

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Efecto antagónico *in vitro* de cepas nativas de
Trichoderma sp. frente a los hongos fitopatógenos
Colletotrichum sp. y *Fusarium sp.* Ayacucho, 2018.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA EN LA ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGÍA**

**Presentado por la:
Bach. AYALA QUISPE, Esther Fanni**

**AYACUCHO – PERÚ
2019**

*Con amor eterno a Dios,
a mis padres.*

AGRADECIMIENTO

A mi *Alma Mater*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y en particular a la Facultad de Ciencias Biológicas y a todos los docentes por haberme brindado las facilidades para el logro, materialización y que contribuyeron en mi formación como profesional y persona útil para nuestra sociedad.

A mi asesora Blga. Ruth Elsa Huamán De La Cruz, asesora del presente trabajo de investigación, por su apoyo incondicional, paciencia, orientación y sabios consejos, que han permitido culminar con mi trabajo de tesis.

Al Blgo. Reynán Cóndor Alarcón, por el apoyo incondicional en la sistematización de la información.

Al Ing. M.Sc. Fernando Barrantes Del Águila por el apoyo brindado en la identificación de las cepas aisladas, por su gran espíritu de solidaridad.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.1.1. A nivel internacional	3
2.1.2. A nivel nacional	4
2.2. Marco conceptual	5
2.2.1. Antagonismo	5
2.2.2. Trichoderma	6
2.2.3. Colletotrichum	10
2.2.4. Fusarium	13
2.2.5. Técnica de enfrentamiento dual	15
2.2.6. Cepas nativas	16
III. MATERIALES Y METODOS	17
3.1. Ubicación	17
3.1.1. Ubicación del lugar de muestreo	17
3.1.2. Lugar de ejecución	17
3.2. Materiales	17
3.2.1. Material biológico	17
3.3. Diseño metodológico	17
3.3.1. Recolección de muestras	17
3.3.2. Aislamiento de cepas antagonistas y fitopatógenos	18
3.3.3. Identificación por microcultivo	19
3.3.4. Determinación del efecto antagónico	19
3.4. Tipo de investigación	20
3.5. Diseño de investigación	20
3.6. Análisis de datos	21

3.6.1. Determinación del porcentaje de inhibición radial del crecimiento (PIRC)	21
3.7. Análisis estadístico	22
3.8. Determinación del Micoparasitismo	22
IV. RESULTADOS	23
V. DISCUSIÓN	37
VI. CONCLUSIONES	41
VII. RECOMENDACIONES	43
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	53

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Tratamientos para la prueba de efecto antagónico.	21
Tabla 2. Escala de categoría de inhibición de crecimiento PICR.	21
Tabla 3. Escala creada por Elías y Arcos (1984), Creada para la evaluación de la capacidad antagónica (micoparasitismo).	22
Tabla 4. Relación de cepas de hongos antagonistas y fitopatógenos aislados.	25
Tabla 5. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>Colletotrichum sp</i> cepa AV-1 en cultivo dual con <i>Trichoderma spp.</i>	26
Tabla 6. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>Colletotrichum sp.</i> cepa AV-2 en cultivo dual con <i>Trichoderma spp.</i>	27
Tabla 7. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>Colletotrichum sp.</i> cepa RF-1 en cultivo dual con <i>Trichoderma spp.</i>	28
Tabla 8. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>Colletotrichum sp.</i> cepa RF-2 en cultivo dual con <i>Trichoderma spp.</i>	29
Tabla 9. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>Fusarium sp.</i> cepa F-1 en cultivo dual con <i>Trichoderma spp.</i>	30
Tabla 10. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>Fusarium sp.</i> cepa F-2 en cultivo dual con <i>Trichoderma spp.</i>	31
Tabla 11. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>Fusarium sp.</i> cepa F-3 en cultivo dual con <i>Trichoderma spp.</i>	32
Tabla 12. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>Fusarium sp.</i> cepa F-4 en cultivo dual con <i>Trichoderma spp.</i>	33
Tabla 13. Grado de invasión de cepas nativas de <i>Trichoderma spp.</i> en <i>Colletotrichum spp.</i> (Según Elías y Arcos, 1984).	34
Tabla 14. Grado de invasión de cepas nativas de <i>Trichoderma spp.</i> en <i>Fusarium spp.</i> (Según Elías y Arcos, 1984).	35

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. La medición de crecimiento radial del micelio del fitopatógeno por el método de cultivo dual.	20

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Observaciones macroscópicas y microscópicas (40X) de cepas de <i>Trichoderma</i> spp., aisladas de suelo.	55
Anexo 2. Observaciones macroscópicas y microscópicas (100X) de conidios de <i>Colletotrichum</i> spp.	58
Anexo 3. Observaciones macroscópicas y microscópicas (100X) de macro y microconidias de <i>Fusarium</i> spp.	59
Anexo 4. Constancia de las cepas aisladas y estudiadas.	60
Anexo 5. Categoría de Inhibición del crecimiento radial de las cuatro aislamientos de <i>Colletotrichum</i> spp. por efecto de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp.	61
Anexo 6. Categoría de Inhibición del crecimiento radial de las cuatro aislamientos de <i>Fusarium</i> spp. por efecto de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp.	62
Anexo 7. Aislamiento de hongos fitopatógenos a partir del tejido vegetal con síntomas de la enfermedad.	63
Anexo 8. Aislamiento de hongos fitopatógenos por punción de tejido vegetal con signos de la enfermedad.	64
Anexo 9. Procedimiento para el aislamiento de <i>Trichoderma</i> sp., a partir de suelo.	65
Anexo 10. Procedimiento de obtención de <i>Trichoderma</i> y fitopatógenos en tapete y block de gelosa.	66
Anexo 11. Característica observada en los tratamientos (<i>Trichoderma</i> sp. X <i>Colletotrichum</i> sp.) al 4to día de enfrentamiento.	67
Anexo 12. Característica observada en los tratamientos (<i>Trichoderma</i> sp. X <i>Colletotrichum</i> sp.) al 8vo día de enfrentamiento.	68
Anexo 13. Característica observada en los tratamientos (<i>Trichoderma</i> sp. X <i>Fusarium</i> sp.) al 4to día de enfrentamiento.	69
Anexo 14. Característica observada en los tratamientos (<i>Trichoderma</i> sp. X <i>Fusarium</i> sp.) al 8vo día de enfrentamiento.	70
Anexo 15. Cepas de <i>Trichoderma</i> spp., crecimiento en tapete.	71
Anexo 16. Cepas de <i>Trichoderma</i> spp., aisladas de suelo.	72
Anexo 17. <i>Trichoderma</i> sp. cepa T-7 frente a <i>Fusarium</i> sp. cepa F-1, al 4to día de enfrentamiento.	73
Anexo 18. <i>Trichoderma</i> sp. cepa T-4,1 frente a <i>Fusarium</i> sp. cepa F-3, al	

	4to día de enfrentamiento.	74
Anexo 19.	Micoparasitismo grado de antagonismo 4 según la escala de Elías y Arcos, <i>Trichoderma sp.</i> cepa T-4.2 frente a <i>Colletotrichum spp.</i> ; comparación con su blanco.	75
Anexo 20.	Micoparasitismo grado de antagonismo 4 según la escala de Elías y Arcos, <i>Trichoderma sp.</i> cepa T-3 frente a <i>Colletotrichum spp.</i> ; comparación con su blanco.	76
Anexo 21.	Micoparasitismo grado de antagonismo 0 según la escala de Elías y Arcos, <i>Trichoderma</i> no logra invadir a <i>Colletotrichum spp.</i>	77
Anexo 22.	Enfrentamiento dual de <i>Trichoderma spp.</i> frente a <i>Fusarium spp.</i> a los 7 días de enfrentamiento.	78
Anexo 23.	Micoparasitismo grado 0 de <i>Trichoderma sp.</i> cepa comercial (Th-1) frente a <i>Fusarium sp.</i> cepa F-1.	79
Anexo 24.	Micoparasitismo grado 0 de <i>Trichoderma sp.</i> cepa T4.1 frente a <i>Fusarium</i> cepa F2.	80
Anexo 25.	Procedimiento de recolección de muestra.	81
Anexo 26.	Matriz de consistencia.	82

RESUMEN

El trabajo de investigación cuyo objetivo fue evaluar el efecto antagónico de *Trichoderma* sp., frente a los fitopatógenos *Colletotrichum* sp. y *Fusarium* sp., se realizó en el laboratorio de Microbiología Ambiental, 2018. El Tipo de investigación fue básica experimental, con diseño completamente al azar de un solo factor. Se establecieron 7 tratamientos para cada una de las cepas de fitopatógenos *Colletotrichum* spp. y *Fusarium* spp., con 3 repeticiones. El material biológico estuvo conformada por 7 cepas nativas de *Trichoderma* spp., aisladas de la rizósfera de arveja y papa, 4 cepas de *Colletotrichum* spp. y 4 cepas de *Fusarium* spp. Para el efecto antagónico se aplicó la técnica de cultivo dual, como instrumento para determinar el porcentaje de inhibición radial (PIRC) y micoparasitismo. Al evaluar el PIRC para *Trichoderma* spp. frente a las cepas de *Colletotrichum* spp. todas las cepas nativas de *Trichoderma* spp., alcanzaron un porcentaje de inhibición de 26,32 a 45%, las cuales se ubican en la categoría 2; En cambio, frente a *Fusarium* spp., las cepas nativas de *Trichoderma* spp. alcanzaron un porcentaje de inhibición que va de 28,57 a 61,11%, las cuales se ubicaron en las categorías 2 y 3. Al medir el micoparasitismo de *Trichoderma* spp., sobre *Colletotrichum* spp., los mejores resultados obtuvieron las cepas nativas de *Trichoderma* T-2, T-3 y T-4,2 ubicándose dentro de la escala de capacidad antagónica con grado 4 y potencial de muy bueno, sin embargo estas cepas tuvieron un PIRC con categoría 2; el micoparasitismo de cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* spp., las cepas nativas de *Trichoderma* T-1, T-2, T-3, T-4,1, T-4,2 y T-5, obtuvieron el grado 4 frente a las colonias nativas de *Fusarium* sp. F-1 y F-4.

Palabras clave: Efecto antagónico, micoparasitismo.

I. INTRODUCCIÓN

La investigación desarrollada se refiere a la evaluación del efecto antagónico de *Trichoderma sp.* frente a los hongos fitopatógenos *Colletotrichum sp.* y *Fusarium sp.* Una estrategia es el uso de microorganismos antagónicos, siendo *Trichoderma* el género más estudiado como antagonista; utilizar a *Trichoderma* como alternativa para el control biológico de diversos fitopatógenos; especialmente para *Colletotrichum* y *Fusarium* como una alternativa de control inocuo y efectivo, así reducir el uso de fungicidas agrícolas; el control biológico de hongos fitopatógenos con *Trichoderma* permite obtener alimentos inocuos, lo cual evita el rechazo en los mercados internacionales que cada día son más demandantes de productos libres de plaguicidas sintéticos¹.

Actualmente en nuestro medio así como en la agricultura mundial los hongos fitopatógenos son causantes de enfermedades, siendo responsables de importantes pérdidas económicas, el uso de fungicidas y plaguicidas para eliminar fitopatógenos han traído como consecuencia severos problemas de contaminación al medio ambiente, ha generado resistencia de plagas y enfermedades, así como la presencia de nuevas especies de fitopatógenos con un grado de afectación más virulento².

Colletotrichum comprende más de 100 especies responsables de causar antracnosis en plantas y frutos de importancia económica, causando pérdidas de hasta 75% en los cultivos³. La antracnosis en arveja se presenta en hojas y vaina, produciendo manchas redondeadas de color amarillo con bordes que se oscurecen con el tiempo; en cambio en el rocoto se presenta en el fruto con hundimiento del tejido vegetal y estructuras fúngicas de color naranja.

Fusarium es otro hongo de importancia agrícola, tiene también distribución a nivel mundial y afecta a más de 80 cultivos de importancia económica⁴. La

podrición seca es una enfermedad causada por *Fusarium sp.* donde el tubérculo se pudre, endurece y se momifica.

La investigación de esta problemática se realizó con el interés de conocer el efecto antagónico *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma sp.* frente a los hongos fitopatógenos *Colletotrichum sp.* y *Fusarium sp.* por el método de cultivo dual para determinar el porcentaje de inhibición radial de crecimiento (PIRC), por otro lado también se determinó el grado de antagonismo (micoparasitismo), la aplicación de técnicas y procedimientos en este proceso servirán como base para posteriores investigaciones.

El informe final de la presente investigación consta de las siguientes partes: índice, introducción, marco teórico, materiales y métodos, resultados, discusión, conclusiones, recomendaciones, referencia bibliográfica y anexos.

En el presente trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar el efecto antagónico *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma sp.* frente a los hongos fitopatógenos *Colletotrichum sp.* y *Fusarium sp.*

Objetivos específicos

- Determinar el porcentaje de inhibición de *Trichoderma sp.* sobre *Colletotrichum sp.*
- Determinar el porcentaje de inhibición de *Trichoderma sp.* sobre *Fusarium sp.*
- Determinar el grado de antagonismo (micoparasitismo) de *Trichoderma sp.* sobre *Colletotrichum sp.* y *Fusarium sp.*

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. A nivel internacional

Ramírez, J. y col.⁵ en Colombia, en su trabajo de investigación evaluaron el antagonismo *in vitro* de dos cepas nativas de *Trichoderma asperellum* (GRB-HA1 y GRB-HA2) contra *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, y *Fusarium oxysporum*, arribaron a las siguientes conclusiones: ambos aislamientos de *Trichoderma asperellum* resultaron en 100 % en porcentaje de inhibición radial de crecimiento (PIRC), y micoparasitismo de grado 4 en cultivos duales contra *Colletotrichum gloeosporioides*. *T. asperellum* GRB-HA1 condujo a 70 % de PIRC y grado 3, y *T. asperellum* GRB-HA2 condujo a 84 % de PIRC y grado 4 de micoparasitismo contra *F. oxysporum*.

Arbitó, M.⁶ en Ecuador, evaluó la capacidad antagónica *in vitro* de 4 cepas de *Trichoderma* spp. (M2, M3, M4 Y M5) frente a *Fusarium* spp., concluyó: *Trichoderma* spp. (M2, M3, M4 Y M5) presentaron un porcentaje de inhibición de crecimiento radial de (PICR) sobre *Fusarium* spp. entre el 50 y 67%. La cepa que mayor PICR presentó, corresponde a *Fusarium*, la cepa M2 (65,19%), mientras que la menor PICR M5 (52,29%).

Díaz E.⁷ en Ecuador, investigó la eficacia del uso de *Trichoderma* spp. como método de control biológico de *Fusarium* spp. en cultivo de clavel mediante el método dual, concluye que: *T. harzianum* produjo porcentajes de inhibición del 26,9% para *F. oxysporum*.

García L.⁸ en Colombia, en su trabajo de investigación "Evaluación Del Antagonismo de Cepas de *Trichoderma* spp. frente a Cepas de *Fusarium* spp. Y *Colletotrichum* spp. aisladas de Cultivos Orgánicos de Sábila (*Aloe vera*) Y Arándano (*Vaccinium corymbosum*)", llegó a los siguientes resultados: el porcentaje de inhibición radial de *Trichoderma* spp., sobre el crecimiento de

Fusarium spp., fue de 72% y contra *Colletotrichum* spp., fue de 59%, el autor considero como buenos, puesto que para que un producto sea considerado como biocontrolador efectivo, debe arrojar al menos 60% de inhibición en la técnica de enfrentamiento dual en laboratorio.

Vargas, H. y Gilchrist, E.⁹ en Colombia, determinaron la capacidad antagónica de la cepa de *Trichoderma asperellum* (T109) contra dos cepas nativas del hongo fitopatógeno *Fusarium* sp. (M2Raíz, M3Tallo); Concluyeron: la cepa *Trichoderma asperellum* (T109) presento buena capacidad antagónica contra ambos aislamientos fitopatógenos, ya que se observó disminución en su capacidad de crecimiento del 60% y 40% *Fusarium* sp. M2Raíz y *Fusarium* sp. M3Tallo, respectivamente.

Martínez, A.¹⁰ en Ecuador, evaluó la capacidad antagónica de las cepas nativas de *Trichoderma* sp. para control biológico de *Fusarium* sp. en maracuyá, arribó a los siguiente resultados: *Trichoderma* sp. presentan alta capacidad para inhibir el crecimiento radial del patógeno, obtuvo inhibiciones de crecimiento del patógeno *Fusarium solani* en porcentajes que van desde 69,7% a 72,35%.

Rudy, N. col.¹¹ en La paz, Bolivia, en su investigación comprobaron el control del hongo antagónico *Trichoderma* sp. sobre los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. en café (*Coffea arabica*). Donde concluyeron: el porcentaje de inhibición de crecimiento de *Trichoderma* sp. en *Fusarium* sp. fue de un 37%.

Michel A. y col.¹² en México, evaluaron el efecto antagónico *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium subglutinans* y *Fusarium oxysporum*, agentes causales de la “escoba de bruja” del mango, los cuales concluyeron con que las cepas nativas de *Trichoderma* spp. presentaron los mayores porcentajes de antagonismo contra ambos fitopatógenos, al inhibir el crecimiento micelial en 62,9% de *F. oxysporum* y 42,0% de *F. solani*.

2.1.2. A nivel nacional

Llicahua, D.¹³ en Arequipa, aisló y determino el efecto antagonista “*in vitro*” de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* sp. del cultivo de cebolla de los distritos de Santa Rita de Sigwas y de Tiabaya– Arequipa-2018, donde llego a los siguientes resultados: la capacidad antagónica de las cepas de *Trichoderma* TSS-1 y TST-1 fue alta (grado 4), seguido de las cepas TES-1 y TET-1 (grado 1); El PICR evaluado fue altamente efectivo para la cepa de *Trichoderma* TSS-1 con 97,4% y efectivo para las cepas de *Trichoderma* TST-1 con 90,8%, TES-1 con 86,5% y TET-1 con 76,3%.

Goñas, M. y col.¹⁴ en Amazonas, evaluaron el efecto *in vitro* de cuatro controladores biológicos (*Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. asperellum* y *Clonostachys rosea*) frente a los hongos patógenos *Colletotrichum* spp. y *Botrytis* spp. al comparar los resultados, las cepas de *Trichoderma* spp. presentaron mayor PIRC sobre *Colletotrichum* spp.; *T. asperellum* (69,4%), *T. harzianum* (68,7%) y *T. viride* (67,1%)

Flores, w.¹⁵ en Trujillo, en su trabajo de investigación “control biológico *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides* causante de la antracnosis frente a *Clonostachys rosea*, *Fusarium oxysporum* y *Trichoderma harzianum*.” Concluye lo siguiente: mejor controlador biológico de *C. gloeosporioides* fue *T. harzianum* el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento de un 65,12% a 30°C en PDA.

Vargas, R.¹⁶ en Arequipa, en su trabajo de investigación “Antagonismo de *Trichoderma koningiopsis* y *Trichoderma harzianum* sobre *Fusarium oxysporum f. sp. cepae* y *Phoma terrestris in vitro*”; observó en sus resultados una inhibición del crecimiento radial de *Fusarium oxysporum f. sp. cepae* por *T. harzianum* de 83,40%, *T. koningiopsis* con 77,45%. En cuanto al grado de micoparasitismo *T. harzianum* y *T. koningiopsis* mostraron un micoparasitismo grado 4 frente a *Fusarium oxysporum f. sp. cepae*.

Torres, S.¹⁷ en Trujillo, evaluó el efecto “*in vitro*” de tres especies nativas de *Trichoderma* sobre la germinación y crecimiento de *Colletotrichum acutatum*; en el que concluye, que *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* las que presentan mayor efecto sobre *C. acutatum*.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Antagonismo

Es una interacción entre microorganismos donde uno interfiere con el crecimiento del otro, es decir causa la pérdida o la actividad de uno de ellos. Esta es la base sobre la que se sustenta el verdadero control biológico de microorganismos fitopatógenos en las plantas¹⁸.

a) Microorganismos antagonistas

Varios tipos de microorganismos se han descrito como agentes de control biológico de enfermedades en cultivos. Prácticamente todas las plagas y enfermedades son afectadas en alguna medida por organismos antagonistas. En muchos casos estos entes biológicos representan el factor más importante en la regulación de las poblaciones de microorganismos fitopatógenos en la naturaleza¹⁸.

Entre los microorganismos más importantes se encuentran las bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* y hongos de los géneros *Gliocladium* y *Trichoderma*. Este último es el más utilizado para el control de un grupo importante de patógenos del suelo¹⁹.

b) Mecanismos de acción

Se han descrito varios mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de patógenos. Algunos de estos son antibiosis, competencia por espacio o nutrientes, interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo y lisis enzimática) e inducción de resistencia¹⁹.

No es fácil determinar con precisión los mecanismos que intervienen en las interacciones entre los antagonistas y los patógenos en la planta. En general, los antagonistas no tienen un único modo de acción y la multiplicidad de estos es una característica importante para su selección como agentes de control biológico. Si el antagonista posee varios modos de acción reduce los riesgos de desarrollo de resistencia en el patógeno¹⁹.

c) Efecto antagónico

Se entiende por efecto antagónico al mecanismo que se basa en la actividad inhibitoria directa que ejerce un microorganismo sobre otro.

2.2.2. Trichoderma

El género *Trichoderma* se caracterizan por ser hongos saprófitos, que sobreviven en suelos con diferentes cantidades de materia orgánica, los cuales son capaces de descomponerla y en determinadas condiciones pueden ser anaerobios facultativos, lo que les permite mostrar una mayor plasticidad ecológica. Las especies de *Trichoderma* se encuentran presentes en todas las altitudes, desde las zonas polares hasta la ecuatorial²⁰.

El género *Trichoderma* fue descrito por Persoon en 1794. Posteriormente, Rifai²⁰ hizo el primer agrupamiento en especies agregadas que se utiliza hasta el presente, a pesar de las dificultades que se presentan para la identificación de especies por este método, debido a la cercanía morfológica y la evolución de las mismas. Son hongos saprofitos del suelo y la madera, de crecimiento muy rápido²². Las especies de este género se encuentran ampliamente distribuidas por todas las latitudes, y se presentan naturalmente en diferentes ambientes, especialmente en aquellos que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición²¹.

Rifai en 1969 investigó al género *Trichoderma* y propuso nueve especies agregadas: *Trichoderma piluliferum* Webster & Rifai, *Trichoderma polysporum* (Link ex Pers) Rifai, *Trichoderma hamatum* (Bon) Bain, *Trichoderma koningii* Rifai, *Trichoderma aureoviride* Rifai, *Trichoderma harzianum* Rifai, *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, *Trichoderma pseudokoningii* Rifai y *Trichoderma viride* Pers ex S. F Gray. Estas especies se identificaron teniendo en cuenta diferencias morfológicas y fisiológicas, como: tipo de ramificación del conidióforo, forma del conidio, crecimiento y coloración de la colonia, entre otras²¹.

a) Taxonomía

Trichoderma actualmente se encuentra en la siguiente clasificación taxonómica²³

Reino : Fungi
División : Eumycota
Subdivisión : Ascomycotina
Clase : Euascomycetes
Orden : Hypocreales
Familia : Hypocraceae
Género : *Trichoderma*
Especie : *Trichoderma sp.*

Se reproducen mediante conidios, debido a su gran capacidad reproductiva, su crecimiento se ve favorecido por la presencia de materia orgánica y humedad, son tolerantes de condiciones extremas como temperatura, pH y salinidad²⁴.

b) Características de *Trichoderma*

• Características macroscópicas

Las colonias de *Trichoderma* son de rápido crecimiento en medio APD (Agar Papa Dextrosa), inicia con la formación de una callosidad en la muestra sembrada, creciendo el primer día un promedio de 12,68 mm de diámetro con la formación de un anillo hialino, el segundo día presenta una capa blanca esponjosa en el anillo que al tercer día se torna verde²⁵, al quinto o sexto día la colonia toma una coloración verde-oscura de aspecto polvoriento⁶; al observar el envés del medio de cultivo las colonias son de color amarillo, ámbar o amarillo verdoso²⁶.

• Características microscópicas

El género *Trichoderma* en su estado vegetativo presenta micelio con septos simples. Las especies son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucano²⁷.

Conidióforos: son hialinos, erectos, no verticilados, generalmente ramificados, pueden estar en solitario o agrupados²⁶.

Fiálides: en esta estructura se forman los conidios (esporas asexuales). Presentan una forma de botella, están solas o agrupadas, son hinchadas en la región central pero alargada en sus terminaciones²⁶.

Conidios: son esporas asexuales de coloración verde, amarillo o blanco; con esporulación densa para asegurar la supervivencia, dispersión y reproducción del hongo. Las paredes de los conidios están compuestas por quitina y glucagón²⁴.

Clamidosporas: presentan una coloración amarillenta o verdosa, un olor a humedad, una forma elíptica o globosa, estas estructuras son comunes en las especies de género trichoderma, su diámetro es de 6-15 µm en la mayoría de especies²⁵.

Estas estructuras son de vital importancia para la supervivencia del género en el suelo bajo condiciones adversas.

c) Condiciones de crecimiento de Trichoderma

Condiciones para un buen crecimiento:

- **Temperatura**

Varía de 15°C – 35°C, siendo 25°C la temperatura óptima.

- **Humedad relativa**

Trichoderma se desarrolla entre 20% y 80% de humedad, siendo lo óptimo 70%.

- **pH**

Se desarrollan mejor a pH de 6 – 6,5, y resisten a mayores valores debido a la secreción de ácidos orgánicos que acidifican el medio.

- **Carbono**

Siendo la principal fuente de este elemento la celulosa²⁸.

d) Capacidad antagónica de Trichoderma

La capacidad antagónica de Trichoderma es variable y depende de la especificidad de la cepa y de su modo de acción, las cepas nativas son más eficaces que las importadas. Dentro de los mecanismos responsables de su capacidad antagónica está la antibiosis, competencia, micoparasitismo, desactivación de enzimas de patógenos y otros²⁷.

- **Competencia**

La presencia de Trichoderma en suelos agrícolas y naturales en todo el mundo es una evidencia, de que es un excelente competidor por espacio y recursos

nutricionales. La competencia por nutrientes de *Trichoderma*, es principalmente por carbono, nitrato y hierro²⁹. De forma general, entre las cualidades que favorecen la competencia de este antagonista se encuentra, la alta velocidad de crecimiento que posee gran parte de sus aislamientos y la secreción de metabolitos de diferente naturaleza, que frenan o eliminan a los competidores en el microambiente. Este modo de acción influye en “bloquear el paso” al patógeno y resulta importante para la diseminación del antagonista²⁷.

La competencia evaluada bajo condiciones *in vitro* (cultivo dual), se ejerce principalmente por espacio y en ella intervienen la velocidad de crecimiento de las cepas del antagonista y factores externos como tipo de sustrato, pH y temperatura, entre otros²⁷.

- **Micoparasitismo**

Este es un proceso complejo en la interacción antagonista-patógeno, que ocurre en cuatro etapas³⁰.

Crecimiento quimiotrófico donde *Trichoderma* puede detectar a distancia a sus posibles hospedantes³¹,

Reconocimiento: Se considera que existe una alta especificidad del antagonista por su sustrato³²,

Adhesión y enrollamiento: Ocurre por la asociación de un azúcar de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno³³ y.

Actividad lítica: Producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del patógeno y posibilitan la penetración de las hifas de *Trichoderma*³⁴. El micoparasitismo concluye con la pérdida del contenido citoplasmático de la célula hospedante, mostrando síntomas de disgregación³⁵. Diferentes interacciones hifales están involucradas en el micoparasitismo, tales como: enrollamiento, penetración, vacuolización, granulación, coagulación, desintegración y lisis³⁶. En el parasitismo a nivel microscópico no todas estas interacciones son siempre observadas, pues al parecer dependen del aislamiento de *Trichoderma*, del patógeno y de las condiciones del ambiente²⁷.

Las enzimas desempeñan una función esencial en el micoparasitismo, ya que la penetración de la hifa de *Trichoderma* en su hospedante está regida por la maquinaria enzimática de este antagonista, y depende más del aislamiento y del hospedante, que de la propia especie del biorregulador²⁷.

El crecimiento de *Trichoderma* sobre el patógeno en cultivo dual, no es garantía de alta capacidad parasítica, ya que las hifas de ambos pueden compartir espacios en el sustrato sin llegar a parasitarlo²⁷.

- **Antibiosis**

Los metabolitos con actividad antifúngica secretados por *Trichoderma* constituyen un grupo de compuestos volátiles y no volátiles, muy diverso en cuanto a estructura y función. Muchas cepas de *Trichoderma* producen estos metabolitos secundarios, algunos de los cuales inhiben otros microorganismos, con los que no se establece contacto físico, y estas sustancias inhibitorias fueron consideradas “antibióticos”³⁷⁻³⁸.

Se identificaron compuestos del tipo de las alquil-pironas (6-a-pentil-pirona), isonitrilos (isonitrina), poliquétidos (harzianolida), peptabioles (trichodermina, atroviridina, alameticina, suzucacilina y trichozianina), dicetopiperacinas (gliovirina y gliotoxina), sesquiterpenos (ácido heptelídico) y esteroides (viridina)³⁰⁻³⁹.

Las diversas especies de *Trichoderma* tienen capacidad antagónica contra diversos hongos fitopatógenos, como *Rhizotonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Sclerotium rolfsii*, *Botrytis cinére*⁴⁰.

2.2.3. Colletotrichum

Colletotrichum es un género de hongos fitopatógenos que ocasiona enfermedades como cánceres, pudriciones y principalmente antracnosis en diferentes hospedantes; se manifiesta en lesiones semicirculares con hundimientos en forma de anillos concéntricos⁴¹. A nivel mundial se reporta la antracnosis en frutas, hortalizas, cereales, plantas herbáceas, maderables y ornamentales, entre otras; sobre todo en zonas templadas y tropicales⁴².

a) Taxonomía de Colletotrichum

Phyllum : Ascomycota,
Clase : Hypocreomycetidae,
Orden : Glomerellales,
Familia : Glomerellaceae
Género : *Colletotrichum*
Especie : *Colletotrichum sp*⁴³.

b) Características de Colletotrichum

• Características macroscópicas

En su morfología a nivel macroscópico *in vitro* en medio APD se evidencia colonias aterciopeladas, de vez en cuando granuladas, de crecimiento lento, y cambios en la coloración después de llevar a cabo la reproducción, en este momento se inicia la etapa de senescencia que induce coloraciones más oscuras, otra ligera diferencia en la coloración se da por el medio de cultivo⁴⁴⁻⁴⁵.

• Características microscópicas

A nivel microscópico, se encuentran estructuras asexuales como conidios hialinos, curvados y fusiformes y un acérvulo setoso, con crecimientos de 90° en hifas septadas, conidios simples sin septos, alargados y ovoides⁴⁶, de forma cilíndrica con ambos lados rectos y extremos redondos⁴⁷.

c) Colletotrichum Como fitopatógeno

Colletotrichum es un hongo de distribución cosmopolita y con predominancia en las regiones tropicales y subtropicales⁴⁸. Comprende principalmente patógenos de plantas y frutos, incluye a más de 100 especies responsables de causar la antracnosis, por tal motivo es esencial identificar las especies para mejorar el control de la enfermedad⁴⁹.

• Fitopatógeno de importancia económica

El hongo Colletotrichum afectan a los cultivos de alta importancia económica ocasionando pérdidas de hasta el 75 % en diversos cultivos; algunos frutales afectados son: el mango (*Mangifera indica* L.), el aguacate (*Persea americana* Mill.), el tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Cav.), la papaya (*Carica papaya* L.), la mora (*Rubus glaucus* Benth), el lulo (*Solanum quitoense* Lam.), la guanábana (*Annona muricata* L.), la fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.), la sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.), el melón (*Cucumis melo* L.), el plátano (*Musa* spp.), la guayaba (*Psidium guajava* L.), el maracuyá (*Passiflora edulis* Sims) y los cítricos (*Citrus* spp.) y otros cultivos que se ven afectados son: el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), la soya (*Glycine max* L. Merr.), el sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), la alfalfa (*Medicago sativa* L.), el ñame (*Dioscorea* spp.), la yuca (*Manihot esculenta* Crantz), el pimentón (*Capsicum annum* L.), el café (*Coffea arabica* L.), y algunos cereales, leguminosas, pastos y cultivos perennes⁵⁰⁻⁵¹.

• Patogenicidad y virulencia

Es un hongo que a nivel mundial presenta un amplio rango de plantas hospederas, se manifiesta como saprófito o fitopatógeno de alta incidencia en

cultivos de varias especies y familias, presentando problemas no sólo en cultivo y en cosecha sino también en poscosecha.⁵² relaciona que la incidencia de la enfermedad varía marcadamente de acuerdo a la susceptibilidad varietal, las condiciones climáticas y la virulencia del patógeno ⁵³. Velastegui *et al.*⁵⁴ demuestra que *Colletotrichum sp.* no sólo se encuentra en épocas húmedas, también en época seca mostrando incidencias más bajas, lo que evidencia que esta enfermedad es constante, desarrollando ciclos más largos en estas épocas, pero continuando con la diseminación y contaminación de la enfermedad a las plantas en épocas secas. Las especies de este género son consideradas como las más exitosas dentro de los hongos patógenos gracias a su potencial para producir infecciones latentes, con mayor frecuencia en zonas templadas y tropicales⁵²⁻⁵⁵.

- **Fases de nutrición en la colonización**

Las especies de *Colletotrichum sp.* se desarrollan en dos fases principales de nutrición, durante la colonización de la planta:

La fase inicial biotrófica es corta y asegura el crecimiento de la planta gracias a la falta de reconocimiento del patógeno, obteniendo alimento de las células vivas y asegurando la colonización en él⁵⁶.

La segunda fase tardía necrótropa, inicia la aparición de síntomas específicos del hongo, con el incremento de la actividad enzimática y por consiguiente la degradación de la pared celular en el tejido, en esta fase la alimentación la obtiene de las células muertas⁵⁶.

- **Antracnosis en fruto**

La antracnosis es una enfermedad que pueden provocar pérdidas importantes en el rendimiento y la calidad de los cultivos. Disminuyendo la vida útil de las plantas y limitando su producción y comercialización, causando grandes pérdidas económicas⁵⁷. Pueden ser causados por varios hongos, uno de los cuales es el género *Colletotrichum* (*Colletotrichum capsici*, *C. gloeosporioides*, *C. coccodes*, etc.),

La antracnosis en la arveja (*Colletotrichum pisi*) se presenta en las hojas y vainas, produciendo manchas redondeadas de unos 5 mm de diámetro de color amarillo con los bordes más oscuros⁵⁸.

La antracnosis en el rocoto se presenta en frutos, sin embargo también pueden producirse en hojas y tallos cuando se dan condiciones óptimas. Cuando el fruto madura la susceptibilidad a esta enfermedad aumenta; producen las lesiones circulares con masa de esporas de color naranja⁵⁹.

2.2.4. Fusarium

El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y plantas. Con gran importancia económica ya que son habituales fitopatógenos. Poseen un micelio altamente desarrollado, septado y con conidióforos característicos del género, algunas especies presentan el talo unicelular⁶⁰.

a) Taxonomía de Fusarium

La clasificación del género *Fusarium* ha sufrido modificaciones desde las primeras descripciones hechas por Link en 1803; debido a la aparición de nuevas tecnologías utilizadas actualmente, sin embargo en la mayoría de los estudios se mantiene vigente la taxonomía basada en el reconocimiento de su estructura morfológica⁶¹.

De acuerdo a Groenewald⁶² y Díaz de Castro, *et al*⁶³.

Reino : Fungi
División : Ascomycota
Clase : Euascomycetes
Orden : Hypocreales
Familia : Hypocreaceae
Género : *Fusarium*
Especie : *Fusarium sp.*

Los hongos del género *Fusarium* son cosmopolitas y muy abundantes en las zonas tropicales y templadas del mundo. Es una de las más importantes especies fitopatógenas, debido a las pérdidas económicas que causa en los cultivos comerciales. Está entre las especies más abundantes, cosmopolitas y complejas pues tiene más de 100 formas especiales caracterizadas por su alta especificidad en las plantas hospedantes que afecta⁶⁴.

b) Características de Fusarium

• Características macroscópicas

Fusarium se caracteriza por producir colonias de crecimiento rápido y abundante, generalmente de aspecto algodonoso, de diversos colores que van del blanco, rosado, salmón o violeta cubriendo toda la superficie del medio⁶⁵. El medio APD (Agar Papa Dextrosa) garantiza el crecimiento, pero no la esporulación.

• Características microscópicas

El hongo produce tres clases de esporas:

1. **Microconidias:** esporas generalmente unicelulares, sin septas, hiliares, elipsoidales a cilíndricas, rectas o curvas; se formaron sobre filiales laterales, cortas, simples o sobre conidióforos poco ramificados. Las microconidias tienen 5-12 μm de largo por 2,5-3,5 μm de ancho⁶⁶.
2. **Macroconidias:** esporas de paredes delgadas, fusiformes, largas, moderadamente curvadas en forma de hoz, con varias células y de 3 a 5 septas transversales, con la célula basal elongada y la célula apical atenuada; las macroconidias tienen un tamaño de 27 a 46 μm de largo por 3,0 a 4,5 μm de ancho⁶⁶.
3. **Clamidosporas:** esporas formadas a partir de la condensación del contenido de las hifas y de los conidios, de paredes gruesas. Se forman simples o en pares, terminales o intercalares: poseen un tamaño de 5 a 15 μm de diámetro⁶⁶. Gracias a ellas el hongo sobrevive en condiciones ambientales desfavorables y en el suelo como saprófito de vida libre en ausencia de plantas hospedantes⁶⁷.

c) Fusarium como fitopatógeno:

Fusarium se comporta como fitopatógeno al encontrar en la planta las características apropiadas y necesarias para crecer. Este penetra las diferentes capas de la corteza de la raíz a través de heridas o directamente, hasta alcanzar el sistema vascular⁶⁸. Una vez establecido, la colonización de la planta es llevada a cabo rápidamente a través del xilema, que conlleva a la sintomatología característica de la marchitez. Por ejemplo, *F. oxysporum* es capaz de invadir el sistema vascular de la planta produciendo unas 14 variedades de enzimas líticas que despolimerizan todos los componentes de la pared celular del vegetal, como son: el xilano, la celulosa, las pectinas y proteínas como las extensinas⁶⁹.

Este hongo tiene la capacidad de sobrevivir por largos periodos en el suelo, debido a sus estructuras de resistencia denominadas clamidosporas, lo que vuelve inefectiva la rotación de cultivos a corto plazo⁷⁰⁻⁷¹.

• **Fitopatógeno de importancia económica**

El género Fusarium es un patógeno distribuido ampliamente a nivel mundial (en más de 32 países) y afecta a más de 80 cultivos de importancia comercial, como el tomate y la cebolla⁴. Existen diversas especies del género Fusarium, sin embargo las más relevantes para los cultivos de hortalizas son *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*.

d) Metabolitos tóxicos de Fusarium

A parte de inactivar las sustancias tóxicas producidas por el hospedero como mecanismo de defensa, *Fusarium* crea sus propias toxinas que aumentan su patogenicidad. Entre estas toxinas están las fitotoxinas como las eniatinas y ácido furárico; mientras que para los animales son las micotoxinas, tricotenos y fumonisinas. Los contaminantes frecuentes de los cereales son los tricotecenos y las fumonisinas⁶¹.

e) Principales especies patógenas del género Fusarium

Los más relevantes se agrupan en:

Fusarium graminearum: comprende las especies que ocasionan la fusariosis de la espiga en cebada, trigo y arroz, contaminando la espiga con micotoxinas tricoteceno⁷².

Fusarium oxysporum: sus especies son responsables del marchitamiento vascular de más de 100 especies vegetales de importancia económica y alimenticia como el tomate, plátano, espárragos, etc⁷².

Fusarium solani, estas especies producen la podredumbre del pie y la raíz de diversos vegetales⁷².

Fusarium fujikuroi, abarca el mayor número de especies, se le asocia con diversas enfermedades como la enfermedad de bakanae en arroz, podredumbre del maíz, chancro en el pino; son muy conocidos por contaminar los diferentes cultivos con la micotoxina fumonisina⁷².

f) Pudrición seca de la papa

La pudrición seca de la papa es una de las enfermedades de la post cosecha que ataca tubérculos almacenados, es causada por *Fusarium sp.*, los cuales provienen de los mismos campos de cultivo en sus diversas formas ya sea como estructuras de propagación (conidias, micelios) o de conservación (clamidosporas) que pueden estar presentes en la superficie del tubérculo. Pueden causar pudrición total o parcial de los tubérculos⁷³.

2.2.5. Técnica de enfrentamiento dual

La prueba de enfrentamiento dual, es una prueba en la que se observa las características de: crecimiento, adaptación y capacidad biocontroladora – defensa, tanto del hongo patógeno como del antagonista. Consiste en el enfrentamiento del patógeno y el antagonista en una placa de Petri. Para lograr determinar el grado de antagonismo y porcentaje de inhibición de crecimiento radial⁷⁴.

2.2.6. Cepas nativas

Son cepas exclusivamente de un microorganismo específica o autóctona por lo que no presentan ningún tipo de modificación inducida por el hombre; se encuentran en un estado similar al que presentan las cepas silvestres.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

3.1.1. Ubicación del lugar de muestreo

Departamento : Ayacucho
Provincia : Huamanga
Distrito : Ayacucho
Zona : Mollepata

3.1.2. Lugar de ejecución

La presente investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Microbiología Ambiental de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Distrito Ayacucho, Provincia Huamanga del Departamento de Ayacucho.

3.2. Materiales

3.2.1. Material biológico

- 7 cepas nativas de *Trichoderma sp.*
- 4 cepas de *Colletotrichum sp.*
- 4 cepas de *Fusarium sp.*

3.3. Diseño metodológico

3.3.1. Recolección de muestras

a) Recolección de muestras de suelo

Se tomaron muestras de suelos rizosférico de cultivos de arveja y papa aproximadamente 500g. Se retiró la capa superior de suelo con ayuda de una pala y un pico, se escarbó una profundidad aproximada de 20 cm, con una cuchara estéril se recogió las muestras de suelo y se colocaron en bolsas de polietileno estéril, previamente rotuladas con los datos y se transportaron al laboratorio de Microbiología Ambiental para su procesamiento⁸⁻¹².

b) Recolección de muestras de material vegetal

Se recolectaron arveja, rocoto con signos y síntomas de la enfermedad, (antracnosis) y papa (pudrición seca); cada vegetal fue envuelto en papel Kraft de manera independiente, los que se colocaron en bolsas de polietileno estéril⁷⁰, se trasladaron en cajas de cartón al laboratorio de Microbiología Ambiental.

3.3.2. Aislamiento de cepas antagonistas y fitopatógenos

a) Aislamiento de las cepas de nativas de *Trichoderma sp*⁷⁵.

A partir de las muestras de suelo recolectadas y se realizó una dilución pesando 1 g de muestra de suelo en 99 mL de agua destilada estéril, de esta se tomaron 0,2 mL y se sembró por diseminación en medio APD + Cloranfenicol (para evitar crecimiento de bacterias), se incubó a 25°C por 4 días. Luego de este tiempo se observaron las características macroscópicas y microscópicas de las colonias.

Para el estudio microscópico se utilizó la técnica del cinta adhesiva (cinta Scotch), tomando las estructuras fúngicas de las colonias y coloreando con azul de Lactofenol los que se observaron al microscopio con el objetivo de 40X; para evaluar la forma de las esporas.

b) Aislamiento de cepas de fitopatógenos *Colletotrichum sp.* y *Fusarium sp.*

- **Técnica a: Aislamiento a partir de estructuras que se encuentran en la superficie del vegetal (signos)⁷⁶**

De las muestras de arveja, rocoto con presencia fúngica (signos) y síntoma (antracnosis) y papa (pudrición seca), se realizaron siembras directas sobre la placa con medio APD; con la ayuda del asa de kolle en gancho se tomó una pequeña porción de la estructura fúngica del hongo y se sembró por puntura sobre el medio APD + Cloranfenicol y se incubó a 25°C por 5 a 7 días. Luego de este tiempo se observaron las características culturales de las colonias y características microscópicas.

- **Técnica b: Aislamiento del hongo con síntomas de la enfermedad⁷⁶**

A partir de los vegetales arveja y rocoto con síntomas (antracnosis) y pudrición seca en papa, se cortaron el material vegetal, conteniendo una parte del tejido sano y enfermo, en pequeños trozos. Estos trozos se colocaron en solución de hipoclorito de sodio al 2% por 2 minutos, luego se enjuagó con agua destilada estéril 5 veces y se secó con papel filtro, se tomaron los trozos con la ayuda de una pinza desinfectada y se sembró en la superficie del medio APD + Cloranfenicol, distribuyéndolos equidistantemente, en cuatro puntos. Se incubó a

25°C por 5 a 7 días. Luego del periodo de incubación se observaron las características macroscópicas y microscópicas de las colonias.

3.3.3. Identificación por microcultivo⁷⁷

Previamente se esterilizaron el equipo de microcultivo. Se cortaron de la placa con medio de APD con hoja de bisturí, cuadraditos de agar de 0,5 centímetros. Con la espátula o la hoja de bisturí se colocó un cuadradito en el portaobjetos que está en la placa con el equipo de microcultivo. Sembrando el hongo a identificar, con el asa de kolle en gancho en las cuatro esquinas y en el centro del bloque de agar. Luego se colocó el cubreobjetos sobre el bloque de APD. Se vertió agua destilada estéril por el borde de la placa de Petri, para proporcionar una adecuada humedad evitando que se deseeque el medio de cultivo debido a lo prolongado de la incubación.

Se Incubo a 25°C por 3 a 5 días. Transcurrido el periodo de tiempo se realizó la coloración con azul de lactofenol y el montaje para su respectiva identificación.

3.3.4. Determinación del efecto antagónico

Para determinar el efecto antagónico *in vitro* de *Trichoderma sp.* sobre los patógenos *Fusarium sp.* y *Colletotrichum sp.* se empleó la técnica del enfrentamiento dual.

a) Obtención de Trichoderma y fitopatógenos en tapete y block de gelosa⁷⁸

El inóculo se preparó a partir de cepas de hongos antagónico (*Trichoderma sp.*) y hongos fitopatógenos (*Colletotrichum sp.* y *Fusarium sp.*) en medio APD, los cuales se incubaron a 25°C de 5 a 8 días. Luego de este tiempo se cosecharon las esporas (*Fusarium* de 5 días, *Colletotrichum* de 8 días y *Trichoderma* de 5 días) en 2,0 mL de solución salina fisiológica estéril, con hisopo estéril, hasta que se alcanzar una turbidez de 0,5 en escala de Mc Farland, para luego ser sembrados utilizando un hisopo estéril en placas con medio APD mediante estriaciones en 3 direcciones, se incubaron a 25°C por 5 a 8 días, para la obtención del crecimiento en forma de tapete (crecimiento uniforme), luego de este tiempo se obtuvo los trocitos de APD (blocks) con colonia fúngica usando un sacabocado de 6 mm de diámetro.

b) Prueba de efecto antagónico: Técnica de cultivo dual⁷⁴

Con ayuda de un sacabocados se cortaron áreas de 6 mm de diámetro de la colonia del hongo fitopatógeno y se sembró en un extremo de la placa Petri, dándoles una ventaja de crecimiento de 1 día para *Fusarium* y 2 días para

colletotrichum, debido a su crecimiento lento, para el control se sembraron los hongos fitopatógenos (*Colletotrichum sp.* y *Fusarium sp.*) solos en la placa Petri, también con ventaja en crecimiento (1 día para *Fusarium* y 2 días para *Colletotrichum*), luego de ese tiempo se sembró al otro extremo de la placa Petri el 6 mm de diámetro de la colonia del antagonista *Trichoderma sp.* Se incubó a 25°C por diez días, se hizo mediciones del radio de crecimiento de los hongos enfrentados (crecimiento micelial) cada día comparando con el testigo (24 horas) por 8 días.

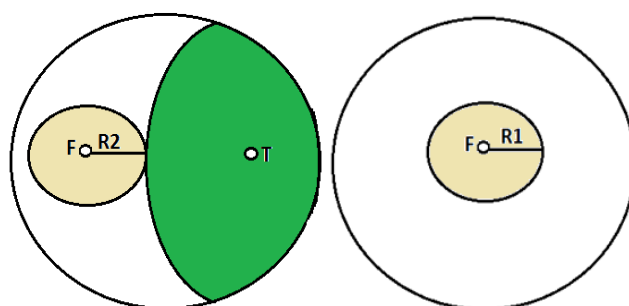


Figura 1. La medición de crecimiento radial del micelio del fitopatógeno por el método de cultivo dual, propuesto por Fokkema⁷⁴. Dónde: R1, radio de la colonia del fitopatógeno control; R2, radio de la colonia del fitopatógeno en enfrentamiento dual con *Trichoderma*. T, *Trichoderma*; F, fitopatógeno.

3.4. Tipo de investigación

Básica – descriptivo

3.5. Diseño de investigación

El presente está orientado a una investigación experimental, con un diseño completamente al azar (DCA) de un solo factor.

Para *Colletotrichum*: Se evaluó el efecto inhibitorio de siete cepas nativas de *Trichoderma spp.* frente a cuatro cepas de *Colletotrichum spp.* que fueron aisladas de arveja y rocoto. Se realizó cuatro experimentos, cada una con siete tratamientos y tres repeticiones.

Para *Fusarium*: Se evaluó el efecto inhibitorio de siete cepas nativas de *Trichoderma spp.* frente a cuatro cepas de *Fusarium spp.* que fueron aisladas de papa, palto y plátano. Se realizó cuatro experimentos, cada una con siete tratamientos y tres repeticiones.

Factor: efecto antagónico de *Trichoderma*.

Tratamientos: 7 tratamientos para cada una de las cepas de fitopatógenos *Colletotrichum spp.* y *Fusarium spp.*; un tratamiento está formado por 1 cepa de *Trichoderma* y una cepa fitopatógeno.

Tabla 1. Tratamientos para la prueba de efecto antagónico.

Trata mientos	<i>Colletotrichum</i> spp.				<i>Fusarium</i> spp.			
	AV-1	AV-2	RF-1	RF-2	F-1	F-2	F-3	F-4
T-1	T-1 x AV-1	T-1 x AV-2	T-1 x RF-1	T-1 x RF-2	T-1 x F-1	T-1 x F-2	T-1 x F-3	T-1 x F-4
T-2	T-2 x AV-1	T-2 x AV-2	T-2 x RF-1	T-2 x RF-2	T-2 x F-1	T-2 x F-2	T-2 x F-3	T-2 x F-4
T-3	T-3 x AV-1	T-3 x AV-2	T-3 x RF-1	T-3 x RF-2	T-3 x F-1	T-3 x F-2	T-3 x F-3	T-3 x F-4
T-4.1	T-4.1xAV-1	T-4.1 x AV-2	T-4.1 x RF-1	T-4.1 x RF-2	T-4.1 x F-1	T-4.1 x F-2	T-4.1 x F-3	T-4.1 x F-4
T-4,2	T-4,2 x AV-1	T-4,2 x AV-2	T-4,2 x RF-1	T-4,2 x RF-2	T-4,2 x F-1	T-4,2 x F-2	T-4,2 x F-3	T-4,2 x F-4
T-5	T-5 x AV-1	T-5 x AV-2	T-5 x RF-1	T-5 x RF-2	T-5 x F-1	T-5 x F-2	T-5 x F-3	T-5 x F-4
T-6	T-6 x AV-1	T-6 x AV-2	T-6 x RF-1	T-6 x RF-2	T-6 x F-1	T-6 x F-2	T-6 x F-3	T-6 x F-4

Variable de respuesta: Porcentaje de inhibición radial del crecimiento (PIRC) y niveles de micoparasitismo.

3.6. Análisis de datos

3.6.1. Determinación del porcentaje de inhibición radial del crecimiento (PIRC)⁷⁹

El porcentaje de inhibición de *Trichoderma* sobre los hongos fitopatógeno de crecimiento se midió a través de la fórmula de Samaniego et al (1989) citada por de Ezziyyani⁷⁸.

$$PIRC = \left(\frac{R1 - R2}{R2} \right) * 100$$

Dónde:

R1: radio del patógeno testigo (cm).

R2: radio de inhibición del patógeno enfrenteado al antagonista (cm).

El PIRC fue categorizado de 0 a 4 usando una escala de categoría de inhibición de crecimiento, citada por Ramírez⁵ donde:

Tabla 2. Escala de categoría de inhibición de crecimiento PIRC.

CATEGORÍA	INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO
0	sin crecimiento o inhibición,
1	1% –25% inhibición del crecimiento
2	26% –50% inhibición del crecimiento
3	51% –75% inhibición del crecimiento
4	76% -100% de inhibición del crecimiento

Con los datos obtenidos de PIRC se confeccionaron gráficas estadísticas del tipo descriptivo, para lo cual se empleó el programa Excel 2016, en caso del control no fue considerado para la representación gráfica.

3.7. Análisis estadístico

Los experimentos se llevaron a cabo bajo un diseño completamente al azar (DCA). El análisis de datos se realizó mediante la prueba de Kruskal Wallis ($\alpha=0,05$), cuyo valor se reporta con la sigla “H” y “p” es p valor, con el software estadístico MINITAB 16.

3.8. Determinación del Micoparasitismo

Para indicar el micoparasitismo como posible mecanismo de acción se realizaron observaciones macroscópicas de los cultivos duales, tomándose como índice la invasión del antagonista sobre la superficie del micelio del fitopatógenos, se usó la escala creada por Elías y Arcos (1984) citada por Ramírez⁵, y donde se evaluó su potencial antagonico. Para la cual el cultivo dual se dejó por 8 días. Luego de esto se midió el grado de antagonismo, utilizando dicha escala que se ha empleado en estudios de micoparasitismo de *Trichoderma* contra fitopatógenos, (tabla 2).

Tabla 3. Escala creada por Elías y Arcos (1984), Creada para la evaluación de la capacidad antagonica (micoparasitismo).

GRADO	CAPACIDAD ANTAGÓNICA	POTENCIAL
0	Ninguna invasión de la superficie del fitopatógeno	Muy malo
1	Invasión de $\frac{1}{4}$ de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno	Malo
2	Invasión de $\frac{1}{2}$ de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno	Deficiente
3	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno	Bueno
4	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno y esporulación sobre ella.	Muy bueno

IV. RESULTADOS

Tabla 4. Relación de cepas de hongos antagonistas y fitopatógenos aislados.

Código Cepa	Microorganismo	Origen
T-1	<i>Trichoderma sp.</i>	Suelo
T-2	<i>Trichoderma sp.</i>	Suelo
T-3	<i>Trichoderma sp.</i>	Suelo
T-4.1	<i>Trichoderma sp.</i>	Suelo
T-4.2	<i>Trichoderma sp.</i>	Suelo
T-5	<i>Trichoderma sp.</i>	Suelo
T-6	<i>Trichoderma sp.</i>	Suelo
AV-1	<i>Colletotrichum sp.</i>	Fruto de arveja (<i>Pisum sativum</i>)
AV-2	<i>Colletotrichum sp.</i>	Fruto de arveja (<i>Pisum sativum</i>)
RF-1	<i>Colletotrichum sp.</i>	Fruto de rocoto (<i>Capsicum pubescens</i>)
RF-2	<i>Colletotrichum sp.</i>	Fruto de rocoto (<i>Capsicum pubescens</i>)
F-1	<i>Fusarium sp.</i>	Tubérculo de papa (<i>Solanum tuberosum</i>)
F-2	<i>Fusarium sp.</i>	Tallo de palto (<i>Persea americana</i>)
F-3	<i>Fusarium sp.</i>	Tubérculo de papa (<i>Solanum tuberosum</i>)
F-4	<i>Fusarium sp.</i>	Fruto de plátano (<i>Musa sp.</i>)

En la tabla 4 se observa la relación de cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de suelo (T-1, T-2, T-3, T-4,1, T-4,2, T-5 y T-6) y los hongos fitopatógenos nativos aislados de vegetales.

Tabla 5. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Colletotrichum sp* cepa AV-1 en cultivo dual con *Trichoderma spp.*

Tratamientos	Mediana de % PIRC
<i>Trichoderma sp.</i> (T-6)	45
<i>Trichoderma sp.</i> (T-5)	40
<i>Trichoderma sp.</i> (T-3)	40
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,1)	40
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,2)	40
<i>Trichoderma sp.</i> (T-1)	35
<i>Trichoderma sp.</i> (T-2)	35

$$H = 2.58, \alpha = 0,05, p = 0.8459$$

En la tabla 5 se observa que las cepas de *Trichoderma spp.* Alcanzaron porcentajes de inhibición que va de 35 a 45% de reducción de crecimiento radial de *Colletotrichum sp* cepa AV-1, no existió diferencia significativa entre las medianas de los tratamientos; según Ramírez⁵ todas las cepas se ubican en la categoría 2 (escala de categoría de inhibición PIRC).

Tabla 6. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Colletotrichum sp.* cepa AV-2 en cultivo dual con *Trichoderma spp.*

Tratamientos	Mediana de % PIRC
<i>Trichoderma sp.</i> (T-1)	31,58
<i>Trichoderma sp.</i> (T-2)	31,58
<i>Trichoderma sp.</i> (T-3)	31,58
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,1)	31,58
<i>Trichoderma sp.</i> (T-5)	31,58
<i>Trichoderma sp.</i> (T-6)	31,58
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,2)	26,32

H = 1,83, $\alpha = 0,05$, p = 0,918

En la tabla 6 se observa que las cepas nativas de *Trichoderma spp.* alcanzaron un porcentaje de inhibición que va de 26,32 a 31,58% de reducción de crecimiento radial de la cepa nativa de *Colletotrichum sp* AV-2, no existió diferencia significativa entre las medianas de los tratamientos; según Ramírez⁵ todas las cepas se ubican en la categoría 2 (escala de categoría de inhibición PIRC).

Tabla 7. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Colletotrichum sp.* cepa RF-1 en cultivo dual con *Trichoderma spp.*

Tratamientos	Mediana de % PIRC
<i>Trichoderma sp.</i> (T-6)	39,13
<i>Trichoderma sp.</i> (T-5)	39,13
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,2)	39,13
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,1)	39,13
<i>Trichoderma sp.</i> (T-3)	39,13
<i>Trichoderma sp.</i> (T-1)	34,78
<i>Trichoderma sp.</i> (T-2)	34,78

H = 3,45, α = 0,05, p = 0,6187

En la tabla 7 se observa que las cepas de *Trichoderma spp.* alcanzaron porcentajes de inhibición que va de 34,78 a 39,13 % de reducción de crecimiento radial de la cepa nativa de *Colletotrichum sp* RF-1, no existió diferencia significativa entre las medianas de los tratamientos; según Ramírez⁵ todas las cepas se ubican en la categoría 2 (escala de categoría de inhibición PIRC).

Tabla 8. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Colletotrichum sp.* cepa RF-2 en cultivo dual con *Trichoderma spp.*

Tratamientos	Mediana de % PIRC
<i>Trichoderma sp.</i> (T-6)	44,44
<i>Trichoderma sp.</i> (T-5)	44,44
<i>Trichoderma sp.</i> (T-3)	44,44
<i>Trichoderma sp.</i> (T-2)	44,44
<i>Trichoderma sp.</i> (T-1)	40,74
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,1)	40,74
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,2)	40,74

H = 4,92, $\alpha = 0,05$, p = 0,3434

En la tabla 8 se observa que las cepas de *Trichoderma spp.* alcanzaron porcentajes de inhibición que van de 40,74 a 44,44 % de reducción de crecimiento radial de la cepa nativa de *Colletotrichum sp* RF-2, no existió diferencia significativa entre las medianas de los tratamientos; según Ramírez⁵ todas las cepas se ubican en la categoría 2 (escala de categoría de inhibición PIRC).

Tabla 9. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Fusarium sp.* cepa F-1 en cultivo dual con *Trichoderma spp.*

Tratamientos	Mediana de % PIRC
<i>Trichoderma sp.</i> (T-6)	48,39
<i>Trichoderma sp.</i> (T-5)	48,39
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,1)	48,39
<i>Trichoderma sp.</i> (T-3)	48,39
<i>Trichoderma sp.</i> (T-2)	48,39
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,2)	45,16
<i>Trichoderma sp.</i> (T-1)	35,48

H = 2,61, $\alpha = 0,05$, p = 0,8288

En la tabla 9 se observa que las cepas nativas de *Trichoderma spp.* alcanzaron porcentajes de inhibición que va de 35,48 a 48,39% de reducción de crecimiento radial de la cepa nativa de *Fusarium sp* F-1, no existió diferencia significativa entre las medianas de los tratamientos; según Ramírez⁵ todas las cepas se ubican en la categoría 2 (escala de categoría de inhibición PIRC).

Tabla 10. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Fusarium sp.* cepa F-2 en cultivo dual con *Trichoderma spp.*

Tratamientos	Mediana de % PIRC
<i>Trichoderma sp.</i> (T-2)	38,1
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,1)	38,1
<i>Trichoderma sp.</i> (T-3)	33,33
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,2)	33,33
<i>Trichoderma sp.</i> (T-6)	33,33
<i>Trichoderma sp.</i> (T-1)	28,57
<i>Trichoderma sp.</i> (T-5)	28,57

H = 1,68, $\alpha = 0,05$, p = 0,9416

En la tabla 10 se observa que las cepas nativas de *Trichoderma spp.* alcanzaron porcentajes de inhibición que va de 28,57 a 38,1 % de reducción de crecimiento radial de la cepa nativa de *Fusarium sp.* F-2, no existió diferencia significativa entre las medianas de los tratamientos; según Ramírez⁵ todas las cepas se ubican en la categoría 2 (escala de categoría de inhibición PIRC).

Tabla 11. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Fusarium sp.* cepa F-3 en cultivo dual con *Trichoderma spp.*

Tratamientos	Mediana de % PIRC
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,1)	61,11
<i>Trichoderma sp.</i> (T-5)	61,11
<i>Trichoderma sp.</i> (T-1)	58,33
<i>Trichoderma sp.</i> (T-2)	55,56
<i>Trichoderma sp.</i> (T-3)	55,56
<i>Trichoderma sp.</i> (T-6)	55,56
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,2)	52,78

H = 9,77, α = 0,05, p = 0,1112

En la tabla 11 se observa que las cepas nativas de *Trichoderma spp.* alcanzaron porcentajes de inhibición que va de 52,78 a 61,11% de reducción de crecimiento radial de la cepa nativa de *Fusarium sp.* F-3, no existió diferencia significativa entre las medianas de los tratamientos; según Ramírez⁵ todas las cepas se ubican en la categoría 3 (escala de categoría de inhibición PIRC).

Tabla 12. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Fusarium sp.* cepa F-4 en cultivo dual con *Trichoderma spp.*

Tratamientos	Mediana de % PIRC
<i>Trichoderma sp.</i> (T-6)	51,72
<i>Trichoderma sp.</i> (T-2)	48,28
<i>Trichoderma sp.</i> (T-3)	48,28
<i>Trichoderma sp.</i> (T-5)	48,28
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,1)	44,83
<i>Trichoderma sp.</i> (T-4,2)	44,83
<i>Trichoderma sp.</i> (T-1)	37,93

H = 6,23, $\alpha = 0,05$, $p = 0,3347$

En la tabla 12 se observa que las cepas nativas de *Trichoderma spp.* alcanzaron porcentajes de inhibición que van de 37,93 a 51,72% de reducción de crecimiento radial de la cepa nativa de *Fusarium sp.* F-4, no existió diferencia significativa entre las medianas de los tratamientos; según Ramírez⁵, las cepas se ubican en la categoría 2 y 3 (escala de categoría de inhibición PIRC).

Tabla 13. Grado de invasión de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en *Colletotrichum* spp. (Según Elías y Arcos, 1984).

GRADO DE MICOPARASITISMO				
<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Colletotrichum</i> spp.			
	AV-1	AV-2	RF-1	RF-2
T-1	0	0	4	2
T-2	4	4	4	4
T-3	4	4	4	4
T-4,1	2	1	2	1
T-4,2	4	4	4	4
T-5	4	1	4	4
T-6	0	4	3	3

En la tabla 13 se muestra que las cepas nativas de *Trichoderma* spp T-2, T-3 y T-4,2 lograron alcanzar el grado 4 de invasión micoparasitismo sobre las colonias de las cepas de nativas de *Colletotrichum* spp. AV-1, AV-2, RF-1 y RF-2; según Elías y Arcos corresponde a una invasión de colonia muy buena. T-5 alcanzó el grado 4 sobre las cepas de *Colletotrichum* AV-1, RF-1 y RF-2 (muy buena). T-6 alcanzo invasión de grado 4 sobre la cepa de *Colletotrichum* AV-2 y sobre RF-1 y RF-2 alcanzó el grado 3; según Elías y Arcos corresponde a una invasión de colonia muy buena y buena respectivamente. T-1 alcanzó el grado 4 de invasión frente a *Colletotrichum* RF-1 (muy buena). T-4,1 alcanzo grados que fueron de deficiente a malos.

Tabla 14. Grado de invasión de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en *Fusarium* spp. (Según Elías y Arcos, 1984).

GRADO DE MICOPARASITISMO				
<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Fusarium</i> spp.			
	F-1	F-2	F-3	F-4
T-1	4	0	1	4
T-2	4	4	1	4
T-3	4	0	1	4
T-4,1	4	0	0	4
T-4,2	4	0	0	4
T-5	4	0	0	4
T-6	3	0	1	3

En la tabla 14 se muestra que las cepas nativas de *Trichoderma* spp. (T-1, T-2, T-3, T-4,1, T-4,2 y T-5) lograron alcanzar el grado 4 de invasión micoparasitismo y la cepa T-6 alcanzó el grado 3 frente a la cepas nativas de *Fusarium* F-1 y F-4; según Elías y Arcos corresponde a una invasión de colonia muy buena y buena respectivamente. Para *Fusarium* cepa F-2, la cepa de *Trichoderma* T-2 alcanzó el grado 4 de invasión (muy buena). Para la cepa de *Fusarium* F-3, las cepas nativas de *Trichoderma* spp. alcanzaron grados de invasión que fue de mala a muy mala.

V. DISCUSIÓN

En la tabla 4 se observa la relación de cepas nativas de *Trichoderma* spp. aisladas de suelo (T-1, T-2, T-3, T-4,1, T-4,2, T-5 y T-6), y los hongos fitopatógenos nativos *Colletotrichum* spp. (AV-1, AV-2, RF-1 y RF2) y *Fusarium* spp. (F-1, F-2, F-3 y F-4) aislados de vegetales (arveja, papa y rocoto); estos resultados no difieren de los resultados reportados en Colombia por García L.⁸, quien aisló cepas nativas de *Trichoderma* spp. a partir de suelos de cultivos de sábila y arándano, del mismo modo aisló cepas nativas de fitopatógeno como *Fusarium* spp. y *Colletotrichum* spp. a partir de raíces, lesiones de tallo y suelo de plantas de sábila y arándano; con la diferencia que los fitopatógenos utilizados en esta investigación se aislaron de diferentes especies vegetales (arveja, papa y rocoto). Diferentes autores en sus investigaciones muestran aislamientos de Trichodermas y fitopatógenos tanto de suelos como vegetales. así, Arbito M.⁶ aisló *Trichoderma* spp. de suelos de cultivo de arroz, también aisló *Fusarium* spp. de granos de arroz con signos de Fusariosis. Díaz E.⁷ Aisló cepas de *Trichoderma* spp. y de *Fusarium* spp. presentes en los suelos de la Florícola "Happiness Flowers". Martínez A.¹⁰ aisló *Trichoderma* sp. de suelo de cultivos de maracuyá (*Passiflora edulis*, variedad. *flavicarpa*), y el fitopatógeno *Fusarium* sp de plantas de maracuyá. Rudy N.¹¹ aisló cepas nativas de *Trichoderma* spp. de suelo de cultivo de café, *Fusarium* sp. de plantas de café. (*Coffea arabica*). Llicahua D.¹³ Aisló cepas nativas de *Trichoderma* spp. de suelo de cultivo de cebolla, *Fusarium* sp. de plantas enfermas con sintomatología de infección fungal.

En las tablas 5, 6, 7 y 8 se expresa los resultados de *Trichoderma* spp. mediante el cultivo dual frente a *Colletotrichum* spp., todas las cepas de *Trichoderma* spp. alcanzaron porcentajes de inhibición de 26,32 a 45%, estos datos se ubican en la categoría 2 (según Ramírez), todas las cepas de *Trichoderma* spp. no

alcanzan superar el 50% para considerar como buenos inhibidores de crecimiento para *Colletotrichum* spp. en todos los casos no existe diferencia significativa estadísticamente, esto quiere decir que todas las *Trichoderma* tienen un comportamiento igual y que no difieren en su inhibición frente a las cepas de *Colletotrichum* spp. Ramírez y col⁴, García L.⁸, Goñas M. y col.¹⁴, y Flores W¹⁵ encontraron porcentajes superiores que superan el 50% de inhibición; estas conclusiones no concuerdan con nuestros resultados, la diferencia se debe a que los fitopatógenos y los antagonistas tienen comportamientos diferentes dependiendo de la zona, hábitat, temperatura de crecimiento y otros factores.

En la tablas 13, se muestran el grado de invasión micoparasitismo de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. T-2, T-3 y T-4,2 sobre las cepas nativas de *Colletotrichum* sp. AV-1, AV-2, RF-1 y RF-2; estos resultados se ubican dentro de la categoría grado 4, lo que indica una invasión total de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno y espórtula sobre ella, considerando esta con un potencial de muy bueno. Distintos resultados obtuvo Ramírez y col⁴, donde el PIRC fue de 100%, para *Colletotrichum gloeosporioides* con grado 4 de invasión. En cambio García L.⁸ obtuvo un PIRC de 59% para *Colletotrichum* spp. con una invasión de grado 1.

Las cepas indicadas en las tablas 5, 6, 7 y 8 tienen un porcentaje de inhibición que no supera el 50%; sin embargo en la tabla 13, las cepas nativas de *Trichoderma* spp. T-2, T-3 y T-4,2, tienen un grado de invasión de 4, que se ubican dentro de la categoría muy buena; significa que a pesar de tener porcentajes bajos en PIRC y grado de micoparasitismo muy bueno; esto nos muestra que el mecanismo de acción de las cepas de *Trichoderma* indicadas, es el micoparasitismo.

En las tablas 9, 10, 11 y 12 se expresa los resultados de las cepas de *Trichoderma* spp. mediante el cultivo dual frente a *Fusarium* spp., todas las cepas de *Trichoderma* spp.; alcanzaron un porcentaje de inhibición que va de 28,57 a 61,11%; datos que se ubican dentro de la escala de categoría de inhibición de crecimiento (PIRC), 2 y 3; no existió diferencia significativa entre las medianas de los tratamientos, quiere decir que todas las cepas de *Trichoderma* spp. tienen el mismo efecto inhibidor sobre *Fusarium* spp.

En la tabla 11, todas las cepas de *Trichoderma* estudiadas logran tener una actividad inhibitoria sobre *Fusarium* sp. cepa F3, que va de 52,78% a 61,11%; según Ramírez⁵, se ubica en la categoría 3 dentro de la escala de inhibición de

crecimiento (PIRC); todas las cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobrepasan el 50% por lo tanto se considera como buenos inhibidores.

Nuestros resultados en este estudio coinciden con la investigación realizadas por Díaz E.⁷, obtuvo un potencial inhibitorio de *T. harzianum* sobre *F. oxysporum* de 26,9%. Rudy, N. col.¹¹; en cuya investigación las cepas de *Trichoderma* sp. Inhibió el crecimiento de *Fusarium* sp en un 37%. Así mismo Michel A. y col.¹²; cuyo resultados de la investigación con cepas nativas de *Trichoderma* spp. inhibieron en 62,9% frente a *F. oxysporum*. Así también García L.⁸, logro demostrar en su trabajo de investigación, que todas las cepas de *Trichoderma* spp. inhibieron el crecimiento de *F. oxysporum* en un 62,9% y frente a *Fusarium* spp. con un 72% de PIRC.; Así mismo Arbito, M.⁶ en su investigación logro demostrar resultados similares al nuestro, al enfrentar 4 cepas de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* spp. con un inhibición de crecimiento de 50 y 67%.

Superiores resultados lo obtuvieron Ramírez, J. y col.⁵, en sus resultados 2 cepas de *T. asperellum* inhibieron el crecimiento de *Fusarium oxysporum* en 70 y 84%. Así mismo Martínez, A.¹⁰ en su trabajo de investigación, demostró que *Trichoderma* sp. tuvo un crecimiento de inhibición frente a *Fusarium solani* con porcentajes que alcanzaron de 69,7% a 72,35%.

En la misma tabla 11 todas las cepas de *Trichoderma* spp. que lograron una inhibición de crecimiento que va de 52,78% a 61,11%; a pesar de ello estas cepas nativas presentan un grado de micoparasitismo e invasión de colonia que va de mala a muy mala (tabla 14); significa que las cepas nativas de *Trichoderma* spp. son buenas inhibiendo el crecimiento de la cepa de *Fusarium* sp. F-3, pero no presentan invasión de colonia por lo que el micoparasitismo no es el mecanismo de acción de estas cepas nativas de *Trichoderma* spp.

En las tablas 14, se muestran el grado de invasión micoparasitismo de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. (T-1, T-2, T-3, T-4,1, T-4,2 y T-5) sobre las cepas nativas de *Fusarium* sp F1 y F-4, lograron ubicarse dentro del grado de micoparasitismo 4 y una invasión de colonia muy buena, según Elías y Arcos lo que significa una invasión total de la superficie sobre la colonia del hongo fitopatógeno y espórtula sobre ella; el mecanismo de acción de estas cepas nativas de *Trichoderma* spp. (T-1, T-2, T-3, T-4,1, T-4,2 y T-5) sobre las cepas nativas de *Fusarium* sp F1 y F-4, es el micoparasitismo; sin embargo estas cepas no superan el 50% de PIRC, con un comportamiento de inhibición deficiente.

Nuestros resultados coinciden con los resultados obtenidos en Colombia por García L.⁸, donde las cepas de *Trichoderma* spp. logran inhibir el crecimiento de *Fusarium* spp. en 72%, Pero al medir el grado de invasión micoparasitismo solo alcanzo grado 1 de invasión; lo mismo Llicahua, D.¹³ en su investigación, las 2 cepas de *Trichoderma* spp. (TES-1 y TET-1) inhibieron el crecimiento de *Fusarium* sp. en un 86,5 y 76,3% respectivamente; al medir su micoparasitismo, también alcanzó solo el gado 1 de invasión de colonia.

Diferentes resultados obtuvieron en Colombia por Ramírez, J. y col.⁵, en sus resultados 2 cepas de *T. asperellum* inhibieron el crecimiento de *Fusarium oxysporum* en 70 y 84%, y su nivel de invasión fue de grado 3 y 4 respectivamente. Al igual que Vargas, R.¹⁶, en su investigación *T. koningiopsis* y *T.harzianum* inhibieron el crecimiento de *F. oxysporum* en 77,45% y 83,40% respectivamente, y obteniendo un micoparasitismo de grado 4. Díaz E.⁷ en Ecuador, en el que el potencial de *T. harzianum* sobre *F. oxysporum* fue 26,9%, y su micoparasitismo fue de grado 0, es decir que no hubo invasión.

VI. CONCLUSIONES

1. Todas las cepas de *Trichoderma* spp. alcanzaron un porcentaje de inhibición que va de 26,32 a 45% sobre *Colletotrichum* spp, las cuales se ubican en la categoría 2, no logran superar el 50% para ser considerados como buenos inhibidores de crecimiento para *Colletotrichum* spp.; estadísticamente todas las cepas *Trichoderma* spp. no difirieron en su inhibición frente a las cepas de *Colletotrichum* spp.
2. Todas las cepas de *Trichoderma* spp. alcanzaron un porcentaje de inhibición de crecimiento sobre *Fusarium* que va de 28,57 a 61,11%, las cuales se ubicaron en la categorías 2 y 3; en tabla 10 todas las cepa de *Trichoderma* spp. lograron superar el 50% de PIRC.
3. Las cepas nativas de *Trichoderma* T-2, T-3 y T-4.2 lograron alcanzar un grado de invasión de 4 sobre colonias de *Colletotrichum* spp., ubicándose dentro de la categoría de muy buena.
4. La cepas nativas de *Trichoderma* T-1, T-2, T-3, T-4,1 T-4,2 y T5 frente a las cepas nativas de *Colletotrichum* sp. F-1 y F-4, alcanzaron un grado de invasión de 4 que se ubican dentro de la categoría muy buena; sin embargo en la tabla 11, todas las cepas de *Trichoderma* spp., que alcanzaron un PIRC mayor al 50%, mostraron una invasión de colonia o micoparasitismo de malo a muy malo.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios similares a nuestra investigación con otros fitopatógenos de cultivos locales, utilizando las cepas nativas de *Trichoderma* spp. aisladas en este presente trabajo, para conocer su efectividad sobre estos fitopatógenos, a través de diseños experimentales como: antagonismo a diferentes temperaturas, concentraciones de esporas, etc.
2. Realizar ensayos de control de *Colletotrichum* spp. y *Fusarium* spp. aislados en la presente investigación en condiciones de invernadero aplicando la cepa de *Trichoderma* spp. para determinar la concentración de esporas apropiadas para su control.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. García, R.; Riera, R., Zambrano, C. y Gutiérrez, L. Desarrollo de un fungicida biológico a base de una cepa de *Trichoderma harzianum* proveniente de la Región Andina Venezolana. *Fitosanidad* [revista en internet] 2006 [acceso 25 de julio de 2019]; 10(2): 115. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209116102005.pdf>
2. Bravo A.; Ibarra J.; Del Rincón M.; Galindo E.; Patiño M.; Serrano L. *et al.* Los microorganismos en el control de insectos y patógenos. Cuernavaca, México. *Revista Latinoamericana de Microbiología* [Revista en internet] 2006 [acceso 28 de Julio de 2018]; 48(2). 113 -120 pp. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2006/mi062k.pdf>
3. Correa, G; Lavalett, L; Galindo, M. P & Afanador, L. Uso de métodos multi variantes para la agrupación de aislamientos de *Colletotrichum* spp. Con base En características morfológicas y culturales. *Rev. Fac. Nac. Agron.* [Revista en internet] 2007 [acceso 22 de julio de 2018]; 60(1):3671-3690. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472007000100004
4. SEMINIS. Qué es y cómo ataca el Fusarium; 2017 [Internet] [acceso 20 de julio de 2019]. Disponible en: <https://www.seminis.mx/blog-que-es-y-como-ataca-el-fusarium/>
5. Ramírez, J., Trujillo, J. Osorio, V. Jaramillo, M. Botero, L. “*In vitro* antagonism of *Trichoderma asperellum* against *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, and *Fusarium oxysporum*,” *Rev. UIS Ing.*, [Revista en internet] 2019 [Acceso 05 de marzo de 2019]; vol. 18, no. 2, pp. 159-166. Disponible en: <https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistauisingenierias/article/view/8954/9182>
6. Arbito, M. Evaluación in vitro de la Capacidad Antagonista De *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* spp. [Tesis título] Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana. Cuenca -Ecuador. 2017 [acceso 20 de julio de 2018]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14419/1/UPS-CT007088.pdf>
7. Díaz E. Evaluación in vitro de la actividad de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium* spp. como alternativa al uso de fungicidas químicos que producen contaminación ambiental en la florícola Happines Flowers. [Tesis título] Repositorio Institucional de la Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. Ecuador 2016. [Acceso 24 de julio de 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6193/1/236T0225.pdf>
8. García, L. Evaluación Del Antagonismo de Cepas de *Trichoderma* spp. Frente a Cepas de *Fusarium* spp. Y *Colletotrichum* spp. Aisladas de Cultivos Orgánicos de Sábila (*Aloe vera*) Y Arándano (*Vaccinium corymbosum*). *Rev. Teckne* [revista en internet] 2015 [acceso 20 de julio de 2018]; 13(1): 56-66, disponible en: <http://www.unihorizonte.edu.co/revistas/index.php/TECKNE/article/view/149/144>
9. Vargas, H. y Gilchrist, E. Producción de enzimas hidrolíticas y actividad antagónica de *Trichoderma asperellum* sobre dos cepas de *Fusarium* aisladas de cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*). *Rev. Mex. de Micología* [revista en internet] 2015 [Acceso 24 de julio de 2018]. vol. 42: 9-16. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v42/v42a3.pdf>

10. Martínez, A. Evaluación y selección de cepas de *Trichoderma sp.* para control biológico de *Fusarium sp.* en maracuyá (*Passiflora edulis*, variedad. flavicarpa), en condiciones *in vitro*. [Tesis título] Repositorio Institucional de la Universidad Técnica de Ambato. 2012 [Acceso 05 de marzo de 2019]; <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3069/3/BQ.35.pdf>
11. Rudy N.; Hugh S.; Almanza J. y Loza, M. Evaluación de la capacidad biocontroladora de cepas nativas de *Trichoderma spp.* sobre *Rhizoctonia sp* y *Fusarium sp* en café (*Coffea arabica*) en condiciones experimentales. *Journal of the Selva Andina Research Society* [revista en internet] 2011 [acceso 20 de Julio de 2018]; 2(1): 43-52, disponible en: <http://www.scielo.org.bo/pdf/jsars/v2n1/a06.pdf>
12. Michel A., Otero M., Solano, L., Ariza, R., Barrios, A. y Rebolledo, A. Biocontrol *in vitro* con *Trichoderma spp.* de *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas y *F. oxysporum* Schlecht., agentes causales de la “escoba de bruja” del mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* [Revista en internet] 2009 [acceso 20 de Julio de 2018]; 27:18-26. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v27n1/v27n1a3.pdf>
13. Llicahua, D. Aislamiento y efecto antagonista “*in vitro*” de *Trichoderma spp.* frente a *Fusarium sp.* del cultivo de cebolla de los distritos de Santa Rita de Siguan y de Tiabaya– Arequipa-2018. [Tesis título] Repositorio Institucional de la Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa. [Acceso 05 de marzo de 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/6775/Blllcudv.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
14. Goñas, M., Bobadilla Rivera, L. G., Rascón Barrios J. y Vera Obando N. Y. Efecto *in vitro* de controladores biológicos sobre *Colletotrichum spp.* y *Botrytis spp.* *Rev. de investig. agroproducción sustentable* [Revista en internet] 2017 [acceso el 20 de julio de 2018]; 1(2): 25-31. Disponible en: <http://revistas.untrm.edu.pe/index.php/INDESDOS/article/view/359/403>
15. Flores, W. “Control biológico *in vitro* de *Colletotrichum gloesporioides* causante de la antracnosis frente a *Clonostachys rosea*, *Fusarium oxysporum* y *Trichoderma harzianum*.” [Tesis título] Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Trujillo. [Acceso 05 de marzo de 2019]. 2016. Disponible en: <http://www.dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10786/Flores%20Bazauri%2c%20Walter%20Daniel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. Vargas, R. Antagonismo de *Trichoderma Koningiopsis* y *Trichoderma Harzianum* sobre *Fusarium Oxysporum F. SP. Cepae* y *Phoma Terrestris in Vitro*. [Tesis título] Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. [Acceso 05 de marzo de 2019]. 2014. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3193/AGvaverh.pdf?squence=1&isAllowed=y>
17. Torres, S. Efecto “*in vitro*” de especies nativas de *Trichoderma* sobre la germinación y el crecimiento de *Colletotrichum sp.* aislado del distrito de Jaen -Cajamarca. [Tesis para título] Repositorio de la Universidad Nacional de Trujillo. [acceso el 20 de julio de 2018] 2012.
18. Pérez, N. Manejo Ecológico de Plagas. La Habana, Cuba. Editorial Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural. 2004. 127 – 284 pp.
19. Orietta, F. y Larrea, V. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). Instituto de

- Investigaciones de Sanidad Vegetal La Habana. Cuba [Revista en internet] 2001 [acceso el 20 de julio de 2018] No. 62 p. 96 - 100, disponible en: <http://www.sidalc.net/repdoc/A2120e/A2120e.pdf>
20. Infante, D., Martínez, B., González, N. y Reyes Y. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Rev. Protección Veg. [Revista en internet] 2009 [acceso el 20 de julio de 2018] Vol. 24 No. 1: 14-21, disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v24n1/rpv02109.pdf>
 21. Rifai, M. Revision of the genus *Trichoderma*. Mycol. Pap. 1969; 116: 1-56.
 22. Villegas M. *Trichoderma*. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. [Revista en internet] 2005 . Disponible en: <http://www.oriusbiotecnologia.com/tecnica/128-trichoderma-pers-caracteristicas-y-su-potencial-biologico-en-la-agricultura-sostenible>
 23. Jaklitsch, W. y Voglmayr, H. New combinations in *Trichoderma* (Hypocreaceae, Hypocreales). Mycotaxon [Revista en internet] 2013 [acceso el 20 de julio de 2018] 126: 143-156, disponible en: <http://docserver.ingentaconnect.com/deliver/connect/mtax/00934666/v126n1/s20.pdf?expires=1533242236&id=0000&titleid=41000038&checksum=C663BBC045A3C1A8C75CE9DFDDA7BDD2>
 24. Argumedo, R.; Alarcón, A.; Ferrera, R. y Peña, J. Los géneros fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. Rev. Int. Contam. Ambient. [revista en internet] 2009 Nov [acceso 21 de Julio de 2018]; 25(4): 257-269, disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v25n4/v25n4a6.pdf>
 25. Caiza, V. Colección, identificación y pruebas de eficacia in vitro de (*Trichoderma* sp). en el control biológico de (*Botrytis cinérea*) en la finca Florícola Picasso Roses [Tesis título]. Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana; [acceso el 20 de julio de 2018] 2013. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5073/1/UPS-CYT00104.pdf>
 26. Poalacin, J. Estudio Del Adecuado Crecimiento Del Hongo *Trichoderma harzianum* Y *Trichoderma hamatum* en Sustrato Solido [Tesis para título]. Repositorio Institucional de la Universidad Central Del Ecuador [acceso el 20 de julio de 2018]; 2015. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/4776/1/T-UCE-0017-128.pdf>
 27. Martínez, B.; Infante, D., y Reyes, Y. *Trichoderma* spp. Y su función en el control de plagas en los cultivos. Rev. Protección veg. [Revista en internet] 2013 [acceso 20 de julio de 2018]; 28(1): 1-11, Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>
 28. Flores, V. Determinación del efecto antagónico de cepas nativas de *Trichoderma* spp frente a *Mycosphaerella fijiensis* en plantas de banano a nivel de invernadero [Tesis para título]. Repositorio Institucional de la Escuela Superior Politécnica De Chimborazo Riobamba; [acceso el 20 de julio de 2018] 2015, disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4065/1/236T0127%20UDCTFC.pdf>
 29. Sivan A, Chet I. Degradation of fungal cell walls by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. J Gen Microbiol. 1989;135:675-682.
 30. Howell C. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Diseases. 2003;87(1):4-10.
 31. Vinale F, Sivasithamparamb K, Ghisalbertic EL, Marraa R, Woo L, Lorito M. *Trichoderma* plant pathogen interactions. Soil Biology & Biochemistry. 2008;40:1-10.

32. Hoyos-Carvajal L, Chaparro P, Abramsky M, Chet I, Orduz S. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones in vitro y de invernadero. *Agron Colomb.* 2008; 26 (3): 451-458.
33. Chet I, Benhamou H. Mycoparasitism and latic enzymes. In: Harman G, Kubicek C. (Eds.) *Trichoderma & Gliocladium. Enzymes, biological control and commercial applications.* Taylor & Francis. London, UK, 1998. p.153-152.
34. Küçük Ç, Kivanç M. In vitro Antifungal Activity of Strains of *Trichoderma harzianum*. *Turk J Biol.* 2004;28:111-115.
35. Nico I, Monaco I, Del Bello G, Alippi H. Efecto de la adición de enmiendas orgánicas al suelo sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia solani*: II Micoflora asociada y antagonismo in vitro de los aislados más frecuentes. *RIA.* 2005;34(Pt II)(1):29-44.
36. Chet I.; Harman G.; Baker R. *Trichoderma hamatum*: Its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Microbial Ecology.* 1981;7:29-38.
37. Hjeljord L. & Tronsmo A. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: Harman G, Kubicek C. (Eds.) *Trichoderma & Gliocladium. Enzymes, biological control and commercial applications.* Taylor & Francis. London, UK, 1998. p. 131-151.
38. Dennis C. & Webster J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society.* 1971;57:25-39.
39. Sivasithamparam K, & Ghisalberti L. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. En: Harman GE, Kubicek CP. (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium.* Taylor and Francis Ltd., London, 1998. pp. 139-191.
40. Castro R. Bioproducto a base de *Trichoderma harzianum* Rifai para el manejo de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en bananeras orgánicas (tesis doctoral). Santa Clara, Cuba: Universidad Central "Marta Abreu" De Las Villas. 2015.
41. Hyde K.; Cai L.; Cannon P.; Crouch J.; Crous P.; Damm U.; et al. 2009a. *Colletotrichum* – names in current use. *Fungal Diversity* 39:147-182. Disponible en línea: <http://www.fungaldiversity.org/fdp/sfdp/FD39-7.pdf>
42. Udayanga D.; Manamgoda D.; Liu X.; Chukeatirote E y Hyde KD. What are the common anthracnose pathogens of tropical fruits? *Fungal Diversity* 61:165-179. 2013. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s13225-013-0257-2>
43. Réblová M.; Gams W y Seifert K. Monilochaetes and allied genera of the Glomerellales, and a reconsideration of families in the Microascales. *Studies in Mycology* [revista en internet] 2011 [acceso 23 de julio de 2018]. 68:163-191. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3114/sim.2011.68.07>
44. Cepero de García, M.; Restrepo, R.; Franco-Molano, A.; Cardenas, T.; y Vargas, E. *Biología de hongos.* Bogota, Colombia: Ediciones Unia Andes. 2012.
45. Cannon, P.; Damm, U.; Johnston, P.; y Weir, B. *Colletotrichum* – current status and future directions. *Studies in Mycology.* [Revista en internet] 2012 [acceso 23 de julio de 2018]. 73: 181–213. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3458418/pdf/simycol_73_1_004.pdf
46. Agrios, G. *Plant pathology.* 5 ed. California, US, Elsevier Academic Press. 2005. 922 p.
47. Contreras, C. Caracterización y pruebas de patogenicidad cruzada entre aislamientos de *Colletotrichum* spp. Obtenidos de frutos de lulo (*Solanum*

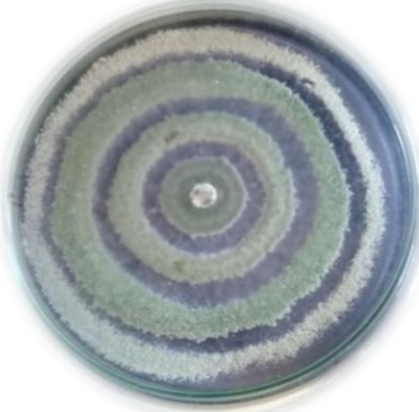
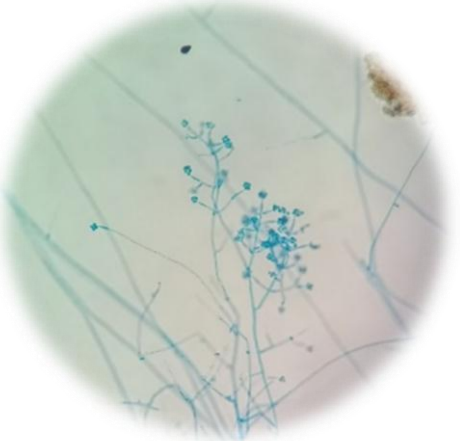
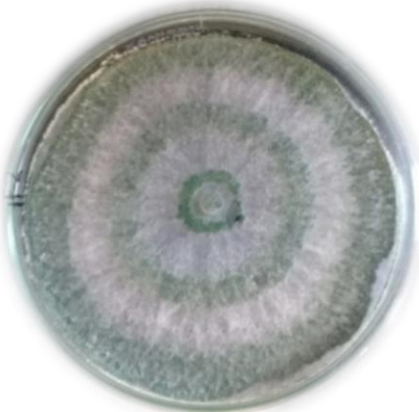
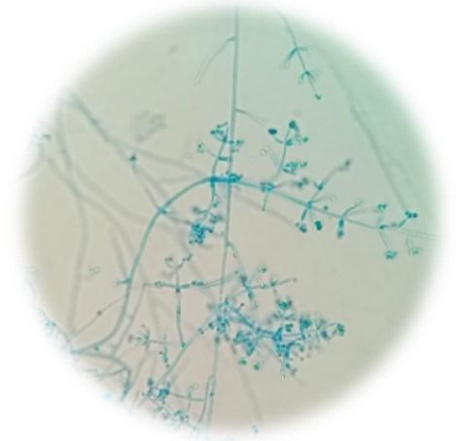

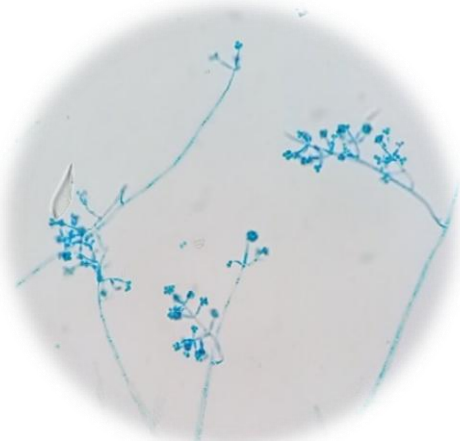
- quitoense* Lam), tomate de árbol (*Solanum betaceae* Sendt), granadilla (*Passiflora ligularis* Juss), mango (*Mangifera indica* L) y tallos de mora (*Rubus glaucus* Benth) con síntomas de antracnosis. [Tesis de título] Bogotá: Repositorio Institucional de la Pontificia Universidad Javeriana [acceso el 20 de julio de 2018]; 2006. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8253/tesis239.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
48. Xiao, C.; MacKenzie, S. y Legard, D. E.. Genetic and pathogenic analyses of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from strawberry and noncultivated host. *Phytopathology* [revista en internet] 2004 [acceso 23 de julio de 2018] 94:446-453. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18943762>
 49. Landero N., Lara F., Andrade P., Aguilar L. y Aguado G. Alternativas para el control de *Colletotrichum* spp. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* [revista en internet] 2016 [acceso 23 de julio de 2018] Vol.7 Núm.5 1189-1198, p. 30 Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v7n5/2007-0934-remexca-7-05-1189.pdf>
 50. Cerón, L. y Buitrago G. Crecimiento y desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides* f. *alatae* durante su cultivo en medios líquidos. *Acta Biológica Colombiana* [revista en internet] 2006 [acceso 23 de julio de 2018] 11(1), 99-109. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2006000100008
 51. Correa, G; Lavalett, L; Galindo, M. P & Afanador, L. Uso de métodos multi variantes para la agrupación de aislamientos de *Colletotrichum* spp. Con base En características morfológicas y culturales. *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín*. [Revista en internet] 2007 [acceso 22 de julio de 2018]; 60(1):3671-3690. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472007000100004
 52. Contreras, C. Caracterización y pruebas de patogenicidad cruzada entre aislamientos de *Colletotrichum* spp. Obtenidos de frutos de lulo (*Solanum quitoense* Lam), tomate de árbol (*Solanum betaceae* Sendt), granadilla (*Passiflora ligularis* Juss), mango (*Mangifera indica* L) y tallos de mora (*Rubus glaucus* Benth) con síntomas de antracnosis. [Trabajo de grado] Repositorio Institucional de la Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá; 2006. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis239.pdf>
 53. Oliveira, R.; Moral, J.; Bouhmidi, K. y Trapero, A. Caracterización morfológica y cultural de aislados de *Colletotrichum* spp. Causante de la antracnosis en olivo. *Bol. San. Veg. Plagas* [revista en internet] 2005 [acceso 22 de julio de 2018]; 31, 531-548. Disponible en: https://helvia.uco.es/bitstream/handle/10396/2420/Trapero_Casas_9.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 54. Velastegui, F.; Crespo, R. y Cabezas, F. Plagas y enfermedades en plantaciones de Teca (*Tectona grandis* L.F) en la zona de Balzar, Provincia de Guayas. *Ciencia y tecnología* [revista en internet] 2009 [acceso 22 de julio de 2018]; 3(1). 15 – 22. Disponible en: http://www.uteq.edu.ec/revistacyt/publico/archivos/C1_3n12010.pdf
 55. Jeffries, P.; Dodd, C.; Jeger, J. y Plumbey, A. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical crops. *Plant Pathology* [revista en internet] 1990 [acceso 22 de julio de 2018]; (39) 343-366. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-3059.1990.tb02512.x>

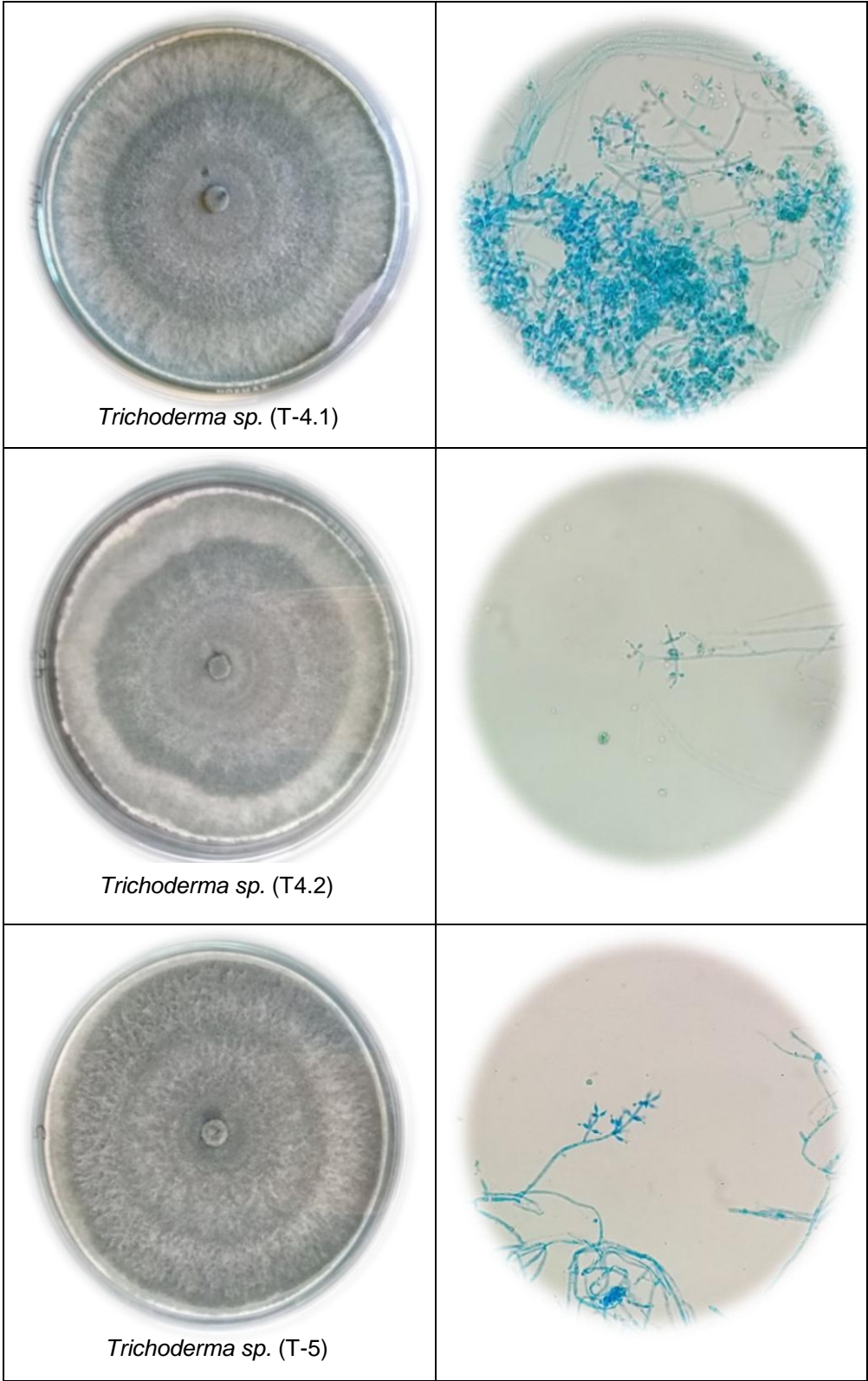
56. Cerón, R.; Higuera, M.; Sánchez, N.; Bustamante, S. y Buitrago, G. Crecimiento y desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides* f. *alatae* Durante su cultivo en medios líquidos. *Acta biológica colombiana* [revista en internet] 2006 [acceso 22 de julio de 2018]; 11 (1), 99-109. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/27148/27421>
57. DECCO Naturally Postharvest: ¿Qué es la antracnosis y cómo afecta a los cultivos? [Acceso 22 de julio de 2019]. Disponibles en: <https://www.deccoiberica.es/que-es-la-antracnosis-y-como-afecta-a-los-cultivos/>
58. Impactos Actuales y potenciales de las Enfermedades de los Cultivos Perennes de la Amazonia Y Posibilidades de Control Para el Desarrollo Sostenible de la Región, Tratado De Cooperación Amazónica. Caracas, Venezuela-Setiembre 1999. [acceso 22 de Julio de 2018] Disponibles en: <http://docplayer.es/8499195-Tratado-de-cooperacion-amazonica-secretaria-pro-tempore-caracas-venezuela-dgis-secretaria-pro-tempore-venezuela.html>
59. HERBARIO VIRTUAL. Catedra de fitopatología. Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. [Acceso 22 de julio de 2019]. Disponible: http://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=422
60. Villa, A.; Perez, R.; Moreles, H.; Basurto, M.; Soto, J. & Martinez, E. Situación actual en el control del *Fusarium* spp. Y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agron.* [Revista en internet] 2015 [acceso 22 de julio de 2018]; 64(2):194 – 205, Disponible en: https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/43358/50649
61. Ochoa, B. Sistematización del cerapio de hongos filamentosos de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. [Trabajo para título] Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca; 2017. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14431/1/UPS-CT007094.pdf>
62. Groenewald, S. Biology, pathogenicity and diversity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. [Trabajo para maestría] Sudáfrica, Universidad of Pretonia. Pretonia; 2005, Disponible en: <https://repository.up.ac.za/bitstream/handle/2263/30587/00dissertation.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
63. Díaz de Castro, F.; Restrepo, M. y Rojas, W. Microbiología de las infecciones humanas. Primera edición. Corporación para la Investigación Biológica. Medellín. Colombia. 2007.
64. Huaynalaya, M. Eficiencia del control biológico de *Fusarium* spp. que causa pudrición radicular en arveja (*Pisum sativum* L.) mediante bacterias antagónicas. [Tesis para título] Universidad Nacional Del Centro Del Perú; 2016. Disponible en: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:xc3daw-rkfAJ:repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1043/TESIS.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=pe>
65. Gutiérrez, R. Hongos Contaminantes Comunes. [internet]. [acceso 19 de julio de 2018] Disponible en: <http://www.telmeds.org/wp-content/uploads/2011/08/Apuntes-III-Parcial-Micologia-y-Virolog%C3%ADa.pdf>
66. Nelson, P.; Tammen, R. y Baker, R. Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. 51-80. 1981. In M. E. Mace, A: A: Bell and C. C. H. Beckman. (Eds.). *Fungal wilt diseases of plants*. Academic Press. New York.
67. Garret, S. *Pathogenic root- infecting fungi*. Cambridge press. 294p. 1977.
68. Ortoneda M.; Guarro J.; Madrid M.; Caracuel Z.; Roncero M.; Mayayo E. y Di Pietro A. *Fusarium oxysporum* as a Multihost Model for the Genetic

- Dissection of Fungal Virulence in Plants and Mammals. American Society for Microbiology [Revista en internet]. 2004; 72: 1760–1766. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14977985>
69. Roncero M.; Di Pietro A.; Ruiz M.; Huertas M. Garcia F.; Mègelecz E.; et al. Papel de enzimas líticas de la pared celular en la patogenicidad de *Fusarium oxysporum*. Rev Iberoam. Micol. [revista en internet] 2000 [acceso 19 de julio de 2018]; 17: S47-S53. Disponible en: https://pdfs.semanticscholar.org/c5d2/c7e032ac580de3c30e54156dfd85b5ef35fd.pdf?_ga=2.53494824.1281640819.1533253606-879083068.1533253606
 70. Lacy, ML; Berger, RD; Gilbertson, RL; Little, EL. Current challenges in controlling diseases of celery. Plant Disease 80:1084-1091. 1996.
 71. Daugovish, O.; Smith, R.; Cahn, M; Koike, S; Smith, H.; Aguiar, J.; et al. Celery production in California. The Regents Division of Agriculture and Natural Resources [revista en internet] 2008 [acceso 20 de Julio de 2018]; 7220:4, Disponible en: <http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/7220.pdf>
 72. Cruz Varona, A. Control de especies de *Fusarium* productoras de fumonisina: factores ecofisiológicos y cambio climático [tesis doctoral]. Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid; 2016. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/36414/1/T36958.pdf>
 73. Torres, H. Manual de las enfermedades más importantes de la papa en el Perú. Centro internacional de la papa. 2002. pag. 50 Disponible en: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=JactDLhLXegC&oi=fnd&pg=PA4&dq=pudrici%C3%B3n+seca+de+la+papa&ots=W77CiKVp9o&sig=9teGrir712N83yFdkSOdZmO7oG8#v=onepage&q=pudrici%C3%B3n%20seca%20de%20la%20papa&f=true>
 74. Fokkema, N. Fungal antagonism in the phyllosphere. Ann. Appl. Biol. 89: 115 - 117 1978.
 75. Cabezas, O. Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) dirección general de sanidad vegetal curso taller: "diagnóstico y evaluación de plagas" Universidad Nacional Agraria de la Selva (Facultada de Agronomía) 2004.
 76. Agrios, G. Fitopatología. Edit. Limusa; 2da edición. 2007.
 77. Bonilla, M. Manual De Practicas De Microbiología Básica, Universidad Autónoma Metropolitana, UNAM [Internet] 2016. Disponible en: http://www.cua.uam.mx/pdfs/conoce/libroselec/23Manual%20de%20microbiologia_09diciembre2016.pdf
 78. Araujo, W. Oliveira, A. Azevedo, J. Marcon, J. Kuklinsky, J. Texeira, P. Manual: aislamiento de microorganismos endofíticos. Departamento de Genética. Universidad de sao paulo.
 79. Ezziyani, M.; Pérez, C.; Ahmed, A.; Requena, M. y Candela, M. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L), Anales de biología [revista en internet] 2004 [acceso 20 de Julio de 2018]; 26: 35-45, Disponible en: <https://www.um.es/analesdebiologia/numeros/26/PDF/05-TRICHODERMA.pdf>

ANEXOS

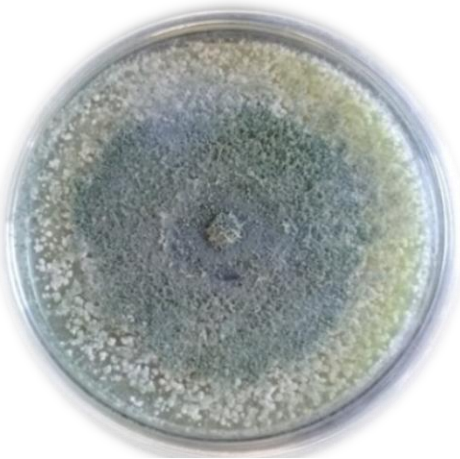
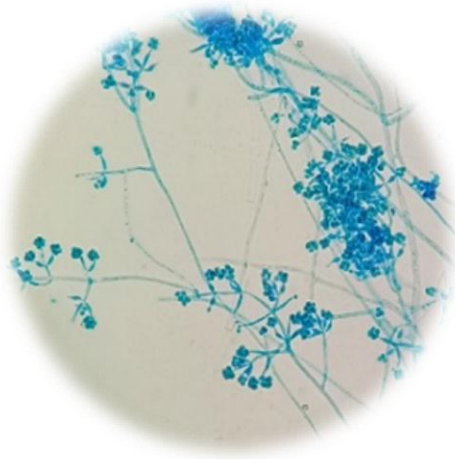
Anexo 1. Observaciones macroscópicas y microscópicas (40X) de cepas de *Trichoderma* spp., aisladas de suelo.

MACROSCÓPICA	MICROSCÓPICA
 <p data-bbox="440 819 703 853"><i>Trichoderma</i> sp. (T-1)</p>	
 <p data-bbox="440 1305 703 1339"><i>Trichoderma</i> sp. (T-2)</p>	
 <p data-bbox="440 1792 703 1825"><i>Trichoderma</i> sp. (T-3)</p>	

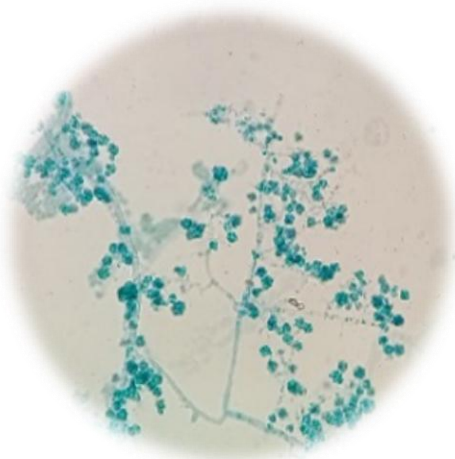




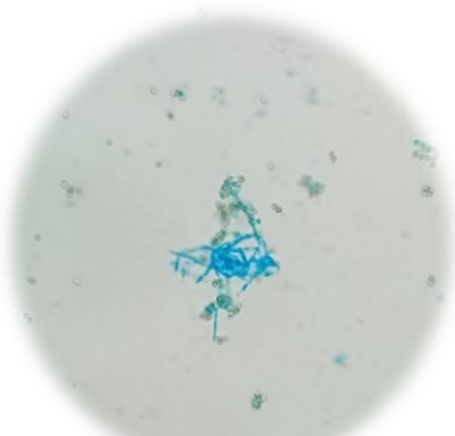
Trichoderma sp. (T-6)



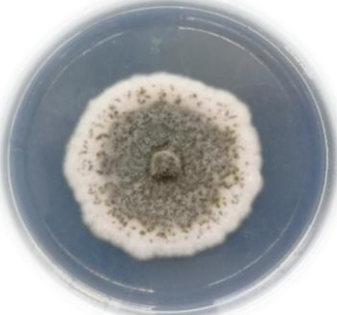
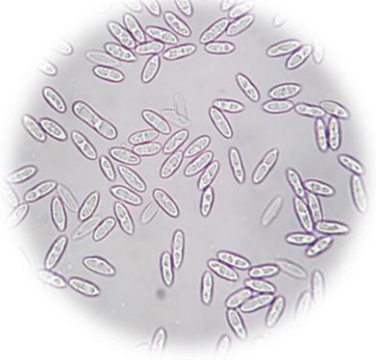


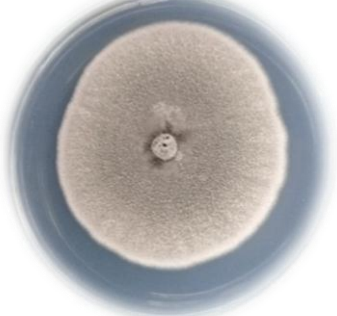

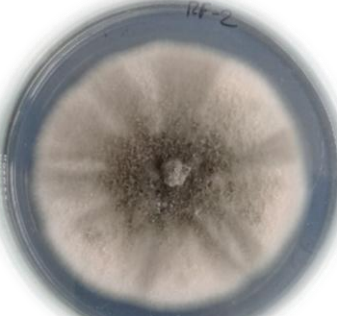
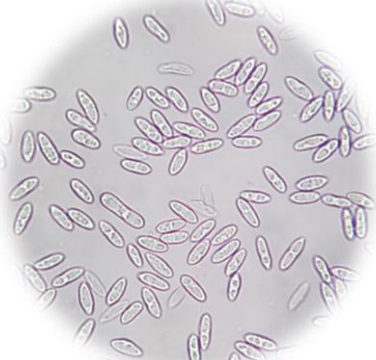
Trichoderma sp. (T-7)



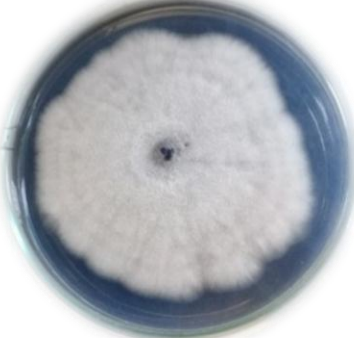

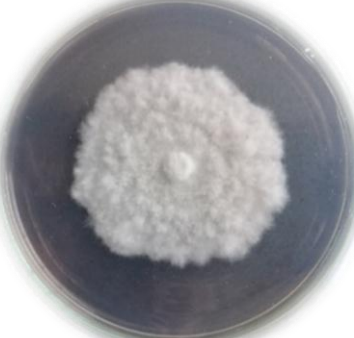





Trichoderma sp. (Th-1)



Anexo 2. Observaciones macroscópicas y microscópicas (100X) de conidios de *Colletotrichum* spp.

MACROSCÓPICA	MICROSCÓPICA
 <p data-bbox="360 734 660 770"><i>Colletotrichum</i> sp. AV-1</p>	
 <p data-bbox="360 1124 660 1160"><i>Colletotrichum</i> sp. AV-2</p>	
 <p data-bbox="360 1514 660 1550"><i>Colletotrichum</i> sp. RF-1</p>	
 <p data-bbox="360 1926 660 1962"><i>Colletotrichum</i> sp. (RF-2)</p>	

Anexo 3. Observaciones macroscópicas y microscópicas (100X) de macro y microconidias de *Fusarium* spp.

MACROSCÓPICA	MICROSCÓPICA
 <p data-bbox="469 734 695 766"><i>Fusarium</i> sp. (F-1)</p>	
 <p data-bbox="469 1146 695 1178"><i>Fusarium</i> sp. (F-2)</p>	
 <p data-bbox="469 1561 695 1592"><i>Fusarium</i> sp. (F-3)</p>	
 <p data-bbox="469 1975 695 2007"><i>Fusarium</i> sp. (F-4)</p>	

Anexo 4. Constancia de las cepas aisladas y estudiadas.

CERTIFICACIÓN

El que suscribe, Ing. MSc Fernando Barrantes Del Aguila, con maestría en Fitopatología y especialista en Microbiología de Patógenos de Plantas Cultivadas, da constancia haber efectuado el diagnóstico taxonómico de 16 aislamientos fungosos, obtenidos de suelo y órganos vegetales, a petición de parte de la srta. Esther Fanni Ayala Quispe, en el Laboratorio de Fitopatología de la Escuela Profesional de Agronomía., conforme se indica en la relación siguiente:

Nº	Código Cepa	Microorganismo	Origen
1	T-1	<i>Trichoderma harzianum</i>	Suelo
2	T-2	<i>Trichoderma viride</i>	Suelo
3	T-3	<i>Trichoderma harzianum</i>	Suelo
4	T-4.1	<i>Trichoderma viride</i>	Suelo
5	T-4.2	<i>Trichoderma viride</i>	Suelo
6	T-5	<i>Trichoderma harzianum</i>	Suelo
7	T-6	<i>Trichoderma harzianum</i>	Suelo
8	T-7	<i>Trichoderma harzianum variante</i>	Tronco de árbol
9	Th-1	<i>Trichoderma harzianum</i>	Comercial
10	AV-1	<i>Colletotrichum pisi</i>	Fruto de arveja
11	AV-2	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Fruto de arveja
12	RF-1	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Fruto de rocoto
13	RF-2	<i>Colletotrichum acutatum</i>	Fruto de rocoto
14	F-1	<i>Fusarium oxysporum</i>	Tubérculo de papa
15	F-2	<i>Fusarium solani</i>	Tallo de palto
16	F-3	<i>Fusarium solani</i>	Tubérculo de papa
17	F-4	<i>Fusarium chlamidosporum</i>	Fruto de plátano

Ayacucho, marzo de 2019.



Ing. MSc. Fernando Barrantes Del Aguila

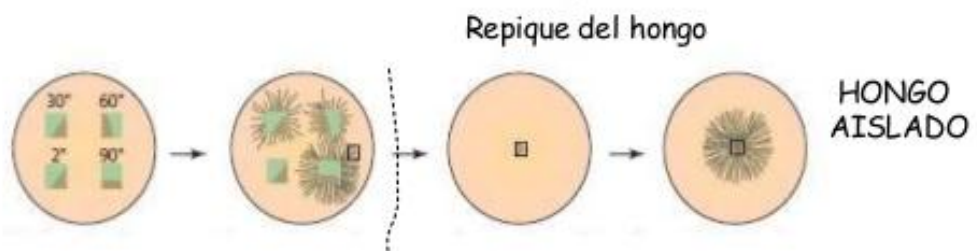
Anexo 5. Categoría de Inhibición del crecimiento radial de las cuatro aislamientos de *Colletotrichum* spp. por efecto de las cepas de *Trichoderma* spp.

categoría	Rango de inhibición eórica	Inhibición experimental
2	26% –50%	<i>Colletotrichum</i> sp. (AV-1): 35,0 – 45,0% <i>Colletotrichum</i> sp. (AV-2): 26,32 – 31,58% <i>Colletotrichum</i> sp. (RF-1): 34,78 – 39,13% <i>Colletotrichum</i> sp. (RF-2): 40,74- 44,4%

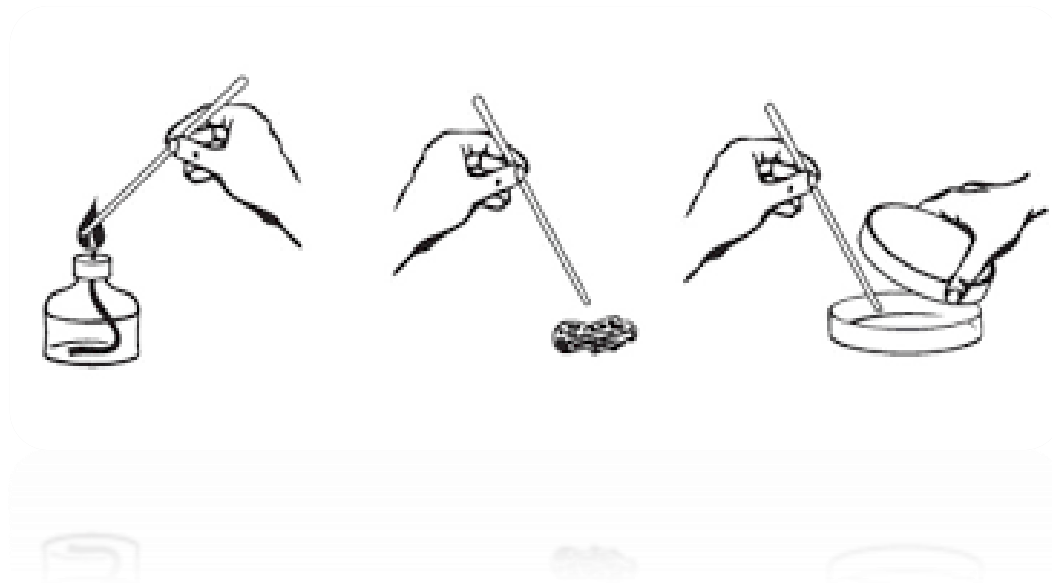
Anexo 6. Categoría de Inhibición del crecimiento radial de las cuatro aislamientos de *Fusarium* spp. por efecto de las cepas de *Trichoderma* spp.

Categoría	Rango de inhibición teórica	Inhibición experimental	Cepas de <i>Trichoderma</i> que participan en el rango
2	26% –50%	<i>Fusarium</i> sp. (F-1): 35,48%-48,39% <i>Fusarium</i> sp. (F-2): 28,57%-38,1% <i>Fusarium</i> sp. (F-4): 37,93-48,28%	<ul style="list-style-type: none"> • Todas las cepas de <i>Trichoderma</i> spp. • Cepas de <i>Trichoderma</i> spp. (T-1, T-2, T-3, T-4,1, T4,2 y T-5)
3	51% –75%	<i>Fusarium</i> sp. (F-4): 51,72% <i>Fusarium</i> sp. (F-3): 52,78-61.11%	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Trichoderma</i> sp. cepa T-6 • Todas las cepas de <i>Trichoderma</i> spp.

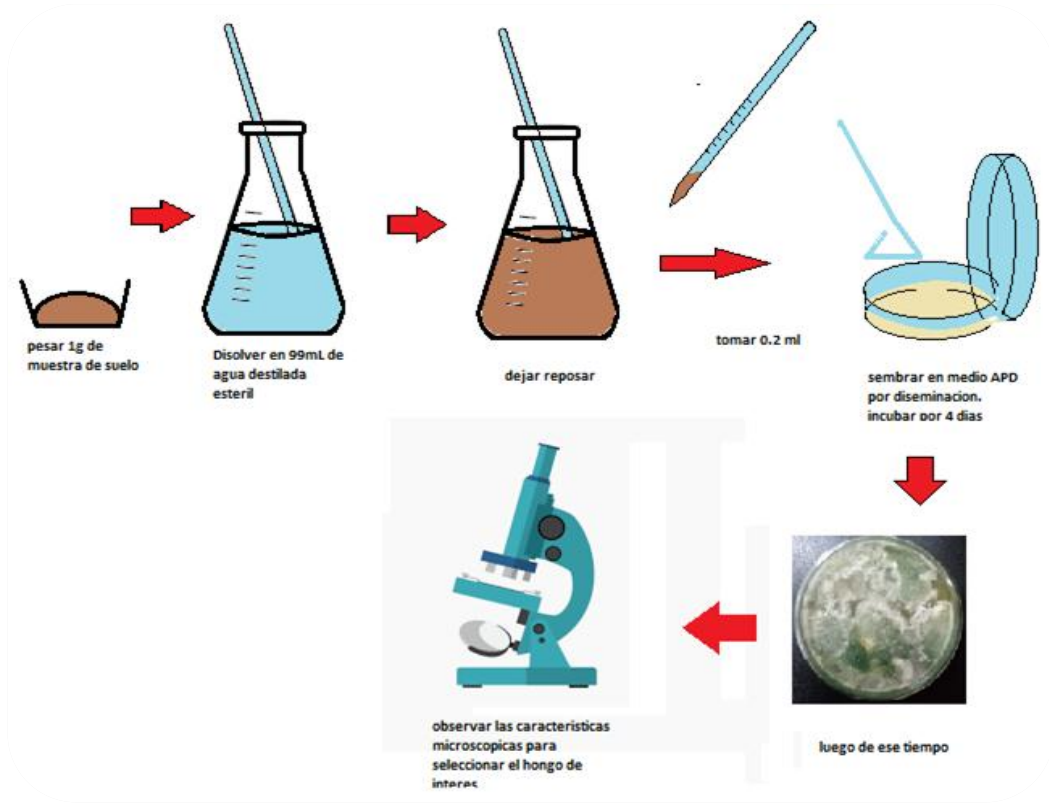
Anexo 7. Aislamiento de hongos fitopatógenos a partir del tejido vegetal con síntomas de la enfermedad.



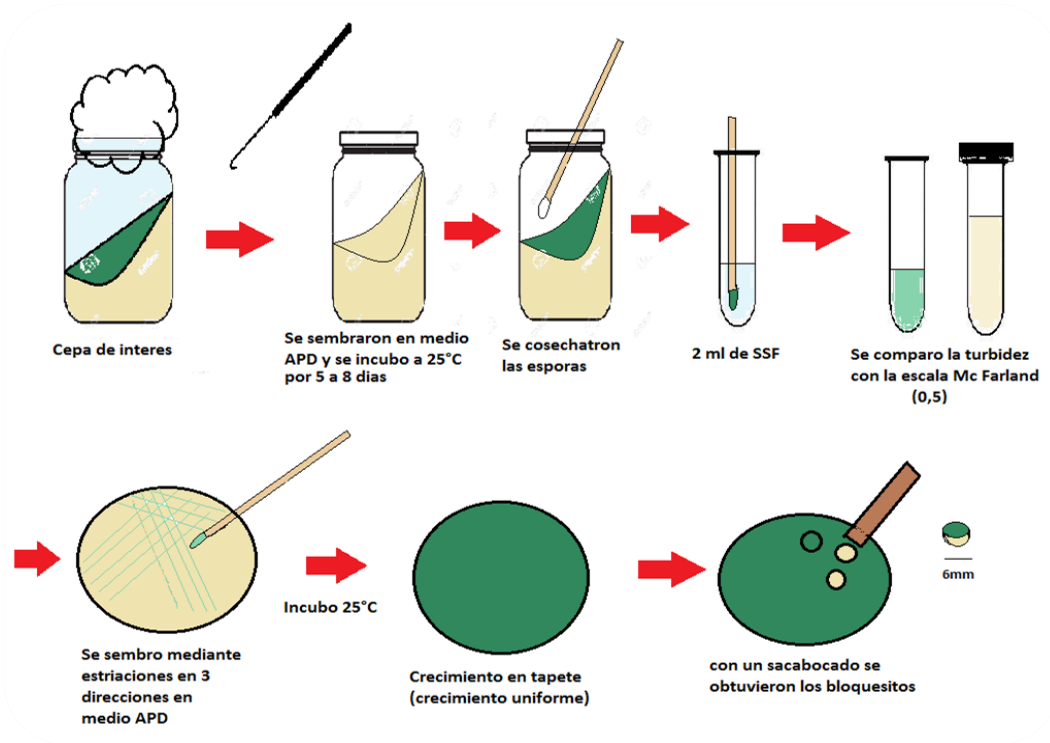
Anexo 8. Aislamiento de hongos fitopatógenos por punción de tejido vegetal con signos de la enfermedad.



Anexo 9. Procedimiento para el aislamiento de *Trichoderma sp.*, a partir de suelo.



Anexo 10. Procedimiento de obtención de Trichoderma y fitopatógenos en tapete y block de gelosa.



Anexo 11. Característica observada en los tratamientos (*Trichoderma sp.* X *Colletotrichum sp.*) al 4to día de enfrentamiento.

TRATAMIENTO	Antibiosis Colletot.	PARÁMETROS				
		Cambio de color		Esporulación Trichoderma	Invasión colonia	Esporulación Colletotrichum
		T	C			
T-1x AV1	Zona de cont.	No	No	Buena	No	Bueno
T-1XAV2	Halo	No	No	Buena	No	Bueno
T-1XRF1	Zona de cont.	No	No	Buena	No	Bueno
T-1XRF2	Zona de cont.	No	No	Buena	No	Bueno
T-2X AV1	No	No	No	Buena	Si	Bueno
T-2X AV2	No	No	No	Media	No	Medio
T-2X RF1	No	No	No	Media	Si	Bueno
T-2X RF2	No	No	No	Baja	No	Bueno
T-3X AV1	Halo	No	No	Media	No	Bueno
T-3X AV2	No	No	No	Buena	No	Medio
T-3X RF1	Zona de cont.	No	No	Buena	No	Medio
T-3X RF2	Zona de cont.	No	Si	Buena	No	Bueno
T-4,1X AV1	Halo	No	No	Buena	No	Medio
T-4,1X AV2	Halo	No	No	Buena	No	Bajo
T-4,1X RF1	Zona de cont.	No	No	Buena	No	Bueno
T-4,1X RF2	Zona de cont.	No	Si	Buena	Si	Medio
T-4,2X AV1	No	No	Si	Buena	Si	Bueno
T-4,2X AV2	Halo	No	No	Buena	No	Medio
T-4,2X RF1	No	No	Si	Buena	Si	Medio
T-4,2X RF2	Ligero	No	Si	Buena	Si	Bueno
T-5X AV1	No	No	Si	Buena	Si	Bajo
T-5X AV2	Halo	No	No	Buena	No	Bueno
T-5X RF1	Zona de cont.	No	No	Buena	No	Bueno
T-5X RF2	Zona de cont.	No	Si	Buena	No	Media
T-6X AV1	Halo	No	No	Media	No	Bajo
T-6X AV2	No	No	Si	Buena	Si	Medio
T-6X RF1	No	No	Si	Buena	Si	Bueno
T-6X RF2	Ligero	No	Si	Media	Si	Bueno

Anexo 12. Característica observada en los tratamientos (*Trichoderma sp.* X *Colletotrichum sp.*) al 8vo día de enfrentamiento.

TRATAMIENTO	Antibiosis colletot.	PARÁMETROS				
		Cambio de color		Esporulación Trichoderma	Invasión colonia	Esporulación Colletotrichum
		T	C			
T-1x AV1	Zona de cont.	No	Si	Buena	No	Bueno
T-1XAV2	Halo	No	Si	Buena	No	Bueno
T-1XRF1	Zona de cont.	No	Si	Buena	Si	Bueno
T-1XRF2	Zona de cont.	No	Si	Buena	Regular	Bueno
T-2X AV1	No	No	Si	Buena	Si	No se observ.
T-2X AV2	No	No	Si	Media	Si	No se observ.
T-2X RF1	No	No	Si	Media	Si	Bueno
T-2X RF2	No	No	Si	Buena	Si	No se obs.
T-3X AV1	No	No	Si	Media	Si	No se obs.
T-3X AV2	Halo peq.	No	Si	Buena	Si	No se obs.
T-3X RF1	Zona de cont.	No	Si	Buena	Si	Bueno
T-3X RF2	Zona de cont.	No	Si	Buena	Si	Medio
T-4,1X AV1	Zona de cont.	No	Si	Buena	Regular	No se obs.
T-4,1X AV2	Zona de cont.	No	Si	Buena	Regular	Medio
T-4,1X RF1	Zona de cont.	No	Si	Buena	Regular	Bueno
T-4,1X RF2	Zona de cont.	No	Si	Buena	Regular	No se obs.
T-4,2X AV1	No	No	Si	Buena	Si	No se obs.
T-4,2X AV2	Halo	No	Si	Buena	Si	Buena
T-4,2X RF1	No	No	Si	Buena	Si	No se obs.
T-4,2X RF2	No	No	Si	Buena	Si	Media
T-5X AV1	No	No	Si	Buena	Si	No se obs.
T-5X AV2	Halo	No	Si	Buena	Regular	Media
T-5X RF1	Zona de cont.	No	Si	Buena	Si	Buena
T-5X RF2	Zona de cont.	No	Si	Buena	Si	Media
T-6X AV1	Ligero	No	Si	Media	No	No se obs.
T-6X AV2	No	No	Si	Buena	Si	No se obs.
T-6X RF1	No	No	Si	Buena	Si	Buena
T-6X RF2	Ligero	No	Si	Media	Si	Buena

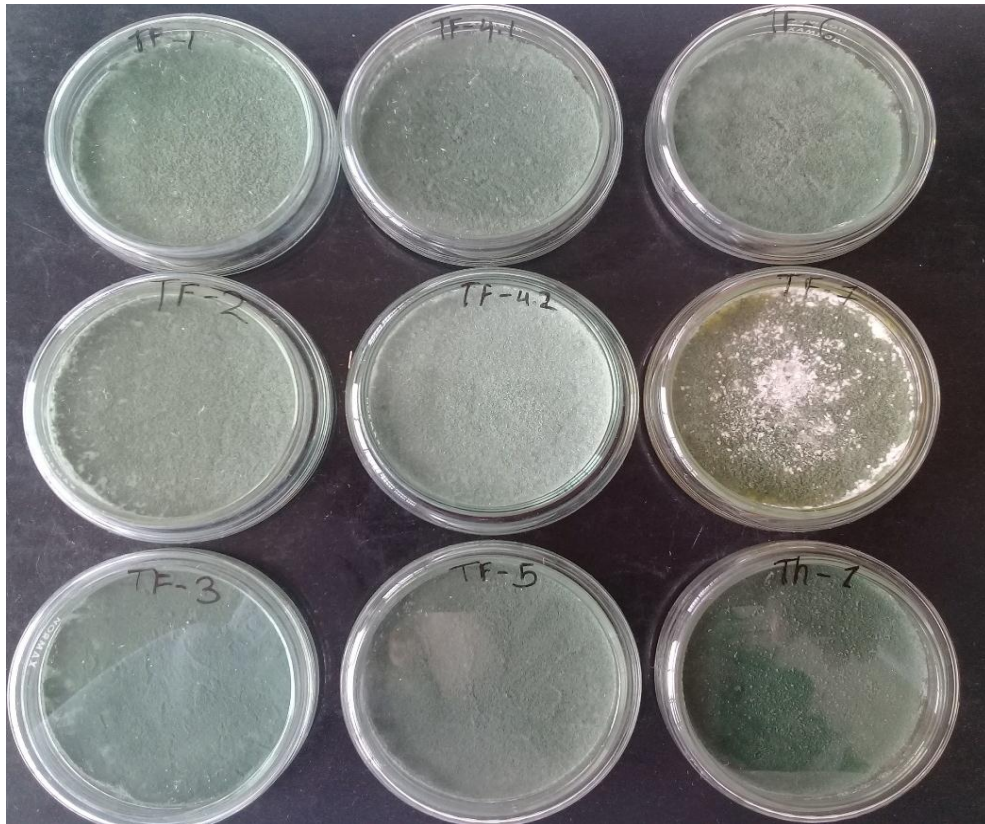
Anexo 13. Característica observada en los tratamientos (*Trichoderma sp.* X *Fusarium sp.*) al 4to día de enfrentamiento.

TRATAMIENTO	Antibiosis de <i>Fusarium</i>	PARÁMETROS				
		Cambio de color		Esporulación <i>Trichoderma</i>	Invasión colonia	Esporulación <i>Fusarium</i>
		T	F			
T-1x F1	Ligero	No	Si	Buena	No	Buena
T-1XF2	Halo	No	No	Buena	No	No se observ.
T-1XF3	Zona de cont.	No	No	Buena	No	poca
T-1XF4	Zona de cont.	No	No	Media	Si	Buena
T-2XF1	No	No	Si	Media	Si	Buena
T-2XF2	No	No	Si	Media	No	No se observ.
T-2XF3	No	No	No	Buena	No	media
T-2XF4	No	No	Si	Media	No	Buena
T-3XF1	Ligero	No	Si	Buena	No	Buena
T-3XF2	Halo	No	No	Buena	No	No se observ.
T-3XF3	Ligero	No	No	Buena	No	poca
T-3XF4	Ligero	No	Si	Buena	Si	Buena
T-4,1XF1	No	No	Si	Buena	No	Buena
T-4,1XF2	Halo	No	No	Buena	No	No se observ.
T-4,1XF3	Zona de cont.	No	No	Buena	No	Media
T-4,1XF4	Ligero	No	Si	Buena	No	Buena
T-4,2XF1	Zona de cont.	No	Si	Buena	Si	Buena
T-4,2XF2	Halo	No	No	Buena	No	No se observ.
T-4,2XF3	Ligero	No	No	Buena	No	Media
T-4,2XF4	Zona de cont.	No	Si	Buena	No	Buena
T-5XF1	No	No	Si	Buena	Si	Buena
T-5XF2	Halo	No	No	Buena	No	No se observ.
T-5XF3	Ligero	No	No	Buena	No	Media
T-5XF4	Ligero	No	Si	Buena	Si	Buena
T-6XF1	No	No	Si	Media	Si	Buena
T-6XF2	Halo	No	No	Media	No	No se observ.
T-6XF3	No	No	No	Media	No	Media
T-6XF4	No	No	Si	Media	Si	Buena

Anexo 14. Característica observada en los tratamientos (*Trichoderma sp.* X *Fusarium sp.*) al 8vo día de enfrentamiento.

TRATAMIENTO	Antibiosis Fusarium	PARÁMETROS				
		Cambio de color		Esporulación Trichoderma	Invasión colonia	Esporulación fusarium
		T	F			
T-1x F1	Ligero	No	Si	Buena	Si	Buena
T-1XF2	Halo	No	No	Buena	No	No se observ.
T-1XF3	No	No	No	Buena	Regular	Regular
T-1XF4	No	No	Si	Buena	Si	Buena
T-2XF1	No	No	Si	Buena	Si	Buena
T-2XF2	No	No	Si	Buena	Si	No se observ.
T-2XF3	No	No	No	Buena	Regular	No se observ.
T-2XF4	No	No	Si	Buena	Si	Buena
T-3XF1	Ligero	No	Si	Buena	Si	Buena
T-3XF2	Halo	No	Si	Buena	No	No se observ.
T-3XF3	No	No	No	Buena	Regular	No se observ.
T-3XF4	No	No	Si	Buena	Si	Buena
T-4,1XF1	No	No	Si	Buena	Si	Regular
T-4,1XF2	Halo	No	Si	Buena	No	No se observ.
T-4,1XF3	Ligero	No	Si	Buena	No	No se observ.
T-4,1XF4	No	No	Si	Buena	Si	Buena
T-4,2XF1	Zona de cont.	No	Si	Buena	Si	Regular
T-4,2XF2	Halo	No	Si	Buena	No	No se observ.
T-4,2XF3	Ligero	No	Si	Buena	No	No se observ.
T-4,2XF4	No	No	Si	Buena	Si	Buena
T-5XF1	Zona de cont.	No	Si	Buena	Si	Poco
T-5XF2	Halo	No	Si	Buena	No	No se observ.
T-5XF3	Ligero	No	No	Buena	No	No se observ.
T-5XF4	No	No	Si	Buena	Si	Buena
T-6XF1	No	No	Si	Buena	Si	Regular
T-6XF2	No	No	Si	Buena	No	No se observ.
T-6XF3	Ligero	No	No	Buena	Regular	Media
T-6XF4	Zona de cont.	No	Si	Buena	Si	Buena

Anexo 15. Cepas de *Trichoderma* spp., crecimiento en tapete.



Anexo 16. Cepas de *Trichoderma* spp., aisladas de suelo.



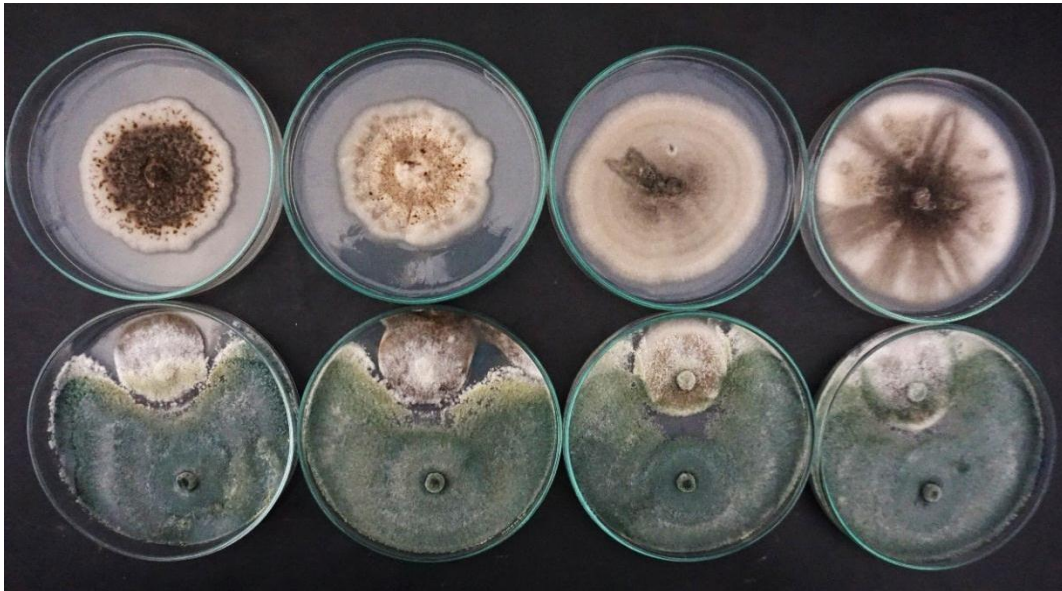
Anexo 17. *Trichoderma* sp. cepa T-7 frente a *Fusarium* sp. cepa F-1, al 4to día de enfrentamiento.



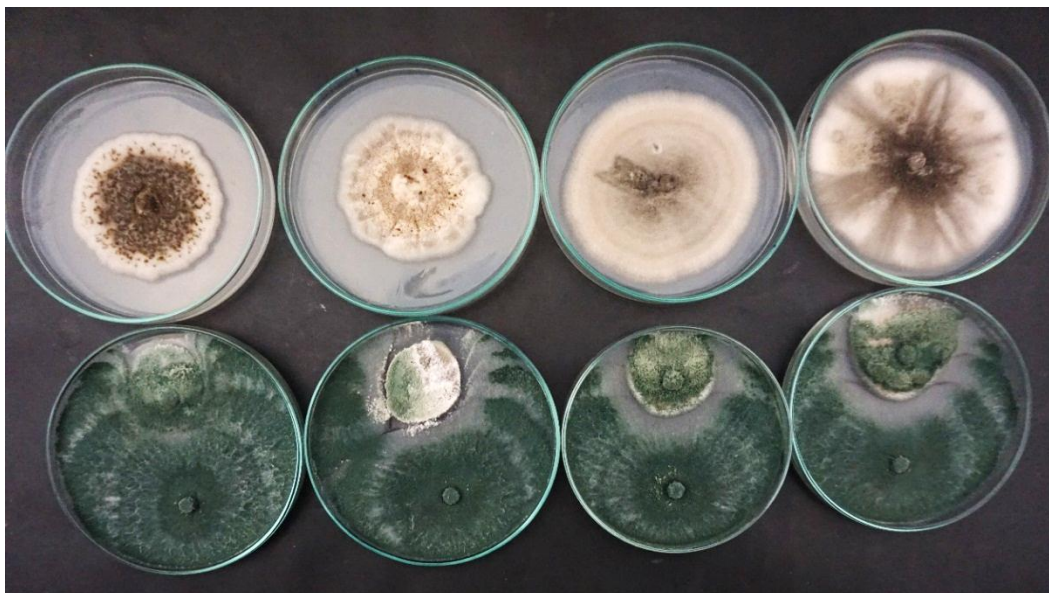
Anexo 18. *Trichoderma* sp. cepa T-4,1 frente a *Fusarium* sp. cepa F-3, al 4to día de enfrentamiento.



Anexo 19. Micoparasitismo grado de antagonismo 4 según la escala de Elías y Arcos, *Trichoderma sp.* cepa T-4.2 frente a *Colletotrichum spp.*; comparación con su blanco.



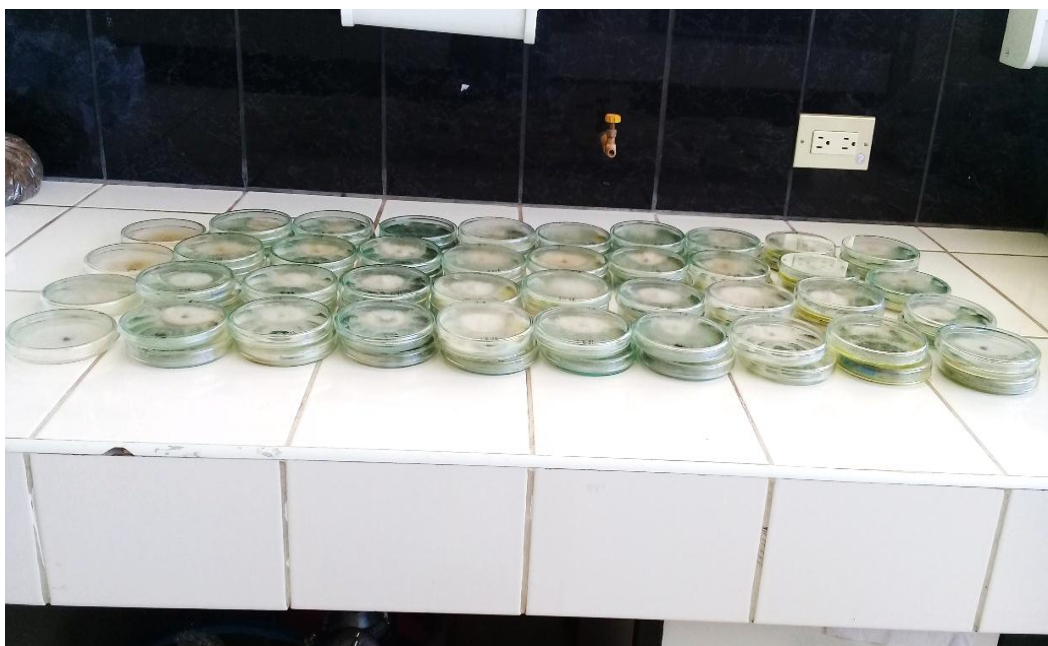
Anexo 20. Micoparasitismo grado de antagonismo 4 según la escala de Elías y Arcos, *Trichoderma sp.* cepa T-3 frente a *Colletotrichum spp.*; comparación con su blanco.



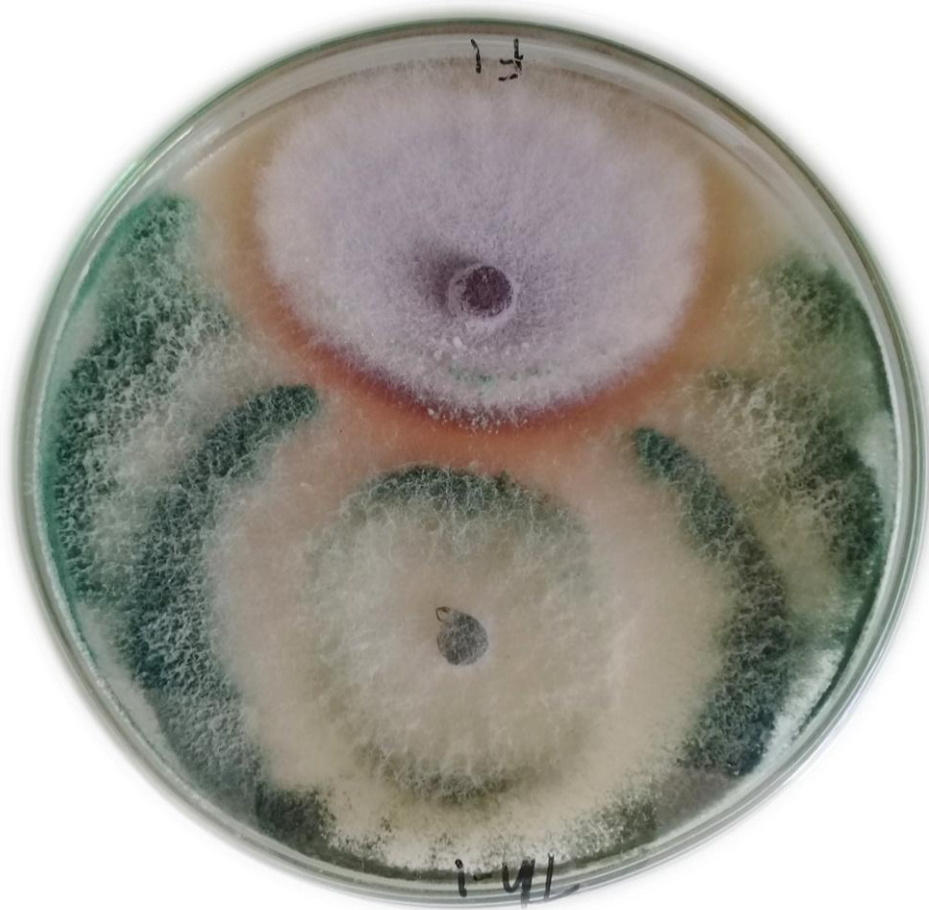
Anexo 21. Micoparasitismo grado de antagonismo 0 según la escala de Elías y Arcos, *Trichoderma* no logra invadir a *Colletotrichum* spp.



Anexo 22. Enfrentamiento dual de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* spp. a los 7 días de enfrentamiento.



Anexo 23. Micoparasitismo grado 0 de *Trichoderma* sp. cepa comercial (Th-1) frente a *Fusarium* sp. cepa F-1.



Anexo 24. Micoparasitismo grado 0 de *Trichoderma* sp. cepa T4.1 frente a *Fusarium* cepa F2.



Anexo 25. Procedimiento de recolección de muestra.



Anexo 26. Matriz de consistencia.

Título: Efecto antagónico *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma sp.* frente a los hongos fitopatógenos *Colletotrichum sp.* y *Fusarium sp.* Ayacucho, 2018.

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	DISEÑO DE METODOLÓGICO
¿Tendrá efecto antagónico <i>in vitro</i> , cepas nativas de <i>Trichoderma sp.</i> frente a hongos Fitopatógenos <i>Colletotrichum sp.</i> y <i>Fusarium sp.</i> Ayacucho 2019?	<p>OBJETIVO GENERAL:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar el efecto antagónico <i>in vitro</i> de cepas nativas de <i>Trichoderma sp.</i> frente a los hongos fitopatógenos <i>Colletotrichum sp.</i> y <i>Fusarium sp.</i> <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar el porcentaje de inhibición de <i>Trichoderma sp.</i> sobre <i>Colletotrichum sp.</i> • Determinar el porcentaje de inhibición de <i>Trichoderma sp.</i> sobre <i>Fusarium sp.</i> • Determinar el grado de antagonismo (micoparasitismo) de <i>Trichoderma sp.</i> sobre <i>Colletotrichum sp.</i> y <i>Fusarium sp.</i> 	<p>ANTECEDENTES A nivel internacional A nivel nacional</p> <p>MARCO CONCEPTUAL Antagonismo Microorganismos antagonistas Mecanismos de acción</p> <p>Trichoderma Taxonomía Características de <i>Trichoderma</i> Condiciones de crecimiento de <i>Trichoderma</i>. Capacidad antagónica de <i>Trichoderma</i>.</p> <p>Colletotrichum Taxonomía. Características de <i>Colletotrichum</i> <i>Colletotrichum</i> Como fitopatógeno</p> <p>Fusarium Taxonomía Características de <i>Fusarium</i> <i>Fusarium</i> como fitopatógeno: Metabolitos tóxicos de <i>Fusarium</i>. Principales especies patógenos del genero <i>Fusarium</i>.</p> <p>Técnica de enfrentamiento dual Cepas nativas</p>	Tiene efecto antagónico <i>in vitro</i> las cepas nativas de <i>Trichoderma sp.</i> frente a los hongos fitopatógenos <i>Colletotrichum sp.</i> y <i>Fusarium sp.</i> Ayacucho 2019.	<p>Variable principal Efecto antagónico de <i>Trichoderma sp.</i></p> <p>Variable secundario</p> <ul style="list-style-type: none"> • Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PIRC). • Grado de antagonismo (micoparasitismo) 	<p>Tipo de investigación: Básica – descriptiva</p> <p>Material biológico:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 7 cepas nativas de <i>Trichoderma sp.</i> • 4 cepas de <i>Colletotrichum sp.</i> • 4 cepas de <i>Fusarium sp.</i> <p>DISEÑO DE METODOLÓGICO</p> <ul style="list-style-type: none"> • Recolección de muestras • Aislamiento de cepas de antagonistas y fitopatógenos. • Identificación por microcultivo. • Determinación del efecto antagónico.