



PRESENTACIÓN DE INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN

MODULO I	IDENTIFICACIÓN	
País	República de Colombia	
Ciudad	Bogotá	
Entidad (es)	Universidad Santo Tomás Vicerrectoría Universidad Abierta y a Distancia	
Facultad	Facultad de Educación	
	Facultad de Ciencias y Tecnologías	
Unidad Académica	Centro de Investigación de la Vicerrectoría Universidad Abierta y a Distancia	
Programa Académico	ADMINISTRACION AMBIENTAL Y DE LOS RECURSOS NATURALES	
Autores		Rol
Paulo Germán García Murillo		Investigador Principal
Germán Melo		Coinvestigador
Jesika Natali Valencia González		Auxiliar
Título del Proyecto	Uso de pregerminación controlada de semillas en combinación con aislamientos de <i>Trichoderma</i> sp., para el tratamiento de plantas nativas y su posterior uso en procesos de revegetalización en zonas de ronda de la microcuenca Quebrada Grande, Municipio de San Antonio de Tequendama (Cundinamarca).	
Tipo de Investigación		
Línea Medular de Investigación	Ciencia, tecnología y medio ambiente	
Línea Activa de Investigación	Ordenamiento y Manejo de los Recursos Naturales en las Cuencas Hidrográficas	
Grupo de Investigación	Gestión de Cuencas Hidrográficas en Colombia	
Semillero de Investigación	Bioprospección de Microorganismos procedentes de la Cuenca del Rio Bogotá.	

RELACIÓN PROYECTO – CONVOCATORIA.			
Convocatoria Número	08		Fecha de Inicio
Modalidad Convocatoria	OPS		Fecha del Informe de Avance
	Nómina		
Proyecto Especial			Fecha prevista de Finalización
Otro (especifique)			Radicación Informe Final
			23 de septiembre
			06 de diciembre
			06 de diciembre

Síntesis de Ejecución presupuestal. Establezca los rubros según el presupuesto aprobado y establezca una comparación con lo ejecutado.

Rubros	Valor	Valor Ejecutado	Valor Pendiente
--------	-------	-----------------	-----------------



Financiables	Aprobado		
Personal	11.136.000	11.136.000	11.136.000
Equipos	0.0	0.0	0.0
Software	0.0	0.0	0.0
Viajes	0.0	0.0	0.0
Salidas de campo*	1.800.000	1.800.000	1.800.000
Medios de Cultivo*	600.000	600.000	600.000
Materiales	1.000.000	1.000.000	1.000.000
Material bibliográfico	400.000	349.300	50.700
Servicios técnicos	0.0	0.0	0.0
Impresos	0.0	0.0	0.0
Total	14.936.000	14.936.000	14.936.000
Observaciones: Ejecución del 100% presupuestado.			
*Se solicitó cambio de rubro en relación con el último rubro de salida de campo, el cual se cambió por compra de medios de cultivo por un valor de \$600.000 pesos.			

MODULO II	ASPECTOS GENERALES SOBRE LA INNOVACIÓN Y EL DESARROLLO TECNOLÓGICO DESARROLLADOS ¹
-----------	---

Resumen en español del proyecto (Máximo 20 líneas):

La Microcuenca Quebrada Grande, perteneciente al Municipio de San Antonio de Tequendama, es de gran importancia para sus habitantes ya que esta es abastecedora de su acueducto veredal; sin embargo algunas áreas de sus rondas hidráulicas presentan grandes disturbios por la ampliación de la frontera agrícola y pecuaria. Dentro de las posibles estrategias de restauración de estas áreas esta la revegetalización con especies nativas, que para este caso se propusieron el encenillo (*Weinmannia tomentosa*), roble (*Quercus humboldtii*), laurel de cera (*Myrica pubescens*), yarumo plateado (*Cecropia* sp.), canelo (*Hedyosmum bonplandianum*). Sin embargo para su establecimiento en las zonas a revegetalizar se utilizan fungicidas de síntesis química, los cuales pueden producir problemas de contaminación y de salud, es por esto que se seleccionó como alternativa de manejo de estas especies el control biológico mediante hongos del género *Trichoderma*, levaduras y la técnica de pregerminación controlada de semillas en dos modelos in planta, contra *Rhizoctonia* sp., y *Botrytis* sp., causantes el primero de pudriciones en semillas y cuello de raíz y el segundo causante del moho gris en hojas, tallos flores y frutos, en especies nativas como comerciales. En las evaluaciones in planta de tres aislamientos de *Trichoderma* y dos de levaduras; se seleccionó un aislamiento de *Trichoderma* procedente de un suelo del municipio de Tenjo (vereda La Punta), por presentar alta actividad biocontroladora contra *Botrytis* y *Rhizoctonia*, en este último caso en combinación con la técnica de pregerminación controlada de semillas. Siendo el uso de este microorganismo (*Trichoderma*-Tenjo) junto con la pregerminación, una estrategia viable para el tratamiento de semillas de

¹ Tomado de NORMAS PARA LA PRESENTACIÓN DE INFORMES RELACIONADOS CON PROYECTOS FINANCIADOS TOTAL O PARCIALMENTE POR COLCIENCIAS. Dirección de Desarrollo Tecnológico e Innovación. Bogotá D.C., Febrero de 2010.



plantas nativas, con el fin de ser utilizadas en procesos de revegetalización, en la Microcuenca Quebrada Grande.

Palabras Claves: Revegetalización, Control biológico, pregerminación, *Trichoderma*, *Botrytis*, *Rhizoctonia*.

Objetivo general: Formular una Propuesta para el uso de pregerminación controlada de semillas en combinación con aislamientos de <i>Trichoderma</i> sp., para el tratamiento de plantas nativas y su posterior uso en procesos de revegetalización en zonas de ronda de la microcuenca Quebrada Grande, Municipio de San Antonio de Tequendama (Cundinamarca).	100%	En laboratorio se pudo seleccionar dos aislamientos de <i>Trichoderma</i> sp., el primero procedente del municipio de Tenjo y el segundo de Madrid, ambos procedentes del Departamento de Cundinamarca. Estos aislamientos presentaron alta actividad biocontroladora contra <i>Botrytis</i> cinérea y <i>Rhizoctonia</i> sp., en este último caso en combinación de la pregerminación controlada de semillas. Estos aislamientos de <i>Trichoderma</i> pueden ser una alternativa para el tratamiento de semillas de plantas nativas contra los fitopatógenos ya mencionados. Se seleccionaron 3 zonas de ronda con evidentes manifestaciones de disturbio en su ecosistema de ronda, pertenecientes a Quebrada Granda. Teniendo en cuenta las condiciones edáficas de zonas de disturbio seleccionadas, se elaboró una propuesta de revegetalización con cinco especies nativas. en los cuales Para el desarrollo del proyecto se han realizado hasta el momento 2 salidas a la microcuenca, que han permitido el aislamiento de uno de los aislamientos de fitopatógeno, y los sitios en zona de ronda de Quebrada Grande, que pueden ser restaurados ecológicamente. Se relacionó las posibles especies vegetales para logara
---	-------------	---



		esta restauración.
Objetivo específico: Aislar y seleccionar especies del género <i>Trichoderma</i>, procedentes de la microcuenca Quebrada Grande, con alta actividad biocontroladora contra <i>Rhizocotonia</i> y <i>Botrytis</i>	100%	Se conformó un cepario con los siguientes microorganismos: Biocontroladores 3 aislamientos del género <i>Trichoderma</i>. Fitopágenos 2 aislamientos <i>Botrytis</i>, el primero aislado de moras de castilla, procedentes la microcuenca Quebrada Grande, y el segundo aislado de rosas con síntomas y signos del moho gris. 1 un aislamiento del hongo <i>Rhizoctonia</i> procedente de tubérculos de papa (pastusa), que presentaron signos del mencionado hongo. Se evaluaron la eficacia de los aislamientos de <i>Trichoderma</i>, procedentes de Tenjo y Madrid, con eficacias preventivas superiores al 80% contra <i>Botrytis</i> causante del moho gris, en un modelo "in planta".
Objetivo específico: Evaluar la pregerminación controlada de semillas un modelo <i>in planta</i> en semillas de frijol, en combinación con la aplicación de <i>Trichoderma</i>, para el control de <i>Rhizocotonia</i> en un modelo <i>in planta</i>.	100%	Se evaluó un sistema <i>in planta</i>, en semillas de frijol (var: Diacol andino), los aislamientos de <i>Trichoderma</i> sp. En combinación de semillas de pregerminación controlada de semillas; encontrándose que el aislamiento de <i>Trichoderma</i>-Tenjo más pregerminación, presento un 90% de germinación en presencia de <i>Rhizoctonia</i> sp.



Objetivo específico: Seleccionar cinco especies de plantas nativas que potencialmente sean aptas para un proceso de revegetalización en la microcuenca Quebrada Grande en San Antonio de Tequendama.	100%	Se realizó la selección cinco especies nativas, aptas para el proceso de revegetalización en tres zonas con alto disturbio ecológico, en la microcuenca de la Quebrada Grande, los principales parámetros para la selección fueron, caracteres edáficos, altitud, relieve, pendiente, vegetación existente. Las especies seleccionadas fueron: Encenillo: <i>Weinmannia tomentosa</i>, Roble: <i>Quercus humboldtii</i>, Laurel de Cera: <i>Myrica pubescens</i>, Yarumo plateado: <i>Cecropia</i> sp, Canelo. <i>Hedyosmun bonplandianum</i>.
Objetivo específico: Establecer áreas de ronda en la microcuenca Quebrada Grande en San Antonio de Tequendama, con evidente deterioro, en las que sea factible el establecimiento de revegetalización con especies nativas	100%	Se seleccionaron las áreas para el proceso de revegetalización, se genera el estudio donde las plántulas se deben establecer donde exista el espacio necesario para su desarrollo normal y prever que su crecimiento no afecte estructuras ecológicas u otras plantas ya establecidas. Se tuvo en cuenta factores como el tipo de suelo, clima, luminosidad, resistencia a la sequía o frío, contaminación, posibilidades de riego inmediato y mantenimiento. Adicional a esto la finalidad de la siembra está basada en la recuperación y protección de la cuenca, debido a esto el aérea seleccionada no puede estar a una distancia mayor a 1000m.

Desarrollo del enfoque metodológico.

Valore el nivel de cumplimiento con el que se siguió la metodología planteada en un principio; de haberse realizado alguna modificación a la misma proporcione una explicación de los motivos que la causaron.

Los aislamientos de *Trichoderma*, evaluados hasta el momento no proceden de la Microcuenca Quebrada Grande, ya que de las 5 muestras de suelo tomadas en esta



microcuenca, ninguna ha proporcionado los mencionados microorganismos. Sin embargo se están se está evaluando tres aislamientos de *Trichoderma*, 2 procedentes también de Cundinamarca y otro de Boyacá. Los demás tópicos metodológicos se siguen de acuerdo a lo propuesto en el proyecto.

En una escala de 0-100 Establezca el porcentaje de cumplimiento del enfoque metodológico.

100%

Cumplimiento del Cronograma.

Valore el nivel de cumplimiento con el que se siguió el cronograma planteado en un principio; de haberse realizado alguna modificación en los plazos especificados proporcione una explicación de los motivos que la causaron.

Observación: Se cumplieron todos los objetivos propuestos en el proyecto

100%

Dificultades enfrentadas en la realización del proyecto

Existió retraso en una de la visitas de campo planteadas hasta el momento, por bloqueos en la salida de Bogotá vía Soacha; razón por la cual se hicieron 2 salidas de 3 proyectadas a la fecha. Lo mencionado anteriormente disminuyó las probabilidades de aislamientos de *Trichoderma* nativos de la microcuenca en cuestión.

MODULO III

TEXTO O CUERPO DEL INFORME

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La presión sobre los recursos naturales como resultado de la actividad antrópica, fundamentalmente traducida en actividades socioeconómicas realizadas en la microcuenca Quebrada Grande (municipio de San Antonio de Tequendama/ Cundinamarca), es producto de la falta de criterios de sostenibilidad ambiental.

Esta falta de criterio de sostenibilidad, ha generado problemáticas, relacionadas con deforestación, agotamiento y desgaste de la cobertura vegetal protectora y procesos de erosión. Pérdida de avifauna, flora y fauna de carácter endémico por acción de la caza indiscriminada, ampliación de la frontera agropecuaria, fragmentación del bosque, crecimiento de la densidad poblacional y contaminación hídrica (Corporación Autónoma Regional, 2007).

Otros factores que pueden afectar a esta y otras microcuencas en el país, son los referentes a la colonización de tierras en zonas de reserva forestal, uso de pesticidas, comercio indiscriminado de especies nativas de flora y fauna, y reforestaciones inadecuadas (Corpogavió, 2010).



Además, los bosques disturbados antrópicamente por los factores ya mencionados, pueden modificar el régimen hidrológico, causando serios efectos sobre la disponibilidad del agua minerales y demás elementos de las cadenas tróficas propias de esta zona (Vargas *et al.* 2010).

En especial la fragmentación del bosque, está generando sectores de pastoreo, en áreas que se ubican en bordes o dentro del bosque andino y páramo que constituyen el hábitat para el Oso Andino disminuyendo su oferta de alimento y refugio; igualmente se ven afectadas otras especies de la fauna regional como el venado cola blanca *Odocoileus virginianus*, el Puma (*Puma concolor*), el soche *Mazama rufina*; aves como el Cóndor Andino (*Vultur gryphus*), la pava (*Penelope montagnii*), el tucán (*Andigena nigrirostris*), entre otros (Corpoguavio, 2007).

Alrededor de las microcuencas incluyendo Quebrada Grande, se presentan zonas de bosques riparios, los cuales son áreas de interface entre los ecosistemas terrestres y acuáticos, los cuales son influenciados por agua dulce, y que se pueden extender desde los cuerpos de agua, hasta los límites de comunidades vegetales eminentemente terrestres (Gregory *et al.* 1991; Naiman *et al.* 2007).

Por lo dicho anteriormente, es urgente generar propuestas de revegetalización de los bosques de niebla en la microcuenca Quebrada Grande perteneciente al Municipio de Tequendama, basadas en el uso de especies nativas, que permita extender y conectar nuevamente los bosques en áreas circundantes de esta microcuenca, para mantener los niveles óptimos de las fuentes hídricas.

2. AVANCES EN EL MARCO TEÓRICO

CONTROL BIOLÓGICO DEL MOHO GRIS PRODUCIDO POR *BOTRYTIS CINEREA*

Los primeros pasos en el control biológico de *B. cinerea* fueron hechos por Wood (1951) y Newhook (1951) citados por Elad (1992, 1996) quienes inocularon hojas senescentes de lechuga con antagonistas como *Fusarium* sp. y *Penicillium claviforme* aislados del mismo cultivo con el fin de prevenir el establecimiento primario de *B. cinerea* con resultados positivos en el control efectivo de esta enfermedad. Más tarde la aplicación de *Cladosporium herbarum* controló efectivamente el moho gris de la fresa protegiendo las flores bajo condiciones de campo (Bhatt y Vanghan, 1962) citados por Elad (1996).

Las nuevas investigaciones en control biológico de *B. cinerea* de los años 70`s tuvieron que ver con el uso de hongos del género *Trichoderma* spp. cuyas propiedades antagónicas ya se conocían, pero se consideraba que no era un componente usual de la microflora de la superficie foliar. Elad (1992 y 1996) cita los primeros reportes acerca del control biológico de *B. cinerea* por *Trichoderma* spp. realizados en uva (Dubos, 1982), manzana (Tronsmo, 1982) y fresa (Tronsmo y Dennis, 1977). Desde entonces, el trabajo sobre este género antagonista ha progresado rápidamente como también el estudio de las propiedades antagónicas de los microorganismos encontrados como parte de la microflora de la filósfera (Elad, 1996).

La infección causada por patógenos necrótrofos incluyendo *B. cinerea* puede ser reducida mediante preinoculación del filoplano con hongos filamentosos, bacterias o levaduras



(Blakeman, 1993; Blakeman y Fokkema, 1982) citados por Elad (1996). Algunas especies de levaduras, bacterias y hongos filamentosos han sido reportados en el control positivo de *B. cinerea* en varios cultivos bajo condiciones controladas (Redmon *et al.*, 1987) citados por Elad y Freeman (2002); (Elad *et al.*, 1994 a, b).

Penj y Sutton (1991) citados por Elad (1996) probaron la capacidad de varios antagonistas de controlar la esporulación de *B. cinerea* en secciones de hojas de fresa y encontraron que los aislamientos de *Trichoderma* sp. y *Gliocladium* sp. fueron los más efectivos. *Gliocladium roseum* Link : Bainer (reclasificado como *Clonostachys rosea*) y *Myrothecium verrucaria* suprimieron efectivamente la esporulación del patógeno sobre plántulas de abeto rojo (Zhang *et al.*, 1994) citados por Elad (1996). Las conidias de *G. roseum* transportadas por abejas hasta las flores de fresa suprimieron *B. cinerea* sobre las flores y los frutos (Peng *et al.*, 1992).

El control biológico de *B. cinerea* con *Trichoderma* spp. bajo condiciones comerciales se ha llevado a cabo en uvas (Dubos, 1992; Gullino, 1991) citados por Elad (1996) y algunos logros significativos se han obtenido en cultivos bajo invernadero (Elad y Shtienberg, 1995; Elad *et al.*, 1994; Garibaldi y Corte, 1987; Gullino *et al.*, 1990; Malathrakakis y Klironomou, 1992).

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES CON MICROORGANISMOS

La implementación del control biológico a gran escala es aún limitada y el número de patosistemas donde éste es usado comercialmente es bajo. Una de las razones que dificultan la implementación de este método de control, especialmente en cultivos de alto valor (Burpee, 1989; Burrage, 1971, Cutter, 1976; Dik *et al.*, 1992) citados por Guetsky *et al.* (2001), es la variabilidad e inconsistencia de la eficacia de control, si se tiene en cuenta que en algunos casos la eficacia de control biológico es adecuada y comparable a aquella conseguida con plaguicidas químicos, mientras que en otros casos ésta es inferior (Shtienberg y Elad, 2002).

Los organismos involucrados en el control biológico de enfermedades foliares incluyen el patógeno, el hospedero, el agente de control biológico y los microorganismos presentes en la filosfera. Todos estos son afectados por el ambiente, por los métodos de cultivo y por los plaguicidas que se utilizan en el cultivo (Elad, 1990; Elad, 1996). Al respecto, algunos autores indican que una de las razones por la cual ocurre la variabilidad del biocontrol es la sensibilidad de los agentes del control biológico a las condiciones ambientales (Burrage, 1971; Hallan y Juniper, 1971; Hannusch y Boland, 1996) citados por Guetsky *et al.* (2001); (Shtienberg y Elad, 2002).

Ciertamente, la microflora del filoplano se caracteriza por su diversidad y complejidad (Elad, 1990). Los componentes biológicos del filoplano son determinados por los exudados de las hojas, las fluctuaciones de temperatura, la humedad relativa, el agua libre, los gases atmosféricos, la luz visible, la radiación ultra violeta, el viento y la polución. Estos factores que son cambiantes afectan la viabilidad y actividad de los microorganismos de la filosfera, por lo que es probable que el control biológico no sea implementado a gran escala hasta tanto el problema de variabilidad sea resuelto (Shtienberg y Elad, 2002).

Una de las alternativas para superar la incapacidad de la mayoría de agentes de control biológico para ser efectivos bajo diversas condiciones ambientales es aplicarlos en mezcla o en alternación con fungicidas químicos o aplicar más de un agente de biocontrol en un mismo tiempo (Shtienberg y Elad, 2002). Esta integración se puede conseguir considerando los



factores bióticos y abióticos en los sistemas agrícolas (Shtienberg y Elad, 2002). Otra propuesta para superar la variabilidad del control biológico es aplicar agentes de control biológico que presenten diversos modos de acción que sean complementarios (Shtienberg y Elad, 2002).

En general, las ventajas del control biológico incluyen el nulo o reducido riesgo que representan para el productor y el aplicador, así como la carencia de residuos en el producto vendido y bajo riesgo de contaminación ambiental (Lenteren, 2000). El hecho de que el consumidor demande alimentos libres de plaguicidas también estimula el uso del control biológico (Lenteren, 2000).

BIOPLAGUICIDAS COMERCIALES REGISTRADOS

Desde hace dos décadas se han incrementado los esfuerzos de investigación tendientes al descubrimiento y desarrollo de plaguicidas nuevos y seguros, modelados u originados en sistemas naturales. Consecuentemente muchos productos de origen biológico han sido aprobados para su uso (Warrior, 2000). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (E.P.A.) ha tomado el papel de director en el desarrollo de las normas para la regulación de tales plaguicidas y ha establecido un procedimiento “fast-track” para acelerar su comercialización, remplazando de este modo los ingredientes activos químicos más tóxicos (Warrior, 2000).

Este mismo autor precisó que para el año 2000 había alrededor de 175 ingredientes activos y más de 700 formulaciones comerciales de bioplaguicidas registrados en los E.U. La E.P.A. ha clasificado los plaguicidas biológicos en tres grupos principales, plaguicidas microbiales, bioquímicos y derivados de plantas (Warrior, 2000).

En la actualidad a nivel internacional se comercializan muchos microorganismos tales como especies de bacterias, levaduras y hongos filamentosos para el control de fitopatógenos del suelo, foliares y de pos cosecha de frutas principalmente. El número de microorganismos comercializados ha crecido en los últimos años y en el mercado se encuentran ahora alrededor de 52 productos biológicos de este tipo, desarrollados y registrados en diferentes países del mundo (EPA, 2003; attra, 2003).

Las especies vegetales presentan características que les permiten ser más competitivas entre sí de acuerdo, especialmente a dos factores: la utilización que se hace de los nutrientes y demás productos que sintetiza, para la producción de semillas, rebrotes, crecimiento, defensa contra plagas y enfermedades (Jarro, 2000).

La vegetación cumple un papel fundamental en la mayor parte de los ecosistemas naturales, en el caso de la vegetación de ribera, la multiplicidad de sus funciones la convierte en un elemento clave para un buen estado ecológico de los sistemas riparios.

Es bien conocida la existencia de un microclima en el medio ribereño, como consecuencia del control que ejerce la vegetación de ribera sobre las condiciones climáticas básicas (Temperatura, luz, velocidad del viento y humedad). El microclima en zonas cercanas a una cuenca hidrológica tiene una fuerte influencia sobre diversos procesos ecológicos de este medio, como son la regeneración y crecimiento de los vegetales, los ciclos biogeoquímicos, los mecanismos edáficos o los hábitos faunísticos. (Magdaleno, 2011).



Los cauces sufren de forma habitual procesos de erosión y sedimentación, como parte de su dinámica natural. Diversos factores pueden alterar, sin embargo, el balance de estos procesos, y uno de los más evidentes es la eliminación de la vegetación cercana a una fuente hídrica, que protege de manera eficaz las orillas y las riberas. En los últimos años se ha incrementado notablemente el número de trabajos que analizan el papel de la vegetación riparia en el paisaje fluvial. Existen al menos, tres procesos básicos por los que la vegetación influiría en los procesos hidrológicos (Lara *et al.* 2005), el primero es el impacto físico de las formaciones y de los restos de vegetación de ribera o cercana a ella sobre la hidráulica fluvial, el segundo proceso es el efecto de la fisiología de las plantas sobre el ciclo del agua y el tercer proceso es el efecto de la vegetación sobre la calidad del agua. (Lara *et al.* 2005).

3. METODOLOGÍA

3.1. Aislamiento de especies de *Trichoderma*, *Rhizoctonia*, levaduras y *Botrytis*

Se tomaron siete muestras de suelo (100 g aprox.) a una profundidad aproximada de 10 cm (rizosfera) de la vegetación predominante de plantas nativas en 3 municipios pertenecientes al Departamento de Cundinamarca. Cinco de estas muestras de las cuales, se obtuvieron en bosques de niebla perteneciente a la Microcuenca Quebrada Grande, Municipio de San Antonio de Tequendama, una muestra de suelo en la Vereda La Punta, en el municipio de Tenjo y una de la vereda Puente Piedra, en el municipio de Madrid.

Estas muestras fueron transportadas al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Santo Tomás en Bogotá, luego tamizadas y sometidas a los procedimientos metodológicos de aislamiento por medio de diluciones decimales, propuestos por Murcia y Salamanca en 2006.

Los aislamientos de *Trichoderma* sp., y levaduras obtenidos a partir de las muestras de suelo, fueron mantenidos en cajas de Petri con medio Agar Sabouraud con adición de Rosa de Bengala, este último adicionado para inhibir el crecimiento de bacterias, e incubados a 22°C por 12 días, hasta asegurar un óptimo crecimiento y desarrollo del hongo; cumplido el plazo anterior estos aislamientos fueron almacenados a temperatura de refrigeración (5°C), para posteriormente ser resembrados en el mismo medio de cultivo para su evaluación.

Para la obtención del hongo fitopatógeno *Botrytis*, este se aisló de frutos maduros mora, procedentes de cultivos de esta fruta pertenecientes a predios en la Microcuenca Quebrada Grande, y sometidos a condiciones de cámara húmeda (>90%) por 6 días aproximadamente; transcurrido este periodo, en la superficie de estos aparecieron los síntomas y signos del moho gris, producidos por este hongo.

El micelio producido por este hongo fue sembrado también en cajas con medio de cultivo agar Sabouraud más Rosa de Bengala, puesto a incubar, y resembrado en las mismas condiciones mencionadas para *Trichoderma* sp.

Finalmente se hizo el aislamiento de *Rhizoctonia*, de esclerocios producidos por este hongo fitopatógeno, a partir de tubérculos de papa (variedad pastusa) obtenidos en un mercado local en Bogotá (Localidad Teusaquillo). Siendo estos esclerocios desinfectados, sembrados, incubados y resembrados, en las mismas condiciones mencionadas anteriormente para los microorganismos ya mencionados.



3.2. Evaluación preliminar de actividad biocontroladora de aislamientos *Trichoderma* y *Levaduras nativas*

Para la evaluación de la actividad biocontroladora de tres aislamientos de *Trichoderma* y dos aislamientos de levaduras contra *Botrytis*, se hizo de acuerdo a la metodología propuesta por Moreno en 2003, en la cual se toman grupos de tallos (10 unidades) de tiernos de rosa (var. Vendela), los cuales fueron inoculados en sus extremos con 0.1 ml de una suspensión, con uno de los aislamientos de *Trichoderma* y levaduras a una concentración de 1×10^7 conidios* ml^{-1} .

Teniendo en cuenta que el tipo de control con los microorganismos antagonistas es de tipo preventivo, se hizo la aplicación 48 horas después, con 0.1 ml de una suspensión del hongo fitopatógeno *Botrytis* sp., a una concentración 1×10^6 conidios* ml^{-1} .

Para este ensayo se proponen como tratamientos, nueve grupos de tallos (10 unidades experimentales) correspondiente a:

Grupo 1. Inoculación de un aislamiento de *Trichoderma* sp., procedente del municipio de Tenjo.

Grupo 2 y 3. Inoculación de dos aislamientos de *Trichoderma* sp., procedente del Municipio de Madrid.

Grupo 4 y 5. Inoculación de dos aislamientos de levaduras., procedentes del Municipio de San Antonio de Tequendama.

Grupo 7. Testigo Comercial correspondiente a la aplicación del fungicida Carbendazim (I. A. Carbendazim), aplicado a una dosis de $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Grupo 8. Testigo Patógeno al que solo se le inoculó el hongo fitopatógeno *Botrytis*. 48 horas después de ser sometidos a la aplicación de agua destilada estéril.

Grupo 9. Testigo Absoluto al que solo se le inoculó agua destilada estéril al inicio del ensayo y 48 horas después.

Se evaluó el porcentaje la severidad de la enfermedad producida por *Botrytis*, correspondiente a la longitud de lesión, medida en centímetros (cm) de avance de la enfermedad cada 24 horas, en cada uno de los tallos inoculados con este fitopatógeno, para cada uno de los tratamientos y en el testigo absoluto, al cual solo se le inoculo agua destilada estéril.

Diseño Experimental: se propuso un diseño completamente al azar, en donde cada tratamiento correspondió a cada grupo de tallos de rosa. La unidad experimental fue constituida por cada uno de los tallos, en cada grupo experimental.

Análisis de los Resultados

De otra parte, fueron evaluadas las curvas del progreso del moho gris desde la aparición de los síntomas, en cada uno de los grupos de tratamientos, a partir de los valores de longitud de lesión medidos cada 24 horas.



A partir de las curvas de crecimiento, se calculara el Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE) hasta el día noveno para cada grupo de tratamiento de acuerdo a la siguiente formula,:

$ABCPE = \sum_{i=1}^{n-1} ((Y_{i+1} + Y_i)/2) (t_{i+1} - t_i)$, donde: Y_i es la proporción de enfermedad en la i-ésima evaluación; t_i tiempo en la i-ésima observación y n = número de evaluaciones.

Con base en los valores de ABCPE producidos por el moho gris, se calculó el porcentaje (%) de eficacia, para cada uno de los grupos de tratamientos en contraste con las áreas obtenidas en el Testigo Patógeno, de acuerdo a la siguiente expresión matemática:

% de eficacia = $((\text{Severidad Test. Patógeno} - \text{Severidad Tratamiento}) / \text{Severidad Test. Patógeno}) * 100$

Se seleccionaron los microorganismo que presentaron una eficacia superior o igual 80%, para posteriormente ser evaluados contra *Rhizoctonia* sp.

3.3. Evaluación de la pregerminación controlada de semillas en combinación con aplicación de *Trichoderma*

A partir de la preselección de microorganismos hecha contra *Botrytis*, se evaluó la eficacia del procedimiento de pregerminación controlada de semillas en matriz sólida, en combinación con la aplicación de *Trichoderma* de acuerdo a los procedimientos propuestos por Cardenas 1999.

Para esta evaluación se utilizaron semillas de frijol (variedad Diacol Andino), las cuales fueron lavadas previamente, con el fin retirar el fungicida Vitavax®, el cual es comúnmente usado para prevenir las infecciones producidas por *Rhizoctonia* sp., después del proceso de siembra.

Posteriormente, se utilizó un recipiente plástico transparente de 10 cm de alto, 23 cm de ancho y 31 de largo aproximadamente con tapa. En éste se colocarán 200g de cascarilla de arroz estéril y humedecida con 250ml de agua destilada estéril, que equivalía al 80 % de la capacidad de retención del sustrato.

Las semillas de frijol fueron previamente desinfectadas mediante una inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante 5 minutos y luego fueron lavadas con abundante agua destilada estéril durante 3 min por tres veces consecutivas.

Posteriormente, fueron divididas en grupos de tratamiento (50 unidades); el primero y segundo grupo fue inmerso dos suspensiones en Tween 80 al 0.1%, correspondientes a dos aislamientos de *Trichoderma* procedente de Tenjo y Madrid respectivamente, a una concentración de 10^7 conidios*ml⁻¹ durante 10 min en ambos casos.

Las suspensiones de los dos aislamientos de *Trichoderma*, fueron obtenidas de cultivos puros de los microorganismos, mantenidas en medio agar Sabouraud por 7 días e incubadas a 20°C. Un tercer grupo de semillas de frijol no se le retiró el fungicida Vitavax®, conformando así el testigo comercial y finalmente dos grupos de semillas, las cuales fueron lavadas tres veces, con lo cual se garantizó retirar la totalidad del fungicida Vitavax®, las cuales fueron inmersas



en una solución de Tween 80 al 0.1% también durante 10 min, que posteriormente conformaron el grupo de tratamiento del testigo patógeno y testigo absoluto (al cual no se le inocula ningún microorganismo).

Las semillas de todos los grupos experimentales, se dejaron secar en toallas adsorbentes estériles; luego de lo cual se colocarán en sus respectivos grupos en bolsitas de tul de 6cm de largo por 7 cm de ancho y se cerraron con alambre "amarra todo".

Las bolsas fueron colocadas independientemente, en los pregerminadores previamente montados a 5 cm de profundidad en la matriz de cascarilla de arroz humedecida; las cajas plásticas (pregerminadores) fueron colocadas en un lugar fresco y seco durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, todas las bolsitas de tul que estaban en las cajas plásticas se sacaron, de éstas se tomarán las semillas y se procedió a sembrarlas en los semilleros, para las pruebas de pruebas de control biológico contra *Rhizoctonia*.

En un primer ensayo, fueron puestas en semilleros de frijol en escoria estéril, pero inoculados con propágulos del fitopatógeno *Rhizoctonia*; para la preparación de este inóculo se tomaron cultivos de este hongo, previamente mantenido en medio agar Sabouraud por 11 días a 22°C, de estos cultivos se tomaron rodajas de 6 mm de diámetros del borde la colonia del hongo fitopatógeno para la inoculación de los semilleros. Esto se hizo teniendo en cuenta que *Rhizoctonia* es un micelio estéril que no produce esporas.

Cada alveolo de los semilleros se inóculo con dos rodajas con *Rhizoctonia*, para posteriormente ser sembrado con una semilla de frijol, para ver el efecto del fitopatógeno sobre la germinación, en todos los grupos experimentales.

En un segundo ensayo se hizo el mismo tipo de inoculación, pero solo cuando se observaron los primeros signos de germinación de las semillas de frijol. Se cuantifico el porcentaje de plántulas emergentes por grupo experimental, desde el día 5 pos inoculación del patógeno hasta el día 13, tiempo en el cual el testigo absoluto alcanzo el máximo porcentaje de emergencia de plántulas de frijol.

Diseño Experimental: Se propuso un diseño completamente al azar, tanto para el primero como segundo ensayo, en donde cada unidad experimental correspondió para el ensayo 1, grupos de 10 semillas de frijol por tratamiento y para el segundo 10 plántulas también por tratamiento.

Los semilleros para el ensayo 1 y 2, se dejarán por ocho días en condiciones controladas de humedad (80%), temperatura (20°C) y fotoperiodo de acuerdo a las condiciones de la ciudad de Bogotá; para luego ser evaluado el porcentaje de germinación el caso del ensayo 1 e incidencia de plantas afectadas por *Rhizoctonia*. Para el ensayo 2.

3.4. Selección de áreas con alto nivel de disturbio y cinco especies de plantas nativas con potencial para un proceso de revegetalización en la Microcuenca Quebrada Grande en San Antonio de Tequendama.

SELECCIÓN DE LAS ÁREAS CON ALTO NIVEL DE DISTURBIO

Las plántulas deben poseer las características de ser efectivas en el proceso de sucesión ecológica, estas plántulas se establecerán donde exista el espacio necesario para su desarrollo



normal y prever que su crecimiento no afecte a otras plantas nativas ya establecidas de la microcuenca Quebrada Grande, esta metodología se ajusta a lo propuesto en el protocolo de Mateucci, Silvia D., Aida Colma, 1882 y otros autores que han participado en el tema especialmente de Corpoboyacá en el año 2010.

SELECCIÓN DE CINCO ESPECIES CON POTENCIAL USO EN REVEGETALIZACIÓN

Se debe tener en cuenta factores como el tipo de suelo, clima, luminosidad, resistencia a la sequía o frío, contaminación, posibilidades de riego inmediato y mantenimiento. Adicional a esto la finalidad de la siembra ya que existen especies vegetales destinadas a la conservación y recuperación del ecosistema.

4. AVANCE Y LOGROS

Se conformó un cepario de hongos potencialmente biocontroladores de *Trichoderma* y de otros géneros, para evaluación de futuras investigaciones, correspondientes a levaduras y hongos del género *Verticillium*.

Se seleccionó un aislamientos de *Trichoderma*, procedente de suelo del municipio de Tenjo (vereda La Punta), por presentar alta actividad biocontroladora de *Botrytis* aislado de frutos de mora (cultivo de San Antonio de Tequendama) y *Rhizoctonia* aislado de tubérculos de papa, que junto con la técnica de pregerminación controlada de semillas, presento el mayor porcentaje de germinación y menor porcentaje de incidencia en plántulas de frijol en un modelo *in planta*.

Cabe mencionar que la para la continuación de este trabajo, es conveniente de las especies nativas seleccionadas en esta propuesta, probar en sus semillas la pregerminación controlada de semillas más la aplicación del aislamiento de *Trichoderma* procedente de Tenjo.

Se seleccionaron tres zonas en la ronda hidráulica de la Quebrada Grande, con altos niveles de disturbio, las cuales son candidatas para desarrollar una propuesta de revegetalización con especies nativas, en futuros trabajos.

Finalmente, a partir de los reconocimientos hechos en la Microcuenca Quebrada Grande y por información secundaria se seleccionaron 5 especies nativas que podrían ser utilizadas en esta microcuenca, con el fin de restaurar zonas de ronda, mediante estrategias de revegetalización.

5. RESULTADOS, PRODUCTOS E IMPACTOS

En la primera fase fueron aislados hongos (Tabla 1), algunos de los cuales fueron evaluados contra *Botrytis* en un modelo *in planta*.

Tabla 1. Géneros de hongos aislados a partir de muestras de suelo obtenidos de tres municipios en el departamento de Cundinamarca. Fuente los autores, 2013.

Municipio	# de Muestras	Género de hongos aislados
Madrid (vereda Puente Piedra)	1	<i>Trichoderma</i> (aislamiento 1 y 2), <i>Penicillium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Mucor</i> .

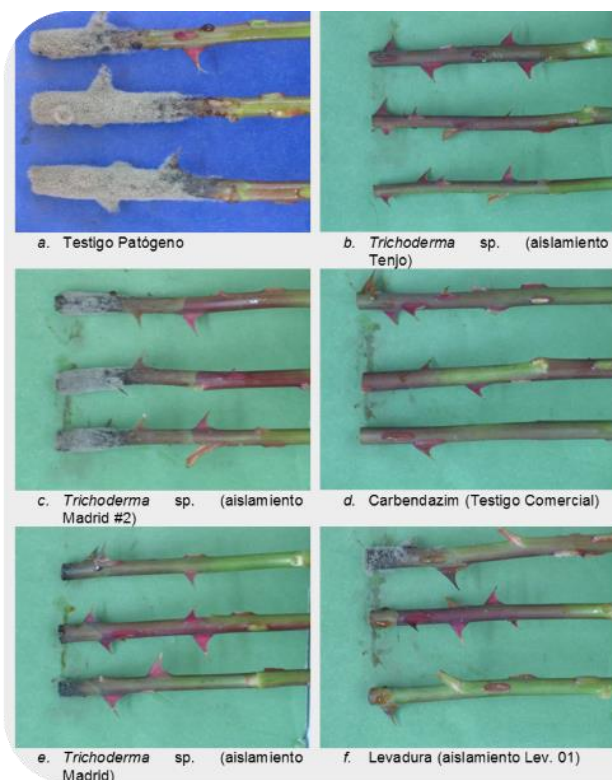


Tenjo (vereda Tenjo)	1	<i>Trichoderma</i> , <i>Penicilium</i> , <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Cladosporium</i> .
San Antonio de Tequendama (Microcuenca Quebrada Grande)	5	<i>Geotrichum</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Verticillium</i> , <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i> , Levaduras (aislamiento 1 y 2).

5.1. Evaluación de la actividad biocontroladora contra *Botrytis* sp. de dos aislamientos de Levaduras y tres de *Trichoderma*

Se evaluaron dos aislamientos de *Trichoderma* procedentes del municipio de Madrid y uno procedente de Tenjo, y dos aislamientos de levadura, contra un aislamiento de *Botrytis* procedente de frutos de mora maduros obtenidos de un cultivo en la Microcuenca Quebrada Grande (San Antonio de Tequendama).

El aislamiento correspondiente a *Trichoderma* Tenjo, inhibió completamente el crecimiento y desarrollo de *Botrytis* en tallos de rosa en un modelo de selección *in planta* (fotografía 1b, figura 1) desde el día 1 hasta el 9, en comparación al testigo patógeno, que para el día noveno día alcanza un máximo de esporulación y pudrición de los tallos de rosa con un valor de 2,05 cm. (figura 1 y fotografía 1a); de forma similar el aislamiento correspondiente a *Trichoderma* Madrid y el testigo comercial (Carbendazim) presentaron inhibición parcial de los síntomas y síntomas producidos por *Botrytis*, alcanzando valores cercanos en el día 9 de 0,63 cm y 0,45 cm respectivamente (figura 1).



Síntomas signos producidos por *Botrytis cinerea* (aislamiento mora S. Antonio de Tequendama) correspondiente a:

- a. Testigo Patógeno
- b. *Trichoderma* sp. (aisl. Tenjo),
- c. *Trichoderma* (aisl. Madrid #2),
- d. Carbendazim (Test. Comercial),
- e. *Trichoderma* sp. (aisl. Madrid),
- f. Levadura (aislamiento 01),
- g. Levadura (aislamiento 02).

Fuente los autores, 2013

Fotografía 1 (a, b, c, d y f): Efecto de la aplicación de tres aislamientos *Trichoderma* y la Levadura 1, sobre *Botrytis* en tallos de rosa (var. Vendela), modelo "in vitro". Fuente, los autores 2013.

De otra parte, el tratamiento correspondiente a la levadura # 2, presento un valor inferior de longitud de lesión (1,703 cm) en el día noveno, al obtenido con el testigo patógeno (figura 1); observándose con este microorganismo síntomas de lesión pero no signos de esporulación del hongo fitopatógeno (fotografía 1f).

En el caso de la levadura # 1, esta presento en contraste un valor superior al testigo patógeno con longitudes de lesión de 2,232 cm. Finalmente el aislamiento de *Trichoderma* Madrid # 2, también presento valores superiores de longitud de lesión (4.0 cm), al ser comparadas con este testigo, presentando esporulación abundante del fitopatógeno (figura 1 y fotografía 1e).

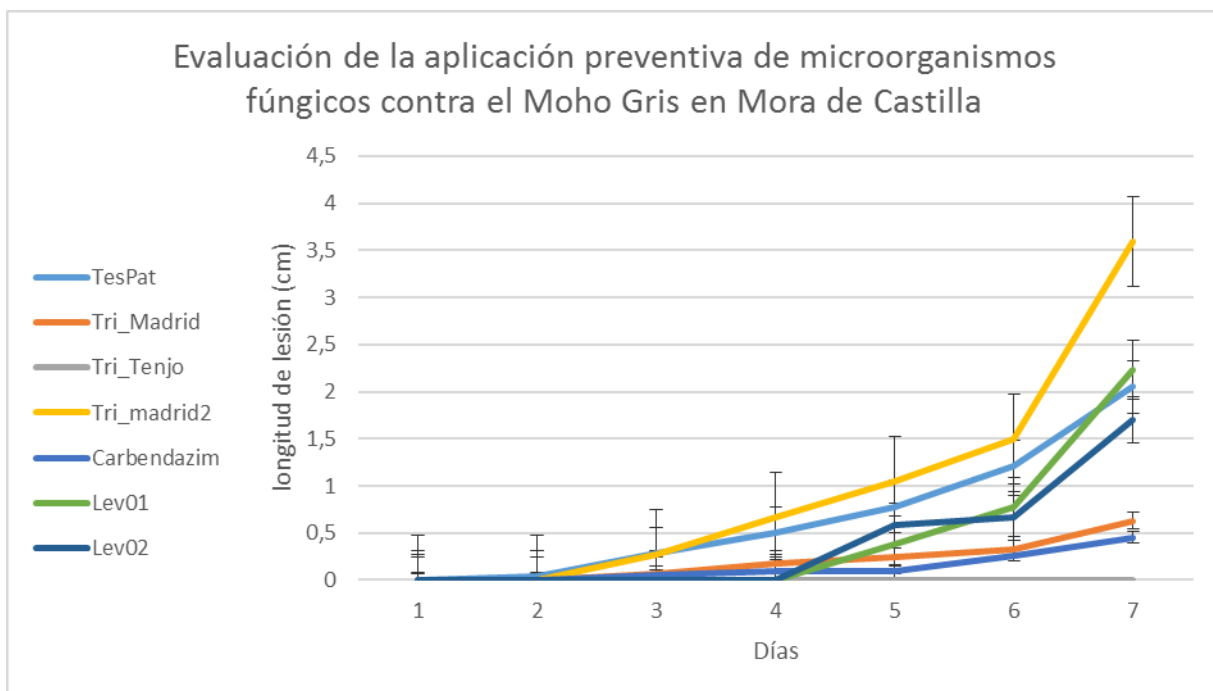


Figura 1. Longitud de lesión producido por *Botrytis* en tallos tiernos de rosa, en presencia de dos aislamientos de levaduras y *Trichoderma*. Fuente: Los autores, 2013

Con base en los resultados de longitud de lesión obtenidos en cada uno de los grupos experimentales desde el día 1 al 9, se calculó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) producidos por *Botrytis*, en presencia de los aislamientos de levaduras y *Trichoderma*.

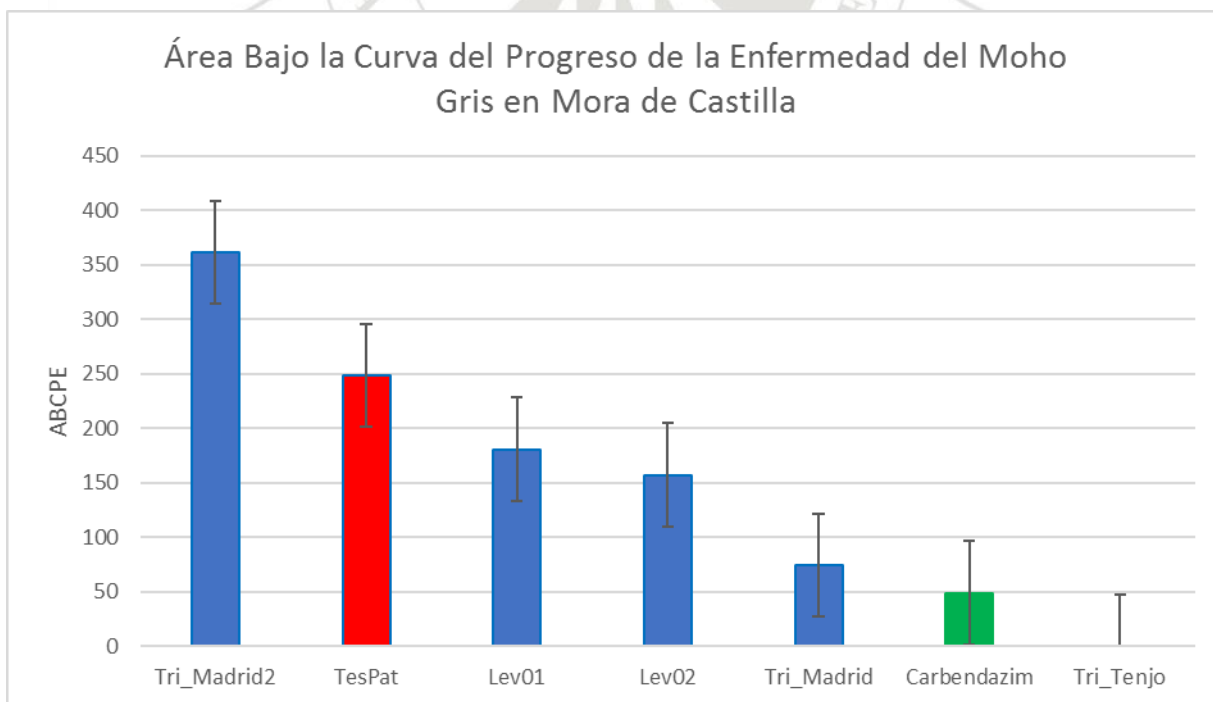




Figura 2. Áreas bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) por *Botrytis* en un modelo *in planta*, obtenidos con tres aislamientos de *Trichoderma* y dos de levaduras. Fuente, los autores 2013.

Como se muestra en la figura 2, el tratamiento correspondiente a *Trichoderma* Tenjo, no presento ningún valor de área bajo la curva de la enfermedad causada por *Botrytis*, presentando un valor de eficacia del 100%, en seguida el testigo comercial correspondiente a la aplicación del fungicida Carbendazim presento 49.1 unidades de área bajo la curva (figura 2) y un valor de eficacia del 80,3% (tabla 2).

Ambos valores de eficacia se consideran como eficacias altas, lo que permite sugerir que el aislamiento de *Trichoderma* Tenjo, Por lo expuesto anteriormente, este aislamiento fue evaluado contra *Rhizoctonia* en un combinación con la pregerminación controlada de semillas de frijol también en un sistema *in planta*.

De otra parte, debe considerarse el aislamiento de *Trichoderma* Tenjo como una alternativa contra *Botrytis* en mora de castilla, por lo que se sugiere hacer pruebas de eficacia en condiciones de cultivo comercial.

En ambos casos las unidades de área bajo la curva están por debajo a las del testigo patógeno, el cual alcanzo 248,64 unidades de área.

Tabla 2. Porcentajes de eficacia obtenidos con cada uno de los microorganismos evaluados contra *Botrytis* causante del moho gris en mora de castilla. Fuente, los autores 2013

Tratamiento	% de Eficacias contra <i>Botrytis</i>
<i>Trichoderma</i> Tenjo	100
Carbendazim (test. Comercial)	80,3
<i>Trichoderma</i> Madrid	70,2
Lev02	36,8
Lev01	27,3
<i>Trichoderma</i> Madrid 2	0,0

El aislamiento de *Trichoderma* Madrid, presento un valor de 74,2 unidades de área bajo la curva de la enfermedad (figura 2), siendo este valor también inferior al obtenido con el testigo patógeno, con una eficacia del 70,2% considerada como media, razón por la cual no fue evaluado contra *Rhizoctonia* y no se recomienda para su evaluación en condiciones de campo, este valor muy probablemente descendería, haciéndolo inadecuado como alternativa de control del moho gris en cultivos de mora de castilla.

Los aislamientos de levaduras 2 y 1, presentaron valores de área bajo la curva de la enfermedad, inferiores al obtenido con el testigo patógeno, siendo estos de 157,224 y 180,7944 respectivamente (figura 2); con eficacias entre 36,8 y 27,3% considerándose estas como bajas, razón por la cual también son descartadas para ser evaluadas contra *Rhizoctonia*.

Como ya se ha mencionado, una de las enfermedades más limitantes en la producción de mora de castilla en Colombia, es el moho gris causado por el hongo *Botrytis cinerea*. Este fitopatógeno causa lesiones en todos los órganos aéreos de la planta y llega a ocasionar también la pudrición del fruto en la poscosecha. La infección y esporulación del patógeno



ocurre en un amplio rango de temperaturas, entre 5°C y 26°C aunque la enfermedad se desarrolla más rápido a 15°C (O'Neill et al., 1997; Jones et al., 2001); síntomas y signos que se pudieron observar en el modelo *in planta* en esta evaluación (fotografía 1a).

A pesar que el fungicida Carbendazim® presento una clara inhibición de los síntomas y signos causados por *Botrytis* como estrategia de control químico; esta práctica es cada vez más restringida debido a que su uso inadecuado ha ocasionado problemas de contaminación ambiental, riesgos para la salud humana y animal y aparición de aislamientos del patógeno resistentes a los Botryticidas (Benito et al., 2002).

Dicha resistencia se reportó desde finales de la década de 1970 y comienzos de 1980 con el reemplazo de un grupo de alta efectividad, como los Benzimidazoles (Benomil) por las Dicarboximidas (Iprodione), para los cuales a comienzos de 1990 también se reportaron casos de resistencia (Elad et al., 2004; Rosslenbroich et al., 2000).

Debido al desarrollo de resistencia de *B. cinerea* a fungicidas sintéticos y teniendo en cuenta las altas pérdidas de cultivos debido a los daños, se hace necesario el desarrollo de nuevas alternativas para el control de la enfermedad moho gris. Una de estas alternativas es el uso de microorganismos antagonistas, para reducir la concentración de inóculo inicial o para bloquear una o varias etapas de su ciclo infeccioso. En este sentido, las levaduras se ubican como organismos ideales para el control de fitopatógenos debido a características tales como:

- a. Son microorganismos epifíticos, hacen parte de la microflora de la filósfera y son colonizadores ampliamente adaptados a la superficie foliar. Presentan alta estabilidad genética, lo que implica que su actividad biocontroladora permanece inalterada, al ser usadas en diferentes períodos de tiempo.
- b. La mayoría no son patógenas para el hombre, no producen metabolitos que comprometan la salud humana.
- c. Tienen la capacidad de sobrevivir en condiciones ambientales adversas, poseen mecanismos que les permiten adaptarse a las diferentes condiciones ambientales.
- d. Son efectivas a bajas concentraciones, se requieren pequeñas cantidades del antagonista para ejercer un control eficaz.
- e. Cosméticamente, no afectan el color de las flores y frutos al ser aplicadas en campo o en postcosecha.
- f. Toleran los efectos negativos de la luz U.V, ya que algunas producen pigmentos que las protegen.

(Fredlund et al., 2002; Druvefords, 2004)

Muchos microorganismos han sido reportados para el control de *B. cinerea*, el cual es extremadamente susceptible a la competencia por nutrientes, ya que depende de un suministro exógeno de estos para la germinación de los conidios, el crecimiento del tubo germinativo y la infección (Elad et al., 2004).

El control biológico de agentes fitopatógenos mediante el uso de microorganismos antagonistas, se ha constituido como una alternativa promisorio en la agricultura, para el control de *B. cinerea*, por ejemplo con la aplicación del hongo *Clonostachys rosea*, se logró reducir el daño producido por el moho gris en hojas y flores de rosa entre 81% y 97.4% respectivamente, y al ser inoculado en plantas de tomate *C. rosea* redujo en 100% el daño en las hojas producido por *B. cinerea* (Morandi et al., 2002; Nobre et al., 2005).



Aplicaciones de los hongos *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viridae* en plantas de tomate, han reducido el daño causado por esta enfermedad en un 60% a 10°C con un déficit de presión de vapor (VPD) de 1.3 KPa, y a un VPD menor de 1.06 KPa el control del patógeno fue de 90-100% (O'Neill *et al.*, 1996). Lo anteriormente dicho, explicaría la alta actividad biocontroladora del aislamiento *Trichoderma*-Tenjo en un modelo *in planta* contra *Botrytis* aislado de frutos de mora.

Sin embargo no todos los aislamientos del género *Trichoderma*, presentan una alta actividad biocontroladora de otros hongos, como lo es el caso de los aislamientos de *Trichoderma*-Madrid y Madrid 2; lo que motiva seguir buscando nuevos aislamientos de este hongos para el control de fitopatógenos limitantes en la producción de mora y otros cultivos.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, aunque en este trabajo también se evaluaron dos aislamientos de levaduras nativas de suelos de la Microcuenca Quebrada Grande en este ensayo de selección, estas no presentaron una alta actividad biocontroladora contra *Botrytis*.

Sin embargo en otros trabajos de investigación, se han evaluado algunas especies de levaduras como biocontroladores, ya que algunas especies de estas son epifíticas y también han demostrado tener alta actividad biocontroladora contra *B. cinerea* y otros patógenos de postcosecha como *Penicillium* sp y *Rhizopus stolonifer* (Lima *et al.*, 1997; Arras, 1996; Lurie *et al.*, 1995; McLaughlin *et al.*, 1992).

Se ha reportado a la levadura *Pichia membranifaciens* eficaz en el control de *B. cinerea* en cultivos de vid (Masih *et al.*, 2001) inhibiendo al patógeno por coagulación del citoplasma; *Candida sake* eficaz en manzanas y peras contra *Penicillium expansum* y *B. cinerea* (Nones *et al.*, 2002; Viñas *et al.*, 1998); Así mismo, Saligkarias y colaboradores en 2002 reportaron niveles de control para *B. cinerea* en plantas de tomate cultivadas bajo invernadero del 83% con las levaduras *Candida guilliermondii* aislamiento 101 y US 7 y del 62% con *Candida oleophila* I-182, al ser aplicadas 24 horas antes del patógeno (Saligkarias *et al.*, 2002).

Kalogiannis y colaboradores en 2006 seleccionaron y evaluaron 30 aislamientos de levaduras de la filósfera de tomate con una reducción de la incidencia de la enfermedad del moho gris del 90% bajo condiciones de invernadero.

5.2. Evaluación de la actividad biocontroladora *in planta* del aislamiento *Trichoderma*-Tenjo en combinación con Pregerminación Controlada de Semillas contra *Rhizoctonia*.

El grupo de tratamiento correspondiente a la pregerminación controlada de semillas más la inmersión en *Trichoderma* Tenjo, presentó el mayor porcentaje de germinación de semillas de frijol con un 90%, en comparación el testigo comercial (pregerminación más semillas con Vitavax®) con el que se alcanzó un 74% y el testigo patógeno, con el que solo se alcanzó un 62% de germinación (figura 2).

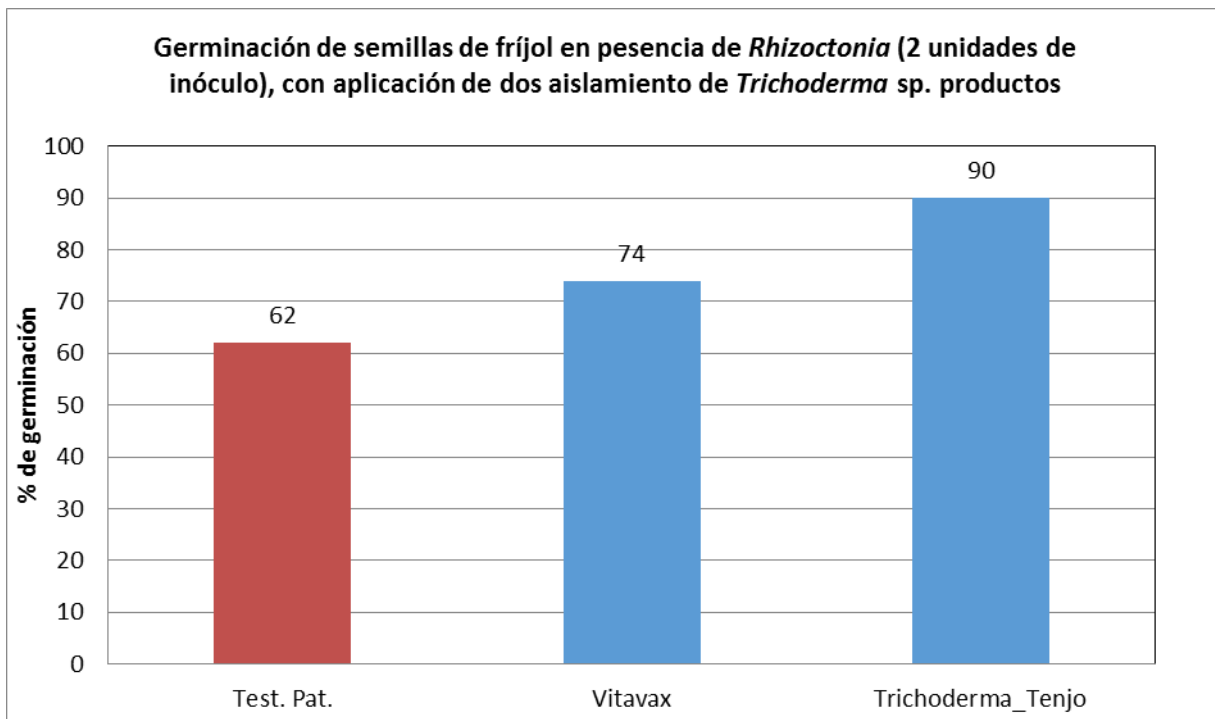


Figura 3. Porcentaje de germinación en semillas de frijol, inmersas en una suspensión del aislamiento de *Trichoderma* Tenjo en combinación con un proceso de pregerminación contra *Rhizoctonia*. Fuente, Los autores 2013.

Al observar el efecto de la pregerminación en combinación con la inmersión de semillas en el aislamiento *Trichoderma* Tenjo, se registró el día 13 un porcentaje de plantas emergentes del 96%, el cual fue igual al obtenido con el testigo absoluto (figura 4); valores que son superiores a los obtenidos, con los grupos de tratamiento correspondiente a las semillas tratadas previamente con Vitavax® y pregerminación (testigo comercial) con un 80% de plantas emergentes, y el testigo patógeno, con el cual se alcanzó solo un 68% de plántulas emergentes (figura 4).

En la fotografía 2 a, se observan plantas con desarrollo normal (izp.) correspondientes al tratamiento con *Trichoderma* (Tenjo) más pregerminación, el cual contrasta con el crecimiento del testigo patógeno, en donde la mayoría de plántulas no emergió, o presenta un crecimiento limitado; al observar algunos tallos de este grupo experimental, se manifestaron síntomas producidos por *Rhizoctonia* (fotografía 2 b, c y d).

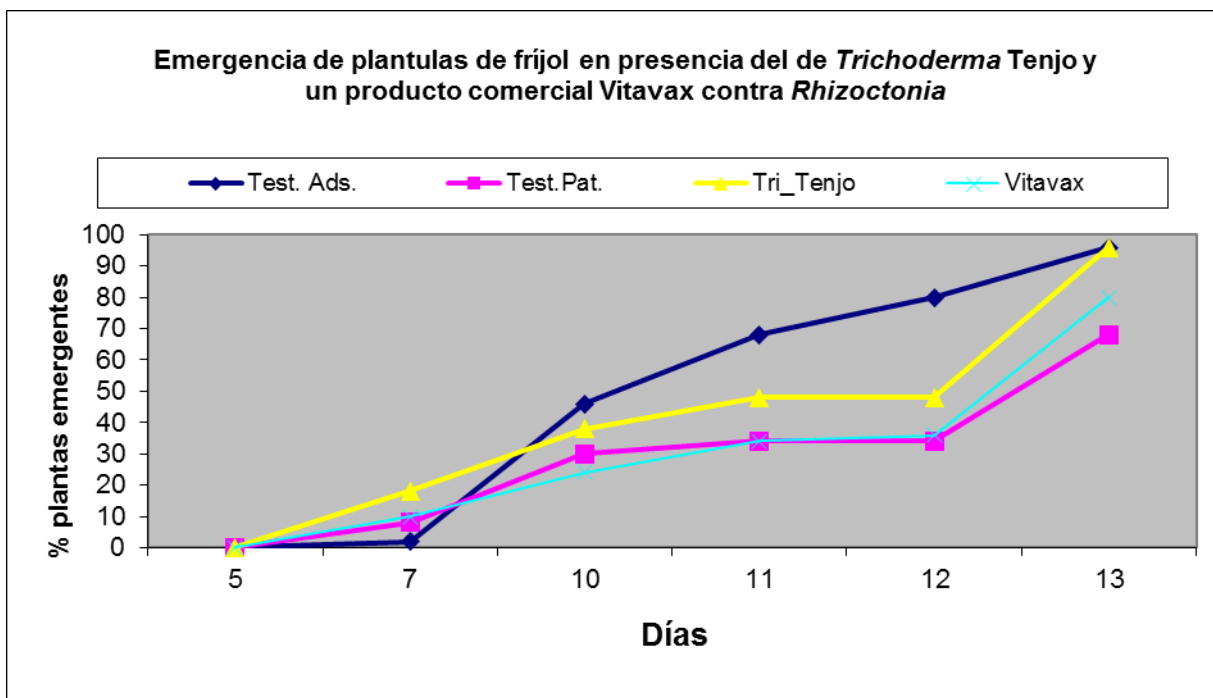


Figura 4. Porcentaje de plantas emergentes tratadas desde semilla con pregerminación controlada de semillas e inoculadas con el aislamiento *Trichoderma* Tenjo y el producto Vitavax. Fuente: Los autores, 2013. Fuente, los autores, 2013.

La tendencia de los resultados obtenidos en el grupo de tratamiento correspondiente a semillas pregerminadas, más la aplicación del aislamiento de *Trichoderma*-Tenjo en este trabajo, son similares a los obtenidos por Cardenas en 1999, en donde las plántulas de tomate provenientes de semillas no pregerminadas, en suelo infestado con *Rhizoctonia solani*, presentaron los síntomas más agudos de la enfermedad a partir de la segunda semana de iniciado el ensayo, mientras que las plántulas provenientes de semillas pregerminadas aunque empezaron a mostrar síntomas típicos de la enfermedad a partir de la segunda semana, los síntomas agudos de ésta, sólo se observaron a partir de la cuarta semana.

Aunque tanto plantas provenientes de semillas pregerminadas como las provenientes de semillas no pregerminadas se vieron afectadas por el patógeno, las primeras se vieron afectadas en menor grado, ya que doce semanas después de iniciado el ensayo de protección sólo el 30% de las plantas pregerminadas habían muerto en contraste con el 100% de las plantas no pregerminadas que en ese mismo tiempo habían muerto.

Esta diferencia en el número de plantas muertas adquiere gran importancia por el hecho de que al no ser pregerminadas las semillas, éstas no contaban con la ventaja de haber activado procesos metabólicos básicos que les permitieran ser más resistentes al ataque del fitopatógeno, además la ausencia de un agente biocontrolador y la concentración a la cual se encontraba el fitopatógeno, determinó que el total de las plantas no pregerminadas y sembradas en suelo infestado con *Rhizoctonia solani* murieran. Entre tanto al aplicar la técnica de pregerminación controlada de semillas, realmente se le confiere cierta protección a éstas y a las plántulas contra el ataque de *Rhizoctonia solani*, lo que demuestra el efecto benéfico de la técnica (Harman & Taylor, 1988; Saldamando, 1996).



En otros ensayos con plántulas provenientes de semillas pregerminadas en presencia de *Trichoderma koningii* y con aplicación adicional al suelo de este antagonista, se presentó un porcentaje de protección doce semanas después de iniciado el ensayo del 62 % y para el caso de las plántulas sin refuerzo de *Trichoderma koningii* la protección fue del 56 %; esto demuestra que *T. koningii* al combinarse con la pregerminación, aumenta la protección en las plántulas ante el ataque del fitopatógeno, debido a que el biocontrolador ya ha ocupado sobre las semillas los posibles sitios de infección utilizados por el patógeno, para causar la infección, garantizándole a las semillas y futuras plántulas una mayor protección y un control eficiente contra el fitopatógeno (Cotes, 1993; Jacqmin *et al.*, 1993).



a



b



c



d

Fotografía 2 (a, b y c): a. Plántulas emergentes de frijol procedentes de semillas pregerminadas y el aislamiento *Trichoderma* Tenjo (izq.) y plántulas emergentes en el testigo patógeno (der.) a los 13 días de ser inoculadas con *Rhizoctonia*, b y c. Síntomas causados por *Rhizoctonia* en cuello de raíz en plántula de frijol (modelo *in planta*), d. Hifas de hongo *Rhizoctonia* a 40 x 10 aumentos, aislado a partir de esclerocios obtenidos de tubérculos de papa sabanera. Fuente, los autores 2013.

Por lo dicho anteriormente el uso de un aislamiento de *Trichoderma*-Tenjo más la técnica de pregerminación controlada, puede ser una estrategia para tratar semillas de plantas nativas; destinadas a procesos de revegetalización en zonas de rondas hidráulicas, que han sufrido grandes disturbios por acción de la ampliación de la frontera agrícola y pecuaria, en las condiciones climáticas y edáficas de la Microcuenca Quebrada Grande; permitiendo reemplazar



el uso de fungicidas químicos, comúnmente utilizados para la protección de plántulas desde el proceso de producción en vivero y posterior incorporar en las zonas con alto nivel de disturbio.

5.3. Selección de áreas con alto nivel de disturbio y cinco especies de plantas nativas con potencial para un proceso de revegetalización en la Microcuenca Quebrada Grande en San Antonio de Tequendama.

Se tuvo en cuenta para la selección de las áreas de estudio:

1. Un grado de disturbio donde la intensidad hubiese modificado las características en las microcondiciones físicas (fotografía 3 a)
2. Presencia del aumento del espacio para la colonización de especies exóticas preferiblemente arvense (fotografía 3 b y c).
3. Se observó que la zona mostrara incremento de la heterogeneidad del suelo, remoción y renovación del banco de semillas e incluso cambios en los patrones sucesionales de la vegetación y la relación de la disponibilidad, mineralización, movilización, retención y fijación de nutrientes por parte de los microorganismos de la rizósfera de algunas especies nativas que juegan procesos fundamentales para el desarrollo del suelo y el crecimiento de las plantas esto según la metodología propuesta por León, 2010.

Tabla 3. Áreas de rondas hidráulicas pertenecientes a la Microcuenca Quebrada Grande (Municipio de San Antonio de Tequendama / Cundinamarca). Fuente, los autores 2013

Área de Estudio 1		
Coordenadas	N E	4° 34' 4,5" 74° 22' 6,8"
Altitud	m.s.n.m.	1900
Área de Estudio 2		
Coordenadas	N E	4° 34' 4,5" 74° 22' 8,2"
Altitud	m.s.n.m.	1884
Área de Estudio 3		
Coordenadas	N E	4° 34' 4,7" 74° 22' 8,2"
Altitud	m.s.n.m.	1861

Por lo tanto fueron seleccionadas tres áreas (tabla 3), las cuales presentaron evidencias de gran disturbio generado por la ampliación de la frontera agrícola y pecuaria (fotografía 3 a y c), de otra parte estas zonas al poseer pendientes cercanas al 100%, están expuestas a fenómenos de remoción en masa y de erosión.

De otra parte se observa en los horizontes superficiales de sus suelos abundantes estratos rocosos (fotografía 3a), que hacen de estas áreas poco aptas para actividades agrícolas, por lo dicho anteriormente, se requiere de la selección de plantas nativas que permitan de una parte iniciar procesos de revegetalización, tendientes a reducir los riesgos de erosión de las rondas hidráulicas y de otra se restablezcan con el tiempo corredores ecológicos para la fauna nativa.

Los parámetros fundamentales de selección de las especies vegetales fue obtenido de acuerdo a la evaluación realizada en el apartado anterior, se tuvo en cuenta la historia de vida



y procesos sucesionales de acuerdo al protocolo presentado por Altieri, 1999; luego de esto se logró determinar cinco especies de importancia para el proceso de revegetalización contemplando los siguientes criterios:

1. Que proporcionaran una generación de interacciones a través de la rizósfera con especies de hongos especialmente *Trichoderma* y que tuviesen la capacidad adaptativa de mejorar los suelos y formar un soporte para las nuevas especies.
2. Plantas clave, nativas, de fácil obtención y bajo costo.
3. De acuerdo a la bibliografía se seleccionaron observando sus trayectorias sucesionales registrado el potencial de regeneración.
4. Se seleccionan las especies más importantes bajo una escala de atributos o rasgos de historia de vida que pueden ser útiles en la zona que se va a revegetalizar.
5. Se generó una recopilación de información con personas de la zona de estudio combinar el conocimiento de la gente y el conocimiento de expertos locales y científicos.
6. Las especies seleccionadas fueron Encenillo: *Weinmannia tomentosa*, Roble: *Quercus humboldtii*, Laurel de Cera: *Myrica pubescens*, Yarumo plateado: *Cecropia sp*, Canelo. *Hedyosmun bonplandianum*.

Estas especies vegetales presentan características que le permiten ser más competitivas entre sí de acuerdo a dos factores: La utilización que se genera de los nutrientes y demás productos sintetizados para la producción de semillas, rebrotes, crecimiento defensa contra plagas asociaciones simbióticas y enfermedades. En una determinada comunidad dominará posiblemente la especie que haga mejor uso de las ventajas evolutivas adquiridas a través del tiempo.

El segundo factor es la habilidad que poseen estas cinco especies para resistir bajos niveles de un factor determinado logrando una captura alta de biomasa en un menor tiempo respecto a otras especies nativas de menor competitividad adaptativa.

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores el uso de estrategias de revegetalización les permiten obtener ventajas frente a otras especies, estas capacidades les permite crecer y dominar en una comunidad y se relacionan con la posibilidad de afrontar una invasión por especies exóticas Ewel, 2010.

De las especies más importantes por su resistencia y crecimiento se encuentra *Cecropia sp* y *Myrica pubescens* las cuales son las especies más resistente a las condiciones de potrero, ambas especies tienen excelente tasa de reproducción, lo cual facilita un programa de reforestación masiva en la zona de estudio.

Estas dos especies conformaron en el pasado grandes bosques de transición entre bosque altoandino y bosque Andino y actualmente forman pequeños bosquecitos en la cuenca alta de la Quebrada Grande.

Otro tipo de especies son las formadoras de dosel como lo es *Quercus humboldtii* y *Hedyosmun bonplandianum*, estas especies fueron clasificadas por el Jardín botánico de Bogotá en el 2011, como aptas para nacederos y márgenes hídricos, barreras contra heladas, inducción de bosque y de resistencia a fenómenos de disturbio Brown, 2000.



a



b



c

Fotografía 3 (a, b y c): a. Áreas de Ronda de la Microcuenca Quebrada Grande, con pendientes cercanas al 100% y horizontes superficiales con estratos rocosos, b y c. Vegetación predominante en rondas con alto grado de disturbio, en la Microcuenca Quebrada Grande. Fuente, los autores, 2013.

Según Vargas, 2011 este tipo de vegetación determina un factor importante dentro de los procesos de revegetalización y restauración, ya que es la mejor defensa que puede tener un área contra los procesos de erosión, además que interceptan el agua lluvia, retienen el suelo, ciclan los nutrientes, aportan materia orgánica al sistema ecológico, favorecen la infiltración y disminuye la velocidad con lo que ésta corre sobre el suelo (Cavelier, 1998).

Sawyer, 1993 establece que aunque la reforestación implica por definición un modelo del ecosistema con propiedades muy similares a las originales no alterado no siempre se conduce a esto, ya que en ciertos casos las características físico-químicas entre las asociaciones simbióticas y los diferentes fenómenos de disturbio alteran el proceso sucesional ocasionando una regresión ecológica lo que acarrea incongruencias entre el tiempo y el espacio para los procesos naturales de las cadenas tróficas.

Este tipo de revegetalización permite identificar los procesos de recambio ecológico en los sistemas, ya que involucra cambios en la estructura y composición de las comunidades, esto a que especies como *Myrica pubescens* es categorizado como una planta de zonas de transición entre sectores bajo intervención antrópica agrícola y sistemas abandonados y que a su vez reacciona favorablemente a estos cambios (Sawyer, 1993).



Bajo la mirada en el tiempo se espera que el proceso de revegetalización utilizando especies vegetales con afinidad ecológica con *Trichoderma* generara una serie de procesos que darán como resultado un ecosistema diferente al existente previamente, (Muerguito, 2000). Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores lo que se busca es un proceso de recuperación en el área para un propósito de utilidad humana tal como la reconversión de agroecosistemas a ecosistemas ribereños o humedales que permitan estabilizar el sistema.

6. CONCLUSIONES

Se seleccionó el aislamiento de *Trichoderma*-Tenjo, por su alta actividad biocontroladora contra un aislamiento de *Botrytis* procedente de frutos de mora, obtenidos de un cultivo en la Microcuenca Quebrada Grande (San Antonio de Tequendama) en un modelo *in planta*.

La técnica de pregerminación controlada, en combinación con la inmersión de semillas en una suspensión con el aislamiento de *Trichoderma*-Tenjo protegió contra *Rhizoctonia* en un modelo "*in planta*" en pre y pos emergencia de plántulas de frijol.

Teniendo en cuenta la revisión bibliográfica se plantea que *Weinmannia tomentosa*, *Quercus humboldtii*, *Myrica pubescens*, *Cecropia sp*, *Hedyosmun bonplandianum* son cinco especies clave, aptas para el proceso de revegetalización en la microcuenca Quebrada Grande en San Antonio de Tequendama, debido a que su trayectoria sucesional describe atributos aptos para el entorno geográfico de la región, igualmente la interacción y funcionamiento en la comunidad de estas especies de fácil adaptación es dado por el registro de historia de vida que se ajusta a entornos ecológicos bajo efectos de disturbio presentados en la zona de estudio.

7. BIBLIOGRAFÍA

AGRIOS, G. 1997. Plant pathology. Cuarta edición. Academic Press. San Diego. 803p.

ALEXOPOULUS C. 1996. Introductory mycology. John Wiley & Sons. New York 869p.

ALTIERÍ, M. 1999. Agroecología. Bases científicas para una agricultura sustentable. Editorial Nordan, comunidad de Montevideo, Argentina.

ALTIERÍ, M.; NICHOLLS, C., I. 2000. Agroecología. Teoría y Práctica para una Agricultura Sostenible. Primera edición. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe. Boulevard de los Virreyes 155, Colonia Lomas de Virreyes, México D.F., México 110 p

BECERRA, E. 2006. Modos y mecanismos de acción de insecticidas. Resumen Charlas. Dow AgroScience. AgroEspecialidades S. A. Bogotá. D. C. Colombia. 1p.

BENITO, E., ARRANA, M., ESLAVA, A. 2002. Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. Rev Iberoam Micol. 17, S43-S46.

BIOVERDE. 2012. Programa de revegetalización de ecosistemas estratégicos para la captación de



agua en los municipios de en los municipios de Facatativá, Mosquera, Funza, Villeta, Sasaima, , Alban, Guayabal, y la Vega (Cundinamarca). Porpuesta Tecnica y Económica. Bogotá D. C. p 4.

BRIAN, P.W & HEMMING, H.G. 1989. Some nutritional conditions affecting spore production by *Trichoderma viride*. Imperial Chemical Industries Limited. Butterwick Reseach Laboratories. Transcations British Mycolgical Society. pp 132-141.

BROWN, D.E & HALSTED, D.J. 1975. The effect of acid pH on the growth kinetics of *Trichoderma viride*. Department of Chemical Engineering. University of Manchester. Biotechnology and Bioengineerig. 17: 1199-1210.

BROWN, S. & A.E. LUGO. 1990. Tropical secondary forests. J. Trop.Ecol. 6: 1-32.

CAR. 2007. Áreas protegidas del territorio CAR. Primera edición. Bogotá D. C. p18-19.

CARDENAS, A., P. 1999. Control biológico bajo condiciones de invernadero de *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Fusarium oxysporum F.sp. lycopersici* Saccardo en tomate *Lycopersicon esculentum* Mill empleando pregerminación controlada de semillas y los biocontroladores *Trichoderma koningii* Oudemans y *Pseudomonas fluorescens* Migula. Trabajo de grado. Carrera de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Javeriana. Bogotá D. C. p. 87.

CARLILE, M. & WATKINSON, S.C. 1996. The Fungi. Academic Press. London. 482p.

CAVELIER, J & TOBLER, A. 1998. The effect of abandoned plantations of *Pinus radiata* and *Cupressus lusitanica* on soils and regeneration of a tropical montane rain forest in Colombia. Biodiversity Conserv. 7: 335-347.

COOK, J. & BAKER, K. 1983. *Trichoderma*. Cap 9. p 58 y 374-382 en: The nature and practice of biological control of plant pathogens. Tercera edición. APS Press. Minnesota.

COPPING, L. G., MENN, J. J. 2000. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. Pest Management Science 56: 651-676.

CORPOGUAVIO 2007. Plan de acción justado para el periodo de transición 2007-2011. Cap. I. Gachalá. Cundinamarca. 9-19 pp.

CORPOGUAVIO 2007. Plan de acción justado para el periodo de transición 2007-2011. Cap. I. Gachalá. Cundinamarca. p. 25.

CORPOGUAVIO. 2010 Programa de conservación y uso de sustentable de bienes ambientales. 2010. Plan de manejo ambiental de los páramos de la jurisdicción de Corpoguavio. Gachalá. Cundinamarca. pp. 10, 13, 23, 24.

COTES, A.M., THONART, P. & LEPOIVRE, P., 1993. Relationship between the protective activities of several strains of *Trichoderma* against damping-off agents and their ability to produce hydrolytic enzymes activities in soil or in synthetic media. Med. Fac. Lansbouww. Univ. Gent, 59/3^a : 931-941.

COTES, A. M. 2001. Biocontrol of fungal Plant pathogens from the discovery of potencial biocontrol agents to the implementation of formulated products. Biological Control of Fungal and Bacterial Plant Pathogens. 24 (3) 43-47.



COTES, A., M. 2002. Control biológico de patógenos del suelo. XXIII Congreso Ascolfi, Nueva Tendencias en Fitopatología. Centro de Convenciones Alfonso López Pumarejo. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia. 53 p.

COTES, A., M. 2002. Control biológico de patógenos del suelo. XXIII Congreso Ascolfi, Nueva Tendencias en Fitopatología. Centro de Convenciones Alfonso López Pumarejo. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia. 53 p.

CHAVEZ, M. P. 2006. Producción de *Trichoderma* sp. Y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). Trabajo de grago. Carrera de Microbiología agrícola y veterinaria. Facultad de Ciencias. Universidad Javeriana. Bogotá D. C. p 39-43.

CHAVEZ, M. P. 2006. Producción de *Trichoderma* sp. Y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). Trabajo de grago. Carrera de Microbiología agrícola y veterinaria. Facultad de Ciencias. Universidad Javeriana. Bogotá D. C. p 39-43.

CHET, I. 1990. Biological control of soil-borne plant pathogens with fungal antagonist in combination with soil treatments. Cap 2, pp 15-23 en: Biological Control of Soil borne Plant Pathogens. CAB International, Wallingford.

DOMSCH, K.H, GAMS, W., YERSON, T.H. 1980. Compendium of soil fungi. Revision of the Genus *Trichoderma*. Academic Press. pp 794-810.

DRUVEFORDS, U. 2004. Yeast biocontrol of grain spoilage moulds: Mode of action of *Pichia anomala*. Tesis Doctoral. Swedish University of agricultural sciences. 44.

FAO. Sf. Boletín ILEAE. Calí, Colombia.

HARMAN, G. E. & TAYLOR, A.G., 1988. Improved seedling performance by integration of biological control agents at favorable pH levels with solid matrix priming. Phytopathology 78: 520-525.

DUBOS, B. 1992. Biological Control of Botrytis: state of the art. En: K. Verhoeff, N. E. Elad, Y. 1990. Reasons for the delay in development of biological control of foliar pathogens. Phytoparasitica 18: 99 – 105.

JACQMIN, B., COTES, A., LEPOIVRE, P. & SEMAL, J. 1993. Effect of the combination of seed priming and *Trichoderma* treatment on incidence of damping-off agents. Med. Fac. Lansbouww. Univ. Gen 58/3b: 1321-1328.

JARDÍN BOTÁNICO JOSÉ CELESTINO MUTIS. SF. Guía técnica de expansión agropecuaria. Bogotá Colombia.

ELAD, Y., SHTIENBERG, D., YUNIS, H., MAHRER, Y.. 1992. Epidemiology of grey mould, caused by *Botrytis cinerea* in vegetable greenhouses. En: Recent Advances in Botrytis Research. Ed. Pudc Scientific publishers, Wagennigen. pp. 147 – 158.

ELAD, Y., KÖHL, J., FOKKEMA, N. J. 1994 a. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic bacteria and fungi. European Journal of Plant Pathology 100: 315 – 336.



ELAD, Y., KÖHL, J., FOKKEMA, N. J. 1994 b. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts . *Phytopathology* 84: 1193 – 1200.

ELAD, Y. 1996. Mechanisms involved in the Biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. *European Journal of Plant Pathology* 102: 719 – 732.

ELAD, Y., MALATHRAKIS, N. E., DICK, A. J.. 1996. Biological control of *Botrytis* – Incited diseases and powdery mildews in greenhouses crops. *Crop Protection* 15: 229 – 240.

ELAD, Y., KIRSHNER, B., YEHUDA, N., SZTEJNBERG, A. 1998. Management of powdery mildew and gray mold of cucumber by *Trichoderma harzianum* T39 and *Ampelomyces quisqualis* AQ10. *BioControl* 43: 241 – 251.

ELAD, Y. 1999. Plant Diseases in Greenhouses. En: . G. Stanhill & H.Z. Enoch (eds.). *Greenhouses ecosystems*. Ed. Elsevier, Amsterdam. pp. 191 –211.

ELAD, Y., BELANGER, R. R., KÖHL J. 1999. Biological Control of diseases in the phyllosphere. En: *Integrated pest and disease management in greenhouse crops*. Ed. Kluwer Academic publishers, Wageningen. pp. 338-352.

ELAD, Y. 2000. *Trichoderma harzianum* T39 Preparation for Biocontrol of Plant Diseases – Control of *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum*. *Biocontrol Science and Technology* 10:

ELAD, Y., FREEMAN, S. 2002. Biological Control of Fungal Plant Pathogens. En: K. Esser y J. W. Bennett (eds.). *The Mycota XI*. Ed. Springer – Verlag, Berlin. pp. 93-109.

EPA. 2013. Registered Microbial Pesticides. En línea.
<<http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/index.htm>>
< <http://www.epa.gov/oppfead1/cb/ppdc/2002/regist-biopes.htm>>

EWEL, J. 2010. Tropical succession. Mainfold routes to maturity. *Biotropica* 12: 2-7.

JONES, J. AND ZITTER T. 2001. *Plagas y enfermedades del tomate*. Ediciones Mundi-Prensa. México. 1-34pp.

KALOGIANNIS, S., TJAMOS, S., STERGIOU, A., ANTONIOU, P., ZIOGAS, B., TJAMOS, E. 2006. Selection and evaluation of phyllosphere yeast as biocontrol agents against grey mould of tomato. *Plant Pathol.* 116, 69-76.

LEON, O.2010. Interacciones biológicas y controles internos del ecosistema para mantener la estabilidad y alcanzar el estado clímax. Centro educativo de Puerto Rico.

LIMA, G., IPPOLITO, A., NIGRO, F., SALERNO, M. 1997. Effectiveness of *Aureobasidium pullulans* and *Candida oleophila* against postharvest strawberry rots. *Postharvest Biol. Technol.* 10,169-178.

LURIE, S., DROBY, S., CHALUPOWICS, L.,CHALUTZ, E. 1995. Efficacy of *Candida oleophila* strain-182 in preventing *Penicillium expansum* infection of nectarine fruits. *Phytoparasitica* 23, 231-234.

MATTEUCCI, S.; COLMA, A. 1982. Metodología para el estudio de la vegetación.



- MCLAUGHLIN, R., J., WILSON, C., DROBY, S., BEN-ARIE, R., CHALUTZ, E. 1992. Biological control of postharvest diseases of grape, peach, and apple with the yeast *Kloeckera apiculata* and *Candida guilliermondii*. Plant Dis. 76, 470-473.
- MUERGUITO, E. 2001. Diversidad biológica en sistemas de ganadería bovina en Colombia. Conferencia
- NICOLLS C., I. 2008. Control biológico de insectos, un enfoque agroecológico. Primera Edición. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín. Antioquia. Colombia. 1, 122-123 pp.
- PAPAVIZAS, G. 1985. Trichoderma y Gliocladium Biology, Ecology and potential for biocontrol. Annual Review of Phytopathology. 23: 23-54.
- NOBRE, S., MAFFIA L., MIZUBUTI, E., COTA, L., DIAS, A. 2005. Selection of *Clonostachys rosea* isolates from Brazilian ecosystems effective in controlling *Botrytis cinerea*. Biol. Control. 34, 132-134
- O'NEILL, T.M., NIV, A., ELAD, Y., SHTIENBERG, D. 1996. Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato stem wounds with *Trichoderma harzianum*. Plant Pathol. 102, 635-643.
- PETRELLA, C. 2007. Avances de proyecto de investigación. Aporte del enfoque sistémico a la comprensión de la realidad. Facultad de Ingeniería. Universidad de Salamanca. España. p 6.
- RIFAI M. A. 1969. A revision of the Genus *Trichoderma*. Mycological Paper. Bogoriense, Bogor, Java Indonesia; pp 30-34.
- ROSSLENBROICH, J., STUEBLER D. 2000. *Botrytis cinerea*-History of chemical control and novel fungicides for its management. Crop protection 19, 557-561.
- SALDAMANDO, C. I., 1996. Control de *Rhizoctonia solani* kuhn en Tomate (*Lycopersicon esculentum* mediante una combinación de tratamientos de pregerminación controlada y el agente de control biológico *Trichoderma koningii* Oudemans. Tesis de grado. Universidad de los Andes. P. 95.
- SALIGKARIAS, I.D., GRAVANIS, F., EPTON, H. 2002. Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato plants by the use of epiphytic yeast *Candida guilliermondii* strains 101 and US 7 and *Candida oleophila* strain I-182: I. in vivo studies. Biol. Control 25, 143-150.
- SANTOS A; GARCÍA, M.; COTES, A., M.; VILLAMIZAR, L., F. 2012. Efecto de la formulación sobre la vida útil de bioplaguicidas a base de dos aislamientos colombianos de *Trichoderma koningiopsis* Thoo3 y *Trichoderma asperellum* Thoo4. Revista Iberoamericana de Micología. 29. 3: 150-153.
- SAWYER, J. 1993. Plantations in the tropics. IUCN, Gland, Suiza. 83 p.
- SECRETARIA GENERAL DE LA ORGANIZACIÓN DE LOS ESTADOS AMERICANOS. Washington. 169 p
- TORIELLO, C. Y T. MIER. 2007. Bioseguridad de agentes de control microbiano, pp. 179-187. En: L. A. Rodríguez-del-Bosque y H. C. Arredondo-Bernal (eds.), Teoría y Aplicación del Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. 303 p



TORIELLO, C. Y T. MIER. 2007. Bioseguridad de agentes de control microbiano, pp. 179-187. En: L. A. Rodríguez-del-Bosque y H. C. Arredondo-Bernal (eds.), Teoría y Aplicación del Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. 303 p.

TORIELLO, C. Y T. MIER. 2007. Bioseguridad de agentes de control microbiano, pp. 179-187. En: L. A. Rodríguez-del-Bosque y H. C. Arredondo-Bernal (eds.), Teoría y Aplicación del Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. 303 p.

TRONSMO, A. 1996. *Trichoderma harzianum* in biological control of Fungal Diseases. Cap 10, pp 219-221 en ROBERT HALL (ED.). Principles and Practice of managing, Soilborne plant pathogens. APS Press. Minnesota.

VARGAS, O.; REYES S. P.; GÓMEZ, P. A.; DÍAZ, S. E. 2010. Guía para la restauración ecológica ecosistemas. Priemera edición. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Faculta de Ciencias. Departamento de Biología. Grupos de Restauración Ecológica. p. 69

Informe avalado por:

Gilma Rosa Sanabria León, PhD
Directora del Centro de Investigación
Supervisora del Proyecto
Centro de Investigación VUAD

Decano Académico
Facultad de Ciencias y Tecnologías
Vicerrectoría Universidad Abierta y a
Distancia



GLOSARIO

AMBIENTE: Entorno en el que opera una organización, que incluye aire, suelo, agua, recursos naturales, seres humanos y su interrelación.

ANTRÓPICO: Relacionado con la actividad humana.

BIOMASA: Conjunto de sustancias orgánicas contenidas en la vegetación.

COMPACTACIÓN: Proceso mediante el cual un suelo disminuye el volumen y aumenta la densidad, al reducir su índice de poros.

DESARROLLO SOSTENIBLE : Se entiende por desarrollo sostenible el que conduzca al crecimiento económico, a la elevación de la calidad de la vida y el bienestar social, sin agotar la base de recursos naturales renovables en que se sustenta, ni deteriorar el medio ambiente o el derecho de las generaciones futuras a utilizarlo para la satisfacción de sus propias necesidades.

DESCAPOTE: En esta actividad se retira la capa superficial del suelo. Se debe hacer una adecuada disposición de esta para su reutilización posterior.

EROSIÓN: Conjunto de procesos físicos y químicos por los que los materiales rocosos o los suelos son agrietados, disueltos o arrastrados de cualquier parte de la corteza terrestre.

HABITAT: Medio ambiente en el cual viven los animales y plantas. Hace referencia al conjunto de condiciones que caracterizan el medio y que afectan a la vida de los animales y plantas.

IMPACTO AMBIENTAL: Alteración que las actuaciones humanas producen en el medio. La intensidad de la alteración está relacionada con la capacidad de asimilación del entorno donde se desarrolla la actividad impactante.

MATERIA ORGÁNICA, DEGRADACIÓN DE: Descomposición de la materia orgánica en unidades estructurales más pequeñas mediante procesos tales como hidrólisis (descomposición de un sólido al combinarse con agua), reducción (adición de electrones a un compuesto disminuyendo su estado de oxidación), oxidación (pérdida de electrones de un compuesto aumentando su estado de oxidación o adición de oxígeno a un compuesto), o cualquier combinación de estos procesos.

REVEGETALIZACION: Restablecimiento de la cobertura vegetal utilizando herbáceas, árboles y/o arbustos.



ANEXO 1: Resumen presentado en el XIII Seminario Internacional Del Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible (noviembre 6, 7 y 8 de 2013, Bucaramanga. Santander).



García Murillo, P. G.; Melo Quintana, G.

Selección de microorganismos fungales para el control de *Botrytis cinerea*, causante del moho gris en Mora de Castilla (*Rubus glaucus*) en zonas productoras de la microcuenca Quebrada Grande, Municipio de San Antonio de Tequendama (Cundinamarca).

Ciencia y Medio Ambiente.

Universidad Santo Tomás, Facultad de Ciencias y Tecnologías

Palabras Claves: Control Biológico, *Trichoderma*, Mora, *Botrytis*

Introducción. Actualmente se ha venido cuestionando el uso de fungicidas de síntesis química para el control del moho gris en la mora y otros cultivos, debido a la adquisición de resistencia del fitopatógeno, a los posibles efectos de estos agentes químicos en las cadenas tróficas, fuentes de agua, suelos, y posibles riesgos a la salud humana entre otras (Cotes, 2002). Dado que la Quebrada Grande es abastecedora del acueducto del municipio San Antonio de Tequendama, se hace necesario buscar otras alternativas de manejo de esta enfermedad, como lo es el control biológico con hongos del género *Trichoderma*.

Metodología. Se evaluó la actividad biocontroladora contra *Botrytis* de tres aislamientos de *Trichoderma*; dos procedentes del municipio de Madrid y uno de Tenjo en el departamento de Cundinamarca respectivamente, de acuerdo a la metodología propuesta por Moreno en 2003, la cual uso un modelo "in planta". Para lo cual se inocularon tallos tiernos de rosa en uno de sus extremos con una suspensión ajustada a una concentración de 1×10^7 conidios $\cdot \text{ml}^{-1}$; de cada aislamiento de *Trichoderma*, aplicándose 48 horas después, una suspensión de *Botrytis* a una concentración 1×10^6 conidios $\cdot \text{ml}^{-1}$. Se evaluó el porcentaje incidencia (total de tallos afectados por *Botrytis*), y la severidad producida por este mismo fitopatógeno, cuantificándose la longitud de la lesión producida por el patógeno, a lo largo de los tallos, en los tratamientos y el testigo. Fue seleccionado el aislamiento de

Trichoderma, que presentó una eficacia superior o igual 80%.

Resultados y Discusión. Se seleccionó el aislamiento del género *Trichoderma* procedente de un suelo del Municipio de Tenjo (Cundinamarca), el cual alcanzó un 100% de eficacia, ya que al ser este evaluado en el modelo "in planta", contra el fitopatógeno *B. cinerea*, aislado de frutos enfermos de mora procedentes de un cultivo ubicado en Quebrada Grande, su crecimiento y desarrollo fueron inhibidos totalmente por el hongo biocontrolador. Este resultado contrasta con la aplicación del fungicida Carbendazim 500 EC (I. A. Carbendazim) a una dosis de $1.0 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, con el cual obtuvo una eficacia del 80%. El uso del hongo *Trichoderma* es una alternativa promisorio, ya que su modo de acción se basa en el micoparasitismo (Elad *et al.*, 2000) lo que no genera riesgos para la flora y fauna de la microcuenca, de otra parte no representa una fuente de contaminación ambiental, y hasta el momento no se han reportado riesgos para la salud humana (Chavez, 2006). Sin embargo se recomienda realizar en una segunda fase, evaluaciones del mencionado aislamiento de *Trichoderma*, en condiciones comerciales de cultivo.

Conclusiones. El aislamiento de *Trichoderma* procedente de Tenjo Cundinamarca, controló el moho gris producido por *B. cinerea* en un modelo "in planta" aislado de frutos de mora de castilla, cultivados en la microcuenca Quebrada Grande, Municipio de San



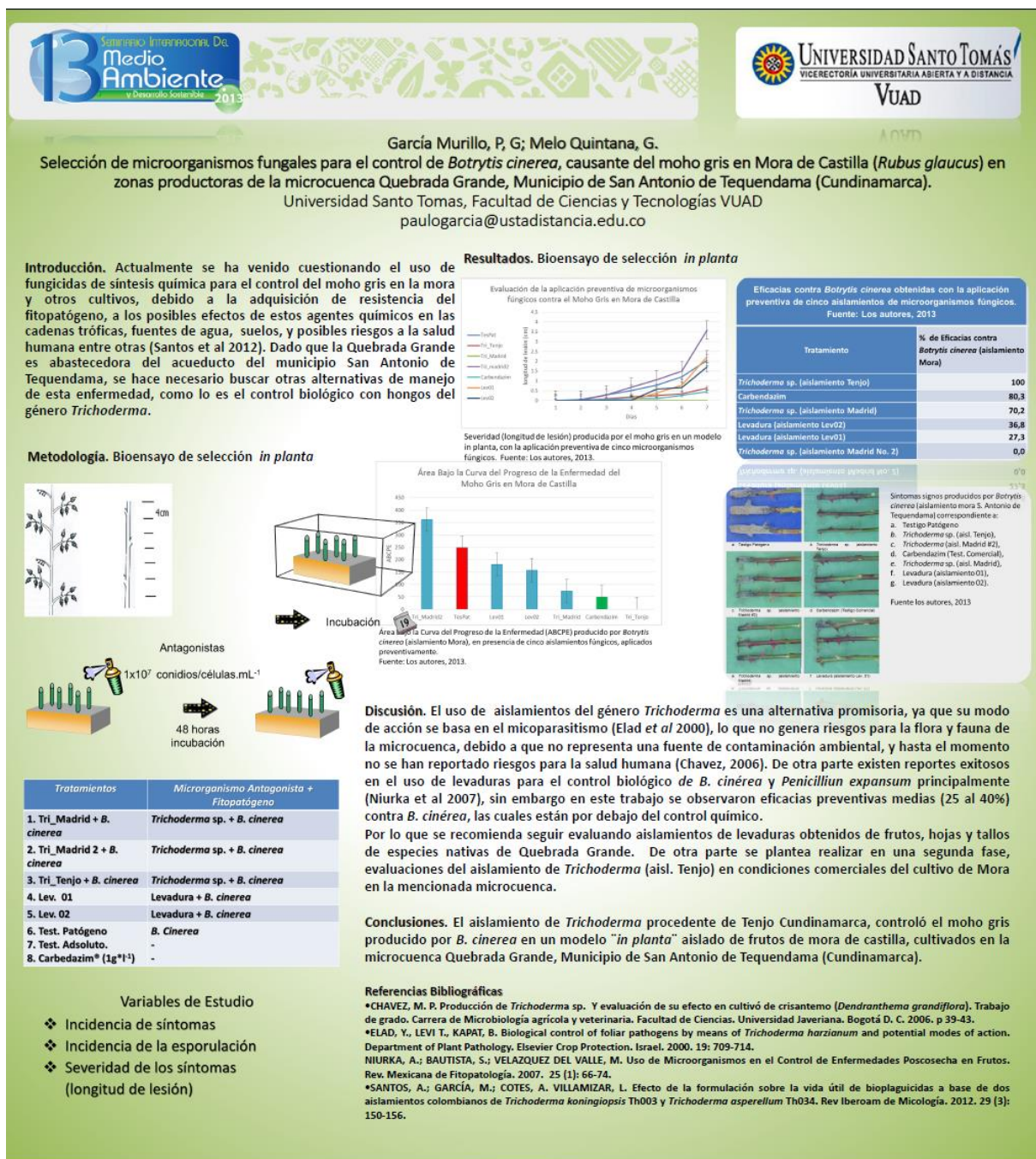
Antonio de Tequendama
(Cundinamarca).

Bibliografía

- COTES, A., M. 2002. Control biológico de patógenos del suelo. XXIII Congreso Ascolfi, Nueva Tendencias en Fitopatología. Centro de Convenciones Alfonso López Pumarejo. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia. 53 p.
- CHAVEZ, M. P. 2006. Producción de *Trichoderma* sp. Y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). Trabajo de grago. Carrera de Microbiología agrícola y veterinaria. Facultad de Ciencias. Universidad Javeriana. Bogotá D. C. p 39-43.
- ELAD, Y., LEVI T., KAPAT, B. 2000. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. Department of Plant Pathology. Elsevier Crop Protection. Israel. 19: 709-714.
- MORENO, C. 2003. Control biológico de enfermedades foliares del cultivo de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) con énfasis en mildew polvoso (*Oidium* sp). Tesis pregrado, Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 107 p.



ANEXO 2: Poster presentado en el XIII Seminario Internacional Del Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible (noviembre 6, 7 y 8 de 2013, Bucaramanga. Santander).





ANEXO 3: Certificado de Ponente del XIII Seminario Internacional Del Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible (noviembre 6, 7 y 8 de 2013, Bucaramanga. Santander).



Cabe mencionar que los gastos de inscripción al evento, estadía, viáticos y tiquetes aéreos, fueron financiados por la Facultad de Ciencias y Tecnologías, con autorización de la Vicerrectoría Universidad Abierta y a Distancia (VUAD), Universidad Santo Tomás de Aquino.