tabla 11

Comparación de medias para la eficiencia de control de Sclerotinia sclerotiorum utilizando biocontroladores en tomate.

Tratamientos	Promedios (%)
<i>Bacillus subtilis</i>	76,25 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	63,75 ab
Carbendazim	63,75 ab
Sulfato de cobre	46,25 b
Testigo	0,00 c

Diferencia significativa mínima = 22.77

4.5 Altura de la planta de tomate utilizando biocontroladores (cm)

El ANVA (Tabla 12), muestra diferencias estadísticas significativas ($p < 0,01$), y no para los bloques. El CV. fue de 8,61% el cual indica buena precisión experimental y por lo tanto los datos son confiables.

Tabla 12

Análisis de varianza para la altura de la planta (cm) de tomate utilizando biocontroladores en tomate.

Fuente de Variabilidad	GL.	SC.	CM.	F-Cal	P-Valor	C.V. (%)
Bloque	3	101.20	33.73	1.23	0.3412	8.61
Tratamiento	4	4599.2	1149.80	41.96	<.0001	
Error	12	328.80	27.40			
Total	19	5029.20				

NS = No significativo, * = Significativo, ** = Altamente significativo

En la Tabla 13, según el análisis de Tukey al 5% se aprecia al biocontrol *Bacillus subtilis* fue tratamiento que reportó mayor altura con un promedio de 78,5cm, estadísticamente similar a *Trichoderma harzianum* con una altura de 71,25cm junto al fungicida al Carbendazim con una altura promedio de 63,25cm, seguido por sulfato de cobre con 56,75cm y por último el testigo sin control quien reportó el tamaño más bajo con 34,25cm.

Tabla 13

Comparación de medias para tamaño de la planta de tomate (cms)

Tratamientos	Promedios (cms)
<i>Bacillus subtilis</i>	78,5 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	71,25 ab
Carbendazim	63,25 bc
Sulfato de cobre	56,75 c
Testigo sin control	34,25 d

Diferencia significativa mínima = 11,8

4.6 Peso fresco de la raíz del tomate (g)

En la Tabla 14 muestra el ANVA donde se observa que mientras que en tratamientos hubo alta significancia ($p < 0.01$). El CV. fue de 7.11% valor bajo que significa buen experimento y por lo tanto los datos son confiables.

Tabla 14

ANVA para el peso fresco de la raíz del tomate (g)

Fuente de Variabilidad	GL.	SC.	CM.	F-Cal	P-Valor	C.V. (%)
Bloque	3	0,59	0,19	0,68	0,5791	7,11
Tratamiento	4	224,03	56,01	192,63	<,0001	
Error	12	3,49				
Total	19	228,11				

NS = No significativo, * = Significativo, ** = Altamente significativo

En la Tabla 15 se aprecia a *Bacillus subtilis* con 11,05 g estadísticamente superior a todos los tratamientos, seguido por *Trichoderma harzianum* con un peso de 10,2 g, estadísticamente superior al fungicida al Carbendazim con un peso promedio de 9,3 g, seguido por sulfato de cobre con 5,03 g y el testigo sin control quien reportó el peso fresco de raíz más bajo con 2,32 g.

Tabla 15

Comparación de medias para en el peso fresco de la raíz del tomate (g)

Tratamientos	Promedios (g)
<i>Bacillus subtilis</i>	11,05 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	10,2 ab
Carbendazim	9,3 b
Sulfato de cobre	5,03 c
Testigo sin control	2,32 d

Diferencia significativa mínima = 1,21

4.7 Peso fresco del follaje del tomate (g)

El análisis de varianza (Tabla 16), muestra el peso fresco de la parte aérea que no existe diferencias significativas para los bloques, mientras que en tratamientos hubo alta significancia ($p < 0,01$). El coeficiente de variación fue de 9,88% el cual indica buena precisión experimental.

Tabla 16

ANVA para peso fresco de la parte aérea del tomate

Fuente de Variabilidad	GL.	SC.	CM.	F-Cal	P-Valor	C.V. (%)
Bloque	3	2,41	0,80	0,4	0,7589	6,42
Tratamiento	4	1347,835	336,96	166,12	<,0001	
Error	12	24,34	2,03			
Total	19	1374,58				

NS = No significativo, * = Significativo, ** = Altamente significativo

En la Tabla 17 se aprecia al biocontrol *Bacillus subtilis* con 32.98 g superando estadísticamente a todos los tratamientos para el peso fresco de la parte aérea, seguido por *Trichoderma harzianum* con un peso de 28,35 g, estadísticamente superior al fungicida al Carbendazim con un peso promedio de 23,30 g, seguido por sulfato de cobre con 16,30 g y el testigo sin control quien reportó el peso fresco de la parte aérea más bajo con 10,08 g.

Tabla 17

Comparación en el peso fresco de la parte aérea del tomate (g)

Tratamientos	Promedios (g)
<i>Bacillus subtilis</i>	32,98 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	28,35 b
Carbendazim	23,30 c
Sulfato de cobre	16,30 d
Testigo sin control	10,08 e
Diferencia significativa mínima = 22,77	

4.8 Rendimiento del tomate (g planta⁻¹)

En la Tabla 18, se observa que en tratamientos hubo alta significancia ($p < 0,01$). El coeficiente de variación fue de 10,64% el cual indica buena precisión experimental y por lo existe confiabilidad de los datos.

Tabla 18.

Análisis de varianza para el rendimiento del tomate

Fuente de Variabilidad	GL.	SC	CM	F-Cal	P-Valor	C.V. (%)
Bloque	3	12280,00	4093,33	0,4	0,7541	10,64
Tratamiento	4	3208670	802167,5	78,79	<,0001	
Error	12	122170,00	10180,00			
Total	19	3343120				

NS = No significativo, * = Significativo, ** = Altamente significativo

El análisis de Tukey al 5% (Tabla 19), se aprecia al biocontrol *Bacillus subtilis* con 1535 g planta⁻¹ superó estadísticamente a todos los tratamientos, seguido por *Trichoderma harzianum* con un peso de 1127,5 g planta⁻¹, estadísticamente superior al fungicida al Carbendazim con un peso promedio de 945 g planta⁻¹, seguido por sulfato de cobre con 825 g planta⁻¹ y el testigo sin control quien reportó el peso fresco de raíz más bajo con 307,5 g planta⁻¹.

Tabla 19

Comparación de medias de los tratamientos en estudio en el rendimiento del tomate

Tratamientos	Promedios (g planta⁻¹)
<i>Bacillus subtilis</i>	1535 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	1127,5 b
Carbendazim	945 bc
Sulfato de cobre	825 c
Testigo sin control	307,5 d

Diferencia significativa mínima = 227,41

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<0,05).

CAPÍTULO V. DISCUSIONES

En cuanto al grado de severidad los resultados indican diferencias significativas entre los biocontroladores y los fungicidas; Carbendazim y sulfato de cobre en comparación con el testigo sin control con mayor grado de severidad de 4, siendo superior estadísticamente a *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* quienes obtuvieron menor grado de severidad con un promedio de 1. Estos resultados fueron similares a lo reportado por Zhang y Xue (2010) quienes investigando sobre el biocontrol de *S. sclerotiorum* con aplicación de tres preparaciones; la suspensión celular, cultivo de caldo y el filtrado libre de células indican que las plantas en el control no tratado estaban muriendo, con una severidad media de la enfermedad de 5, mientras en severidad en las plantas aplicadas con los biocontroladores en cada una de las tres preparaciones en todas las concentraciones permanecieron por debajo de 2.8, por lo tanto, la inhibición de la producción de esclerocios por *B. subtilis*.

Asimismo, Ouhaibi et al. (2016) quienes en su investigación sobre la biosupresión de *Sclerotinia* del tomate y la bioestimulación del crecimiento de las plantas usando rizobacterias en el tomate indican que este parámetro varió de 0 a 1.2 (en una escala de 0-5) para todos los tratamientos basados en rizobacterias y las puntuaciones de severidad de la enfermedad fueron significativamente más bajas que las observadas en el control inoculado y plantas no tratado con *S. sclerotiorum* (índice de enfermedad 4.4). Esto indicó que la supresión total del desarrollo de la enfermedad se logró mediante el uso de estas cepas rizobacterianas asociadas al tomate, donde la severidad de la pudrición del tallo se redujo en un 86-100% en comparación con el control no tratado con *S. sclerotiorum*. Por lo que las especies de *Bacillus* debido a su capacidad supresora de la enfermedad y promotoras del crecimiento reportaron una disminución del 72-100% en la severidad de la podredumbre del tallo de *Sclerotinia* en plantas de tomate.

Nuestro resultado indica que el testigo quien presentó la mayor incidencia con 100% en cambio Carbendazim presento un porcentaje bajo de incidencia (27.5%) indicando que este fungicida permite inhibir el ataque de *S. sclerotiorum* en el tomate por el hongo, por ello que los agricultores adoptan el uso de este fungicida, sin embargo, es muy peligroso para la salud del agricultor además que se aplica sin criterio alguno, esto genera un problema para el consumidor.

Asimismo, los resultados son parecidos al estudio de Ouhaibi et al. (2016) quien indica que la incidencia de la enfermedad no superó el 20% en comparación con el 100% registrado en el control no tratado e inoculado con patógenos. Además, Vinodkumar et al. (2017) quienes reportan que la cepa *Bacillus subtilis* da como resultado una incidencia mínima de pudrición del tallo del 16% de incidencia el cual *se* desempeñó mejor que el carbendazim quien tuvo 25,20% de incidencia de pudrición del tallo.

Los resultados indican que los biocontroladores reportaron un bajo de incidencia de *Sclerotinia sclerotiorum* además de menor valor del área de avance de ABCPE de *S. sclerotiorum* en siendo una estrategia saludable en comparación con los fungicidas. Esto indica que los biocontroladores tuvieron efectos significativos en el control de la enfermedad de *S. sclerotiorum* reportando al *Bacillus subtilis* quien presentó el mayor porcentaje de eficiencia de control de la enfermedad, debido a sus características de control, en cambio el biocontrolador *Trichoderma harzianum* junto al fungicida Carbendazim tuvieron promedios similares estadísticamente.

Según Vinodkumar et al. (2017) mencionan que *Bacillus* se explotan ampliamente como agentes de biocontrol debido a su eficiencia para impedir que diversos patógenos de plantas tengan un enfoque multifacético. Estudios microscópicos autentificaron este fenómeno. En las hifas de *S. sclerotiorum* expuestas a *Bacillus* se observaron anomalías de hifas, como hinchazón, malformaciones, melanización y desintegración de las células hifales. En la presente investigación, los compuestos volátiles producidos por *B. amyloliquefaciens* inhibieron completamente la producción esclerotial de *S. sclerotiorum*. El *Bacillus* es capaz de producir una gran cantidad de metabolitos secundarios que tienen diversas estructuras y funciones. La producción de metabolitos antimicrobianos determina la capacidad de estas especies para controlar las enfermedades de las plantas y se encontró que los esclerocios de *S. sclerotiorum* estaban colonizados por el *Bacillus*.

Alvaréz et al. (2012) indican que las especies de *Bacillus* pudieron producir compuestos antifúngicos pertenecientes a la familia de lipopéptidos cíclicos y sugieren que la aplicación foliar de cepas de *B. amyloliquefaciens* que producen lipopéptidos podría ser una estrategia prometedora para el manejo de la podredumbre del tallo de la esclerotinia en soya.

Los resultados reportan a *B. subtilis* con mayor tamaño con un promedio de 78.5cm, estadísticamente similar a *T. harzianum*, no obstante, el fungicida al Carbendazim presento altura similar a *Trichoderma*, sin embargo, el fungicida sulfato de cobre presento un tamaño menor en comparación de los tratamientos mencionados, pero mayor al testigo sin control quien reportó el tamaño más bajo con 34.25cm. De acuerdo a esto resultados, se puede observar una gran diferencia en el tamaño de planta y esto debido a que los biocontroladores generan compuestos orgánicos que impiden el desarrollo del hongo *S. sclerotiorum*, además de liberar compuestos orgánicos que les permiten un mayor crecimiento de la planta.

Esto indica que *Bacillus subtilis* fue superior a todos los tratamientos, seguido por *Trichoderma harzianum* superando a los fungicidas al Carbendazim y sulfato de cobre. Este bajo peso encontrado en los fungicidas y en el testigo sin control fue debido a que el hongo ataca y sobrevive en forma de esclerotes y consumen sus carbohidratos lo que provoca menos peso de la raíz. Vinodkumar et al. (2017) ha demostrado que las especies de *Bacillus* estimula los receptores de citoquinina en el sistema de plantas a través de estos genes; *CrE1*, *AHK2* y *AHK3*, siendo estos receptores activados indujeron la producción de citoquininas y promovieron el crecimiento de las plantas (Ortíz-Castro et al., 2008 citado por Vinodkumar et al. 2017). La secreción de hormonas que promueven el crecimiento de las plantas por las bacterias altera la raíz al conducir a la producción de más pelos radiculares y raíces laterales y, posteriormente, aumenta la captación de agua y nutrientes. Esto, a su vez, promueve el aumento del tamaño de la planta (Persello-Cartieaux et al., 2003 citado por Vinodkumar et al. 2017). Por lo que permite un mayor crecimiento en la planta y un mayor número de frutos.

Resultados se parecen al de Ouhaibi et al. (2016) los cuales reportan que el aumento de peso fresco de la raíz, en comparación con las plantas de control inoculadas y no tratadas con *S. sclerotiorum*, osciló entre 4.5 g y 12.22 g dependiendo de las cepas rizobacterianas analizadas en comparación con el testigo sin control que reporto un peso fresco de raíz de 1.49 g. Los mayores efectos que promueven el crecimiento de la raíz, expresados por más del 85% de aumento en el peso fresco de la raíz. Además, los tratamientos para plantas que utilizan estas seis cepas llevaron a una mejora significativa del crecimiento de la raíz en un 72-78%. También debe destacarse que estas cepas rizobacterianas asociadas al tomate tienen además propiedades de biofertilizante.

Asimismo, Vinodkumar et al. (2017) la especie de *Bacillus* es un antagonista bacteriano beneficioso eficaz con el modo de múltiples facetas de la acción. El modo de acción incluye la colonización competitiva de la rizosfera, la secreción de compuestos antifúngicos volátiles y no volátiles, así como los péptidos antimicrobianos. La aplicación en el suelo de *B. amyloliquefaciens* fue eficaz para reducir la incidencia de podredumbre del tallo, al igual que el tamaño y el rendimiento de las plantas. Por otra parte, otra eficacia de otras cepas, incluyendo *B. amyloliquefaciens* y *B. subtilis*, también es notable en la inhibición del desarrollo del patógeno.

Esto muestra que *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum* presentaron mayor peso estadísticamente superior al fungicidas Carbendazim y sulfato de cobre, esto debido que a pesar de que carbendazim controla la enfermedad los esclerotes se conservaron en el tallo y estos se alimentan de los carbohidratos de la planta lo que genera un bajo peso aéreo de la planta, en comparación al testigo sin control quien reportó el peso fresco de la parte aérea más bajo debido al ataque generalizado en toda la planta. Al respecto Ouhaibiet al. (2016) quienes indican que el peso fresco de las partes aéreas en comparación con el control no tratado con *S. sclerotiorum* inoculado. Este incremento de parámetro osciló entre 14.57 g para *Bacillus megaterium* y 30.71 g para *Bacillus subtilis* en comparación con el testigo sin control que reportó un peso de 7.64 g, siendo la cepa de *B. subtilis* quienes son las más efectivas para aumentar el crecimiento del follaje de plantas en más de un 71% en comparación con el control inoculado y sin tratar.

Estos resultados se asemejan a lo obtenido por Abdullah et al. (2008) menciona que la supervivencia de *Sclerotinia sclerotiorum*, en gran medida, depende de la producción y viabilidad de esclerocios. La reducción en la producción de esclerocios es esencial en el control del patógeno. *T. harzianum* y *Bacillus* inhibieron el crecimiento y la producción de micelios y esclerocios. Estos biocontroladores mostraron micoparasitismo y antibiosis, respectivamente, en el estudio y como antagonistas, estos aislamientos protegieron más del 80% de las plántulas de tomate inoculadas con *S. sclerotiorum*, por lo que el aumento del peso fresco en plantas de tomate fue mayor. Además, se indujo un retraso en la formación de esclerocios, en comparación con los cultivos de control no tratados, por metabolitos volátiles de cepas bacterianas asociadas al tomate.

Los resultados del rendimiento por planta en tomate se aprecian al biocontrol *Bacillus subtilis* con 1535 kg planta⁻¹ superior a todos los tratamientos, seguido por *Trichoderma harzianum* con un peso de 1127.5 g planta⁻¹ estadísticamente superior al fungicida al Carbendazim y sulfato de cobre que reportaron menos de 1 g planta⁻¹. Cabe resaltar que el biocontrol *Bacillus* fue el generó mayor respuesta en el rendimiento de planta y esto debido a sus características que permiten que la planta se desarrolle mejor.

Estos resultados indican que los biocontroladores inhiben el crecimiento micelial y la infestación de *S. sclerotiorum* que produce la enfermedad en plantas de tomate cultivar Katya, permitiendo un mejor crecimiento y desarrollo y mejorando el comportamiento agronómico del cultivo de tomate.

Ouhaibi et al. (2016) menciona que la reducción en la gravedad de la pudrición del tallo de Sclerotinia registrada en las plantas de tomate, lograda mediante el uso de tratamientos basados en rizobacterias, se relacionó y se asoció con la promoción del crecimiento de la planta, lo que genera mayor peso de la parte aérea y de la raíz y por sus propiedades de producir metabolitos que interaccionan con el hongo *S. sclerotiorum*, también presenta características de producir hormonas de crecimiento y como biofertilizante permitiendo un mayor desarrollo del cultivo que se traduce en un mayor rendimiento.

Aquello implica que el uso de biocontroladores se utilicen de forma masiva, esto es corroborado por Vinodkumar et al. (2017) sostiene que la eficacia de *Bacillus* spp. en la prevención de enfermedades en cultivo protegido fue significativo por las especies de *Bacillus* quienes redujeron la incidencia de podredumbre del tallo y promovió el tamaño en la planta de manera significativamente efectiva comparado con otros tratamientos. Además, produjo metabolitos secundarios que tenían actividad antifúngica y antibacteriana. Teniendo en cuenta que las cepas que poseen modos de acción sinérgicos, ofrecen una alternativa prometedora.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

Los biocontroladores estudiados como la *T.harzianum* y *B.subtilis* presentaron influencia significativa en el control de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum* en tomate cv. Aisha en condiciones de Huaral – Lima.

Bacillus subtilis y *Trichoderma harzianum* reportaron menor porcentaje de incidencia de la enfermedad de *Sclerotinia sclerotiorum* con 12.5 y 25% y baja severidad con un grado de 1, debido a su alta capacidad antagónica sobre *Sclerotinia sclerotiorum* en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima.

El porcentaje de eficiencia de *Bacillus subtilis* fue el más eficiente con 76.25% de control debido a que se reportó un bajo avance de ABCPE, por su capacidad de ejercer supresión de *Sclerotinia sclerotiorum* ejerciendo un mayor control en comparación con los demás tratamientos en condiciones de Huaral – Lima.

El *Bacillus subtilis* presento un mayor tamaño de planta con 78.5cm, peso fresco de raíz (11.05 g) y de la parte aérea (32.98 g), además reportó mayor rendimiento con 1535 g planta⁻¹ de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima.

6.2 Recomendaciones

Se recomienda realizar nuevamente la investigación en condiciones de Huaral y en otras zonas del norte chico de Lima y en otros cultivos de tomate que predominan en dichas zonas.

Se recomienda difundir dicha investigación para que los agricultores decidan usar el biocontrolador *Bacillus subtilis* como alternativa de los fungicidas químicos.

Usar la metodología para realizar investigación con otros cultivos y en otros hongos que predominen en las zonas de experimento.

Difundir y promocionar el uso de biocontroladores para mejorar los rendimientos y sin dañar la salud y disminuyendo los riesgos de contaminación de los ríos o fuentes de agua con fungicidas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullah, M., Ali, N. and Suleman, P. (2008). Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *Crop Protection*, 27(10), 1354-1359.
- Arias, A., Tautiva, L., Piedrahíta., y Chaves, B. (2007). Evaluación de tres métodos de control del Moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) en lechuga (*Lactuca sativa* L.) Evaluation of three control methods of white mold (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Agronomía Colombiana*, 25(1), 131-141.
- Athukorala, S.N., Fernandez, W.G., and Rashid, K.Y. (2009). Identification of antifungal antibiotics of *Bacillus* species isolated from different microhabitats using polymerase chain reaction and MALDI-TOF mass spectrometry. *Can J Microbiol.*, 55(9),1021-1032.
- Ayala, Q. (2014). *Efectividad de fungicidas para el control de moho blanco Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma De Sinaloa, Sinaloa, México.
- Babadoost, M. 2014. *White mold of tomato. Report on Plant disease* (Tesis de pregrado). University of Illinois, Illinois, EEUU.
- Chitrampalam, P., Figuli, P.J., and Matheron, M. (2008). Biocontrol of lettuce drop caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor* in desert agroecosystems. *Plant Disease, St. Paul*, 92(12), 1625-1634.
- Cisneros, G. (2013). *Selección de resistencia a Sclerotium rolfsii en material silvestre de Solanum lycopersicum Var. Cerasiforme* (Tesis de pregrado). Universidad De Guadalajara, Guadalajara, México.
- Cundom, M., Mazza, S., Mazzati, M. y Castañon, S., Gutiérrez, S. y Coutinho. M. (2002). *Actividad antagónica in vitro de Hongos saprófitos sobre Sclerotinia sclerotiorum*. Recuperado de <http://www.revistacyt.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/agrarias/a-037.pdf>.

- Derbyshire, M.C. and Denton, M. (2016). The control of *Sclerotinia* stem rot on oilseed rape (*Brassica napus*): current practices and future opportunities. *Plant Pathology* 65, 859–877.
- Dutta, S., Borah, T., Barman, A., Hansda, S. and Ghosh, P. (2016). Overview of *Sclerotinia sclerotiorum* in India with special reference to its emerging severity in Eastern Region. *Indian Phytopath* 69(4), 236-239.
- Ethur, L.Z., Muniz, M., Silva, A.C. Stefanelo, D.R.; Rocha, E.K. (2005). Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. *Fitopatologia Brasileira Viçosa*, 30(2), 127-133.
- Gonzales, J. (2016). *Rendimiento y calidad de tomate (Solanum lycopersicum L. cv. katya) empleando cuatro láminas de riego bajo condiciones de Cañete* (Tesis de pregrado). UNALM, Lima, Perú.
- Integrated Taxonomic Information System of North América (ITIS), 2018. Recuperado de https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=521671#null.
- López, O. (2010). *Microorganismos que utilizan oxalato de calcio como antagonistas potenciales a Sclerotinia sclerotiorum en frijol* (Tesis de pregrado). Instituto Politécnico Nacional, Sinaloa, México.
- Madloo, Rodríguez, V., Ramos, M., Lema, M. y Soengas, P. (2010). La enfermedad del moho blanco de las brásicas. *Horticultura*, 14, 14-18. Recuperado de http://digital.csic.es/bitstream/10261/157944/1/Madloo_La%20enfermedad%20del%20moho%20blanco...pdf
- Maroto, J. (2002). *Horticultura Herbácea Especial*. Madrid, España: Ediciones Mundi Prensa.
- Nuez, F., Gil, R., y Costa, J. (1996). *El Cultivo de Pimientos, Chiles y Ajíes*. Madrid, España: Ediciones Mundi Prensa.
- Lesur, D. (2006). *Evaluación del cultivo de tomate (Solanum lycopersicum L.) en monocultivo y asociado bajo manejo orgánico en la Molina* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

- Paucar, L. (2006). *Evaluación de nemátodos de quiste asociados al cultivo de papa Solanum tuberosum L. en el centro poblado de Huancabamba–Andahuaylas–Apurímac* (Tesis de pregrado). Universidad Tecnológica De Los Andes, Abancay-Apurímac, Perú.
- Pinedo, R. (2017). *Producción orgánica de tomate de mesa (Solanum lycopersicum L.) en invernadero con técnicas de injerto y bancal profundo en la Molina* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Pieckenstain, F. (2002). *Controlbiológico de enfermedades causadas por SclerotiniaSclerotiorum en el girasol y estudio del rol de las poliaminas en las distintas etapas del ciclo de vida de este patógeno* (Tesis de pregrado). Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- San Martín, C., Ordaz, V., Sánchez, P., García, M., Colinas V. y Borges, L. (2012). Calidad de tomate (*Solanum lycopersicum L.*) producido en hidroponía con diferentes granulometrías de tezontle. *Agrociencia* 46(3), 243-254.
- Silveira, AF., Alfonseca, SL., and Amorim, L. (2015). Alternative products in the “in vitro” inhibition of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, 62(2):179-183.
- Tarazona, L. (2009). Control biológico y químico de *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) de Bary en alcachofa (*Cynara scolymus L.*). Universidad Nacional Agraria La Molina (Tesis de pregrado). Lima. Perú.
- Villarreal, M. F., Villa, E., Cira, L., Estrada, M. (2018). The genus *Bacillus* as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34, 78-89.
- Zhang, J.X., and Xue, A.G. (2010). Biocontrol of *Sclerotinia* stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) of soybean using novel *Bacillus subtilis* strain SB24 under control conditions. *Plant Pathology*, 59, 382-391.

ANEXOS

Tabla 20

Matriz de consistencia

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	MÉTODO
<ul style="list-style-type: none"> - ¿Cuál será el efecto de <i>T. harzianum</i> y <i>B. subtilis</i> en el control de <i>S. sclerotiorum</i> en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima? - ¿Cuál de los biocontroladores menor grado de severidad y la incidencia de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>, en tomate en Huaral – Lima? - ¿Cuál de los biocontroladores tendrá mayor eficiencia de control, respecto al ABCPE en Huaral – Lima? - ¿Cuál será el efecto de los biocontroladores sobre el moho blanco en función en el rendimiento de tomate en Huaral – Lima? 	<ul style="list-style-type: none"> - Evaluar el efecto de <i>T. harzianum</i> y <i>B. subtilis</i> en el control de <i>S. sclerotiorum</i> en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima. - Evaluar la severidad y la incidencia de la enfermedad de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>, en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima. - Determinar la eficiencia de los biocontroladores con respecto al ABCPE en Huaral – Lima. - Evaluar el rendimiento de tomate cv. Aisha con respecto al control de la <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en Huaral – Lima. 	<p>Ho: No existe efecto de <i>T. harzianum</i> y <i>B. subtilis</i> en el control de <i>S. sclerotiorum</i> en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima.</p> <p>Ha: Existe efecto de <i>T. harzianum</i> y <i>B. subtilis</i> en el control de <i>S. sclerotiorum</i> en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima.</p> <p>Ho: No existe diferencias significativas entre los biocontroladores sobre la severidad y la incidencia de la enfermedad de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>, en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima.</p> <p>Ha: Existe diferencias significativas entre los biocontroladores sobre la severidad y la incidencia de la enfermedad de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>, en el cultivo de tomate cv. Aisha en Huaral – Lima.</p> <p>Ho: Existe diferencias significativas entre la eficiencia de los biocontroladores con respecto al ABCPE en Huaral – Lima.</p> <p>Ha: Existe diferencias significativas entre la eficiencia de los biocontroladores con respecto al ABCPE en Huaral – Lima.</p> <p>Ho: No existe diferencias significativas en el rendimiento de tomate cv. Aisha con respecto al control de la <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en Huaral – Lima.</p> <p>Ha: Existe diferencias significativas en el rendimiento de tomate cv. Aisha con respecto al control de la <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en Huaral – Lima.</p>	<p>VARIABLE INDEPENDIENTE (X):</p> <p>BIOCONTROLADORES (T):</p> <p>T1: Carbendazim</p> <p>T2: Sulfato de cobre</p> <p>T3: <i>Trichoderma harzianum</i></p> <p>T4: <i>Bacillus subtilis</i></p> <p>T5: Testigo sin control</p> <p>VARIABLE DEPENDIENTE (Y):</p> <p>EVALUACIÓN DE LA ENFERMEDAD.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Severidad - Incidencia (%) - ABCPE - Eficiencia de los biocontroladores - Altura de planta - Pesofresco de la raíz - Pesofresco de la follaje del tomate - Rendimiento del tomate (g/planta⁻¹) 	<p>El presente trabajo por su naturaleza, es una de investigación experimental, transversal y por su alcance será correlacional. Por lo tanto se utilizará el método comparativo, asimismo el método estadístico cumpliendo de esta manera los objetivos y comprobar las hipótesis propuestas.</p>

Tabla 21***Datos de campo para severidad***

Tratamientos	Bloques				Total	promedio
	I	II	III	IV		
T1 (Carbendazim a dosis de 1 l ha ⁻¹)	1	1	2	2	6	1.50
T2 (Sulfato de cobre pentahidratado a dosis de 2 kg ha ⁻¹)	2	2	2	3	9	2.25
T3 (<i>Trichoderma harzianum</i> cepa OBTh55 a dosis de 0,3 kg ha ⁻¹)	1	2	1	2	6	1.50
T4 (<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST 713 a dosis de 0,22 l ha ⁻¹)	1	1	1	1	4	1.00
T5 (Testigo sin control)	5	4	4	4	17	4.25
TOTAL	10	10	10	12	42	2.10

Tabla 22***Datos de campo para incidencia***

Tratamientos	Bloques				Total	promedio
	I	II	III	IV		
T1 (Carbendazim a dosis de 1 l ha ⁻¹)	30	30	30	20	110	27.50
T2 (Sulfato de cobre pentahidratado a dosis de 2 kg ha ⁻¹)	70	80	80	70	300	75.00
T3 (<i>Trichoderma harzianum</i> cepa OBTh55 a dosis de 0,3 kg ha ⁻¹)	20	30	30	20	100	25.00
T4 (<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST 713 a dosis de 0,22 l ha ⁻¹)	10	10	10	20	50	12.50
T5 (Testigo sin control)	100	100	100	100	400	100.00
TOTAL	230	250	250	230	960	48.00

Tabla 23*Datos de campo para ABCPE*

Tratamientos	Bloques				Total	promedio
	I	II	III	IV		
T1 (Carbendazim a dosis de 1 l ha ⁻¹)	130	150	170	110	560	140.00
T2 (Sulfato de cobre pentahidratado a dosis de 2 kg ha ⁻¹)	300	310	240	280	1130	282.50
T3 (<i>Trichoderma harzianum</i> cepa OBTh55 a dosis de 0,3 kg ha ⁻¹)	120	135	140	150	545	136.25
T4 (<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST 713 a dosis de 0,22 l ha ⁻¹)	80	90	110	90	370	92.50
T5 (Testigo sin control)	850	750	820	780	3200	800.00
TOTAL	1480	1435	1480	1410	5805	290.25

Tabla 24*Datos de campo para eficiencia de control de la enfermedad de moho blanco*

Tratamientos	Bloques				Total	promedio
	I	II	III	IV		
T1 (Carbendazim a dosis de 1 l ha ⁻¹)	80.00	75.00	50.00	50.00	255	63.75
T2 (Sulfato de cobre pentahidratado a dosis de 2 kg ha ⁻¹)	60.00	50.00	50.00	25.00	185	46.25
T3 (<i>Trichoderma harzianum</i> cepa OBTh55 a dosis de 0,3 kg ha ⁻¹)	80.00	50.00	75.00	50.00	255	63.75
T4 (<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST 713 a dosis de 0,22 l ha ⁻¹)	80.00	75.00	75.00	75.00	305	76.25
T5 (Testigo sin control)	0.00	0.00	0.00	0.00	0	0.00
TOTAL	300	250	250	200	1000	50.00

Tabla 25*Datos de campo para altura de planta*

Tratamientos	Bloques				Total	promedio
	I	II	III	IV		
T1 (Carbendazim a dosis de 1 l ha ⁻¹)	58	63	68	64	253	63.25
T2 (Sulfato de cobre pentahidratado a dosis de 2 kg ha ⁻¹)	53	55	61	58	227	56.75
T3 (<i>Trichoderma harzianum</i> cepa OBTh55 a dosis de 0,3 kg ha ⁻¹)	75	70	67	73	285	71.25
T4 (<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST 713 a dosis de 0,22 l ha ⁻¹)	77	80	81	76	314	78.50
T5 (Testigo sin control)	36	20	39	42	137	34.25
TOTAL	299	288	316	313	1216	60.80

Tabla 26*Datos de campo para peso fresco de la raíz*

Tratamientos	Bloques				Total	promedio
	I	II	III	IV		
T1 (Carbendazim a dosis de 1 l ha ⁻¹)	10.20	9.60	9.10	8.30	37.2	9.30
T2 (Sulfato de cobre pentahidratado a dosis de 2 kg ha ⁻¹)	4.50	5.80	4.50	5.30	20.1	5.03
T3 (<i>Trichoderma harzianum</i> cepa OBTh55 a dosis de 0,3 kg ha ⁻¹)	10.50	9.80	10.20	10.30	40.8	10.20
T4 (<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST 713 a dosis de 0,22 l ha ⁻¹)	11.50	10.90	11.20	10.60	44.2	11.05
T5 (Testigo sin control)	2.20	2.30	2.70	2.10	9.3	2.33
TOTAL	38.9	38.4	37.7	36.6	151.6	7.58

Tabla 27

Datos de campo para peso fresco de la parte aérea del tomate

Tratamientos	Bloques				Total	promedio
	I	II	III	IV		
T1 (Carbendazim a dosis de 1 l ha ⁻¹)	22.60	23.40	21.60	25.60	93.2	23.30
T2 (Sulfato de cobre pentahidratado a dosis de 2 kg ha ⁻¹)	15.70	17.30	17.40	14.80	65.2	16.30
T3 (<i>Trichoderma harzianum</i> cepa OBTh55 a dosis de 0,3 kg ha ⁻¹)	28.60	29.50	27.80	27.50	113.4	28.35
T4 (<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST 713 a dosis de 0,22 l ha ⁻¹)	34.50	32.00	33.60	31.80	131.9	32.98
T5 (Testigo sin control)	8.50	11.80	9.60	10.40	40.3	10.08
TOTAL	109.9	114	110	110.1	444	22.20

Tabla 28

Datos de campo para rendimiento del tomate (g/planta-1)

Tratamientos	Bloques				Total	Promedio
	I	II	III	IV		
T1 (Carbendazim a dosis de 1 l ha ⁻¹)	860.00	1070.00	920.00	930.00	3780	945.00
T2 (Sulfato de cobre pentahidratado a dosis de 2 kg ha ⁻¹)	860.00	810.00	870.00	760.00	3300	825.00
T3 (<i>Trichoderma harzianum</i> cepa OBTh55 a dosis de 0,3 kg ha ⁻¹)	1170.00	1050.00	1030.00	126.00	4510	1127.50
T4 (<i>Bacillus subtilis</i> cepa QST 713 a dosis de 0,22 l ha ⁻¹)	1450.00	1480.00	1680.00	153.00	6140	1535.00
T5 (Testigo sin control)	210.00	450.00	340.00	230.00	1230	307.50
TOTAL	4550	4860	4840	4710	18960	948.00

ANEXO 3. Imágenes durante la investigación



Figura 2. *Evaluando plantas de tomate con síntomas de la enfermedad (podredumbre del tallo)*

A

B

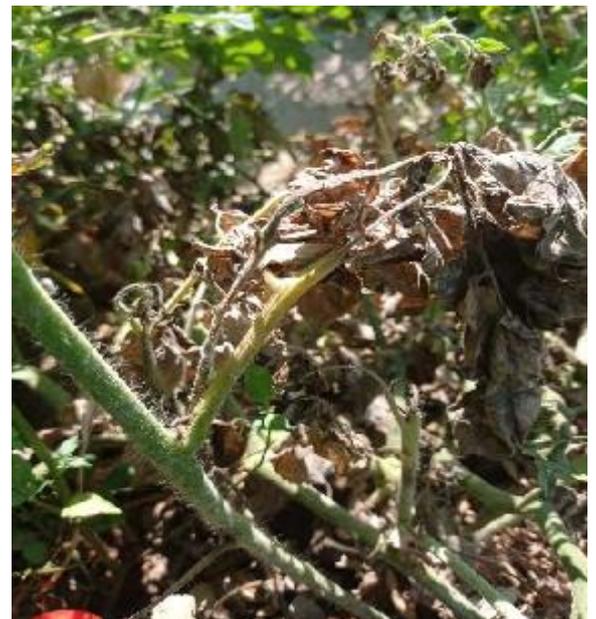


Figura 3. *Evaluación de tallos (A) y presencia de muerte de ramas (B)*

Aislamiento de esclerotes



Esclerotes en hipoclorito de sodio 5%



Se enjuagaron los esclerotes con agua destilada



Sembrando esclerotes en medio PDA suplementado con sulf. Estreptomicina



Figura 4. Fase de laboratorio: Aislamiento e Identificación de *Sclerotinia sclerotiorum*

Sustrato 30 % de tierra de chacra, 30 % de musgo, 30 % de arena y 10 % de compost.



Mezcla del sustrato



Bandejas semilleros de tomate



Manteniendo la humedad a CC



Figura 5. Fase de campo: preparación del sustrato

Siembra de tomate



Instalación de Tratamientos



Figura 6. Fase de campo: instalación del tomate

Productos a aplicar en cada tratamiento



Sulfato de Cobre (Cu 25%)



Carbendazim

Bacillus subtilis

Trichoderma harzianum



Figura 7. Asignación de los tratamientos

Aplicando el T1(carbendazim)



T5(Testigo)



Aplicando el T2(Sulfato de Cobre)



Aplicando el T4(Bacillus subtilis)



Aplicando el T3(Trichoderma harzianum)



Figura 8. Aplicación de los tratamientos

Cosecha de tomate



Selección de frutos



Encajonado



Figura 9. Cosecha del tomate