

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS:

Antagonismo de *Trichoderma* spp frente a hongos de la fumagina en *Citrus sinensis* “naranja”. Ayacucho, 2024

Para optar el título profesional de:
BIÓLOGA, ESPECIALIDAD: MICROBIOLOGÍA

PRESENTADO POR:
Bach. Neysha Vanessa TALAVERA AQUINO

ASESOR:
Mg. Rilder Nemesio GASTELÚ QUISPE

COASESOR:
Mg. Pedro Mauricio DELGADILLO CORONADO

AYACUCHO - PERÚ

2026

A mis queridos padres, Emiliano Talavera, Carolina Aquino, a mis hermanos, por su amor incondicional, su apoyo inquebrantable y el constante sacrificio que hicieron posible cada paso de mi formación profesional.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haberme abierto las puertas y ofrecerme una formación integral, tanto profesional como humanista. A la Facultad de Ciencias Biológicas y a la Escuela Profesional de Biología, especialmente a sus docentes, por inspirarme y guiarme en el camino de la investigación, impulsando la realización de esta tesis.

Al Blgo. Rilder Nemesio Gastelú Quispe, mi más sincero agradecimiento por su asesoramiento constante, sus valiosos aportes y recomendaciones, que fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo.

Al Blgo. Pedro Mauricio Delgadillo Coronado, agradezco por su guía y apoyo en el análisis estadístico de la tesis, así como sus importantes sugerencias que enriquecieron significativamente este proyecto.

A la Blga. Ruth Elsa Huamán De La Cruz, mi gratitud por su invaluable contribución a la culminación de esta investigación.

Al Blgo. Víctor Humberto Alegría Valeriano, gracias por su dedicación, meticulosidad y orientación en cada etapa.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.1.1. Antecedentes internacionales	4
2.1.2. Antecedentes nacionales	6
2.1.3. Antecedentes locales	7
2.2. Marco conceptual	8
2.2.1. Aislamiento	8
2.2.2. Antagonismo	8
2.2.3. Capacidad antagónica	8
2.2.4. Mecanismos de acción	8
2.2.5. Signo	9
2.2.6. Síntoma	9
2.3. Bases teóricas	9
2.3.1. Características morfológicas de la planta de naranja	9
2.3.2. Generalidades del patógeno <i>Cladosporium</i> spp.	13
2.3.3. Generalidades del patógeno <i>Rhizopus</i> spp.	16
2.3.4. Generalidades del patógeno <i>Alternaria</i> spp.	18
2.3.5. Generalidades de <i>Trichoderma</i> spp.	22
III. MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.1. Ubicación del lugar de muestreo	28
3.1.1. Ubicación política	28
3.1.2. Ubicación geográfica	28
3.1.3. Lugar de ejecución	28
3.2. Unidad de análisis	28
3.3. Tipo de investigación	28

3.4. Diseño de investigación	28
3.5. Metodología	29
3.5.1. Obtención de cepas de <i>Trichoderma</i> spp.	29
3.5.2. Recolección de muestras y aislamiento de los hongos fitopatógenos	29
3.5.3. Evaluación del efecto antagónico (Técnica de cultivo dual)	30
3.5.4. Identificación molecular de <i>Trichoderma</i> spp. y los fitopatógenos aislados	32
3.5.5. Análisis estadístico	34
IV. RESULTADOS	35
V. DISCUSIÓN	43
VI. CONCLUSIONES	51
VII. RECOMENDACIONES	52
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
ANEXOS	61

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Escala de categoría de inhibición de crecimiento PICR. (Ramírez et al., 2019).	31
Tabla 2. Escala para la clasificación del antagonismo. (Bell et al., 1982).	31
Tabla 3. Escala para determinar el micoparasitismo de <i>Trichoderma</i> spp. sobre hongos fitopatógenos (Benítez et al., 2004).	32
Tabla 4. Secuencia de los cebadores para las PCR (Cai & Druzhinina, 2021).	33
Tabla 5. Tipo de muestras y hongos fitopatógenos aislados de cultivos de naranja " <i>Citrus sinensis</i> ".	36
Tabla 6. Identificación molecular de hongos fitopatógenos y antagonistas.	37
Tabla 7. Grado de antagonismo de las dos cepas de <i>Trichoderma</i> frente a los hongos fitopatógenos según la escala de Bell.	40

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) de las dos cepas de <i>Trichoderma</i> frente a hongos fitopatógenos.	38
Figura 2. Comparación de medias PICR mediante Tukey ($p < 0,05$).	39
Figura 3. Prueba de T de Student para <i>Alternaria alternata</i> vs <i>Trichoderma atroviride</i> y <i>Trichoderma harzianum</i> .	41
Figura 4. Prueba de T de Student para <i>Rhizopus stolonifer</i> vs <i>Trichoderma atroviride</i> y <i>Trichoderma harzianum</i> .	42

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Toma de muestras de hojas, raíces y tallos con signos y síntomas de enfermedad para el aislamiento de fitopatógenos en el distrito de Alcamenca, centro poblado Huambo, anexo Unya, provincia de Víctor Fajardo, Ayacucho – 2024.	62
Anexo 2. Muestras de plantas de naranja " <i>Citrus sinensis</i> " que presentan signos y síntomas de fumagina.	63
Anexo 3. Técnica de aislamiento de hongos fitopatógenos a partir de tejido vegetal con signos y síntomas de la enfermedad (raíz, tallo y hoja).	64
Anexo 4. Metodología para la obtención de cultivos en tapete y bloques de agarosa.	65
Anexo 5. Observaciones macroscópicas (40X) y microscópicas (100X) de los conidios de los fitopatógenos aislados.	66
Anexo 6. Observación microscópica del micoparasitismo entre <i>Trichoderma harzianum</i> y el fitopatógeno (<i>Rhizopus stolonifer</i>)	67
Anexo 7. Observación microscópica del micoparasitismo entre el <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Trichoderma artroviride</i> fitopatógeno (<i>Alternaria Alternata</i>).	68
Anexo 8. Evaluación del antagonismo <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma harzianum</i> (Th 1) y <i>Trichoderma Atroviride</i> (Th-2) sobre el crecimiento de fitopatógenos (<i>Alternaria alternata</i> y <i>Rhizopus stolonifer</i>).	70
Anexo 9. Enfrentamiento <i>in vitro</i> de los antagonistas frente a los fitopatógenos. <i>Trichoderma harzianum</i> (T-1) y <i>Trichoderma artroviride</i> (T-2) a los fitopatógenos (<i>Alternaria alternata</i> y <i>Rhizopus stolonifer</i>) a los 8 días de enfrentamiento.	71
Anexo 10. Matriz de consistencia.	72

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo general evaluar el efecto antagónico *in vitro* de cepas de *Trichoderma spp.* frente a los hongos asociados a la fumagina en cultivos de naranja en Ayacucho, durante el año 2024. El estudio fue básico y nivel descriptivo, en el Laboratorio de Microbiología Ambiental, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH). Las muestras biológicas fueron recolectadas en el distrito de Alcamenca, provincia de Víctor Fajardo, a una altitud de 2 651 m s. n. m., seleccionándose hojas y tallos que presentaban sintomatología característica de fumagina. Los hongos fitopatógenos fueron aislados y cultivados en Agar Papa Dextrosa (APD) a 25 °C. La identificación molecular se realizó mediante extracción de ADN genómico y amplificación por PCR con cebadores específicos, lo que permitió confirmar la presencia de *Alternaria alternata* (F.1) y *Rhizopus stolonifer* (F.2), así como de las cepas antagonistas *Trichoderma atroviride* (T.1) y *Trichoderma harzianum* (T.2). La evaluación del potencial biocontrolador se efectuó mediante la técnica de cultivo dual, determinándose el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) y el grado de micoparasitismo según la escala de Bell. El análisis estadístico se realizó en el software RStudio, aplicándose pruebas t de Student, análisis de varianza (ANOVA) y comparaciones múltiples de Tukey, con un nivel de significancia de 0,05. Los resultados evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$), destacando a *Trichoderma atroviride* como el antagonista más eficiente. Frente a *Alternaria alternata*, esta cepa alcanzó un PICR del 42,07 %, superando significativamente al 21,43 % obtenido por *T. harzianum*. De manera similar, frente a *Rhizopus stolonifer*, *T. atroviride* logró una inhibición del 33,99 %, mientras que *T. harzianum* registró un 17,51 %. En cuanto al micoparasitismo, *T. atroviride* se ubicó en el grado 1 de la escala de Bell, evidenciando una colonización completa (100 %) sobre los patógenos, mientras que *T. harzianum* alcanzó el grado 2, con un 75 % de cobertura. En conclusión, *Trichoderma atroviride* demostró un alto potencial biocontrolador *in vitro*, validándose como una alternativa biotecnológica eficaz y sostenible para el manejo fitosanitario de la naranja en la región de Ayacucho.

Palabras clave: *Trichoderma spp.*, *Citrus sinensis*, control biológico, PICR, micoparasitismo, *Alternaria alternata*.

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de naranja (*Citrus sinensis*) constituye una de las actividades frutícolas de mayor importancia económica y social en el Perú, al representar una fuente sostenible de ingresos para pequeños y medianos productores, especialmente en regiones andinas como el departamento de Ayacucho. Sin embargo, la rentabilidad y calidad comercial de este cultivo se ven seriamente comprometidas por la aparición recurrente de enfermedades fúngicas, entre las cuales destaca la denominada “fumagina”. Esta afección se caracteriza por el desarrollo de una capa oscura sobre la superficie foliar y los frutos, lo que no solo reduce su valor estético y comercial, sino que también interfiere con la fotosíntesis, debilitando el desarrollo fisiológico de la planta y disminuyendo su productividad (García y Martínez, 2021). En la actualidad, el manejo fitosanitario de la fumagina se basa principalmente en la aplicación de fungicidas sintéticos. Si bien estos productos ofrecen resultados inmediatos, su uso intensivo y prolongado ha ocasionado serias consecuencias, entre ellas la aparición de cepas patógenas resistentes, la contaminación del suelo y del agua, la afectación de microorganismos benéficos y riesgos potenciales para la salud humana y animal (Pérez *et al.*, 2022). Estas problemáticas reflejan una situación crítica que exige la búsqueda de estrategias de control más sostenibles, eficientes y compatibles con la conservación del medio ambiente, especialmente en zonas agrícolas vulnerables donde el uso racional de insumos es fundamental para la seguridad alimentaria.

Ante este escenario, el control biológico surge como una alternativa ecológica y sustentable dentro del manejo integrado de enfermedades agrícolas. En este contexto, especies del género *Trichoderma* spp. han demostrado un notable potencial como agentes de biocontrol debido a su alta adaptabilidad, amplia distribución natural y múltiple mecanismo de acción frente a hongos fitopatógenos. Estos mecanismos incluyen la competencia por espacio y nutrientes, la producción

de metabolitos antifúngicos (antibiosis) y el micoparasitismo, mediante el cual *Trichoderma* coloniza, degrada y elimina las estructuras del patógeno, reduciendo su capacidad infecciosa (Harman *et al.*, 2004). No obstante, la eficacia de *Trichoderma* spp. depende en gran medida de la cepa utilizada y de las condiciones edafoclimáticas locales, lo que hace imprescindible evaluar cepas específicas frente a patógenos presentes en cada región. La evaluación del efecto antagónico de agentes biocontroladores requiere el empleo de métodos experimentales confiables que permitan cuantificar su eficacia. Entre las herramientas más empleadas se encuentra la técnica de cultivo dual, que posibilita medir el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) del patógeno, así como la evaluación del grado de micoparasitismo mediante escalas estandarizadas, como la propuesta por Bell. Estos indicadores permiten valorar de manera objetiva la capacidad de *Trichoderma* spp. para limitar el desarrollo del hongo fitopatógeno y confirmar su potencial como biofungicida natural.

En este marco, la presente investigación tuvo como finalidad evaluar *in vitro* la capacidad antagónica de dos cepas de *Trichoderma* spp. frente a los hongos causantes de la “fumagina” en cultivos de *Citrus sinensis*. El estudio se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo, utilizando técnicas microbiológicas y moleculares para la identificación precisa de los fitopatógenos y antagonistas, así como métodos experimentales de cultivo dual para evaluar la inhibición del crecimiento fúngico. La investigación se llevó a cabo en condiciones controladas en el Laboratorio de Microbiología Ambiental de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

La generación de información científica sobre el desempeño de cepas nativas o adaptadas de *Trichoderma* spp. permitirá establecer bases sólidas para el desarrollo de estrategias de control biológico aplicables a la realidad agrícola de Ayacucho. En este sentido, los resultados del presente estudio constituyen un aporte relevante al conocimiento sobre alternativas sostenibles al uso de agroquímicos, promoviendo prácticas agrícolas responsables que contribuyan tanto a la sanidad vegetal como a la conservación del medio ambiente y al bienestar de la población.

Objetivo general

Evaluar el efecto antagónico de cepas de *Trichoderma* spp. frente a hongos causantes de la fumagina en *Citrus sinensis* “naranja”. Ayacucho, 2024.

Objetivos específicos

1. Aislar e identificar molecularmente las cepas de hongo causante de la fumagina.
2. Determinar el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) sobre hongos causantes de la fumagina.
3. Determinar el grado de antagonismo (micoparasitismo) de dos cepas de *Trichoderma* spp. sobre hongos causantes de la fumagina.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

En Honduras, Jaramillo (2014) realizó la investigación titulada “Evaluación *in vitro* de la capacidad antagónica de *Trichoderma* shop. frente a *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. y *Phytophthora* sp.”, cuyo objetivo fue determinar el potencial antagonista de cepas de *Trichoderma* spp. frente a tres fitopatógenos de importancia agrícola. El estudio se desarrolló bajo un diseño experimental completamente al azar, empleando el método de cultivo dual con un total de 48 unidades experimentales distribuidas en 12 tratamientos y 4 repeticiones. Los resultados evidenciaron que todas las cepas de *Trichoderma* evaluadas presentaron actividad antagonista frente a los patógenos. Destacó *Trichoderma harzianum* cepa Choluteca, que alcanzó una inhibición superior al 73 % frente a *Alternaria* sp., superando ampliamente la inhibición observada frente a *Phytophthora* sp. (54 %) y *Fusarium* sp. (40 %). Asimismo, las cepas *T. harzianum* Zamorano y *Trichoderma koningii* mostraron niveles de inhibición similares, aunque esta última presentó menor inhibición contra *Alternaria* sp. (36 %). En todos los tratamientos, la inhibición radial fue evidente a los siete días de incubación. El autor concluyó que las cepas Choluteca y Zamorano de *T. harzianum* presentaron mayor capacidad de micoparasitismo sobre *Alternaria* sp. y *Phytophthora* sp., siendo la cepa Choluteca la de mayor eficacia antagonista.

En Ecuador, Caiza (2013) desarrolló la investigación titulada “Evaluación *in vitro* de la capacidad antagónica de *Trichoderma* comercial (*Trichoderma harzianum*) y *Trichoderma* nativo (*Trichoderma* sp.) frente a los patógenos *Alternaria* sp., *Fusarium oxysporum* y *Heterosporium echinulatum* del cultivo de clavel (*Dianthus caryophyllus*)”. El objetivo del estudio fue comparar la eficacia antagonista de cepas comerciales y nativas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos que

afectan el cultivo de clavel, como alternativa biológica al control químico. Para ello, se aislaron cepas nativas de *Trichoderma* del suelo agrícola mediante el método de diluciones seriadas, y se realizaron cultivos duales para evaluar la inhibición del crecimiento de los patógenos. Las cepas de *Trichoderma* fueron identificadas mediante características macro y micromorfológicas. Los resultados demostraron que las cepas nativas, identificadas como *Trichoderma viride* y *harzianum*, lograron un control efectivo del crecimiento de *Alternaria sp.*, *Fusarium oxysporum* y *Heterosporium echinulatum*, mostrando además mayor eficacia que la cepa comercial evaluada. El estudio concluyó que los mecanismos de control de *Trichoderma* incluyeron competencia por espacio y nutrientes, parasitismo y antibiosis.

En Argentina, Castrillo *et al.* (2021) realizaron el estudio denominado “Capacidad biocontroladora de aislamientos nativos de *Trichoderma sp.* contra el hongo fitopatógeno *Alternaria alternata*, aislado de yerba mate (*Ilex paraguariensis*)”. El objetivo fue identificar el agente causal de lesiones foliares en yerba mate y evaluar la capacidad antagónica *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. El hongo *Alternaria alternata* fue aislado e identificado morfológica y molecularmente a partir de material vegetal enfermo, y se realizaron pruebas de patogenicidad para confirmar su rol como agente causal. Posteriormente, se evaluó la actividad antagonista de 30 cepas de *Trichoderma* mediante cultivos duales, utilizando una cepa comercial de *Trichoderma harzianum* como control positivo. Los resultados indicaron que 18 de las 30 cepas nativas lograron inhibir más del 50 % del crecimiento micelial de *A. alternata*, mostrando diferencias estadísticamente significativas respecto al control comercial. Los autores resaltaron la destacada eficacia de cepas nativas adaptadas a las condiciones edafoclimáticas locales para el control biológico del patógeno.

En México, Andrade *et al.* (2019) evaluaron el efecto antagonista *in vitro* de *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma asperellum* frente a *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, patógenos responsables de la marchitez en plantas de ají. El estudio se realizó mediante la técnica de cultivo dual, midiendo el crecimiento micelial y calculando la inhibición del crecimiento radial mediante la fórmula propuesta por Ezziyyani *et al.* (2007). Los resultados mostraron que las tres especies de *Trichoderma* evaluadas presentaron un alto nivel de antagonismo, alcanzando inhibiciones superiores al 87 %, destacándose *T. asperellum* con 88.25 %, seguido de *T. harzianum* (87.8 %)

y *T. viride* (87.22 %). Estos resultados confirmaron la elevada eficacia de *Trichoderma spp.* como agentes de control biológico frente a diversos fitopatógenos.

2.1.2. Antecedentes nacionales

En Tingo María, Carranza (2014) desarrolló la investigación titulada “Efecto del propóleo, *Trichoderma harzianum* e iprodione sobre la mancha parda causada por *Alternaria alternata* pv. citri en el híbrido Tangelo Minneola a nivel *in vitro* y campo”. El objetivo del estudio fue evaluar la eficacia del propóleo de abeja, del hongo antagonista *Trichoderma harzianum* y del fungicida químico iprodione en el control de *Alternaria alternata* pv. citri, agente causal de la mancha parda en cítricos, tanto en condiciones de laboratorio como de campo. La investigación se realizó en plantaciones afectadas de Tangelo Minneola, donde previamente se confirmó la presencia del fitopatógeno. En laboratorio se determinaron concentraciones mínimas inhibitorias de extractos etanólicos de propóleo, además de evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum* y del fungicida comercial sobre el crecimiento micelial del patógeno. En campo se aplicaron seis tratamientos (extractos de propóleo al 15 % y 30 %, *Trichoderma harzianum*, iprodione y dos controles), realizándose seis aplicaciones con intervalos de quince días. Se registró el número de brotes y hojas sanas y enfermas. Los resultados indicaron que, en campo, ninguno de los tratamientos evaluados logró un control significativo de la enfermedad. En el ensayo adicional de laboratorio, únicamente la iprodione alcanzó un 96 % de control del patógeno. En conclusión, el estudio evidenció limitaciones en la eficacia de *Trichoderma harzianum* y del propóleo bajo condiciones de campo, resaltando la necesidad de evaluar cepas y condiciones ambientales específicas.

En Lima, Camarena (2012) realizó la investigación denominada “Efecto de la actividad metabólica de cepas de hongos antagonistas sobre *Alternaria alternata* (Fr.) causante de la mancha parda en cítricos”, cuyo objetivo fue evaluar el potencial biocontrolador de cepas de los géneros *Trichoderma*, *Pochonia* y *Clonostachys* frente a *Alternaria alternata*, patógena limitante en cítricos. El estudio se desarrolló en dos fases: ensayos *in vitro* mediante cultivos duales, influencia de filtrados metabólicos y observaciones microscópicas, y ensayos de campo en plantas de mandarina variedad Fortune. Se evaluaron siete cepas antagonistas, seleccionándose *Trichoderma* R6 como la cepa más prometedora. En laboratorio, esta cepa presentó la mayor inhibición del crecimiento micelial del

patógeno. En campo, el tratamiento con filtrado metabólico de *Trichoderma* R6 logró un control del 58.33 %, superando tanto el tratamiento con conidios en arroz (50 %) como el uso de fungicidas químicos (48.52 %). Los resultados demostraron el alto potencial de *Trichoderma* R6 como alternativa biológica efectiva frente a *Alternaria alternata* en cítricos.

2.1.3. Antecedentes locales

En Huamanga, Ayala (2019) llevó a cabo el estudio titulado “Efecto antagónico *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* sp. frente a los hongos fitopatógenos *Colletotrichum* sp. y *Fusarium* sp. Ayacucho, 2018”. El objetivo fue evaluar el antagonismo de cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a estos fitopatógenos de importancia agrícola. La investigación fue de tipo básica experimental, empleando un diseño completamente al azar con un solo factor, siete tratamientos y tres repeticiones. Se utilizaron siete cepas nativas de *Trichoderma* spp., aisladas de la rizosfera de cultivos de arveja y papa, y se evaluó el antagonismo mediante la técnica de cultivo dual, midiendo el porcentaje de inhibición radial del crecimiento (PIRC) y el grado de micoparasitismo. Los resultados mostraron inhibiciones frente a *Colletotrichum* spp. entre 26.32 % y 45 %, y frente a *Fusarium* spp. entre 28.57 % y 61.11 %. Varias cepas alcanzaron un grado 4 de micoparasitismo, indicando un potencial antagónico muy bueno. El autor concluyó que las cepas nativas de *Trichoderma* presentan un elevado potencial biocontrolador, especialmente frente a *Fusarium* spp.

Asimismo, en Ayacucho, Islachin (2022) desarrolló la investigación titulada “Expresión antagónica *in vitro* de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* contra hongos fitopatógenos aislados de *Chenopodium quinoa* Willd.”. El objetivo fue evaluar la capacidad antagónica de ambas especies de *Trichoderma* frente a cinco hongos fitopatógenos aislados de quinua: *Botrytis* sp., *Rhizoctonia* sp., *Leptosphaerulina* sp., *Phoma* sp. y *Cladosporium* sp. La investigación se desarrolló bajo un diseño completamente al azar utilizando la técnica de cultivo dual. Se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial, el grado de micoparasitismo y las alteraciones estructurales del micelio patógeno. Los resultados mostraron inhibiciones variables según el patógeno y el antagonista, destacándose *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* con distintos niveles de micoparasitismo, alcanzando hasta grado 1 y grado 4 en varios patógenos. A nivel microscópico se observaron hifas entrelazadas, deshidratación, plasmólisis y alteraciones en la esporulación, evidenciando mecanismos activos de micoparasitismo.

Finalmente, en Huamanguilla–Ayacucho, Pérez (2016) desarrolló la investigación “Identificación del agente patógeno del marchitamiento de *Caesalpinia spinosa* ‘tara’ y el efecto antagónico de *Bacillus sp.* y *Trichoderma sp.*”. El estudio tuvo como objetivo identificar el patógeno causante del marchitamiento vascular y evaluar el potencial antagonista de bacterias del género *Bacillus spp.* y hongos del género *Trichoderma spp.* Se aislaron e identificaron 27 cepas fúngicas, confirmándose mediante los postulados de Koch que *Fusarium sp.* era el agente causal de la enfermedad. El efecto antagonista se evaluó mediante cultivos duales y contacto directo en medio APD, midiendo la tasa de crecimiento micelial y el porcentaje de inhibición. Los resultados indicaron que varias cepas de *Bacillus spp.* mostraron mayor inhibición que *Trichoderma spp.*, aunque estas últimas también presentaron efecto antagónico. Se concluyó que *Bacillus spp.* fue el antagonista más eficaz, pero *Trichoderma spp.* mostró potencial complementario dentro de estrategias de manejo biológico.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Aislamiento

López *et al.* (2020), describen el procedimiento para aislar y refinar un hongo particular de una muestra. El objetivo es examinarlo de forma independiente para así entender a fondo sus características y cualidades.

2.2.2. Antagonismo

Según Pérez y Muños (2014), describe como la actividad de un microorganismo inhibe, controla biológicamente, deteriora o causa la muerte de otras especies microbianas. Esto puede surgir de la interacción entre dos grupos de microorganismos, donde uno tiene un efecto negativo sobre el otro, lo que resulta en consecuencias perjudiciales o desfavorables.

2.2.3. Capacidad antagónica

Ramírez *et al.*, (2013), define la capacidad antagónica como el proceso en el que un microorganismo inhibe de manera activa a los hongos que provocan enfermedades en las plantas. Este microorganismo actúa como un hiperparásito, utilizando estrategias como el micoparasitismo, la competencia por nutrientes, la producción de compuestos antifúngicos y enzimas que descomponen sustancias biológicas.

2.2.4. Mecanismos de acción

Según Pérez y Muñoz (2014), observaron que existen diversos mecanismos que ayudan a comprender cómo interactúan los antagonistas y los patógenos en las

plantas. Es importante destacar que los antagonistas utilizan varios métodos para actuar, lo cual es beneficioso al elegir uno. Esta variedad de acciones disminuye la probabilidad de que los patógenos se vuelvan resistentes a los antagonistas, sobre todo si se combinan antagonistas con diferentes formas de actuar. Se han identificado varios métodos de acción antagonista que son efectivos para frenar el crecimiento de los patógenos.

2.2.5. Signo

Según Grados (2022), es la manifestación visible del agente causal de una enfermedad en las plantas. Estos signos pueden tomar la forma de estructuras vegetales, reproductivas o de conservación. También pueden variar dependiendo del tipo de patógeno involucrado e incluir características como micelio, esporas, esclerocios, flujos bacterianos, exudaciones, quistes o agallas.

2.2.6. Síntoma

Según Huamaní (2020), los síntomas son las manifestaciones visibles de las enfermedades en las plantas. Estos síntomas pueden presentarse en diferentes etapas del desarrollo de la enfermedad y son importantes para identificar los 18 agentes causales. Observar el cuadro sintomático de las enfermedades es valioso para esta identificación. Los síntomas pueden manifestarse como deformaciones, clorosis, arrugamientos, exudados bacterianos, entre otros. Algunos síntomas solo pueden ser observados en tejidos diseccionados.

2.3. Bases teóricas

2.3.1. Características morfológicas de la planta de naranja

Descripción morfológica de la planta:

- **Árbol:** se caracteriza por poseer una copa redondeada y generalmente frondosa, compuesta por hojas unifoliadas de pedúnculo alado. Sus frutos, que pueden variar de medianos a grandes con formas oblongas o globosas, suelen tener pocas o ninguna semilla y abundante jugo. Es notable la capacidad del fruto para permanecer en el árbol por largos periodos sin deteriorarse, aunque si no ha madurado por completo puede presentar acidez. Su piel varía en grosor y textura, mientras que la pulpa oscila entre tonos anaranjados y rojos intensos según la variedad (González, 2019).
- **Raíz:** es el primer órgano que emerge del embrión, con un crecimiento pivotante que busca la profundidad del suelo, llegando en ocasiones a 1.50 metros. Con la madurez, el sistema radicular se vuelve complejo, ramificándose en raíces secundarias de orientación horizontal. Estas estructuras son vitales,

pues ejecutan funciones de anclaje, respiración, almacenamiento y absorción de nutrientes (González, 2019).

- **Tallo:** el naranjo posee un único tronco principal, cilíndrico y recto, que se vuelve leñoso con el tiempo, aunque en sus etapas tempranas realiza fotosíntesis. La altura y ramificación dependen de la especie, pero las ramas primarias suelen brotar entre los 75 y 125 cm del suelo, variando según la poda. Morfológicamente, las ramas verticales tienden a ser circulares, mientras que las horizontales presentan una sección ovalada (González, 2019).
- **Hojas:** son órganos laminares de simetría bilateral, color verde y base redondeada con ápice agudo. Su importancia fisiológica es crítica, pues en ellas ocurre la fotosíntesis. La presencia de un follaje sano, de buen tamaño y correctamente expuesto a la luz solar es determinante para la eficiencia del árbol y, por ende, para la producción de frutos de calidad (Calderón, 1989).
- **Flor:** conocidas como azahares, son blancas, perfumadas y segregan un néctar acuoso gracias a un disco situado sobre los estambres. Estructuralmente poseen de 3 a 5 sépalos y generalmente 5 pétalos, con un número de estambres que varía entre 20 y 40. Aunque la floración suele ser muy abundante, el porcentaje de flores que logran cuajar y convertirse en fruto es bajo (González, 2019).
- **Fruto:** botánicamente clasificados como hesperidios (un tipo de baya), se forman a partir del desarrollo del ovario. Presentan una cáscara gruesa indehisciente y formas variadas (esférica, oval, achatada). Son valorados por su jugo y su resistencia en el árbol, lo que los hace excelentes para la industrialización (González, 2019).
- **Semillas:** de color blanco pajizo y pequeño tamaño (0.8 a 1 cm), están compuestas por tegumentos externos y una masa interna de albumen y embriones. En condiciones óptimas, germinan entre 10 y 15 días. Para asegurar el cultivo, se deben seleccionar semillas de frutos voluminosos provenientes de plantas sanas y vigorosas (González, 2019).

a) Clasificación taxonómica

González (2019), describe la clasificación de la naranja de la siguiente manera:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Rosidae

Orden : Geraniales
Familia : Rutaceae
Sub familia : Citroideae
Tribu : Citreae
Género : Citrus
Especie : *Citrus sinensis*

b) Importancia económica

La naranja (*Citrus sinensis*) es una fruta cítrica que se cultiva en Perú, donde se ha convertido en un componente importante de la agricultura local. Apreciada por su sabor dulce y jugoso, es un ingrediente clave en la gastronomía peruana, utilizada en jugos, postres y ensaladas (MIDAGRI 2025).

Nutricionalmente, la naranja es rica en vitamina C, fibra y antioxidantes, lo que la convierte en una opción saludable para reforzar el sistema inmunológico y promover la salud digestiva. También contiene minerales como potasio y ácido fólico. Su consumo regular no solo contribuye a una dieta equilibrada, sino que también se asocia con beneficios para la salud cardiovascular y la reducción del riesgo de enfermedades crónicas, consolidando su lugar como una fruta valiosa tanto a nivel local como internacional (MIDAGRI 2025).

c) Enfermedades en la naranja

La proliferación de plagas y enfermedades compromete seriamente tanto la calidad como el rendimiento de los cultivos cítricos (Rao y George, 2018). Para mitigar estos problemas, la industria ha tendido a depender excesivamente del control químico, relegando alternativas biológicas; esto es evidente en las estrategias contra el vector del Huanglongbing (HLB) en Asia y América, donde predominan los insecticidas de amplio espectro (Urbaneja *et al.*, 2020). Sin embargo, existen excepciones exitosas, como el uso de machos estériles para contener a la mosca del Mediterráneo, una de las plagas más invasivas a nivel global (Franz *et al.*, 1996). Por otro lado, las enfermedades infecciosas representan un desafío económico crítico. Patógenos diversos (*Phytophthora spp.*, VTC, entre otros) pueden atacar en cualquier etapa fenológica, provocando daños que van desde la clorosis y necrosis hasta la muerte de la planta (Sáenz *et al.*, 2019). Entre todas estas amenazas, el HLB se posiciona actualmente como la afección más devastadora en los cinco continentes, siendo la principal causa de pérdidas en la citricultura mundial (Soto, 2020).

En el ámbito de la producción frutícola también son atacados por la fumagina, particularmente dentro del subgrupo de los cítricos, plantas de alto valor comercial

como el limón (*Citrus limonum*), la mandarina (*Citrus nobilis*), el pomelo (*Citrus paradisi*) y el naranjo (*Citrus sinensis*) funcionan comúnmente como hospedantes de esta patología (Insausti *et al.*, 2015). El agente causal no es un microorganismo aislado, sino un complejo fúngico diverso constituido por más de 200 especies epifoliales conocidas en la literatura como mohos de hollín que proliferan sobre la superficie vegetal; estos organismos no parasitan directamente la hoja, sino que utilizan como sustrato las secreciones azucaradas excretadas por insectos que se alimentan de la savia (Chomnunti *et al.*, 2014). Desde un enfoque taxonómico, la diversidad biológica de este grupo es amplia, abarcando familias como Antennulariaceae, Capnodiaceae, Chaetothyriaceae, Coccodiniaceae y Trichomeriaceae. Entre los géneros más representativos que integran esta comunidad fúngica figuran *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Antennariella*, *Limacinula*, *Scorias*, *Meliola* y, notablemente, *Capnodium*, un género clave en la conceptualización de este taxón (Reynolds, 1999).

La fumagina se define como una patología ocasionada por un complejo de hongos saprófitos que, en lugar de infectar internamente el tejido vegetal, colonizan su superficie nutriéndose de las secreciones azucaradas excretadas por insectos plaga como moscas blancas, cochinillas y pulgones (Chomnunti *et al.*, 2014). Esta afección se manifiesta visualmente mediante la aparición de costras o películas de color negro que recubren hojas, tallos y frutos, actuando como una barrera física. Si bien la literatura científica, apoyada en estudios como los de Santos *et al.* (2013) y Pires de Lemos y Sousa Paiva (2006), sostiene generalmente que esta cobertura interfiere con el intercambio gaseoso y la fotosíntesis pudiendo incluso retrasar la coloración comercial del fruto, el impacto fisiológico real puede variar. De hecho, existen evidencias contradictorias en cultivos específicos; por ejemplo, investigaciones realizadas en naranjos por Insausti *et al.* (2015) revelaron que, bajo ciertas condiciones, la presencia de fumagina no necesariamente provoca una disminución detectable en la tasa fotosintética de la planta.

La negrilla o fumagina es una enfermedad frecuente en los cítricos, incluida la naranja (*Citrus sinensis*), asociada al desarrollo de un complejo de hongos epífitos conocidos como sooty molds, pertenecientes principalmente a familias como Capnodiaceae, Cladosporiaceae y Antennulariaceae. Estos hongos no infectan directamente los tejidos de la planta, sino que se desarrollan superficialmente sobre hojas, brotes y frutos, utilizando como sustrato la melaza azucarada excretada por insectos succionadores de savia, tales como pulgones, cochinillas

y moscas blancas. La acumulación del micelio negro forma una película oscura que reduce la interceptación de la luz solar, limita la eficiencia fotosintética, retrasa la coloración del fruto y disminuye su valor comercial, provocando además un debilitamiento general de la planta y pérdidas productivas cuando la infestación es severa. Aunque la fumagina es considerada una enfermedad no parasítica, su presencia persistente interfiere con los procesos fisiológicos normales y favorece condiciones microambientales adversas en el follaje, convirtiéndose en un problema fitosanitario relevante en sistemas citrícolas mal manejados o con alta incidencia de insectos vectores (Chomnunti *et al.*, 2014; Insausti *et al.*, 2015).

Pulgon, Cochinillas y Moscas blancas son plagas que excretan una sustancia azucarada sobre la que se asienta este hongo llamado comúnmente Negrilla, Mangla, fumagina. Este hongo se manifiesta como un polvo negro y seco en hojas, frutos y tallos. Para el control de estas plagas y la fumagina, se utilizan productos biorracionales como los jabones potásicos, en la acción de hongos entomopatógenos Chomnunti *et al.*, 2014; Insausti *et al.*, 2015).

2.3.2. Generalidades del patógeno *Cladosporium* spp.

El género *Cladosporium* spp. presenta una distribución cosmopolita y generalista, capaz de colonizar desde suelos y restos vegetales hasta materiales sintéticos o lesiones en plantas como invasor secundario. Según Bensch *et al.* (2012), este género se estructura taxonómicamente en tres grandes complejos. El primero, denominado complejo cladosporioides (que incluye a *C. tenuissimum*), se distingue por sus conidióforos cilíndricos no nodulosos y una ornamentación variable de las conidias. Por el contrario, el complejo herbarum (representado por *C. ramotenellum*) exhibe conidióforos de aspecto nudoso debido a engrosamientos multilaterales y conidias siempre ornamentadas (verrucosas o espinulosas). Finalmente, el complejo sphaerospermum destaca por la formación de conidias globosas y conidióforos ascendentes que apenas se diferencian de las hifas; aunque su textura superficial varía enormemente entre especies, este grupo tiene como referente principal a *C. sphaerospermum* (Bensch *et al.*, 2015).

a) Clasificación taxonómica

Súper Reino	: Eukaryota
Reino	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Clase	: Dothideomycetes
Orden	: Cladosporiales
Familia	: Cladosporiaceae

Género : Cladosporium
Especies : *Cladosporium ramotenellum*
Cladosporium sphaerospermum
Cladosporium tenuissimum

Fuente: NCBI – Taxonomy Browser (2024)

b) Características morfológicas

Basándose en la caracterización de Bensch *et al.* (2012), *Cladosporium* spp. presenta colonias de aspecto aterciopelado o algodonoso, con coloraciones que oscilan entre el verde oliváceo y el pardo negruzco. Su micelio está constituido por hifas septadas y ramificadas, generalmente pigmentadas. A nivel microscópico, los conidióforos emergen de forma erecta, pudiendo ser simples o ramificados, aunque su longitud es muy variable ya que depende fuertemente de las condiciones ambientales. Una particularidad distintiva de este género es la presencia de ramoconidias, estructuras basales con múltiples cicatrices distales que funcionan como células conidiógenas desprendidas, dando origen a cadenas acropétalas de conidias más pequeñas. Estas conidias poseen formas muy diversas (desde ovoides hasta cilíndricas) y superficies que van de lisas a verrugosas. Debido a esta gran plasticidad fenotípica y a la influencia del sustrato en su morfología, la identificación precisa mediante microscopía es compleja, haciendo indispensable el uso de herramientas moleculares para determinar la especie.

c) Especies patógenas

En Perú, se ha confirmado la presencia de *Cladosporium ramotenellum* (Murciano *et al.*, 2021), *C. perangustum* (Alvarez, 2020), así como *C. sphaerospermum* y *C. tenuissimum* (PROCITRUS, 2022). Estos hongos son los responsables de la "mancha de hollín" (sooty spot) que afecta a cítricos, tanto en su etapa de cultivo como en postcosecha.

- *Cladosporium ramotenellum* (Bensch *et al.*, 2015)

Colonia: en medio PDA, alcanza un diámetro de 46-49 mm tras dos semanas a 25°C. Presenta una coloración olivácea debido a su abundante esporulación, con bordes blancos y un centro plegado.

Micelio: está formado por hifas septadas de 1.5-4 µm, lisas y escasamente ramificadas, sin engrosamientos evidentes en sus paredes.

Conidióforo: generalmente solitario, emerge como ramificación lateral o terminal. Su color varía de subhialino a marrón pálido y posee paredes delgadas, mostrando una textura que va de lisa a levemente rugosa.

Estructuras reproductivas: las células conidiógenas son cilíndricas y proliferan simpodialmente. Produce ramoconidias cilíndricas y septadas (15-50 µm de largo). Sus conidias se organizan en cadenas ramificadas; las terminales son pequeñas, numerosas y globosas o limoniformes, careciendo de septos.

- ***Cladosporium sphaerospermum* (Bensch et al., 2012)**

Colonia: de crecimiento moderado en PDA (21-50 mm en 14 días), exhibe un aspecto aterciopelado con tonos gris-oliváceos oscuros y un reverso que puede virar al azul-grisáceo. Es común observar exudados y pigmentación soluble en el agar.

Micelio: superficial, compuesto por hifas poco ramificadas, pálidas y con paredes ligeramente engrosadas.

Conidióforo: estructura recta o ligeramente flexuosa que nace directamente de las hifas. Son pluriseptados, pigmentados de color marrón-oliváceo y presentan paredes gruesas y oscurecidas en los septos.

Estructuras reproductivas: las células conidiógenas poseen cicatrices apicales oscuras. Las ramoconidias son cilíndricas y pueden tener hasta 5 septos. Sus conidias características son globosas a subglobosas, de paredes engrosadas, rugosas y pigmentadas, formando cadenas multidireccionales.

- ***Cladosporium tenuissimum* (Bensch et al., 2012)**

Colonia: destaca por su rápido crecimiento (hasta 84 mm en 14 días) y apariencia lanosa o esponjosa. Su coloración varía de gris-humo a gris-oliváceo, con abundante micelio aéreo.

Micelio: hifas ramificadas que a menudo presentan contornos irregulares, hinchazones y constricciones en los septos, con tonalidades de subhialinas a marrón pálido.

Conidióforo: puede ser solitario o agruparse, mostrando una morfología cilíndrica a casi filiforme. Con la edad, estas estructuras se oscurecen y engrosan sus paredes; las ramificaciones, cuando existen, suelen formar ángulos de 45° a 90°.

Estructuras reproductivas: las células conidiógenas pueden ser terminales o intercalares. Produce ramoconidias ocasionales de base truncada. Sus conidias se disponen en cadenas densamente ramificadas, siendo las terminales muy pequeñas, aseptadas y de formas subglobosas a limoniformes.

d) Sintomatología

A nivel de campo, la identificación temprana de *Cladosporium* spp. es fundamental para mitigar pérdidas. Según la guía de PROCITRUS (2019), los síntomas

iniciales se manifiestan como un moho polvoriento de tono verde-oliváceo en los frutos recién cuajados, el cual evoluciona a una coloración blanco-azulada durante el desarrollo del fruto, manchando la superficie y comprometiendo seriamente su calidad y rendimiento. Coincidiendo con la infección temprana, Alvarez (2020) advierte que esta pulverulencia blanca que a menudo se confunde erróneamente con *Oidium* spp. termina oscureciéndose a marrón, lo que impide la maduración correcta y fuerza el descarte de la fruta.

Profundizando en la sintomatología, se detalla que el "polvillo" blanco visible en la inserción del pedúnculo corresponde en realidad al levantamiento de las células epidermales causado por el parasitismo interno del hongo; a medida que el fruto crece, este daño se consolida en lesiones marrones que anulan su calidad de exportación (Redagrícola, 2022). Por su parte, Rivera (2024) centra su análisis en los frutos apiñados, indicando que el daño se vuelve crítico cuando esta pulverulencia cubre más del 50% de la superficie, derivando en una epidermis reseca, momificada o con decoloraciones moradas. Es crucial distinguir estos daños infecciosos de los signos de la fumagina, pues a diferencia de *Cladosporium*, los hongos de la fumagina son superficiales, no enferman el tejido interno y se eliminan fácilmente mediante el lavado postcosecha.

2.3.3. Generalidades del patógeno *Rhizopus* spp.

Rhizopus spp. son hongos saprofitos de distribución cosmopolita que se encuentran comúnmente en el suelo, aire y materia orgánica como frutas y vegetales, actuando como importantes descomponedores y siendo utilizados en diversos procesos industriales. Taxonómicamente, el género se agrupa en cuatro grandes secciones: *Rhizopus lycococcus*, *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus oryzae* y *Rhizopus microsporus* (Bensch *et al.*, 2012). Se caracterizan por presentar hifas no septadas, un crecimiento rápido y extenso con micelios blancos que desarrollan esporangios oscuros, además de formar clamidosporas; la mayoría de las especies son heterotáficas con células suspensoras similares (Cepero *et al.*, 2012). Como patógeno, penetra agresivamente por heridas ablandando los tejidos y dejando una eflorescencia oscura, donde sus esporas son dispersadas por el aire y germinan favorablemente en condiciones de alta humedad (FAO, 2010). Dentro de la sucesión microbiana, son los primeros en intervenir (Zygomycetes), utilizando azúcares simples y degradando la celulosa de la pared celular, etapa anterior a la acción de hongos celulolíticos y finalmente los Basidiomycetes que descomponen la lignina (Quintana *et al.*, 2006).

a) Clasificación taxonómica

Súper Reino	: Eukaryota
Reino	: Fungi
Phylum	: Mucoromycota
Clase	: Mucoromycetes
Orden	: Mucorales
Familia	: Rhizopodaceae
Género	: Rhizopus
Especies	: <i>Rhizopus arrhizus</i> <i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Rhizopus pusillus</i>

Fuente: NCBI – Taxonomy Browser (2024)

b) Características morfológicas

Este hongo presenta un micelio algodonoso de crecimiento rápido, inicialmente blanquecino y que posteriormente adquiere tonos grisáceos o café amarillentos, mostrando el reverso de las colonias una coloración blanco-grisácea. Su micelio aéreo es aseptado y produce esporangiosporas de formas variadas (globosas, elipsoidales, angulares) y superficies lisas o estriadas; además, desarrolla estolones que conectan grupos de esporangióforos no ramificados, en cuya base se forman estructuras radiculares denominadas rizoides. Cada esporangióforo termina en un esporangio redondo y oscuro que contiene esporas ovales, de color café claro que se oscurece al madurar, destacándose por su gran resistencia a la sequedad y altas temperaturas. Al germinar sobre tejidos dañados, causan una rápida descomposición, tornando la corteza de los frutos de color marrón y desarrollando abundante micelio blanquecino y algodonoso que, con el avance de la infección, da paso a la presencia de hifas y esporangios oscuros característicos (Pérez, 2018).

c) Especies patógenas

La especie más común que causa podridumbre blanda es el *Rhizopus stolonifer* en raíces tuberculosa, tubérculos y frutos carnosos, esta especie presenta micelio bien desarrolladas, las hifas de diámetro grueso. Los patógenos de la planta más comunes son *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus rizopodimorfis* (Medina, 2016).

• *Rhizopus stolonifer*

Este hongo puede sobrevivir durante meses en el suelo, y sus esporas, dispersas por el aire, germinan y se desarrollan al encontrar condiciones favorables; los frutos maduros o dañados son los más susceptibles, existiendo una alta

correlación entre la cantidad de esporas y la incidencia de la enfermedad. Dado que las heridas se producen frecuentemente durante la cosecha y el transporte, las mayores pérdidas ocurren en etapas postcosecha y empaquetado. Una vez iniciada la infección, el patógeno invade el tejido y se extiende a frutos adyacentes mediante redes miceliares, pudiendo afectar la totalidad del lote en pocos días. Su gran capacidad de colonización se debe a su rápido crecimiento y tolerancia a un amplio rango de temperaturas y humedades, lo que le permite descomponer completamente los frutos en tan solo cuatro días, ocasionando pérdidas económicas significativas en corto tiempo (Velázquez *et al.*, 2008).

Características macroscópicas

Son colonias de rápido crecimiento tiende a crecer a una temperatura de 37 °C, su crecimiento se inhibe con cycloheximidas. Son de tamaño limitante que llega a cubrir todo el medio de cultivo. Son colonias blancas, al alcanzar la madurez comienzan a adquirir una tonalidad gris oscura (la tonalidad se debe al desarrollo de las estructuras de reproducción asexual las endosporas), son vellosas, algodonosas y secas (Bonifaz, 2012).

Características microscópicas

Presenta el micelio macrosifonado (entre 5 – 10 µm), hialino, cenocítico, en los puntos donde se conecta los esporangióforos y los estolones que presentan, se forman rizoides. Los esporangióforos son largos y no se ramifican la diferencia de *Mucor* spp, y culmina en esporangios de gran tamaño (40 – 275 µm), con esporangióforos hialinas o ligeramente cafés. Asexualmente forman esporangiosporas y sexualmente es isogámica. (Quintana *et al.*, 2006)

2.3.4. Generalidades del patógeno *Alternaria* spp.

El género *Alternaria* comprende un grupo de hongos cosmopolitas y ubicuos que, gracias a su gran capacidad de adaptación, pueden comportarse como saprófitos, endófitos o patógenos oportunistas en una amplia variedad de cultivos. Aunque a menudo se le reconoce por causar lesiones necróticas directas en los tejidos vegetales, *Alternaria* spp. también es un componente clave del complejo fúngico responsable de la fumagina o "moho de hollín". En este contexto, el hongo no infecta necesariamente el interior de la hoja, sino que coloniza su superficie nutriéndose de las excreciones azucaradas (melaza) depositadas por insectos picadores-chupadores como áfidos y cochinillas (Chomnunti *et al.*, 2014).

Morfológicamente, este hongo se distingue por producir micelio oscuro y conidias pigmentadas con melanina, lo que le confiere a la fumagina su característico color

negro o grisáceo que bloquea la radiación solar y reduce la actividad fotosintética de la planta (Simmons, 2007). Sus estructuras reproductivas son inconfundibles al microscopio: presenta conidias grandes, de forma clavada o piriforme, con septos tanto transversales como longitudinales (muriformes), las cuales suelen organizarse en cadenas acropétalas simples o ramificadas. Esta pigmentación melánica no solo define el aspecto visual de la enfermedad, sino que protege a las esporas contra la radiación ultravioleta y el estrés ambiental, permitiendo que el inóculo persista en el campo durante largos periodos (Woudenberg *et al.*, 2013).

a) Clasificación taxonómica

Súper Reino	: Eukaryota
Reino	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Clase	: Dothideomycetes
Orden	: Pleosporales
Familia	: Pleosporaceae
Género	: Alternaria
Especies	: <i>Alternaria alternata</i> <i>Alternaria citri</i> <i>Alternaria tenuissima</i>

Fuente: NCBI – Taxonomy Browser (2024)

b) Características morfológicas

La identificación de *Alternaria* spp. dentro del complejo de la fumagina se basa principalmente en sus estructuras pigmentadas, las cuales le otorgan a las hojas y frutos ese aspecto de "tizne" o costra negra. Macroscópicamente, las colonias de este hongo presentan un crecimiento rápido y una textura que varía de algodonosa a aterciopelada; su coloración oscila entre el gris oliváceo y el negro intenso, debido a la producción de melanina en sus paredes celulares, un pigmento que protege al hongo de la radiación UV mientras coloniza las secreciones azucaradas en la superficie vegetal (Woudenberg *et al.*, 2013).

A nivel microscópico, el micelio está constituido por hifas septadas y dematiáceas (oscuras). De estas hifas emergen los conidióforos, que pueden ser simples o ramificados, rectos o curvados, y de color marrón pálido a oscuro. Sin embargo, el rasgo diagnóstico más distintivo reside en sus conidias (esporas asexuales). Según describen Chomnunti *et al.* (2014), estas conidias son grandes, de forma obclavada (similar a un mazo o pera invertida) o elipsoidal, y se caracterizan por ser muriformes; es decir, poseen tabiques tanto transversales como

longitudinales. A menudo, el extremo de la conidia se alarga formando un pico o "rostrum" cónico y pálido. Estas esporas suelen organizarse en largas cadenas (catenuladas), lo que facilita su dispersión por el viento y contribuye a la rápida expansión de la capa de hollín sobre el cultivo.

c) Especies patógenas

Si bien el término "fumagina" suele englobar a diversos hongos saprófitos que crecen sobre exudados azucarados, investigaciones micológicas, como la revisión exhaustiva de Chomnunti *et al.* (2014), identifican a *Alternaria* como un género prevalente en estas comunidades epifitas. Dentro de este grupo, la especie más representativa y ubicua es *Alternaria alternata*. Este hongo destaca por su enorme plasticidad ecológica; aunque es conocido por causar manchas foliares necróticas, en el contexto de la fumagina actúa como un colonizador superficial secundario muy agresivo. Sus características principales incluyen la producción abundante de conidias pigmentadas en cadenas largas y ramificadas, lo que densifica la capa oscura sobre la hoja e impide el paso de la luz (Woudenberg *et al.*, 2013).

Otra especie frecuentemente aislada en asociación con la negrilla o fumagina, especialmente en cítricos, es *Alternaria citri* (actualmente reevaluada dentro del complejo *A. alternata* por algunos taxónomos, pero mantenida en patología práctica). Según Timmer *et al.* (2003), aunque esta especie es temida por causar la "podredumbre negra" interna del fruto, sus esporas se adhieren con facilidad a la superficie pegajosa de hojas infestadas por pulgones, desarrollando un micelio superficial de color oliváceo a negro. Finalmente, se debe mencionar a *Alternaria tenuissima*, cuyas esporas son morfológicamente similares a *A. alternata* pero tienden a ser más delgadas y claras; esta especie contribuye significativamente a la biomasa fúngica que forma la costra sobre el tejido vegetal, afectando la calidad estética y comercial del fruto (Simmons, 2007).

• *Alternaria alternata*

Definición

Alternaria alternata es un hongo dematiáceo perteneciente al filo Ascomycota, clase Dothideomycetes y familia Pleosporaceae. Se caracteriza por ser un patógeno oportunista ampliamente distribuido en ambientes agrícolas y naturales, capaz de infectar más de 380 especies vegetales (Thomma, 2003). Este hongo puede colonizar tejidos vegetales a través de heridas, estomas o mediante la degradación enzimática de la cutícula, favorecida por la producción de toxinas específicas de hospedero (Meena *et al.*, 2017). Además, se encuentra

comúnmente en aire, polvo y materia orgánica en descomposición, actuando también como saprófito (Woudenberg *et al.*, 2015).

Características macroscópicas

En cultivo, *A. alternata* presenta un crecimiento rápido en medios como PDA, Sabouraud o agar harina de maíz. Las colonias son inicialmente gris claro o verde oliváceo, tornándose posteriormente café oscuro a negro debido a la acumulación de melanina del tipo DHN (dihidroxinaftaleno), característica de los hongos dematiáceos (Meena *et al.*, 2017). La textura suele ser aterciopelada o algodonosa, con un reverso intensamente pigmentado.

Características microscópicas

Microscópicamente, *A. alternata* presenta hifas septadas y pigmentadas, con conidióforos simples o ramificados que producen conidios en cadenas acropétalas. Los conidios son típicamente ovalados u ovoides, con septos transversales y longitudinales, formando estructuras muriformes (Woudenberg *et al.*, 2015). El ápice suele ser estrecho y el extremo basal redondeado, lo que constituye un rasgo diagnóstico del género.

Relación con la fumagina en cítricos

La fumagina o negrilla en cítricos es causada por un complejo de hongos epifíticos que crecen sobre la melaza excretada por insectos como mosca blanca, cochinillas y pulgones. Los géneros más frecuentes incluyen *Capnodium*, *Cladosporium*, *Aureobasidium* y *Alternaria* (Chomnunti *et al.*, 2014).

En este contexto, *A. alternata* actúa como colonizador secundario, contribuyendo al oscurecimiento superficial por su alta producción de conidios pigmentados. No invade los tejidos vegetales, ya que su papel es estrictamente epifítico, dependiendo de la disponibilidad de melaza para su desarrollo. Esta participación es coherente con su ecología saprofítica y su capacidad para colonizar superficies ricas en azúcares (Chomnunti *et al.*, 2014).

d) Sintomatología

Cuando *Alternaria* spp. prolifera como parte del complejo de la fumagina, los síntomas visuales no corresponden a la típica necrosis tisular o "mancha de hoja", sino a la formación de una biopelícula superficial. El signo característico es la aparición de una capa delgada y pulverulenta de color negro a grisáceo-oliváceo que recubre hojas, tallos y frutos. Esta cobertura, descrita a menudo como una "costra de hollín", está constituida por el denso entretelado de hifas oscuras y la abundante esporulación del hongo, las cuales se sustentan exclusivamente de las

excreciones azucaradas (melaza) de insectos como áfidos y moscas blancas, sin penetrar el tejido epidérmico del hospedante (Nelson, 2008).

Sin embargo, aunque el hongo no parasita directamente las células en este estado, provoca una sintomatología fisiológica indirecta. La densa capa micelial actúa como una barrera física que bloquea la radiación solar, reduciendo significativamente la tasa fotosintética. Como consecuencia, las hojas severamente afectadas pueden mostrar clorosis (amarillamiento) generalizado, senescencia prematura y una reducción en el vigor general de la planta. En el caso de los frutos, el síntoma principal es cosmético: la presencia de manchas o costras negras adheridas que, si bien pueden lavarse, a menudo dejan la piel manchada o pálida por la falta de luz, depreciando su valor comercial (Insausti *et al.*, 2015).

2.3.5. Generalidades de *Trichoderma* spp.

El género fúngico *Trichoderma* spp. es un habitante habitual de los ecosistemas, con una presencia predominante en los suelos. Su versatilidad ha permitido que sea ampliamente explotado en diversos sectores, destacando tanto en la producción industrial de enzimas como en la agricultura para la protección de cultivos. En el ámbito del control biológico, las especies *T. harzianum* y *T. viride* son las más implementadas para combatir enfermedades vegetales, demostrando gran eficacia contra un amplio espectro de patógenos que incluye a *Colletotrichum* sp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* (Samuels y Hebbbar, 2015).

a) Clasificación taxonómica

Súper Reino	: Eukaryota
Reino	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Clase	: Sordariomycetes
Orden	: Hypocreales
Familia	: Hypocreaceae
Género	: <i>Trichoderma</i>
Especies	: <i>Trichoderma asperellum</i> <i>Trichoderma harzianum</i> <i>Trichoderma virens</i>

Fuente: NCBI – Taxonomy Browser (2024)

b) Especie de importancia

• *Trichoderma atroviride*

Trichoderma atroviride es un hongo filamentoso perteneciente al filo Ascomycota, ampliamente reconocido por su capacidad como agente de biocontrol en sistemas agrícolas. Esta especie destaca por su habilidad para competir por nutrientes, ejercer micoparasitismo y producir metabolitos antifúngicos que inhiben el desarrollo de diversos fitopatógenos (Druzhinina *et al.*, 2011). Asimismo, forma parte del complejo *T. viride* y se caracteriza por su rápida colonización de sustratos y su capacidad para inducir respuestas de defensa en plantas hospedantes, lo que refuerza su importancia en el manejo integrado de enfermedades (Mukherjee *et al.*, 2013).

Características macroscópicas

En cultivo, *T. atroviride* presenta un crecimiento acelerado en medios como PDA o agar maíz. Las colonias son inicialmente blancas, pero conforme avanza la esporulación adquieren tonalidades verde esmeralda o verde oscuro, producto de la abundante formación de conidios (Druzhinina *et al.*, 2011). La textura suele ser compacta y algodonosa en el centro, con bordes más aéreos y un reverso incoloro o ligeramente amarillento.

Características microscópicas

Microscópicamente, esta especie presenta hifas hialinas y septadas, con conidióforos altamente ramificados que adoptan una estructura arborescente. Las fiálides se disponen en verticilos, con una base ensanchada y un ápice estrecho. Los conidios son elípticos o subglobosos, lisos y de color verde cuando alcanzan la madurez (Jaklitsch y Voglmayr, 2015).

• *Trichoderma harzianum*

Trichoderma harzianum es una de las especies más utilizadas en biocontrol agrícola debido a su capacidad para inhibir hongos fitopatógenos mediante micoparasitismo, antibiosis y competencia, además de promover el crecimiento vegetal a través de la estimulación de mecanismos fisiológicos y hormonales (Harman *et al.*, 2004). Es un organismo cosmopolita, común en suelos agrícolas, rizosferas y ambientes ricos en materia orgánica.

Características macroscópicas

En medios de cultivo como PDA, *T. harzianum* desarrolla colonias de crecimiento rápido, inicialmente blancas, que progresivamente se tornan verde brillante debido a la esporulación. La textura es densa, con micelio aéreo moderado, y el reverso

de la colonia presenta tonalidades que varían entre amarillo pálido y verde claro (Harman *et al.*, 2004).

Características microscópicas

Microscópicamente, presenta conidióforos ramificados, con fiálides dispuestas en verticilos compactos. Los conidios son subglobosos a elipsoidales, lisos y de color verde claro. Las hifas son hialinas, septadas y pueden formar clamidosporas en condiciones de estrés ambiental (Jaklitsch y Voglmayr, 2015).

Importancia agrícola y mecanismos de biocontrol

Tanto *T. atroviride* como *T. harzianum* son considerados agentes de biocontrol altamente eficientes frente a patógenos como *Fusarium spp.*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Su eficacia se basa en diversos mecanismos, entre los que destacan:

- Micoparasitismo directo, mediante la producción de enzimas hidrolíticas como quitinasas y glucanasas (Harman *et al.*, 2004).
- Antibiosis, a través de la síntesis de metabolitos secundarios como peptaiboles, poliquétidos y compuestos volátiles (Mukherjee *et al.*, 2013).
- Competencia por espacio y nutrientes, especialmente en la rizosfera.
- Inducción de resistencia sistémica en plantas, modulando rutas de señalización como ácido jasmónico y etileno (Druzhinina *et al.*, 2011).

Estos mecanismos han consolidado a ambas especies como componentes esenciales en programas de manejo integrado de plagas y en la formulación de bioinsumos agrícolas comerciales.

c) Características morfológicas

El género *Trichoderma* spp. se caracteriza por un rápido crecimiento *in vitro* (óptimo entre 25-35 °C), desarrollándose vigorosamente en medios como el PDA. Sus colonias suelen presentar tonalidades verdes o amarillentas debido a la formación de conidias, y en ocasiones desprenden un aroma dulce similar al coco; además, dependiendo de la cepa, el reverso de la placa puede mostrar pigmentaciones que van del beige al rojizo (Siddiquee, 2017). A nivel microscópico, su estructura reproductiva se organiza en conidióforos de aspecto piramidal o arbóreo. Basándose en los patrones de ramificación de estos, el género se subdivide en cinco secciones taxonómicas: *Acremonium*, *Verticillium*, *Gliocladium*, *Pachybasium* y *Trichoderma* (Siddiquee, 2017).

Como mecanismo de supervivencia, el hongo produce clamidosporas, que son estructuras de resistencia de paredes gruesas y formas globosas (Siddiquee,

2017). La producción de esporas asexuales ocurre en las fiálides, células conidiógenas de formas variables (lageniformes, ampuliformes, etc.) dispuestas en verticilos (Kubicek y Harman, 2002). Finalmente, las conidias resultantes, generalmente verdes y responsables de la dispersión del hongo, pueden parecer lisas bajo microscopía óptica, aunque a menudo revelan una ornamentación rugosa al ser observadas con mayor detalle electrónico (Garcés *et al.*, 2003).

d) Ecología

Gracias a su naturaleza cosmopolita, *Trichoderma* spp. es capaz de colonizar una gran variedad de sustratos, desde suelos hasta madera y restos vegetales, posicionándose como un elemento dominante de la microflora debido a su agresividad competitiva y producción de metabolitos. Desde el punto de vista reproductivo, se considera un organismo fundamentalmente clonal y mitótico, pues rara vez se le asocia con un estadio sexual. Estas características, sumadas a su acelerado crecimiento, alta tasa de conidiación y capacidad de formar estructuras de resistencia (clamidosporas), facilitan enormemente su aislamiento en laboratorio mediante técnicas convencionales (Kubicek y Harman, 2002).

e) Mecanismos de antagonismo

• Micoparasitismo

El micoparasitismo es una estrategia mediante la cual *Trichoderma* actúa como parásito directo de hongos fitopatógenos y oomicetos. Este proceso implica reconocimiento del hospedero, enrollamiento hifal y secreción de enzimas líticas como quitinasas, β -1,3-glucanasas y proteasas, capaces de degradar la pared celular del patógeno (Harman *et al.*, 2004; Druzhinina *et al.*, 2011).

Cómo se mide:

- Ensayo de confrontación dual
Se colocan discos de *Trichoderma* y del patógeno en extremos opuestos de una placa PDA y se mide el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (Dennis & Webster, 1971).
- Microscopía óptica o electrónica
Se observan estructuras de micoparasitismo como enrollamiento hifal, penetración y lisis del patógeno (Benítez *et al.*, 2004).
- Cuantificación de enzimas líticas
Se mide la actividad de quitinasas y glucanasas mediante ensayos colorimétricos o fluorométricos (Lorito *et al.*, 1994).

- **Antibiosis**

La antibiosis consiste en la producción de metabolitos secundarios con actividad antifúngica, entre ellos peptaiboles, poliquétidos, terpenos y pironas. Destaca la molécula 6-pentil- α -pirona (6PP), responsable del aroma a coco y de la pigmentación amarilla en cultivos (Mukherjee *et al.*, 2013).

Cómo se mide:

- Ensayo de difusión en agar (agar diffusion assay)
Se evalúa la inhibición del crecimiento del patógeno frente a extractos crudos o metabolitos purificados.
- Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)
Permite cuantificar metabolitos como 6PP y peptaiboles (Vinale *et al.*, 2006).
- Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC–MS)
Se utiliza para identificar compuestos volátiles antifúngicos (Stoppacher *et al.*, 2010).

- **Competencia**

La competencia implica la capacidad de *Trichoderma* para disputar nutrientes, espacio y oxígeno con otros microorganismos. Su éxito competitivo se debe a su rápido crecimiento, colonización agresiva de la rizósfera y elevada tolerancia al estrés oxidativo (Harman *et al.*, 2004).

Cómo se mide:

- Ensayos de colonización de rizósfera
Se cuantifica la densidad de unidades formadoras de colonias (UFC) en raíces inoculadas (Contreras-Cornejo *et al.*, 2009).
- Ensayos de competencia por hierro (sideróforos)
Se mide la producción de sideróforos mediante el método CAS (Chrome Azurol S).
- Ensayos de crecimiento competitivo en medios limitados
Se evalúa la velocidad de crecimiento frente a otros hongos en condiciones de nutrientes restringidos.

- **Interacciones planta–hongo**

Trichoderma actúa como bioestimulante vegetal, promoviendo la germinación, el desarrollo de biomasa aérea y la formación de raíces laterales. Produce auxinas, compuestos volátiles y metabolitos como 6PP que estimulan el crecimiento radicular. Además, reduce el estrés vegetal al disminuir los niveles de etileno mediante la enzima ACC desaminasa (Contreras-Cornejo *et al.*, 2009).

Cómo se mide:

- Ensayos de crecimiento vegetal

Se cuantifican variables como longitud de raíz, biomasa fresca y seca, número de raíces laterales.

- Cuantificación de hormonas vegetales

Se emplea HPLC o ELISA para medir auxinas y etileno.

- Actividad de ACC desaminasa

Se determina mediante la cuantificación de α -cetobutirato producido (Glick, 2014).

- **Inducción de defensas**

Trichoderma activa la resistencia sistémica inducida (ISR) y la resistencia sistémica adquirida (SAR), preparando a la planta para responder más rápidamente ante patógenos. Esto implica la activación de rutas de señalización como ácido jasmónico, etileno y ácido salicílico (Harman *et al.*, 2004; Druzhinina *et al.*, 2011).

Cómo se mide:

- Expresión génica por RT-qPCR

Se cuantifican genes marcadores de defensa como PR1, LOX2, PAL.

- Cuantificación de enzimas de defensa

Se miden actividades de peroxidasas, polifenoloxidasas y quitinasas.

- Ensayos de desafío (*challenge assays*)

Se inocula un patógeno después del tratamiento con *Trichoderma* y se evalúa la severidad de la enfermedad.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del lugar de muestreo

3.1.1. Ubicación política

Región : Ayacucho.
Provincia : Víctor Fajardo.
Distritos : Alcamenca.
Centro poblado : Huambo
Anexo : Unya

3.1.2. Ubicación geográfica

Las coordenadas geográficas de los distritos son:

Altitud : 2 651 m.s.n.m
Longitud sur : 13°37' 52"
Longitud oeste : 74°13' 55"

3.1.3. Lugar de ejecución

El procesamiento de las muestras biológicas se llevó a cabo en los laboratorios de Microbiología Ambiental, de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Unidad de análisis

La unidad de análisis del presente trabajo fueron las 2 cepas de *Trichoderma* spp. (T-1, T-2). Y las muestras de naranja con signos y síntomas de enfermedad (hojas y tallos).

3.3. Tipo de investigación

Básica- descriptiva.

3.4. Diseño de investigación

Se realizó un diseño descriptivo completamente al azar con 3 repeticiones, teniendo 1 testigo por cada hongo fitopatógeno y hongo antagonista de cada tratamiento, citados por los autores Gutiérrez y De la Vara (2012) y Vásquez *et al.* (2016).

3.5. Metodología

3.5.1. Obtención de cepas de *Trichoderma* spp.

Las cepas de *Trichoderma* spp. fueron obtenidas del laboratorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

3.5.2. Recolección de muestras y aislamiento de los hongos fitopatógenos

a) Recolección de las muestras vegetales

Con el propósito de obtener el material biológico necesario para el estudio, se llevó a cabo una fase de prospección en campo que abarcó cuatro unidades de producción citrícola (campos de cultivo) dedicadas al cultivo de naranja. Durante los recorridos, se realizó una inspección minuciosa de los ejemplares para identificar aquellos que manifestaran síntomas evidentes de la presencia del fitopatógeno. Como resultado de esta búsqueda, se seleccionaron cuidadosamente un total de cinco plantas distribuidas entre los cuatro campos de cultivo visitadas. A partir de cada uno de estos individuos, se procedió a la recolección de cinco muestras representativas, las cuales estuvieron conformadas por tejidos de hojas y ramas, asegurando así la diversidad de material vegetal para los análisis posteriores en laboratorio.

En base a Jiménez (2015) el procedimiento de recolección de muestras vegetales se realizó de la siguiente manera:

- Se identificaron los árboles de naranja que presentaban signos y síntomas de la enfermedad.
- De cada árbol, se recolectaron dos muestras de hojas, tallos y frutos.
- Cada muestra recolectada se envolvió en papel toalla y se colocó en bolsas de polietileno estéril de 90 x 50 cm, las cuales fueron previamente etiquetadas y codificadas.
- Posteriormente, todas las bolsas se depositaron en una caja térmica (*cooler*) con refrigerante para mantener bajas temperaturas y evitar el desarrollo de saprófitos durante su transporte al laboratorio de Microbiología Ambiental.

b) Aislamiento de los fitopatógenos (Agrios, 2005)

- Para dar inicio al proceso, se seleccionaron tejidos vegetales que presentaban síntomas iniciales y activos de la enfermedad, priorizando aquellas zonas donde la transición entre el tejido sano y el enfermo era más evidente.
- Una vez recolectadas las muestras, se procedió a realizar una desinfección superficial para eliminar contaminantes ambientales; para ello, el tejido se sumergió en una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante un minuto,

seguido de tres lavados consecutivos con agua destilada estéril para eliminar cualquier residuo del desinfectante.

- Posteriormente, bajo condiciones de flujo laminar para garantizar la asepsia, se utilizó un asa de siembra en punta, la cual fue esterilizada al rojo vivo y enfriada previamente.
- Con este instrumento, se realizó una punción firme y precisa directamente sobre el margen de avance de la lesión, lugar donde el fitopatógeno se encuentra en fase de crecimiento activo.
- El inóculo adherido a la punta de la aguja se transfirió de inmediato a cajas de Petri que contenían Agar Papa Dextrosa (PDA) para hongos, mediante una suave punción en el centro y en puntos equidistantes del medio sólido.
- Finalmente, las placas se sellaron cuidadosamente y se rotularon con la información correspondiente. Estas se incubaron a una temperatura constante de 25°C (± 2°C) durante un periodo de tres a siete días, dependiendo del ritmo de crecimiento del microorganismo. Durante este tiempo, se realizaron observaciones periódicas para verificar el desarrollo de colonias puras que permitieran su posterior identificación y estudio.

3.5.3. Evaluación del efecto antagónico (Técnica de cultivo dual)

a) Determinación del Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial (PICR)

Según Astorga *et al.* (2013) y Ortiz *et al.* (2013) el procedimiento de la técnica de cultivo dual es como sigue:

- Se colocaron aproximadamente 20mL de Agar Papa Dextrosa en placas de Petri de 90 mm x 15 mm, luego se dispusieron discos de 5 mm de diámetro del hongo *Trichoderma sp.*, y al otro extremo otro disco de 5 mm del fitopatógeno sobre la superficie del agar.
- Se realizó el mismo procedimiento para placas individuales del fitopatógeno y cada especie de *Trichoderma spp.*
- Se incubó simultáneamente las placas por triplicado a una temperatura de 25°C por 5-7 días para la posterior medición del crecimiento micelial del fitopatógeno.
- Se calculó el PICR (%) teniendo en cuenta lo siguiente:

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

R1: radio del patógeno testigo (radio mayor)

R2: radio del patógeno enfrentado al antagonista (radio menor)

- Se clasificó el PICR mediante una escala de clasificación de la inhibición del crecimiento que va desde 0 hasta 4:

Tabla 1. Escala de categoría de inhibición de crecimiento PICR. (Ramírez et al., 2019).

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

Nota: con los datos obtenidos de PIRC se confeccionaron gráficas estadísticas del tipo descriptivo.

- Se realizó el procedimiento mencionado por Sucaticona (2018), en el cual se comparó el grado de antagonismo alcanzado por las especies de *Trichoderma* mediante la escala de Bell.

Tabla 2. Escala para la clasificación del antagonismo. (Bell et al., 1982).

Grado de antagonismo	Descripción
1	El antagonista logra extenderse por completo sobre el medio de cultivo, ocupando toda la superficie y desplazando al patógeno.
2	El antagonista alcanza a cubrir más de dos tercios de la superficie del medio cultivo.
3	Tanto el antagonista como el patógeno colonizan aproximadamente la mitad del medio, sin que uno predomine sobre el otro.
4	El patógeno supera al antagonista en crecimiento, ocupando tres cuartas partes de la superficie de la caja Petri.
5	El patógeno logra abarcar la totalidad de la caja Petri.

Nota. esta tabla muestra la clasificación del grado de antagonismo de hongos por el crecimiento micelial *in vitro*

b) Determinación del Micoparasitismo

La determinación del micoparasitismo se realizó siguiendo metodologías descritas por Benítez *et al.* (2004) y Harman *et al.* (2004), quienes establecen que este mecanismo puede evaluarse mediante observación directa de la interacción hifal entre *Trichoderma* spp. y el fitopatógeno.

- En primer lugar, se prepararon placas de cultivo dual en Agar Papa Dextrosa (PDA), colocando un disco de 5 mm de *Trichoderma* spp. y otro disco de 5 mm del fitopatógeno en extremos opuestos de la placa. Las placas se incubaron a 25 °C durante 5–7 días, permitiendo el avance del micelio de ambos organismos hacia la zona de confrontación.
- Posteriormente, se tomaron fragmentos de la zona de interacción y se realizaron montajes húmedos para su observación al microscopio óptico. Se evaluaron estructuras características del micoparasitismo, tales como:

- Enrolamiento hifal de *Trichoderma* alrededor del patógeno.
- Adhesión y formación de apresorios.
- Penetración y lisis de las hifas del patógeno.

La presencia de estas estructuras se consideró evidencia directa de micoparasitismo, tal como lo describen Benítez *et al.* (2004) y Druzhinina *et al.* (2011).

Tabla 3. Escala para determinar el micoparasitismo de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopatógenos (Benítez *et al.*, 2004).

Nivel	Descripción del micoparasitismo	Criterios observables
0	Sin interacción	No hay contacto entre hifas; crecimiento independiente.
1	Contacto inicial	Hifas de <i>Trichoderma</i> alcanzan al patógeno, sin reacción visible.
2	Adhesión hifal	<i>Trichoderma</i> se adhiere a la superficie del patógeno; inicio de reconocimiento.
3	Enrollamiento hifal	Hifas de <i>Trichoderma</i> rodean y envuelven las hifas del patógeno.
4	Penetración	Se observa penetración directa en la hifa del patógeno y deformación estructural.
5	Lisis completa	Degradación total o parcial de las hifas del patógeno; colapso celular evidente.

3.5.4. Identificación molecular de *Trichoderma* spp. y los fitopatógenos aislados

a) Extracción y cuantificación de ADN

1. Para la extracción de ADN, se utilizaron 20 mg de micelio cultivado en medio de cultivo APD.
2. El proceso inició con la adición de 300 µl de CTAB en un tubo de 1.5 mL, seguido de la incorporación de 20 µl de solución ARNase y 40 µl de proteinasa K. La mezcla se homogeneizó mediante vórtex y se incubó en baño maría a 65 °C durante un periodo mínimo de 16 horas.
3. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 4 °C y 16 000 g durante cinco minutos.
4. Se recuperó el sobrenadante con precaución para evitar la succión de la interfase y se transfirió a un nuevo microtubo de 1.5 mL.
5. A continuación, se agregaron 300 µl del lisado a un tubo con 300 µl de tampón de lisis celular y se mezcló mediante inversión en 10 ocasiones.
6. Se adicionaron 600 µl de isopropanol y se repitió el proceso de mezclado por inversión 10 veces.

7. De la mezcla resultante, se transfirieron 600 µl a una columna de unión ReliaPrep™ dispuesta en un tubo de recolección.
8. Se centrifugó a 16 000 g durante un minuto y se descartó el flujo filtrado.
9. Seguidamente, la columna se colocó en un nuevo tubo de recolección, se añadieron 500 µl de solución de lavado y se centrifugó a 16 000 g durante dos minutos, desechando nuevamente el flujo.
10. Este procedimiento de lavado se repitió dos veces adicionales para completar un total de tres lavados.
11. Tras finalizar los lavados, la columna se transfirió a un nuevo tubo de 1.5 mL.
12. Para la elución, se agregaron 70 µl de agua libre de nucleasas directamente sobre la columna.
13. Finalmente, las muestras se centrifugaron a 16 000 g durante tres minutos para obtener el ADN eluido, el cual fue almacenado a -20 °C para su posterior uso.

b) Amplificación del ADN utilizando PCR para la identificación

La identificación molecular de los aislamientos se realizó mediante un análisis multilocus, empleando las regiones ITS, tef1-α y rpb2, siguiendo las directrices propuestas por Cai y Druzhinina (2021). Para ello, se procedió a amplificar cada locus utilizando los cebadores ITS1/ITS4, EF1-728F/EF1-986R y RPB2-5F2/RPB2-7cR, respectivamente. Las reacciones de PCR se prepararon en un volumen final de 25 µL y se sometieron a un programa de termociclado específico para cada par de cebadores. Los productos amplificados se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.

Tabla 4. Secuencia de los cebadores para las PCR (Cai & Druzhinina, 2021).

Microorganismo	Cebador	Secuencia
<i>Trichoderma atroviride</i>	ITS1	5'- TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3'
	ITS4	5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC -3
	EF1-728F	5'- CATCGAGAAGTTCGAGAAGG -3'
	EF1-986R	5'- TACTTGAAGGAACCCTTACC -3'
	RPB2-5F2	5'- GGGGWGAYCAGAAGAAGGC -3'
	RPB2-7cR	5'- CCCATRGCTTGYTTRCCCAT -3'
<i>Trichoderma harzianum</i>	ITS1	5'- TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3'
	ITS4	5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC -3
	EF1-728F	5'- CATCGAGAAGTTCGAGAAGG -3'
	EF1-986R	5'- TACTTGAAGGAACCCTTACC -3'
	RPB2-5F2	5'- GGGGWGAYCAGAAGAAGGC -3'
	RPB2-7cR	5'- CCCATRGCTTGYTTRCCCAT -3'

<i>Alternaria alternata</i>	COX F4N	5'GTATTTCTTCTTTATTAGGTGC3'
	COXR4N	5'CGTGAACTAATGTTACATATAC 3'
<i>Rhizopus stolonifer</i>	ITS1	5'- TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3'
	ITS4	5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC -3'

Nota: en esta se utilizó PCR y RFLP para identificar cuatro especies fúngicas mediante regiones génicas específicas y enzimas de restricción. Se amplificaron secuencias como ITS, tef1, rpb2 y regiones mitocondriales según cada grupo de microorganismos. Los productos de PCR se digirieron enzimáticamente, generando patrones de bandas que se distinguen por su peso molecular. Estos perfiles electroforéticos permitieron distinguir con precisión a cada una de las especies evaluadas.

3.5.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos se procesaron en el programa RStudio para la obtención de estadísticos descriptivos. Para analizar el efecto antagónico de cada *Trichoderma* spp. se empleó la prueba t de *Student*, con un nivel de significación de 0.05 y para determinar el mejor efecto antagónico entre especies de *Trichoderma* spp. se empleó el análisis de varianza de PICR con nivel de significancia de 0.05; por último, se hizo comparaciones múltiples de promedios con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

IV. RESULTADOS

Tabla 5. Tipo de muestras y hongos fitopatógenos aislados de cultivos de naranja "*Citrus sinensis*".

Tipo de muestra	Hongo	Codificación
Tallo	<i>Alternaria</i> spp.	TA.1
Tallo	<i>Alternaria</i> spp.	TC.1
Tallo	<i>Alternaria</i> spp.	TC.2
Tallo	<i>Alternaria</i> spp.	TD.1
Tallo	<i>Alternaria</i> spp.	TD.2
Hoja	<i>Alternaria</i> spp.	HA.1
Hoja	<i>Alternaria</i> spp.	HA.2
Hoja	<i>Rhizopus</i> spp.	HB.1
Hoja	<i>Alternaria</i> spp.	HB.2
Hoja	<i>Alternaria</i> spp.	HB.3
Hoja	<i>Rhizopus</i> spp.	HC.1
Hoja	<i>Rhizopus</i> spp.	HC.2
Hoja	<i>Alternaria</i> spp.	HC.3
Hoja	<i>Alternaria</i> spp.	HC.4
Hoja	<i>Alternaria</i> spp.	HD.1
Hoja	<i>Alternaria</i> spp.	HD.2
Hoja	<i>Alternaria</i> spp.	HD.3
Hoja	<i>Alternaria</i> spp.	HD.4
Hoja	<i>Alternaria</i> spp.	HD.5
Hoja	<i>Alternaria</i> spp.	HD.6

Nota: en la tabla para su codificación se consideró campos de cultivo, número de planta por campo y tipos de muestra.

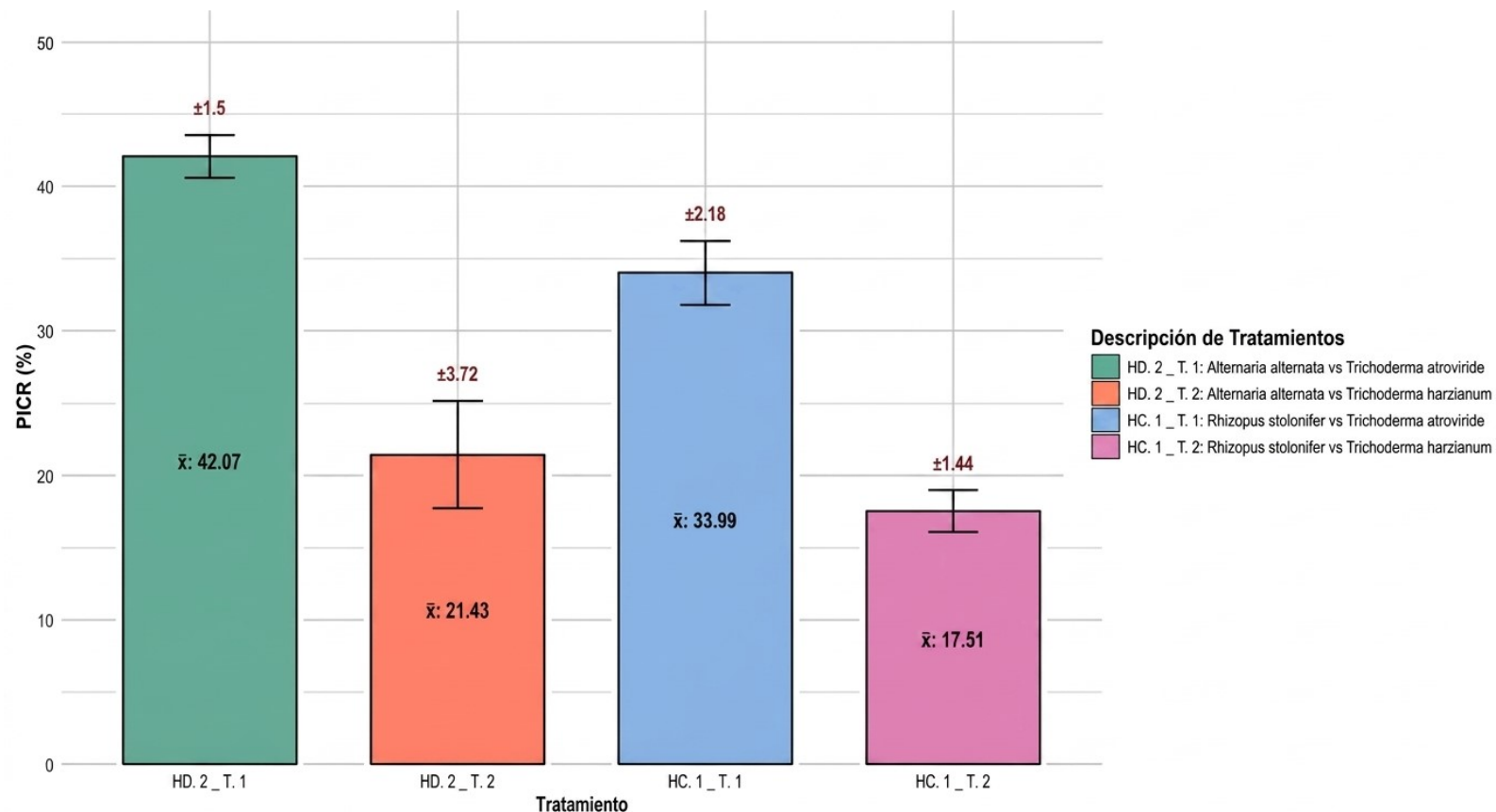
Tabla 6. Identificación molecular de hongos fitopatógenos y antagonistas.

Tipo	Código	Identificación
Hongos antagonistas	T.1	<i>Trichoderma atroviride</i>
	T.2	<i>Trichoderma harzianum</i>
Hongos fitopatógenos	HD.2	<i>Alternaria alternata</i>
	HC.1	<i>Rhizopus stolonifer</i>

Microorganismos	Primers usados	Autores que los emplearon
<i>Trichoderma atroviridae/ harzianum/viridae</i>	ITS1-ITS4	White et al. (1990); CDC (2024)
	EF1-728F/986R	Carbone & Kohn (1999); EPPO-QBank
	RPB2-5F2/7Cr	O'Donnell et al. (1998); Crous et al. (2009)
<i>Alternaria alternata</i>	ITS1-ITS4	White et al. (1990); CDC (2024)
	COX F4N/COXR4N	
<i>Rhizopus stolonifer</i>	ITS1-ITS4	White et al. (1990); CDC (2024)

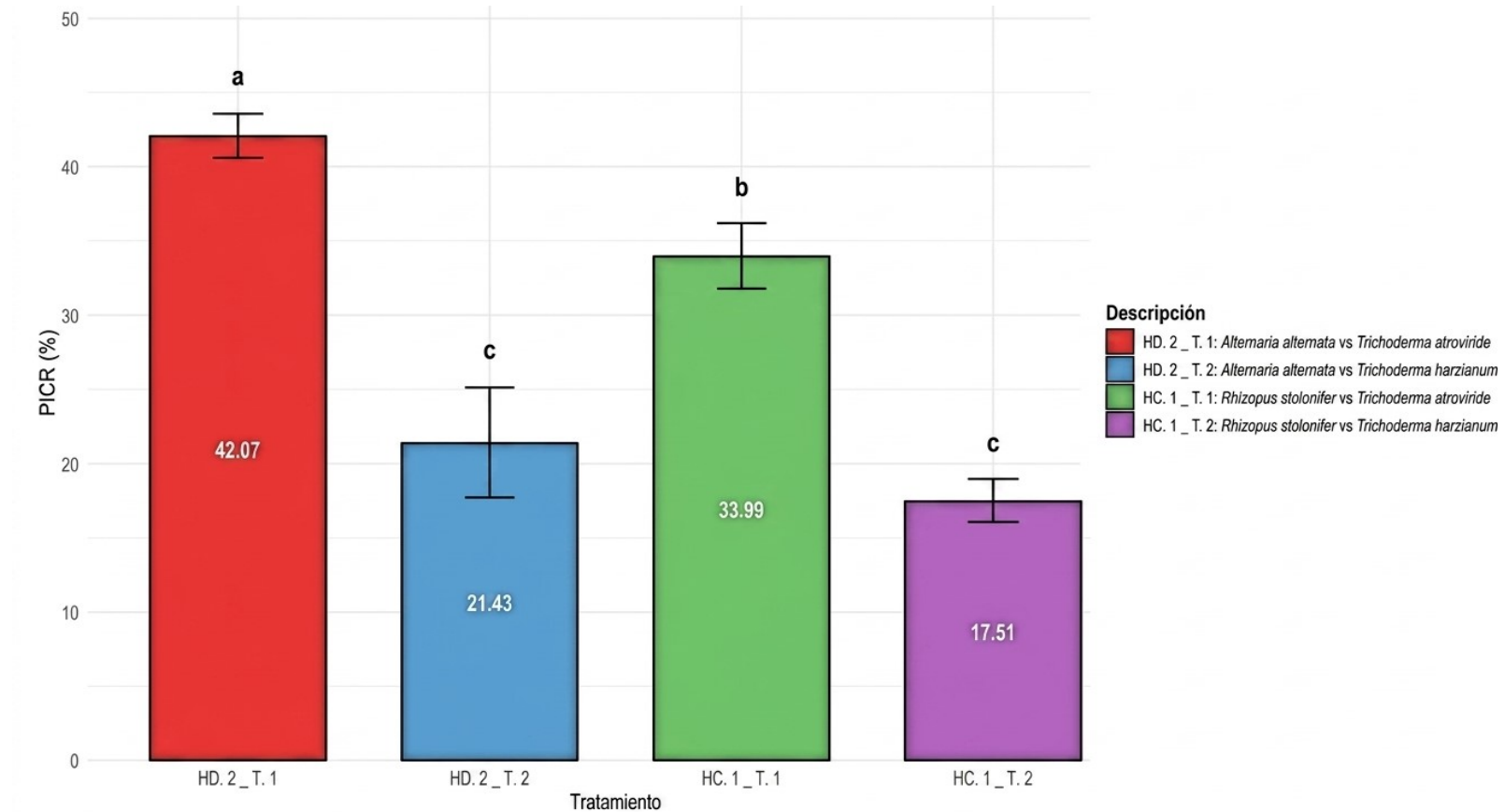
Nota: en esta tabla se presenta la identificación molecular de las cepas evaluadas, clasificadas como hongos antagonistas y fitopatógenos, detallando los cebadores empleados y las referencias bibliográficas que respaldan su uso para la caracterización de cada especie.

Figura 1. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) de las dos cepas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos.



Nota: *Trichoderma atroviride* (T.1) fue el antagonista más eficaz, logrando **42.07%** de inhibición frente a *Alternaria alternata* y **33.99%** contra *Rhizopus stolonifer*. En contraste, *T. harzianum* (T.2) mostró inhibiciones mucho menores (**21.43%** y **17.51%**). Estos valores coinciden con Michel-Aceves *et al.* (2013), quienes reportaron inhibiciones superiores al **40%** frente a *Alternaria* por antibiosis y competencia, y con Guzmán-Guzmán *et al.* (2019), que documentaron reducciones de **35–50%** asociadas a enzimas hidrolíticas. Frente a *Rhizopus*, los resultados concuerdan con Hernández-Lauzardo *et al.* (2007), quienes registraron inhibiciones de **30–38%** mediante compuestos volátiles y no volátiles.

Figura 2. Comparación de medias PICR mediante Tukey ($p < 0,05$).



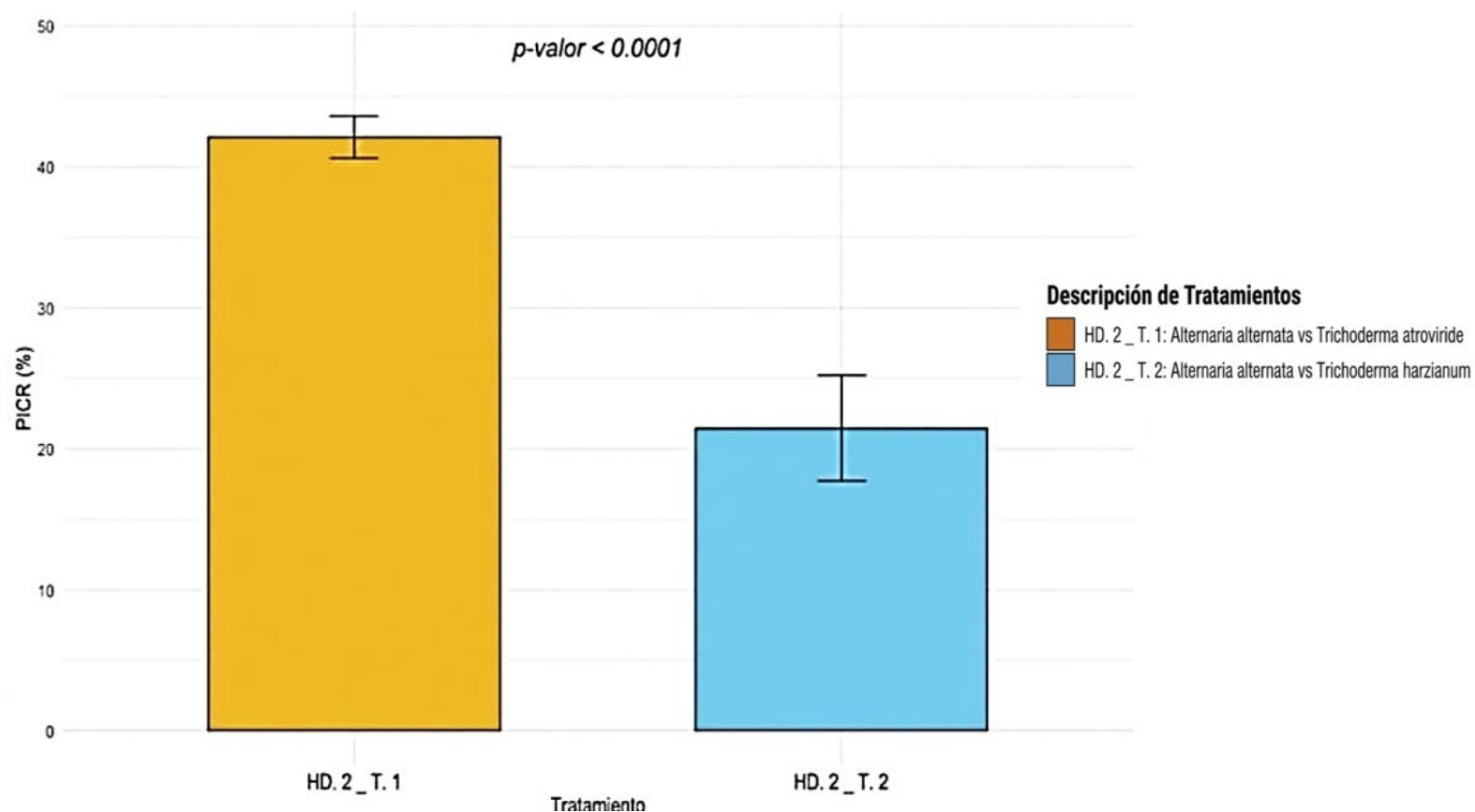
Nota: la prueba de Tukey mostró una separación clara entre tratamientos, destacando a *Trichoderma atroviride* en el grupo "a" con 42.07% de inhibición frente a *Alternaria alternata*, coincidiendo con Michel-Aceves *et al.* (2013), quienes reportaron inhibiciones superiores al 40% por antibiosis y competencia. Frente a *Rhizopus stolonifer*, *T. atroviride* se ubicó en el grupo "b" con 33.99%, resultado coherente con Landero-Valenzuela *et al.* (2016), quienes señalaron que patógenos de rápido crecimiento reducen el PICR. En contraste, *T. harzianum* quedó en el grupo "c", con inhibiciones bajas y sin diferencias significativas, tal como advierten Valentín-García *et al.* (2016) sobre la variabilidad entre especies.

Tabla 7. Grado de antagonismo de las dos cepas de *Trichoderma* frente a los hongos fitopatógenos según la escala de Bell.

Antagonista frente al fitopatógeno	Grado de micoparasitismo	Capacidad antagónica
<i>Alternaria alternata</i> vs <i>Trichoderma atroviride</i>	1	El antagonista sobrecrece completamente al patógeno y cubre el 100% de la superficie del medio.
<i>Alternaria alternata</i> vs <i>Trichoderma harzianum</i>	2	El antagonista sobrecrece al patógeno y cubre aproximadamente las 3/4 partes (75%) de la superficie del medio.
<i>Rhizopus stolonifer</i> vs <i>Trichoderma atroviride</i>	1	El antagonista sobrecrece completamente al patógeno y cubre el 100% de la superficie del medio.
<i>Rhizopus stolonifer</i> vs <i>Trichoderma harzianum</i>	2	El antagonista sobrecrece al patógeno y cubre aproximadamente las 3/4 partes (75%) de la superficie del medio.

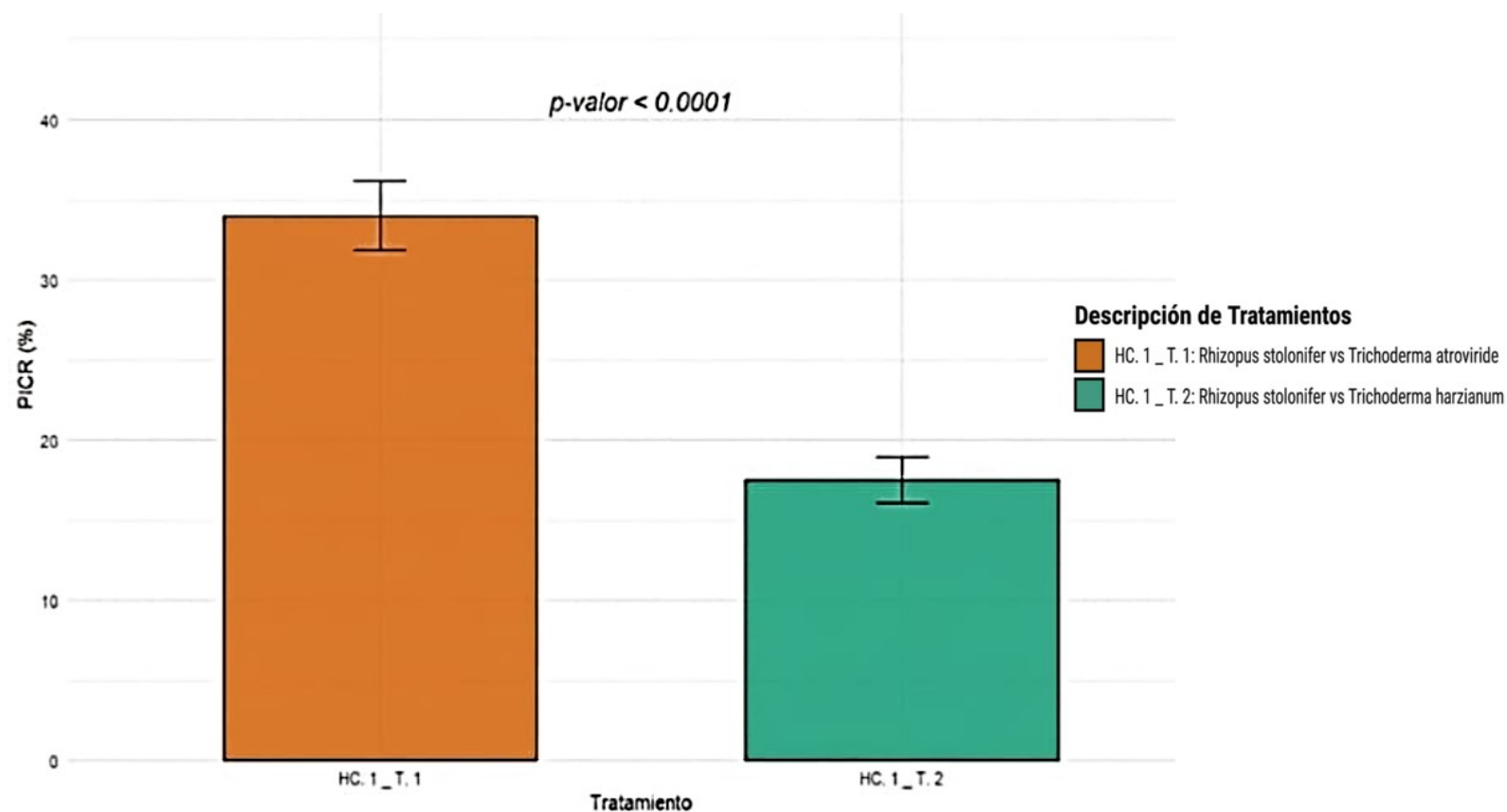
Nota. Esta tabla muestra la clasificación del grado de antagonismo de hongos por el crecimiento micelial *in vitro*

Figura 3. Prueba de T de Student para *Alternaria alternata* vs *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma harzianum*.



Nota: El análisis mediante la prueba T de Student evidenció una diferencia altamente significativa entre las dos cepas evaluadas ($p < 0.0001$), confirmando la superioridad de *Trichoderma atroviride* (T.1) en el control de *Alternaria alternata*. Esta cepa alcanzó un 42.07% de inhibición radial, duplicando prácticamente la eficacia de *T. harzianum* (T.2), que solo logró 21.43%. La marcada separación entre ambas respuestas indicó que T.1 posee una mayor agresividad biológica, probablemente asociada a mecanismos de antibiosis y competencia por espacio, tal como señalan Michel-Aceves *et al.* (2013). La consistencia de las repeticiones experimentales reforzó la solidez del resultado y la pertinencia de seleccionar T.1 como antagonista principal.

Figura 4. Prueba de T de Student para *Rhizopus stolonifer* vs *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma harzianum*.



Nota: En la confrontación contra *Rhizopus stolonifer*, la prueba T de Student también mostró una diferencia estadística contundente ($p < 0.0001$), reafirmando la superioridad de *T. atroviride* (T.1). Esta cepa alcanzó un 33.99% de inhibición, mientras que *T. harzianum* (T.2) apenas llegó a 17.51%, evidenciando una brecha funcional significativa. Dado que *Rhizopus* es un patógeno de crecimiento acelerado, estos resultados adquieren relevancia, pues demuestran la capacidad de T.1 para competir eficazmente incluso en escenarios de rápida colonización. Coincidiendo con Landero-Valenzuela *et al.* (2016), la menor eficacia de T.2 sugiere limitaciones metabólicas frente a patógenos oportunistas. La estabilidad de los datos confirmó a T.1 como el antagonista más robusto para este fitopatógeno.

V. DISCUSIÓN

Con el firme propósito de cimentar la validez científica y el rigor metodológico de la presente investigación, se procedió a la identificación molecular de los diversos microorganismos recolectados en las parcelas de naranja. Los hallazgos derivados de este proceso se encuentran sistemáticamente organizados en la **Tabla 5**. En este contexto, el análisis molecular permitió ratificar la presencia de dos cepas de hongos antagonistas con un alto valor estratégico: *Trichoderma atroviride* (T.1) y *Trichoderma harzianum* (T.2), especies que fueron seleccionadas por su robustez, su acelerada capacidad de colonización y su reconocida versatilidad metabólica en la inhibición de patógenos. De manera paralela, la precisión de las técnicas empleadas fue fundamental para individualizar a los principales responsables del deterioro de los cultivos, logrando la identificación formal de *Alternaria alternata* (HD.2) y de *Rhizopus stolonifer* (HC.1).

La identificación molecular de los aislados permitió confirmar la coexistencia de agentes benéficos y patógenos en el ecosistema citrícola, lo cual resultó fundamental para entender la dinámica de las enfermedades observadas. La presencia de *Trichoderma atroviride* (T.1) y *Trichoderma harzianum* (T.2) en las parcelas de naranja no fue un hecho aislado, sino que respondió a la capacidad de estos hongos para establecerse en diversos nichos ecológicos. De acuerdo con Infante *et al.* (2009), el éxito de *Trichoderma spp.* como antagonista se basa en mecanismos complejos como el micoparasitismo y la competencia por nutrientes. En este estudio, la robustez observada en las cepas T.1 y T.2 sugirió un potencial defensivo significativo, ya que estos microorganismos suelen desplegar una batería de enzimas hidrolíticas (quitinasas y glucanasas) que degradan la pared celular de hongos fitopatógenos.

En cuanto a los agentes causales identificados, la detección de *Alternaria alternata* (HD.2) y *Rhizopus stolonifer* (HC.1) justificó el deterioro sintomatológico hallado

en campo. La presencia de *A. alternata* es particularmente relevante, ya que este hongo ha sido reportado como uno de los componentes secundarios en el complejo de la "fumagina" y como principal causante de manchas foliares necróticas. Según lo expuesto por Michel-Aceves *et al.* (2013), el género *Trichoderma* posee una alta eficacia en la inhibición del crecimiento radial de *Alternaria*, lo que plantea que la presencia natural de las cepas T.1 y T.2 podría estar actuando como una barrera biológica limitante frente a la expansión de este patógeno en el follaje.

Por otro lado, la identificación de *Rhizopus stolonifer* (HC.1) representó un hallazgo crítico debido a su agresividad en la degradación de tejidos mediante la producción de enzimas pectinolíticas. No obstante, investigaciones previas han demostrado que *T. harzianum* exhibe una superioridad competitiva frente a este tipo de patógenos de crecimiento rápido. Hernández-Lauzardo *et al.* (2007) confirmaron que los compuestos volátiles y no volátiles producidos por *Trichoderma* reducen significativamente la germinación de esporas de *Rhizopus*, lo cual respalda la importancia estratégica de haber identificado y catalogado estas cepas antagonistas en la presente tesis.

Tras el procesamiento de los datos obtenidos en los bioensayos de confrontación *in vitro*, se determinó que la capacidad de inhibición varió notablemente en función de la combinación específica entre el agente antagonista y el hongo fitopatógeno, tal como se visualizó en la **Figura 1**. Al evaluar el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR), se observó una tendencia clara que posicionó a una de las cepas como un agente de control biológico superior en las condiciones evaluadas. En este sentido, la cepa *Trichoderma atroviride* (T.1) se consolidó como el microorganismo con mayor eficacia biológica frente a ambos patógenos. El resultado más destacado se registró en el tratamiento HD.2_T.1, donde esta cepa logró inhibir el crecimiento de *Alternaria alternata* en un promedio de 42.07% (± 1.5). Este valor representó el punto máximo de supresión alcanzado en toda la fase experimental, sugiriendo una alta afinidad competitiva y una posible superioridad metabólica de *T. atroviride* frente a este patógeno. De igual manera, cuando esta misma cepa fue enfrentada a *Rhizopus stolonifer* (HC.1_T.1), se mantuvo un desempeño notable con un PICR de 33.99% (± 2.18), demostrando una versatilidad importante frente a patógenos de distinta naturaleza. Por el contrario, los tratamientos que involucraron a *Trichoderma harzianum* (T.2) arrojaron niveles de inhibición significativamente más bajos. En el caso de su

interacción con *Alternaria alternata*, solo se alcanzó un 21.43% de supresión, mientras que frente a *Rhizopus stolonifer* se obtuvo el desempeño más discreto de todo el estudio, con un PICR de apenas 17.51% (± 1.44). La notable diferencia entre ambos antagonistas sugirió que, bajo las condiciones ambientales y nutricionales del ensayo, *T. atroviride* poseía una mayor velocidad de colonización o una producción de metabolitos secundarios más efectiva que *T. harzianum*.

La variabilidad en la capacidad de inhibición observada entre las cepas de *Trichoderma* reafirmó que la eficacia del control biológico no es una propiedad universal del género, sino que depende de la especificidad entre el antagonista y el hospedero. La notable superioridad de *Trichoderma atroviride* (T.1), que alcanzó una inhibición del 42.07% frente a *Alternaria alternata*, coincidió con lo reportado por Michel-Aceves *et al.* (2013), quienes señalaron que este género despliega una serie de mecanismos de antibiosis y competencia por nutrientes que limitan drásticamente el desarrollo de *Alternaria*. La capacidad de T.1 para superar el 40% de inhibición sugirió una producción eficiente de enzimas hidrolíticas, como quitinasas y glucanasas, las cuales degradan la pared celular del patógeno, un mecanismo que ha sido ampliamente documentado en especies de *Trichoderma* con alta agresividad metabólica (Guzmán-Guzmán *et al.*, 2019). En cuanto a la confrontación con *Rhizopus stolonifer*, el hecho de que *T. atroviride* lograra un PICR del 33.99% resultó un hallazgo significativo, considerando la naturaleza de crecimiento acelerado que caracteriza a este fitopatógeno. *Rhizopus* es conocido por ser un colonizador rápido de sustratos, lo que dificulta su control por métodos biológicos tradicionales. No obstante, investigaciones realizadas por Hernández-Lauzardo *et al.* (2007) indicaron que ciertas cepas de *Trichoderma* poseen la capacidad de liberar compuestos volátiles y no volátiles que frenan la germinación de esporas de *Rhizopus*. Los resultados de la presente investigación sugirieron que la cepa T.1 poseía una ventaja competitiva en términos de velocidad de colonización o una mayor afinidad por los recursos del medio, permitiéndole desplazar al patógeno a pesar de su agresividad intrínseca. Por otro lado, el desempeño más discreto de *Trichoderma harzianum* (T.2), especialmente frente a *R. stolonifer* con apenas un 17.51%, planteó una interrogante sobre la influencia de las condiciones ambientales y el origen de la cepa. Aunque *T. harzianum* es frecuentemente citado en la literatura como un potente antagonista, estudios previos han demostrado que su eficacia puede verse reducida si el patógeno posee una tasa de crecimiento superior o si las

condiciones de temperatura y pH del medio no son las óptimas para su metabolismo (Infante *et al.*, 2009).

Para validar la significancia de los resultados observados en los bioensayos, se realizó un análisis de comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$), cuyos hallazgos se detallaron en la **Figura 2**. Este análisis estadístico permitió confirmar que las diferencias en la capacidad antagónica de las cepas no fueron producto del azar, sino que respondieron a una eficacia diferenciada de los microorganismos evaluados frente a sus respectivos patógenos. El tratamiento conformado por la interacción entre *Alternaria alternata* y *Trichoderma atroviride* se posicionó de manera aislada en el grupo estadístico "a", alcanzando el valor más alto de inhibición con un 42,07%. Esta distinción con respecto a los demás grupos evidenció que *T. atroviride* ejerció un control significativamente superior sobre *A. alternata* en comparación con cualquier otra combinación evaluada en el estudio. Por su parte, el enfrentamiento de esta misma cepa contra *Rhizopus stolonifer* se ubicó en un segundo nivel de eficacia, categorizado bajo la letra "b" con un 33,99% de inhibición, lo cual demostró que, aunque su desempeño fue menor frente a este patógeno específico, continuó siendo estadísticamente más efectivo que las intervenciones realizadas con la otra especie antagonista. En contraste, el análisis reveló que la cepa *Trichoderma harzianum* presentó el desempeño más limitado, independientemente del patógeno al que fue enfrentada. Tanto el tratamiento frente a *A. alternata* (21,43%) como frente a *R. stolonifer* (17,51%) fueron agrupados bajo la letra "c", lo que indicó que no existieron diferencias estadísticas significativas entre ellos. En consecuencia, se determinó que *T. harzianum* fue el antagonista con menor capacidad de contención en las condiciones experimentales dadas. Estos resultados estadísticos permitieron concluir con un alto grado de certeza que *T. atroviride* poseía una aptitud biológica más robusta para el control de los hongos fitopatógenos identificados, consolidándose como la cepa con mayor potencial para el desarrollo de futuras estrategias de biocontrol en el cultivo.

La clara separación de las medias en grupos estadísticos distintos (a, b y c) mediante la prueba de Tukey evidenció una jerarquía en la capacidad antagónica, la cual dependió directamente de la especie de *Trichoderma* empleada. El hecho de que *Trichoderma atroviride* se posicionara de forma aislada en el grupo "a" con un 42.07% de inhibición frente a *Alternaria alternata* coincidió con las observaciones de Michel-Aceves *et al.* (2013). Estos autores señalaron que el uso

de pruebas de comparación de medias es fundamental para distinguir cepas con verdadero potencial biotecnológico, reportando que *Trichoderma spp.* suele presentar niveles de inhibición significativamente superiores frente a *Alternaria* debido a su agresividad en la competencia por espacio y nutrientes, así como a una secreción más eficiente de metabolitos secundarios.

Por otro lado, la ubicación de *T. atroviride* en el grupo "b" (33.99%) al enfrentar a *Rhizopus stolonifer* sugirió que, aunque esta cepa poseía una notable versatilidad, la resistencia intrínseca de los patógenos de crecimiento rápido puede alterar la eficacia del antagonista. Esta diferencia estadística entre los grupos "a" y "b" para una misma cepa fue consistente con lo expuesto por Landero-Valenzuela *et al.* (2016), quienes explicaron que la capacidad de inhibición radial (PICR) suele fluctuar dependiendo del ritmo de crecimiento del fitopatógeno; en su estudio, encontraron que *Rhizopus* representaba un reto mayor para los agentes biocontroladores debido a su naturaleza oportunista y su rápida colonización del sustrato.

Finalmente, la categorización de *Trichoderma harzianum* en el grupo "c" reflejó un desempeño significativamente inferior y estadísticamente similar entre sí, independientemente del patógeno enfrentado. Esta falta de diferenciación en el grupo "c" sugirió que la cepa T.2 evaluada carecía de la especialización necesaria o de la velocidad metabólica para competir con los patógenos detectados en el cultivo de naranja. De acuerdo con Valentín-García *et al.* (2016), la variabilidad en la respuesta antagónica entre diferentes especies de *Trichoderma* es común y subraya la importancia de realizar pruebas de Tukey para no generalizar el éxito de un género sobre todas sus especies.

Para complementar los análisis cuantitativos previos, se procedió a evaluar el comportamiento cualitativo de las cepas mediante la escala de micoparasitismo de Bell, cuyos resultados se encuentran sistematizados en la **Tabla 6**. Este análisis permitió determinar la agresividad y la capacidad de colonización de los antagonistas sobre la superficie ocupada por los fitopatógenos, proporcionando una visión más clara del potencial de control biológico de cada cepa. A través de las observaciones realizadas, se determinó que la cepa *Trichoderma atroviride* exhibió un desempeño superior y altamente agresivo. En los enfrentamientos directos contra *Alternaria alternata* y *Rhizopus stolonifer*, este antagonista alcanzó de manera consistente el Grado 1 de micoparasitismo. Este nivel indicó que la cepa no solo detuvo el avance de los patógenos, sino que logró sobrecrecerlos

completamente, cubriendo el 100% de la superficie del medio de cultivo. Tal comportamiento demostró una capacidad competitiva excepcional y una velocidad de crecimiento que le permitió dominar el nicho ecológico de forma total antes de que los patógenos pudieran consolidarse. Por su parte, la cepa *Trichoderma harzianum* mostró una capacidad antagónica más moderada, registrando un Grado 2 de micoparasitismo frente a ambos hongos fitopatógenos. En este caso, se observó que el antagonista logró sobrecrecer a los patógenos y cubrir aproximadamente las tres cuartas partes (75%) de la superficie del plato de Petri. Si bien este resultado confirmó que *T. harzianum* poseía facultades para inhibir el desarrollo de los agentes causales de la enfermedad, no alcanzó la dominancia absoluta manifestada por la otra cepa evaluada.

Los resultados obtenidos mediante la escala de Bell permitieron clasificar la agresividad de los antagonistas de una manera que los datos cuantitativos por sí solos no logran reflejar. La obtención del Grado 1 por parte de *Trichoderma atroviride* frente a ambos fitopatógenos ratificó su alta capacidad de colonización y competencia por espacio. Según Bell *et al.* (1982), los microorganismos que alcanzan este grado son considerados altamente agresivos, ya que poseen una velocidad de crecimiento significativamente superior a la del patógeno, permitiéndoles invadir y ocupar el sustrato de manera total. Este comportamiento es característico de cepas con un metabolismo secundario activo, capaces de desplegar mecanismos de micoparasitismo antes de que el hongo fitopatógeno logre establecer estructuras de resistencia.

En el caso específico de la interacción frente a *Alternaria alternata*, la dominancia total de *T. atroviride* coincidió con lo expuesto por Sánchez-García *et al.* (2017), quienes señalaron que la eficacia de *Trichoderma* spp. en la escala de Bell está íntimamente ligada a la secreción de enzimas extracelulares. La capacidad de sobrecrecer al patógeno sugiere que el antagonista no solo compite por nutrientes, sino que ejerce un control físico y enzimático que detiene el avance micelial del oponente. Por otro lado, la obtención del Grado 1 frente a *Rhizopus stolonifer* resultó notable, dado que este patógeno es reconocido por su crecimiento explosivo; este resultado sugirió que *T. atroviride* posee una plasticidad ecológica superior que le permitió ganar la carrera por la ocupación del medio.

Por el contrario, el Grado 2 obtenido por *Trichoderma harzianum* indicó un antagonismo eficaz pero menos agresivo. Según Infante *et al.* (2009), el hecho de que un antagonista cubra solo las tres cuartas partes del medio puede deberse a

una menor velocidad de crecimiento o a una respuesta de defensa por parte del fitopatógeno que ralentiza el avance de las hifas del antagonista. Aunque *T. harzianum* es ampliamente utilizado en el control biológico, su desempeño en este estudio demostró que su capacidad de invasión fue limitada en comparación con la cepa T.1. Esta variabilidad en los grados de micoparasitismo entre especies de un mismo género es un fenómeno documentado que refuerza la necesidad de seleccionar cepas específicas para cada patógeno.

Con el propósito de determinar si existían diferencias estadísticas significativas entre el desempeño de las dos cepas de *Trichoderma* al enfrentarse a cada patógeno de forma individual, se procedió a realizar un análisis mediante la prueba de T de Student, cuyos resultados se ilustraron en las **Figuras 3 y 4**. Esta herramienta estadística permitió confirmar, con un alto grado de certeza, la superioridad de una cepa sobre la otra en condiciones controladas. En relación con el control de *Alternaria alternata*, detallado en la **Figura 3**, el análisis estadístico arrojó un p-valor inferior a 0.0001, lo cual evidenció una diferencia altamente significativa entre los tratamientos evaluados. Se observó que la cepa *Trichoderma atroviride* alcanzó un nivel de inhibición del 42.07%, superando de manera contundente la eficacia mostrada por *Trichoderma harzianum*, la cual registró 21.43%. Este marcado contraste permitió confirmar que la cepa T.1 poseía una capacidad biológica intrínseca mucho más potente para frenar el desarrollo de este hongo foliar específico. De manera análoga, al evaluar el impacto de los antagonistas sobre *Rhizopus stolonifer* en la **Figura 4**, se obtuvo nuevamente un nivel de significancia estadística definitivo ($p < 0.0001$). En este escenario, el desempeño de *T. atroviride* se mantuvo como el más efectivo, logrando un porcentaje de inhibición del 33.99%. Por el contrario, *T. harzianum* mostró una respuesta considerablemente más débil, limitándose a un 17.51% de inhibición radial. La reducida amplitud de las barras de error en ambos gráficos reflejó la consistencia y precisión de los datos obtenidos en las repeticiones experimentales. En conjunto, los resultados derivados de ambas pruebas de T de Student permitieron concluir que *T. atroviride* fue sistemáticamente más eficiente que *T. harzianum* para el control de los fitopatógenos en estudio. La contundencia de los valores de p-valor obtenidos reforzó la premisa de que la selección de la cepa T.1 no solo fue estadísticamente acertada, sino que representó la opción más robusta y confiable para ser considerada en futuras aplicaciones de control biológico contra la fumagina y pudriciones similares.

La obtención de un p-valor inferior a 0.0001 en ambas pruebas de T de Student confirmó que la superioridad de *Trichoderma atroviride* (T.1) sobre *Trichoderma harzianum* no fue un evento aleatorio, sino el reflejo de una brecha biológica significativa en su capacidad antagonica. Este nivel de significancia estadística es crucial en estudios de biocontrol, ya que, según Michel-Aceves *et al.* (2013), permite identificar con precisión qué cepas poseen una batería enzimática más compatible con la degradación de la pared celular de patógenos específicos. En el caso de *Alternaria alternata*, la inhibición del 42.07% alcanzada por T.1 superó ampliamente el 21.43% de *T. harzianum*, lo cual sugirió que *T. atroviride* desplegó mecanismos de antibiosis o competencia por espacio mucho más agresivos frente a este hongo foliar.

Al contrastar estos resultados con la literatura, se observó que la eficacia diferencial entre especies de *Trichoderma* es una constante en la búsqueda de agentes de control. Investigaciones realizadas por Valentín-García *et al.* (2016) demostraron que, aunque *T. harzianum* es el antagonista más comercializado, no siempre resulta ser la especie más efectiva contra todos los fitopatógenos, encontrando en ocasiones que otras especies como *T. atroviride* poseen una mayor velocidad de crecimiento y una producción de metabolitos secundarios más específica para frenar el desarrollo de géneros como *Alternaria*. La marcada diferencia estadística observada en la **Figura 3** respaldó la necesidad de realizar este tipo de comparaciones pareadas para evitar la selección de cepas con un potencial limitado.

Por otro lado, la confrontación contra *Rhizopus stolonifer* también reveló una ventaja definitiva para T.1 ($p < 0.0001$). Considerando que *Rhizopus* es un hongo de crecimiento explosivo y difícil de contener, el 33.99% de inhibición logrado por *T. atroviride* representó un resultado prometedor. De acuerdo con Landero-Valenzuela *et al.* (2016), el control de *R. stolonifer* mediante *Trichoderma* spp. depende críticamente de la capacidad del antagonista para colonizar el medio antes que el patógeno. La baja eficacia de *T. harzianum* (17.51%) en este estudio pudo deberse a una menor plasticidad metabólica frente a las enzimas pectinolíticas del patógeno. En síntesis, la robustez de los datos estadísticos y la consistencia de los resultados permitieron concluir que *T. atroviride* no solo fue superior, sino que manifestó una estabilidad biológica que la posiciona como un agente estratégico para el manejo fitosanitario de la naranja.

VI. CONCLUSIONES

1. Se logró aislar e identificar de manera morfológica y molecular a los hongos fitopatógenos asociados a la fumagina en cultivos de *Citrus sinensis*, confirmándose la presencia de *Alternaria alternata* y *Rhizopus stolonifer*. Estos resultados concuerdan con reportes previos que describen a *Alternaria* como uno de los principales componentes del complejo fúngico epífito responsable de la fumagina en cítricos.
2. Las dos cepas evaluadas de *Trichoderma* spp. (*Trichoderma atroviride* y *Trichoderma harzianum*) demostraron capacidad antagónica significativa frente a los hongos fitopatógenos estudiados, evidenciada mediante el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), lo que confirma su potencial como agentes de control biológico. *Trichoderma atroviride* presentó los mayores valores de PICR frente a *Alternaria alternata* y *Rhizopus stolonifer*, superando estadísticamente a *T. harzianum*. Este comportamiento indica una mayor agresividad competitiva y capacidad inhibitoria de *T. atroviride* bajo condiciones *in vitro*.
3. La evaluación del micoparasitismo según la escala de Bell mostró que *Trichoderma atroviride* alcanzó grado 1 frente a ambos patógenos, evidenciando sobrecrecimiento total y una capacidad antagónica muy alta, mientras que *Trichoderma harzianum* alcanzó grado 2, con una capacidad antagónica alta pero menor.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar ensayos in vivo y a nivel de campo para validar la eficacia de *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma harzianum* bajo condiciones ambientales reales, considerando factores como clima, microbiota del suelo e interacción con insectos productores de melaza.
- Se sugiere evaluar diferentes formulaciones (líquidas, sólidas o granuladas) y métodos de aplicación de *Trichoderma* spp. en cultivos de cítricos, con el fin de optimizar su establecimiento y persistencia en el agroecosistema.
- Es recomendable ampliar el estudio incluyendo otras cepas nativas de *Trichoderma* spp. aisladas de la región de Ayacucho, ya que la adaptación local puede incrementar la eficacia del control biológico.
- Se recomienda realizar estudios complementarios orientados a identificar los mecanismos específicos de antagonismo (producción de enzimas líticas, metabolitos antifúngicos y competencia por nutrientes) mediante análisis bioquímicos y moleculares.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez, L. (2020). Estrategias para el control de mancha marrón provocada por *Cladosporium*. Redagricola. Recuperado de: <https://www.redagricola.com/pe/estrategias-para-el-controlde-mancha-marron-provocada-por-cladosporium/>
- Andrade-Hoyos, Petra, Luna-Cruz, Alfonso, Osorio-Hernández, Eduardo, Molina-Gayosso, Eduardo, Landero-Valenzuela, Nadia, y Barrales-Cureño, Hebert Jair. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 10(6), 1259-1272. Epub 02 de octubre de 2020. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1326>
- Astorga Quirós, K., Meneses Montero, K., Zúñiga Vega, C., Brenes Madriz, J. y Rivera Méndez, W. (2013). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. Revista Tecnología en marcha. 27(2), 82- 9. DOI: 10.18845/tm.v27i2.1929
- Ayala, E. (2019). Efecto antagonístico *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* sp. frente a los hongos fitopatógenos *Colletotrichum* sp. y *Fusarium* sp. Ayacucho, 2018. [Descriptivo, Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga].
file:///C:/Users/HP/Desktop/Tesis%20i/corregidos/revesiones%20biblio/TESIS%20B873_Aya.pdf
- Bell, D. K., Wells, H. D., y Markham, C. R. (1982). *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology, 72(4), 379-382. <https://doi.org/10.1094/Phyto-72-379>
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., y Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology, 7(4), 249–260.
- Bensch, K.; Braun, U.; Groenewald, J. y Crous, P. (2012). The genus *Cladosporium*. Studies in Mycology, 72(1): 1 – 401. doi: 10.3114/sim0003
- Bensch, K.; Groenewald, J.; Braun, U.; Dijksterhuis, J.; Yáñez, M. y Crous, P. (2015). Common but different: The expanding realm of *Cladosporium*. Studies in Mycology, 82(1): 23-74. doi: 10.1016/j.simyco.2015.10.001
- Bustamante Gonzales, S. R. (2018) Evaluación del potencial antifúngico de los extractos etanólicos de *Phyllanthus niruri* y *Minthostachys mollis* frente al hongo *Botrytis cinerea* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/9058>
- Cai, F., y Druzhinina, I. S. (2021). In honor of John Bissett: authoritative guidelines on molecular identification of *Trichoderma*. Fungal Diversity, 107, 1–69. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00464-4>
- Caiza Chimarro, V. E. (2013). Colección, identificación y pruebas de eficacia *in vitro* de (*Trichoderma* sp). en el control biológico de (*Botrytis cinerea*) en la finca florícola picasso roses (*Bachelor's thesis*). Obtenido el 22 de septiembre de 2023. Recuperado a partir de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5073/1/UPS-YT00104.pdf>

- Calderón, E. 1989. Fruticultura general. El esfuerzo del hombre. Tercera Edición. Editorial LIMUSA México. 763 p.
- Camarena, J. A. (2012). Efecto de la actividad metabólica de cepas de hongos antagonistas sobre *Alternaria alternata* (fr.) causante de la mancha parda en cítricos [Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <https://core.ac.uk/download/pdf/323352562.pdf>
- Carranza, J. (2012). Efecto del propoleo, *Trichoderma harzianum* E IPRDIONE sobre la mancha parda causada por *Alternaria alternata* (Fr, Fr) Keiss pv. *Citri* en el híbrido tangelo minneola a nivel *in vitro* y campo en tingo María [Universidad Nacional Agraria de la Selva]. <https://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14292/150/AGR-593.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Castrillo, M., Bich, G., Sioli, G., Zapata, P., Villalba, L., Castrillo, M., Bich, G., Sioli, G., Zapata, P., y Villalba, L. (2021). Capacidad biocontroladora de aislamientos nativos de *Trichoderma* sp. contra el hongo fitopatógeno *Alternaria alternata*, aislado de yerba mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hil.). Chilean journal of agricultural & animal sciences, 37(3), 244–256. <https://doi.org/10.29393/chjaas37-26cbml50026>
- Cepero, M.C., Retrepo, S., Franco, A.E., Cardenas, M.E. y Vargas, N. (2012). Biología de hongos. Bogotá, Colombia: ediciones Uniandes – Universidad de los Andes.
- Chomnunti, P., Hongsanan, S., Aguirre-Hudson, B., Tian, Q., Peršoh, D., Dhami, M. K., ... y Hyde, K. D. (2014). The sooty moulds. Fungal Diversity, 66(1), 1-36. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0278-5>
- Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C., & López-Bucio, J. (2009). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in Arabidopsis. Plant Physiology, 149(3), 1579–1592. <https://doi.org/10.1104/pp.108.130369> (doi.org in Bing)
- Dennis, C., & Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: I. Production of non-volatile antibiotics. Transactions of the British Mycological Society, 57(1), 25–39.
- Druzhinina, I. S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B. A., Kenerley, C. M., Monte, E., ... y Kubicek, C. P. (2011). *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. Nature Reviews Microbiology, 9(10), 749–759. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2637> (doi.org in Bing)
- Embrapa. (2022). *Trichoderma* su uso en la agricultura. Embrapa soja. Recuperado de <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1146280>
- Espinoza Ahumada, C. A., Gallegos Morales, G., Hernández Castillo, F. D., Ochoa Fuentes, Y. M., Cepeda Siller, M., y Castillo Reyes, F. (2019). Antagonistas microbianos a *Fusarium* spp., como agente causal de pudrición de raíces y tallo en melón. Ecosistemas y recursos agropecuarios, 6(16), 45. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282019000100045

- Ezziyyani, M., Pérez-Sánchez, C., Sid Ahmed, A., Requena, M. E., & Candela, M. E. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el control de *Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología*, 26, 35-45.
- FAO. (2010). Horticultura y fruticultura en el Ecuador. Recuperado el 2 de mayo de 2017 de http://fao.org/ag/agn/pdl_report_en_annexes/annexr/.../importancereport.doc.
- Franz, G., Kerremans, P., Rendon, P. y Hendrichs, J. (1996). Desarrollo y aplicación de sistemas de sexado genético para la mosca mediterránea de la fruta basados en una plaga letal sensible a la temperatura de la mosca de la fruta: una evaluación mundial de su biología y gestión. En McPherson B. y Stech G. (Eds), *Fruit Fly Pests: una evaluación mundial de su biología y gestión* (p. 185-191). Delray Beach, Florida. Prensa Santa Lucia.
- Garcés, E.; Correa, M.; Coba, B.; Orozco, M.; Zapata, A.; Anaconda, A. & Sabogal, S. (2003). *Morfología y clasificación de los hongos*. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia
- García, A., y Martínez, L. (2021). Impacto de las enfermedades fúngicas en la producción de cítricos en los valles interandinos. *Revista Peruana de Agronomía*, 15(2), 45-58.
- Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169(1), 30–39.
- González, L. 2019. Guía técnica cultivo de cítricos (en línea). San Lorenzo, Paraguay, JICA. Consultado 18 ago. 2021. Disponible https://www.jica.go.jp/paraguay/espanol/office/others/c8h0vm0000ad5gke-att/gt_03.pdf. 80 p.
- Grados, N. (2022). Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. Frente a *Botrytis* sp. y *Fusarium* sp., aislados de *Fragaria ananassa* “fresa”. Ayacucho—2022. https://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/UNSCH/6338/1/TESIS%20B967_Gra.pdf
- Gutiérrez Pulido, H. y De la Vara Salazar, R. (2012). *Análisis y diseño de experimentos*. Editorial Mc Graw-Hill. https://gc.scalahed.com/recursos/files/r161r/w19537w/analisis_y_diseno_experimentos.pdf
- Guzmán-Guzmán, P., Porras-Troncoso, M. D., Olmedo-Monfil, V., & Herrera-Estrella, A. (2019). *Trichoderma* species: Versatile plant symbionts. *Phytopathology*, 109(1), 6-16. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-18-0218-RVW>
- 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>
- Hernández-Lauzardo, A. N., Bautista-Baños, S., Velázquez-del Valle, M. G., y Hernández-Rodríguez, A. (2007). Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. *Revista Mexicana*

- de Fitopatología, 25(1), 66-74.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61225109>
- Huamaní, P. C. (2020). Prospección de plagas y enfermedades en plantas ornamentales de parques y jardines de cuatro distritos de Huamanga. Ayacucho.
https://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/UNSCH/4535/1/TESIS%20AG1268_Con.pdf
- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Revista de Protección Vegetal, 24(3), 139-154.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000300001
- Insausti, P., Ploschuk, E. L., Izaguirre, M. M., & Podestá, F. E. (2015). The effect of sunlight interception by sooty mold on chlorophyll content and photosynthesis in orange leaves (*Citrus sinensis* L.). European Journal of Plant Pathology, 143(3), 559-565. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0709-5>
- Islachin, E. (2022). Expresión antagónica *in vitro* de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* ante hongos fitopatógenos aislados de *Chenopodium quinoa* Willd. Ayacucho. [Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga].
file:///C:/Users/HP/Desktop/Tesis%20i/corregidos/revesiones%20biblio/TESIS%20B938_Isl.pdf
- Jaklitsch, W. M., & Voglmayr, H. (2015). Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. Studies in Mycology, 80, 1–87. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.11.001> (doi.org in Bing)
- Jaramillo, V. (2014). Evaluación *in vitro* de la capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. y *Phytophthora* sp. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/4156e4a4-c6f5-4812-83dc-080f848bb8eb/content>
- Jiménez Castellano, H. E. (2015). Identificación de fitopatógenos asociados a las principales enfermedades del cultivo de sábila en los municipios de Agua de Dios y Ricaurte (Cundinamarca). Revista Tecnología Y Productividad, 1(1), 35–50. <https://doi.org/10.23850/24632465.244>
- Kubicek, C. & Harman, G. (2002). *Trichoderma* y Gliocladium Volume 1. doi: 10.1201/9781482295320
- Landero-Valenzuela, N., Lara-Viveros, F. M., Andrade-Hoyos, P., Esquivel-Islas, G. T., & Reveles-Torres, L. R. (2016). Alternativas para el control de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Rhizopus stolonifer* en frutos de papaya (*Carica papaya* L.). Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 7(6), 1489-1495. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i6.191>
- Lopez, A. C., Alvarenga, A. E., Zapata, P. D., Luna, M. F., & Villalba, L. L. (2020). Aislamiento e identificación de hongos asociados a *Ilex paraguariensis* St. Hil. Revista de Ciencia y Tecnología, 33, 20–26. <https://doi.org/10.36995/j.recyt.2020.33.003>

- Lorito, M., *et al.* (1994). Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds. *Phytopathology*, 84, 398–405.
- Meena, M., Gupta, S. K., Swapnil, P., Zehra, A., Dubey, M. K., & Upadhyay, R. S. (2017). *Alternaria* toxins: Potential virulence factors and genes related to pathogenesis. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1451. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01451> (doi.org in Bing)
- Michel-Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M. A., Solano-Pascacio, R. Y., Ariza-Flores, R., Barrios-Ayala, A., y Rebolledo-Martínez, A. (2013). Biocontrol de *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler mediante *Trichoderma* spp. bajo condiciones *in vitro*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(1), 149–157. <https://doi.org/10.29312/remexca.v4i1.1251>
- Medina, Lady. (2016). *Evaluación aeromicológica de las zonas aledañas al relleno sanitario de la ciudad de Celendín*. [Tesis, Universidad Nacional DE Cajamarca]. <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/1754/tesis%20MEDINA%20VEREAU.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- MIDAGRI: Cítricos peruanos superan las 100 mil toneladas exportadas en los primeros cinco meses de 2025. (s. f.). Noticias - Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego - Plataforma del Estado Peruano. <https://www.gob.pe/institucion/midagri/noticias/1201397-midagri-citricos-peruanos-superan-las-100-mil-toneladas-exportadas-en-los-primeros-cinco-meses-de-2025>
- Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Herrera-Estrella, A., Schmoll, M., & Kenerley, C. M. (2013). *Trichoderma* research in the genome era. *Annual Review of Phytopathology*, 51, 105–129. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102353> (doi.org in Bing)
- Murciano, C.; Oliver, J. & Orihuel, B. (2021). Pathogen identification and control of sooty spot caused by *Cladosporium ramotenellum*, appearing on fresh easy peeler mandarins from Perú. *Journal of Plant Science and Phytopathology*, 5(1): 44 – 52. doi: 10.29328/journal.jpsp.1001059
- NCBI. (2024). Taxonomy/Browser [Página 5(1): web]. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=85571>
- Nelson, S. (2008). Sooty mold. Plant Disease, PD-52. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa. Recuperado de: <https://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/PD-52.pdf>
- Ortiz Martínez, J., Hernández Ramírez, G., Cruz Tobón, M., Figueroa Rodríguez, K. A., Figueroa Sandoval, B., y Hernández Rosas, F. (2013). Inhibición *in vitro* de aislamientos nativos de *Trichoderma* en presencia de la cepa comercial T22. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(1), 126–136. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-34752013000100013&script=sci_arttext
- Quintana, J., Moreno, G., & Murales, J. (2006). Los hongos en extramadura (Sociedad Micológica Extremeña y Consejería de Agricultura y Medio Ambiente.). SOCIEDAD MICOLOGICA EXTREMEÑA.

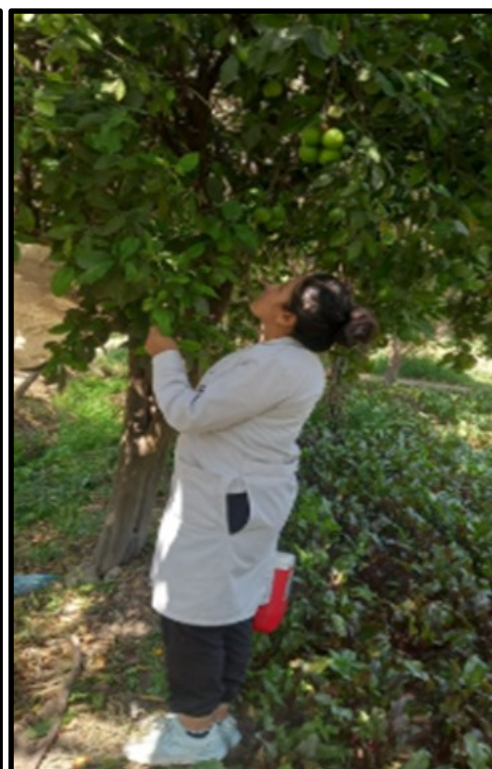
- file:///C:/Users/HP/Downloads/LibrodeHongos%20(1).pdf (Original work published Quintana)
- Pérez - almeida, C. (2018). Efecto inhibitorio *in vitro* de taninos de guarango (*caesalpenia spinosa*) y saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* willd) en *Rhizopus* sp. [Tesis, Universidad de las Américas]. <https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/10213/1/UDLA-EC-TIAG-2018-32.pdf>
- Pérez, D. (2016). Identificación del agente patógeno del marchitamiento de *Caesalpinia spinosa* “tara” y el efecto antagónico de *Bacillus* sp. Y *Trichoderma* sp. Huamanguilla–Ayacucho 2012. [UNIVERSIDAD NACIONAL SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA]. https://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/UNSCH/2338/1/TESIS%20B776_Per.pdf
- Pérez, J., Quispe, R., & Soto, M. (2022). Resistencia fúngica y contaminación por agroquímicos en la agricultura peruana: Una revisión sistemática. *Ecología y Cultivos Andinos*, 8(1), 112-125.
- Pérez, R., González, T., & Muñoz, J. (2014). Antagonismo microbiano asociado a cepas bacterianas provenientes de jitomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) y maíz (*Zea Mays*). *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(3), 53-60.
- Pires de Lemos, J., & Sousa Paiva, E. A. (2006). The effects of sooty mold on photosynthesis and mesophyll structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* King., Meliaceae). *Bragantia*, 65(1), 11-17. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052006000100003>
- PROCITRUS. (2019). Guía de recomendaciones para el manejo integrado de *Cladosporium* spp “Moho pulverulento” en los cítricos. Recuperado de <https://www.procitrus.org/imgapps/info-notas/infonotas-1612278918.pdf>
- Ramírez, J., Trujillo, J. Osorio, V. Jaramillo, M. Botero, L. “*In vitro* antagonism of *Trichoderma asperellum* against *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, and *Fusarium oxysporum*,” *Rev. UIS Ing.*, [Revista en internet] 2019 [Acceso 05 de marzo de 2019]; vol. 18, no. 2, pp. 159-166. Disponible en: <https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistauisingenierias/article/view/8954/9182>
- Ramírez, H. G., Ramírez, W. S., Cantoral, B. M. T., & Torres, E. (2013). Manual de producción y uso de hongos antagonistas. Recuperado a partir de <https://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2017/09/Manual-de-Producci%C3%83%C2%B3n-y-Uso-de-Hongos-Antagonistas.pdf>
- Rao, CN, George, A. (2018). Plagas de los cítricos. En: Omkar (eds) Plagas y su manejo. Springer, Singapur. https://doi.org/10.1007/978-981-10-8687-8_17.
- Redagricola. (2022). *Cladosporium*, dos especies activan las alertas. Recuperado de <https://www.redagricola.com/pe/cladosporium-dos-especies-activan-las-alertas/>

- Reynolds, D. R. (1999). *Capnodium citri*: The sooty mold fungi comprising the taxon concept. *Mycopathologia*, 148, 141–147. <https://doi.org/10.1023/A:1007170504903>
- Rivera, L. (2024). ESTRATEGIAS DE CONTROL DE *Cladosporium* spp. EN TANGOR (*Citrus reticulata* x *C. sinensis*) 'W. Murcott' EN CHINCHA (Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Agraria La Molina). Recuperado de <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/6342>
- Sáenz, C., Hernández, E., Estrada, B., Poot, W., Martínez, R., Rodríguez, R. (2019). Principales enfermedades en cítricos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10 (7). <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i7.1827>
- Samuels, G. & Hebbbar, P. (2015). *Trichoderma*: Identification and agricultural applications. Minnesota, USA: The American Phytopathological Society
- Sánchez-García, B. M., Montes-Belmont, R., Ricardo-Figueroa, A. J., Nava-Juárez, R. A., & Flores-Moctezuma, H. E. (2017). Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. contra *Alternaria solani*, hongo causante del tizón temprano en jitomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(1), 107-121. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i1.74>
- Santos, S., Santos, C., Silva, S., Pinto, G., & Dias, M. C. (2013). The effect of sooty mold on fluorescence and gas exchange properties of olive tree. *Turkish Journal of Biology*, 37, 620-628. <https://doi.org/10.3906/biy-1301-81>
- Siddiquee, S. (2017). Chapter 4: Morphology-Based Characterization of *Trichoderma* Species. *Practical Handbook of the Biology and Molecular Diversity of Trichoderma Species from Tropical Regions* (41 – 73). doi: 10.1007/978-3-319-64946-7_4
- Simmons, E. G. (2007). *Alternaria*: An Identification Manual. CBS Fungal Biodiversity Centre.
- Soto, A. (2020). Revisión general acerca del HLB (Huanglongbing) o enfermedad del enverdecimiento de los cítricos. Universidad Simón Bolívar. <https://hdl.handle.net/20.500.12442/7094>
- Stoppacher, N., *et al.* (2010). Identification and profiling of volatile metabolites of the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride* by HS-SPME-GC-MS. *Journal of Microbiological Methods*, 81(2), 187–193.
- Thomma, B. P. H. J. (2003). *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*, 4(4), 225–236. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00173.x> (doi.org in Bing)
- Timmer, L. W., Garnsey, S. M., & Graham, J. H. (Eds.). (2003). *Compendium of Citrus Diseases* (2nd ed.). American Phytopathological Society (APS Press).
- Urbaneja, A., Pérez-Hedo, M., Beitia, F., Monzó, C., Jaques, Josep A., Tena, A., NavarroLlopis, V. (2020). La gestión de plagas y la importancia de las nuevas aproximaciones biológicas y tecnológicas. En: García Álvarez-Coque, José M., Moltó, E. (coords.). *Una hoja de ruta para la citricultura española*. (1ªed.). Almería, España; Cajamar Caja rural, pp. 245-258. <http://hdl.handle.net/20.500.11939/6606>

- Valentín-García, A., Robles-Yerena, L., Rodríguez-Pérez, J. E., Mora-Aguilera, J. A., Lomeli-Flores, J. R., & Nava-Díaz, C. (2016). Potencial antagonico de cepas de *Trichoderma* spp. contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Alternaria solani* in vitro. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 34(3). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1604-5>
- Vásquez Gutiérrez, R., Palma Cruz, F. J. P., Martínez Martínez, L., y López Sánchez, C. Efecto antagonista de Hyphomycetes endófitos de *Taxus globosa* SCHLTDL. contra *Fusarium* spp. y *Alternaria* spp. patógenos de *Capsicum annum*. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 3(1): 26-37, 2016 https://rmae.voaxaca.tecnm.mx/wp-content/uploads/2020/11/3-RMAE_2015-16-Taxus-Galeras.pdf
- Vinale, F., *et al.* (2006). Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 43(2), 143–148.
- Velázquez-del Valle, M. G., Bautista-Baños, S., Hernández-Lauzardo, A. N., Guerra-Sánchez, M. G., & Amora-Lazcano, E. (2008). Estrategias de Control de *Rhizopus stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, Agente Causal de Pudriciones Postcosecha en Productos Agrícolas. *Revista mexicana de fitopatología*, 26(1), 49–55.
- Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M., y Crous, P. W. (2013). *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology*, 75(1), 171-212. <https://doi.org/10.3114/sim0015>
- Woudenberg, J. H. C., Seidl, M. F., Groenewald, J. Z., de Vries, M., Stielow, J. B., Thomma, B. P. H. J., y Crous, P. W. (2015). *Alternaria* section *Alternaria*: Species, formae speciales or pathotypes? *Studies in Mycology*, 82, 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.07.001> (doi.org in Bing)

ANEXOS

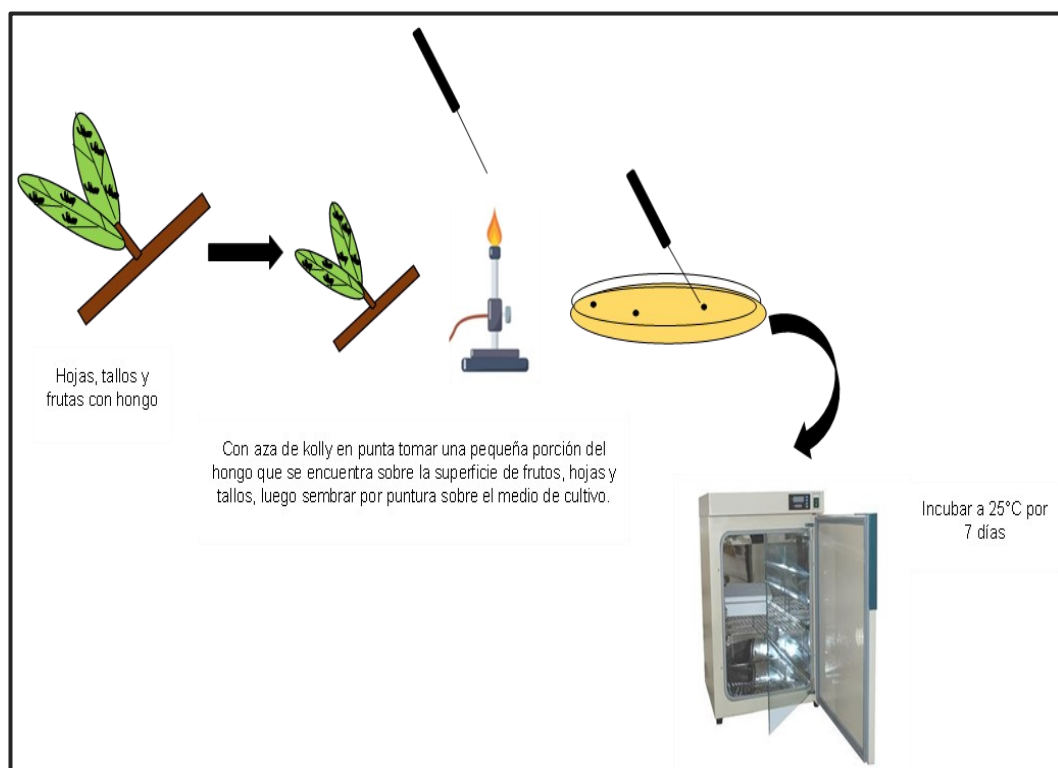
Anexo 1. Toma de muestras de hojas, raíces y tallos con signos y síntomas de enfermedad para el aislamiento de fitopatógenos en el distrito de Alcamenca, centro poblado Huambo, anexo Unya, provincia de Víctor Fajardo, Ayacucho – 2024.



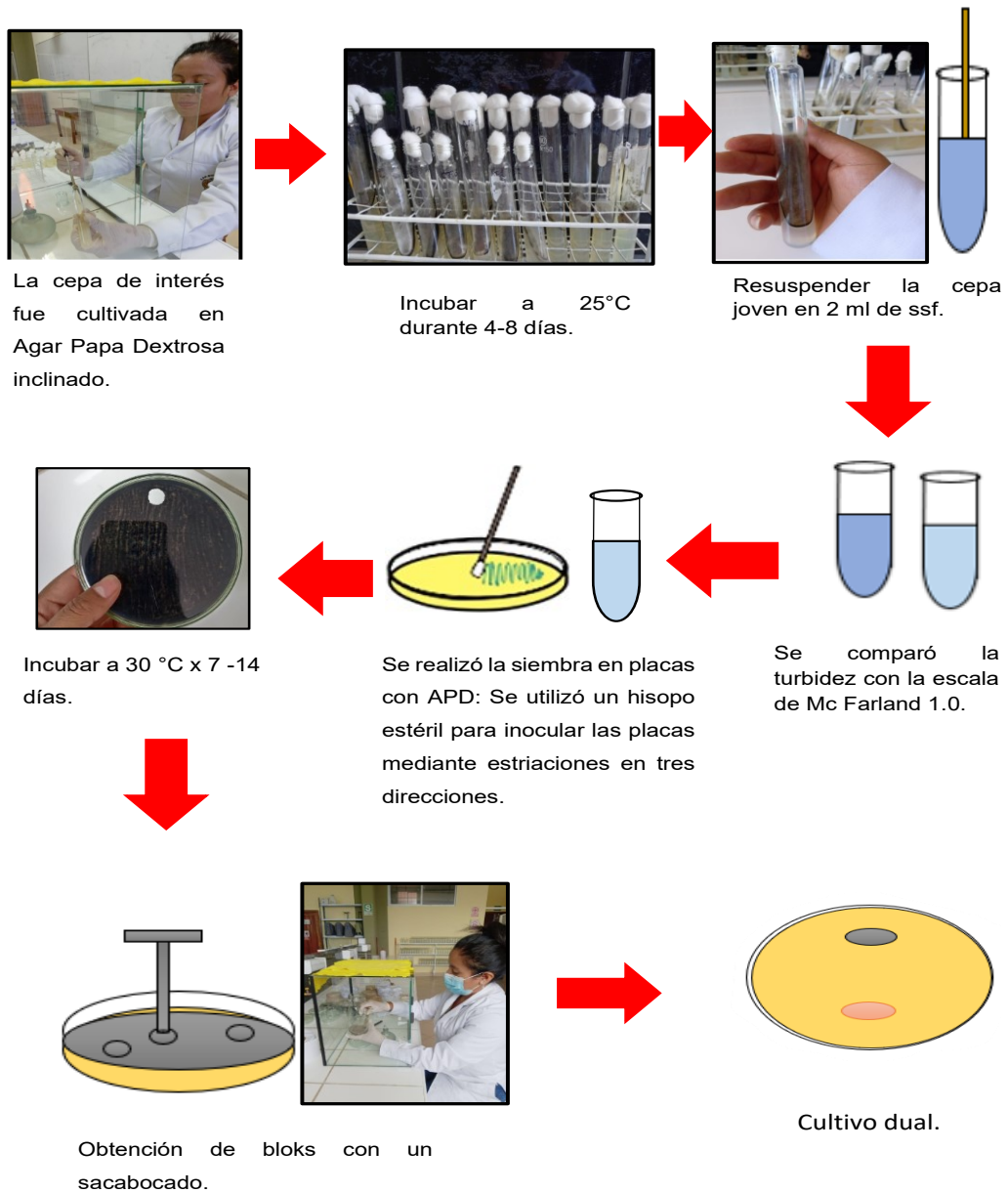
Anexo 2. Muestras de plantas de naranja "*Citrus sinensis*" que presentan signos y síntomas de fumagina.



Anexo 3. Técnica de aislamiento de hongos fitopatógenos a partir de tejido vegetal con signos y síntomas de la enfermedad (raíz, tallo y hoja).

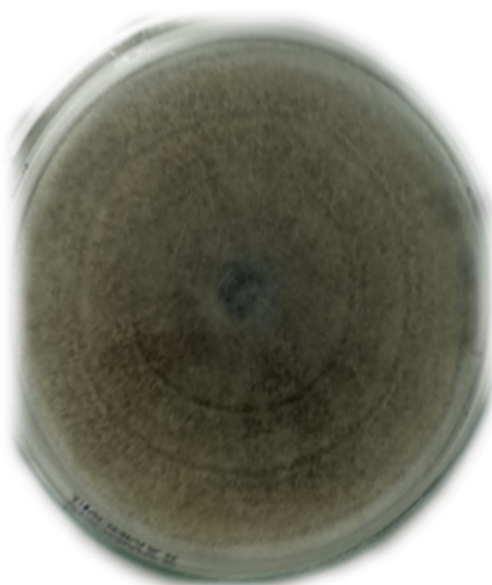


Anexo 4. Metodología para la obtención de cultivos en tapete y bloques de agarosa.

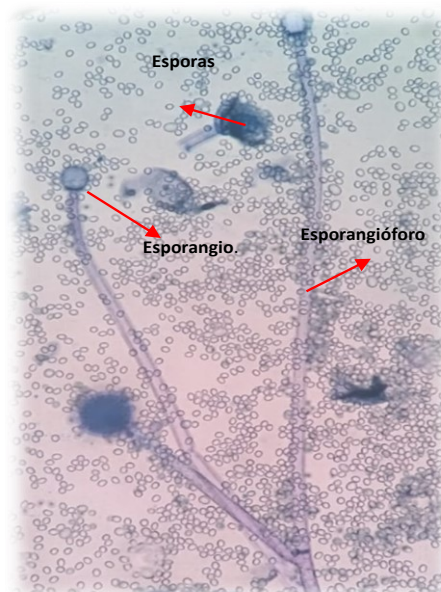


Anexo 5. Observaciones macroscópicas (40X) y microscópicas (100X) de los conidios de los fitopatógenos aislados.

MACROSCÓPICO

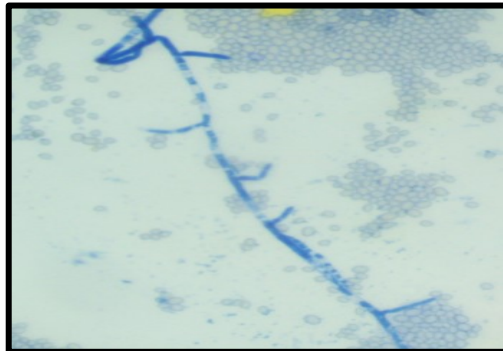


MICROSCÓPICO

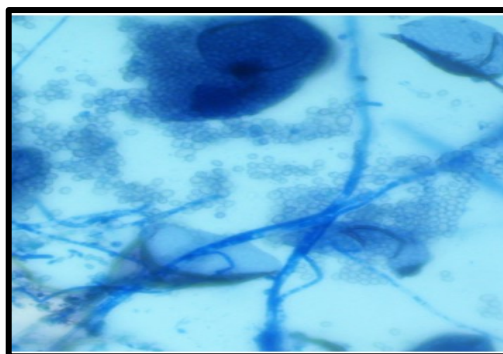


Anexo 6. Observación microscópica del micoparasitismo entre *Trichoderma harzianum* y el fitopatógeno (*Rhizopus stolonifer*)

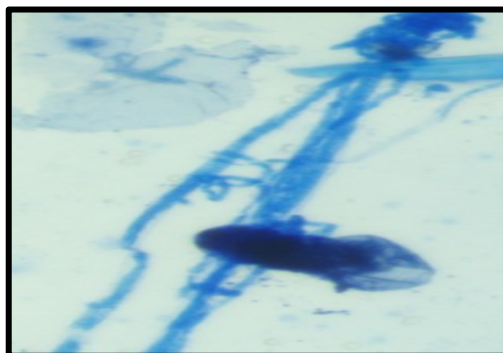
- a) Formación de granulación y vacuolización del citoplasma de hifas de fitopatógeno 1.



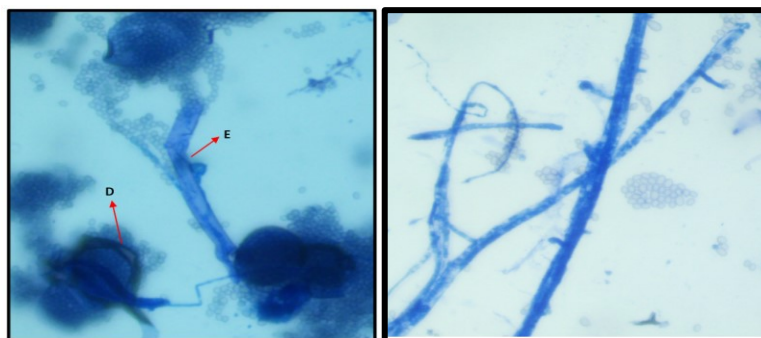
- b) Penetración de hifa de *Trichoderma harzianum*



- c) Formación de enrollamiento masiva de *Trichoderma harzianum*

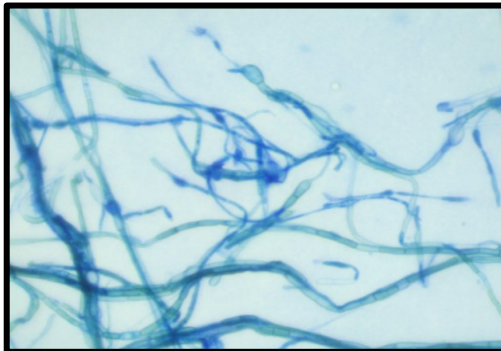


- d) Engrosamiento y deshidratación de hifas de fitopatógeno.

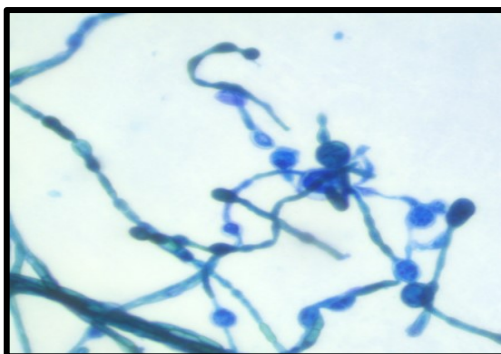


Anexo 7. Observación microscópica del micoparasitismo entre el *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma artroviride* fitopatógeno (*Alternaria Alternata*).

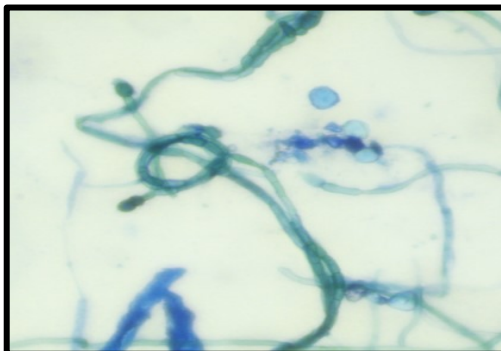
a) Penetración de la hifa de *Trichoderma harzianum*



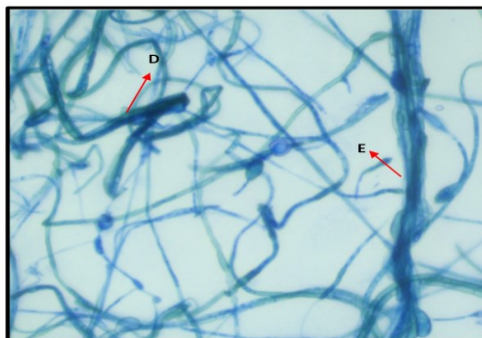
b) Engrosamiento del hifa y formación de clamidospora del fitopatógeno 2.



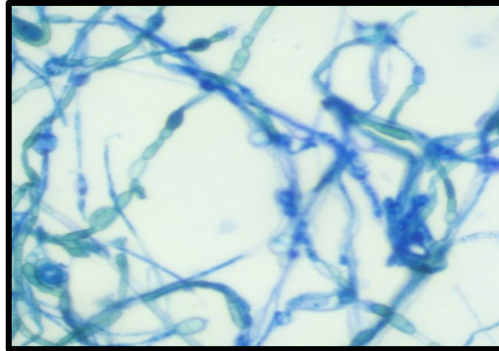
c) Acordonamiento de hifas de fitopatógeno 2.



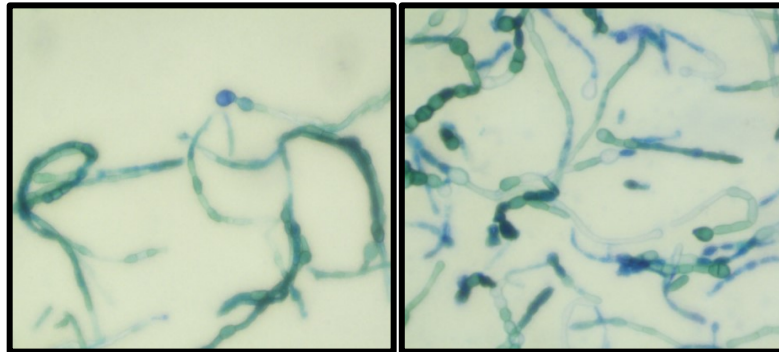
d) Engrosamiento y deshidratación de hifas de fitopatógeno 2.



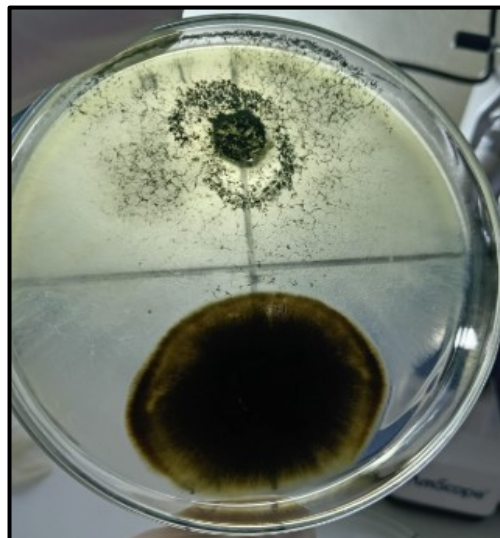
- e) Granulación de hifas de fitopatógeno 2.



- f) Lisis celular en las hifas del fitopatógeno 2.

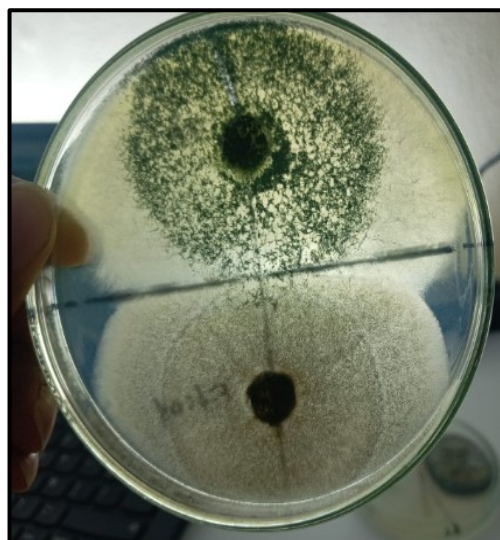
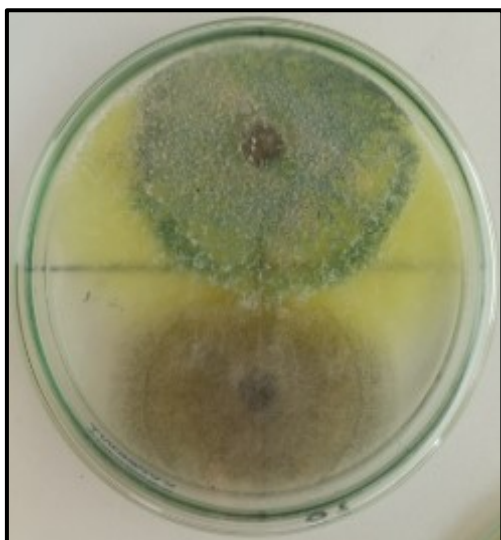


Anexo 8. Evaluación del antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* (Th 1) y *Trichoderma Atroviride* (Th-2) sobre el crecimiento de fitopatógenos (*Alternaria alternata* y *Rhizopus stolonifer*).



Enfrentamiento dual de Th – 1 con Ft – 2.

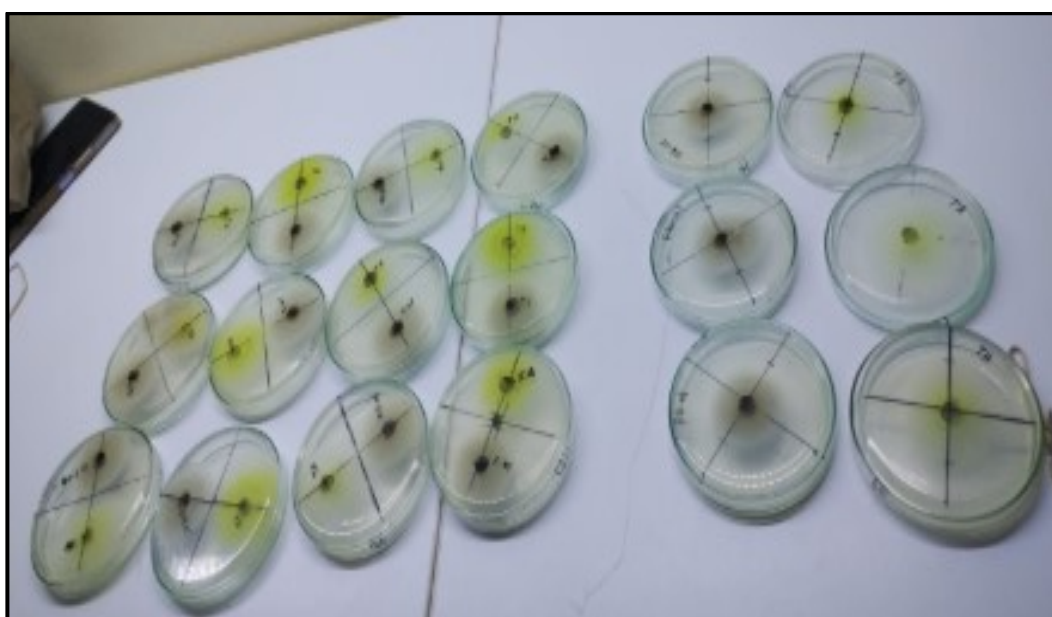
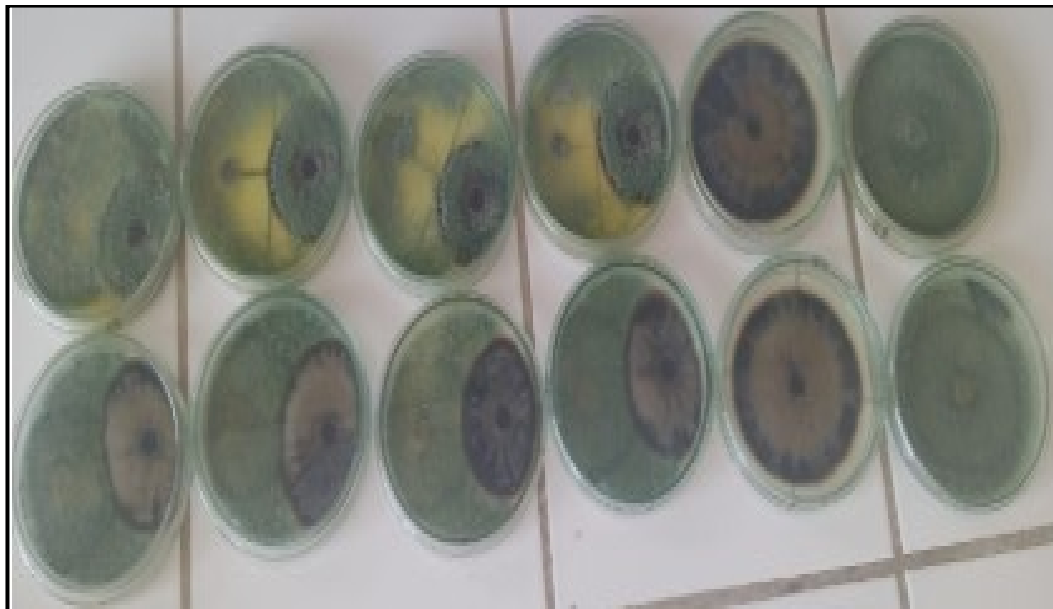
Enfrentamiento dual de Ta – 2 con Ft – 2.



Enfrentamiento dual de Th – 1 con Ft – 1.

Enfrentamiento dual de Ta – 2 con Ft – 1.

Anexo 9. Enfrentamiento *in vitro* de los antagonistas frente a los fitopatógenos. *Trichoderma harzianum* (T-1) y *Trichoderma artroviride* (T-2) a los fitopatógenos (*Alternaria alternata* y *Rhizopus stolonifer*) a los 8 días de enfrentamiento.



Anexo 10. Matriz de consistencia.

Título: Antagonismos de *Trichoderma* spp. frente a hongos de la fumagina en *Citrus sinensis* “naranja”. Ayacucho, 2024.

Autor: Neysha Vanessa Talavera Aquino

Asesor: Rilder Nemesio Gastelú Quispe

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	MARCO TEÓRICO	VARIABLE	METODOLOGÍA
General ¿Tendrá efecto antagónico de cepas de <i>Trichoderma</i> spp frente a hongos causante de la fumagina en <i>Citrus sinensis</i> “naranja”. Ayacucho, 2024?	Objetivo general Evaluar el efecto antagónico de cepas de <i>Trichoderma</i> spp. frente a hongo causante de la fumagina en <i>Citrus sinensis</i> “naranja”. Ayacucho, 2024 Objetivos específicos 1. Aislar e identificar molecularmente las cepas de hongo causante de la fumagina. 2. Determinar el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) sobre hongos causante de fumagina. 3. Determinar el grado de antagonismo (micoparasitismo) de 2 cepas de <i>Trichoderma</i> spp. sobre hongos causante de la fumagina.	Tiene efecto antagónico la cepas de <i>Trichoderma</i> spp. frente a hongos causante de fumagina en <i>Citrus sinensis</i> “naranja”. Ayacucho, 2024	Antecedentes • Internacionales • Nacionales • Locales Marco conceptual • Aislamiento • Antagónico. • Capacidad antagónica • Mecanismo de acción. • Signos. • Síntomas. • Fumagina. Bases teoricas • Características morfológicas de la planta de naranja. • Generalidades de <i>Cladosporium</i> spp. • Generalidades del patógeno <i>Rhizopus</i> spp. • Generalidades del patógeno <i>Alternaria</i> spp. • Generalidades de <i>Trichoderma</i> spp.	Variable principal Antagonismo de 2 cepas de <i>Trichoderma</i> spp. Indicadores: • Enrollamiento, adhesión de hifas. • Porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR). • Escalla de Bell • Grado de antagonismo (micoparasitism) Variable secundario Hongos de fumagina. Indicadores: • Características macroscópicas y microscópicas de las colonias, hifas, esporas. • Escala de Bell	Tipo de investigación Básica – descriptiva Material biológico • Cepas nativas de <i>Trichoderma</i>. • Cepas de hongos causantes de fumagina. Análisis estadístico Los datos obtenidos en la investigación se procesarán utilizando el programa en el programa RStudio para la obtención de estadísticos descriptivos. Para analizar el efecto antagónico de cada <i>Trichoderma</i> spp. se empleó la prueba t de <i>Student</i> , con un nivel de significación de 0.05 y para determinar el mejor efecto antagónico entre especies de <i>Trichoderma</i> spp. se empleó el análisis de varianza de PICR con nivel de significancia de 0.05; por último, se hizo comparaciones múltiples de promedios con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

**UNSCH**FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS

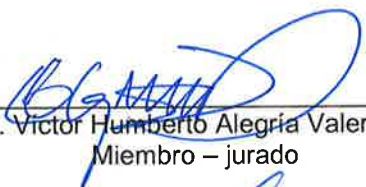
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Bach. Neysha Vanessa TALAVERA AQUINO
RESOLUCIÓN DECANAL N° 068-2026-UNSCH-FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día jueves veintiuno del mes de mayo del año dos mil veintiséis; 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, actuando como presidente el Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista, el Dr. Víctor Humberto Alegría Valeriano (miembro – jurado), la Mg. Ruth Elsa Huamán De La Cruz (miembro – jurado), el Mg. Rilder Nemesio Gastelú Quispe (miembro – asesor), con Resolución Decanal N° 068-2026-UNSCH-FCB-D con fecha catorce de mayo del dos mil veintiséis, actuando como secretaria docente encargada la Blga. Betsy Rocío Aguilar Atme con memorando N° 087-2026-UNSCH(IN)-FCB con fecha veinte de mayo del año dos mil veintiséis; para presenciar la sustentación de tesis titulada: **Antagonismo de *Trichoderma* spp frente a hongos de la fumagina en *Citrus sinensis* “naranja”. Ayacucho, 2024**, presentado por la **Bach. Neysha Vanessa TALAVERA AQUINO**; el presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó al secretario docente dar lectura a dicha documentación que da fe este acto académico, luego el presidente indicó a la sustentante que tiene un tiempo máximo de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de tesis tal como se establece el Reglamento general de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Una vez culminado invita a cada uno de los Miembros del Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas a la sustentante. Seguidamente invita a la sustentante y público asistente abandonar momentáneamente el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones correspondientes, tal como se establece a continuación:

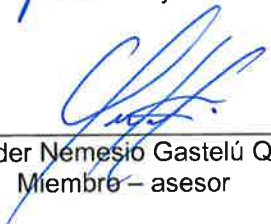
Miembros del Jurado Evaluador	Exposición	Respuesta a preguntas	Promedio
Dr. Víctor Humberto Alegría Valeriano	16	16	16
Mg. Ruth Elsa Huamán De La Cruz	17	17	17
Mg. Rilder Nemesio Gastelú Quispe	17	17	17
		Promedio	17

La sustentante alcanzó el promedio de 17 aprobatorio. Acto seguido, el presidente invitó a ingresar al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga a la sustentante e invitados presentes para que pueda dar los resultados, de este modo indica que ha concluido el presente acto académico, firmando al pie de dicho documento en señal de conformidad siendo las seis y cuarenta de la noche


Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista
Presidente


Dr. Víctor Humberto Alegría Valeriano
Miembro – jurado


Mg. Ruth Elsa Huamán De La Cruz
Miembro – jurado


Mg. Rilder Nemesio Gastelú Quispe
Miembro – asesor


Blga. Betsy Rocío Aguilar Atme
Secretaria docente (e)



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA-ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

Nº 30-2026-FCB-D

Yo, FIDEL RODOLFO MUJICA LENGUA, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Antagonismo de *Trichoderma spp* frente a hongos de la fumagina en *Citrus sinensis* "naranja". Ayacucho, 2024**, por NEYSHA VANESSA TALAVERA AQUINO; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 11%, 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 Nº 039-2021-UNSCH-CU.

En consecuencia, 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, 28 de junio de 2026.


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela Profesional de Biología
Dr. Fidel R. Mujica Lengua
DIRECTOR

Antagonismo de Trichoderma spp frente a hongos de la fumagina en Citrus sinensis “naranja”. Ayacucho, 2024

por NEYSHA VANESSA TALAVERA AQUINO

Fecha de entrega: 29-jun-2026 08:12p. m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2991510148

Nombre del archivo: 1D_TALAVERA_AQUINO_Neysha_Vanessa_Pregado_2026_Turnitin_pdf.pdf (1.05M)

Total de palabras: 14671

Total de caracteres: 86860

Antagonismo de Trichoderma spp frente a hongos de la fumagina en Citrus sinensis "naranja". Ayacucho, 2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

11%

INDICE DE SIMILITUD

11%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

8%

TRABAJOS DEL ESTUD

FUENTES PRIMARIAS

1

Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga

Trabajo del estudiante

2

repositorio.unsch.edu.pe

Fuente de Internet

3

doczz.es

Fuente de Internet

4

Submitted to Universidad de la Amazonia

Trabajo del estudiante

5

hdl.handle.net

Fuente de Internet

6

api.index-360.com

Fuente de Internet

7

patents.google.com

Fuente de Internet

8

www.slideshare.net

Fuente de Internet

9

Surapong Khuna, Jaturong Kumla, Tanapol Thitla, Wipornpan Nuangmek, Saisamorn Lumyong, Nakarin Suwannarach. "Morphology, Molecular Identification, and Pathogenicity of Two Novel Fusarium Species Associated with Postharvest Fruit Rot of Cucurbits in Northern Thailand", Journal of Fungi, 2022

Publicación

10

repositorio.xoc.uam.mx

Fuente de Internet

11

biotecnia.unison.mx

Fuente de Internet

Excluir citas

Excluir bibliografía

Activo

Activo

Excluir coincidencias

< 30 words