

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**Expresión antagónica *in vitro* de *Trichoderma harzianum* y *T. viride* ante hongos fitopatógenos aislados de *Chenopodium quinoa* Willd. Ayacucho.**

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

**PRESENTADO POR:**

**Bach: ISLACHIN HUACRE, Evelin**

**ASESOR:**

**Mg. HUAMÁN DE LA CRUZ, Ruth Elsa**

**AYACUCHO – PERÚ**

**2022**

A mi Dios y a mis padres por su  
apoyo constante e incondicional  
durante mi vida.

Evelin...

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi Alma Mater, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, expreso mi más sincera gratitud por la formación profesional y humanista.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela Profesional de Biología y a todos los docentes por brindarme los conocimientos durante mi formación profesional.

A mi asesora, Mg. Ruth Elsa Huamán De La Cruz por su afable trato y sabio consejo, que ha permitido la elaboración de mi tesis.

Gratitud especial al Ing. Fernando Barrantes Del Águila por su confianza y apoyo durante todo el proceso del presente trabajo.

Agradezco también al Mg. Reynán Cóndor Alarcón, Ing. Guillermo Carrasco, Blga. Nélida Bautista, por su importante aporte en el desarrollo de esta tesis.

Finalmente agradezco a mis amistades, que siempre han prestado un gran apoyo moral y humano en momentos difíciles de este trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Marco conceptual	6
2.2.1. Antagonismo	6
2.2.1.1. Microorganismos antagonistas	7
2.2.2. Aspectos generales de Trichoderma	7
2.2.2.1. Taxonomía	8
2.2.2.2. Características de Trichoderma	8
2.2.2.3. Mecanismo de antagonismo de Trichoderma	9
2.2.2.4. <i>Trichoderma harzianum</i>	11
2.2.2.5. <i>Trichoderma viride</i>	11
2.2.3. La quinua ( <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.)	12
2.2.3.1. Taxonomía quinua <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	12
2.2.3.2. Características de patógenos observados en <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	12
III. MATERIALES Y METODOS	25
3.1. Ubicación del lugar de muestreo	25
3.2. Lugar de ejecución	25
3.3. Materiales	25
3.4. Diseño metodológico	25
3.4.1. Recolección de muestra	25
3.4.2. Procesamiento de las muestras recolectadas	25
3.4.3. Aislamiento de hongos fitopatógenos	26
3.4.4. Obtención de cultivos puros de hongos	26
3.4.5. Procedimiento de caracterización e identificación de patógenos	26
3.4.6. Siembra de hongos fitopatógenos y antagonistas en AQD	26

3.4.7. Obtención de Trichoderma y fitopatógenos en tapete y block de gelosa	27
3.4.8. Proceso de aplicación de la técnica de cultivo dual	27
3.5. Tipo de investigación	28
3.5.1. Tipo	28
3.5.2. Diseño del experimento	28
3.5.3. Análisis de datos	28
3.6. Análisis estadístico	28
3.6.1. Determinación del Micoparasitismo	29
IV. RESULTADOS	31
V. DISCUSIÓN	43
VI. CONCLUSIONES	55
VII. RECOMENDACIONES	57
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXOS	67

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Escala de categoría de inhibición de crecimiento PICR.	28
Tabla 2. Escala creada por Elías y Arcos (1984), para evaluación de la capacidad antagónica por micoparasitismo.	29
Tabla 3. Relación de cepas de hongos aislados de quinua y hongos antagonistas utilizados en la investigación de antagonismo.	33
Tabla 4. Grado de micoparasitismo en cultivo dual <i>Trichoderma viride</i> ante los hongos patógenos de la quinua.	41
Tabla 5. Grado de micoparasitismo en cultivo dual <i>Trichoderma harzianum</i> ante los hongos patógenos de la quinua.	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de <i>Trichoderma viride</i> y <i>Trichoderma harzianum</i> ante <i>Rhizoctonia sp.</i>	34
Figura 2. Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de <i>Trichoderma viride</i> y <i>Trichoderma harzianum</i> ante <i>Botrytis sp.</i>	35
Figura 3. Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de <i>Trichoderma viride</i> y <i>Trichoderma harzianum</i> ante <i>Leptosphaerulina sp.</i>	36
Figura 4. Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de <i>Trichoderma viride</i> y <i>Trichoderma harzianum</i> ante <i>Phoma sp.</i>	37
Figura 5. Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de <i>Trichoderma viride</i> y <i>Trichoderma harzianum</i> ante <i>Cladosporium sp.</i>	38
Figura 6. Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de <i>Trichoderma viride</i> ante hongos patógenos.	39
Figura 7. Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de <i>Trichoderma harzianum</i> ante hongos patógenos.	40

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Crecimiento radial in vitro de hongos fitopatógenos al ser inhibidos por <i>Trichoderma viride</i> y <i>Trichoderma harzianum</i> .	69
Anexo 2. Muestras con síntomas y signos de plantas de quinua.	70
Anexo 3. Observación microscópica (40X) de estructuras de los fitopatógenos.	71
Anexo 4. Cepas puras de patógenos de quinua ( <i>Leptosphaerulina sp.</i> , <i>Rhizoctonia sp.</i> , <i>Botrytis sp.</i> , <i>Cladosporium ps.</i> , <i>Phoma sp.</i> ).	72
Anexo 5. Técnica de tapete de los hongos patógenos de quinua. ( <i>Leptosphaerulina sp.</i> , <i>Rhizoctonia sp.</i> , <i>Botrytis sp.</i> , <i>Cladosporium ps.</i> , <i>Phoma sp.</i> ).	73
Anexo 6. Técnica de tapete ( <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Trichoderma viride</i> ).	74
Anexo 7. Microfotografía de muestra control de <i>Rhizoctonia sp.</i> a) Observación de hifas ángulo recto de 90 grados b) Observación de formación de Células monilioides.	75
Anexo 8. Microfotografía de hifas en cultivo dual de <i>Rhizoctonia sp.</i> con <i>Trichoderma viride</i> , a) Formación de adherencia de hifas de <i>Trichoderma viride</i> sobre <i>Rhizoctonia sp.</i> y acordonamiento de hifas de <i>Trichoderma viride</i> b) Acordonamiento de hifas de <i>Trichoderma viride</i> .	76
Anexo 9. Microfotografía de hifas en cultivo dual de <i>Rhizoctonia sp.</i> con <i>Trichoderma harzianum</i> (adherencia de hifas de <i>Trichoderma harzianum</i> sobre <i>Rhizoctonia sp.</i> ).	77
Anexo 10. Microfotografía de hifas de cultivo de <i>Botrytis sp.</i> a) Observación de formación de esclerotes. b) Conidios, conidióforo y formación de conidios sin antagonista.	78
Anexo 11. Microfotografías de hifas en cultivo dual de <i>Botrytis sp.</i> y <i>Trichoderma viride</i> a) Se observa deshidratación de hifas del patógeno. b) Adherencia de hifas de <i>Trichoderma viride</i> a micelio de <i>Botrytis sp.</i>	79
Anexo 12. Microfotografía de hifas en cultivo dual de <i>Botrytis sp.</i> y <i>Trichoderma harzianum</i> . a) Deshidratación de hifas de <i>Botrytis</i>	80



	sp. b) Adherencia de hifas de <i>Trichoderma harzianum</i> sobre hifas de <i>Botrytis sp.</i>	
Anexo 13.	Microfotografía de hifas de cultivo de <i>Leptosphaerulina sp.</i> , sin antagonista.	81
Anexo 14.	Microfotografía de hifas en cultivo dual de <i>Leptosphaerulina sp.</i> con <i>Trichoderma viride</i> (formación de clamidosporas de <i>Leptosphaerulina</i> ).	81
Anexo 15.	Microfotografía de hifas en cultivo dual de <i>Leptosphaerulina sp.</i> con <i>Trichoderma harzianum</i> . Enrollamiento y granulación de citoplasma de las hifas de <i>Leptosphaerulina sp.</i>	82
Anexo 16.	Microfotografía de hifas de cultivo de <i>Phoma sp.</i> sin antagonista. Inicio de formación de clamidosporas de <i>Phoma sp.</i>	82
Anexo 17.	Microfotografía de hifas de cultivo dual de <i>Phoma sp.</i> con <i>Trichoderma viride</i> . Engrosamiento de hifas de <i>Phoma sp.</i>	83
Anexo 18.	Microfotografía de hifas de cultivo dual de <i>Phoma sp.</i> con <i>Trichoderma harzianum</i> . acordonamiento de hifas de <i>Phoma sp.</i>	83
Anexo 19.	Microfotografía de hifas de cultivo <i>Cladosporium sp.</i> sin antagonista. Hifas con formación de clamidosporas.	84
Anexo 20.	Microfotografía de hifas de cultivo dual de <i>Cladosporium sp.</i> con <i>Trichoderma viride</i> . Acordonamiento de hifas de <i>Cladosporium sp.</i> sin formación de clamidosporas.	84
Anexo 21.	Microfotografía de hifas de cultivo dual de <i>Cladosporium sp.</i> con <i>Trichoderma harzianum</i> . Presencia de clamidosporas.	85
Anexo 22.	Procedimiento para preparación de medio Agar Quinoa Dextrosa.	85
Anexo 23.	Metodología para la obtención de cultivo dual. (Aplicado para hongos de crecimiento rápido).	86
Anexo 24.	Metodología para la obtención de cultivo dual. (Aplicado para hongos de crecimiento lento).	86
Anexo 25.	Observación macroscópica de enfrentamiento dual de <i>Rhizoctonia sp.</i> con <i>Trichoderma viride</i> .	87
Anexo 26.	Observación macroscópica de enfrentamiento dual de <i>Rhizoctonia sp.</i> con <i>Trichoderma harzianum</i> .	87
Anexo 27.	Observación macroscópica de enfrentamiento dual de <i>Botrytis sp.</i> y <i>Trichoderma viride</i> .	88

Anexo 28.	Observación macroscópica de enfrentamiento dual de <i>Botrytis sp.</i> y <i>Trichoderma harzianum</i> .	88
Anexo 29.	Observación macroscópica de enfrentamiento dual de <i>Leptosphaerulina sp.</i> con <i>Trichoderma viride</i> .	89
Anexo 30.	Observación macroscópica de enfrentamiento dual de <i>Leptosphaerulina sp.</i> con <i>Trichoderma harzianum</i> .	89
Anexo 31.	Observación macroscópica de enfrentamiento dual de <i>Phoma sp.</i> con <i>Trichoderma viride</i> .	90
Anexo 32.	Observación macroscópica de enfrentamiento dual de <i>Phoma sp.</i> con <i>Trichoderma harzianum</i> .	90
Anexo 33.	Observación macroscópica de enfrentamiento dual de <i>Cladosporium sp.</i> con <i>Trichoderma viride</i> .	91
Anexo 34.	Observación macroscópica de enfrentamiento dual de <i>Cladosporium sp.</i> con <i>Trichoderma harzianum</i> .	91
Anexo 35.	Recolección de muestras de plantas de quinua con síntomas.	92
Anexo 36.	Selección de muestras para efectuar cámara húmida, muestra de quinua seleccionando con síntomas de patógeno.	93
Anexo 37.	Siembra de cultivo dual de <i>Trichoderma viride</i> ante <i>Botrytis sp.</i> en Agar Quinoa Dextrosa.	93
Anexo 38.	Fitopatógeno de <i>Botrytis sp.</i> siembra en tapete.	94
Anexo 39.	Matriz de consistencia.	95

## RESUMEN

El trabajo de investigación tiene por objetivo evaluar la expresión antagónica *in vitro* de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en cinco hongos fitopatógenos aislados de *Chenopodium quinoa* Willd. *Botrytis sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Leptosphaerulina sp.*, *Phoma sp.* y *Cladosporium sp.* El estudio fue ejecutado en la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, el tipo de investigación fue básica aplicada. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar, para evaluar el efecto antagónico en los hongos se empleó la técnica del cultivo dual, para las comparaciones de promedios fueron aplicados la prueba de t de Student. Se determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PIRC), grado de micoparasitismo, cambios estructurales en el micelio y formas de micoparasitismo inducidos por los antagonistas. El porcentaje de inhibición de crecimiento radial para *Rhizoctonia sp.* ante *T. harzianum* 34,82% y *T. viride* 37,03%, para *Botrytis sp.* ante *T. viride* 16,77% y *T. harzianum* 27,36%; en *Leptosphaerulina sp.* con *T. viride* 11,18% y ante *T. harzianum* 8,36%; en *Phoma sp.* ante *T. viride* 14,77% y *T. harzianum* 7,01%; en *Cladosporium sp.*, ante *T. viride* 14,01% y *T. harzianum* 9,85%. Por micoparasitismo para *T. viride* alcanzó grado 1 contra *Rhizoctonia sp.* y *Phoma sp.*; grado 2 alcanzó en *Botrytis sp.*; grado 4 en *Leptosphaerulina sp.* y *Cladosporium sp.*, sin embargo, para *T. harzianum* alcanzó el grado 1 en *Rhizoctonia sp.*, *Botrytis sp.* y *Phoma sp.*; grado 4 en *Leptosphaerulina sp.* y *Cladosporium sp.* En observaciones microscópicas se reconoció adherencia de hifas entre antagonistas y patógenos, ligero enrollamiento, formación anticipada de rizomorfos, deshidratación y engrosamiento de hifas, fallas en esporulación, formación prematura de clamidosporas, acordonamiento de hifas y plásmolisis de citoplasmas.

**Palabras clave:** Quinoa, fitopatógeno, Trichoderma, antagonismo, micoparasitismo.

## I. INTRODUCCIÓN

La investigación desarrollada se refiere a la expresión antagónica de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* ante hongos fitopatógenos aislados de "*Chenopodium quinoa*" quinua". Trata sobre el uso de microorganismos antagónicos para el control de fitopatógenos. Los fitopatógenos que ocasionan enfermedades en la quinua son diversos y perjudiciales, lo cual fomenta la investigación de alternativas de control biológico para evitar uso de agroquímicos, como el control biológico, una tecnología positiva que permite la utilización de microorganismos antagónicos competitivos para proteger los cultivos de quinua ante los patógenos. Existe un grupo importante de hongos y bacterias que presentan efectos antagonismos con otros microorganismos y esta acción puede ser aprovechada como una forma de control biológico de patógenos vegetales.

En el mundo biológico existe una interacción continua entre patógenos potenciales y sus antagonistas, de forma tal que algunos *Trichodermas* contribuyen a que en la mayoría de los casos no se desarrollen las enfermedades en condiciones naturales; generalmente, muchos microorganismos están en equilibrio dinámico en la superficie de las plantas (Fern, 2001).

En los procesos de cultivo de la quinua, una de las preocupaciones de los productores y consumidores, incluso para la exportación, es la obtención de granos con exceso de agroquímicos nocivos, debido a la necesidad de evitar plagas y enfermedades que reducen de manera importante el rendimiento. Hoy la agricultura orgánica representa una alternativa para evitar las aplicaciones de pesticidas y fertilizantes industriales. Dos tecnologías introducidas son el control biológico y el uso de biocidas naturales. Los descubrimientos técnicos indican que existe un gran potencial de efectividad en los microorganismos benéficos, que pueden usarse para controlar insectos y patógenos fúngicos que afectan negativamente el cultivo de la quinua.

Diversas investigaciones han evidenciado que una de las formas de evitar o regular la presencia de insectos y patógenos es el uso de microorganismos antagónicos, entre los cuales destaca el hongo de género *Trichoderma*, compuesto por muchas especies que habitan en el suelo, la materia orgánica en descomposición y zonas de humedales. Estos hongos demostraron una alta capacidad en suprimir a hongos patógenos de cultivos, debido a la actividad de antagonismo que se efectiviza ejerciéndose antibiosis, micoparasitismo, y competencia.

Los hongos fitopatógenos existentes en cultivo de quinua de la región de Ayacucho, constituyó el motivo para ejecutar una prueba de expresión antagónica *in vitro* con las especies de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, con la finalidad de buscar una forma de control biológico de *Rhizoctonia sp.*, *Botrytis sp.*, *Leptosphaerulina sp.*, *Phoma sp.* y *Cladosporium sp.*, hongos aislados de enfermedades foliares y del tallo. Las pruebas de antagonismo se realizan mediante crecimiento dual en placas de Petri con medio AQD (Agar Quinoa Dextrosa). Se evaluó la inhibición de crecimiento radial de colonia, grados de invasión de colonias y formas de expresión de micoparasitismo.

La presente investigación planteó los siguientes objetivos:

#### **Objetivo general**

Determinar la expresión antagónica *in vitro* de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en cinco hongos fitopatógenos aislados de *Chenopodium quinoa* Willd.

#### **Objetivos específicos**

1. Determinar la expresión antagónica de *Trichoderma harzianum* en cinco hongos fitopatógenos aislados de *Chenopodium quinoa* Willd.
2. Determinar la expresión antagónica de *Trichoderma viride* en cinco hongos fitopatógenos aislados de *Chenopodium quinoa* Willd.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

Michel et al., (2019), en México, evaluaron la capacidad antagónica *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* para controlar la enfermedad pata prieta (*Hibiscus sabdariffa* L.), que es ocasionada principalmente por *Phytophthora parasítica* y *Fusarium oxysporum*. Estos patógenos causan pérdidas de producción en al menos 50 %. Se efectuaron prueba dual ante antagonista y patógeno. Las cinco cepas de *Trichoderma* sobrecrecieron a *P. parasítica* y cubrieron 100 % del medio; en el caso de la confrontación con *F. oxysporum*, *Trichoderma* creció sólo en dos terceras partes del medio. La confrontación entre *T. inhamatum* cepa 14 y *P. parasítica* mostró el mayor contacto entre hifas; una cepa tuvo un porcentaje de inhibición superior con 95 y 85 % para los dos patógenos. Dos cepas mostraron mayor antagonismo contra ambos patógenos por el momento al primer contacto, esporulación, crecimiento sobre los patógenos y porcentaje de inhibición.

Cárdenas et al., (2014), en Cuba, investigaron la actividad antagónica de cepas autóctonas de *Trichoderma sp.* frente a fitopatógenos de suelo. En el estudio determinaron el efecto antagónico *in vitro* de dos cepas autóctonas de *Trichoderma* T-916 y T-801 frente a cepa de *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora nicotianae* y *Sclerotium rolfsii*. Evaluaron como indicadores, los cambios en los caracteres culturales de las especies involucradas. Se observó la capacidad del antagonista de enrollar o modificar el micelio de los patógenos. Las cepas T-801 y T-916 de *Trichoderma sp.* mostraron capacidad antagónica frente a todos los patógenos evaluados.

Astorga et al., (2014), en Costa Rica, evaluaron el antagonismo de *Trichoderma sp.* contra tres patógenos importantes de ajo (*Allium sativum*): *Sclerotium cepivorum*, *Penicillium sp.* y *Pseudomonas sp.* Concluyeron que *Trichoderma* expresó un valor muy alto de inhibición del crecimiento radial de 40,21% en *S.*

*cepivorum* y de 45,03% en *Penicillium sp.*, por lo cual mencionan que es buen controlador de tales patógenos.

Ramirez et al., (2019), en Colombia, investigaron “Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma asperellum* contra *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, y *Fusarium oxysporum*”, determinaron los efectos antagónicos de dos aislados nativos de *Trichoderma asperellum* (GRB-HA1 y GRB-HA2); evaluaron el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PIRG) y el grado de micoparasitismo (grado 0–4). El aislamiento GRB-HA1 produjo un 70 % de PIRG y grado 3; el aislamiento GRB-HA2 causó un 84 % de PIRG y grado 4 de micoparasitismo contra *F. oxysporum*.

Férnandez y Suarez, (2014), en Colombia, evaluaron la capacidad antagónica de 6 aislamientos de *Trichoderma harzianum* sobre *Fusarium oxysporum*, 3 comerciales y 3 aislamientos nativos de suelo cultivado con palma de aceite. Emplearon la técnica de cultivo dual, determinaron micoparasitismo y porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR). Todos los aislamientos de *T. harzianum* superaron en crecimiento a *F. oxysporum* con radios de 7,42 Cm en cultivo dual. Mientras que el patógeno mostró un radio de 1,99 Cm. Las cepas TCN-009 y TCC-006 expresaron los mejores radios al crecer 4 veces más rápido que *F. oxysporum* y reducir 3 veces menos el radio de crecimiento del patógeno con respecto al testigo; además el mayor PICR a los 10 días obtuvo 64,61% y 65,91%.

Hoyos et al., (2019), en Chile, efectuaron una evaluación de tres aislamientos de *Trichoderma*, provenientes de la rizósfera de árboles de aguacate (*T. viride*, *T. harzianum*) para evaluar su efecto antagónico en tres patógenos (*P. capsici*, *F. oxysporum* y *R. solani*) importantes en Chile (*Capsicum annum* L.) en cultivos duales *in vitro* que intervienen en la marchitez del follaje; estos fueron obtenidos de las raíces de plantas de Chile con síntomas de marchitez. Los hongos antagonistas presentaron altos porcentajes de inhibición, *T. viride* 87,22% y *T. harzianum* con 87,8%. En las condiciones del estudio, *T. viride* y *T. harzianum*, resultaron microorganismos antagónicos eficientes contra los fitopatógenos.

Sucaticona, (2018), en Perú, Puno. Investigó la actividad antagónica *in vitro* de los hongos *Trichoderma sp.* sobre el patógeno *Hemileia vastatrix* causante de la roya del café. Evaluó la competencia por espacio, de acuerdo al grado de crecimiento de la colonia y el grado de micoparasitismo por el grado de cobertura de la colonia del patógeno y la esporulación de los antagonistas sobre la colonia invadida. Reporta que el antagonista obtuvo crecimiento radial de 75%.

Vargas, (2014), en Perú, Arequipa. En la investigación denominada “Capacidad antagónica *in vitro* de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningiopsis* sobre *Fusarium oxysporum* F. sp. *cepae* y *Phoma terrestris*”, concluyeron en cuanto al grado de micoparasitismo, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningiopsis* un grado 4 frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* y *Phoma terrestris*. La actividad antibiótica de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningiopsis* se manifestó mediante la inhibición del crecimiento radial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* y *Phoma terrestris*; donde la mayor inhibición del crecimiento radial para *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* fue de *Trichoderma harzianum* con 33,57% y *Trichoderma koningiopsis* con 26,22%. Para *Phoma terrestris* el mayor radio de inhibición del crecimiento radial fue de *Trichoderma harzianum* con 37,01% y *Trichoderma koningiopsis* con 26,40%.

Llicahua, (2018), en Perú, Arequipa. En su tesis “Aislamiento y efecto antagonista “*in vitro*” de *Trichoderma* sp. frente a *Fusarium* sp. del cultivo de cebolla de los distritos de Santa Rita”, aisló cuatro cepas *Trichoderma*-planta sana-Santa Rita de Sigwas (TSS-1) *Trichoderma*-planta enferma-Santa Rita de Sigwas (TES-1), *Trichoderma*-planta sana Tiabaya (TST-1) y *Trichoderma*-planta enferma-Tiabaya (TET-1) y las dos cepas seleccionadas de *Fusarium oxysporum* fueron *Fusarium*-planta enferma-Santa Rita de Sigwas (FES-2) y *Fusarium*- planta enferma-Tiabaya (FET-2). Los porcentajes de inhibición del crecimiento radial fueron altamente efectivos para la cepa TSS-1 con 97,4% y efectivo para las cepas TST-1 con 90,8%, TST-1 con 86,5% y TET-1 con 76,3%.

Garrido y Vilela, (2019), en Perú, Trujillo. Investigaron la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia*, *Nakatea sigmoidea* y *Sclerotium rolfsii* y su efecto en cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de cultivos de arroz. Determinaron que la mayor acción de micoparasitismo se presentó en *Rhizoctonia*, siendo muy frecuente el enrollamiento de hifas y la penetración; en *Nakataea* se observó sólo enrollamiento y en *Sclerotium* no se observó enrollamiento. Los porcentajes de Inhibición de crecimiento radial causado por *Trichoderma harzianum* sobre los tres patógenos fueron: *Nakataea* (58,125%), *Rhizoctonia* (66%) y *Sclerotium* (42,86%).

Ayala, (2018), en Perú, Ayacucho. Evaluó el efecto antagónico *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* sp. frente a los hongos fitopatógenos *Colletotrichum* sp. y *Fusarium* sp. determinó el porcentaje de inhibición radial (PIRC) y micoparasitismo de *Trichoderma* sp. frente a las cepas de patógenos. Con las cepas nativas de



Trichoderma alcanzaron un porcentaje de inhibición de 26,32 a 45%, categoría 2 y grado de micoparasitismo 4 en *Colletotrichum sp.* En *Fusarium sp.*, las cepas nativas de *Trichoderma sp.* ocasionaron un porcentaje de inhibición que va de 28,57 a 61,11%, categorías 2 y 3, y un grado de micoparasitismo 4.

Velásquez, (2017), en Perú, Ayacucho. Evaluó el antagonismo de las especies *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en *Sclerotinia sclerotiorum*, utilizó cultivos duales con agar extractos de cayhua, apio y lechuga, peptona, K y Mg, sin incluir azúcares. Incluyó el método de ventaja de crecimiento para *Sclerotinia* en razón a su lento crecimiento en comparación a los *Trichoderma* para evaluar varias formas de respuesta del patógeno ante los antagonistas. Si no se daba ventaja de 4-5 días a *Sclerotinia*, el crecimiento de los *Trichoderma* impedía observar los efectos antagónicos; el patógeno disminuía drásticamente su crecimiento al no tolerar la alta competencia invasiva de los *Trichoderma*. En este sistema de evaluación, determinó que el medio de cultivo tiene influencia en la actividad antagónica y el crecimiento radial del patógeno, se registraron los siguientes, porcentaje de inhibición de crecimiento radial del patógeno: *T.harzianum* ante *Sclerotinia*/cayhua 83.4%, *T.harzianum* ante *Sclerotinia*/apio 78,75%, *T. harzianum* ante *Sclerotinia*/ lechuga 73,75%, *T. viride* ante *Sclerotinia*/ callhua 79,12%, *T. viride* ante *Sclerotinia*/apio 82,50%, *T. viride* ante *Sclerotinia*/ lechuga 75,87%.

## **2.2. Marco conceptual**

### **2.2.1. Antagonismo**

Un antagonista definido en sentido universal, es un oponente o un adversario; en términos de control biológico los antagonistas son agentes biológicos con potencial para interferir en cualquiera de los procesos vitales de los patógenos vegetales. En términos biológicos un antagonista es un miembro de una interacción que interfiere con la existencia de otro miembro, en su crecimiento y desarrollo (Miret, 2005).

El antagonismo es una relación adversa entre dos organismos. En fitopatología el antagonismo se produce entre un patógeno del cultivo y un microorganismo antagonista, que interactúan de modo que los daños generados por el patógeno sean menores o no se produzcan. Por interacción directa se produce el parasitismo y la depredación; la indirecta se produce cuando ambos realizan competencia por un recurso, interferencia en el crecimiento y en la reproducción (Vázquez et al., 1998).

### **2.2.1.1. Microorganismos antagonistas**

Los microorganismos antagónicos tienen la capacidad de ejercer un efecto de control biológico sobre diferentes patógenos de interés, se han empleado para tratar diversas enfermedades en frutos y hortalizas. Muchas especies de *Trichoderma* expresan grados muy significativos como antagonistas de patógenos de plantas, y se utilizan en los planes de control en campos de cultivo como en pos cosecha (FUNDESYRAM, 2020).

Un antagonista puede expresar su acción de más de una forma, es decir que puede ocurrir bajo más de un mecanismo; entre los microorganismos antagonistas del suelo encontramos géneros de hongos *Trichoderma* y *Gliocladium*, así como bacterias de los géneros *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* y *Streptomyces* (Vázquez et al., 1998).

### **2.2.2. Aspectos generales de *Trichoderma***

El género *Trichoderma* se caracteriza por integrar 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. Su plasticidad ecológica está estrechamente relacionada con la alta capacidad enzimática que poseen para degradar sustratos como un metabolismo versátil y resistencia a inhibidores microbianos. Las especies de *Trichoderma* son hongos polivalentes, tienen la capacidad de expresión como agentes en control biológico ante fitopatógenos y como estimuladores en proceso de crecimiento de plantas; estos hongos inducen el crecimiento vegetal al degradar el epispermo de la semilla al producir compuestos que mejoran la germinación y el crecimiento vegetal, acelerando el desarrollo de los tejidos meristemáticos primarios, los cuales aumentan el volumen de tejidos, los pelos radiculares, la altura, así como el peso de la planta. Los *Trichoderma* son económicamente importantes debido a sus efectos que promueven el crecimiento y el rendimiento de las plantas, como la mejora en el suministro de nutrientes y el micoparasitismo de patógenos en defensa de las plantas (Vázquez et al., 1998).

*Trichoderma* es un género que tiene un crecimiento y desarrollo rápido, las características que les distinguen como agentes antagónicos es por la producción de gran cantidad de enzimas en presencia de hongos patógenos, enzimas con actividad quimiolítica (N-acetil-glucosamidasa, quitobiosidasa y endoquitinasa) (b-1,3-glucanasa, quitinasa y proteinasa) (Rey et al., 2000).

Las colonias representativas de *Trichoderma* tienen un crecimiento rápido, en cuanto a su coloración puede variar de blanca a verde o amarillo a amarillo verdosa pudiendo presentar anillos concéntricos, *Trichoderma* produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios. Los conidios son los más viables de los propágulos empleados en programas de biocontrol (Martínez et al., 2013).

#### **2.2.2.1. Taxonomía**

La clasificación taxonómica de *Trichoderma* tiene el siguiente arreglo según (Alexopoulos et al., 1996) como:

Reino : Fungi  
División : Eumycota  
Subdivisión : Deuteromycotina  
Clase : Hyphomycetes  
Orden : Hyphales (Moniliales)  
Familia : Moniliaceae  
Género : *Trichoderma*  
Especie : *T. harzianum* Rinfai  
          : *T. viride* Pers.

#### **2.2.2.2. Características de *Trichoderma***

*Trichoderma sp.* son hongos comunes de vida libre en suelos y en los ecosistemas de raíces. Descubrimientos recientes muestran que son simbioses vegetales oportunistas y avirulentos, además de parásitos de otros hongos. Al menos algunas cepas establecen colonizaciones robustas y duraderas de las superficies radiculares, penetran en la epidermis y algunas células por debajo de este tejido. Producen o liberan una variedad de compuestos que inducen respuestas de resistencia localizada o sistémica, y esto explica su falta de patogenicidad para las plantas. Estas asociaciones raíz-microorganismo provocan cambios sustanciales en el proteoma y el metabolismo de la planta. Las plantas están protegidas de numerosas clases de patógenos vegetales mediante respuestas similares a la resistencia sistémica adquirida y la resistencia sistémica inducida por rizobacterias. La colonización de raíces por *Trichoderma sp.* también mejora con frecuencia el crecimiento y el desarrollo de las raíces, la productividad de los cultivos, la resistencia al estrés abiótico y la absorción y uso de nutrientes (Harman et al., 2004).

La conformación estructural que caracteriza a las especies de *Trichoderma*, al observar el envés del medio de cultivo las colonias son de tonalidad amarillo,

ámbar o amarillo verdoso. Producen fiálides que pueden estar dispuestos regularmente en forma de verticilos, en parejas alternadamente o en disposiciones irregulares. La estructura de las fiálides en forma de una botella delgada, es una característica de muchas especies. Las hifas pueden ser anchas y rectas o relativamente angostas y flexibles. Los conidios varían sus formas desde globosos, elipsoides, ovoidales y cilíndricos cortos. En general las variaciones de las dimensiones de los conidios en *Trichoderma sp.* no son grandes; sin embargo, las especies que son parecidas pueden ser usualmente diferenciadas en tamaño. La superficie de los conidios aparece lisa en la mayoría de las especies en observaciones a través de la luz del microscopio, aunque algunas especies tienen conidios aparentemente lisos y con estructuras adicionales. Las clamidosporas son muy comunes en las especies de *Trichoderma sp.*, y tienden a ser en forma de globo o elipse, terminal o intercalada, con olores a moho o humedad, de color amarillento o verdoso y de 6-15 µm de diámetro en la mayoría de especies (Carsolio et al., 1999); (Harman et al., 2004).

### **2.2.2.3. Mecanismo de antagonismo de Trichoderma**

Los mecanismos antagónicos que pueden exhibir las especies de *Trichoderma* son micoparasitismo, antibiosis, competencia de nutrientes e interferencias físicas en otros microorganismos (Garrido y Vilela, 2019); (Sucaticona, 2018).

#### **Micoparasitismo**

Micoparasitismo es la capacidad de un organismo de degradar y asimilar. El organismo micoparásito debe ser capaz de colonizar un hongo vivo, degradar sus paredes celulares, asimilar y nutrirse a partir del contenido celular del mismo. Toma inicio con el reconocimiento hacia el hospedante mediante la acción enzimática del micoparásito, crece directamente al hospedante, se enrolla alrededor y penetra en el micelio (Chet, 1990).

El proceso de micoparasitismo es un proceso complejo que ocurre en cuatro etapas bastante diferenciadas:

- 1. Crecimiento quimiotrófico:** el quimiotropismo positivo es el crecimiento directo hacia un estímulo químico. Es la etapa inicial, de localización del hospedante, las hifas de *Trichoderma* crecen en dirección al patógeno como respuesta a un estímulo químico, se ha demostrado que *Trichoderma* puede detectar a distancia a sus posibles hospedantes.
- 2. Reconocimiento:** se realiza a través de interacciones lectinas-carbohidratos. Las lectinas son proteínas enlazadas a azúcares o glicoproteínas las cuales

aglutinan células y están involucradas en las interacciones entre los componentes de la superficie de las células y su ambiente extracelular.

**3. Adhesión y enrollamiento:** si la respuesta de reconocimiento es positiva, las hifas de *Trichoderma* se adhieren a las hifas del hospedante mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos y apresorios, y se enrollan alrededor de éstas.

**4. Actividad lítica:** en esta etapa ocurre la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, gluconasas y proteasas, que degradan las paredes celulares y del patógeno y posibilitan la penetración de las hifas de *Trichoderma* (Wilson y Wisniewski, 1989).

La enzima  $\beta$ -1,3 glucanasa está relacionada con la degradación de la pared celular de patógenos y tiene una correlación de forma positiva entre la secreción de  $\beta$ -1,3 glucanasa y N- acetylhexosaminidasa ante la capacidad controladora de *Trichoderma*. En otras interacciones *Trichoderma* frente a *Fusarium oxysporum* logró producir polisacaridasas, proteasas y lipasas, compuestos que degradan la pared celular (Hjeljord y Tronsmo, 1998).

*Sclerotium rolfsii* obtuvo una enzima producida durante la acción parasítica de *Trichoderma*, pero no se detectó en la interacción de *Trichoderma* frente *R. solani*, lo que determina la existencia de selectividad de producción de enzimas por el antagonista en dependencia del agente patógeno (Mendoza et al., 2015).

En algunas ocasiones las hifas de patógeno y antagonista pueden compartir espacios sin llegar a parasitar, por ello en cultivo dual, el crecimiento de *Trichoderma* sobre el patógeno no es garantía de alta capacidad parasítica (Martínez et al., 2013).

### **Antibiosis**

Existe muchas razas de *Trichoderma* que producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben otros microorganismos con los que no hacen contacto físico, tales sustancias inhibitorias son consideradas antibióticos; esta actividad ha sido utilizada para regular o anular la actividad de otros microorganismos en el tratamiento de enfermedades de plantas o aplicadas al suelo o fuentes de agua para reducir sus poblaciones (Druzhinina et al., 2005).

Antibiosis es la acción directa ante un organismo mediante la producción de metabolitos tóxicos o antibióticos, cualidad microbiológica común en diversos ambientes y que es una particularidad en muchos ecosistemas y muy frecuente en hongos que habitan el filoplano y el laimoplano de las plantas (Samuels et al., 2004).

La secreción de metabolitos secundarios de *Trichoderma* inhibe el crecimiento y el desarrollo de otros microorganismos, no es necesario que tengan contacto físico, se identificaron compuestos del tipo de las alquil-pironas (6- $\alpha$ -pentil-pirona), isonitrilos (isonitrina), poliquétidos (harzianolida), peptabioles (trichodermina), atroviridina, alameticina, suzucacilina y trichoizianina, dicetopiperacinas (gliovirina y gliotoxina), sesquiterpenos (ácido heptelídico) y esteroides (viridina) (Pitt y Hocking, 1997).

### **Competencia**

*Trichoderma* está biológicamente adaptado para una colonización agresiva de los medios o ambientes donde existen nutrientes disponibles para sobrevivir en forma de clamidosporas o conidios cuando éstas son escasas. La rápida velocidad de crecimiento, esporulación abundante y rango amplio de sustratos sobre los que puede crecer, hace que sea muy eficiente como saprófito (Druzhinina et al., 2005).

### **Inducción de Resistencia**

Algunas cepas de *Trichoderma* puede llegar a activar una acción o mecanismo nativo de defensa, como inducción de resistencia sistemática en plantas. Esto supone que puedan controlar a patógenos distantes del lugar donde se encuentra físicamente el antagonista. Diversas clases de compuestos pueden ser liberados por *Trichoderma* en la zona de la rizósfera y estar relacionados con la inducción de resistencia en las plantas (Martínez et al., 2013).

#### **2.2.2.4. *Trichoderma harzianum***

Las colonias de *Trichoderma* tienen un radio de 5 a 6 Cm, con apariencia aterciopelada en sus etapas tempranas, el micelio presenta un color blanco sin embargo eventualmente pueden desarrollar un color blanco verdoso hasta dar una tonalidad verde oliva, además produce la formación de anillos concéntricos formados por esporulación alternada en el tiempo. Las fiálides presentan forma de botella debido a que son más anchos en la base y delgados en el ápice. Los conidióforos tienen estructuras muy ramificadas en forma piramidal, los conidios son esferoidal o subesferoidal. Las clamidosporas presentes en colonias viejas como micelio de forma globosas y de pared lisa (FUNDESYRAM, 2020).

#### **2.2.2.5. *Trichoderma viride***

Las colonias en su etapa inicial formaron pústulas algodonosas de un color blanco, posteriormente se compactan y esporulan tomando un color verde claro cenizo con textura granular, con conidióforos ramificados. Al inverso de las colonias es visible una coloración marrón-amarillenta, esto debido a la producción de cristales de color amarillo. Las fiálides presentan forma alargada y delgada, algo anchas

en el centro y con un cuello alargado de color hialino. Los conidios tienen forma ovoidal y a veces globosa, además tiene un color verde claro y los bordes lisos (Cerna, 2012).

### **2.2.3. La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.)**

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) ha sido descrita por primera vez en sus aspectos botánicos como una especie nativa de Sudamérica, cuyo centro de origen se encuentra en los Andes de Bolivia y Perú, en la actualidad la quinua se encuentra en proceso de expansión porque representa un gran potencial para mejorar las condiciones de vida de la población de los Andes y del mundo moderno, Willdenow en 1778 citado por (Singh, 2019).

La demanda de la quinua tanto en el mercado nacional e internacional ha crecido en los últimos años por su gran valor nutritivo y ha generado gran interés entre los agricultores, empresas agroindustriales, instituciones públicas y privadas, nacionales e internacionales. Debido al elevado contenido de aminoácidos esenciales de su proteína, que se encuentran muy cerca de los estándares de nutrición humana establecidos por la FAO (Collazos, 2018).

#### **2.2.3.1. Taxonomía quinua *Chenopodium quinoa* Willd.**

Informa que la quinua tiene la siguiente posición taxonómica según (Singh, 2019)

Reino : Vegetal  
División : Fanerógamas  
Clase : Dicotiledóneas  
Orden : Angiospermas  
Familia : Chenopodiáceas  
Género : *Chenopodium*  
Sección : Chenopodia  
Subsección : Cellulata  
Especie : *Chenopodium quinoa*, Willd.

#### **2.2.3.2. Características de patógenos observados en *Chenopodium quinoa* Willd. en Ayacucho**

La quinua como cualquier otra especie vegetal está expuesta a una serie de enfermedades, aún en aquellas zonas donde las condiciones ambientales son extremas en cuanto a temperatura y altitud, lo que generalmente ocurre en los Andes peruanos. Los fitopatógenos tienen hábitos específicos cuando afectan a una planta; existen patógenos radiculares, vasculares; aquellos que afectan tejido lignificado, o sea el tallo; los que afectan exclusivamente el follaje y los que se

especializan en la semilla. Esto se debe a su hábito alimenticio y al tipo de enzimas que producen; éstas desintegran un determinado tipo de tejido o hidrolizan sustancias orgánicas. Un patógeno radicular es aquel que destruye las raíces, las desintegra o pudre. Los patógenos vasculares obstruyen o desintegran los vasos conductores e impiden la libre circulación de solutos dentro de la planta. Los patógenos que afectan el tallo producen lesiones necróticas o canchales, desintegrando el tejido por acción de enzimas y toxinas. Los patógenos de hábito foliar desintegran el tejido, destruyen la lámina media y la pared celular por actividad enzimática y tóxica. Casi la mayoría de patógenos de la quinua se transmiten por la semilla lo cual es de gran importancia en el cultivo. En Ayacucho se han determinado las enfermedades que afectan a la quinua en campos comerciales; entre ellas se encuentran el mildiú (*Peronospora farinosa*), la mancha ojival del tallo, pudrición marrón del tallo (*Phoma sp.*), la mancha foliar (*Ascochyta hyalospora*), la chupadera (*Rhizoctonia solani*), el punto negro (*Cladosporium sp.*), la mancha foliar (*Leptospaherulina sp.*) y la pudrición de tallos por *Botrytis cinerea* y *Sclerotinia sclerotiorum* (Barrantes, 2017).

#### **A. *Botrytis sp.***

*Botrytis* es el agente causal de la enfermedad del moho gris, que puede causar severas necrosis si las condiciones de humedad y susceptibilidad son favorables; es un invasor de tejidos y es considerado patógeno primario debido a que puede penetrar directamente en su hospedante a través de su cutícula. Produce un rápido atizonamiento, marchitamiento y necrosis de los brotes foliares y florales; en frutos, causa la "pudrición gris". Estas infecciones, se producen en ambientes fríos y húmedos. Sus estructuras son conidióforos, conidias y esclerocios formados de un micelio con hifas engrosadas de color marrón claro a gris. El micelio es ramificado; los conidióforos son erguidos y libres, formando estructuras delgadas y del tipo ramificado. Los conidios son hialinos o levemente coloreados, unicelulares, ovoides o esféricos, que se forman sobre pequeños esterigmas en el extremo de conidióforos ramificados. Los esclerocios son estructuras de conservación y está constituido por filamentos de micelio entrelazado y apretado, formando una estructura de consistencia dura de color negro (Milanca, 2001).

Clasificación taxonómica de *Botrytis cinerea* según (Benito et al.) es la siguiente:

Reino : Fungi  
Subreino : Dikarya  
División : Ascomycota



Clase : Leotiomycetes  
Subclase : Leotiomycetidae  
Orden : Helotiales  
Familia : Sclerotiniaceae  
Género : Botryotinia  
Especie : *Botrytis sp.*

Las plantas severamente afectadas con *Botrytis cinerea* tiene conidias elipsoidales que miden 17-22 x 11-17  $\mu\text{m}$  y todos los aislamientos formaron abundantes esclerotes negros, esféricos a oblongos de 1 – 3 mm., los conidios se forman con facilidad en medios de cultivo y conservan su patogenicidad cuando se reinoculan en hospedantes susceptibles. Es una característica que le permite conservarse en el ambiente, pero se reducen notablemente cuando no existen cultivos resistentes, permaneciendo como esclerotes en el suelo por largos periodos de tiempo (Koike et al., 2006).

*Botrytis cinerea* es un hongo fitopatógeno importante que infecta una amplia variedad de plantas y que puede hacer uso de diferentes mecanismos de infección, infecta más de 200 especies vegetales distintas, determinando serias pérdidas económicas antes y después de la cosecha. El patógeno puede afectar al cultivo en cualquier estado de desarrollo del mismo y puede infectar cualquier parte de la planta. Debido a la considerable incidencia del patógeno y a las repercusiones económicas que tiene en cultivos de importancia (frutales y hortalizas) (Benito et al., 2000).

El ciclo de infección las esporas de *B. cinerea* pueden ser producidas sobre cualquier material vegetal y transportadas grandes distancias por corrientes de aire. Es un hongo cosmopolita, ubicuo y sumamente polífago, que sobrevive como saprófitos en restos vegetales, así como, en forma pasiva, como esclerocios. Sobre el tejido infectado el patógeno produce una nueva generación de esporas que pueden iniciar un nuevo ciclo de infección (SINAVIMOP, 2002).

*Botrytis cinerea* produce abundante micelio gris y varios conidióforos largos y ramificados, cuyas células apicales redondeadas producen racimos de conidios ovoides, raras veces irregulares de 12.5-24 x 10-16  $\mu\text{m}$ , unicelulares, incoloros o de color gris. Los conidióforos y los racimos de conidios se asemejan a un racimo de uvas. El hongo a menudo produce esclerocios irregulares, planos, duros y de color negro. Algunas especies de *Botrytis* producen a veces una fase perfecta de Sclerotinia, en que las ascosporas se forman en un apotecio (Capelo, 2010).

### **B. *Rhizoctonia* sp.**

*Rhizoctonia* varían un poco en los diferentes cultivos e incluso en una misma planta hospedante, en la mayoría de las plantas son el ahogamiento de las plántulas y la pudrición de la raíz, así como la pudrición y la cancrrosis del tallo de las plantas adultas y en proceso de crecimiento. En la mayoría de casos, se observan signos de la enfermedad como costras negras (esclerocios oscuros y aplanados sobre los tubérculos); puede desarrollarse daños en brotes jóvenes (podredumbre, lesiones hundidas de color rojizo o gris); las lesiones en tallos y estolones son de color marrón rojizo y al madurar se convierte en cancros. El patógeno un micelio estéril (no fructifica) e incoloro en etapa juvenil, pero se torna amarillo o de color café claro conforme madura; el micelio consta de células largas, ramificadas que crecen casi en ángulo recto con respecto a la hifa principal, y se estrechan ligeramente a nivel de la bifurcación. Las células son multinucleadas o binucleadas; el crecimiento de *R. solani* es muy rápido y produce células monilioides, pequeñas, ovales en cadenas ramificadas o agrupaciones que integran los esclerocios. La formación de esclerocios inicialmente claros, toman color marrón claro, marrón anaranjado conforme maduran. No produce esporas asexuales (conidios) y únicamente en condiciones especiales produce basidiosporas. En la naturaleza, *R. solani* se reproduce asexualmente y existe como micelio vegetativo, el cual forma estructuras de resistencia o esclerocios, que son masas de hifas estrechamente entrelazadas con superficies duras y resistentes (Restrepo y Peñuela, 2002).

Clasificación taxonómica de *R. solani* según (Cotes, 2010) es la siguiente:

Reino : Fungi  
Subreino : Dikarya  
División : Basidiomycota  
Clase : Agaricomycetes  
Subclase : Agaricomycetes  
Orden : Cantharellales  
Familia : Ceratobasidiaceae  
Género : *Rhizoctonia* DC.  
Especie : *R. solani*

El género *Rhizoctonia* es muy complejo desde el punto de vista taxonómico y se puede considerar como un grupo artificial. Los criterios que permiten delimitar morfológicamente el género *Rhizoctonia* sp. son:

1. La presencia de una hifa relativamente gruesa, que cuando es joven se ramifica formando un ángulo agudo, el cual pasa a ser recto al madurar el hongo.
2. En el estudio sobre el desarrollo y la ontogenia de los esclerocios. Ambos aspectos fueron considerados.

Las características relevantes del género *Rhizoctonia* son: El ángulo recto o casi recto es distintivo y la formación de esclerocios inicialmente claros, sin septos y luego toman color marrón claro, marrón anaranjado (Restrepo y Peñuela, 2002).

Características morfológicas de las hifas: ramificación en ángulo recto, constricción de la ramificación y formación de un septo cerca del punto de origen, se verificó la presencia de células moniloides y células multinucleadas, además del diámetro de las hifas (Giovannini et al., 2005).

El objetivo del aislamiento monomicelial *R. solani* es obtener una cepa del hongo genéticamente pura (Castellanos et al., 2005).

*Rhizoctonia solani* perteneciente a la Clase Basidiomycetes, no produce esporas asexuales (conidios) y únicamente en condiciones especiales produce basidiosporas. En la naturaleza *R. solani* se reproduce asexualmente y existe como micelio vegetativo, el cual forma estructuras de resistencia o esclerocios, que son masas de hifas estrechamente entrelazadas con superficies duras y resistentes. El estado sexual se conoce como *Thanatephorus cucumeris*. Puede afectar 250 especies de plantas en campo y en almacenamiento. Este fitopatógeno se presenta en casi todos los suelos porque tiene una amplia gama de hospedantes; sobrevive en los residuos de plantas y en forma de esclerocios. Se desarrolla a temperaturas muy diversas en zonas cálidas, templadas y frías. La rizoctoniasis es una enfermedad persistente, muy adaptable, versátil y con capacidad de causar daños importantes al tejido vegetal colonizado, logrando ocasionar lesiones importantes (Cotes, 2010).

*Rhizoctonia solani* tiene un crecimiento rápido y al envejecer el micelio se forman muchos rizomorfos como estructuras adicionales de supervivencia. En el micelio se producen células moniloides, pequeñas, ovales en cadenas ramificadas o agrupaciones. Grandes agregaciones de estas células forman esclerocios de color negro a marrón y 3 - 5 mm de largo. Afecta plántulas jóvenes a nivel de radícula e hipocotilo causando chupaderas (Uchida, 2010).

*Rhizoctonia solani* es la especie más estudiada dentro del complejo biológico del género *Rhizoctonia* y la mayoría de los estudios se han basado en este taxón. Se encuentra dividida en 14 grupos de anastomosis, que se subdividen en subgrupos

según caracteres morfológicos, patológicos, bioquímicos y moleculares. Este taxón puede afectar a más de quinientos géneros de plantas superiores y provocar muerte de plántulas o chupaderas, lesiones necróticas en raíces, semillas y tallos, además de daños foliares (González, 2008).

*Rhizoctonia solani* Kühn es un patógeno de distribución cosmopolita, nativo del suelo, que afecta a un gran número de hospedantes, principalmente cultivos anuales. *Rhizoctonia solani* es una especie compleja que comprende cepas con una apariencia altamente variable en cultivos axénicos, así como en el ancho de hifas, morfología de esclerocios, formación de rizomorfos, patogenicidad y susceptibilidad a fungicidas (Meza, 2011).

Rhizoctonia no causa pudriciones; su daño está limitado a brotes y estolones. Todas las especies se mantienen en el suelo como saprófitos o en estado de latencia hasta que se establezca un hospedante susceptible (Loria et al., 1983).

### **C. *Leptosphaerulina* sp.**

El género *Leptosphaerulina* sobrevive como endófito asintomático en sus hospedantes hasta que las condiciones sean favorables para causar infecciones (Suryanarayanan y Murali, 2006).

*Leptosphaerulina* en leguminosas, ataca en los raíces, coronas, tallos, hojas, flores, vainas y semillas. Los efectos negativos más altos se determinaron en el follaje, semilla y podredumbre de la corona, disminuyendo la densidad de los cultivos y la edad de uso rentable de los cultivos (Approved, 2015).

La patogenicidad de *Leptosphaerulina* sp. aun muestra relaciones variadas en distintos hospedantes, lo cual depende de las condiciones especiales que logren favorecer las infecciones y sobre todo que los hospedantes tengan la susceptibilidad correspondiente. Se reportaron en especies de dicotiledóneas la susceptibilidad a especies de *Leptosphaerulina*, es más marcada que en monocotiledóneas (Liang et al., 2021).

*Leptosphaerulina trifolii* causa necrosis en las hojas de grasses, tanto en el pecíolo como en ambas caras del limbo foliar, aparecen lesiones pequeñas, negras y definidas, en el centro es pardo y bordes más oscuros. Las ascosporas germinan en las hojas y atraviesan directamente la cutícula y se establecen en el parénquima foliar. El hongo forma peritecios en las lesiones foliares. Las ascosporas son muriformes de color marrón pálido con septos transversales y longitudinales. Las ascas tienen pared bitunicada y 8 ascosporas, las cuales se descargan con fuerza a través de un poro en el ápice del peritecio, son de color

hialino a marrón. El hongo sobrevive a un período adverso como pseudotecios o como micelios en restos de plantas y sobreviven en asociación con otros patógenos del césped (Abler, 2003).

Las especies de *Leptosphaerulina* tienen ascomas papilados y ostiolados, que están sumergidos o son errumpentes. Las ascosporas son oblongas a cilíndricas, generalmente muriformes y principalmente hialinas, pero se vuelven marrones en la madurez (Weilan et al., 2018).

La clasificación taxonómica actualizada de *Leptosphaerulina sp.* (Abler, 2003). corresponde a la siguiente descripción:

Reino : Fungi  
Subreino : Dikarya  
División : Ascomycota  
Clase : Dothideomycetes  
Subclase : Pleosporomycetidae  
Orden : Pleosporales  
Familia : *Didymellaceae (Leptosphaeriaceae)*

*Leptosphaerulina* conformado por pseudotecios inmersos en las hojas, globosos y errumpentes por el ápice a través de un ancho poro de 120-200 µm de diámetro. Ascas con ocho ascosporas de 25-50 x 10-20 µm, de color pardo pálido, ovoides y ligeramente constreñidas en los 3 o 4 septos transversales; pueden tener hasta 2 septos longitudinales (Laserna, 2017).

Las mejores combinaciones de hongos en términos de producción de enzimas, se seleccionaron a partir de experimentos con medios sólidos, los ensayos en medios sólidos evidenciaron que *Trichoderma viride* y *A. terreus* son las mejores especies inductoras. Estos resultados indican que en cultivos conjuntos de hongos puede inducirse enzimas ligninolíticas en *Leptosphaerulina* (Ledys, et al., 2019).

#### **D. *Phoma sp.***

Síntomas causados por especies de *Phoma*, el hongo afecta en tejidos suculentos de las hojas en desarrollo de brotes terminales y se extienden a lo largo de los tallos y ramas laterales; las lesiones del tallo son grandes y negras, en algunas ramas donde se forman los chancros se ve la corteza fracturada e impregnada de resina, por lo cual estas lesiones desarrollan cuerpos fructíferos conocidos como picnidios. El proceso de infección ocurre cuando las esporas transportadas por medios físicos, germinan sobre los tejidos del hospedante y su tubo germinativo penetra por los estomas o heridas formando un apresorio y luego forman hifas que

colonizan los tejidos parenquimáticos. Como características morfológicas distintivas, *Phoma sp.* tiene micelio hialino y ramificado; los picnidios son cuerpos fructíferos asexuales, de forma redonda, ostiolados y de un tono oscuro; las clamidosporas son unicelulares hialinas o ligeramente oscuras; las picnidiosporas son unicelulares de forma ovalada y hialinas. Las colonias tienden a ser polvorizadas o aterciopeladas en textura, mientras que la pigmentación puede variar de gris verdoso a marrón oscuro (Bennett et al., 2018); (Patil et al., 2012).

*Phoma sp.* es un género de hongos comunes del suelo, con especies saprofitas y patógenas; sus esporas son incolores y unicelulares. Los picnidios son negros y algo aplanados en los tejidos del hospedante; la forma se limita arbitrariamente a aquellas especies en las que las esporas tienen menos de 15 µm. La infección se ve favorecida por la alta humedad y la lluvia, que ayudan a la propagación (OEPP/EPPO, 1984); (Patil et al., 2012).

La clasificación taxonómica de *Phoma sp.* según (Liatukienė et al., 2010); (Boerema et al., 2004) es la siguiente:

Kingdom : Fungi  
Division : Ascomycota  
Class : Dothideomycetes  
Subclass : Pleosporomycetidae  
Order : Pleosporales  
Family : Didymellaceae  
Genus : *Phoma sp.*

Tizón foliar en plantaciones de tomate en Vicosa de Minas Gerais, con síntomas graves de necrosis. Se encontró repetidamente un picnidial coelomiceto asociado con los tejidos necróticos, el patógeno fue diagnosticado como *Phoma destructiva*. Las pruebas de patogenicidad mostraron que, después de 5 días, se desarrollaron síntomas severos de tizón en hojas, flores y tallos. En condiciones ambientales favorables, cepas agresivas de *P. destructiva*, pueden convertirse en amenazas importantes para el colapso de las plantaciones de tomate en Brasil (Colmán et al., 2018).

*Phoma* es un género de hongos dentro de la clase Coelomycetes. Estos hongos se recuperan común y frecuentemente en cultivo de todas las situaciones ecológicas, pero son muy difíciles de identificar (Boerema et al., 2004).

*Phoma* es el género más ampliamente distribuido y omnipresente del orden Pleosporales y el género más grande con unos 3.000 taxones descritos hasta

ahora. De éstas, aproximadamente 110 especies son patógenas y ocupan variados nichos ecológicos. Los hongos pertenecientes a *Phoma* afectan en plantas de cultivo que son económicamente importantes, donde causan enfermedades devastadoras de las plantas, Causan síntomas que van desde el tizón de las hojas hasta la pudrición de las raíces e incluso el marchitamiento de la planta. En los residuos de cultivos infectados y los rastros del campo, el patógeno produce abundantes picnidios y pseudotecios que sirven como fuente de inóculo primario, mientras que los cultivos repetidos de conidios producidos dentro de los picnidios son la principal fuente de infección secundaria durante la misma temporada de crecimiento. Después de una infección exitosa, el patógeno produce varias fitotoxinas que alteran la eficiencia fotosintética y las funciones basadas en el citoesqueleto de actina, y provocan una fuga de electrolitos de las células (Deb et al., 2020).

*Phoma* forma conidios (esporas asexuales), picnidios (cuerpos fructíferos asexuales) y clamidosporas (células vegetativas agrandadas de pared gruesa). *Phoma sp.* generalmente se encuentra en el suelo, materia orgánica, plantas y fuentes de agua. Las colonias tienden a ser polvorientas o aterciopeladas en textura, mientras que la pigmentación puede variar de gris verdoso a marrón. *Phoma sp.* en cultivo *in vitro* produce clamidosporas, conidios y conidiomas picnidiales (estructuras que ayudan en la dispersión de conidios) (Bennett et al., 2018).

Los síntomas causados por *Phoma costarricensis* presentan pequeñas manchas necróticas en los lados abaxial y adaxial de las hojas infectadas, con manchas que se agrandan para formar áreas redondas de 6 a 9 mm de diámetro y estaban bien definidas por un margen negro oscuro. Las hojas gravemente infectadas se marchitan sin desprenderse. No se observaron síntomas en otras partes de la planta. Después de 6 días, se desarrollaron picnidios negros, de tamaño variable, liberando abundantes conidios hialinos y elípticos que medían de 3 a 4 × 1.5 a 2 µm. (Patil et al., 2012).

Los síntomas por *Phoma sorghina* en trébol comienzan como pequeñas manchas circulares blancas en las superficies inferiores y superiores de las hojas. Las manchas circulares aumentan de tamaño (entre 1 y 2 mm de diámetro) y se convierten en lesiones irregulares, de color marrón pálido. El examen microscópico de las manchas reveló la presencia de picnidios (70-200 µm de ancho) tanto en la superficie inferior como superior de las hojas (Bakır y Sümbül, 2004).

Los síntomas de tizón en el tallo por *Phoma* en girasol, los síntomas aparecen por primera vez después de la floración. Los síntomas de la enfermedad aparecen inicialmente en las bases de los pecíolos de las hojas y se extienden a lo largo de los tallos. Las lesiones del tallo son grandes (hasta varios centímetros de largo) y negras, y con frecuencia se unen en áreas grandes y ennegrecidas (Schwartz y Gent, 2016).

*Phoma andina* causa una forma de mancha necrótica foliar en la papa, las lesiones son típicamente negruzcas. Microscópicamente, se pueden ver picnidios de color claro (diámetro 125-200  $\mu\text{m}$ ) incrustados en el tejido afectado. Sólo los ostiolos emergen a través de la epidermis, en etapas posteriores de la infección, numerosas lesiones pequeñas pueden unirse, por lo que las hojas se tornan negruzcas y aparecen chamuscadas. Los picnidios liberan conidios de dos tamaños diferentes: 14-22 x 5-7  $\mu\text{m}$  y 6-8 x 2.0-2.6  $\mu\text{m}$ . Los pequeños conidios no son infecciosos y no germinan en medios artificiales (OEPP/EPPO, 1984).

#### **E. *Cladosporium* sp.**

El género *Cladosporium* involucra miembros epífitos saprófitos cosmopolitas que puede invadir los tejidos senescentes de muchas plantas; las enfermedades se presentan cuando las plantas se encuentran en estado de maduración; los síntomas se inician en las hojas o frutos en maduración y consisten de necrosis localizadas (Bustan et al., 2007).

Algunas especies de *Cladosporium* pueden ser patógenos que causan sarnas, así como manchas necróticas y tizones en las hojas, afectando hojas en desarrollo, brotes, frutos en maduración. Las colonias son de crecimiento relativamente lento, producen colonias de color verde oliva a marrón o negro. El micelio consiste en hifas septadas ramificadas, con paredes celulares que consisten principalmente en glucano y polisacáridos de quitina; los conidioforos son abundantes y pigmentados. Los conidios germinan y forman hifas delgadas que crecen al azar sobre la superficie de la hoja, tienen pigmentación oscura y se forman en cadenas simples o ramificadas. Los *Cladosporium* patógenos no penetran en las células hospedantes en ninguna etapa de su ciclo de vida, aunque se observa que las hifas crecen en contacto cercano con las células mesófilas (Walker et al., 2018).

*Cladosporium* producen colonias de color verde oliva a marrón o negro, y tienen conidios de pigmentación oscura formados en cadenas simples o ramificadas. Algunas especies de *Cladosporium* son patógenos de plantas, otras parasitan otros hongos y la mayoría son saprófitos. Las esporas de *Cladosporium* en



cadenas son muy frágiles y extremadamente abundantes en el aire; son dispersadas por el viento (Asan et al., 2016).

Informa que la clasificación taxonómica de *Cladosporium sp.* según (Asan et al., 2016) tiene la siguiente:

Reino : Fungi  
División : Ascomycota  
Clase : Dothideomycetes  
Orden : Capnodiales  
Familia : Davidiellaceae  
Género : Cladosporium  
Especie : *Cladosporium sp.*

Los micelios de lento crecimiento tenían una apariencia aterciopelada, y su color variaba entre marrón oliva y gris ahumado a oliva y casi negro, colores que también tiene las colonias obtenidas *in vitro*. (Hyeon-Nam et al., 2015).

Síntomas de una enfermedad foliar en *C. leptosepala* (caléndula, Ranunculaceae) consistieron en manchas necróticas en hojas y pecíolos, de color marrón a marrón oscuro, con o sin un halo clorótico. La forma de las lesiones es circular a ovalada, y en las hojas tenían generalmente de 1 a 14 mm de diámetro. Las lesiones a veces se unían para formar manchas grandes, la gravedad de la enfermedad pareció ser mayor durante los veranos con precipitaciones relativamente altas que en los veranos con menos humedad (Johnson et al., 2008).

El estudio de una mancha foliar observada en las hojas de *Aloe vera* (sábila) en viveros y jardines botánicos. Los síntomas aparecieron como manchas circulares, ovaladas, marrones, hundidas en la superficie abaxial de las hojas. Las colonias en PDA eran aterciopeladas, de color oliváceo oscuro a negro verdoso, que se identificó como *Cladosporium sphaerospermum* Penzig (Avasthi et al., 2016).

*Cladosporium* es más comúnmente un saprófito, que vive del tejido vegetal en descomposición y muestra gran versatilidad en distintos ambientes por su gran capacidad de supervivencia en medios adversos. (Talbot et al., 2005).

Síntomas de pequeñas manchas marrones de aspecto húmedo cerca de las puntas de las hojas de iris (*Iris germanica*, *I. japonica*), causadas por el anamorfo *Cladosporium iridis* que se vuelven de forma ovalada y desarrollan un halo amarillo. En las manchas de las hojas pueden verse micelio de color marrón grisáceo (Hansen y Tech, 2014).

Las manchas foliares causadas por *Cladosporium sp.* son pequeñas cuando están en hojas, ramas y frutos, pero pueden expandirse y fusionarse, lo que lleva a la

defoliación, también pueden producirse abortos y pérdidas en la calidad de la fruta y la consiguiente disminución de la productividad (Walker et al., 2018).

*Cladosporium fulvum* es un hongo biotrófico de tipo no obligado; puede cultivarse *in vitro* en medios simples. Las colonias que aparecen son fuertemente pigmentadas, verdosas a negras y de crecimiento relativamente lento. Los conidios pigmentados de una o dos células están presentes en cadenas largas y ramificadas, que surgen de los conidióforos pigmentados. Ingresa en la hoja de tomate por estomas abiertos y crecen en los espacios intercelulares del mesófilo mediante la formación de estructuras hifales largas y ramificadas. El crecimiento fúngico parece estar dirigido preferentemente hacia los tejidos vasculares, probablemente desencadenado por un gradiente de sacarosa alrededor del floema. Algunas veces, pero solo en etapas posteriores de la infección, el parénquima empalizada es invadido (Thomma et al., 2005).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación del lugar de muestreo

Departamento: Ayacucho

Provincia : Huamanga

Distritos : Chiara (Manallasacc), Acocro (Chontaca), Quinua, Socos.

#### 3.2. Lugar de ejecución

El trabajo de investigación se desarrolló en el laboratorio de Microbiología Ambiental de la Facultad de Ciencias Biológicas y en laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH).

#### 3.3. Materiales

*Material biológico*

- *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*.
- Fitopatógenos de quinua (*Botrytis sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Leptosphaerulina sp.*, *Phoma sp.* y *Cladosporium sp.*

#### 3.4. Diseño metodológico

##### 3.4.1. Recolección de muestra

La colección de muestras se inició observando los signos y síntomas en plantas de quinua enfermas; se tomó fotografías de las muestras; cada muestra fue trasladada en una bolsa de polietileno estéril.

##### 3.4.2. Procesamiento de las muestras recolectadas

Las muestras se inspeccionaron visualmente para hallar la zona afectada donde se evidenciaron los síntomas, las observaciones se realizaron de forma macroscópica y bajo estereoscopio, para así evidenciar la presencia de los signos, esporulación y cuerpos fructíferos. El trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Escuela Profesional de Agronomía.

### **3.4.3. Aislamiento de hongos fitopatógenos**

El aislamiento se realizó a partir de estructuras fungosa que se encontraron en la superficie del vegetal (signo), se realizó siembra directa sobre la placa con medio APD; con la ayuda del estereoscopio y una aguja estéril; luego se tomó un pequeño fragmento de la estructura fúngica del hongo, y se procedió la siembra por puntura sobre el medio APD, y se incubó a 25°C por 4 a 7 días, luego de este tiempo se observaron las características culturales de las colonias.

En las muestras que no se observaron estructuras macroscópicas se dejó en cámara húmeda, que consistió en usar un recipiente de plástico desinfectado con alcohol 70%, en cuyo fondo se colocó papel absorbente humedecido con agua destilada y una placa estéril, sobre el cual se colocó la muestra y se procedió a tapar ligeramente el recipiente, se mantuvo a temperatura ambiente durante 5 días, hasta evidenciar la presencia de crecimientos fungosos; posteriormente se procedió a efectuar el cultivo de tejidos en medio APD.

### **3.4.4. Obtención de cultivos puros de hongos**

Se identificó la presencia de colonias patógenas en los cultivos, se extrajeron las estructuras fungosas para repicarlos en medio APD, a partir de los cuales se obtuvo colonias purificadas. Los hongos antagonistas *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* fueron adquiridos con fines de investigación de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

### **3.4.5. Procedimiento de caracterización e identificación de patógenos**

Después de haber obtenido las colonias puras, se realizó las observaciones microscópicas para caracterizar y determinar las estructuras de los patógenos aislados. Para la identificación se utilizaron las siguientes claves de hongos fitopatógenos:

Ellis, para hongos dematiáceos hifomicetos, Barnett y Hunter para hongos moniliales, sphaeropsidales, melanconiales y mycelia sterilia, Barron para hongos hifomicetos, Parmenter para Rhizoctonia, Sutton para hongos Phoma, Hanlin para hongos ascomicetos (*Leptosphaerulina*).

### **3.4.6. Siembra de hongos fitopatógenos y antagonistas en AQD**

Para establecer la igualdad de oportunidades en crecimiento de los hongos, se sembraron en medio Agar Quinua Dextrosa (AQD), en razón a las amplias diferencias en la velocidad de crecimiento de las colonias de los hongos patógenos ante los antagonistas.

### **3.4.7. Obtención de Trichoderma y fitopatógenos en tapete y block de gelosa (Araújo et al., 2001)**

El inóculo se preparó a partir de la cepa de hongo patógeno y cepas antagónicas (Trichoderma) en Agar Quinoa Dextrosa (AQD) y se incubó a 25°C x 4-8 días.

Pasado el tiempo se cosecharon las esporas, hifas; con un hisopo estéril, luego se deslieron en 2mL de solución salina fisiológica estéril hasta una turbidez de 0,5 en la escala de Mc Farland. Luego se procedió a sembrar en placa con AQD utilizando un hisopo estéril mediante estriaciones en tres direcciones y luego se incubó a 25°C x 4-8 días para obtener crecimiento en forma de tapete (crecimiento uniforme y con producción de antibiótico). Finalmente, se obtuvo blocks o disco usando un sacabocado.

### **3.4.8. Proceso de aplicación de la técnica de cultivo dual**

#### **a) Técnica de cultivo dual para hongos de crecimiento rápido (Fokkema, 1978)**

En una placa de Petri de 90 x 15 mm con medio de cultivo AQD y con ayuda de un asa kolle se colocó un disco de 6 mm de diámetro de colonia del hongo patógeno, y al otro extremo un disco de 6 mm de colonia del antagonista. Se procedió a incubar a 25 C° durante 4 días.

Después de los crecimientos fungosos se realizó la medida del porcentaje de inhibición y la comparación con el testigo.

#### **b) Técnica de cultivo dual para hongos de crecimiento lentos**

El crecimiento de los hongos y la expresión del antagonismo se evaluó mediante el procedimiento de crecimiento dual *in vitro* en medio Agar Quinoa Dextrosa (AQD) según las necesidades de los hongos patógenos por sus hábitos de crecimiento. En una placa de Petri de 90 x 15 mm con medio de cultivo AQD, se colocó un disco de 12mm de diámetro de colonia del hongo patógeno y al otro extremo un disco de 12 mm de colonia del antagonista, las placas incubaron a 25°C.

La siembra del antagonista se realizó en función del tiempo de crecimiento de los patógenos, porque unos son lentos y otros rápidos. Para *Leptosphaerulina sp.*, *Phoma sp.* y *Cladosporium sp.* se dio 6 días de ventaja para su crecimiento, después se sembró el antagonista y se incubó a 25°C por 5 días, hasta evidenciar el encuentro de ambas colonias.

### 3.5. Tipo de investigación

#### 3.5.1. Tipo

Básica aplicada

#### 3.5.2. Diseño del experimento

La prueba de antagonismo corresponde a una investigación experimental. Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) (Fisher, 1926).

#### 3.5.3. Análisis de datos

Determinación del porcentaje de inhibición radial del crecimiento (PIRC) (Ezziyyani et al., 2004).

El porcentaje de inhibición radial del crecimiento se midió a través de la fórmula de Samaniego et al (1989) citada por Ezziyyani:

$$\text{PICR} = \left( \frac{\text{R1} - \text{R2}}{\text{R1}} \right) \times 100$$

Donde:

R1: radio del patógeno testigo (Cm).

R2: radio de inhibición del patógeno enfrentado al antagonista (Cm).

El PICR fue categorizado de 0 a 4 usando una escala de categoría de inhibición de crecimiento, citada por Ramírez, (2019).

**Tabla 1.** Escala de categoría de inhibición de crecimiento PICR

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

Fuente: Ramírez, (2019).

Con los resultados obtenidos de PIRC se elaboró gráficas estadísticas del tipo descriptivo, para lo cual se empleó el programa Exel, el control no fue considerado en la representación gráfica.

### 3.6. Análisis estadístico

La determinación de la actividad inhibitoria se realizó empleando la prueba t de Student. El análisis del efecto de inhibición de los hongos antagónicos frente a los hongos fitopatógenos, se realizó mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y la comparación de promedios se realizó con la Prueba de Tukey.

Para el análisis se empleó el programa estadístico R Core Team (2021).

### 3.6.1. Determinación del Micoparasitismo

Para determinar el micoparasitismo se realizaron observaciones macroscópicas y microscópicas de los cultivos duales. El análisis macroscópico se realizó a través del índice la invasión del antagonista sobre la superficie del micelio del fitopatógeno, para lo cual se empleó la escala creada por Elías y Arcos (1984) citada por Ramírez. También, se evaluó su potencial antagónico.

El cultivo dual de hongos de crecimiento rápido se evaluó de 4 a 5 días, mientras que los hongos de crecimiento lento se evaluaron de 10 a 12 días. Luego se midió el grado de antagonismo, utilizando la escala para estudios de micoparasitismo de *Trichoderma* contra fitopatógenos, (tabla 2).

La observación microscópica se realizó a 40x de aumento, y se observó la adherencia de hifas, enrollamiento, plasmólisis de hifas, etc.

**Tabla 2.** Escala creada por Elías y Arcos (1984), para evaluación de la capacidad antagónica por micoparasitismo.

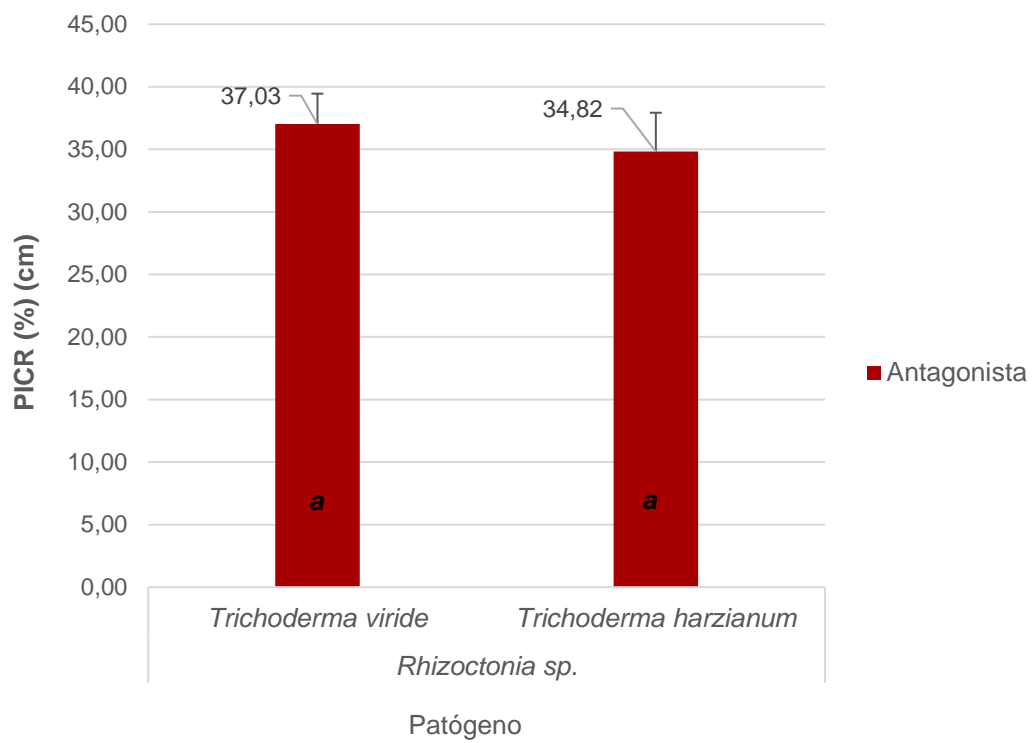
Grado	Capacidad antagónica	Potencial
0	Ninguna invasión de la superficie del fitopatógeno	Muy malo
1	Invasión de $\frac{1}{4}$ de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno	Malo
2	Invasión de $\frac{1}{2}$ de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno	Deficiente
3	Invasión total de la 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**



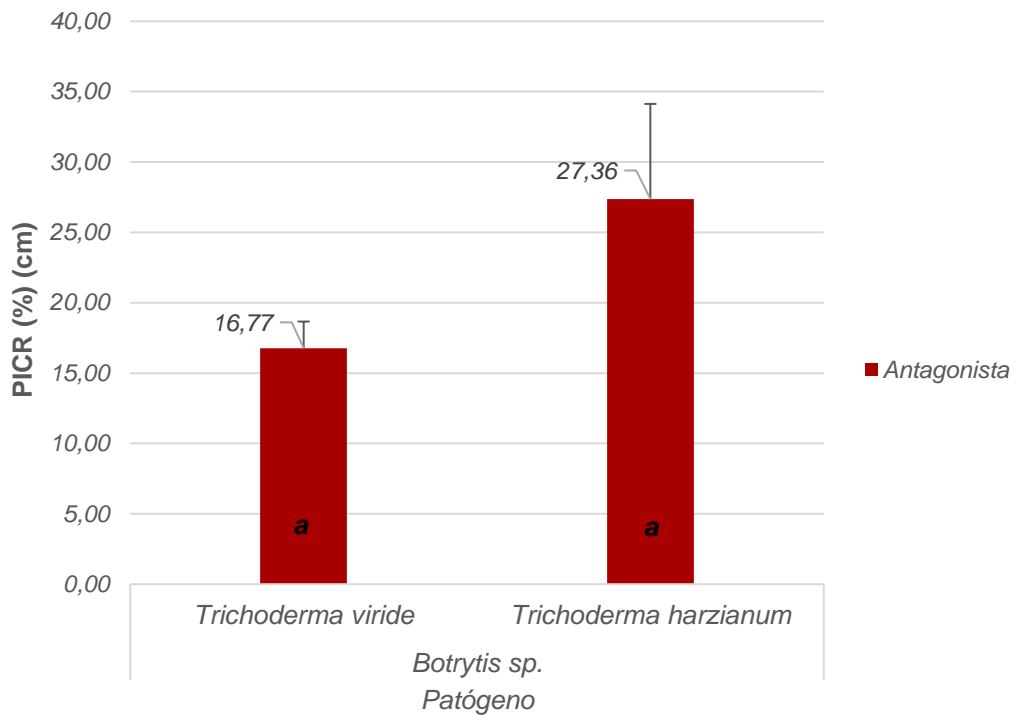
**Tabla 3.** Relación de cepas de hongos aislados de quinua y hongos antagonistas utilizados en la investigación de antagonismo.

<b>Microorganismo</b>	<b>Origen del aislamiento de los hongos patógenos de quinua</b>
<b>Fitopatógenos</b>	
<i>Botrytis sp.</i>	Tallos con lesiones necróticas
<i>Rhizoctonia sp.</i>	Tallos con lesiones
<i>Leptosphaerulina sp.</i>	Hojas con necrosis foliar
<i>Phoma sp.</i>	Tallo con lesión necróticas
<i>Cladosporium sp.</i>	Hojas con necrosis foliar
<b>Antagonistas</b>	
<i>Trichoderma viride</i>	UNALM
<i>Trichoderma harzianum</i>	UNALM



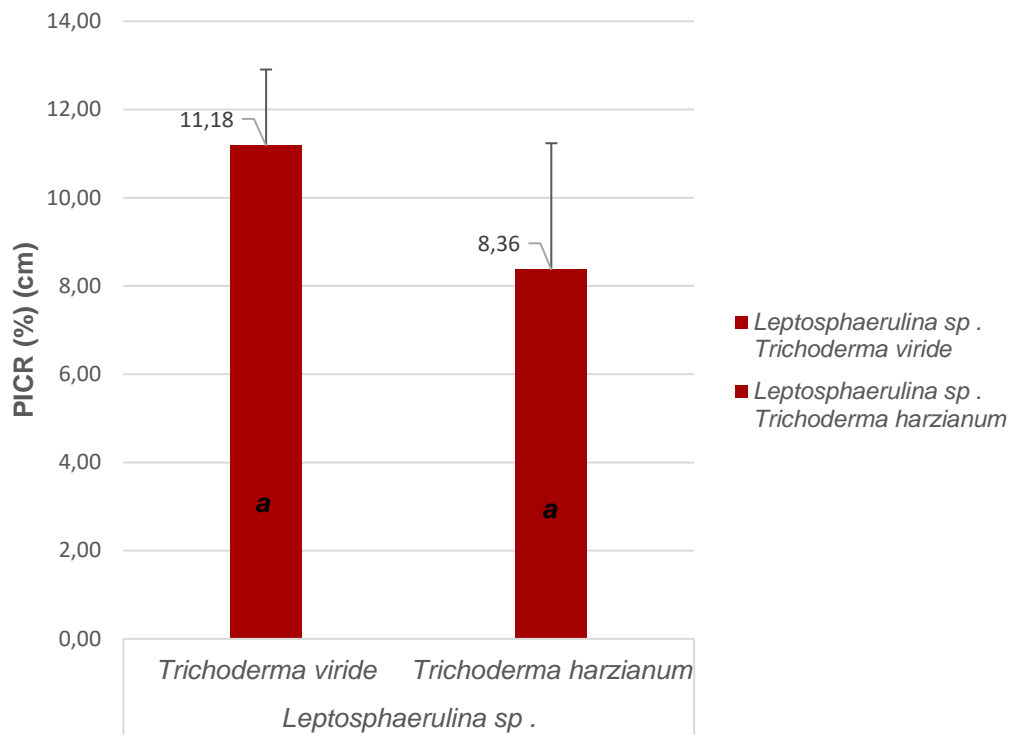
Prueba t de Student,  $\alpha=0.05$ ,  $p>0.05$ . Los promedios con letras iguales no difieren significativamente.

**Figura 1.** Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* ante *Rhizoctonia sp.*



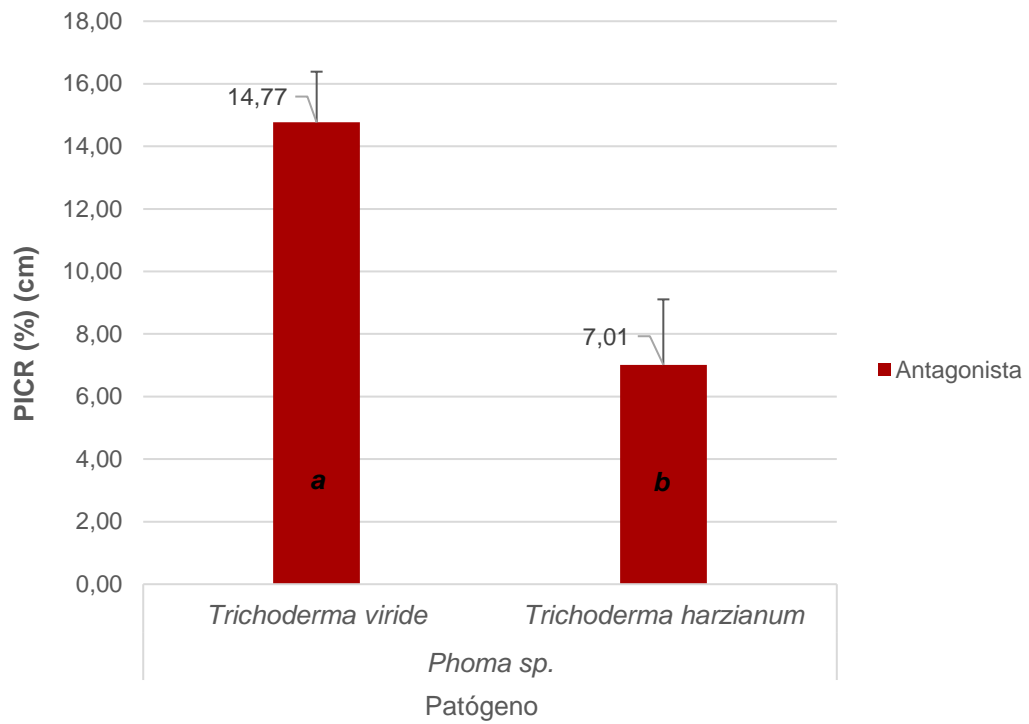
Prueba t de Student,  $\alpha=0.05$ ,  $p>0.05$ . Los promedios con letras iguales no difieren significativamente.

**Figura 2.** Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* ante *Botrytis sp.*



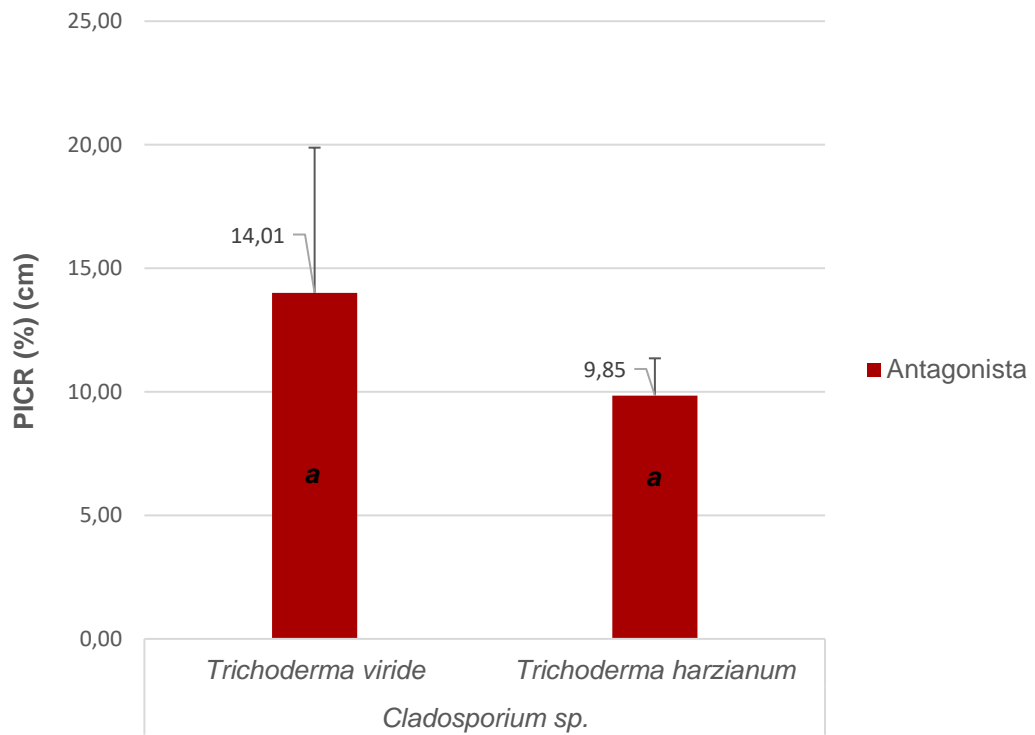
Prueba t de Student,  $\alpha=0.05$ ,  $p>0.05$ . Los promedios con letras iguales no difieren significativamente.

**Figura 3.** Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* ante *Leptosphaerulina sp.*



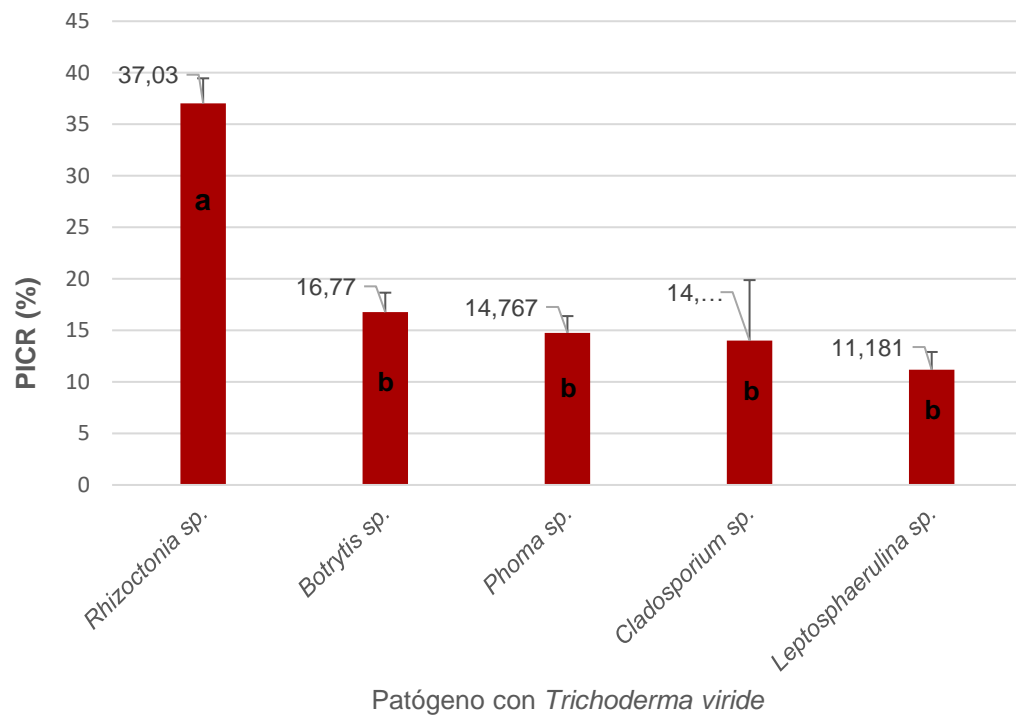
Prueba t de Student,  $\alpha=0.05$ ,  $p<0.05$ . Los promedios de letras diferentes difieren significativamente.

**Figura 4.** Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* ante *Phoma sp.*



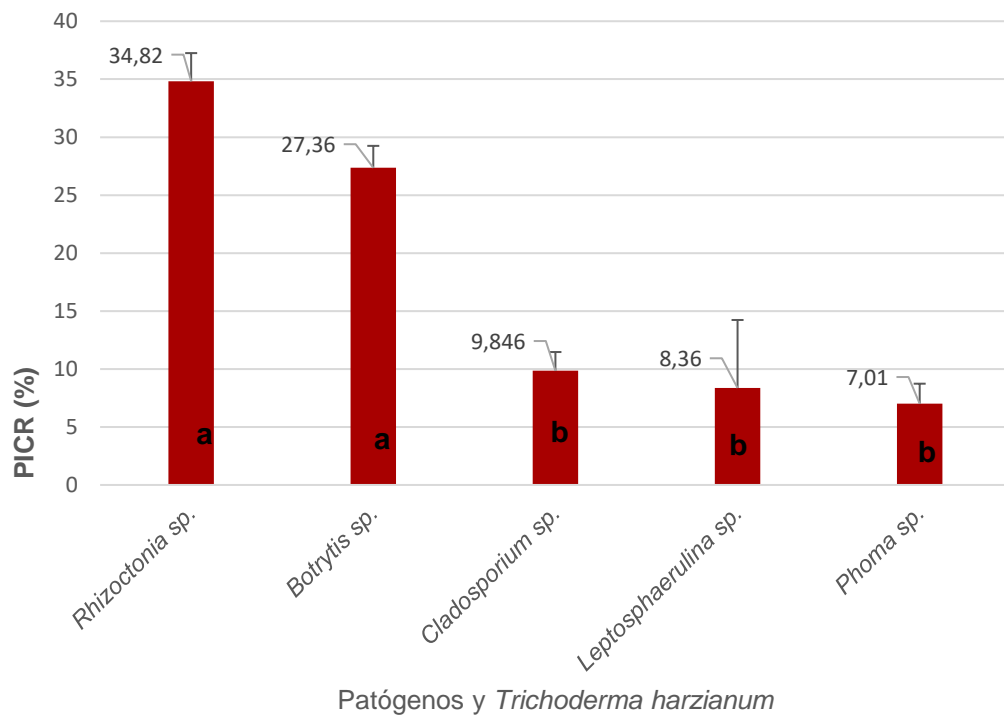
Prueba t de Student, gl: grados de libertad,  $\alpha=0.05$ ,  $p>0.05$ . Los promedios con letras iguales no difieren significativamente.

**Figura 5.** Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* ante *Cladosporium sp.*



Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ), Los promedios con letras iguales no difieren significativamente.

**Figura 6.** Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Trichoderma viride* ante hongos patógenos.



Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Los promedios con letras iguales no difieren significativamente.

**Figura 7.** Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Trichoderma harzianum* ante hongos patógenos.



**Tabla 4.** Grado de micoparasitismo en cultivo dual *Trichoderma viride* ante los hongos patógenos de la quinua.

<b>Antagonismo</b>	<b>Grado de micoparasitismo</b>
<i>Trichoderma viride</i> con <i>Rhizoctonia sp.</i>	1
<i>Trichoderma viride</i> con <i>Botrytis sp.</i>	2
<i>Trichoderma viride</i> con <i>Leptosphaerulina sp.</i>	4
<i>Trichoderma viride</i> con <i>Phoma sp.</i>	1
<i>Trichoderma viride</i> con <i>Cladosporium sp.</i>	4

**Tabla 5.** Grado de micoparasitismo en cultivo dual *Trichoderma harzianum* ante los hongos patógenos de la quinua.

<b>Antagonismo</b>	<b>Grado de micoparasitismo</b>
<i>Trichoderma harzianum</i> con <i>Rhizoctonia</i> sp.	1
<i>Trichoderma harzianum</i> con <i>Botrytis</i> sp.	1
<i>Trichoderma harzianum</i> con <i>Leptosphaerulina</i> sp.	4
<i>Trichoderma harzianum</i> con <i>Phoma</i> sp.	1
<i>Trichoderma harzianum</i> con <i>Cladosporium</i> sp.	4

## V. DISCUSIÓN

En el anexo 1, se puede apreciar que, en la mayoría de las relaciones, existen diferencias significativas entre el radio del patógeno testigo (R1) y el radio del patógeno en cultivo dual (R2), lo que nos permite concluir que ambos *Trichoderma* en estudio inhibieron el crecimiento y desarrollo de los hongos patógenos. Es necesario indicar que mostraron reacciones diferenciales durante el periodo de antagonismo, es decir el estado de inhibición en el crecimiento dependió del tipo de patógeno y sus hábitos de crecimiento. En general, ambos *Trichoderma* ejercieron más efecto supresor en *Rhizoctonia sp.* con una reducción de 37,1% con *T. viride* y 34,9% con *T. harzianum*; el menor efecto supresor del crecimiento radial se observó en *Lepthosphaerulina sp.* de 11,2 % ante *T. viride* y 8,4% ante *T. harzianum*.

Al respecto, Hoyos et al., (2019), informaron que las especies de *Trichoderma* fueron altamente efectivos en la inhibición del crecimiento radial, donde *R. solani*, frente a *T. viride* es 87,22% y *T. harzianum* en 87,8%, valores mucho más altos que los de nuestra investigación. Por su parte Vargas, (2014), determinó que *T. harzianum* tuvo un porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Phoma terrestris* en 37,01%, lo cual es similar al trabajo de investigación.

En la figura 1 se muestra el porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Rhizoctonia sp.* en cultivo dual con *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum*. Se observó que las reducciones del crecimiento radial ocasionadas en el patógeno por ambos antagonistas no difieren significativamente. Aunque existe una pequeña diferencia de 2%, ambos *Trichoderma* tienen el mismo efecto antagónico ante *Rhizoctonia sp.*, según la escala de categoría de inhibición de crecimiento (*Trichoderma viride* 37,03%, *Trichoderma harzianum*, 34.83%). Según Ramírez, (2019) la respuesta *in vitro*, se ubican en la categoría 2, que no llegan a superar el 50% para considerarse como buenos inhibidores, Restrepo y Peñuela,

(2002) reportaron que el patógeno *R. solani* tiene crecimiento rápido, Cárdenas et al., (2014); Cotes, (2010); Hoyos et al., (2019), mencionan que también tolera bien la presencia de los Trichoderma, pero la competencia en el medio ocasiona reducción y lentitud en el crecimiento radial, González, (2008); Meza, (2011); Uchida, (2010), reportan que ambos Trichoderma ejercieron semejante acción antagonista, aunque con ligera ventaja para *T. harzianum*, porque *R. solani* es un hongo que tiene capacidad para interactuar favorablemente bien para su existencia con otros microorganismos en el suelo.

Por su parte Garrido y Vilela, (2019) determinó que *T. harzianum* bajo condiciones experimentales demostró que es un buen inhibidor del crecimiento radial de la colonia de *Rhizoctonia solani*, observando un valor de 66%, prácticamente el doble de lo registrado en nuestro ensayo. Así mismo, resultó altamente significativo en Nakataea (58,12%) y Sclerotium (42,86%).

Investigaciones realizadas por Ayala, (2018); Ramírez et al., (2019), reportaron que *T. harzianum* es eficaz en su antagonismo con ciertos patógenos, pero no con todos; así como las especies de Trichoderma ejercen efectos diferentes, Cárdenas et al., (2014) indicó que existen evidencias de que los patógenos de plantas pueden tolerar las toxinas u otros metabolitos que producen los Trichoderma, y algunos aislamientos de *R. solani* pueden ser susceptibles a *T. harzianum* y otros no en los cultivos dual. Por su parte, Martínez et al., (2013), hace mención que *T. viride* se expresa como un buen antagonista para muchos hongos, con limitaciones en comparación con *T. harzianum*; sin embargo, esto depende del grado de interacción entre patógenos y antagonistas; por ejemplo, Vargas, (2014) manifestó que *T. harzianum* obtuvo (PICR: 33,57%) es más efectivo que *T. koningiopsis* (26,22%) ante *Fusarium oxysporum* y *Phoma terrestres*.

En la figura 2 se muestra el porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* en *Botrytis sp.*, se observó que, estadísticamente, la inhibición del crecimiento radial del patógeno por la presencia de Trichoderma en el cultivo dual, es semejante para ambos antagonistas, con cierta superioridad para *Trichoderma harzianum* (27,36%); esto puede indicar que *T. harzianum* tiene mayor efecto antagónico en *Botrytis sp.* que *T. viride* (16,77%). De acuerdo a Harman et al., (2004); Rey et al., (2000); Vázquez et al., (1998), la baja actividad supresora de Trichoderma sobre Botrytis puede deberse a que los Trichodermas son habitantes antagonistas que trabajan bien en condiciones de

suelo o materia orgánica en descomposición, mientras Benito et al., (2000), mencionan que las especies de *Botrytis* generalmente son patógenos de órganos vegetales aéreos por ello, Wilson y Wisniewski, (1989) hace mención que es probable que *Trichoderma* actúe mejor en hongos habitantes de suelo que en hongos de follaje (hojas, tallos, flores y frutos).

De acuerdo a los resultados, según la escala de categoría de inhibición de crecimiento la actividad supresora en *Botrytis sp.*, ante *Trichoderma viride* se ubica en la categoría 1 y *Trichoderma harzianum* en la categoría 2; de acuerdo a ello, no se expresaron como buenos inhibidores.

Barrantes, (2017); Wilson y Wisniewski, (1989), mencionan que en otros estudios *B. cinerea* tiene crecimiento ligeramente rápido y daña los tejidos infectados de manera rápida, de modo que tiene una forma de escape a las interferencias de otros patógenos o secundarios invasores de tejidos adultos o en maduración, lo cual podría afectar la actividad de los *Trichoderma*, además de que no muestra sensibilidad significativa a la actividad enzimática y tóxica de los antagonistas, probablemente porque las especies de *Botrytis* son patógenos de órganos aéreos. En la figura 3 se muestra el porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Leptosphaerulina sp.* por la actividad antagónica de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum in vitro*, se observó que las inhibiciones en el crecimiento radial por la presencia de los antagonistas no difieren estadísticamente, aunque *T. viride* (11,18%) disminuye el crecimiento en mayor porcentaje que *T. harzianum* (8,36%). Esto indica que, en cierto modo, la respuesta inhibitoria en *Leptosphaerulina sp.* depende de la especie de *Trichoderma*, pero sin que sea significativa, según la prueba de t de Student. Se plantea así, que ambos antagonistas tienen el mismo efecto antagónico ante *Leptosphaerulina sp.*; según la escala de categoría de inhibición de crecimiento ambos *Trichoderma* se ubican en la categoría 1 al no superar el 50% de inhibición; por ello, ambos *Trichoderma* no son buenos inhibidores del crecimiento radial en *Leptosphaerulina sp.*, como ocurrió en *Botrytis sp.*

Al respecto, no se encontraron referencias de acción antagonista de *Trichoderma* en *Leptosphaerulina sp.*, las investigaciones de Laserna, (2017); Approved, (2015), indican que todas las especies de este género son patógenos de órganos aéreos de las plantas hospedantes, Suryanarayanan y Murali, (2006) menciona que en la naturaleza tienen pocas interacciones con hongos *Trichoderma* en el follaje, cuando las especies que habitan como epífitos o endófitos en el filoplanio

no muestran capacidad antagónica suficiente para bloquear la actividad patogénica de *Leptosphaerulina*, Barrantes, (2017) concluye que *Leptosphaerulina* tiene crecimiento lento en cultivo dual ante las especies de *Trichoderma*, debido a que los hongos son normalmente habitantes del follaje de las plantas. Ledys, et al., (2019) determinó que *T. viride* es un buen inductor de enzimas ligninolíticas y otras enzimas hidrolíticas en algunas especies de *Leptosphaerulina in vitro*; esto puede significar que *T. harzianum* indujo mayor cantidad de enzimas hidrolíticas en *Leptosphaerulina*, lo cual redujo la actividad inhibitoria del antagonista; mientras que con *T. viride* las enzimas no le afectaron en menor proporción.

En la figura 4 se muestra el porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* en *Phoma sp.* En este caso, se registró mayor reducción del crecimiento en el cultivo dual con *Trichoderma viride* (14,77%), en relación a *T. harzianum* (7,01%), cuyas diferencias son significativas, aunque con valores bajos de inhibición probablemente por el lento crecimiento de *Phoma sp.* en el medio de cultivo, se evidencia que *T. viride* ejerció mayor influencia inhibitoria que podría deberse a mayor sensibilidad de *Phoma sp.*, Druzhinina et al., (2005), determina la sensibilidad a los componentes químicos que produce *T. viride* en cultivo dual. De acuerdo a los grados de clasificación para inhibición, *T. viride* se ubica en la categoría 2 y *T. harzianum* en la categoría 1, lo cual significaría que no son buenos inhibidores de *Phoma sp.*, sin embargo Barrantes, (2017); Ded et al.,(2020) sugieren que es probable que el lento crecimiento de *Phoma sp.* en quinua y la mayor compactación de su colonia en el medio debido a un crecimiento sin interferencias externas, que influyeran en la menor inhibición de su crecimiento radial por ambos *Trichoderma*, porque se conoce que los hongos de lento crecimiento toleran mejor las influencias externas perjudiciales que podrían afectar su sobrevivencia y permanencia activa en el ambiente (suelo o follaje).

En la figura 5 se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* en *Cladosporium sp.* Se observó que las inhibiciones ejercidas por ambos *Trichoderma* son semejantes estadísticamente, aunque haya sido mayor en *T. viride* (14,01%), mientras en *T. harzianum* (9,85%). De acuerdo a esta prueba ambos *Trichoderma* tienen el mismo efecto antagónico inhibitor del crecimiento radial del fitopatógeno *Cladosporium sp.*, de la quinua en cultivo dual. Según la escala de categoría de inhibición de crecimiento, ambos *Trichoderma* se ubican en la categoría 1, que los clasifica como no buenos inhibidores de *Cladosporium sp.*

Barrantes, (2017), afirma que *Cladosporium* es un patógeno de follaje, éste vive normalmente en el suelo como saprófito y se convierte en parásito facultativo al llegar a las hojas, Talbott et al.,(2005); Asan et al., (2016); Hyeon et al., (2015), argumentan que las especies saprófitas son buenas habitantes de suelo e interacciona favorablemente con otros microorganismos; sus cualidades de producir metabolitos tóxicos le permiten mantenerse bien ante la presencia de antagonistas; esta característica y su crecimiento muy lento en medios de cultivo probablemente influyeron en *Trichoderma* sobre el crecimiento de la colonia.

En cuanto a otras investigaciones, Asan et al., (2016), indica que no se encontraron referencias sobre actividades antagónicas sobre especies de *Cladosporium* que afectan plantas cultivadas; sus habilidades adquiridas evolutivamente para ser hongos cosmopolitas que ocupan muchos ambientes y materiales diversos, como saprófitos o parásitos facultativos, los capacitaron para ser muy versátiles en supervivencia y fácil reproducción, de modo que su interacción biológica con los *Trichoderma* le afectan poco o no le son muy perjudiciales.

En la figura 6 y 7 se exponen los porcentajes de Inhibición del crecimiento radial (PICR) en cultivo dual de cinco hongos patógenos de la quinua con *Trichoderma viride* y *T. harzianum*, para comparar en forma conjunta su comportamiento como antagonistas durante el crecimiento de las colonias de estos hongos. Los resultados indican que ambos *Trichoderma* son significativamente más efectivos solo ante *Rhizoctonia sp.*, Cotes, (2010); Michel et al.,(2019); Barrantes, (2017), mencionan que probablemente *Rhizoctonia* es un habitante común de los suelos como patógeno de muchas plantas y al residir en el suelo, está sometido a muchas interacciones de competencia con otros microorganismos, entre ellos sus antagonistas; sin embargo Guilcapi, (2009); Mendoza et al., (2015), argumentan que su buena capacidad para parasitar plantas y especializarse principalmente en tejidos radiculares y del tallo, probablemente como escape a la competencia en el suelo por nutrientes y la presencia de antagonistas, no le permitió adquirir resistencia a la actividad antagónica.

Druzhinina et al., (2005); Samuels et al., (2004), en cuanto a *Botrytis sp.*, solamente *T. harzianum* le ocasionó mayor reducción del crecimiento radial de manera significativa; esta diferencia es un indicador de que la actividad tóxica y enzimática de este antagonista ejerció mayor deterioro en la actividad fisiológica del patógeno en cultivo dual, mientras Hjeljord y Tronsmo, (1998); Mendoza et al.,

(2015); Martínez et al., (2013), manifestaron que por ser un hongo mayormente de los órganos aéreos de la planta, es probable que las interacciones antagónicas con otros microorganismos varíe ampliamente entre especies de antagonistas.

En *Phoma sp.*, *Cladosporium sp.* y *Leptosphaerulina sp.*, no se observó afectación significativa en la reducción del crecimiento radial con ambos *Trichoderma*; los tres hongos patógenos respondieron de manera semejante ante la presencia de los *Trichoderma* en el medio de cultivo, mostrando así buenos grados de tolerancia a la presencia de los antagonistas, de modo que su fisiología de crecimiento no fue alterada de manera importante.

Las diferencias observadas entre ambos antagonistas en nuestro experimento, es una evidencia de que, para estos hongos patógenos de la quinua, *T. viride* ejerció mayor acción antagónica *in vitro* al reducir mejor el crecimiento radial, que *T. harzianum*, pero sin llegar a ser lo suficientemente significativo. En otras investigaciones Hoyos et al., (2019); Llicahua, (2018); Velásquez, (2017), afirman que *T. viride* tiene la tendencia de mostrarse más efectivo, pero depende mucho de la forma e intensidad de relación con los patógenos. Esto significa según Druzhinina et al., (2005); Samuels et al., (2004), que las capacidades de cada antagonista dependen de variabilidad de metabolitos secundarios que interfieren en el crecimiento de varias especies de hongos. Sin embargo, en muchas investigaciones se concluye que *Trichoderma harzianum* es la especie más promisoría.

Al respecto, la investigación de Fernández y Suarez, (2014), informó que incluso las razas o cepas de *T. harzianum* pueden variar en su capacidad antagónica ante un fitopatógeno; determinaron que en *Fusarium oxysporum* dos razas de este antagonista redujeron tres veces el radio del patógeno logrando valores de 64,61% y 65,91%. En otra investigación, Velásquez, (2017), comprobó que incluso la composición del medio de cultivo influye en la actividad antagónica de *Trichoderma*; en cultivos duales con *Sclerotinia sclerotiorum*, obtuvo reducciones del crecimiento radial de 73,75 a 83,4% con *T. harzianum* y de 75,87% a 82,5% con *T. viride*. Grados de invasión de colonia del patógeno por el antagonista (Micoparasitismo).

Una segunda forma de expresión del antagonismo fue evaluada a través del registro de invasión de la colonia del patógeno por el antagonista en el medio de cultivo dual. En las tablas 4 y 5 se exponen las combinaciones antagonistas ante los patógenos y los grados de intensidad, por invasión de colonia, según lo



propuesto por Elias y Arcos citados por Ramírez et al., (2019), pero que en la realidad la invasión no debe ser considerada como micoparasitismo porque al invadir la colonia, el antagonista no está parasitando, solamente ejerciendo un acercamiento y cobertura, es decir acciones físicas más que una acción nutricional. Al mismo tiempo se registró la expresión de bloqueo del crecimiento y esporulación del antagonista por los patógenos en cada cultivo dual; durante la invasión de colonia se observó si el antagonista esporulaba o solamente extendía sus hifas sobre la colonia del patógeno.

De acuerdo a los resultados, ambos *Trichoderma* realizaron escasa o mala invasión de colonia de *Rhizoctonia sp.* y *Phoma sp.* calificada de grado 1 (1/4 de invasión), en *Botrytis sp.* ante *T. harzianum* también califica grado 1, sin embargo *Botrytis sp.* en *T. viride* la invasión es deficiente de grado 2 (1/2 de invasión); en *Leptosphaerulina sp.* y *Cladosporium sp.* la invasión de colonia por ambos *Trichoderma* se clasifica en el grado 4, o invasión total calificada de muy buena y con esporulación del antagonista sobre las colonias de los patógenos.

Chet, (1990), sugiere que la capacidad de cubrir las colonias de otros hongos por parte de los hongos *Trichoderma*, es una expresión de casi todos los hongos que crecen juntos en ambientes reducidos, cuando uno se lo permite al otro. En tanto Druzhinina et al., (2005), afirma que la invasión de un micelio por otro, no siempre significa que uno hará daño al otro o que entre ambos se perjudiquen; dependerá de los grados de tolerancia, resistencia o indiferencia entre ellos. Hjeljord & Tronsmo, (1998); Miret, (2005), alegan en razón a ello, se ha establecido que, por su capacidad antagonista mediante acción enzimática y tóxica, además de algunas formas de predación de hongos, la invasión de colonias por los hongos *Trichoderma* se considera una forma más de antagonismo, Garrido y Vilela, (2019); Lindow y Wilson, (1999); Sucaticona, (2018); Rey et al., (2000), plantearon que durante esta invasión, los antagonistas desarrollaron formas de predación de las hifas o esporas de otros hongos, actividad denominada más propiamente como micoparasitismo, y se le ha calificado con grados de invasión cuando el antagonista logra superponerse en mayor o menor proporción sobre la colonia invadida.

En cuanto a los grados de invasión en otras especies de hongos fitopatógenos por *Trichoderma sp.*, los reportes indican que el grado de invasión que generen los *Trichoderma* depende de la interacción con la especie de parásito que se somete al antagonismo, Ayala, (2018) observó un grado 2 por invasión de *Trichoderma*

*sp.* en *Colletotrichum sp.* y de 4 en *Fusarium sp.*, Ramirez et al., (2019), usó *Trichoderma asperellum* y obtuvo un grado de 4 por invasión de colonia. En estos casos, se comprueba que las especies de *Fusarium* tienden a mostrar más aceptación ante *Trichoderma* para que su colonia sea invadida por el antagonista, como lo fueron *Leptosphaerulina sp.* y *Cladosporium sp.* en nuestra investigación, evidenciándose así que en algunas interacciones patógeno/antagonista, los *Trichoderma* pueden resultar ser muy buenos antagonistas.

Evidencias fotográficas de actividad antagónica entre *T. viride*, *T. harzianum* y cinco hongos patógenos de la quinua.

En el anexo 7 se muestran las hifas de *Rhizoctonia sp.* en un crecimiento normal sin presencia del antagonista, para comparar con los posibles cambios que podrán ocurrir en cultivo dual con los antagonistas, como una medida de micoparasitismo. Restrepo y Peñuela, (2002); González, (2008), describen que es normal que se observen hifas de color marrón claro con prolongaciones laterales en ángulo recto y la presencia de células moniloides.

En el anexo 8 se muestra algunos cambios en la estructura al interactuar *Rhizoctonia sp.* con *T. viride*, que se producen durante el desarrollo de antagonismo y micoparasitismo en el cultivo dual. (fotografía a); se observó la adherencia y algún enrollamiento de hifas de *T. viride* en las hifas de *Rhizoctonia ps.* en la (fotografía b) además, de más adherencia de hifas, se observa inicio de acordonamiento de hifas de *Rhizoctonia ps.*, Uchida, (2010), afirma que es una respuesta anticipada de formación de rizomorfos ante la actividad antagónica de *T. viride.*, citando a los autores Meza, (2011); Uchida, (2010). En razón a la regular influencia (37,03%) que ejerció el antagonista en el crecimiento radial, es posible que también se haya afectado la estructura del micelio de *Rhizoctonia*, principalmente en la zona de contacto con el antagonista, lo cual se evidencia por el acordonamiento o formación de rizomorfos en forma prematura, ante alguna intensidad de enrollamiento que influyó enzimáticamente en las hifas, de igual modo en el anexo 9 se observa adherencia y algo de enrollamiento de hifas de *T. harzianum* en las hifas de *Rhizoctonia ps.* durante el crecimiento dual. Esta interacción se expresa en menor intensidad (cobertura) en relación a la actividad de *T. viride*, pero también es evidente la capacidad de *T. harzianum* para interferir con *Rhizoctonia sp.*

En el anexo 10 se observa hifas formando un esclerote, conidios y conidioforo de cultivo puro de *Botrytis sp.*; de acuerdo a autores como Capelo, (2010); Milanca,

(2001); Miret, (2005); Samuels et al., (2004), aluden que estas estructuras no se forman en cultivo dual con ninguno de los dos *Trichoderma*, lo cual es indicativo de la influencia depresiva que ocasionan los antagonistas.

En el anexo 11), fotografía a) se muestra el efecto de deshidratación de hifas de *Botrytis sp.* cuando crece junto a *Trichoderma viride*, por lo cual según Druzhinina et al., (2005); Martínez et al., (2013), es una variación fisiológica que puede deberse a la acción antagónica por sustancias que interfieren en el metabolismo hídrico del patógeno, sobre todo en la permeabilidad de sus membranas citoplásmicas. Al mismo tiempo se observa ausencia de conidióforos y ninguna formación de conidios. En la fotografía b) se evidencia una adherencia masiva de las hifas de *T. viride* que podría considerarse como una forma de enrollamiento parcial. Chet, (1990); Hjeljord y Tronsmo, (1998), determinaron que el producto de la invasión de la colonia de *Botrytis sp.* por *T. viride* y la presencia de polisacáridos excretados por el antagonista, de igual forma en anexo 12 fotografía a) se muestra el efecto de deshidratación de las hifas de *Botrytis sp.*, observadas en un cultivo dual con *Trichoderma harzianum*, de manera semejante a lo que ocurrió ante *T. viride*; con esta fotografía se comprueba que la deshidratación de hifas de *Botrytis sp.* por la acción antagónica de ambos *Trichoderma* es un hecho frecuente, Druzhinina et al., (2005); Wilson y Wisniewski, (1989); quienes describen la incidencia de metabolitos líquidos o volátiles del antagonista. En la fotografía b) también se comprueba que la adherencia de las hifas de *Botrytis sp.* por *T. harzianum*.

En el anexo 13 se muestran hifas de *Lepthosphaerulina sp.* que crecieron en cultivo puro, libre de la influencia de antagonistas; Weilan et al., (2018), determinó que el color, grosor y sin deformaciones es característico de este patógeno, que después de madurar 10-15 días forma clamidosporas como estructuras de conservación en el medio de cultivo.

En anexo 14 se muestra las variaciones estructurales de las hifas de *Lepthosphaerulina sp.* que ocurren durante el crecimiento del hongo en cultivo dual con *Trichoderma viride*; es notable el cambio estructural en las hifas comparado con aquellas del anexo 13. Se registró una pronta formación de clamidosporas, engrosamiento de las hifas, alteraciones del citoplasma (formación de glóbulos) y escasa adherencia de hifas por *Trichoderma viride*, Mendoza et al., (2015), atribuye que a una alta presión antagónica en el medio hay una respuesta defensiva de *Lepthosphaerulina sp.* a rechazar determinados metabolitos de *T.*

*viride*. Ledys et al., (2019). comprobó que las especies de *Trichoderma* inducen formación de enzimas ligninolíticas y otras enzimas hidrolíticas en *Leptosphaerulina*, al parecer éstas no afectan la relación antagónica con *T. viride*. Pitt y Hocking, (1997), alegan que los cambios estructurales y la inducción anticipada de formación de estructuras de supervivencia es una de las respuestas de muchos hongos ante relaciones tóxicas o enzimáticas antagonistas, pero también en la anexo 15 se registró otra forma de interacción antagónica entre *Leptosphaerulina sp.* y *T. harzianum* en el cultivo dual; esta vez se observó aglomeración de hifas antagónicas sobre algunas hifas del parásito en forma de granulaciones mostrando un engrosamiento inusual; este caso es otra forma de antagonismo que ha sido incluida dentro del micoparasitismo, es decir adherencia Chet, (1990); Miret, (2005); Wilson & Wisniewski, (1989), transformación de algunas hifas en contacto que puede conducir a la formación de algunas clamidosporas como respuesta ante la actividad bioquímica de *T. harzianum* Michel et al., (2019); Rey et al., (2000), una evidencia de este cambio son los trabajos realizados por Cárdenas et al., (2014); Garrido y Vilela, (2019), quienes observaron la capacidad de las especies de *Trichoderma* para enrollar o modificar el micelio de los patógenos.

En el anexo 16 se muestran las hifas de *Phoma sp.* en cultivo puro, delgadas y con inicio de formación de clamidosporas, que es característico de este género y que en presencia de antagonistas estas estructuras no se forman o lo hacen en forma deficiente; de igual modo, la formación de picnidios es poco frecuente en medio de cultivo, con y sin antagonistas; estos picnidios se forman con facilidad en los tejidos vegetales.

En el anexo 17, se evidencia un mayor engrosamiento de hifas y ausencia de clamidosporas iniciales, cuando está presente *Trichoderma viride* en el cultivo dual, lo cual significa que los antagonistas *Trichoderma* participan de manera diferenciada en cada uno de los patógenos de acuerdo a la fisiología reproductiva de estos hongos, Mendoza et al., (2015). No se observó adherencia ni enrollamiento. Chet, (1990); Lindow y Wilson, (1999); Rey et al., (2000), consideran que los cambios en *Phoma*, pueden haber ocurrido solamente por efectos tóxicos y enzimáticos de *Trichoderma*, en razón a la falta de contacto y adherencia de las hifas del antagonista sobre el patógeno al no haber ocurrido un reconocimiento positivo del patógeno por parte del antagonista, mientras en el anexo 18 se muestran el micelio de *Phoma sp.* entremezclado con el de *T.*

*harzianum*, en cultivo dual, evidenciándose un acordonamiento de hifas del parásito y la formación de algunas clamidosporas pequeñas. El efecto de *T. harzianum* en el micelio, se diferencia de alguna forma de *T. viride* por inducir alteraciones nuevas en el desarrollo del micelio. En este caso también ocurre algo similar a lo ocurrido con *T. viride*, es probable que *Phoma* también haya sido influenciado solamente por las toxinas y enzimas y otros metabolitos de *T. harzianum*, que indujeron cambios en la estructura del micelio Chet, (1990); Lindow y Wilson, (1999); Vázquez et al., (1998).

En el anexo 19, se ha registrado las características básicas del micelio del hongo patógeno *Cladosporium sp.* en cultivo puro; al inicio las hifas son hialinas, después marrones, engrosadas y se forman clamidosporas intercalares Asan et al., (2016); Bustan et al., (2007); Hansen y Tech, (2014).

En el anexo 20, se evidencian cambios importantes en la estructura del micelio de *Cladosporium sp.* en cultivo dual por la presencia de *Trichoderma viride*; en este caso se observa adelgazamiento de las hifas, disminución del color marrón, acordonamiento de hifas y no se forman clamidosporas; no se observa adherencia de hifas ni enrollamiento. Rey et al., (2000), argumenta que probablemente, el efecto de cambio solo se deba a la acción bioquímica de *T. viride* sobre la fisiología de *Cladosporium sp.* y no a aspectos físicos o mecánicos, como normalmente ocurre en las diversas modalidades de antagonismo entre hongos Lindow y Wilson, (1999). En el anexo 21, se evidencian cambios más drásticos en el micelio de *Cladosporium sp.* en el cultivo dual. Chet, (1990) sostiene que se debe probablemente por una actividad bioquímica importante de *T. harzianum* en perjuicio del patógeno. Se observa adelgazamiento de hifas, reducción del color, presencia de muchas clamidosporas y varias células con plasmólisis de citoplasmas. Estos cambios indican una gran influencia del antagonista sobre la fisiología del patógeno; se comprueba, como en *T. viride*, que no se produce adherencia de hifas de enrollamiento. En este caso se evidencia también que *T. harzianum* no ejerce un micoparasitismo típico, probablemente porque *Cladosporium* es un patógeno de follaje y que al no ser un habitante permanente del suelo Bustan et al., (2007); Hansen y Tech, (2014); Walker et al., (2018), el antagonista no encuentra en él un sustrato alimenticio, pero sus enzimas, toxinas y otros metabolitos resultan perjudiciales al patógeno cuando son liberados por inducción al medio donde habita, en este caso el medio de cultivo donde creció *Cladosporium* Harman et al., (2004); Martínez et al., (2013); Rey et al., (2000).

## VI. CONCLUSIONES

1. Se determinó la expresión antagonista de *T. viride* y *T. harzianum* que ejercieron actividad antagonica en los cinco hongos patógenos de *Chenopodium quinoa* Willd.
2. Se determinó la inhibición de crecimiento radial de *T. harzianum* ante los cinco hongos patógenos, que se registró 34,82% en *Rhizoctonia sp.*, 27,36%; en *Botrytis sp.*, 8,36% en *Leptosphaerulina sp.*; 7,01% en *Phoma sp.* y 9,85% en *Cladosporium sp.*, por invasión de colonias *T. harzianum* alcanzó el grado 1 ante *Rhizoctonia sp.*, *Botrytis sp.* y *Phoma sp.*; grado 4 en *Leptosphaerulina sp.* y *Cladosporium sp.*
3. Se determinó la inhibición de crecimiento radial de colonia de *T. viride* ante los cinco hongos patógenos, que se registró 37,03%, en *Rhizoctonia sp.*, 16,77% en *Botrytis sp.*, 11,18% en *Leptosphaerulina sp.*, 14,77% en *Phoma sp.* y 14,01% en *Cladosporium sp.*, por invasión de colonia, *T. viride* alcanzó grado 1 en *Rhizoctonia sp.* y *Phoma sp.*; grado 2 en *Botrytis sp.* y grado 4 en *Leptosphaerulina sp.* y *Cladosporium sp.*
4. En respuestas de micoparasitismo se reconoció adherencia de hifas, ligero enrollamiento, formación anticipada de rizomorfos, deshidratación y engrosamiento de hifas, fallas en esporulación, formación prematura de clamidosporas, acordonamiento de hifas y plasmólisis de citoplasmas.

## VII. RECOMENDACIONES

- Evaluar antagonismo con cepas nativas de *Trichoderma* ante los hongos patógenos de quinua.
- Realizar estudios similares a nuestra investigación con otros fitopatógenos que afecta al cultivo de quinua.
- Realizar ensayos de control biológico en condiciones de invernadero y en condiciones de campo.
- Realizar estudios con otras especies antagonistas ante *Botrytis sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Leptosphaerulina sp.*, *Phoma sp.* y *Cladosporium sp.*

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abler, S. W. (2003). Ecology and Taxonomy of *Leptosphaerulina* sp. Associated with Turfgrasses in the United States [Thesis, Virginia Tech]. <https://vtechworks.lib.vt.edu/handle/10919/31568>
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). Introductory mycology. Wiley. <http://catalog.hathitrust.org/api/volumes/oclc/33012821.html>
- Approved EAIJ-U, E. A. I.S.f. (2015) Global impact of Puccinia and Leptosphaerulina strains in various host- Review. Recuperado 18 de noviembre de 2021, de [https://www.academia.edu/14889001/Global\\_impact\\_of\\_Puccinia\\_and\\_Leptosphaerulina\\_strains\\_in\\_various\\_host\\_Review](https://www.academia.edu/14889001/Global_impact_of_Puccinia_and_Leptosphaerulina_strains_in_various_host_Review)
- Araújo, W. L., Maccheroni, W., Aguilar-Vildoso, C. I., Barroso, P. A., Saridakis, H. O., & Azevedo, J. L. (2001). Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. Canadian Journal of Microbiology, 47(3), 229-236. <https://doi.org/10.1139/w00-146>
- Asan, A., Özkale, E., & Kalyoncu, F. (2016). Checklist of Cladosporium Species Reported from Turkey. Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 12. <https://doi.org/10.18466/cbujos.47932>
- Astorga-Quirós, K., Montero, K. M., Vega, C. Z., Madriz, J. B., & Méndez, W. R. (2014). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. Tecnología en Marcha, 27(2), 82-91.
- Avasthi, S., Gautam, A., & Bhadauria, R. (2016). First report of *Cladosporium sphaerospermum* causing leaf spot disease of *Aloe vera* in India. Journal of Crop Protection, 5(4), 649-654. <https://doi.org/10.18869/modares.jcp.5.4.649>
- Aveskamp, M. M., Gruyter, J., Woudenberg, J. H. C., Verkley, G., & Crous, P. (2010). Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterise Phoma and related pleosporalean genera. Studies in mycology, 65, 1-60. <https://doi.org/10.3114/sim.2010.65.01>
- Ayala, F. (2018). Efecto antagónico *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* sp. Frente a los hongos fitopatógenos *Colletotrichum* sp. y *Fusarium* sp. (Tesis para obtener bachiller). Universidad Nacional San Cristobal de Huamanga.
- Bakır Sert, H., & Sümbül, H. (2004). First report of leaf spots caused by *Phoma sorghina* on clover (*Trifolium campestre*) in Turkey. New Disease Reports, 10, 21-21.
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1972). Illustrated genera of imperfecti fungi. Burgess Publishing Company. Minnesota, USA. 241 p.
- Barrantes, F. (2017). Enfermedades de la Quinoa en Ayacucho. Universidad Nacional San Cristobal de Huamanga.
- Barrón, G.L. (1986). The Genera of Hyphomycetes from soli. Roberte E: Krienger Publishing Company.
- Benito, E., Monica, A., & Arturo, E. (2000). Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. 4.
- Bennett, A., Ponder, M. M., & Garcia-Diaz, J. (2018). Phoma Infections: Classification, Potential Food Sources, and Its Clinical Impact.



- Boerema, G. H., Gruyter, J. de, Noordeloos, M. E., & Hamers, M. E. C. (2004). *Phoma Identification Manual: Differentiation of Specific and Infra-specific Taxa in Culture*.
- Bustan, A., Cohen, S., Erlich, O., & Tsrur (Lahkim), L. (2007). *Cladosporium* species and *Alternaria alternata* cause serious post-harvest early calyx decay (PHECD) in truss tomatoes in Israel. *New Disease Reports*, 15, 62-62.
- Capelo, A. G. (2010). Evaluación de 10 fungicidas en el control de *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. en el cultivo de fresa (*Fragaria virginiana* Var. Diamante) a nivel de laboratorio. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/3035>
- Cárdenas, Y. G., Bocourt, Y. P., Solís, B. C., & Robaina, Y. B. (2014). Actividad antagónica de cepas autóctonas de *Trichoderma* sp. Frente a fitopatógenos de suelo. 5.
- Carsolio, C., Benhamou, N., Haran, S., Cortés, C., Gutiérrez, A., Chet, I., & Herrera-Estrella, A. (1999). Role of the *Trichoderma harzianum* Endochitinase Gene, ech 42, in Mycoparasitism. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3), 929-935.
- Castellanos, G., Jara, C., & Mosquera, G. (2005). Manejo del hongo en el laboratorio—PDF Free Download. <https://docplayer.es/19007220-Manejo-del-hongo-en-el-laboratorio.html>
- Cerna, L. M. (2012). Efecto *in vitro* de *Trichoderma viride*, *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma harzianum* nativas sobre la germinación y crecimiento de *Pochonia chlamydosporia*. Universidad Nacional de Trujillo. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2072>
- Chet, I. (1990). Mycoparasitism: Recognition, physiology and ecology. *UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology (USA)*. [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Mycoparasitism%3A+recognition%2C+physiology+and+ecology&author=Chet%2C+I.+%28Hebrew+University+of+Jerusalem%2C+Rehovot%2C+Israel%29&publication\\_year=1990](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Mycoparasitism%3A+recognition%2C+physiology+and+ecology&author=Chet%2C+I.+%28Hebrew+University+of+Jerusalem%2C+Rehovot%2C+Israel%29&publication_year=1990)
- Collazos -Jaramillo, C. D. (2018). Evaluación de dosis óptima de trichod en el manejo de mildiu (*Peronospora farinosa*) en el cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa*) variedad rosada de Junín en el distrito de Marcará, provincia de Carhuaz-2015. Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/2083>
- Colmán, A. A., Alves, J. L., da Silva, M., & Barreto, R. W. (2018). *Phoma* destructive causing blight of tomato plants: A new fungal threat for tomato plantations in Brazil? *Tropical Plant Pathology*, 43(3), 257-262. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0200-2>
- Cotes, A. M. (2010). Biología y manejo de *Rhizoctonia solani*. <https://1library.co/document/y8rdl84q-biologia-y-manejo-de-rhizoctonia-solani.html>
- Deb, D., Khan, A., & Dey, N. (2020). *Phoma* diseases: Epidemiology and Control. *Plant Pathology*, 69. <https://doi.org/10.1111/ppa.13221>

- Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, A. G., Komoń, M., Bissett, J., Szakacs, G., & Kubicek, C. P. (2005). An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genetics and Biology: FG & B*, 42(10), 813-828. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2005.06.007>
- Ellis.MB. (1971). *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, kew, surrey,England.UK.608p.
- Ellis.M.B. (1976) *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, kew, Surrey, England, UK.567 p.
- Ezziyyani, M., Sánchez, C. P., Ahmed, A. S., Requena, M. E., & Emilia, M. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimienta (*Capsicum annum* L.). *Anales de Biología*, 12.
- Fern, O. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. 5.
- Férrandez, R. J., & Suarez, C. L. (2014). Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium oxysporum* Schlecht f. *Sp. passiflorae* en maracuyá (*Passiflora edulis* Sims var. *Flavicarpa*) del municipio zona bananera Colombiana. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0304-28472009000100001](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472009000100001)
- Fisher, R.A. (1926). The arrangement of field experiments. *J. Ministry Agric.*33,503-513.
- Fokkema, N. J. (1978). Fungal antagonisms in the phyllosphere. *Annals of Applied Biology*, 89(1), 115-119. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1978.tb02582.x>
- FUNDESYRAM. (s. f.). (2020) Características del *Trichoderma*. Recuperado 18 de noviembre de 2021, de <https://biblioteca.fundesyram.info/biblioteca.php?id=5127>
- Garrido, M., & Vilela, N. (2019). Capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia*, *Nakatea sigmoidea* y *Sclerotium rolfsii* y su efecto en cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de cultivos de arroz. *Scientia Agropecuaria*, 10(2), 199-206. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.05>
- Giovannini, C., Andrade, N. J., Valenzuela, E., Castro, I., & Vera, A. C. de. (2005). Caracterización morfológica y patogénica de *Rhizoctonia solani* Kühn a partir de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L) provenientes de diferentes predios de la X Región de Chile. *Idesia*, 23(1), 13-18.
- González, M. G. (2008). Aspectos de sistemática y biología del complejo. 14.
- Guilcapi-Pacheco, E. D. G. (2009). "Efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, en la producción de plantas de café (*Coffea arábica*) variedad caturra a nivel de 95.
- Hanlin, T.R. (2006). *Ascomycota*. Minnesota.APS Press the American Phytopathological Society.365p.
- Hansen, M., & Tech, V. (2014). *Cladosporium iridis* (*heterosporium leaf spot on iris*)—  
Bugwoodwiki.[https://wiki.bugwood.org/Cladosporium\\_iridis\\_\(heterosporium\\_leaf\\_spot\\_on\\_iris\)](https://wiki.bugwood.org/Cladosporium_iridis_(heterosporium_leaf_spot_on_iris)).

- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). Trichoderma species—Opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43-56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>.
- Hjeljord, L., & Tronsmo, A. (1998). *Trichoderma And Gliocladium, Volume 2: Enzymes, Biological Control and commercial applications*. Routledge & CRC Press. <https://www.routledge.com/Trichoderma-And-Gliocladium-Volume-2-Enzymes-Biological-Control-and-commercial/Harman-Kubicek/p/book/9780748408054>.
- Hyeon-Nam, M., Park, M. S., Kim, H., Kim, T., & Kim, H. (2015). *Cladosporium cladosporioides* and *C. tenuissimum* Cause Blossom Blight in Strawberry in Korea. *Mycobiology*, 43, 354. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.3.354>.
- Hoyos, P.A. Luna-Cruz A, Hernández EO, Gayosso EM, Valenzuela NL y Cureño HJB. 2019. Antagonismo de *Trichoderma spp.* vs. hongos asociados a la marchitez de Chile. *Revista Mexicana de Ciencia Agrícolas*. 10(6):1259-1272. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1326>.
- Johnson, D. A., Pimentel, G., & Dugan, F. M. (2008). *Cladosporium herbarum* Causes a Leaf Spot on Marshmarigold in Western North America. *Plant Health Progress*, 9(1), 2. <https://doi.org/10.1094/PHP-2008-1121-01-RS>.
- Koike, S., Gladders, p., Paulus, A.O. (2006). *Vegetable Diseases: A Colour Handbook*. (p 449). <https://doi.org/10.1201/b15147>.
- Laserna, S. (2017). *Leptosphaerulina trifolii*, Sphaerulina, Pleospora, Pseudosphaeria. Quemado de la hoja. Alfalfa, trébol. <https://www.agroes.es/agricultura/control-de-plagas-enfermedades/plagas-y-enfermedades/1576-leptosphaerulina-trifolii-sphaerulina-pleospora-pseudosphaeria-quemado-de-la-hoja-alfalfa-trebol>
- Ledys, S, C.-P., Alandete-Novoa, F., Plácido, J., Correa-Londoño, G. A., & Mora-Martínez, A. L. (2019). Enhancement of ligninolytic enzymes production and decolourising activity in *Leptosphaerulina sp.* By co-cultivation with *Trichoderma viride* and *Aspergillus terreus*. *The Science of the Total Environment*, 646, 1536-1545. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.387>
- Liang, J., Guangshuo, L., Hou, L., Zhao, M., & Cai, L. (2021). *Leptosphaerulina* species isolated from golf turfgrass in China, with description of *L. macrospora*, sp. Nov. *Mycologia*, 113, 1-12. <https://doi.org/10.1080/00275514.2021.1923298>
- Liatukienė, A., Liatukas, Ž., & Ruzgas, V. (2010). Reaction of lucerne (*Medicago spp.*) to fungal diseases caused by *Phoma medicaginis*. 7.
- Lindow, SE., & Wilson, M. (1999). *Control biología de patógenos foliares y plagas con agentes de biocontrol bacteriana (Manual de microbiología, washington)*. Al Demain, JE Davies, Atlas.
- Llicahua-Cusi, D. V. L. (2018). "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 Tlabaya. Arequipa-2018". 99.
- Loria, R., Leiner, R., & Carling, D. (1983). *Rhizoctonia Disease (of Potato)*. <https://ecommons.cornell.edu/handle/1813/43294>

- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma spp.* y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), 1-11.
- Mendoza, J., Perez, M., Prieto, J., & Langarica, H. (2015). Antibiosis de cepas de *Trichoderma spp* nativas del noreste de México contra el hongo patógeno *Macrophomina Phaseolina* PubMed,7(1). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26691467/>
- Meza-Moller. (2011). Genetic Variability in *Rhizoctonia solani* Isolated from *Vitis vinifera* Based on Amplified Fragment Length Polymorphism. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(3), 317-323. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2011.317.323>
- Michel-Aceves, A. C., Hernández-Morales, J., Toledo-Aguilar, R., Sabino, J. E., & Romero-Rosales, T. (2019). Capacidad antagónica de *Trichoderma spp.* nativa contra *Phytophthora parasitica* y *Fusarium oxysporum* aislados de cultivos de Jamaica | *Revista Fitotecnia Mexicana*. <https://revfitotecnia.mx/index.php/RFM/article/view/45>
- Milanca, J. (2001). Estudio del desarrollo de *Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr., en plantas de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.), cultivares O'Neal y Patriot, y su relación con algunos factores ambientales. 90.
- Miret, J. A. J. (2005). El control biológico de plagas y enfermedades. Publicacions de la Universitat Jaume I.
- Nam, M. H., Park, M. S., Kim, H. S., Kim, T. I., & Kim, H. G. (2015). *Cladosporium cladosporioides* and *C. tenuissimum* Cause Blossom Blight in Strawberry in Korea. *Mycobiology*, 43(3), 354-359. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.3.354>
- OEPP/EPPO. (1984). EPPO data sheets on quarantine organisms. *Phoma andina* Turkensteen. Fungi imperfecti: Sphaeropsidales [black potato blight, Phoma potato leaf spot; Bolivia, Peru]. Bulletin OEPP (France). [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?q=EPPO+data+sheets+on+quarantine+organisms.+Phoma+andina+Turkensteen.+Fungi+imperfecti%3A+Sphaeropsidales+%5Bblack+potato+blight%2C+Phoma+potato+leaf+spot%3B+Bolivia%2C+Peru%5D](https://scholar.google.com/scholar_lookup?q=EPPO+data+sheets+on+quarantine+organisms.+Phoma+andina+Turkensteen.+Fungi+imperfecti%3A+Sphaeropsidales+%5Bblack+potato+blight%2C+Phoma+potato+leaf+spot%3B+Bolivia%2C+Peru%5D)
- Patil, V. M., Mali, A., Mahamuni, R. J., Chavan, N. S., & Kamble, S. (2012). First report of leaf spot caused by *Phoma costarricensis* on *Delphinium malabaricum* in Western Ghats of India. [https://scholar.google.co.in/citations?view\\_op=view\\_citation&hl=en&user=llb\\_eJAAAAAJ&citation\\_for\\_view=llb\\_eJAAAAAJ:kNdYIx-mwKoC](https://scholar.google.co.in/citations?view_op=view_citation&hl=en&user=llb_eJAAAAAJ&citation_for_view=llb_eJAAAAAJ:kNdYIx-mwKoC)
- Parmenter, J.R. (1980). *Rhizoctinia solani*, biology and pathology. University of California Press. Berkeley. USA. 386 p.
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (1997). The Ecology of Fungal Food Spoilage. En J. I. Pitt & A. D. Hocking (Eds.), *Fungi and Food Spoilage* (pp. 3-12). Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6391-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6391-4_2)
- Ramirez-Olier, J., Trujillo-Salazar, J., Osorio-Echeverri, V., Jaramillo-Ciro, M., & Botero-Botero, L. (2019). *In vitro* antagonism of *Trichoderma asperellum* against *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, and *Fusarium*

- oxysporum*. UIS INGENIERIAS, 18(2), 159-165.  
<https://doi.org/10.18273/revuin.v18n2-2019015>
- Restrepo, M. A. C. de, & Peñuela, A. (2002). Aspectos de la biología de un hongo del género *Rhizoctonia* y de su interacción *in vitro* con *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Dianthi*. Acta Biológica Colombiana, 7(1), 41-52.
- Rey, M., Delgado, J., & Rincon, A. (2000). Mejora de cepas de *Trichoderma* para su empleo como biofungicidas. 6.
- Samuels, G. P., Chaverri, D. F., & McCray, E. (2004). *Trichoderma* Online: Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. (A. U. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, Productor). *Trichoderma* Online: Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. [http://taxadescriptions/keys/Trichoderma\\_Index.cfm](http://taxadescriptions/keys/Trichoderma_Index.cfm)
- Schwartz, H. F., & Gent, D. H. (2016). Phoma Black Stem—Bugwoodwiki. [https://wiki.bugwood.org/HPIPM:Phoma\\_Black\\_Stem](https://wiki.bugwood.org/HPIPM:Phoma_Black_Stem)
- SINAVIMOP. (2002). *Botrytis cinerea* | Sistema Nacional de Vigilancia y Monitoreo de plagas. <https://www.sinavimo.gob.ar/plaga/botrytis-cinerea>
- Singh, D. (2019). Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*). Scientific Publishers.
- Sucaticona -Vilca, F. (2018). Actividad antagónica *in vitro* de los hongos *Trichoderma spp* y *Lecanicillium spp*. Frente al hongo de la roya amarilla del café (*Hemileia vastatrix*) en condiciones de laboratorio. Universidad Nacional del Altiplano. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/10442>
- Suryanarayanan, T., & Murali, T. S. (2006). Incidence of *Leptosphaerulina crassiasca* in symptomless leaves of peanut in southern India. Journal of basic microbiology, 46, 305-309. <https://doi.org/10.1002/jobm.200510126>
- Sutton, B.C. (1980). The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological, kew, Surrey, England, UK.696 pp.
- Talbott, B. P., Van Esse, H. P., Crous, P. W., & Wit, P. J. (2005). Spencer, T. and Dammert, P.R. Cladosporium Important diseases: Scab diseases of Pecan, Peach, and Cucumber. Plant Pathology: Extension & Outreach: Plant Disease Library. <http://plantpath.caes.uga.edu/content/dam/caes-website/departments/plant-pathology/extension-pdfs/PDL-fungi-cladosporium.pdf>
- Thomma, B. P. H. J., VAN Esse, H. P., Crous, P. W., & DE Wit, P. J. G. M. (2005). *Cladosporium fulvum* (syn. *Passalora fulva*), a highly specialized plant pathogen as a model for functional studies on plant pathogenic Mycosphaerellaceae. Molecular Plant Pathology, 6(4), 379-393. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00292.x>
- Uchida, J. Y. (2010). Biology and epidemiology of *Rhizoctonia solani* Khunn. Department of Plant Pathology. University of Hawaii, 25(1), 125-143. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.25.090187.001013>
- Vargas -Vera, R. H. (2014). Antagonismo de *Trichoderma Koningiopsis* y *Trichoderma Harzianum* sobre *Fusarium Oxysporum* F. SP. *Cepae* y *Phoma Terrestris in Vitro*. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/3193>

- Vázquez, S., Leal-Morales, C. A., & Herrera-Estrella, A. (1998). Analysis of the  $\beta$ -1,3-Glucanolytic System of the Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(4), 1442-1446.
- Velásquez -Flores, E. (2017). Actividad antagónica de *Trichoderma harzianum* y *T. viride* sobre *Sclerotinia sclerotiorum* en tres medios de cultivo *in vitro*, Ayacucho. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2667>
- Walker, C., Muniz, M., Martins, R., Rabuske, J., & Santos, Á. (2018). Susceptibility of Pecan Cultivars to *Cladosporium cladosporioides* Species Complex. *Floresta e Ambiente*, 25. <https://doi.org/10.1590/2179-8087.026717>
- Weilan, L., Back, C.-G., Lee, S.-Y., Ten, L. N., & Jung, H.-Y. (2018). First Report of *Leptosphaerulina australis* Isolated from Soil in Korea. *The Korean Journal of Mycology*, 46(4), 369-374. <https://doi.org/10.4489/KJM.20180041>
- Wilson, CL y Wisniewki, ME. Control biológico de enfermedades poscosecha de frutas y verduras: una tecnología emergente. *Revisión anual de fitopatología* 1989;27: 425-441.
- Yi, Z. Z., Yun, Q., Hong, Z., & Liu, Y. (1997). A study of six diseases caused by *Cladosporium*. *Journal of Southwest Agricultural University* 19(4), 315-319. <https://www.cabi.org/isc/abstract/19981002987>

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Crecimiento radial in vitro de hongos fitopatógenos al ser inhibidos por *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum*.

Hongos antagonistas y fitopatógenos	Radio patógeno testigo (R1, mm)		Radio del patógeno en cultivo dual (R2, mm)		t	Gl	p
	Prom.	SD	Prom.	SD			
<i>Trichoderma viride</i> con <i>Rhizoctonia sp.</i>	45.37	1.77	28.54	0.03	16.42	4.00	0.000
<i>Trichoderma harzianum</i> con <i>Rhizoctonia sp.</i>	45.37	1.77	29.53	0.32	15.20	4.00	0.000
<i>Trichoderma viride</i> con <i>Botrytis sp.</i>	24.09	0.48	20.05	0.41	11.20	4.00	0.000
<i>Trichoderma harzianum</i> con <i>Botrytis sp.</i>	24.09	0.48	17.49	1.45	7.48	4.00	0.002
<i>Trichoderma viride</i> con <i>Leptosphaerulina sp.</i>	18.88	0.82	16.76	0.41	4.01	4.00	0.016
<i>Trichoderma harzianum</i> con <i>Leptosphaerulina sp.</i>	18.88	0.82	17.29	0.51	2.85	4.00	0.046
<i>Trichoderma viride</i> con <i>Cladosporium sp.</i>	14.20	0.20	12.21	0.83	4.02	4.00	0.016
<i>Trichoderma harzianum</i> con <i>Cladosporium sp.</i>	14.20	0.20	12.80	0.08	11.09	4.00	0.000
<i>Trichoderma viride</i> con <i>Phoma sp.</i>	15.95	0.11	13.60	0.20	18.22	4.00	0.000
<i>Trichoderma harzianum</i> con <i>Phoma sp.</i>	15.95	0.11	14.83	0.25	7.21	4.00	0.002

SD : Desviación estándar, Prueba t de Student, gl: grados de libertad,  $\alpha$ : nivel de significación (0.05).

p : Probabilidad de aprobación de la hipótesis planteada.



**Anexo 2.** Muestras con síntomas y signos de plantas de quinua.



Tallo afectado con *Rhizoctonia sp.*, plántulas afectadas con chupaderas.



Tallo de lesión con síntomas por *Phoma sp.*



Hoja con necrosis foliar ocasionadas por *Leptosphaerulina sp.*



Hoja con lesión foliar puntos negros afectada por *Cladosporium sp.*

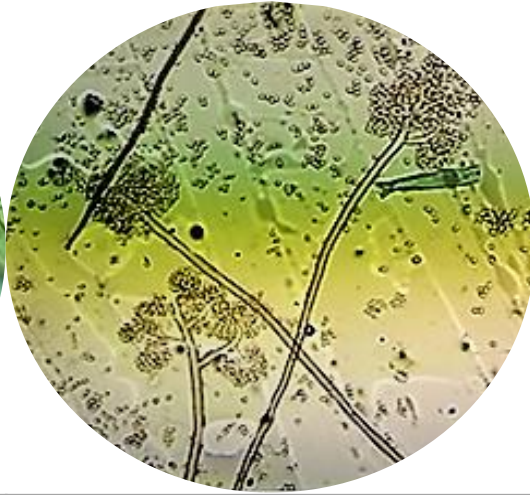


Tallos con lesiones necróticas con *Brotrytis sp.*

**Anexo 3.** Observación microscópica (40X) de estructuras de los fitopatógenos.



Hifas de *Rhizoctonia* sp.



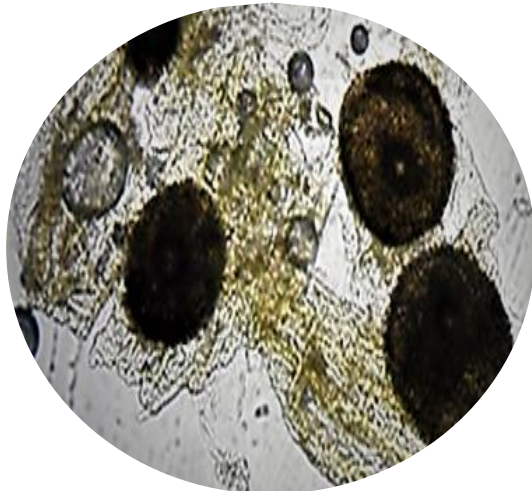
Conidios maduros de *Brotritis* sp.



Ascosporas muniiformes de *Leptosphaerulina* sp.



Conidióforos, conidios de *Cladosporium* sp.



Picnidios de *Phoma* sp.

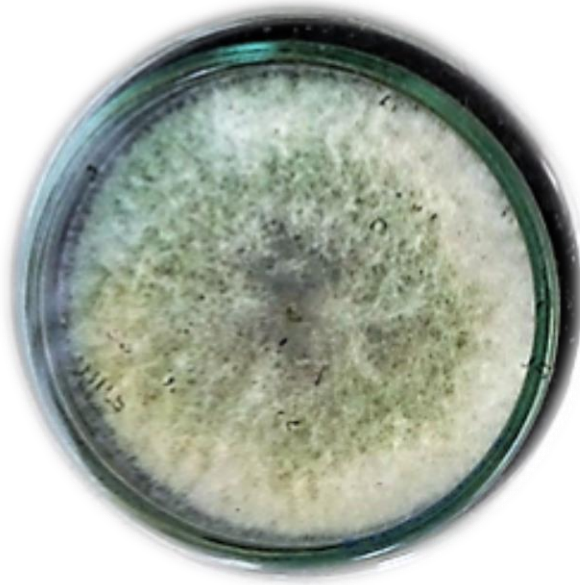
**Anexo 4.** Cepas puras de patógenos de quinua (*Leptosphaerulina* sp., *Rhizoctonia* sp., *Botrytis* sp., *Cladosporium* ps., *Phoma* sp.)



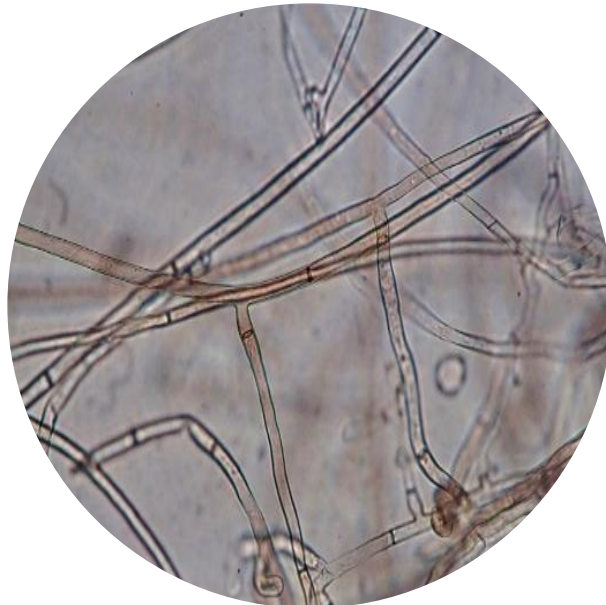
**Anexo 5.** Técnica de tapete de los hongos patógenos de quinua.  
(*Leptosphaerulina* sp., *Rhizoctonia* sp., *Botrytis* sp., *Cladosporium* ps., *Phoma* sp.)



**Anexo 6.** Técnica de tapete (*Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*).



**Anexo 7.** Microfotografía de muestra control de *Rhizoctonia sp.* a) Observación de hifas ángulo recto de 90 grados b) Observación de formación de Células monilioides.

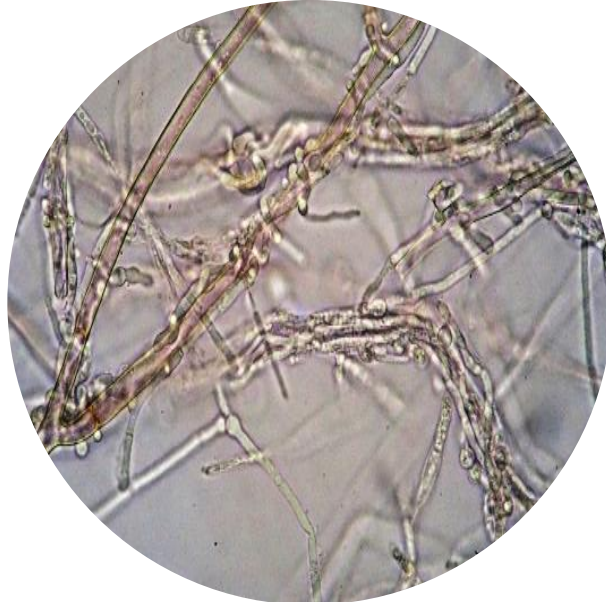


**A**



**B**

**Anexo 8.** Microfotografía de hifas en cultivo dual de *Rhizoctonia sp.* con *Trichoderma viride*, a) Formación de adherencia de hifas de *Trichoderma viride* sobre *Rhizoctonia sp.* y acordonamiento de hifas de *Trichoderma viride* b) Acordonamiento de hifas de *Trichoderma viride*.



A



B

**Anexo 9.** Microfotografía de hifas en cultivo dual de *Rhizoctonia sp.* con *Trichoderma harzianum* (adherencia de hifas de *Trichoderma harzianum* sobre *Rhizoctonia sp.*)

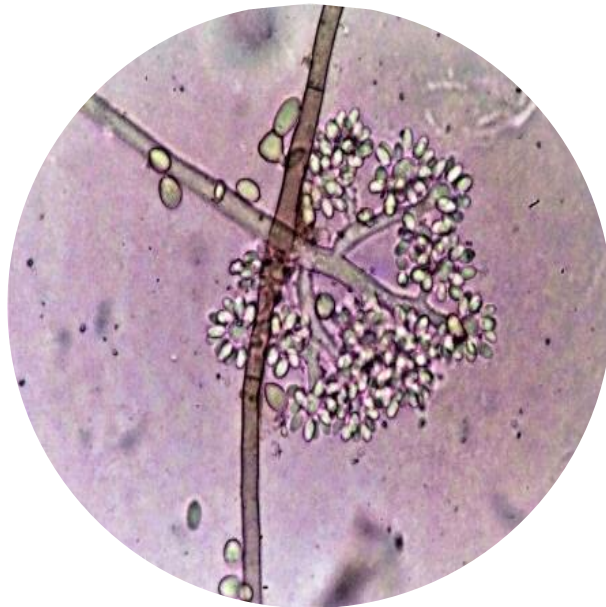




**Anexo 10.** Microfotografía de hifas de cultivo de *Botrytis sp.* a) Observación de formación de esclerotes. b) Conidios, conidióforo y formación de conidios sin antagonista.

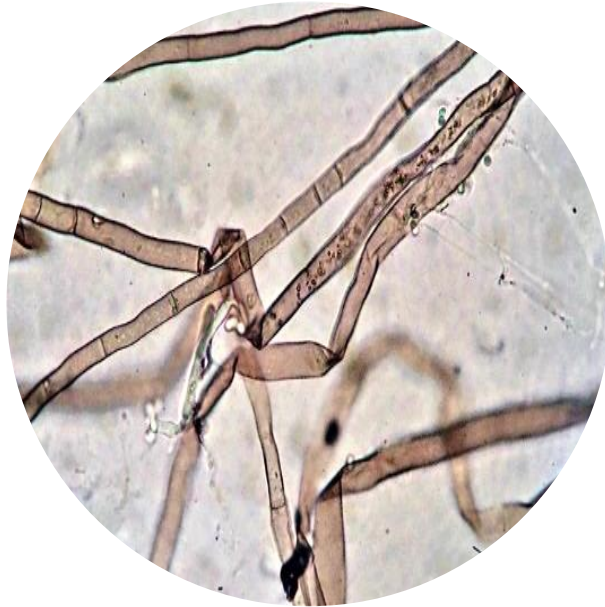


A



B

**Anexo 11.** Microfotografías de hifas en cultivo dual de *Botrytis sp.* y *Trichoderma viride* a) Se observa deshidratación de hifas del patógeno. b) Adherencia de hifas de *Trichoderma viride* a micelio de *Botrytis sp.*



A

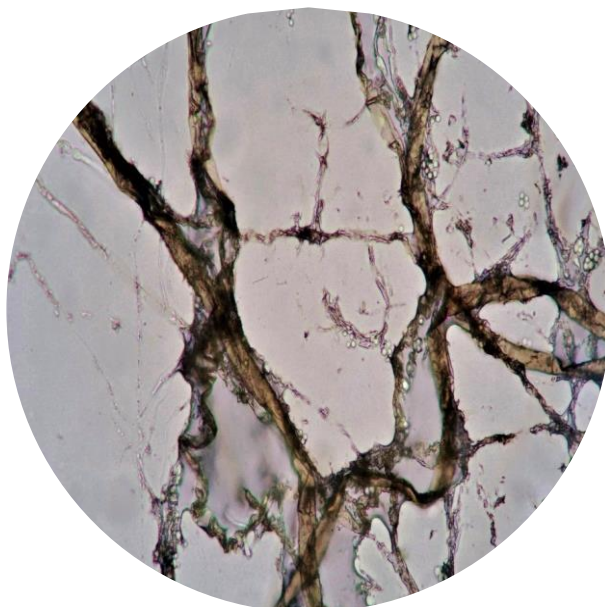


B

**Anexo 12.** Microfotografía de hifas en cultivo dual de *Botrytis sp.* y *Trichoderma harzianum*. a) Deshidratación de hifas de *Botrytis sp.* b) Adherencia de hifas de *Trichoderma harzianum* sobre hifas de *Botrytis sp.*

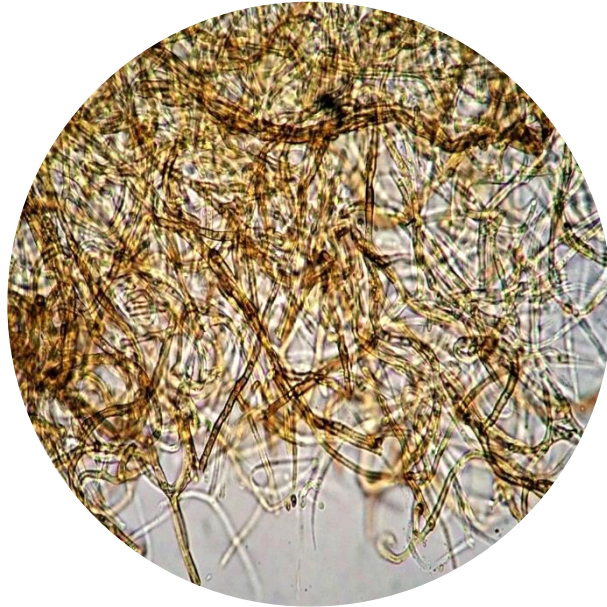


A

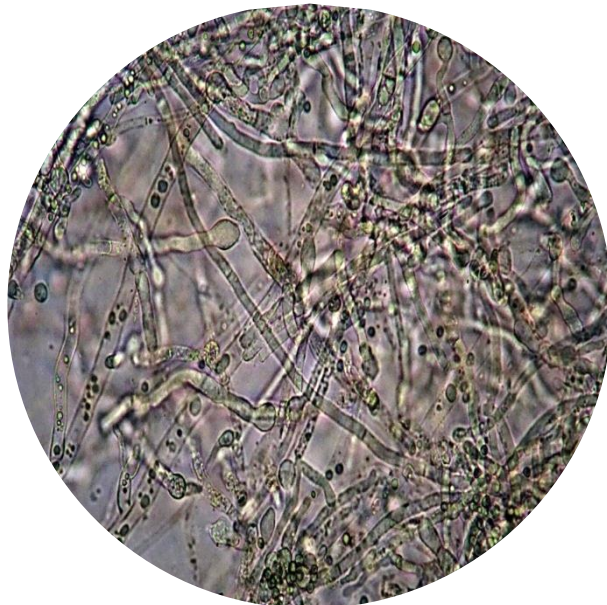


B

**Anexo 13.** Microfotografía de hifas de cultivo de *Leptosphaerulina* sp., sin antagonista.



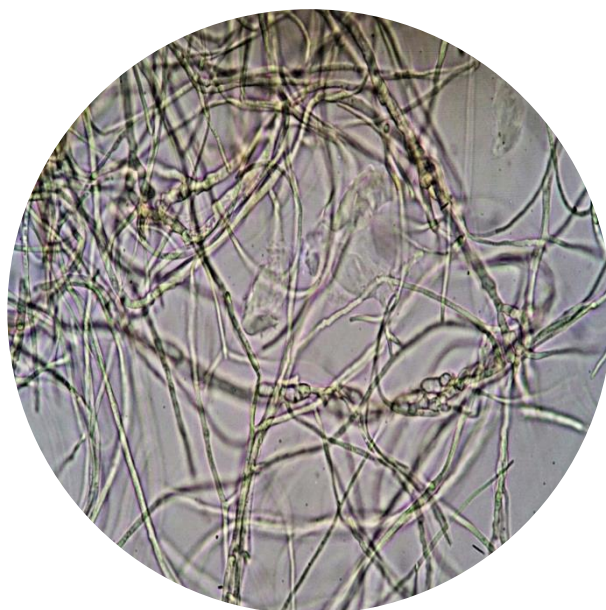
**Anexo 14.** Microfotografía de hifas en cultivo dual de *Leptosphaerulina* sp. con *Trichoderma viride* (formación de clamidosporas de *Leptosphaerulina*).



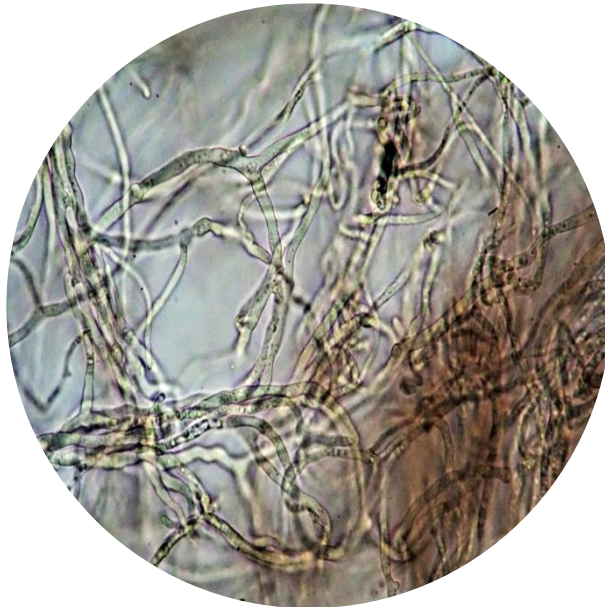
**Anexo 15.** Microfotografía de hifas en cultivo dual de *Leptosphaerulina sp.* con *Trichoderma harzianum*. Enrollamiento y granulación de citoplasma de las hifas de *Leptosphaerulina sp.*



**Anexo 16.** Microfotografía de hifas de cultivo de *Phoma sp.* sin antagonista. Inicio de formación de clamidosporas de *Phoma sp.*



**Anexo 17.** Microfotografía de hifas de cultivo dual de *Phoma sp.* con *Trichoderma viride*. Engrosamiento de hifas de *Phoma sp.*



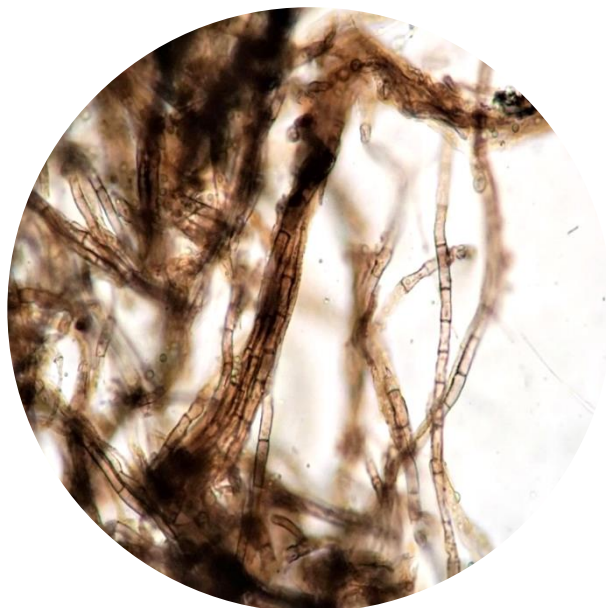
**Anexo 18.** Microfotografía de hifas de cultivo dual de *Phoma sp.* con *Trichoderma harzianum*. acordonamiento de hifas de *Phoma sp.*



**Anexo 19.** Microfotografía de hifas de cultivo *Cladosporium sp.* sin antagonista. Hifas con formación de clamidosporas.



**Anexo 20.** Microfotografía de hifas de cultivo dual de *Cladosporium sp.* con *Trichoderma viride*. Acordonamiento de hifas de *Cladosporium sp.* sin formación de clamidosporas.



**Anexo 21.** Microfotografía de hifas de cultivo dual de *Cladosporium* sp. con *Trichoderma harzianum*. Presencia de clamidosporas.

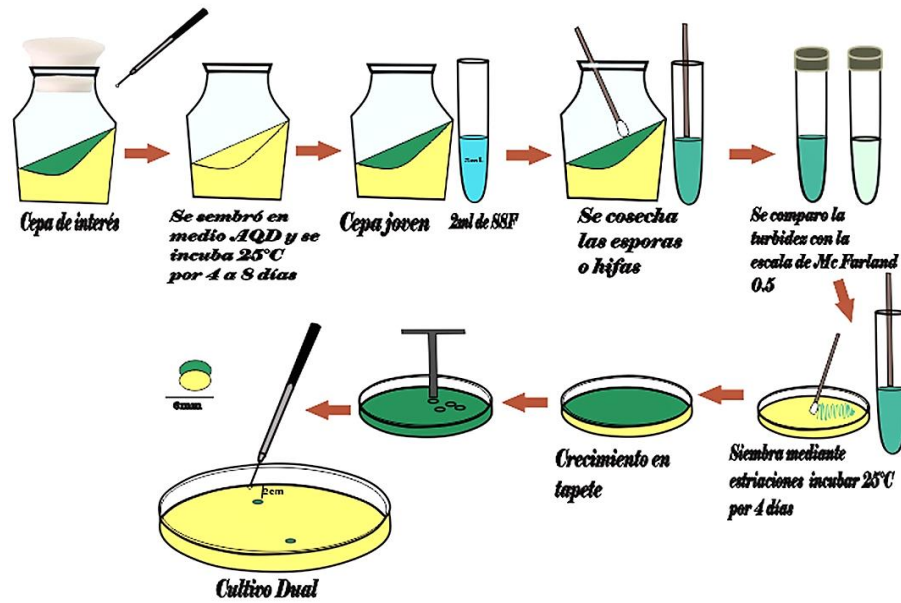


**Anexo 22.** Procedimiento para preparación de medio Agar Quinua Dextrosa.

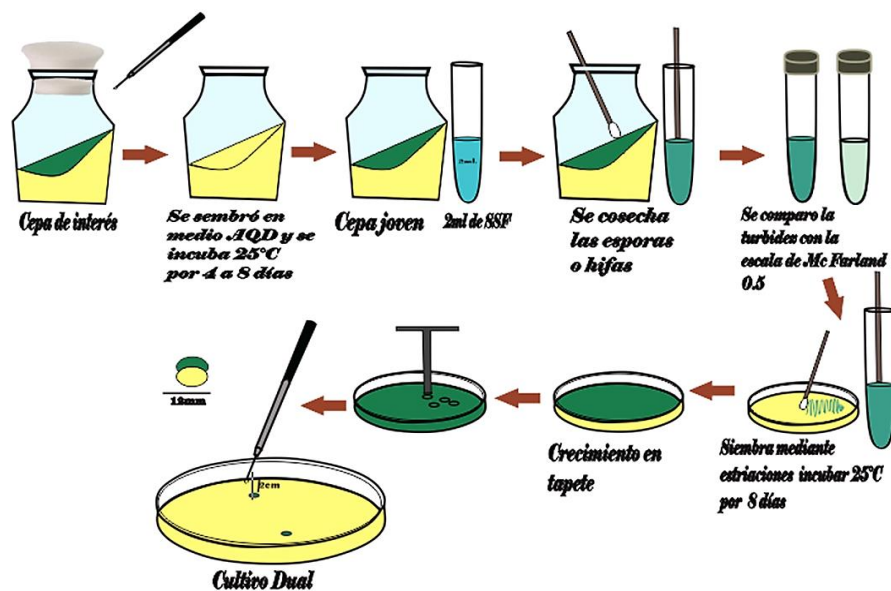




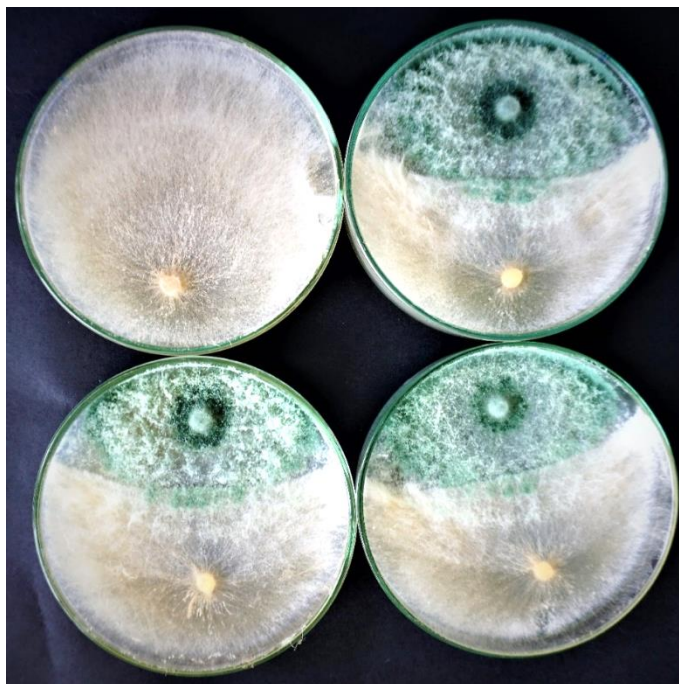
**Anexo 23.** Metodología para la obtención de cultivo dual. (Aplicado para hongos de crecimiento rápido).



**Anexo 24.** Metodología para la obtención de cultivo dual. (Aplicado para hongos de crecimiento lento).



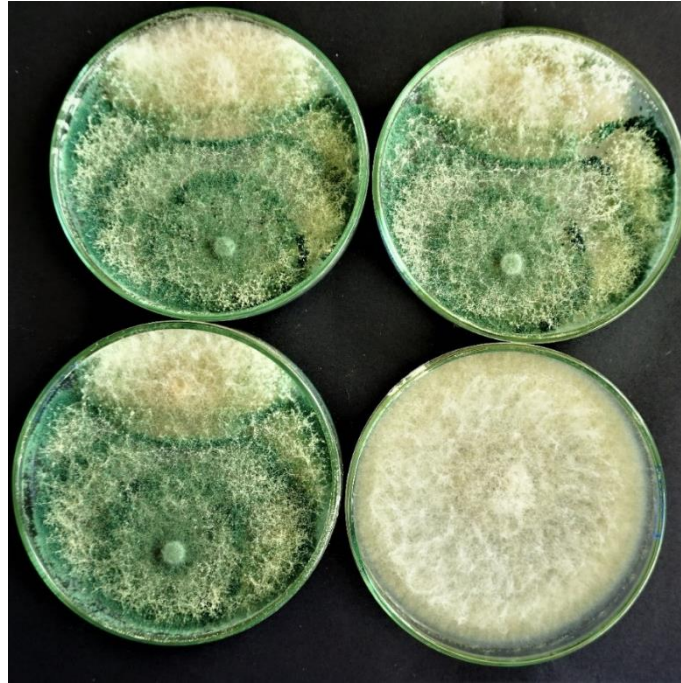
**Anexo 25.** Observación macroscópica de enfrentamiento dual de *Rhizoctonia sp.* con *Trichoderma viride*.



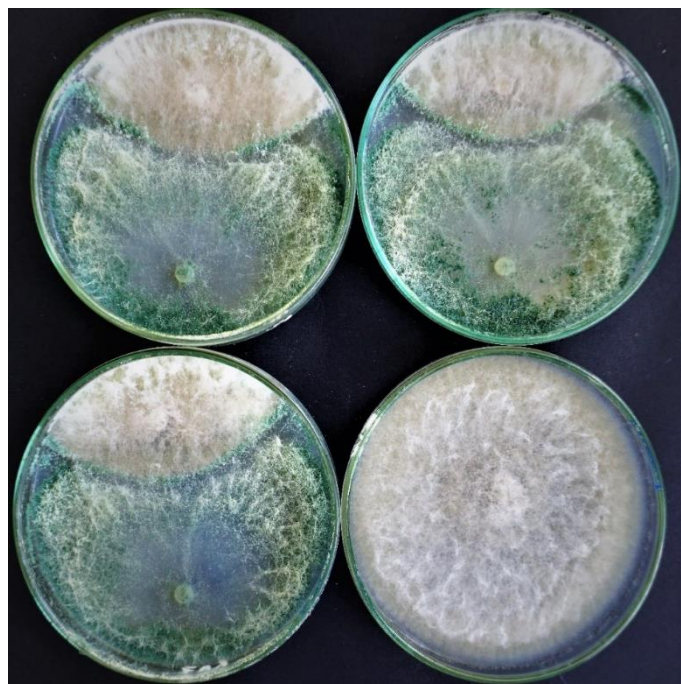
**Anexo 26.** Observación macroscópica de enfrentamiento dual de *Rhizoctonia sp.* con *Trichoderma harzianum*.



**Anexo 27.** Observación macroscópica de enfrentamiento dual de *Botrytis sp.* y *Trichoderma viride*.



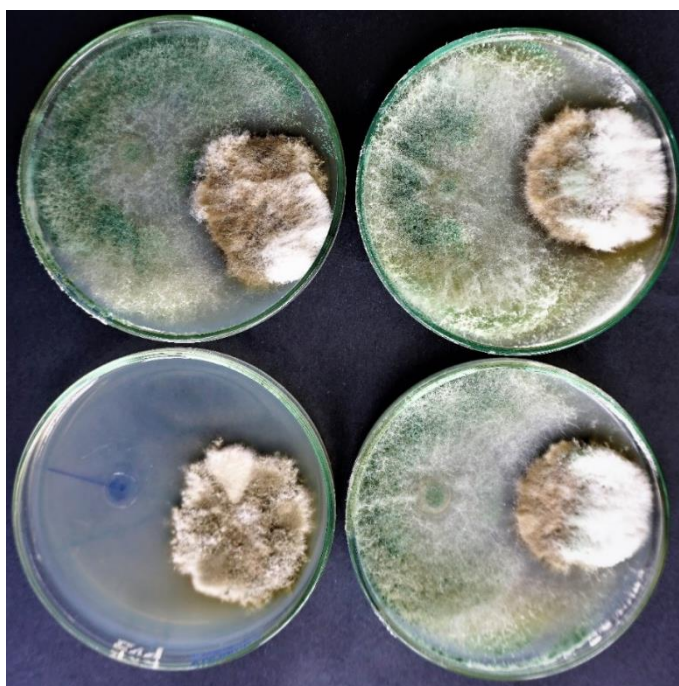
**Anexo 28.** Observación macroscópica de enfrentamiento dual de *Botrytis sp.* y *Trichoderma harzianum*.



**Anexo 29.** Observación macroscópica de enfrentamiento dual de *Leptosphaerulina* sp. con *Trichoderma viride*.



**Anexo 30.** Observación macroscópica de enfrentamiento dual de *Leptosphaerulina* sp. con *Trichoderma harzianum*.



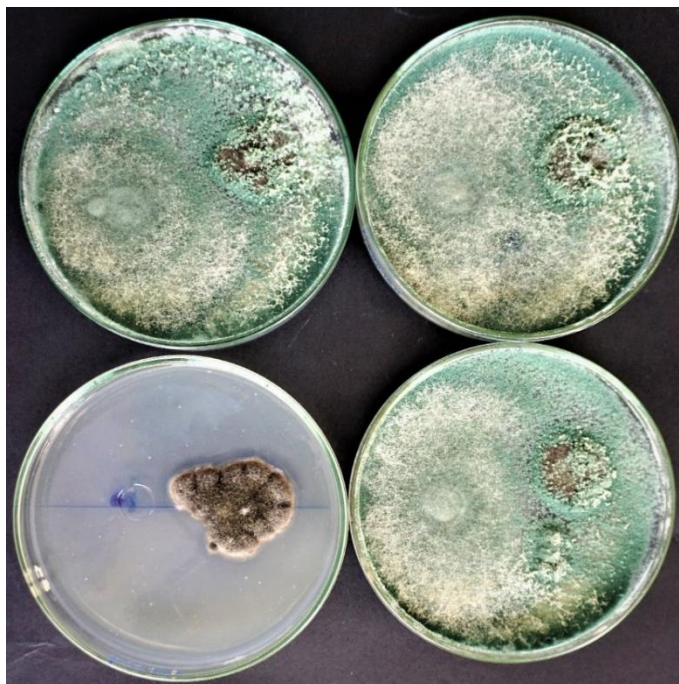
**Anexo 31.** Observación macroscópica de enfrentamiento dual de *Phoma sp.* con *Trichoderma viride*.



**Anexo 32.** Observación macroscópica de enfrentamiento dual de *Phoma sp.* con *Trichoderma harzianum*.



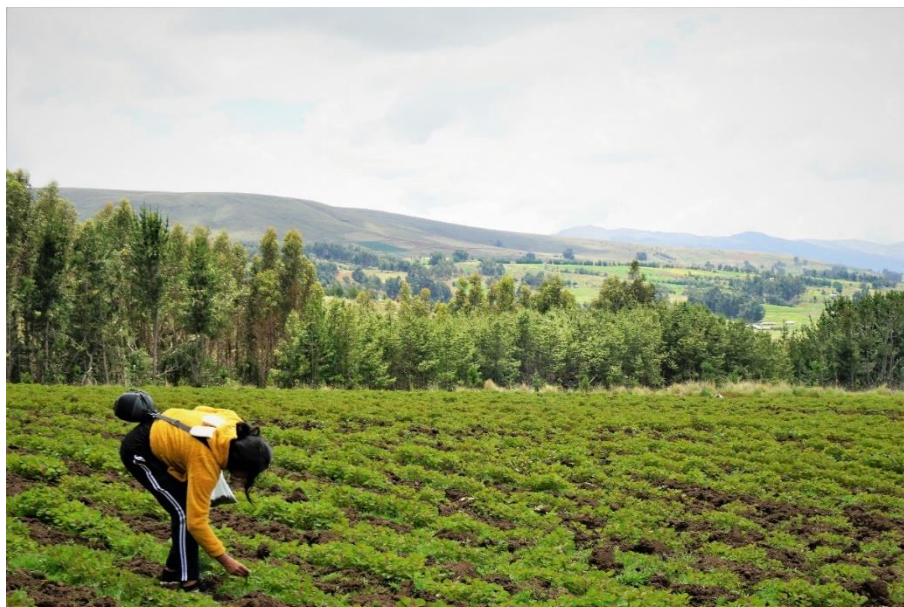
**Anexo 33.** Observación macroscópica de enfrentamiento dual de *Cladosporium* sp. con *Trichoderma viride*.



**Anexo 34.** Observación macroscópica de enfrentamiento dual de *Cladosporium* sp. con *Trichoderma harzianum*.



**Anexo 35.** Recolección de muestras de plantas de quinua con síntomas.



**Anexo 36.** Selección de muestras para efectuar cámara húmeda, muestra de quinua seleccionando con síntomas de patógeno.



**Anexo 37.** Siembra de cultivo dual de *Trichoderma viride* ante *Botrytis sp.* en Agar Quinua Dextrosa.





**Anexo 38.** Fitopatólogo de *Botrytis sp.* siembra en tapete.



## Anexo 39. Matriz de consistencia

**TÍTULO:** “Expresión antagonica *in vitro* de *Trichoderma harzianum* y *T. viride* ante hongos fitopatogenos aislados de *Chenopodium quinoa* Willd. Ayacucho.

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGIA
¿Expresa capacidad antagonica <i>in vitro</i> <i>T. harzianum</i> y <i>T. viride</i> ante hongos fitopatogenos aislados de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd Ayacucho?	<p>Determinar la expresion antagonica <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Trichoderma viride</i> en cinco hongos patogenos aislados de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.</p> <p><b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinar la expresion antagonica de <i>Trichoderma harzianum</i> en cinco hongos fitopatogenos de <i>chenopodium quinoa</i> willd.</li> <li>• Determinar la expresion antagonica de <i>Trichoderma viride</i> en cinco hongos fitopatogenos de <i>Chenopodium quinoa</i> willd.</li> </ul>	<p><b>2.1. ANTECEDENTES</b></p> <p><b>2.2. BASE TEORICA</b></p> <p>2.2.1. Antagonismo</p> <p>2.2.1.1. Microorganismos antagonistas.</p> <p>2.2.2. Aspectos generales de Thichoderma.</p> <p>2.2.2.1. Taxonomia</p> <p>2.2.2.2. Caracteristicas de Trichoderma.</p> <p>2.2.2.3. Mecanismo de accion de Trichoderma.</p> <p>2.2.2.4. <i>Trichoderma harzianum</i>.</p> <p>2.2.2.5. <i>Trichoderma viride</i>.</p> <p>2.2.3. La quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.)</p> <p>2.2.3.1. Taxonomia de quinua.</p> <p>2.2.3.2. Caracteristicas de patogenos observados en <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. En Ayacucho.</p> <p>A. <i>Botrytis sp.</i></p> <p>B. <i>Rhizoctonia sp.</i></p> <p>C. <i>Leptosphaerulina sp.</i></p> <p>D. <i>Cladosporium sp.</i></p> <p>E. <i>Phoma sp.</i></p>	<p>Los hongos <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Trichoderma viride</i> muestran actividad antagonica en cinco hongos patogenos de la quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.)</p>	<p>3.1. Variable independiente Especies de <i>Trichoderma</i> Indicadores <i>Trichoderma harzianum</i> <i>Trichoderma viride</i></p> <p>3.2. Variable dependiente Capacidad antagonica. Indicadores Porcentaje de inhibicion radial de crecimiento de la colonia. Micoparasitismo (enrollamiento de hifas, adherencia de <i>Trichoderma</i> a hifas del patogeno).</p>	<p><b>Tipo de investigacion:</b> Basica aplicada</p> <p><b>DISEÑO EXPERIMENTAL</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Recoleccion de muestra.</li> <li>• Procesamiento de las muestras colectada.</li> <li>• Aislamiento de hongos fitopatogenos.</li> <li>• Obtencion de cultivo puro de hongo.</li> <li>• Procedimiento de caracterizacion e identificacion de patogeno.</li> <li>• Siembra de hongos fitopatogeno y antagonistas en AQD.</li> <li>• Obtencion de Thichoderma y fitopatogenos en tapete y block de gelosa.</li> <li>• Procedimiento de aplicacion de la tecnica de cultivo dual.</li> </ul> <p><b>ANÁLISIS DE DATOS</b> Se uso el diseño estadístico DCA (Diseño Completamente al Azar), También se realiza el Análisis de Varianza y la prueba de comparacion de medias de Tukey</p>

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**  
**Bach. Evelin ISLACHIN HUACRE**  
**R.D. N° 175-2022-UNSCH-FCB-D**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del nueve de setiembre del año dos mil veintidós; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, presidido por el Dr. Serapio ROMERO GAVILÁN, encargado con memorando N° 132-2022-UNSCH(IN)-FCB; quien a su vez es Miembro-Jurado; Dra. Roberta Brita ANAYA GONZÁLEZ (Miembro-Jurado); Mg. Ruth Elsa HUAMÁN DE LA CRUZ (Miembro-Asesora), Mg. Rilder Nemesio GASTELÚ QUÍSPE (Miembro-4to Jurado), actuando como secretaria docente la Dra. Nilda Aurea APAYCO ESPINOZA; para presenciar la sustentación de tesis titulada: "**Expresión antagónica *in vitro* de *Trichoderma harzianun* y *T. viride* ante hongos fitopatógenos aislados de *Chenopodium quinoa* Willd. Ayacucho**"; presentado por la **Bach. Evelin ISLACHIN HUACRE**; el Presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó a la secretaria docente dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto académico, luego de ello dispuso el inicio al acto de sustentación, indicando a la sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología. Concluida la exposición, el Presidente invitó a cada uno de los Miembros Jurado, a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas a la sustentante. Culminada esta etapa, el presidente invitó a la sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones, cuyos resultados son los que se consignan a continuación.

MIEMBROS DEL JURADO EVALUADOR	EXPOSICIÓN	RESPUESTA A PREGUNTAS	PROMEDIO
Dr. Serapio ROMERO GAVILÁN	15	13	14
Dra. Roberta Brita ANAYA GONZÁLEZ	15	13	14
Mg. Rilder Nemesio GASTELÚ QUÍSPE	15	13	14
		<b>Promedio final</b>	<b>14</b>

La sustentante alcanzó el promedio de 14 (catorce) aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso de la sustentante y el público al Auditorio dando a conocer los resultados, e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las 6:45 p.m.; firmando al pie del presente en señal de conformidad.

Dr. Serapio ROMERO GAVILÁN  
Presidente (e) - Miembro - Jurado

Dra. Roberta Brita ANAYA GONZÁLEZ  
Miembro - Jurado

Mg. Rilder Nemesio GASTELÚ QUÍSPE  
Miembro - 4to Jurado

Mg. Ruth Elsa HUAMÁN DE LA CRUZ  
Miembro - Asesora

Dra. Nilda Aurea APAYCO ESPINOZA  
Secretaría - Docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

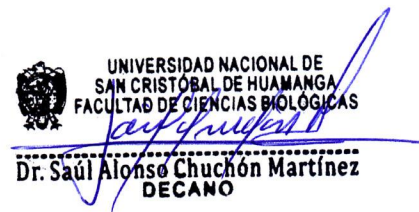
DECANATURA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS N° 18-  
2023-FCB-D

Yo, SAÚL ALONSO CHUCHÓN MARTÍNEZ, Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **“Expresión antagónica in vitro de Trichoderma harzianum y T. viride ante hongos fitopatógenos aislados de Chenopodium quinoa Willd. Ayacucho.”** presentado por la Bach. EVELIN ISLACHÍN HUACRE; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 25%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-C.

En tal sentido, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 20 de julio de 2023.

  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez  
DECANO

Expresión antagónica in vitro  
de *Trichoderma harzianum* y *T.*  
*viride* ante hongos  
fitopatógenos aislados de  
*Chenopodium quinoa* Willd.  
Ayacucho.

*por* Evelin Islachín Huacre

---

**Fecha de entrega:** 20-jul-2023 04:35p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2134221234

**Nombre del archivo:** 1A\_Islachin\_Huacre\_Evelin\_Pregrado\_2023\_Turnitin.doc.docx (162.65K)

**Total de palabras:** 14218

**Total de caracteres:** 80004

# Expresión antagónica in vitro de *Trichoderma harzianum* y *T. viride* ante hongos fitopatógenos aislados de *Chenopodium quinoa* Willd. Ayacucho.

## INFORME DE ORIGINALIDAD

25%

INDICE DE SIMILITUD

26%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://repositorio.unsch.edu.pe">repositorio.unsch.edu.pe</a> Fuente de Internet	6%
2	<a href="http://repositorio.unsa.edu.pe">repositorio.unsa.edu.pe</a> Fuente de Internet	2%
3	<a href="http://caelum.ucv.ve">caelum.ucv.ve</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="http://vsip.info">vsip.info</a> Fuente de Internet	1%
6	<a href="http://www.ensayostube.com">www.ensayostube.com</a> Fuente de Internet	1%
7	<a href="http://dspace.esPOCH.edu.ec">dspace.esPOCH.edu.ec</a> Fuente de Internet	1%
8	<a href="http://dspace.ups.edu.ec">dspace.ups.edu.ec</a> Fuente de Internet	1%

9	<a href="http://idoc.pub">idoc.pub</a> Fuente de Internet	1 %
10	<a href="http://www.fcnym.unlp.edu.ar">www.fcnym.unlp.edu.ar</a> Fuente de Internet	1 %
11	<a href="http://www.redalyc.org">www.redalyc.org</a> Fuente de Internet	1 %
12	<a href="http://www.colibri.udelar.edu.uy">www.colibri.udelar.edu.uy</a> Fuente de Internet	1 %
13	<a href="http://epdf.pub">epdf.pub</a> Fuente de Internet	1 %
14	<a href="http://aplicaciones.virtual.unal.edu.co">aplicaciones.virtual.unal.edu.co</a> Fuente de Internet	1 %
15	<a href="http://1library.co">1library.co</a> Fuente de Internet	1 %
16	<a href="http://redi.unjbg.edu.pe">redi.unjbg.edu.pe</a> Fuente de Internet	1 %
17	<a href="http://reviberoammicol.com">reviberoammicol.com</a> Fuente de Internet	1 %
18	<a href="http://dspace.utpl.edu.ec">dspace.utpl.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
19	<a href="http://revistas.uis.edu.co">revistas.uis.edu.co</a> Fuente de Internet	<1 %
20	<a href="http://tesis.ipn.mx">tesis.ipn.mx</a> Fuente de Internet	<1 %

21	<a href="http://cybertesis.uach.cl">cybertesis.uach.cl</a> Fuente de Internet	<1 %
22	Submitted to BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA BIBLIOTECA Trabajo del estudiante	<1 %
23	<a href="http://uaeh.redalyc.org">uaeh.redalyc.org</a> Fuente de Internet	<1 %
24	<a href="http://repositorio.utc.edu.ec">repositorio.utc.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
25	<a href="http://biblioteca.uajms.edu.bo">biblioteca.uajms.edu.bo</a> Fuente de Internet	<1 %
26	<a href="http://revistas.reduc.edu.cu">revistas.reduc.edu.cu</a> Fuente de Internet	<1 %
27	<a href="http://ri.uaemex.mx">ri.uaemex.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
28	<a href="http://riul.unanleon.edu.ni:8080">riul.unanleon.edu.ni:8080</a> Fuente de Internet	<1 %
29	Submitted to Colegio Nacional Primero de Abril Trabajo del estudiante	<1 %
30	<a href="http://www.idesia.cl">www.idesia.cl</a> Fuente de Internet	<1 %
31	<a href="http://recursosbiblio.url.edu.gt">recursosbiblio.url.edu.gt</a> Fuente de Internet	<1 %



32 [prezi.com](https://prezi.com) Fuente de Internet <1 %

---

33 Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD,UNAD Trabajo del estudiante <1 %

---

34 [pt.scribd.com](https://pt.scribd.com) Fuente de Internet <1 %

---

35 [repositorio.unal.edu.co](https://repositorio.unal.edu.co) Fuente de Internet <1 %

---

36 [www.dspace.uce.edu.ec](https://www.dspace.uce.edu.ec) Fuente de Internet <1 %

---

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 30 words