



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**CONTROL BIOLÓGICO *in vitro* POR *Trichoderma* sp.,
SOBRE HONGOS FITOPATÓGENOS DE LA QUINUA
Rhizoctonia sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp.**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. ERICA ESTHER HUAMAN ESTOFANERO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PUNO – PERÚ

2021



DEDICATORIA

Con mucho amor a Dios todo poderoso

Por brindarme salud, sabiduría y esperanza para alcanzar mis objetivos.

A mis queridos padres Alfredo Huaman Mamani y Eusebia Estofanero Gutierrez, y

mi hermano Edilson Huaman Estofanero

Por su comprensión y apoyo incondicional, quienes me enseñaron a ser perseverante,

optimista en el transcurso

de mis estudios, por apoyarme en todo momento.

A Juan Christian Ancco Larico

Por estar a mi lado apoyándome, impulsándome a seguir adelante, por hacerme creer

que puedo lograr más de lo que me propongo si doy de mí, por valorarme, por creer en

mí y por estar siempre conmigo en todo momento.

A la licenciada Edith Ponce

Por apoyarme a conseguir mis metas, por siempre

confiar en mí y por motivarme.

Les agradezco infinitamente.

Erica Esther Huaman Estofanero



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a Dios por haber iluminado mi vida, permitiéndome culminar mis estudios.

A mi alma mater, la Universidad Nacional del Altiplano, a todos los docentes y personal administrativo de la Facultad de Ciencias Biológicas, quienes fueron parte de mi formación académica y profesional.

Un agradecimiento especial a mis queridos padres, quienes brindaron su apoyo incondicional para la culminación de mis estudios superiores.

Al Mg. Dante Mamani Sairitupac, con mucha gratitud y respeto, asesor de mi tesis, por ser un gran docente, por haberme brindado su confianza y apoyo, en la realización de la presente tesis.

Al jurado conformado por los docentes, Dra. Roxana Del Carmen Medina Rojas, Mg. Ciria Ivonne Trigós Rondón y Dr. Juan José Pauro Roque, por sus sugerencias y revisión del informe final de tesis.

Al Blgo. Eric Dandy Quispe Machaca, por sus valiosas sugerencias, recomendaciones y apoyo constante en el desarrollo de la presente tesis.

A la Ing. Nora Ortiz Calcina, por haberme apoyado en la ejecución de mi tesis y también por el apoyo físico y moral, enseñándome a ser perseverante.

A mis amigos(as) en especial a Yermy, Ricardo, Yaneth, Tania, María, Julio, Rudy, Lazarte y Héctor; por impulsarme a seguir adelante en mi vida profesional y personal, por ser tan incondicionales.

A mis tíos Martín, Néstor, Benito, Julio y Fredy; a mis primos(as) Miriam, Ulises, Roger, Yenifer y Gabyluz; y mis abuelitos Alejandrina y Severino, por darme el aliento de ánimos para concluir la tesis.



INDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

INDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 11

ABSTRACT..... 12

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. OBJETIVO GENERAL 15

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 15

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES 16

2.2. MARCO TEÓRICO 20

2.2.1. Control biológico 20

2.2.1.1. Mecanismo de acción de antagonistas microbianos 22

2.2.2. Género *Trichoderma* 25

2.2.2.1. Ecología de *Trichoderma* 26

2.2.2.2. Taxonomía de *Trichoderma* 27

2.2.2.3. Morfología de *Trichoderma* 28

2.2.2.4. Factores que influyen en el crecimiento de *Trichoderma* 29

2.2.2.5. Mecanismo de acción de *Trichoderma* 31

2.2.3. Hongos fitopatógenos 34

2.2.3.1. Género *Rhizoctonia* 34

2.2.3.2. Género *Fusarium* 37

2.2.3.3. Género *Phoma* 39



2.2.4. La quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.)	41
2.2.4.1. Taxonomía de la quinua	42
2.2.4.2. Descripción botánica de la quinua	42
2.2.4.3. Origen de la quinua	45
2.2.4.4. Importancia de la quinua	47
2.2.4.5. Enfermedades de la quinua	47

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO	58
3.2. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	59
3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA	59
3.4. METODOLOGÍA	60
3.4.1. Determinación de la presencia de hongos fitopatógenos <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. y <i>Phoma</i> sp., en tres zonas de cultivo de quinua del Centro de Investigación y Producción Camacani (CIP-Camacani), Centro de Investigación y Producción Illpa (CIP-Illpa) y distrito de Ilave	60
3.4.1.1. Muestreo de plantas en campo	60
3.4.1.2. Aislamiento de hongos fitopatógenos	60
3.4.1.3. Caracterización morfológica	61
3.4.1.4. Análisis de datos	62
3.4.2. Determinación de la capacidad antagónica <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma</i> sp. como controlador biológico, mediante el enfrentamiento dual de los hongos fitopatógenos <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. y <i>Phoma</i> sp.	62
3.4.2.1. Obtención del biocontrolador.....	62
3.4.2.2. Método de enfrentamiento dual	62
3.4.2.3. Evaluación de crecimiento individual del biocontrolador y fitopatogenos	63
3.4.2.4. Evaluación de la capacidad biocontroladora.....	63
3.4.2.5. Evaluación del porcentaje inhibición del crecimiento radial (PICR)	64
3.4.2.6. Análisis de datos	64



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Presencia de hongos fitopatógenos <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. y <i>Phoma</i> sp., en tres zonas de cultivo de quinua del Centro de Investigación y Producción Camacani (CIP-Camacani), Centro de Investigación y Producción Illpa (CIP-Illpa) y distrito de Ilave.....	66
4.1.1. Aislamiento e identificación de los hongos fitopatógenos	66
4.2. Capacidad antagónica <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma</i> sp. como controlador biológico, mediante el enfrentamiento dual de los hongos fitopatógenos <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. y <i>Phoma</i> sp.....	71
4.2.1. Crecimiento micelial de <i>Trichoderma</i> sp.	71
4.2.2. Diámetro de crecimiento del antagonista (DCA) y diámetro de crecimiento del patógeno (DCP)	72
4.2.3. Crecimiento radial micelial del enfrentamiento dual.....	76
4.2.4. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) y capacidad antagónica	79
V. CONCLUSIONES	84
VI. RECOMENDACIONES	85
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	86
ANEXOS.....	105

ÁREA: Ciencias Biomédicas

LÍNEA: Diagnóstico y Epidemiología

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 11/11/2021



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tallo de quinua con daño de mancha ojival.	49
Figura 2. Tallo de quinua con daño de podredumbre marrón del tallo.....	50
Figura 3. Plántulas de quinua con daño de marchitez a la emergencia.	51
Figura 4. Hoja de quinua con micelio de mildiu en su envés.	53
Figura 5. Hoja de quinua con daños de mancha foliar.	54
Figura 6. Hoja de quinua con daño de ojo de gallo.	55
Figura 7. Hoja de quinua con daño de moho verde.	56
Figura 8. Zonas de muestreo de los cultivos de quinua: A. Centro de Investigación y Producción Illpa, B. Centro de Investigación y Producción Camacani, C. cultivo en distrito de Ilave.....	59
Figura 9. Características macroscópicas y microscópicas de <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. y <i>Phoma</i> sp.	68
Figura 10. Observación macroscópica del crecimiento del micelio del hongo biocontrolador <i>Trichoderma</i> sp. (A).	72
Figura 11. Diámetro de crecimiento micelial (mm) <i>in vitro</i> del hongo biocontrolador <i>Trichoderma</i> sp. y los fitopatógenos <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. y <i>Phoma</i> sp. en PDA.	73
Figura 12. Comparación del diámetro de crecimiento (mm) <i>in vitro</i> del micelio a las 120 horas, del hongo biocontrolador <i>Trichoderma</i> sp. y los hongos fitopatógenos <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. y <i>Phoma</i> sp.	74
Figura 13. Comparación del crecimiento radial micelial de los hongos en el enfrentamiento dual a las 120 horas de evaluación. Biocontrolador <i>Trichoderma</i> sp. y fitopatógenos <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. y <i>Phoma</i> sp. (*) representa el crecimiento radial de los hongos sin enfrentamiento dual (control).....	77
Figura 14. Medias de porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) del hongo biocontrolador <i>Trichoderma</i> sp. frente a los hongos fitopatógenos <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. y <i>Phoma</i> sp.	81
Figura 15. Zonas recolección de muestras, cultivos de quinua.	109
Figura 16. Muestras de raíces, tallo y hojas, recolectadas de las plántulas de quinua.	109
Figura 17. Preparación de materiales de vidrio para la esterilización en autoclave en el Laboratorio de Sanidad Vegetal, Universidad Nacional del Altiplano.....	110
Figura 18. Preparación del medio de cultivo PDA, autoclavado a 180°C por 20 minutos, y adición de 1gr de cloranfenicol.	110
Figura 19. Plaqueado del medio de cultivo PDA en las placas Petri.	110
Figura 20. Lavado, cortado y secado a temperatura ambiente de las muestras de raíz, tallo y hojas con aparente presencia de hongos fitopatógenos del cultivo de quinua.	111
Figura 21. Desinfección de muestra, siembra en medio de cultivo PDA de las partes de la planta de quinua como raíz, tallo y hojas con aparente presencia de hongos fitopatógenos.	111



Figura 22. Placas Petri con medio de cultivo PDA, sembradas con las partes de quinua como raíz, tallo y hojas con aparente presencia de hongos fitopatógenos.	112
Figura 23. Crecimiento de hongos fitopatógenos provenientes de la quinua a las 72 horas.	112
Figura 24. Crecimiento de los hongos fitopatógenos en cultivo puro a las 120 horas.	112
Figura 25. Crecimiento micelial del hongo fitopatógeno <i>Rhizoctonia</i> sp. anverso y reverso de la placa.....	113
Figura 26. Crecimiento micelial del hongo fitopatógeno <i>Fusarium</i> sp. anverso y reverso de la placa.	113
Figura 27. Crecimiento micelial del hongo fitopatógeno <i>Phoma</i> sp. anverso y reverso de la placa.	113
Figura 28. Crecimiento micelial del hongo biocontrolador <i>Trichoderma</i> sp. anverso y reverso de la placa.....	114
Figura 29. Aplicación del método de cinta con azul de lactofenol para la identificación de los hongos fitopatógenos y observación microscópica a 40X.	114
Figura 30. Observación microscópica de hifas y conidios de <i>Fusarium</i> sp. a 40X.....	114
Figura 31. Observación microscópica de hifas y conidios de <i>Rhizoctonia</i> sp. a 40X.	115
Figura 32. Observación microscópica de hifas y conidios de <i>Phoma</i> sp. a 40X.....	115
Figura 33. Observación microscópica de hifas y conidios de <i>Trichoderma</i> sp. a 40X.	115
Figura 34. Observación macroscópica del enfrentamiento dual <i>Trichoderma</i> sp. frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.....	116
Figura 35. Observación macroscópica del enfrentamiento dual <i>Trichoderma</i> sp. frente a <i>Fusarium</i> sp.	116
Figura 36. Observación macroscópica del enfrentamiento dual <i>Trichoderma</i> sp. frente a <i>Phoma</i> sp.....	117



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales enfermedades en cultivo de quinua	48
Tabla 2. Escala de evaluación del antagonismo <i>in vitro</i> , de acuerdo a la medida de invasión de la superficie, colonización y esporulación del biocontrolador sobre los hongos fitopatógenos.....	64
Tabla 3. Aislamientos de los hongos fitopatógenos <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. y <i>Phoma</i> sp. en medio PDA, de plantas de quinua según procedencia o zona de muestreo.	67
Tabla 4. Medias del diámetro de crecimiento del antagonista (DCA) y diámetro de crecimiento del patógeno (DCP) <i>in vitro</i> en agar papa dextrosa, en relación al tiempo de crecimiento (horas).....	72
Tabla 5. Crecimiento radial micelial del enfrentamiento dual de <i>Trichoderma</i> frente a los hongos fitopatógenos a las 120 horas de evaluación.....	76
Tabla 6. Efecto del biocontrolador <i>Trichoderma</i> en porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) frente a los hongos fitopatógenos a las 120 horas de evaluación.....	80



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

ACBs	Agentes de Control Biológico
ADN	ácido desoxirribonucleico
CIP	Centro de Investigación y Producción
cm	centímetros
DCA	Diámetro de crecimiento del antagonista
DCP	Diámetro de crecimiento del patógeno
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación
INIA	Instituto Nacional de Innovación Agraria
IAB	Investigaciones y Aplicaciones Biotecnológicas
Kcal	kilocalorías
kg	kilogramos
mg	miligramos
msnm	metros sobre el nivel del mar
mm	milímetros
nm	nanómetros
PDA	agar papa dextrosa
PICR	porcentaje de inhibición de crecimiento radial
sp.	especie
spp.	especies
µm	micrómetros



RESUMEN

Las enfermedades producidas por hongos en el cultivo de quinua son muy frecuentes y prevalece donde *Chenopodium quinoa* se desarrolla, ocasionando pérdidas económicas. Se planteó como objetivo determinar la presencia de los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., en tres zonas de cultivo de quinua y determinar la capacidad antagónica *in vitro* de *Trichoderma* sp., como controlador biológico. Se realizó el muestreo de plantas enfermas del cultivo de quinua, del Centro de Investigación y Producción Illpa, Centro de Investigación y Producción Camacani y distrito de Ilave, procedentes de hojas, tallos y raíces; luego se cultivó en agar papa dextrosa (PDA) para multiplicación de los hongos patógenos, realizando la identificación macroscópica y microscópica en cultivo puro, donde se midió el diámetro de crecimiento del antagonista (DCA) y diámetro de crecimiento del patógeno (DCP). En el enfrentamiento dual se utilizó a *Trichoderma* sp. proporcionada por el laboratorio de Sanidad Vegetal, realizándose mediciones de crecimiento radial bajo enfrentamiento frente a los fitopatógenos. Los datos fueron analizados por análisis de varianza completamente al azar, en el Software InfoStat, para determinar diferencias estadísticas la prueba de Tukey. Se detectó la presencia de los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., en relación al DCA, *Trichoderma* sp. obtuvo 90.00 mm de micelio, respecto al DCP, para *Rhizoctonia* sp. con 50.00 mm; *Fusarium* sp. con 62.00 mm y *Phoma* sp. con 42.00 mm a las 120 horas; presentando poca dispersión de datos y diferencia estadística significativa entre sí ($p < 0.0001$). La capacidad antagónica de *Trichoderma* sp. a las 120 horas de evaluación final, frente a *Rhizoctonia* sp. presentaron halos de crecimiento 29.80 mm y 14.60 mm respectivamente, con una inhibición del crecimiento radial de grado 2 (41.60%); frente a *Fusarium* sp. de 30.60 mm y 13.00 mm respectivamente, de grado 3 (58.06%); y frente a *Phoma* sp. de 31.20 mm y 11.00 mm respectivamente, de grado 2 (47.62%); presentando diferencia estadística significativa entre sí ($p < 0.0001$) en los tres enfrentamientos. En conclusión, existe la presencia de *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp. en las zonas de cultivo de quinua y debido a su capacidad antagónica *in vitro*, se confirma la actividad de control biológico de *Trichoderma* sp. sobre los fitopatógenos.

Palabras clave: *Fusarium*, *Phoma*, quinua, *Rhizoctonia*, *Trichoderma*.



ABSTRACT

The diseases caused by fungi in the cultivation of quinoa are very frequent and prevail where *Chenopodium quinoa* develops, causing economic losses. The objective was to determine the presence of the phytopathogenic fungi *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. and *Phoma* sp., in three quinoa cultivation zones and to determine the *in vitro* antagonistic capacity of *Trichoderma* sp., as a biological controller. Sampling of diseased plants of the quinoa crop was carried out, from the Illpa Research and Production Center, Camacani Research and Production Center and Ilave district, from leaves, stems and roots; Then it was cultivated on potato dextrose agar (PDA) for the multiplication of pathogenic fungi, performing macroscopic and microscopic identification in pure culture, where the antagonist growth diameter (DCA) and pathogen growth diameter (DCP) were measured. In the dual confrontation, *Trichoderma* sp. provided by the Plant Health laboratory, performing measurements of radial growth under confrontation with phytopathogens. The data were analyzed by completely random analysis of variance, in the InfoStat Software, to determine statistical differences in the Tukey test. The presence of the phytopathogenic fungi *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. and *Phoma* sp., in relation to DCA, *Trichoderma* sp. obtained 90.00 mm of mycelium, with respect to DCP, for *Rhizoctonia* sp. with 50.00 mm; *Fusarium* sp. with 62.00 mm and *Phoma* sp. with 42.00 mm at 120 hours; presenting little data dispersion and statistically significant difference between them ($p < 0.0001$). The antagonistic capacity of *Trichoderma* sp. at 120 hours of final evaluation, against *Rhizoctonia* sp. showed growth halos 29.80 mm and 14.60 mm respectively, with a degree 2 radial growth inhibition (41.60%); against *Fusarium* sp. 30.60 mm and 13.00 mm respectively, grade 3 (58.06%); and against *Phoma* sp. 31.20 mm and 11.00 mm respectively, grade 2 (47.62%); presenting a statistically significant difference between them ($p < 0.0001$) in the three confrontations. In conclusion, there is the presence of *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. and *Phoma* sp. in quinoa growing areas and due to its antagonistic capacity *in vitro*, the biological control activity of *Trichoderma* sp. on phytopathogens.

Key words: *Fusarium*, *Phoma*, quinoa, *Rhizoctonia*, *Trichoderma*.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Las plantas tienden a ser atacadas por enfermedades y plagas, siendo uno de los agentes principales los hongos que se aprovechan de las plantas para satisfacer sus demandas nutricionales. El hecho de que la enfermedad no se presente en grandes masas hace que pierda espectacularidad (De Ana, 1982) y de ese modo no se le da la importancia correspondiente que se merece. El principal método para el manejo de enfermedades fúngicas que se dan en los cultivos, es mediante el uso de fungicidas químicos, los cuales traen como consecuencia intoxicación crónica en el hombre y contaminación ambiental. Si bien se conoce los daños causados a la salud por los pesticidas, no se conoce la magnitud exacta que estos llegan a tener (Tenorio, 2011).

Los patógenos que ocasionan enfermedades en las plantas se tipifican mediante sus características en el proceso de infección: biotróficos, hemitróficos, necrotróficos, parásitos debilitadores y marchitadores vasculares (Zanabria y Banegas, 1997). Muchas enfermedades fungosas infectan el cultivo de quinua, como por ejemplo la “punta negra” *Phoma exigua* y “mancha ojival del tallo” *Phoma cava* (Salas, 1976). En zonas húmedas es frecuente encontrar bajas densidades de plantas, con lesiones en el cuello de la raíz, síntomas de marchites o escaso desarrollo. Los hongos *Fusarium* y *Rhizoctonia* causan el mal de almácigos en varios cultivos. Estos mismos ocasionan la marchites de cultivos de quinua (Barboza *et al.*, 1999).

Los más importantes países productores de quinua son Perú y Bolivia, conforme a los datos provistos por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO). El Perú presenta una tendencia creciente en relación al aumento de su exportación y producción de quinua. En 2013 la producción de quinua aumentó alrededor de 18%



respecto al 2012; el mayor aumento en los últimos años en el Perú. Desde el 2005 al 2013, Perú ha encabezado la producción mundial de quinua, representando aproximadamente 52% de la producción mundial. En las recientes nueve campañas agrícolas, la superficie sembrada de quinua aumentó a una tasa promedio de 5,8% anual a nivel nacional en el Perú. Siendo Puno la región que más hectáreas siembra, en total: 32,929 hectáreas (Fairlei, 2016).

Alrededor del 68,3% de la producción nacional de quinua se concentra en la región Puno, asimismo se encuentra la mayor biodiversidad, superficie sembrada y cosechada, pero los rendimientos siguen siendo muy bajos. En esta región, las provincias productoras de quinua más importantes y que en conjunto producen el 81% del total regional son: El Collao, Azángaro, Chucuito, Puno y San Román. Siendo El Collao y Azángaro donde se concentra el 41% de producción (Casafranca y Pahuachón, 2014).

En los últimos años, el cultivo de la quinua (*Chenopodium quinoa*) en el Perú, ha alcanzado una demanda competitiva mundial. Siendo Europa y Norteamérica sus principales mercados, donde prefieren quinuas que sean orgánicas y libres de productos de la industria agroquímica, el 60% de la producción nacional es dirigida hacia el mercado externo y el 80% de esta producción, se concentra en la región Puno; sin embargo, los rendimientos aún son muy bajos (Riego, 2017), porque muchas de las enfermedades son ocasionadas por hongos, los cuales poseen estructuras de resistencia encontrándose en el suelo, causando pérdidas significativas económicamente en la producción de este cultivo (Torres, 2002). Además existe una alta microbiota por estudiar y así controlar las enfermedades causadas por fitopatógenos, como bioproductos a base de *Trichoderma*, difundida a nivel mundial (Benítez *et al.*, 2004).



En tal sentido, con esta investigación se da una alternativa para elevar la producción, un control de enfermedades en el ámbito de una producción orgánica de la quinua, tal cual demandan los mercados internacionales sin utilizar agroquímicos. Además, queda demostrado la capacidad antagónica *in vitro* que tiene *Trichoderma* sp. sobre los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Phoma*, para que se recomiende medidas de acción a los productores y de esta manera lograr una mayor producción agrícola. Esto es muy importante considerando la producción de quinua en la región Puno, donde existe un incremento, reflejando el interés en este cultivo. La información resultante de esta investigación, demuestra la incidencia y severidad de las principales enfermedades fúngicas en la quinua, así como la actividad biocontroladora de *Trichoderma* sp. Por lo mencionado, en la investigación se plantearon los siguientes objetivos:

1.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la actividad del control biológico *in vitro* de *Trichoderma* sp., sobre hongos fitopatógenos de la quinua *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la presencia de hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., en tres zonas de cultivo de quinua del Centro de Investigación y Producción Camacani (CIP-Camacani), Centro de Investigación y Producción Illpa (CIP-Illpa) y distrito de Ilave.
- Determinar la capacidad antagónica *in vitro* de *Trichoderma* sp. como controlador biológico, mediante el enfrentamiento dual de los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Sucaticona (2018), demostró la actividad antagónica *in vitro* de los hongos *Trichoderma* spp. y *Lecanicillium* spp. frente al hongo de la roya amarilla del café (*Hemileia vastatrix*) en condiciones de laboratorio, de las hojas de café y suelo circundante a la planta de café del sector Miraflores Lanza y Uycusmayo, provincia de Sandia, Puno. Obteniendo un diámetro de crecimiento de 5.40 cm, 5.80 cm y 4.90 cm, 4.80 cm; existiendo diferencia significativa con $p < 0.05$, clasificándose de grado 4 de micoparasitismo y actividad antagónica de 75%. Similarmente, Nina *et al.* (2011) evaluaron la capacidad biocontroladora de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. en café (*Coffea arabica*) en condiciones experimentales, existiendo diferencia significativa en el porcentaje de crecimiento de *Trichoderma* sp. sobre *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. a los 3, 6 y 9 días. Por otro lado Mamani (2017), en San Juan del Oro, provincia de Sandia, Puno; aisló y caracterizó hongos antagonistas con capacidad biocontroladora de *Hemileia vastatrix* y demostró la existencia de la micobiota endofítica a partir de hojas y tallos de café, donde aisló 5 cepas de *Trichoderma* sp., que mostraron un efecto positivo en el control de la enfermedad.

Guédez *et al.* (2012), determinaron la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* en el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en raíces de plantas de tomate. Se obtuvo 6 aislamientos de *T. harzianum* de 6 municipios del estado Trujillo, Venezuela. Los cuales, tuvieron un rápido crecimiento sin diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$). Al contrastar el crecimiento de *T. harzianum* con los hongos patógenos, se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$). Similarmente,



León *et al.* (2012) recolectaron muestras de suelo en distintos agroecosistemas (caña y arboleda) del municipio de Colón, Matanzas, Cuba; donde no se había aplicado *Trichoderma* spp., con el objetivo de aislar, seleccionar morfológica, cultural y patogénicamente cepas autóctonas del territorio con capacidad antagonista. Se obtuvieron 126 aislados de donde se seleccionaron 72 que cumplían con las condiciones de crecimiento, textura de la colonia y esporulación.

Carhuavilca (2011) determinó el efecto antagonista de especies de hongos en el control de ojo de pollo (*Mycena citricolor*) del café en la variedad Catimor (*Coffea arabica*) con una dosis de 0.4 kg de sustrato de *Trichoderma*, en la provincia de La Convención, Cusco, Perú. Los parámetros que evaluó en el experimento fue la incidencia y severidad de *T. harzianum* y *T. viride* mostrando una reducción de 35.62%. En otro estudio según Bartra (2017), en el distrito de Hermilio Valdizán, Huánuco, Perú; indica que la incidencia de la roya del cafeto, con 6 aplicaciones con una frecuencia de 20 días durante 140 días, después de la primera aplicación llegó a disminuir a 21% hasta 59%, por la aplicación de *T. harzianum*.

Por otro lado Tenorio (2011), en La Paz, Bolivia, realizó el aislamiento, la identificación y ensayos de control biológico *in vitro* de fitopatógenos de la quinua (*Chenopodium quinoa*), tuna (*Opuntia picus-indica*) y castaña (*Castanea sativa*). De la quinua aisló a *Peronospora farinosa*, *Ulocladium* spp., *Penicillium* spp. y un basidiomicete. De la penca de tuna a *Fusarium* spp. y *Alternaria* spp. De la castaña *Aspergillus flavus* y *A. niger*.

Claros *et al.* (2010), indican que son pocos los estudios a nivel nacional e internacional de hongos endófitos de *Chenopodium quinoa*, por ello evaluaron 11 plantas de la zona altiplánica de ellas se obtuvo un total de 104 aislados (55 de raíz, 8 de tallo y



41 de hoja), siendo uno de los primeros trabajos en Bolivia. Por otro lado, Gamboa (2006) reporta que se han estudiado estos hongos en taxones vegetales tropicales en palmas, orquídeas y otras epífitas como Casuarinaceae, Sapotaceae, Fabaceae, Ochnaceae, Asteraceae, Olacaceae, Meliaceae, Anacardiaceae, Magnoliaceae, Rubiaceae y Sterculiaceae. Así también, Dingle y Mcgee (2003), menciona que algunas especies de estos hongos, inducen mecanismos de defensa en plantas infectadas por estos endófitos, y cuando son dañadas las plantas por sus patógenos hay una reacción de defensa con muerte celular localizada.

Ortuño *et al.* (2009), en Oruro-Bolivia, desarrollaron una estrategia de manejo integrado de quinua orgánica, basada en el uso de bioinsumos, que preserva la sanidad de las plantas e incrementa los rendimientos hasta 50%. Estos bioinsumos se han originado a partir de cepas nativas de microorganismos como TRICOBAL, producto en base a microorganismos benéficos: *Bacillus subtilis* y *Trichoderma* sp. aplicada a la siembra junto con abonos orgánicos. Actúan como biofertilizantes, promotores de crecimiento y biofungicidas. En todas las campañas agrícolas, los resultados obtenidos muestran que la tecnología con bioinsumos tiene un efecto positivo en el desarrollo y la producción de quinua. Las parcelas mostraron significativamente un mejor desarrollo del cultivo, superior tamaño de las plantas, mayor largo de las panojas, mayor diámetro de tallos, mayor sanidad de las plantas, y mejores rendimientos; mayor calidad respecto al manejo tradicional, considerado una alternativa importante para un manejo del cultivo de quinua más sustentable, más sensible con el medio ambiente y la salud del productor.

Hoyos *et al.* (2008), evaluaron la eficacia biológica de 8 aislamientos de *Trichoderma* spp. procedentes de suelos de Colombia, para el control de los agentes causales de volcamiento, *Sclerotium rolfsii* y *Rhizoctonia solani*. Todos los aislamientos



mostraron capacidad antagonica en condici3n *in vitro*. El comportamiento micoparasitico de *Trichoderma* spp. es diferente segun el hongo fitopatogeno, demostrando amplia especificidad del antagonista por su sustrato, es decir por el hongo afectado. Por otro lado, Samaniego *et al.* (2018), aislaron e identificaron cepas de *Trichoderma* spp. de la provincia de Matanzas, Cuba; aplicando una prospecci3n en dos agroecosistemas con suelo ferralitico rojo, se aislaron tres cepas aut3ctonas a partir de uno de ellos. Tanto las cepas aut3ctonas como de referencia, presentaron distintos niveles de actividad antagonica *in vitro* contra los fitopatogenos.

Borrero y Silva (2005), mencionan que *Trichoderma harzianum* y *T. viride*, poseen una gran capacidad antagonica por su alta velocidad de crecimiento, demostrando ser organismos enormemente agresivos respecto a la competencia por espacio e inhibe el crecimiento de los hongos. Por su parte, Zhirvi (2016) evalu3 el efecto de dos especies nativas y una comercial de *T. harzianum* y *T. koningii*, en el control de *Rhizoctonia* sp. y como factor estimulante de crecimiento de pl3ntulas de caf3 variedad Bourb3n Rojo en vivero. En la fase de semillero, el mejor tratamiento fue *T. harzianum* nativo con una incidencia de 4.25%, contra el testigo absoluto con valor de 29%.



2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Control biológico

El control biológico de plagas y enfermedades en la agricultura últimamente ha adquirido gran importancia frente a los problemas fitosanitarios, sucedidos por la utilización indiscriminada de plaguicidas químicos en la agricultura, lo cual ha conducido a graves problemas de contaminación al medio ambiente y ha ocasionado la resistencia de plagas y enfermedades, así como el origen de especies nuevas de microorganismos fitopatógenos con un grado más virulento de afectación (Bravo *et al.*, 2006).

La gran parte de los microorganismos fitopatógenos poseen antagonistas naturales o biológicos que es posible emplear como estrategia de lucha en un programa de control biológico. En la actualidad el uso de bacterias y hongos antagonistas de enfermedades agrícolas ha adquirido una particular importancia, dado que no sólo actúan contra ciertos microorganismos fitopatógenos (como lo realizan los plaguicidas químicos), sino que se vienen usando para un grupo muy amplio de microorganismos fitopatógenos (Mondino y Vero, 2006).

Si bien el control biológico no intenta reemplazar totalmente los sistemas de control químico, puede ser usado unido con otros tipos de métodos como parte de un sistema integrado de control. Es claro precisar que el control biológico tiene unas propiedades y requerimientos muy diferentes de los métodos de control tradicionales, y tiene que ser puesto en práctica unido con los métodos y con las estrategias de producción existentes en la actualidad. El control biológico está sujeto al funcionamiento efectivo del microorganismo antagonista conveniente para cada ecosistema específico planta-patógeno (Van Lenteren, 2003).



Se denomina control biológico a la utilización de microorganismos naturales o modificados, con el fin de reducir los efectos de organismos no deseados, favoreciendo simultáneamente el desarrollo de los microorganismos benéficos para las plantas. Los microorganismos antagonistas abarcan a cualquier organismo que dificulta la supervivencia o desarrollo de los microorganismos fitopatógenos (Van Lenteren, 2003). En el control biológico está involucrado la reducción de la enfermedad por interacción de uno o más organismos vivos en los que el hospedero (cultivo) y el hombre no están considerados (Mont, 2002).

Controlando la microflora existente que se encuentra en contacto con la planta, es factible controlar los patógenos de las plantas. Las interacciones beneficiosas da la posibilidad a la planta favoreciendo su crecimiento y resistencia a patógenos. Las interacciones antagónicas también se pueden utilizar para eliminar patógenos o evitar que ataquen a la planta y causen enfermedades. A esto se le llama control biológico (Mondino, 2003). El control biológico debe tener como objetivo el uso de agentes o prácticas de control con diferentes mecanismos de acción, para prevenir la evolución de plagas debido a la complejidad del organismo regulador a los que se enfrentaría (Guzmán *et al.*, 2013).

El control biológico se realiza mediante microorganismos antagonistas, también conocidos como agentes de control biológico (ACBs), que normalmente se encuentran de forma natural en el suelo y tienen efectos beneficiosos sobre los cultivos. Sin embargo, el uso intensivo de suelos agrícolas tiende a reducir las poblaciones de los mismos y reducir su efecto beneficioso sobre los cultivos. Los antagonistas del suelo incluyen aislados de hongos del género *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Gliocladium*, y bacterias del género *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* y *Streptomyces* (Suárez *et al.*, 2007). Estos microorganismos interactúan con los fitopatógenos de diversas formas, incluida la



competencia por los nutrientes, produciendo metabolitos secundarios con efectos antibióticos o parasitación directa de organismos fitopatógenos. Además, mejoran el crecimiento de las plantas e inducen tolerancia frente a situaciones de estrés. Estos efectos benéficos justifican el uso como alternativa real a los fungicidas químicos (Abd-Elsalam, 2003).

2.2.1.1. Mecanismo de acción de antagonistas microbianos

Se han descrito varios tipos de microorganismos (hongos, bacterias, virus) como agentes de control biológico contra las enfermedades en los cultivos. Casi todas las plagas y enfermedades son ocasionadas en cierta medida por organismos patógenos. Normalmente esta entidad biológica representan el factor más relevante en la regulación de las poblaciones de fitopatógenos en el medio ambiente (Mondino y Vero, 2006).

En el medio ambiente existe una interacción continua entre los microorganismos fitopatógenos y sus antagonistas, de forma tal que promueven a la regulación natural de las enfermedades. En condiciones naturales los microorganismos son dinámicamente proporcionales en la superficie de las plantas. No es fácil establecer el mecanismo de acción exacto en la interacción entre los microorganismos antagonistas y los fitopatógenos sobre la planta. Generalmente los antagonistas poseen diferentes modos de acción y la combinación de estos es importante para elegir al antagonista ideal. Si estos tienen diferentes modos de acción, se reducen los riesgos de que los fitopatógenos obtengan resistencia, esto se logra mediante el uso de una combinación de antagonistas con diferente mecanismo de acción. Por lo tanto, se han descrito varios mecanismos por los cuales los antagonistas ejercen su acción para controlar el crecimiento de microorganismos fitopatógenos (Ezziyani *et al.*, 2006).



Los antagonistas afectan a los fitopatógenos a través de los siguientes mecanismos de acción: antibiosis, competencia, micoparasitismo e inducción de mecanismos de resistencia. Estos mecanismos no son mutuamente excluyentes y algunos de ellos pueden actuar como mecanismo primario, pero también pueden actuar en conjunto (Michel, 2001).

a. Antibiosis

El fenómeno por el cual un hongo antagonista inhibe o elimina a un organismo es la antibiosis, mediante la producción metabólica de moléculas tóxicas, volátiles y de enzimas hidrolíticas, las cuales disuelven o afectan polímeros estructurales, como la quitina y β -1-3-glucanos de la pared celular en casi todo los hongos fitopatógenos y originan un efecto adverso sobre su crecimiento y diferenciación (Harman *et al.*, 2010).

b. Competencia

La competencia se da primordialmente por nutrientes y espacio, siendo la causa más común de la muerte de un microorganismo la inanición, debido a que requieren de nutrientes exógenos, como carbono y hierro para germinar, infiltrar e infectar el tejido; si el lugar de infección está ocupado por el organismo benéfico tendrá dificultad para desarrollar el hongo fitopatógeno (Hernández *et al.*, 2011). La competencia entre agentes de control biológico y el fitopatógeno podría resultar en control biológico por aniquilación de la población perjudicial y puede favorecer a *Trichoderma spp.*, por su alta frecuencia de crecimiento y desarrollo (Cueva, 2007).

c. Fungistasis

Implica la imposición de condiciones de inactividad específicamente para las esporas de hongos por limitaciones nutricionales (Lockwood, 1986).



d. Resistencia sistémica adquirida

Consiste en una o más moléculas (no necesariamente antagonistas de fitopatógenos) capaces de inducir autodefensas a las plantas contra la acción de cualquier microorganismo fitopatógeno. Hay dos tipos de resistencia: la constitutiva que es específica de la planta y que se desarrolla en cualquier momento, y la inducida que se expresa solo ante algunos estímulos. Existe dos tipos de interacciones planta-patógeno: la compatible se da cuando ocurre la enfermedad, y la incompatible cuando la planta resiste. De allí se fundamenta la teoría del gen para el gen (Mondino y Vero, 2006).

Varios microorganismos de la rizósfera inducen una respuesta sistémica en las plantas, produciendo la activación de mecanismos de defensa de las plantas, la resistencia sistémica inducida no confiere una protección completa a la planta, pero puede protegerla de diferentes tipos de fitopatógenos, incluidos los patógenos de las raíces (Raaijmakers *et al.*, 2008).

e. Micoparasitismo

Cuando un hongo parásito ataca directamente al hongo patógeno se le llama micoparásito. Para que se dé el micoparasitismo, el hongo antagonista produce factor exoenzimas hidrolíticas que facilitan la degradación de la pared celular del hospedante. El micoparasitismo implica una serie de eventos, incluida la localización del objetivo, mediante un crecimiento quimiotrópico, el reconocimiento, el ataque, la lisis y la adquisición de nutrientes. La producción de enzimas hidrolíticas y los factores que influyen en estos eventos están unidos entre sí (Martínez *et al.*, 2013). El antagonista puede usar a un hongo como fuente de alimento. Según el micoparasitismo existen dos grupos: los biotrópicos poseen un rango reducido de hospedantes, y los necrotrópicos son



los que eliminan a la célula antes o después de la invasión, excretan sustancias tóxicas y aprovechan sus nutrientes (Michel, 2001).

Considerado un proceso complejo en la interacción entre un antagonista y un patógeno, que ocurre en cuatro fases: el crecimiento quimiotrófico que permite a *Trichoderma* detectar a distancia a sus hospedantes y se considera que hay una elevada especificidad del antagonista por su sustrato, la adhesión y enrollamiento generado por la unión de un azúcar de la pared del antagonista con una lectina de la pared del patógeno, y la actividad lítica donde se producen enzimas líticas extracelulares, principalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan la pared celular del patógeno y permiten la invasión de las hifas de *Trichoderma* (Martínez *et al.*, 2013). No todas estas interacciones son siempre observadas en el parasitismo a nivel microscópico, estos parecen depender del aislamiento de *Trichoderma*, del patógeno y de las condiciones ambientales (Ávila, 2010).

2.2.2. Género *Trichoderma*

Las especies del género fúngico *Trichoderma* se encuentran distribuidas por todo el mundo. Su potencial en el control de patógenos se informó por primera vez en la década de 1930 (Weindling, 1932). Su nombre proviene del griego *Thrix* “pelo”, y *dérma* “piel o corteza”, esto se debe al aspecto macroscópico de las colonias sobre el sustrato celulósico, mediante su estado sexual, producen conidióforos erectos, solitarios o agregados en racimos flocosos, no verticilados, contienen fiálides solitarias o en grupos que forman fialósporas de coloración verde en masa o con conidios globosos verdes o hialinos. Es frecuente en el suelo, con elevada capacidad antagónica y parásita contra otros microorganismos fitopatógenos (Castaño, 2005).



2.2.2.1. Ecología de *Trichoderma*

La capacidad de *Trichoderma* para minimizar el daño en la planta causado por cualquier enfermedad, cuyo agente causal es un hongo fitopatógeno, está asociada con su fuerte actividad competitiva, antibiosis, micoparasitismo, producción de enzimas líticas y metabolitos secundarios. De este género varias especies son agentes de control biológico. En especial, *T. harzianum* Rifai, especie de amplio espectro de control, bajo distintas condiciones ambientales (Martínez *et al.*, 2013). *Trichoderma* tiene una excelente actividad antagonista contra patógenos como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum* y *Pythium ultimum*, los cuales causan enfermedades en cultivos de rábano, clavel, crisantemo, cafeto, cítricos, fríjol, haba, tomate, vasconcelleas entre otros. Recientemente, varios investigadores y algunas empresas han mostrado gran interés en investigar el potencial de *Trichoderma* como agente de control biológico sobre patógenos del suelo (Tobar, 2008).

Trichoderma se utiliza en la producción de enzimas hemicelulolíticas y celulolíticas, como biocontrolador de fitopatógenos, biodegradación y biorremediación. Las especies *T. virens*, *T. harzianum* y *T. viride* han sido reportadas entre los principales agentes de control biológico, comercialmente disponibles. Los hongos patógenos afectados por *Trichoderma* incluyen hongos de la pudrición de la madera y los géneros: *Armillaria*, *Botrytis*, *Chondrostereum*, *Colletotrichum*, *Dematophora*, *Diaporthe*, *Endothia*, *Fulvia*, *Fusarium*, *Fusicladium*, *Helminthosporium*, *Macrophomina*, *Monilia*, *Nectria*, *Phoma*, *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Pseudoperonospora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Venturia*, *Verticillium* (Hermosa *et al.*, 2000).

El género *Trichoderma* son hongos de rápido crecimiento, común en suelos forestales, agrícolas y pastizales, aislado en todos los continentes, crecen preferentemente



en suelos ácidos y ricos en materia orgánica, el hierro es un elemento esencial para su buen desarrollo (Mukherjee *et al.*, 2012); se encuentra naturalmente en una cantidad significativa de suelos agrícolas, en distintas zonas y hábitats, especialmente aquellos con materia orgánica en descomposición y en residuos de cultivos (Sivila y Álvarez, 2013). Asimismo, puede crecer en un amplio rango de temperaturas, son capaces de sobrevivir cuando las condiciones ambientales son desfavorables, modifican la rizósfera, y transportar glucosa rápidamente dándoles ventaja en la competencia de nutrientes; promueven el desarrollo de plantas y mecanismos de defensa (Benítez *et al.*, 2004).

Estos hongos son buenos competidores en la rizósfera de la planta como endófitos, capaces de colonizar toda la superficie radicular. Además, penetran en el tejido radicular, generalmente hasta la primera o segunda capa celular y solo en el espacio intercelular, lo que convierte a este hongo en uno de los principales ACBs usados en agricultura. En el mercado aproximadamente el 50% de los ACBs fúngicos pertenecen a *Trichoderma* (Whipps, 2001). El uso de microparásitos y también cepas de *Trichoderma*, constituyen una alternativa eficaz en el biocontrol para combatir enfermedades fúngicas, y ahora es una alternativa para reemplazar el control químico, que adicional a su alto costo, desarrolla resistencias a los fitopatógenos, como también genera problemas de contaminación y toxicidad (Gómez, 2017).

2.2.2.2. Taxonomía de *Trichoderma*

Las especies del género *Trichoderma* representan un grupo de hongos filamentosos, basándose en la clasificación taxonómica de Alexopoulos y Mims (1979), y también de Subramanian (1983) sería de la siguiente manera:



Dominio	: Eucarya
Reino	: Mycetae (Fungi)
División	: Eumycota
Subdivisión	: Deuteromycotina
Clase	: Hyphomycetes
Orden	: Hyphales (Moniliales)
Familia	: Moniliaceae
Género	: <i>Trichoderma</i>

2.2.2.3. Morfología de *Trichoderma*

Las colonias aisladas de *Trichoderma* muestran rápido crecimiento. En 1969, Rifai señaló que son de color blanco y se tornan verde oscuro con abundante esporulación. En general, en medio agar papa dextrosa (PDA) este hongo no produce micelio aéreo y la pigmentación varía de verde oscuro a verde claro y, a veces, tornarse amarillento. Algunas cepas poseen olor característico a coco (Harman, 2003). A lo largo de su desarrollo y crecimiento producen hifas de 5-10 μm de ancho que forman el micelio septado, con paredes compuestas por quitina y glucano (Rodríguez, 2002).

Los conidióforos de *Trichoderma* poseen un aspecto cónico observado al microscopio. Además producen un gran número de conidios asexuales unicelulares de color verde o hialino, lisos o con paredes ligeramente ásperas, subglobosos, cilíndricos, oblongos, promedio de 3-5 μm de diámetro. Estos se forman mediante células conidiógenas y fiálides (singular o agrupadas), ubicadas en los extremos de los conidióforos, los cuales son hialinos ramificados y no verticilados. Además, el hongo puede producir clamidosporas (unicelulares), globosas en sustratos naturales, pudiendo ser intercalares y a veces terminales en los extremos de las hifas, de color verde y de



diámetro menor de 15 μm . Estas esporas son consideradas estructuras de sobrevivencia porque pueden sobrevivir en el tiempo (Pérez, 2012).

En la identificación morfológica de especies se tiene en cuenta la clave de Rifai (Rifai, 1969). La caracterización cultural y el crecimiento de las colonias sobre diferentes medios de cultivo (Agar Extracto Malta, PDA, Agar Cornmeal), la morfometría del conidióforo, fiálides, conidios, clamidosporas, entre otros caracteres se obtiene a partir de colonias del hongo en estos medios. Más recientemente, otros autores han diseñado claves taxonómicas para identificar otras especies (Jaklitsch *et al.*, 2006).

2.2.2.4. Factores que influyen en el crecimiento de *Trichoderma*

Estos factores influyen temperatura, pH, humedad relativa, iluminación y los distintos sustratos que pueden ser utilizados por diferentes especies y los aislados del género *Trichoderma*. El conocimiento que influye todos estos factores bioecológicos sobre la fisiología y el potencial de *Trichoderma* como agente de control biológico (ACB), son cruciales en los procesos de selección de cepas promisorias, reproducción masiva e introducción en distintos agroecosistemas para obtener la máxima efectividad del hongo en el control de plagas (Martínez *et al.*, 2015).

a. Temperatura

El amplio rango apropiado de temperatura para el desarrollo de *Trichoderma*, es de 10°C a los 40°C, teniendo en cuenta una óptima de 25°C (Alexopoulos, 1996). Otros estudios han demostrado que el crecimiento saprofito en el suelo de *Trichoderma* ocurre



a temperaturas entre los 20°C y los 30°C, con una óptima de 25°C (Vargas, 2014), y las especies *T. citrinoviride* y *T. saturnisporum*, tienen un óptimo de temperatura más alto (entre 38°C y 44°C); para *T. viridae* y *T. polysporum* la temperatura óptima y más fresco es entre los 20°C a 25°C, y en condiciones moderadas *T. harzianum* la temperatura oscila entre los 22°C a 33°C, con una óptima de 27°C (Romero *et al.*, 2015).

b. Humedad

La humedad adecuada para el crecimiento de *Trichoderma* está entre el 70% y 80%. Una de las limitaciones más relevantes del uso de *Trichoderma* como fungicida biológico es su baja tolerancia osmótica (0.5 M o menor). Las condiciones del agua afectan la actividad de este hongo, especialmente la germinación de esporas y el desarrollo del tubo germinal y el crecimiento del micelio; posee un efecto crítico en la interacción con otros hongos y la producción de enzimas (Chávez, 2006).

c. pH

El pH es muy importante en la regulación de la producción de enzimas extracelulares, *Trichoderma* se desarrolla ampliamente a valores de pH de 2.0 a 9.0 con un pH óptimo entre 4.0 y 7.0 (Vargas, 2014). Asimismo el oxígeno y el dióxido de carbono es primordial para los hongos, *Trichoderma* es netamente aerobio estricto (Romero *et al.*, 2015), así mismo la luz es importante como en la mayoría de especies del género *Trichoderma* son fotosensibles, esporulando rápidamente sobre sustratos naturales o artificiales, en patrones anulares con céntricos en respuesta a la luminoso. La máxima actividad fotoinductiva se encuentra entre los 380 nm y 440 nm rango visible, no ocurriendo esporulación bajo los 245 nm (Chávez, 2006).



2.2.2.5. Mecanismo de acción de *Trichoderma*

Este género es reconocido por su capacidad de reducir las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos de los suelos (Inbar *et al.*, 1995), la competencia por los nutrientes necesarios para la germinación de esporas, la antibiosis por la producción de enzimas líticas y metabolitos secundarios, son la base de muchas interacciones que inducen la destrucción del patógeno y el micoparasitismo, son los mecanismos más importantes en la interacción de antagonismo de *Trichoderma* (Michel, 2001).

Martínez *et al.* (2013) indican sobre *Trichoderma* y su función como agente control biológico de hongos y nematodos, su acción como inductor de resistencia en las plantas y estimulador de crecimiento, entre otros. Crecen aceleradamente, produciendo conidios abundantes y poseen amplia gama de enzimas, su gran plasticidad ecológica les permite habitar en la mayoría de suelos agrícolas y otros ambientes. Como habitan en el suelo, se utilizó como control biológico de patógenos presentes; demostrando que tiene acción frente a hongos causantes de enfermedades foliares. Por su lado, IAB (2013) señala que *Trichoderma harzianum* es un hongo antagonista de patógenos vegetales y se encuentra en casi todos los suelos. Su crecimiento es favorecido por la presencia de raíces de planta, colonizando rápidamente. Algunas cepas colonizan y crecen en las raíces en tanto que estas se desarrollan. Además, *T. harzianum* tiene excelentes propiedades para el control biológico y a su vez es un excelente estimulador del crecimiento radicular.

Infante *et al.* (2009) mencionan que los hongos antagonistas son primordiales para el control biológico de fitopatógenos. Las más empleadas en el biocontrol de patógenos fúngicos del suelo son especies del género *Trichoderma*. Las cuales presentan diferentes mecanismos de acción que le permiten el control de los fitopatógenos. Entre ellos la antibiosis, competencia por el sustrato, micoparasitismo, resistencia inducida,



desactivación de enzimas del patógeno, entre otros. Mientras mayor sea probable de que *Trichoderma* manifieste diversos mecanismos de acción; más eficaz y perdurable será el control sobre el patógeno, aspectos que no tienen los plaguicidas químicos. Además, Aguilera y Ávila (2013) sustentan que *Trichoderma* spp. posee propiedades antibacteriales y antifungosas, produciendo sustancias como: trichodermina, dermadina, suzukacillina, trichotoxina, alamethicina, sequisterpeno y acetaldehído; también están implicadas enzimas extracelulares como β -1,3 glucanasa, celulasa y quitinasa; que degradan las paredes celulares y propician la penetración de las hifas del antagonista.

Martínez *et al.* (2009) indican que los hongos antagónicos son primordiales para el control biológico de los fitopatógenos, especies del género *Trichoderma* son las más empleadas para el biocontrol de patógenos fúngicos del suelo. Cuando un aislamiento de *Trichoderma* presente varios modos de acción, mayor es la probabilidad de que sea eficiente y permanente el control sobre el patógeno, aspectos que no poseen los plaguicidas químicos. Similarmente, Harman *et al.* (2004) mencionan que las actividades benéficas atribuidas a las interacciones de *Trichoderma*-planta implican la promoción del crecimiento vegetal, tolerancia y resistencia a fitopatógenos estimulando el crecimiento de las plantas, aumentando la disponibilidad de nutrientes, optimizando la producción y rendimiento de los cultivos.

a. Micoparasitismo

El parasitismo causado por *Trichoderma* es capaz de destruir y eliminar el hongo huésped (Barnett y Binder, 1973). El micoparasitismo se refiere a una serie de eventos moleculares y bioquímicos implicados en este fenómeno y los mecanismos celulares de la interacción del micoparasitismo (Vargas, 2014).



Según Vargas (2014) algunos eventos secuenciales involucrados en el micoparasitismo son los siguientes:

- **Crecimiento quimiotrópico:** el quimiotropismo positivo dirige el crecimiento a un estímulo químico en la etapa de localización del hospedante, se ha comprobado que *Trichoderma* lo detecta a distancia y sus hifas crecen en orientación al patógeno en respuesta a un estímulo químico.
- **Reconocimiento:** se da a través de la interacción de lectinas y carbohidratos, las lectinas son proteínas unidas a azúcares o glicoproteínas, provocando aglutinación de células y están implicadas en la interacción entre los componentes de la superficie de las células y su ambiente extracelular.
- **Adhesión y enrollamiento:** después del reconocimiento, las hifas del *Trichoderma* se enlazan al hospedante mediante la formación de estructuras en forma de gancho y apresorios alrededor de las hifas del patógeno, la adhesión de las hifas de *Trichoderma* es causada por la asociación de un azúcar de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno.
- **Actividad lítica:** se da la producción de enzimas líticas extracelulares, principalmente quitinasas, glucanasas y proteasas que degradan la pared celular del hospedante y permiten la penetración de las hifas del antagonista. A través de los puntos de contacto donde ocurre la lisis y aparecen los orificios, la hifa del micoparásito penetra en las del hongo hospedante; *Trichoderma* tiene un alto potencial parasítico, con actividad metabólica muy específica, que les permite eficientemente parasitar las estructuras fúngicas (Sandoval y López, 2000).
- **Antibiosis:** una de las enzimas hidrolíticas producidas por las especies de *Trichoderma* spp. se reportan a las quitinasas, glucanasas, proteasas y celulasas. Estas enzimas están involucradas en la antibiosis y el micoparasitismo, debido al



degradar la pared celular y sin micoparasitar al hospedero (Michel, 2001). La fase inicial de reconocimiento es la inducción de las enzimas quitinolíticas en *Trichoderma*, la primera etapa en la serie de eventos que ocurren en la actividad parasítica del antagonista (Inbar y Chet, 1995).

2.2.3. Hongos fitopatógenos

2.2.3.1. Género *Rhizoctonia*

Julius Khün hace más de 100 años, observó un hongo en los tubérculos de papa enfermas denominándolo *Rhizoctonia solani* (Parmeter, 1970), *R. solani* (Teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris* Frank) afecta a muchos cultivos a nivel mundial, considerado la especie más importante del género *Rhizoctonia* (Pascual y Hyakumachi, 2000).

En la fase asexual *R. solani* pertenece a la Clase Hyphomycetes y se caracteriza por no producir conidios en condiciones ambientales ni en medio de cultivo, por lo que las características del micelio son la base para su identificación. Ocasionalmente produce esporas sexuales llamadas basidiosporas, lo cual ubica a *T. cucumeris* en la Clase Basidiomycetes ubicada ahora como el Phylum Basidiomycota (Torres, 2002).

El micelio de *R. solani* está compuesto por hifas de color marrón oscuro, con células multinucleadas y la base de la célula que origina una ramificación posee una constricción. Se reproduce asexualmente como micelio vegetativo y/o esclerocio en el medio ambiente (Ceresini *et al.*, 2002).

Este hongo actualmente se encuentra disperso en suelos no cultivados y cultivados, sobreviviendo de forma saprófita o como esclerocio (estructura de resistencia). Algunos aislados de *R. solani* dependen del parasitismo para sobrevivir, pero existe evidencia de que *R. solani* habita primero en el suelo como saprófito en tejidos



infectados o mediante colonización saprófita en plantas muertas, permaneciendo en latencia o activo durante un largo periodo (Ulacio *et al.*, 2002). Debido a la combinación de habilidad de saprófita competitivo con potencial patogénico letal y un rango de hospedantes casi ilimitado, convierte a *R. solani* en un patógeno de gran importancia económica (Fernández, 2011).

a. Taxonomía y características morfológicas

El hongo *R. solani* ha sido objeto de numerosos estudios de tipo ecológico, patológico y de control biológico; sin embargo, su clasificación sigue siendo confusa y controvertida debido a que su morfología es simple, las características fisiológicas y patológicas utilizadas en su clasificación varían demasiado, dificultando la delimitación taxonómica del grupo (González, 2002).

La población de *Rhizoctonia* está dividida en tres importantes grupos, según el número de núcleos en cada célula de las hifas jóvenes (mono, bi y/o multinucleado). La especie *R. solani* es heterogénea compuesta de un extenso número de poblaciones independientes y pertenece al grupo multinucleado (Farrokhi *et al.*, 2007). De manera práctica, la clasificación de *R. solani* permitiría crear un marco predictivo para el manejo de esta especie (González, 2002). Para ubicar a *Rhizoctonia* en distintos grupos taxonómicos han sido utilizados ampliamente los criterios de anastomosis de hifas. La agrupación de aislamientos por anastomosis, se consigna bajo el supuesto de que solo las hifas que pertenecen al mismo grupo se pueden fusionar (Lees *et al.*, 2002). La anastomosis de hifas es una manifestación de la compatibilidad somática o vegetativa entre aislamientos (Carling y Leiner, 1990).

En la práctica, la anastomosis de hifas se determina de varios modos; la más empleada implica el apareamiento de dos aislamientos de *Rhizoctonia* en una lámina de



vidrio, permitiéndolos crecer unidos. Se tiñe y se examina microscópicamente el área de interacción de las hifas, para observar la interacción resultante entre hifas (Ceresini *et al.*, 2002). La interacción de las hifas se otorga a una de cuatro categorías de acuerdo a lo descrito por MacNish *et al.* (1997). Según Lees *et al.* (2002) estas categorías son:

- C0: no se observa reconocimiento entre las hifas.
- C1: hay un contacto de hifas y una conexión de las paredes pero sin contacto de membrana a membrana.
- C2: ocurre una fusión de hifas resultando en la muerte de las células fusionadas y las adyacentes.
- C3: fusión de paredes y membranas sin evidencia de muerte celular.

Hasta mediados de la década de 1980, la clasificación de *R. solani* se basó en características morfológicas, número de núcleos, apariencia en el cultivo, patología y especialmente la anastomosis de hifas (Parmer, 1970). No obstante, no es satisfactorio el agrupamiento por reacción de anastomosis, porque en ocasiones un aislado se anastomosa, total o parcialmente, con aislados de más de un grupo anastomósico (González, 2002).

Sin embargo, los grupos anastomósicos de *R. solani* también se pueden determinar usando varios métodos, incluido el análisis de cultivo y variaciones en patogénesis (Lees *et al.*, 2002). Últimamente los enfoques para agrupar los diferentes aislados de *R. solani*, incorporan nuevos caracteres obtenidas mediante técnicas bioquímicas y moleculares (González, 2002).



2.2.3.2. Género *Fusarium*

El género *Fusarium* incluye especies de distribución cosmopolita. Encontrándose en climas tropicales, subtropicales y templados (Benadof, 2010); sin embargo, tiene una mayor incidencia en climas cálidos, donde provoca grandes pérdidas económicas (Carrillo *et al.*, 2003). *Fusarium* es un hongo Ascomycota altamente patogénico, principal agente causal de la marchitez vascular, que afecta directamente a los vegetales y las flores; además recientes estudios sugieren que es la responsable de micosis en animales y humanos (Agrios, 2005).

Habita en el suelo como saprófito y sobrevive en restos vegetales en descomposición, o mediante estructuras de resistencia (micelio, esporas, clamidosporas), especialmente en lugares de clima templado a frío (Alvarado, 2005). También se ha señalado como parásito facultativo en plantas, animales y humanos. Además de ser agente causal del marchitamiento provocado por obstrucción vascular y pudrición basal de varias plantas causando graves pérdidas económicas en la agricultura mundial (Camacho *et al.*, 2008). Se han evaluado distintas alternativas para minimizar las enfermedades causadas por *Fusarium*, incluido el control cultural, químico y biológico, y el uso de cultivares tolerantes a *Fusarium* (Pirgozliev *et al.*, 2003).

a. Taxonomía de *Fusarium*

La clasificación taxonómica de *Fusarium* según Groenewald (2006) y Díaz *et al.* (2007) es la siguiente:

Dominio	: Eucarya
Reino	: Fungi
Phyllum	: Ascomycota



Clase : Deuteromycete

Orden : Hypocreales

Familia : Hypocreaceae

Género : *Fusarium*

b. Fisiología de *Fusarium*

El hongo *Fusarium* es capaz de dañar las células de su hospedero causando enfermedades a través de la acción individual o combinada de cuatro mecanismos de patogenicidad como la producción y liberación de enzimas que degradan la pared celular; producción y liberación de sustancias tóxicas que impiden el metabolismo o afectan la estructura normal del citoplasma (animal y humano) y protoplasma (planta); producción y liberación de sustancias que interfieren con el control normal del crecimiento y desarrollo (compuestos hormonales y anti hormonales), y la interferencia con los movimientos normales del agua, nutrientes y metabolitos (Llácer *et al.*, 2000).

Por su gran adaptabilidad *Fusarium* posee la capacidad de penetrar tejidos radiculares, iniciando su percepción por las células epidermales, córtex, endodermis, periciclo y finalmente llegar hasta las células del xilema (Ochoa, 1996); cuando el patógeno coloniza la raíz produce micelio y microconidios que se extienden mediante los vasos xilemáticos de forma ascendente, estas toxinas tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de la planta, causando el colapso del tejido vascular, limitando el transporte de nutrientes y ocasionando la muerte de la planta (Agrios, 2005).

Los síntomas de *Fusarium* se pueden observar de forma unilateral, acompañada de un amarillamiento parcial o total de las hojas, generalmente se observa una parte de la hoja clorótica y la otra de un tono verde normal y sana, los brotes infectados presentan un doblamiento hacia el lado de la planta enferma; las plantas infectadas presentan un ligero



enanismo y tamaño reducido en comparación con plantas sanas, en algunos casos el patógeno ocasiona un crecimiento excesivo de la planta, mientras los síntomas progresan lentamente, en la planta se observa un marchitamiento generalizado, conllevando a la muerte de la planta (Arbeláez, 2000).

Con el objetivo de reducir la incidencia severa de *Fusarium*, las plantas segregan sustancias que contrarrestan la infección, sustancias de polisacáridos como gomas y tilosas, los cuales cubren los haces vasculares impidiendo que el hongo desarrolle (Agrios, 2005), conforme la infección avanza en la planta se activan otros mecanismos de recisión frente al patógeno, incluida la acumulación de ácido salicílico esencial para la resistencia adquirida sistémica como defensa primaria frente a la invasión de patógenos (Álvarez, 2000). Asimismo hay producción de fitohormonas incluidas auxinas, giberelinas, ácido abscísico, ácido salicílico, citoquininas, brasinosteroides, jasmonatos, etileno y hormonas peptídicas que cambian durante la infección como una estrategia para prevenir la colonización de patógenos (Arie *et al.*, 2007; Bary *et al.*, 2009).

2.2.3.3. Género *Phoma*

El género *Phoma* posee picnidios de pared fina de color marrón suave, con conidias hialinas, alipsoideas o cortos cilindros, rectos predominantemente unicelulares, con extremos redondeados y dos grandes gúttulas aceitosas en los extremos opuestos. Además de otras características morfológicas como la célula condioégena (blástica, enteroblástica o phialídica), conidióforo ausente, conidioma pycnidial (inmerso, globoso, marrón pálido y pared delgada), ostiolo (central, hialina, marrón oscuro, de una septa, pared gruesa y doliforme) (Sutton, 1980).

Las conidias son de forma oval, unicelulares hialinas, sin septas, con un tamaño de 6.5 a 10.5 μm de largo y de 2 a 3 μm de ancho, dispuestas en picnidios de aspecto



globoso semihundido en el estrato epitelial, adheridos por hifas alargadas formadas a partir de la base del picnidio, que es de color gris claro cuando es joven, se torna oscuro al envejecer; sus paredes pseudoparenquimatosas tienen un ostiolo en la parte superior por allí expulsan las conidias envueltas en una masa gelatinosa de color claro, la disolución de este mucus y la disolución de las esporas se debe a la lluvia mediante el salpique de gotas, ayudado por el viento. Este último es muy importante al causar heridas en el hospedero por donde sin esfuerzo invade el patógeno (Castaño, 1984).

a. Taxonomía de *Phoma*

Según Agrios (1996), el género *Phoma* presenta la siguiente clasificación:

Dominio	: Eucarya
Reino	: Fungi
Phyllum	: Deuteromycota
Clase	: Coelomycetes
Orden	: Sphaeropsidales
Familia	: Sphaeropsidaceae
Género	: <i>Phoma</i>

b. Fisiología de *Phoma*

Dentro de 48 y 72 horas posteriores a la penetración se da la maduración de los picnidios y la producción de numerosas esporas (Vidal, 1977 y Figueroa, 1985). Durante la infección, las esporas trasladadas por el viento germinan en los tejidos del hospedante y su tubo germinativo atraviesa por los estomas y/o heridas formando un apresorio; luego,



mediante la última estructura se forman hifas de colonización que continúan por el espacio intercelular de la epidermis, invaden el mesófilo inter e intracelular y desde ahí colonizan los tejidos esponjosos y de empalizada. Las células sufren plasmólisis, los cloroplastos se aglutinan y ocasionan la destrucción total del tejido afectado (Gil y Leguizamón, 2000). Este tejido contiene los picnidios del hongo, cuando la hoja es dañada, estas estructuras reproductoras aparecen por el has y el envés (Figuroa, 1985). El desarrollo y crecimiento de los picnidios ocurre como resultado de ciertos medios de cultivo que poseen carbohidratos favoreciendo inmediatamente el crecimiento de estos (Sutton, 1980).

La enfermedad común de zonas altas o con presencia de lluvia prolongada, poca luminosidad y mínima temperatura es una muerte regresiva. Es habitual en cultivos a una altitud superior a los 1600 msnm, aunque también puede estar desde los 600 msnm (Zambolin *et al.*, 1996) con regímenes de temperatura mínima baja, lluvia prolongada y baja luminosidad (Gil y Leguizamón, 2000). En México se encuentra encima de los 900 msnm en distintas zonas cafeteras (Regalado, 1982). En Brasil, la enfermedad se asocia a flujos de aire frío y cambios bruscos de temperatura (Salgado y Pfenning, 2000).

2.2.4. La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.)

La quinua es una planta que crece a gran altitud donde las condiciones ambientales son extremas y en suelos poco fértiles. Llamado también pseudo cereal porque no pertenece a las gramíneas donde están clasificadas los cereales tradicionales, pero resulta ser como un cereal por su alto contenido en almidón, por su utilización y aprovechamiento, adicionalmente ser la mayor fuente de proteínas; los pueblos indígenas y los investigadores lo llaman “el grano de oro de los andes” (Popenoe *et al.*, 1990).



2.2.4.1. Taxonomía de la quinua

Los nombres comunes que la quinua son muy diversos dependiendo del lugar en la que se encuentran, algunos de ellos son: supha, jopa, jupha, jiura, aara, ccallapi, y vocali en aymara; kinua, parca, quiuna en quechua; suba, pasca en chibcha, quingua en mapuche quinoa, quinua dulce, dacha, dawe en araucana; jupa, jara, jupalukhi, candonga, licsa, quiñoa, entre otros (Mujica y Jacobsen, 2006).

La siguiente taxonomía de *Chenopodium quinoa* fue reportada por (Mujica, 2000; León, 2003).

Dominio	: Eucarya
Reino	: Vegetal
División	: Fanerógamas
Clase	: Dicotiledoneae
Subclase	: Angiospermae
Orden	: Centrospermales
Familia	: Chenopodiaceae
Género	: <i>Chenopodium</i>
Sección	: Chenopodia
Subsección	: Cellulata
Especie	: <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.

2.2.4.2. Descripción botánica de la quinua

La quinua es una planta anual con un periodo vegetativo de 150 a 240 días, posee un fotoperiodo indistinto, de fácil adaptación a una variedad de condiciones ambientales; es necesario las precipitaciones pluviales de 200 a 800 mm anuales y tiene preferencia los suelos franco arenosos ricos en nitrógeno, adaptándose excelente en suelos con un pH de 6.5 a 8.5, generalmente la familia Amaranthaceae es adaptable a suelos alcalinos, tiene



raíz pivotante, tallo cilíndrico con mayor espesor en la base, coloración variable de rojo hasta verde y fruto aquenio seco e indehisciente (Mujica y Chura, 2012). *Chenopodium quinoa* es una planta herbácea erecta, de desarrollo anual que en el Altiplano sur alcanza hasta 1.80 m de altura, con ramificación desde la base. La diferente coloración del tallo y hojas se debe a las variedades (Cardozo *et al.*, 1997).

a. Raíz

La quinua tiene raíz superficial muy ramificada de fácil extirpación, puede desarrollar hasta una profundidad de 20 a 30 cm, ramificada de forma exuberante que le facilita una buena absorción de agua, debido a esto puede desarrollarse en hábitats relativamente secos (Mujica y Chura, 2012). Es claro precisar que la raíz tiene relación directa con la altura de la planta, es decir, a mayor altura (1.70 m) más profundo es la raíz (1.50 m) y plantas con altura de 0.90 m crecen raíces de 0.80 m (Tapia, 1997).

b. Tallo

El tallo principal es ramificado o no según el ecotipo, raza, densidad de siembra y de condiciones ambientales en que se cultiven, de sección circular en la zona próxima a la raíz, cambiándose en angular a la altura de las ramas y hojas; con mayor frecuencia el hábito ramificado en las variedades cultivadas en los valles interandinos del sur de Perú y Bolivia, mientras que el hábito ramificado simple se da en algunas variedades cultivadas en el Altiplano y en gran parte del centro y norte de Perú y Ecuador (Mujica y Chura, 2012).

El tallo sufre varios cambios a medida que la planta madura, comienza a tener una forma cilíndrica con interior blando, al inicio de sus fases fenológicas y al final terminan siendo esponjosa y de interior vacío. El tallo varía de acuerdo a los ecotipos y condiciones



ambientales. En otras palabras, las quinuas del valle cultivadas en Colombia, Ecuador, centro y norte del Perú, pueden alcanzar fácilmente los 3.5 m en algunas variedades, a diferencia de las quinuas cultivadas en el Altiplano Peruano Boliviano la mayoría no pasa de 2 m especialmente cuando las condiciones son poco favorables (Ponce, 1978).

c. Hoja

Las hojas están compuestas por pecíolo y lámina. Los pecíolos son largos y finos, acanalados en la parte superior y de longitud variable dentro de una sola planta. La lámina en la misma planta es polimorfa: la lámina de la hoja inferior es romboidal o triangular y de la hoja superior es lanceolada o triangular. El número de dientes de la hoja es una característica constante y difiere de 3 a 20 dientes según la variedad, donde las hojas dentadas se hallan en el centro-norte del Perú y Ecuador, y con la menor cantidad de dientes en el sur de Perú y Bolivia, hasta inclusive carecen de ellos (Gandarillas, 1979). Además poseen gránulos en su superficie que parecen estar cubiertas de arenilla. Estos gránulos poseen células ricas en oxalato de calcio, capaces de retener una película de agua, aumentando la humedad relativa de la atmósfera alrededor de la hoja y disminuyendo la transpiración (Mujica y Chura, 2012).

d. Inflorescencia

De inflorescencia racimosa y llamada panoja por la disposición de las flores y el eje principal más desarrollado. A veces se encuentra claramente diferenciada del resto de la planta, siendo terminal y sin ramificaciones, pero en otras no hay diferenciación clara porque el eje principal posee ramificaciones dándole una forma cónica singular. Puede ser compacta o laxa, dependiendo de la longitud de los pedicelos y de los ejes secundarios.



La forma de la inflorescencia se determina de acuerdo a la agrupación de las flores a lo largo del eje principal o de los ejes secundarios, como amarantiforme o glomerulada, siendo la última ancestral. Por ello, se ha contemplado que la inflorescencia amarantiforme deriva de una mutación. En cuanto a la longitud de las panojas es variable y se pueden agrupar de 15 cm en pequeñas, hasta 70 cm en medianas y grandes, siendo muy particular las que tienen la panoja diferenciada del tallo (Gandarillas, 1979).

e. Flores

La quinua tiene una flor incompleta sin pétalos. Las flores en el glomérulo difieren en hermafroditas o pistiladas, y el porcentaje de cada una varía según la variedad. Generalmente se da un porcentaje similar en ambos, pero algunos extremos predominantemente hermafroditas o pistiladas, o macho estériles. Las hermafroditas en el glomérulo al margen de ser apicales resaltan de las pistiladas que se hallan en la parte inferior. En general, la polinización cruzada se presenta en un 10% (Gandarillas, 1979).

f. Fruto

El fruto aquenio indehiscente contiene un grano que logra alcanzar hasta 2.66 mm de diámetro según la variedad, el perigonio cubre la semilla y se desprende fácilmente al frotarlo. El epispermo que rodea al grano está conformado por cuatro capas: la externa que determina el color de la semilla, de superficie rugosa, quebradiza, se desprende fácil con agua, y contiene a la saponina (Mujica y Chura, 2012).

2.2.4.3. Origen de la quinua

La quinua deriva de por lo menos un ancestro común con la especie *Chenopodium berlandieri* originaria de Norteamérica (Maughan *et al.*, 2004). Por otro lado, confirmaron la hipótesis respecto al centro de diversidad de la quinua que está en Perú y



Bolivia (Christensen *et al.*, 2007). La mayor superficie de cultivo se concentra en el Altiplano de Perú y Bolivia, así como alrededor del Lago Titicaca, albergando la mayor diversidad y variación genética, lo cual es favorable para que sea considerado como centro de origen de la quinua (Lescano, 1994).

La quinua es posible que sea una planta originaria de la región andina, porque la región andina es uno de los ocho centros de domesticación de plantas cultivadas del planeta. El origen de esta especie *C. quinoa* Willd, sigue siendo complejo debido a que están involucradas varias posibilidades. Hay pocas evidencias arqueológicas, lingüísticas y etnográficas de la historia de la quinua, no obstante no se conocen muchos ritos religiosos de la quinua. Las evidencias arqueológicas del norte de Chile indican que la quinua se utilizó hace 3 000 años a. C., aun así los hallazgos en la región de Ayacucho señalan como inicio de la domesticación hace 5 000 años a. C. (Mujica y Chura, 2012).

Según Tapia *et al.* (1980) señala 5 categorías básicas de la quinua, las cuales son:

- Quinuas de valle: crecen en los valles entre los 2 000 y 3 000 msnm, de gran tamaño y de largo periodo de crecimiento.
- Quinuas de altiplano: crecen alrededor del Lago Titicaca, resistentes a las heladas, de poca altura, y de corto periodo de crecimiento.
- Quinua de terrenos salinos: crecen en las llanuras del Altiplano de Bolivia, toleran terrenos salinos y alcalinos, poseen semillas amargas.
- Quinuas del nivel del mar: encontradas en el sur de Chile, usualmente sin ramas.
- Quinuas subtropicales: encontradas en los valles interandinos de Bolivia, de coloración verde oscuro tornándose a naranja en la madurez.

Actualmente la quinua es cultivada desde Venezuela, Colombia hasta Chile, además de la zona andina que corresponde a parte de Argentina. Es uno de los principales



cultivos y alimentos de las sociedades andinas (Tapia *et al.*, 1979). Alrededor de 7 000 años de cultivo (Jacobsen, 2003), las culturas de Tiahuanaco e incaica han sido responsables de su domesticación y conservación (Bonifacio, 2001).

2.2.4.4. Importancia de la quinua

La quinua es un grano alimenticio cultivado ampliamente en la región andina y se considera un cultivo importante para la población especialmente autóctona, ya que se considera un producto que no solo satisface las necesidades alimentarias básicas sino que también genera ingresos económicos para la población que la cultiva. La quinua solo fue utilizada por los pueblos indígenas hasta hace décadas, pero hoy en día se ha convertido en un cereal de gran demanda en muchos países, que valoran sus propiedades nutritivas; en los últimos años se incrementó el interés tanto de los agricultores, empresas e instituciones debido a la importancia de este cultivo (Mujica y Jacobsen, 2006).

Así también, la quinua es uno de los alimentos que los pobladores andinos consumen casi a diario en forma de quispíño, pesque, quinua graneada, sopa, entre otros; desconociendo a veces del elevado valor nutritivo del grano reconocido y comprobado por varios investigadores; este grano contiene de 10.85 a 19.25% de proteínas, con una concentración equilibrada de aminoácidos, lo que la convierte en un alimento importante en la dieta de los habitantes de esta región. El equilibrio de los aminoácidos esenciales de la proteína de la quinua es mejor que del trigo, la cebada y soya, en comparación favorable con la proteína de la leche (Lescano, 1994).

2.2.4.5. Enfermedades de la quinua

Normalmente los patógenos que ocasionan enfermedades en las plantas se tipifican mediante sus características en el proceso de infección: biotróficos, hemitróficos,

necrotróficos, parásitos debilitadores y marchitadores vasculares (Zanabria y Banegas, 1997). A continuación se menciona las enfermedades que afectan a la quinua (Tabla 1).

Tabla 1. Principales enfermedades en cultivo de quinua.

Agente causal (nombre científico)	Enfermedad (nombre común)
<i>Peronospora variabilis</i> Fr.	Mildiu
<i>Ascochita hyalospora</i>	Mancha foliar
<i>Cercospora</i> sp.	Cercosporiasis
<i>Phoma exigua</i> F.	Podredumbre marrón
<i>Pseudomona</i> sp.	Mancha bacteriana

Fuente: Zanabria y Banegas (1997).

Muchas enfermedades fungosas y bacterianas infectan el cultivo de quinua, como por ejemplo el “mildiu” *Peronospora farinosa* Fr. (Ortiz, 2001). Otras como “mildiu” *Peronospora effusa*, “punta negra” *Phoma exigua*, “mancha ojival del tallo” *Phoma cava* y “mancha bacteriana” *Pseudomona* sp. (Salas, 1976). En zonas húmedas es frecuente encontrar bajas densidades de plantas, con lesiones en el cuello de la raíz, síntomas de marchites o escaso desarrollo. Los hongos *Fusarium* y *Rhizoctonia* causan el mal de almácigos en varios cultivos. Estos mismos ocasionan la marchites de cultivos de quinua (Barboza *et al.*, 1999).

a. Mancha ojival del tallo (*Phoma* sp.)

La enfermedad también es conocida como mancha oval del tallo y es causada por el hongo *Phoma* sp. En el Perú se reportó en 1974, como una enfermedad terminal, se da cuando el tallo esta lignificado y depende de la severidad de la enfermedad para llegar a la panoja. Si las condiciones de humedad son prolongadas la mancha ojival afectará el tallo y hojas, provocando manchas foliares y defoliación severa. Con frecuencia está en zonas agroecológicas del Altiplano y valles interandinos (Tapia *et al.* 1979). También provocan lesiones concéntricas ovaladas de tejido seco en el tallo, donde se encuentran puntos en la parte central. Ocasiona la muerte del tejido del tallo, atacando con intensidad

al tallo principal y en menor medida a la rama. El tallo y rama tiene lesiones blanquecinas grises en el centro y con bordes de color marrón rodeados por un halo vítreo, las plantas atacadas mueren poco después (Alandia *et al.*, 1979).



Figura 1. Tallo de quinua con daño de mancha ojival.

Fuente: Saravia *et al.* (2014).

Sintomatología: de acuerdo a Tapia *et al.* (1979), Saravia *et al.* (2014), Gómez y Aguilar (2016) las plantas infectadas por mancha ojival del tallo presentan lesiones ojivales de color gris claro, con bordes marrones y picnidias del hongo en el interior, el tamaño de la lesión varía de 2-3 cm. En el ataque severo se observa muchas manchas en el tallo y estas pueden unirse abarcando toda la circunferencia del tallo.

Descripción del patógeno: de acuerdo a Saravia *et al.* (2014) *Phoma* sp. produce picnidias de consistencia pseudoesclerenquimatosa, con conidias pequeñas, su tamaño es de 3.33 por 1.52 μm en promedio. Interiormente las picnidias albergan a las picnidiosporas, caracterizándose por ser hialinas, con 2-3 septos. Su taxonomía específica aún no se ha definido por completo.

b. Podredumbre marrón del tallo (*Phoma exigua* var. *Foveata*)

Esta enfermedad es de vital importancia en Perú, se reportó por primera vez en la región de Puno en 1974 (Tapia *et al.*, 1979), de acuerdo a los síntomas presentes en el tallo se le llamó podredumbre marrón del tallo, *Phoma exigua* var. *Foveata* es el agente causal, otros la denominan como punta negra (León, 2003). Es un hongo del suelo que habita en áreas con elevada humedad relativa y baja temperatura, correspondientes a las zonas agroecológicas del Altiplano y valles interandinos (Saravia *et al.*, 2014). En el tallo causa lesiones de color marrón oscuro con bordes de aspecto cristalino, a menudo el tallo y la panoja se quiebran en las partes afectadas (Mujica y Chura, 2012).



Figura 2. Tallo de quinua con daño de podredumbre marrón del tallo.

Fuente: Saravia *et al.* (2014).

Sintomatología: de acuerdo a Tapia *et al.* (1979) y Saravia *et al.* (2014) las plantas infectadas por podredumbre marrón del tallo presentan manchas pequeñas, localizadas en el tercio superior del tallo, con lesiones de color marrón oscuro y bordes de aspecto vítreo. Interiormente las lesiones presentan picnidios y un aspecto lamido en el tallo.

Descripción del patógeno: según Saravia *et al.* (2014) *Phoma exigua* var. *Foveata* presenta picnidias de consistencia pseudoparenquimatosa de forma globosa y color marrón oscuro. Las conidias que se encuentran en el interior son hialinas, unicelulares

mayormente de forma elipsoidal. Este hongo también afecta el cultivo de papa, produciendo en ella la gangrena de la papa.

c. Marchitez a la emergencia (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Pythium* sp.)

La enfermedad de marchitez a la emergencia o pudrición del tallo de la planta comúnmente denominado mal de almacigueras, es una enfermedad importante en lugares donde se cultiva quinua, porque afecta en pre y post emergencia, aunque por desconocimiento de los productores esta es subestimada. A menudo hay parcelas de quinua dañadas o con una emergencia pobre o irregular, pero con una observación minuciosa se encuentra pudrición de las semillas a nivel del cuello, en consecuencia las plantas son de bajo rendimiento y poco desarrollo. A la marchitez o muerte de las plántulas se le atribuye principalmente a patógenos del suelo como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. y *Pythium* sp., que se constituyen en un importante factor restrictivo del cultivo con suelos pesados y húmedos, con elevada precipitación, en sistemas de producción incluido hortalizas o suelos con alta materia orgánica (Saravia *et al.*, 2014).



Figura 3. Plántulas de quinua con daño de marchitez a la emergencia.

Fuente: Saravia *et al.* (2014).

Sintomatología: de acuerdo a Saravia *et al.* (2014) las plantas infectadas por marchitez a la emergencia presentan estrangulamiento en el tallo a nivel de suelo, comúnmente se



da en la fase cotiledonal. Las plantas que sobreviven crecen débiles y con sistema radicular de desarrollo pobre.

Descripción del patógeno: según Saravia *et al.* (2014) la enfermedad de marchitez a la emergencia, es causada por el complejo de hongos patógenos como *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Pythium*, siendo el segundo un polífago que acumula propágulos infectivos en el suelo. Afecta específicamente al sistema radicular de la planta y en ausencia de hospedero se desarrolla normalmente por ser un saprofito facultativo. *Pythium* es similar a *Rhizoctonia*, sobrevive de una campaña a otra mediante oosporas. *Fusarium* es un hongo vascular que habita en el suelo, causa destrucción de los vasos conductores de nutrientes o agua de la planta; las clamidosporas son sus estructuras de supervivencia

d. Mildiu (*Peronospora variabilis*)

El mildiu se presenta en cualquier estado fenológico del cultivo atacando a las hojas, ramas, tallos e inflorescencias; además causa la defoliación y afecta el normal desarrollo y fructificación de la quinua. Los daños que pueden ocasionar son mayores en plantas jóvenes (Mujica y Chura, 2012). Es la enfermedad foliar más frecuente de la quinua, se disemina en el cultivo por medio de esporangios y se conserva de una campaña a otra por sus oosporas que invernan en el rastrojo que queda tras la cosecha (Delgado, 2007).



Figura 4. Hoja de quinua con micelio de mildiu en su envés.

Fuente: Saravia *et al.* (2014).

Sintomatología: de acuerdo a Tapia *et al.* (1979) y Saravia *et al.* (2014) las plantas infectadas por mildiu presentan lo siguiente:

- Manchas cloróticas pequeñas de forma irregular, con pigmentación amarilla, anaranjada, rosada, rojiza o parda, el color depende de la variedad de planta.
- Presenta esporulación en el envés de la hoja, a veces también se da en el haz de la hoja, y el micelio de color grisáceo.
- Defoliación y caída de hojas de la planta.

Descripción del patógeno: según Saravia *et al.* (2014) *Peronospora variabilis* es un patógeno biotrófico, de dos tipos de reproducción asexual y sexual; en la fase asexual tiene esporas de forma ovoide, con micelio dicotómico e hifas cenocíticas.

e. Mancha foliar (*Ascochyta hyalospora*)

El hongo *Ascochyta hyalospora* causada la mancha foliar, caracterizada en forma preliminar por Vilca (1972). Se desconoce con exactitud la distribución geográfica de esta enfermedad y según parece no representa mayor importancia económica (Saravia *et al.*, 2014). Producen manchas necróticas en las hojas, casi circulares con el centro de color

crema y bordes algo marrones, el tamaño aproximado es de 5-10 mm de diámetro; un ataque severo provoca defoliación en las plantas (Alandia *et al.*, 1979).



Figura 5. Hoja de quinua con daños de mancha foliar.

Fuente: Saravia *et al.* (2014).

Sintomatología: de acuerdo a Gómez y Aguilar (2016) las plantas infectadas por la mancha foliar presentan manchas necróticas de forma circular o irregular, con borde de color algo marrón y centro crema, presenta picnidias en su interior, cuando es severo el ataque produce intensa defoliación de hojas.

Descripción del patógeno: según Saravia *et al.* (2014) *A. hyalospora* crece en la hoja mediante picnidias de color marrón oscuro, con un diámetro que varía de 180 a 270 μm . En el interior de las picnidias se hallan las picnidiosporas que suelen ser cilíndricas u ovoides, comúnmente biocelulares, rara vez presentan hasta 4 septos. El hongo crece con colonias de color verde oscuro y bordes blancos irregulares en el medio de cultivo.

f. Ojo de gallo (*Passalora dubia*)

Esta enfermedad se le atribuía al patógeno *Cercospora* sp., pero actualmente fue reclasificado y denominado como *Passalora dubia*, se ha reportado su presencia en cultivos de quinua en Ecuador, donde es conocido como mancha circular de ojo de gallo,

debido a la forma de la mancha. En la zona agroecológica del Altiplano se presenta algunas variedades, asumiendo que la diferencia varietal se debe a la resistencia. La enfermedad es rara en los salares de Bolivia. Producen pequeñas lesiones de color marrón claro, que aumenta de tamaño cuando crece la infección, pudiendo alcanzar casi 1 cm, en las hojas inferiores (Saravia *et al.*, 2014).



Figura 6. Hoja de quinua con daño de ojo de gallo.

Fuente: Saravia *et al.* (2014).

Sintomatología: de acuerdo a Saravia *et al.* (2014) las plantas infectadas por el ojo de gallo, presentan lesiones de pequeñas de color marrón claro, que aumenta de tamaño cuando crece la infección, hasta 1 cm máximo; la enfermedad se evidencia en temporadas secas o de larga sequía. La severidad de daño aumenta cuando está próxima a la madurez.

Descripción del patógeno: según Saravia *et al.* (2014) *P. dubia* es un patógeno biotrófico, posee conidias hialinas de tamaño que varía de 25 a 98 μm de largo y de 5 a 10 μm de ancho, con alrededor de 6 septos, y dos tipos de reproducción asexual y sexual. Presenta esporas de forma ovoide en la fase asexual, con micelio dicotómico e hifas cenocíticas.

g. Moho verde (*Cladosporium* sp.)

Cuando la temporada es muy lluviosa, posterior a la aparición de síntomas del mildiu de la quinua, puede aprovechar la situación un hongo que promueve la caída de las hojas, es reconocida debido a la esporulación verdosa que presenta, denominado moho verde; el agente causal es *Cladosporium* sp. Es predominante en las zonas agroecológicas del Altiplano y valles interandinos, probablemente debido al cambio climático el problema se acentuó o se dé ocasionalmente en zonas secas por la concentración de intensas lluvias. No hay reportes de pérdidas económicas y los productores no toman en cuenta ningún manejo (Saravia *et al.*, 2014).



Figura 7. Hoja de quinua con daño de moho verde.

Fuente: Saravia *et al.* (2014).

Sintomatología: de acuerdo a Cruces y Callohuari (2016) la planta infectada por el moho verde, inicialmente es afectada en las hojas basales con pequeñas manchas de tono verde, a modo de esporulación sobre el haz de la hoja; se desarrolla sobre partes de la planta que tienen daños ocasionados por *Peronospora variabilis* o por insectos.

Descripción del patógeno: según Saravia *et al.* (2014) *Cladosporium* es cosmopolita, algunas especies son saprófitas, presenta un micelio filamentoso con conidióforos, con cadenas en ramificación de conidios cilíndricos. El hongo produce bastante cantidad de



conidias que permanecen en el rastrojo de largos periodos. El micelio es de color pardo oliva y la colonia en un medio de cultivo tiene una coloración verde oliva a negro.



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

La investigación fue realizada en el laboratorio de Sanidad Vegetal, de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional del Altiplano. El ámbito de estudio comprendió tres zonas, donde se realizó el muestreo correspondiente. Las ubicaciones fueron:

- **Centro de Investigación y Producción Camacani:** se ubica en el distrito de Platería, provincia y región Puno, entre las coordenadas 15°56'55" Latitud sur y 69°49'59" Longitud Oeste, a una altitud de 3 826 msnm, por ser un CIP dedicado al estudio y mejoramiento genético de la quinua y cultivos andinos.
- **Centro de Investigación y Producción Illpa:** se ubica en el distrito de Paucarcolla, provincia y región de Puno, entre las coordenadas 15°42'37" Latitud sur y 70°04'56" Longitud Oeste, a una altitud de 3 822 msnm, por ser un CIP dedicado a la investigación en cultivos andinos.
- **Cultivo en Ilave:** se ubica en el distrito de Ilave, provincia El Collao y región Puno, entre las coordenadas 16°13'56.7" Latitud sur y 69°40'27.4" Longitud Oeste, a una altitud de 3 862 msnm, por ser uno de los lugares de la región donde se concentra la mayor producción de quinua.



Figura 8. Zonas de muestreo de los cultivos de quinua: A. Centro de Investigación y Producción Illpa, B. Centro de Investigación y Producción Camacani, C. cultivo en distrito de Ilave.

Fuente: Google Maps.

3.2. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación fue analítico porque se midió la capacidad antagónica de *Trichoderma* sobre los hongos fitopatógenos; descriptivo porque se ha detallado las características culturales de los micelios y su crecimiento individual y en enfrentamiento dual, explicativo porque se establecieron las diferencias entre los tratamientos; correlacional porque se estableció la relación entre tiempo de incubación y crecimiento micelial. Fue de nivel exploratorio porque se buscó la presencia de hongos fitopatógenos en cultivos de quinua; y experimental porque se manipularon los hongos fitopatógenos frente al controlador biológico en condiciones de laboratorio para encontrar el efecto antagónico.

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

Población: la población en la investigación estuvo comprendida por los hongos fitopatógenos de *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Phoma* presentes en campos de cultivo de quinua en las zonas de producción en extensiones de 1 ha para cada zona.



Muestra: Hongos fitopatógenos presentes en plantas recolectadas con signos de infección fúngica a nivel hojas, tallo y raíces en los campos de cultivo de las zonas productoras de quinua CIP-Camacani, CIP-Illpa y distrito de Ilave.

3.4. METODOLOGÍA

3.4.1. Determinación de la presencia de hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., en tres zonas de cultivo de quinua del Centro de Investigación y Producción Camacani (CIP-Camacani), Centro de Investigación y Producción Illpa (CIP-Illpa) y distrito de Ilave.

3.4.1.1. Muestreo de plantas en campo

Se procedió según la metodología propuesta por Kikot (2012). Se muestrearon hojas, tallos y raíces de plantas enfermas, seleccionando aquellas que presentaron signos de infección fúngica, como cambios de coloración de verde oscuro a verde pálido en las hojas, clorosis en la parte inferior de la planta, marchitamiento, y flacidez de arriba hacia abajo. Las plantas fueron transportadas en un contenedor (cooler) con un poco de sustrato de tierra para conservar en buen estado las raíces (Figura 15).

3.4.1.2. Aislamiento de hongos fitopatógenos

De las muestras de plántulas de quinua recolectadas, se separaron partes de raíces, tallos y hojas, posteriormente se extendieron en una bandeja, se procedieron a lavar y enjuagar con agua estéril para liberar de restos de tierra; finalmente se pusieron al aire libre para que sequen por un lapso de 30 minutos.

Antes de realizar el procedimiento de aislamiento se realizó la limpieza de la cámara de flujo (CF), para evitar el crecimiento de microorganismos contaminantes,



siguiendo el protocolo dado por la OMS (2005), la limpieza de las superficies internas de CF se hizo antes y después de cada uso, se limpió con un desinfectante (Hipoclorito de sodio al 2.5%), luego con agua estéril, seguido de alcohol al 70%. Luego se dejó purgando el aire durante 5 minutos, se cerró completamente la CF y se puso radiación UV durante 15 minutos, y se volvió a dejar durante 15 minutos purgando el aire (Figura 20).

Para su aislamiento, se desinfectaron las muestras de raíz, tallo y hojas enfermas, se hicieron 2 cortes del borde de la lesión y se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 60 segundos, en alcohol al 70° por 10 segundos. Luego se enjuagaron en agua destilada estéril 3 veces por 3 minutos, para eliminar el exceso de desinfectantes, se sembraron los cortes del tejido lavado en Placas Petri que contenían agar papa dextrosa (PDA) cada una con 5 repeticiones. Luego se incubaron a 28°C, a una humedad relativa de 60%, por 9 días. Posteriormente se identificaron y repicaron los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., a fin de obtener un cultivo puro, la identificación se realizó por medio de comparaciones de estructuras de los micelios mediante claves dicotómicas adaptados por Rodríguez (2002). Los cultivos puros de estos hongos se conservaron en placas Petri con PDA (Figura 21).

3.4.1.3. Caracterización morfológica

La caracterización morfológica de los hongos aislados consistió en la descripción de las colonias. Para la descripción macroscópica se consideró el aspecto, consistencia, superficie, y coloración del anverso y reverso de la colonia. Y para la descripción microscópica se realizó la técnica de cinta, montajes temporales en portaobjetos con una gota de azul de lactofenol y un poco de micelio, se observó en microscopio óptico con un aumento de 40x. Para la identificación de los hongos se utilizaron las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1972) para género (Figura 25-33).



3.4.1.4. Análisis de datos

Fue analizado de forma descriptiva; porque se determinó la presencia de hongos fitopatógenos *Rhizoctonia sp.*, *Fusarium sp.* y *Phoma sp.* en las tres zonas cultivo de quinua del Centro de Investigación y Producción Camacani (CIP-Camacani), Centro de Investigación y Producción Illpa (CIP-Illpa) y distrito de Ilave.

3.4.2. Determinación de la capacidad antagónica *in vitro* de *Trichoderma sp.* como controlador biológico, mediante el enfrentamiento dual de los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia sp.*, *Fusarium sp.* y *Phoma sp.*

3.4.2.1 Obtención del biocontrolador

La cepa nativa de *Trichoderma sp.* (TTQ-1) que se utilizó para el enfrentamiento dual fue proporcionada por el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno. La cepa fue aislada de suelo rizosférico en cultivos de quinua. A partir de cultivos jóvenes *in vitro*, se realizaron repiques de la cepa en medio PDA (Agar Papa Dextrosa) y fue incubado a 28°C, luz constante y a un 60% de humedad relativa, durante 6 días, con la finalidad de inducir la producción de estructuras de reproducción, de esa manera se obtuvo una cepa pura para el momento del enfrentamiento dual con los hongos fitopatógenos aislados de quinua.

3.4.2.2. Método de enfrentamiento dual

Para determinar el control biológico de *Trichoderma sp.* sobre los fitopatógenos de la quinua, *Rhizoctonia sp.*, *Fusarium sp.* y *Phoma sp.*, se realizó mediante la técnica de enfrentamiento dual. Para lo cual, cada una de los hongos fitopatógenos se enfrentaron a controlador biológico, por cinco repeticiones, en medio agar papa dextrosa (PDA) más cloranfenicol. Con la ayuda de un sacabocado y un estilete se cortaron áreas de micelio



(5 mm de diámetro aproximadamente) en pleno crecimiento activo, tanto del biocontrolador (*Trichoderma* sp.) como los fitopatógenos (*Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp.). Posteriormente se colocaron los discos de micelio, en los extremos de las placas Petri. Además, se sembraron placas testigo de los patógenos y del biocontrolador, para observar su crecimiento radial independiente de los tratamientos.

Las placas se colocaron dentro de la incubadora a una temperatura constante de 28°C, durante 11 días y se evaluaron periódicamente hasta que llene la placa Petri. Finalmente se evaluó el porcentaje de inhibición, usando la ecuación formulada por Ezziyyani *et al.* (2004).

3.4.2.3. Evaluación de crecimiento individual del biocontrolador y fitopatógenos

Se evaluó el radio de crecimiento del biocontrolador *Trichoderma* sp. y de los fitopatógenos *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. y *Phoma* sp., de forma individual cada 12 horas dentro de las placas de Petri, como lo sugiere Polanco (2016).

3.4.2.4. Evaluación de la capacidad biocontroladora

Se realizó un seguimiento de los enfrentamientos duales hasta que el micelio del biocontrolador *Trichoderma* sp. invada y colonice la superficie de los hongos fitopatógenos, como lo menciona Eraso *et al.* (2014), y se evaluó mediante la escala de evaluación de antagonismo *in vitro* creada por Elías y Arcos en 1984, citada por Ezziyyani *et al.* (2004), realizándose observaciones macroscópicas y mediciones de los radios de crecimiento.

Tabla 2. Escala de evaluación del antagonismo *in vitro*, de acuerdo a la medida de invasión de la superficie, colonización y esporulación del biocontrolador sobre los hongos fitopatógenos.

Grado	Capacidad Antagónica
0	Ninguna invasión de la superficie de la colonia del hongo patógeno
1	Invasión de ¼ de la superficie de la colonia del hongo patógeno
2	Invasión de ½ de la superficie de la colonia del hongo patógeno
3	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno
4	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno, esporulación sobre ella

Fuente: Elías y Arcos en 1984, citada en Ezziyyani *et al.* (2004).

3.4.2.5. Evaluación del porcentaje inhibición del crecimiento radial (PICR)

Se realizó con la fórmula utilizada por Ezziyyani *et al.* (2004): $PICR = \frac{(R1-R2)}{R1} \times 100$

R1: Radio mayor (crecimiento del patógeno testigo)

R2: Radio menor (crecimiento del patógeno en tratamiento)

3.4.2.6. Análisis de datos

Se evaluó el diámetro de crecimiento del antagonista (DCA) y el diámetro de crecimiento del patógeno (DCP) de las tres zonas de cultivo dentro de las placas Petri en forma individual (cultivo puro sin enfrentamiento), considerándose estos mismos datos posteriormente como crecimiento del patógeno testigo.

Los datos obtenidos procedentes de las mediciones del DCA y DCP fueron analizados mediante análisis de correlación hasta las 120 horas, además de la prueba de análisis de varianza (ANOVA) con un diseño completamente al azar (DCR), siendo los tratamientos en estudio los hongos fitopatógenos bajo enfrentamiento dual. Para determinar diferencias estadísticas se realizó la prueba de medias de Tukey ($P \leq 0.05$), con un nivel de confianza del 95%.



En el caso de los datos obtenidos en porcentajes, fueron transformados mediante la fórmula de transformación angular: $Y = \sqrt{x + 1}$, luego fueron analizados mediante la prueba de análisis de varianza (ANOVA) con un diseño completamente al azar (DCR), siendo los tratamientos en estudio los enfrentamientos duales bajo 5 repeticiones, para determinar diferencias estadísticas se realizó la prueba de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). Los valores se procesaron en el paquete estadístico InfoStat - versión libre 2020, para Windows (Balzarini *et al.*, 2008).



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Presencia de hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., en tres zonas de cultivo de quinua del Centro de Investigación y Producción Camacani (CIP-Camacani), Centro de Investigación y Producción Illpa (CIP-Illpa) y distrito de Ilave.

4.1.1. Aislamiento e identificación de los hongos fitopatógenos

De las tres zonas de cultivo de quinua, tanto del Centro de Investigación y Producción Camacani (CIP-Camacani), del Centro de Investigación y Producción Illpa (CIP-Illpa) y del cultivo (distrito de Ilave); se obtuvieron 8 aislamientos de hongos fitopatógenos, donde 2 fueron del CIP-Camacani, 4 del CIP-Illpa, y 2 del distrito de Ilave. De estos aislamientos 3 correspondieron a *Rhizoctonia* sp., 3 a *Fusarium* sp. y 2 a *Phoma* sp. De los aislamientos encontrados, *Rhizoctonia* sp., fue aislado en cultivos del CIP-Camacani, CIP-Illpa y distrito de Ilave, en tanto que *Fusarium* sp. se aisló en cultivos del CIP-Camacani y CIP-Illpa. Finalmente, *Phoma* sp solo fue aislado en cultivos de quinua en el distrito de Ilave e CIP-Illpa(Tabla 3).



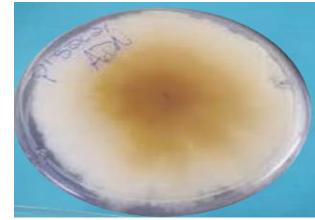
Tabla 3. Aislamientos de los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp. en medio PDA, de plantas de quinua según procedencia o zona de muestreo.

Muestra	Procedencia	Órgano	Aislamientos	Hongo
1	CIP-Camacani	Raíz	1	<i>Rhizoctonia</i> sp.
2			0	Sin Crecimiento
3		Tallo	0	Sin Crecimiento
4			0	Sin Crecimiento
5			0	Sin Crecimiento
6			1	<i>Fusarium</i> sp.
7	CIP-Illpa	Raíz	0	Sin Crecimiento
8			1	<i>Rhizoctonia</i> sp.
9		Tallo	0	Sin Crecimiento
10			1	<i>Phoma</i> sp.
11			1	<i>Fusarium</i> sp.
12			1	<i>Fusarium</i> sp.
13	Ilave	Raíz	0	Sin Crecimiento
14			0	Sin Crecimiento
15		Tallo	1	<i>Phoma</i> sp.
16			0	Sin Crecimiento
17			1	<i>Rhizoctonia</i> sp.
18			0	Sin Crecimiento

Características macroscópicas

Rhizoctonia sp.

Forma: circular
Color: beige - amarillento
Textura: aterciopelada
Superficie: plana
Consistencia: algodonosa



Fusarium sp.

Forma: circular
Color: blanco en la parte inferior
de color purpura pálido
Textura: aterciopelada
Superficie: plana
Consistencia: algodonoso



Phoma sp.

Forma: irregular
Color: marrón oscuro- negro
Aspecto: aterciopelada
Superficie: plana
Consistencia: algodonosa



Características microscópicas

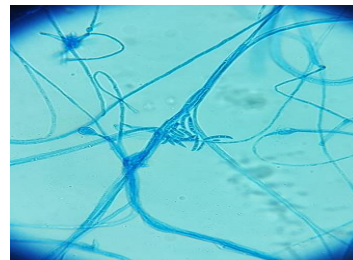
Rhizoctonia sp.

Tipo de hifas: septadas -
binucleadas
Pigmento: hialinas - dematiaceos



Fusarium sp.

Tipo de hifas: septadas
Pigmento: hialino
Fiálides laterales, microconidias
de forma oval a elipsoidal, en
masas y agrupaciones,
macroconidias con 3 a 5 septos
transversales, clamidospora
globosa y solitaria.



Phoma sp.

Tipo de hifas: septadas
Pigmento: dematiaceos
Ausencia de esporangios y
esporangioforos, conidios en
peritecio, presencia de picnidios

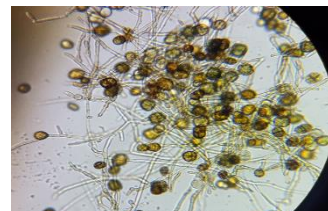


Figura 9. Características macroscópicas y microscópicas de *Rhizoctonia sp.*, *Fusarium sp.* y *Phoma sp.*



Mediante el aislamiento e identificación de hongos fitopatógenos se demostró la presencia de *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., en nuestras zonas de cultivo de quinua que están a más de 3800 msnm, estos fitopatógenos entre otros, fueron también aislados en otras especies vegetales como lo reporta, Tenorio (2011), quien logró aislar e identificar a hongos, en quinua (*Chenopodium quinoa*) identificando al agente *Peronospora farinosa*; en la tuna (*Opuntia picus-indica*) identificó a *Fusarium* spp., y en castaña (*Castanea sativa*) identificó a *Aspergillus flavus*.

La presencia de hongos *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Phoma*, es habitual en cultivos de quinua aun cuando esta planta crece a gran altitud donde las condiciones ambientales son extremas y en suelos poco fértiles (Popenoe *et al.*, 1990). La presencia de enfermedades fúngicas, bacterianas, parásitas en plantas de quinua en zonas altas, superiores a los 1600 msnm se produce por la presencia de lluvias prolongadas, inclusive por la poca luminosidad y mínima temperatura que produce la muerte regresiva de la quinua (Zambolin *et al.*, 1996). Los hongos *Fusarium* sp y *Rhizoctonia* sp pueden además causar el mal de almácigos en varios cultivos, produciendo la marchites de cultivos de quinua (Barboza *et al.*, 1999).

Se puede ver que estos hongos fitopatógenos no solo actúan como patógenos en la quinua (*Chenopodium quinoa*), sino que afectan también a otras plantas que crecen en la región andina que están expuestas a diversos factores climáticos como la sequía, frío, helada, viento, granizo, además con alto contenido de sal en el suelo por lo cual se considera cultivo de alto nivel de resistencia a diversos factores adversos.

En nuestro estudio, los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., fueron aislados de las muestras de raíz, tallo y hojas de los cultivos de quinua con presencia de infección fúngica; por otra parte, Sucaticona (2018), aisló al hongo



fitopatógeno *Hemileia vastatrix* en hojas de café y suelos circundantes a la planta en los sectores de Miraflores Lanza y Uycusmayo, San Juan del Oro, provincia de Sandía, Puno. En cambio, Llicahua (2018), aisló siete cepas de *Trichoderma* de suelo y siete cepas de *Fusarium* de plantas del cultivo de cebolla de los distritos de Tiabaya y Santa Rita de Siguan, Arequipa. Los patógenos que causan enfermedades en plantas se tipifican de acuerdo a sus características del proceso de infección; necrotróficos, biotróficos y hemitróficos, parásitos debilitadores y marchitadores vasculares (Zanabria y Banegas, 1997). Algunas de las enfermedades principales en la quinua son el mildiu (*Peronospora effusa*), punta negra (*Phoma exigua*), mancha ojival del tallo (*Phoma cava*) y mancha bacteriana (*Pseudomonas* sp.) (Salas, 1976). Por lo mencionado anteriormente, se puede ver que hay diferentes enfermedades y fitopatógenos que afectan a la quinua y otros cultivos, esto probablemente se deba a las condiciones climáticas y demás factores ambientales importantes como la precipitación pluvial de 200-800 mm anuales, suelos francos arenosos ricos en nitrógeno y pH entre los 6.5 a 8.5, en las que se desarrollan óptimamente estos hongos fitopatógenos

En otra investigación de León *et al.* (2012) en muestras de suelo en distintos agroecosistemas como caña y arboleda del municipio de Colón, provincia Matanzas, Cuba; donde no se había aplicado *Trichoderma* spp., aislaron cepas autóctonas del territorio con capacidad antagónica, el número de aislamientos en el agroecosistema en arboleda fue 29 y en caña 27. Similarmente, Samaniego *et al.* (2018) aislaron e identificaron cepas autóctonas *Trichoderma* sp., *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* a partir de un suelo ferralítico rojo, procedente de un agroecosistema de la provincia Matanzas, Cuba. Es frecuente encontrar en el suelo a *Trichoderma*, con elevada capacidad antagónica y parásita contra otros microorganismos fitopatógenos (Castaño, 2005).



Los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., en estudio si se encuentran presentes en nuestras zonas de cultivo de quinua y sin lugar a dudas se constituyen en causantes de pérdidas en la producción de este cereal andino con elevado valor nutritivo y valioso económicamente. Habiéndose logrado el aislamiento de estos hongos fitopatógenos, la búsqueda de estrategias de control sustentables ambientalmente, está justificado frente a ellos, mejor aún si se pretende utilizar controladores biológicos como *Trichoderma* sp.

4.2. Capacidad antagónica *in vitro* de *Trichoderma* sp. como controlador biológico, mediante el enfrentamiento dual de los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp.

4.2.1. Crecimiento micelial de *Trichoderma* sp.

El tiempo de crecimiento del hongo biocontrolador *Trichoderma* sp., hasta el llenado total en la placa Petri fue de 5 días, su crecimiento empezó con la aparición de micelio algodonoso de color blanquecino en forma circular, la parte central empezó a tornarse de un color verde claro, con pústulas en forma de cojín, solitarias y agregadas dispuestas en anillos concéntricos, al centro un verde pálido, las colonias fueron algodonosas con distribución en la periferia; en el envés de la placa Petri se observó que el medio es de color verde amarillento, además presentó una tasa de crecimiento lineal (Figura 10).

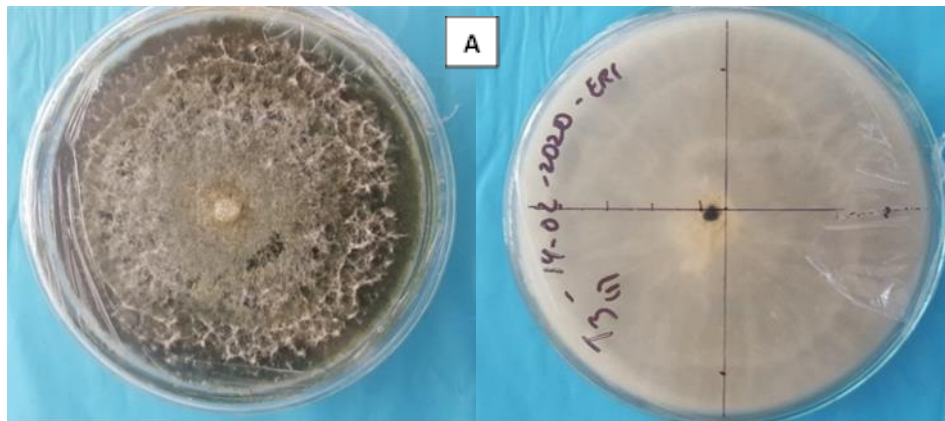


Figura 10. Observación macroscópica del crecimiento del micelio del hongo biocontrolador *Trichoderma* sp. (A).

4.2.2. Diámetro de crecimiento del antagonista (DCA) y diámetro de crecimiento del patógeno (DCP)

En relación al diámetro de crecimiento en cultivo puro sin enfrentamiento, *Trichoderma* sp. presentó un crecimiento micelial inicial de 14.00 mm a las 12 horas y final de 90.00 mm a las 120 horas, en tanto que los diámetros de crecimiento del patógeno *Rhizoctonia* sp. fue de 6.00 mm a las 12 horas y 50.00 mm a las 120 horas; en *Fusarium* sp. fue de 6.00 mm a las 12 horas y 62.00 mm a las 120 horas; y para *Phoma* sp. fue de 4.00 mm a las 12 horas y 42.00 mm a las 120 horas, siendo éste el hongo fitopatógeno de menor crecimiento respecto a las anteriores (Tabla 4).

Tabla 4. Medias del diámetro de crecimiento del antagonista (DCA) y diámetro de crecimiento del patógeno (DCP) *in vitro* en agar papa dextrosa, en relación al tiempo de crecimiento (horas).

HONGO	Medias de diámetro (mm) de crecimiento micelial por horas									
	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120
<i>Trichoderma</i>	14.00	28.00	36.00	46.00	58.00	66.00	78.00	88.00	90.00	90.00
<i>Rhizoctonia</i>	6.00	8.00	14.00	20.00	26.00	34.00	38.00	42.00	46.00	50.00
<i>Fusarium</i>	6.00	12.00	20.00	26.00	30.00	40.00	46.00	50.00	56.00	62.00
<i>Phoma</i>	4.00	8.00	12.00	16.00	20.00	24.00	28.00	32.00	36.00	42.00

El crecimiento micelial de las especies, del hongo biocontrolador *Trichoderma* sp. y los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp. de las tres zonas de muestreo, presentaron poca dispersión de datos respecto a la media concordante, dando así una descripción pareja en el desarrollo micelial en las especies estudiadas. El hongo *Trichoderma* sp., presentó el mejor crecimiento en donde a las 120 horas o 5 días de experimento alcanzó un diámetro de crecimiento de 90.00 mm con una correlación de $r=0.97$, y los hongos fitopatógenos, en el caso de *Fusarium* sp. presentó un diámetro de crecimiento de 62.00 mm a las 120 horas, con una correlación de $r=1.00$; por su parte *Rhizoctonia* sp. tuvo un crecimiento en 120 horas, alcanzando un diámetro de 50.00 mm con una correlación de $r=0.99$, y *Phoma* sp. presentó el menor crecimiento en donde a las 120 horas de incubación alcanzó un diámetro de 42.00 mm con una correlación de $r=1.00$ (Figura 11).

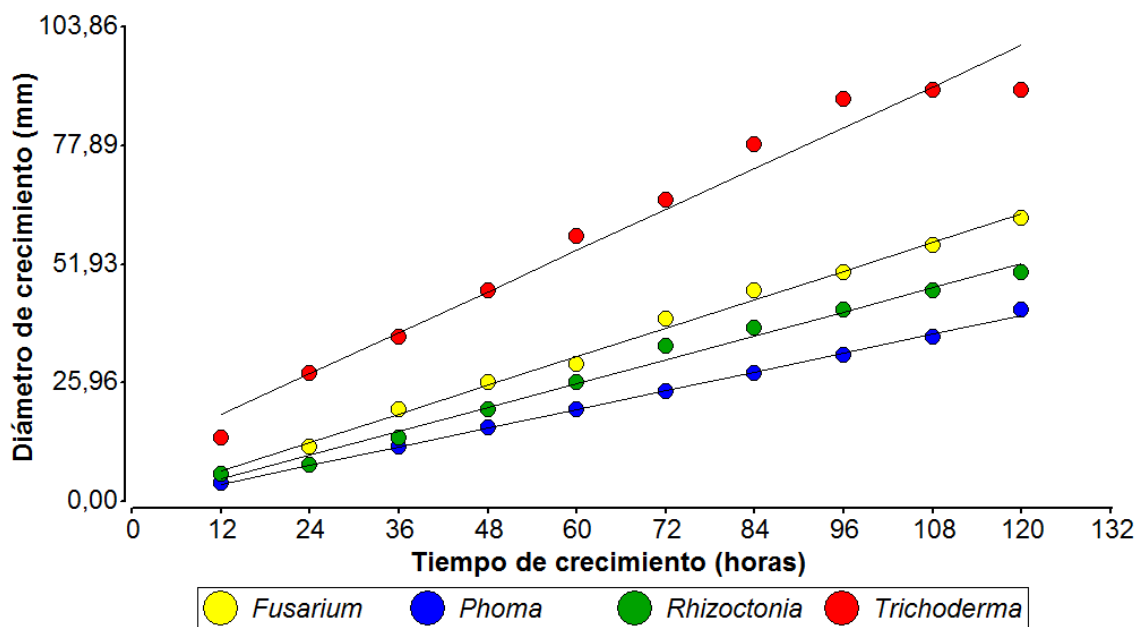


Figura 11. Diámetro de crecimiento micelial (mm) *in vitro* del hongo biocontrolador *Trichoderma* sp. y los fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp. en PDA.

Conforme al análisis de varianza realizado (ANOVA), respecto a los diámetros de crecimiento micelial de los hongos en cultivo puro sin enfrentamiento a las 120 horas,

todas las especies, tanto el biocontrolador *Trichoderma* sp. y los fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., presentaron diferencia estadística significativa entre sí ($p < 0.0001$) (Figura 12).

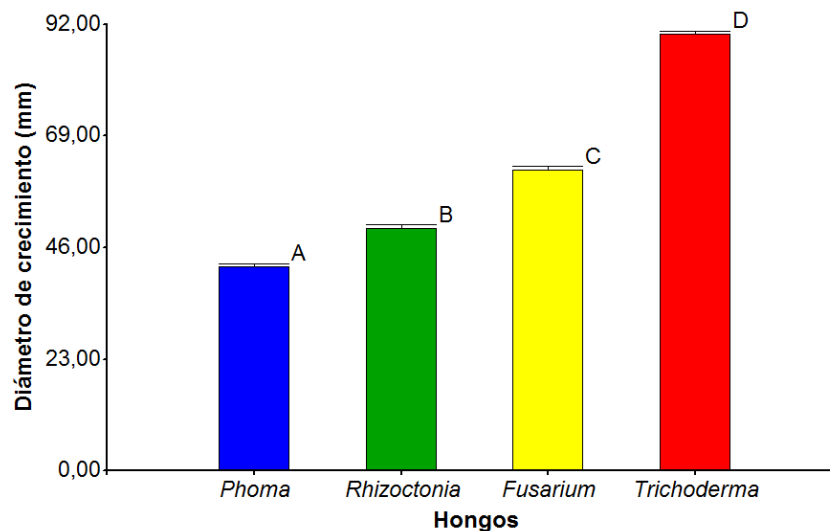


Figura 12. Comparación del diámetro de crecimiento (mm) *in vitro* del micelio a las 120 horas, del hongo biocontrolador *Trichoderma* sp. y los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp.

Según los resultados obtenidos, de acuerdo al diámetro de crecimiento *in vitro*, cada uno de los hongos presentaron un buen crecimiento hasta las 120 horas, a la temperatura de 28°C que les permitió un desarrollo óptimo; sin embargo, el hongo *Trichoderma* sp. presentó el mejor crecimiento desde el inicio de la incubación con respecto a los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp, *Fusarium* sp y *Phoma* sp; con 28 mm de diámetro a las 24 horas y completando la placa Petri con un crecimiento de 90 mm a las 120 horas. Similarmente, Astorga *et al.* (2014), reportaron para el hongo *Trichoderma* sp. a las 72 horas y 28°C, un crecimiento activo, que al transcurso de una semana terminó por cubrir completamente la placa Petri. Por su parte, Chávez (2006), reportó que las colonias del hongo *Trichoderma* sp. presentaron un crecimiento rápido, en el lapso de 5 a 6 días, a la temperatura de 25°C. Las especies de *Trichoderma* son de crecimiento rápido y en pocas horas pueden cubrir la superficie de la caja de Petri (Hoyos y Duque, 2008).



Por su lado, Michel (2001) reportó que *Trichoderma harzianum* y *T. koningii* presentaron mayores tasas de crecimiento con 34.83 y 43,67 mm/día respectivamente con esporulaciones abundantes, la especie de *Trichoderma* que utilizó como controlador biológico tuvo un crecimiento de 28 mm/día (24 horas). Los factores de crecimiento esenciales para las diferentes especies del género *Trichoderma* se encuentran la temperatura de 10°C a 40°C, pH de 2.0 a 9.0, humedad relativa de 70% y 80%, iluminación y los diferentes sustratos (Martínez *et al.*, 2015). Se ha demostrado que el crecimiento saprofítico en el suelo de *Trichoderma* se presenta a una temperatura que oscila entre los 20°C y 30°C, con una óptima de 25°C (Vargas, 2014).

Por otro lado Rosello *et al.* (2004), en un estudio de crecimiento individual de *Fusarium* sp., se evidenció que a las 120 horas obtuvo un diámetro de crecimiento micelial de 8 mm en PDA a una temperatura 25°C. Similarmente Sempere *et al.* (2004) aislaron *Fusarium culmorum* a partir de muestras de arroz, en cual a las 96 horas presentó un diámetro de crecimiento de 75 mm a 90 mm en el medio PDA a 25°C y describieron las colonias como micelio aéreo algodonoso, al principio su color va de blanco a amarillo o rosa, volviéndose ocre o marrón rojizo y fieltroso cuando avanza su maduración. Por su parte, Veneros *et al.* (2017) evaluaron el diámetro de crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* donde presentó 40 mm a las 120 horas a una temperatura de 30°C en el medio PDA. Así también, Gutierrez, *et al.* (2006) de plántulas sintomáticas de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), aisló *Rhizoctonia solani* con un promedio de 56 mm y otro aislamiento se comportó de manera intermedia con un promedio de 71.6 mm a las 48 horas de incubación. Por su lado, Vargas (2014), *Phoma terrestris* presentó un diámetro de crecimiento de 84 mm a las 264 horas a 25°C a humedad relativa 60%. Respecto a lo anterior, se puede afirmar que la temperatura, pH, humedad, son factores muy importantes

para el crecimiento de *Trichoderma*, debido a esto es que también influye en el tiempo final de su crecimiento.

4.2.3. Crecimiento radial micelial del enfrentamiento dual

La determinación de la capacidad antagónica *in vitro* de *Trichoderma* sp. como controlador biológico, se realizó mediante el enfrentamiento dual con los tres hongos fitopatógenos. De acuerdo a los valores obtenidos, el crecimiento radial micelial a las 120 horas de evaluación; en el primer enfrentamiento de *Trichoderma* sp. frente a *Rhizoctonia* sp. se presentó un crecimiento radial de 29.80 mm y 14.60 mm respectivamente en cada hongo. En el segundo enfrentamiento de *Trichoderma* sp. frente a *Fusarium* sp. se obtuvo un crecimiento radial de 30.60 mm y 13.00 mm respectivamente. Por último, en el enfrentamiento de *Trichoderma* sp. frente a *Phoma* sp. se obtuvo un crecimiento radial de 31.20 mm y 11.00 mm respectivamente. Considerando esta evaluación los hongos fitopatógenos tuvieron menor desarrollo que en los crecimientos individuales (Tabla 4 y 5).

Tabla 5. Crecimiento radial micelial del enfrentamiento dual de *Trichoderma* frente a los hongos fitopatógenos a las 120 horas de evaluación.

Enfrentamiento dual	Medias crecimiento radial (mm) a las 120 horas	
	Controlador biológico	Hongo fitopatógeno
<i>Trichoderma</i> vs <i>Rhizoctonia</i>	29.80	14.60
<i>Trichoderma</i> vs <i>Fusarium</i>	30.60	13.00
<i>Trichoderma</i> vs <i>Phoma</i>	31.20	11.00

Según el análisis de varianza (ANOVA) realizado, respecto al desarrollo final de crecimiento radial micelial a las 120 horas de evaluación en los enfrentamientos duales; los enfrentamientos *Trichoderma* sp. frente a *Rhizoctonia* sp. y *Trichoderma* sp. frente a *Phoma* sp., presentan diferencia estadística significativa, y además estos crecimientos

radiales respecto al enfrentamiento *Trichoderma* sp. frente a *Fusarium* sp. no presentan diferencia estadística significativa. En cuanto al crecimiento radial de cada hongo fitopatógeno en los enfrentamientos presentaron diferencia estadística significativa entre sí ($p < 0.0001$) (Figura 13).

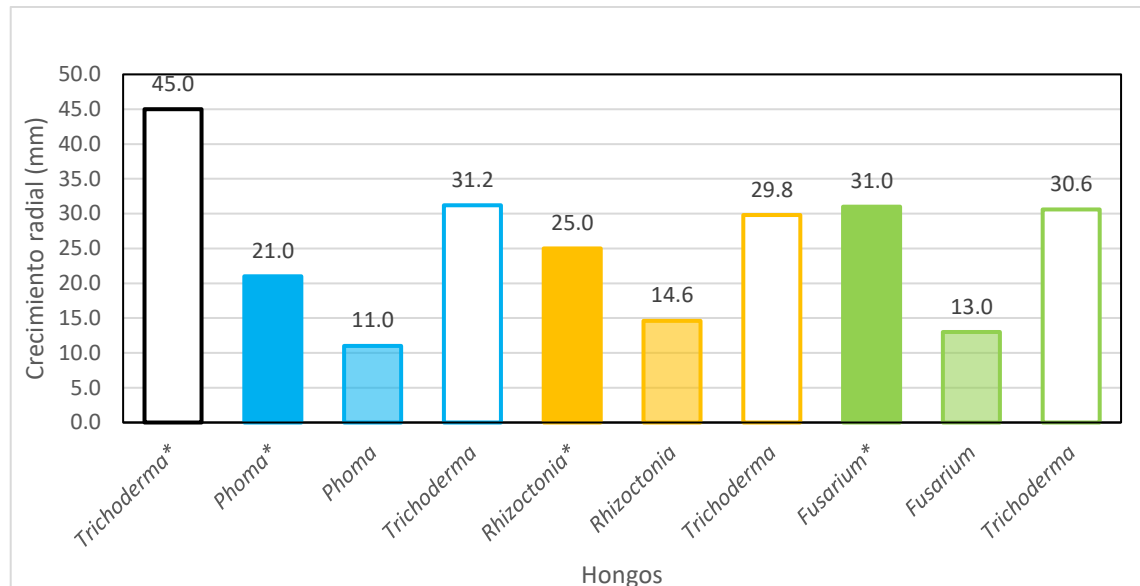


Figura 13. Comparación del crecimiento radial micelial de los hongos en el enfrentamiento dual a las 120 horas de evaluación. Biocontrolador *Trichoderma* sp. y fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp. (*) representa el crecimiento radial de los hongos sin enfrentamiento dual (control).

De los resultados obtenidos a las 120 horas, de los enfrentamientos duales en medio PDA, *Trichoderma* sp frente a *Rhizoctonia* sp presentó un crecimiento radial de 29.80 mm y 14.60 mm, en el enfrentamiento de *Trichoderma* sp frente a *Fusarium* sp presentó un crecimiento radial de 30.60 y 13.00 mm y por último *Trichoderma* sp frente a *Phoma* sp, se obtuvo un crecimiento radial de 31.20 y 11mm respectivamente. Observándose que los mayores crecimientos radiales del micelio, en los tres enfrentamientos correspondió al hongo biocontrolador *Trichoderma* sp., similar al estudio realizado por Vargas (2014), quien demostró que *Trichoderma koningiopsis*, en los enfrentamientos duales, fue un efectivo controlador biológico de *Fusarium oxysporum* y *Phoma terrestris*, donde el crecimiento micelial que presentó frente a *F. oxysporum* fue



de 41.5 mm y frente a *P. terrestris* de 44.1 mm; en el caso de *Trichoderma harzianum* el crecimiento micelial que presentó frente a *F. oxysporum* fue de 38.6 mm y frente a *P. terrestris* de 39.8 mm.

El mayor crecimiento de *Trichoderma* frente a los fitopatógenos podría deberse al micoparasitismo, a su mejor capacidad de competencia por nutrientes necesarios para la germinación de esporas, estas penetran el tejido radicular en ocasiones hasta la segunda capa celular y solo en el espacio intercelular ocurre la destrucción del patógeno, asimismo, la antibiosis por la producción de enzimas líticas y metabolitos secundarios, además estos son capaces de sobrevivir donde las condiciones ambientales son desfavorables, modificando la rizósfera y transportando glucosa de esta manera dándoles ventajas a las plantas en la competencia de nutrientes, por ende promueve el desarrollo y mecanismos de defensa de las plantas, bajo distintas condiciones ambientales (Michel, 2001), (Benítez *et al.*, 2004), (Whipps, 2001). Conforme a lo anterior, de acuerdo al desarrollo de *Trichoderma* sp., en el estudio, se identificó un claro predominio de crecimiento del biocontrolador, lo que convierte a este hongo en uno de los principales ACBs usados en agricultura

En los enfrentamientos duales, los hongos fitopatógenos desarrollaron en menor magnitud que en los cultivos individuales, evidenciando el efecto sobre ellos por parte de *Trichoderma* sp. Asimismo Tenorio (2011), realizó enfrentamientos duales con fin de seleccionar cepas de *Trichoderma*, encontrando cepas con capacidad biocontroladora sobre *Fusarium* spp. Del mismo modo, Sucaticona (2018) sobre el hongo fitopatógeno, *Hemileia vastatrix* con diámetros de crecimiento máximo de 58 mm y 48.5 mm; y demostró que *Trichoderma* spp. ejerce un efecto negativo sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno, presentando diámetros de crecimiento máximo de 58 mm y 48.5 mm; y en



el mismo sentido lo publicado por Hernández (2005), sobre el hongo fitopatógeno *Sclerotium rolfii*. El reconocimiento de *Trichoderma* como el hongo más empleado en biocontrol de fitopatógenos del suelo es muy aceptado (Infante *et al.*, 2009), por lo tanto, *Trichoderma* sp. no solo actúa frente a los hongos fitopatógenos como *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., sino que también contra otros fitopatógenos debido a la gran capacidad biocontroladora.

Por otro lado, Michel (2001) observó antagonismo entre cepas nativas de *Trichoderma* spp. y *Fusarium oxysporum* de 3 a 6 días y con *F. subglutinans* de 3 a 10; asimismo, Solano (2004) de 3 a 4 días con *F. oxysporum* y de 2 a 3 con *F. subglutinans*. Según Nina *et al.* (2011), en su investigación sobre crecimiento de los fitopatógenos a los 9 días no reportó diferencia estadística entre *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. Entre menor son los días al contacto, es mayor la agresividad que existe por parte del hongo antagónico y menor la resistencia del fitopatógeno (Michel, 2001). En ese contexto, se afirma que el tiempo de crecimiento de *Trichoderma* sp. es muy relevante porque con ello también se evidencia la capacidad de predominio que posee sobre los hongos fitopatógenos.

4.2.4. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) y capacidad antagónica

Respecto a los resultados obtenidos de la aplicación de la fórmula demuestran que de los enfrentamientos duales, presentaron un PICR de 58.06% para el enfrentamiento de *Trichoderma* sp. frente a *Fusarium* sp. que representa más del 50%, clasificándose dentro del grado de antagonismo 3; mientras que el enfrentamiento de *Trichoderma* sp. frente a *Phoma* sp. con un PICR de 47.62%, clasificado dentro del grado de antagonismo 2; similarmente el enfrentamiento de *Trichoderma* sp. frente a *Rhizoctonia* sp. con un PICR de 41.60%, clasificado dentro del grado de antagonismo 2, de acuerdo a la escala de Bell

et al. (1982), lo que representa diferentes grados de inhibición. Todo ello, a las 120 horas o lo mismo que 5 días de evaluación final (Tabla 6).

Tabla 6. Efecto del biocontrolador *Trichoderma* en porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) frente a los hongos fitopatógenos a las 120 horas de evaluación.

Enfrentamiento dual	Medias PICR (%)	Dato transformado*	Grado de antagonismo	p-valor
<i>Trichoderma</i> vs <i>Rhizoctonia</i>	41.60	6.52	2	
<i>Trichoderma</i> vs <i>Fusarium</i>	58.06	7.69	3	<0.0001
<i>Trichoderma</i> vs <i>Phoma</i>	47.62	6.97	2	

*Porcentajes de inhibición de crecimiento radial transformados según fórmula $Y = \sqrt{x + 1}$.

Asimismo, del análisis realizado a las 120 horas de evaluación final, los tres enfrentamientos duales presentaron diferencia estadística significativa entre sí ($p < 0,0001$), detectándose variaciones en el efecto inhibitorio que ejerció *Trichoderma* sp. sobre el crecimiento de los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., destacando el enfrentamiento dual de *Trichoderma* sp. frente a *Fusarium* sp. con 58.06% de inhibición, considerado el mayor; seguido del enfrentamiento dual de *Trichoderma* sp. frente a *Phoma* sp. con 47.62%, mientras que el enfrentamiento dual de *Trichoderma* sp. frente a *Rhizoctonia* sp. con 41.60%, fue considerado el menor (Figura 14).

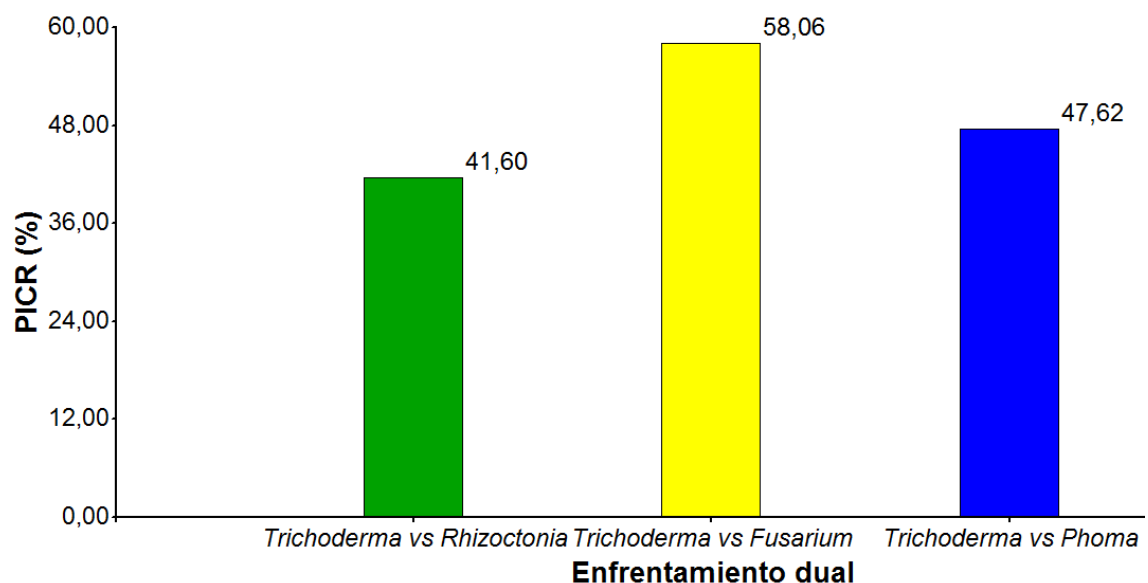


Figura 14. Medias de porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) del hongo biocontrolador *Trichoderma* sp. frente a los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp.

De acuerdo a los resultados obtenidos, respecto al porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) y la capacidad antagonista a las 120 horas de evaluación, en los enfrentamientos duales del hongo biocontrolador *Trichoderma* sp. frente a los tres hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp.; se demostró que en los tres tratamientos existe un elevado PICR, resaltando que el mayor fue frente a *Fusarium* sp con 58.06%. Por su parte, Nina *et al.* (2011), en su estudio de acuerdo a *Trichoderma* spp a los 6 días sobre los fitopatógenos *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. tuvieron un PICR de 36% y 33.8%. Similarmente Vargas (2014), en su investigación *Trichoderma koningiopsis* demostró en los enfrentamientos duales, ser un efectivo controlador biológico de *Fusarium oxysporum* con un PICR de 77,45% y de 84,78% para *Phoma terrestris*; asimismo, con *Trichoderma harzianum* frente a *F. oxysporum* con un PICR de 83,40% y de 86,86% para *P. terrestris*. Conforme a lo anterior, en la presente investigación, el grado de inhibición ≥ 2 representa una actividad antagonista del biocontrolador en el enfrentamiento, porque pone en evidencia el control biológico de *Trichoderma* sp. frente a los hongos fitopatógenos aislados de cultivos de quinua.

Por otro lado, Samaniego *et al.* (2018), mencionan que *Trichoderma harzianum* presentó el mayor antagonismo contra tres hongos fitopatógenos. En otro estudio según León *et al.* (2012), mencionan que las cepas de *Trichoderma* manifestaron un alto potencial antagonista ante *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. Así también, Hoyos *et al.* (2008), indican que en las pruebas *in vitro*, los aislamientos de *Trichoderma* spp. evaluados contra *S. rolfsii* mostraron 100% de actividad antagonista y para *Rhizoctonia solani*, todos los aislamientos de *Trichoderma*, excepto *T. asperellum*. La especie *T. harzianum* es un hongo antagonista de patógenos vegetales y se encuentra en



la mayoría de suelos, su crecimiento es favorecido por la presencia de raíces de planta, colonizando rápidamente (IAB, 2013). Por lo tanto, podemos ver que el género *Trichoderma* es un principal biocontrolador porque tiene excelentes propiedades para el control biológico y a su vez es un excelente estimulador del crecimiento radicular.

Según la escala de grado de antagonismo, en los enfrentamientos duales el hongo biocontrolador *Trichoderma* sp. presentó un grado de 2 y 3, lo cual indica que es un buen biocontrolador Royse y Ries (1978), frente a los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp. Similarmente, Sucaticona (2018) reportaron que los hongos antagonistas *Trichoderma* spp. y *Lecaniciliium* spp. y el patógeno *Hemileia vastatrix*, presentaron un grado 4 de micoparasitismo, según el tiempo de cobertura y alcanzaron un 75% en el cubrimiento del micelio al fitopatógeno, mostrando una buena actividad antagónica. Las especies del género *Trichoderma* son las más utilizadas para el biocontrol de patógenos fúngicos del suelo, estas especies presentan diferentes modos o mecanismos de acción que le permiten el control de los fitopatógenos; entre estos la competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, desactivación de enzimas del patógeno, resistencia inducida, entre otros (Infante *et al.*, 2009). Por lo tanto, en el estudio *Trichoderma* sp., debido a su alta velocidad de crecimiento, demostró ser un organismo altamente agresivo en cuanto a la competencia por espacio e inhibición de los fitopatógenos.

En tal sentido, la presente investigación pone en evidencia la capacidad antagónica que posee el hongo biocontrolador *Trichoderma* sp. frente a los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., que fueron aislados de cultivos de quinua, pudiendo ser utilizado *Trichoderma* como biocontrolador de fitopatógenos causantes de enfermedades en ciertas plantas como la quinua, porque *Trichoderma* posee ciertas



sustancias o diferentes mecanismos de acción que inhiben el crecimiento de hongos fitopatógenos. Tal como lo afirma Martínez *et al.* (2013), que indica sobre *Trichoderma* y su función como agente control biológico de hongos, su acción como inductor de resistencia en las plantas y estimulador de crecimiento, entre otros; crecen rápidamente, producen conidios abundantes y tienen amplia gama de enzimas, que les permite habitar en casi todos los suelos agrícolas y en otros ambientes, demostrando gran plasticidad ecológica y que tiene acción contra hongos causantes de enfermedades foliares.

Por otro lado Harman *et al.* (2004), mencionan que las actividades beneficiosas atribuidas a la interacción de *Trichoderma* y planta, incluyen la promoción del crecimiento vegetal, la tolerancia y resistencia a fitopatógenos promoviendo el crecimiento de las plantas, incrementando la disponibilidad de nutrientes, mejorando la producción y rendimiento de los cultivos. Además Aguilera y Ávila (2013), sustentan que *Trichoderma* tiene propiedades antifungosas y antibacteriales, adicionalmente están implicadas enzimas extracelulares que degradan las paredes celulares del hospedante y posibilitan la penetración de las hifas del antagonista.



V. CONCLUSIONES

Existe presencia de los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp. en las zonas de cultivo de quinua, siendo que la especie *Rhizoctonia* sp. se encuentra en las 3 zonas de cultivo CIP Camacani, CIP Illpa y distrito de Ilave, en tanto que *Fusarium* sp. en el CIP Camacani y CIP Illpa, finalmente *Phoma* sp. en el CIP Illpa y distrito de Ilave.

El hongo *Trichoderma* sp. posee capacidad antagonica *in vitro* sobre los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp., aislados de plantas de quinua de las zonas de cultivo en estudio, evidenciado por las diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre los diámetros de crecimiento micelial individual y en enfrentamiento dual, presentando además efecto antagónico de grado 2 frente a *Rhizoctonia* sp, grado 3 frente a *Fusarium* sp. y grado 2 frente a *Phoma* sp.



VI. RECOMENDACIONES

Realizar observaciones microscópicas para determinar el grado de micoparasitismo que ejerce *Trichoderma* sp. frente a los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp.

Se recomienda realizar observaciones en microscopio electrónico de barrido los enfrentamientos duales entre el hongo fitopatógeno y el hongo biocontrolador para ver la interacción entre ambos microorganismos.

Aislar e identificar otros hongos fitopatógenos que afectan a la quinua *Chenopodium quinoa*, y determinar el control biológico con *Trichoderma* sp.

Determinar los factores medioambientales como la temperatura, pH del suelo, humedad relativa entre otros, de cada lugar que se tuvo como punto de muestreo.

Teniendo resultados favorables en pruebas *in vitro*, se recomienda realizar las pruebas de control biológico empleando el hongo *Trichoderma* sp. como biocontrolador de los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp. a nivel *in situ* ya sean en condiciones de invernadero o en plántulas jóvenes.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abd-Elsalam, K., Aly, I., Abdel-Satar, M., Khalil, M. y Verreet, J. (2003). PCR identification of *Fusarium* genus based on nuclear ribosomal-DNA sequence data. *African Journal of Biotechnology*, 2(4), 82-85.
- Agrios, G. (1996). *Fitopatología*. 2da edición. Limusa. México.
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. 5ta edición. Elsevier Academic Press. Amsterdam, Alemania.
- Aguilera y Ávila, D. (2013). *Descripción de las principales plagas insectiles y enfermedades en café (Coffea arabica L.) var. typica y formas de control en Jaén-Cajamarca, 2012* (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.
- Alandia, S., Otazú, V. y Salas, B. (1979). *Enfermedades en quinua y kañiwa*. Editorial IICA, Bogotá, Colombia.
- Alexopoulos, C. y Mims, C. (1979). *Introductory Mycology*. 3ra edición. Willey, Nueva York.
- Alexopoulos, C., Mims, C. y Blackwell, M. (1996). *Introductory Mycology*. 4ta edición. California.
- Alvarado, P. (2005). *Identificación de cepas patógenas de Fusarium Link. causantes de nueva patología en el cultivo de calas de colores bajo condiciones productivas de invernadero en Chile* (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.



- Alvarez, M. (2000). Salicylic acid in the machinery of hypersensitive cell death and disease resistance. *Plant Biotechnology*, 24, 135-147.
- Arbeláez, G. (2000). *Investigación y desarrollo en el control de marchitamiento vascular del clavel en Colombia*. Ed Harti Tecnic. Colombia.
- Arie, T., Takahashi, H., Kodama, M. y Teraoka, T. (2007). Tomato as a model plantpathogen interections. *Plant Biotechnology*, 24, 135-147.
- Astorga, K., Meneses, K., Zuñiga, C. y Brenes, J. (2014). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. *Revista Tecnología en Marcha*, 27(2), 82-91.
- Ávila, M. (2010). *Situación fitosanitaria y evaluación de productos alternativos y convencionales para manejar Fusarium oxysporum en Vasconcella sp.* (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del Azuay. Cuenca, Ecuador.
- Balzarini, M., González, L., Tablada, M., Casanoves, F., Di Rienzo, J. y Robledo, C. (2008). Manual del Usuario InfoStat. Editorial Brujas. Córdoba, Argentina.
- Barboza, J., Ames, T. y Jacobsen, S. (1999). *Reducción de la germinación y muerte de plantas de quinua causadas por Rhizoctonia y Fusarium*. En Libro de Resúmenes del I Taller Internacional sobre Quinua. Recursos Genéticos y Sistemas de Producción. Puno, Perú.
- Barnett, H. y Hunter, B. (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi*. Burgess Publishing Company. Estados Unidos.



- Barnett, L. y Binder, L. (1973). The fungal host-parasite relationship. *Annual Review of Phytopathology*, 273-292.
- Bartra, A. (2017). *Efecto de control del Trichoderma harzianum Rifai y fungicidas en el control de Hemileia vastatrix Berk. & Br. en el Distrito de Hermilio Valdizán-Huánuco* (Tesis de Pregrado). Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María, Perú.
- Bary, R. y Jones, J. (2009). Role of plant hormones in plant defense responses. *Plant Molecular Biology*, 69, 473-488.
- Benadof, D. (2010). *Fusarium* especies. *Revistas Chilena de Infectología*, 27(4), 327-328.
- Benítez, T., Rincón, A., Limón, M., y Codón, A. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249-260.
- Bonifacio, A. (2001). *Recursos genéticos, etnobotánica y distribución geográfica*. En Mujica, A., Jacobsen, S., Izquierdo, J. y Marathee, J., eds. Primer taller internacional sobre quinua. Cultivos Andinos. UNA-Puno, CIP. FAO, Santiago.
- Borrero, C. y Silva, M. (2005). Efectos de *Trichoderma* (*in vitro*) en los microorganismos no patógenos descomponedores de la materia orgánica de un suelo oxisol clase IV del piedemonte llanero. *Revista Orinoquia*, 9(2), 6-14.
- Bravo, A., Ibarra, J., Del Rincón, M., Galindo, E., Patiño, M., Serrano, L., García, R., Carrillo, J., Pereyra, B., Alcázar, A., Luna, H., Galán, L., Pardo, L., Muñoz, C., Gómez, I. y Soberón, M. (2006). Los microorganismos en el control de insectos y patógenos. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48(2), 113-120.



- Camacho, N. y Gil, J. (2008). *Evaluación preliminar de modelos de infección cruzada por Fusarium sp., aislados de procesos patológicos en plantas, animales y humanos* (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Cardozo, A. y Tapia, M. (1997). *Valor nutritivo en quinua y kañiwa, en cultivos andinos*. Centro internacional para el desarrollo. Bogotá, Colombia.
- Carhuavilca, N. (2011). *Evaluación de la eficacia de especies de Trichoderma spp. en el control del ojo de pollo del café, en la provincia de La Convención* (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Cusco, Perú.
- Carling, D. y Leiner, R. (1990). Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia solani* and other *Rhizoctonia* on potato. *Phytopathology*, 80, 930-934.
- Carrillo, F., Montoya, T., García, R., Cruz, J., Márquez, I. y Sañudo, A. (2003). Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder y Hansen, en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el Valle de Culiacán, Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(2), 123-127.
- Casafranca, M. y Pahuachón, M. (2014). Factores que limitan la competitividad de las asociaciones de productores quinua orgánica. *Revista de Ciencias Empresariales de la Universidad De San Martin de Porres*, 5, 39-52.
- Castaño, J. (1984). Muerte descendente en cafetos de toda edad en varias regiones del departamento del Cauca. *Boletín informativo Colombia*, 73, 12-20.



- Castaño, J. (2005). *Guía ilustrada de hongos promisorios para el control de malezas, insectos, nematodos y hongos fitopatógenos*. 1ra edición. Editorial Universidad de Caldas. Manizales, Colombia.
- Ceresini, P., Shew, H., Vilgalys, R. y Cubeta, M. (2002). Genetic diversity of *Rhizoctonia solani* AG-3 from potato and tabacco in North Carolina. *Mycologia* 94(3), 437-449. doi: 10.1080/15572536.2003.11833209
- Chávez, M. (2006). *Producción de Trichoderma sp. y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (Dendrathera grandiflora)* (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Christensen, S., Pratt, D., Pratt, C., Nelson, P., Stevens, M., Jellen, E., Coleman, C., Fairbanks, D., Bonifacio, A. y Maughan, P. (2007). Assessment of genetic diversity in the USDA and CIP-FAO international nursery collections of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) using microsatellite markers. *Plant Genetic Resources*, 5, 82-95.
- Claros, M., Angulo, V., Gutiérrez, C. y Ortuño, N. (2010). *Primeros reportes de aislamiento de bacterias y hongos endófitos en el cultivo de la quinua (Chenopodium quinoa Willd.) en Bolivia*. Paper presented at the III Congreso Mundial de la quinua, Oruro, Bolivia.
- Cruces, L. y Callohuari, Y. (2016). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. FAO. Guía de identificación y control de las principales plagas que afectan la quinua en la zona andina*. Santiago.



- Cueva, D. (2007). *Producción de inoculantes a base de Trichoderma spp. para el control de Fusarium oxysporum sp. caricae en injertos de babaco (Vasconcellea heilbornii cv. babaco)* (Tesis de Pregrado). Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias, Escuela Politécnica del Ejército. Sangolquí, Quito, Ecuador.
- De Ana, F. (1982). Las hogueras en el monte y el ataque del hongo *Leptographium gallaeciae* sp. nv. sobre *P. pinaster*. *Ait. Boletín del servicio de plagas*, 8, 1-14.
- Delgado, P. (2007). *Manejo integrado de "kcona kcona" y "mildiu" en quinua*. Instituto Nacional de Innovación agraria (INIA). Boletín Técnico 03: Serie Cultivos. Puno, Perú.
- Díaz, F., Restrepo, A. y Estrada, S. (2007). *Fundamentos Básicos de Medicina. Microbiología de las infecciones humanas*. 1ra edición. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia.
- Dingle, J. y Mcgee, P. (2003). Some endophytic fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondite* f. sp. tritici in wheat. *Mycological Research*, 107(03), 310-316. doi:10.1017/S0953756203007512.
- Eraso, C., Acosta, J., Salazar, C. y Betancourth, C. (2014). Evaluación de cepas de *Trichoderma* spp., para el manejo del amarillamiento de arveja causado por *Fusarium oxysporum*. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu*, 15(2), 237-249.
- Ezziyyani, M., Ahmed, S., Pérez, C., Requena, M. y Candela, M. (2006). Control biológico por microorganismos antagonistas. *Revista Horticultura*, 191(3), 8-15.



- Ezziyyani, M., Pérez, C., Requena, M. Rubo, L. y Candela, M. (2004). Biocontrol por *Streptomyces rochei* Ziyani, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Anuales de Biología*, 26, 69-78.
- Fairlie, A. (2016). La quinua en el Perú cadena exportadora y políticas de gestión ambiental. Lima, Perú. En Línea: file:///F:/quinua/Nro_6_Fairlie_quinua_Per%C3%BA.pdf
- Farrokhi, F., Cromey, M. y Moosawi, S. (2007). Determination of the anastomosis grouping and virulence of *Rhizoctonia* spp. associated with potato tubers grown in Lincoln, New Zealand. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(21), 3786-3793.
- Fernández, L. (2011). *Identificación molecular de grupos anastomóticos de Rhizoctonia Solani asociados a la costra negra y cancro del tallo en el cultivo de papa en Sinaloa* (Tesis de Maestría). Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional Sinaloa. México.
- Figueroa, G. (1985). Descripción y control del agente causal de *Phoma*, *Phyllosticta coffeicola*. *Revista cafetera de Guatemala*, 253, 19-23.
- Gamboa, M. (2006). Hongos endófitos tropicales: Conocimiento actual y perspectivas. *Acta Biológica Colombiana*, 11, 3-20.
- Gandarillas, H. (1979). *Botánica*. En: Quinua y la Kañiwa: cultivos andinos. Editado por el Centro Internacional de Investigación para el Desarrollo. Bogotá, Colombia.



- Gil, L., y Leguizamón, J. (2000). La muerte descendente del cafeto (*Phoma* spp.). *Avances Técnicos Cenicafé*, 278, 1-4.
- Gómez, L. y Aguilar, E. (2016). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. FAO*. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- Gómez, T. (2017). *Evaluación de diferentes medios de cultivo y condiciones para la producción de conidios de Trichoderma spp mediante fermentación en líquido y sólido* (Tesis de Pregrado). Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica.
- González, D. (2002). Estado actual de la taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 20(2), 200-205.
- Groenewald, S. (2006). *Biology, pathogenicity and diversity of Fusarium oxysporum f.sp. cubense* (Tesis de Maestría). Faculty of Natural and Agricultural Science, Universidad of Pretoria. Groenewald, Sudafrica.
- Guédez, C., Cañizalez, L., Castillo, C. y Olivar, R. (2012). Evaluación *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32, 44-49.
- Gutierrez, B., Gonzales, Z. y Salhi A. (2006). Caracterización de aislamientos de *Rhizoctonia solani* Kühn que inducen pudriciones radicales en un cultivo. *Bioagrio* (5), 10-12.



- Guzmán, M., Orozco, M. y Vicente, L. (2013). *Sigatoka leaf spot diseases of bananas: dispersion, impact and evolution of management strategies in Latin American Caribbean region*. XX Reunión Internacional da Associação para a Cooperação em Pesquisa e Desenvolvimento Integral das Musáceas (Bananas e Plátanos). Acorbat. Fortaleza, Brasil.
- Harman, G. (2003). *Trichoderma harzianum, T. viridis, T. koningii, T. hamatum* (Deuteromycetes: Moniliales). En línea: [http:// www.ibun.unal.edu.co/ r2r7e.html](http://www.ibun.unal.edu.co/r2r7e.html)
- Harman, G., Howell, C., Viterbo, A., Chet, I. y Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Review Microbiology*, 2, 43-56.
- Harman, G., Obregón, M., Samuels, G. y Lorito, M. (2010). Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developing and developed world. *Plant Disease*, 94(8), 928-939.
- Hermosa, M., Grondona, I., Iturriaga, A., Díaz, M., Castro, C., Monte, E. y García, I. (2000). Molecular Characterization and Identification of Biocontrol Isolates of *Trichoderma* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(5), 1890-1898.
- Hernández, J., Sánchez, M., García, J., Mayek, N., González, J. y Quiroz, J. (2011). Caracterización molecular y agronómica de aislados de *Trichoderma* spp nativos del noreste de México. *Rev. Colomb. Biotecnol*, 13(2), 176- 185.
- Hernández, M. (2005). Control biológico de *Esclerotium rolfii* Sacc. en cultivo de cacahuate (*Arachis hypogaea* L.) con *Trichoderma* spp. (Tesis de Maestría). Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Universidad Autónoma de Guerrero. Iguala, Guerrero, México.



- Hoyos, L. y Duque, G. (2008). Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma spp.* sobre aislamiento de *Sclerotinia spp.* y *Rhizoctonia spp.* *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 2(1), 76-86.
- Hoyos, L., Chaparro, P., Abramsky, M., Chet, I. y Orduz, S. (2008). Evaluación de aislamientos de *Trichoderma spp.* contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. *Agronomía Colombiana*, 26(3), 451-458.
- IAB. (2013). *Trichoderma harzianum*. Investigaciones y Aplicaciones Biotecnológicas, S.L. En línea: http://www.iabiotec.com/trichod_ficha.htm.
- Inbar, J. y Chet, I. (1995). The role of recognition in the iduction especific chitinases during mycoparasitism by *Trichoderma harzianum*. *Microbiology*, 141, 2823-2823.
- Infante, D., Martínez, B., González, N. y Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de protección vegetal*, 24(1), 14-21.
- Jabconsen, S., Mujica, A. y Jensen, C. (2003). The resistance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to adverse abiotic factors. *Food Reviews International*, 19(1-2), 99-109.
- Jaklitsch, W., Samuels, G., Dodd, S., Lu, B., y Druzhinina, I. (2006). *Hypocrea rufa/Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia. *Studies in Mycology*, 55, 135-177.
doi:10.3114/sim.2006.56.04



- Kikot, G. (2012). *Aislamiento e identificación de Fusarium spp. a partir de granos de trigo. Relación entre ocurrencia de la especie y la incidencia de la enfermedad.* Sección I. Argentina.
- Lees, A., Cullen, D., Sullivan, L. y Nicolson, M. (2002). Development of conventional and quantitative real-time PCR assays for the detection and identification of *Rhizoctonia solani* AG-3 in potato and soil. *Plant Pathology*, 51, 293-302.
- León, J. (2003). *Cultivo de la quinua en Puno - Perú. Descripción, manejo y producción.* Texto universitario de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú.
- León, R., Pino, S., Martínez, B., Liriano, R. y Núñez, D. (2012). Aislamiento y selección de cepas de *Trichoderma* y su efecto antagonista frente a *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. *Centro Agrícola*, 39(2), 43-48.
- Lescano, J. (1994). *Mejoramiento y fisiología de cultivos andinos. Cultivos andinos en el Perú.* CONCYTEC, Proyecto FEAS. Perú.
- Llácer, G., López, M., Trapero, A. y Bello, A. (2000). *Patología Vegetal.* 2da edición. Phytoma Sociedad Española de Fitopatología Grupo Mundi Prensa. Madrid, España.
- Llicahua, D. (2018). *Aislamiento y efecto antagonista "in vitro" de Trichoderma spp. frente a Fusarium sp. del cultivo de cebolla de los distritos de Santa Rita de Siguan y de Tiabaya-Arequipa-2018* (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Arequipa, Perú.



- Lockwood, J. (1986). *Soilborne plant pathogens: concepts and connections*. *Phytopathology*, 76, 20-27.
- MacNish, G., Carling, D. y Brainard, K. (1997). Relationship of microscopic and macroscopic vegetative reactions in *Rhizoctonia solani* and the occurrence of vegetatively compatible populations (VCPs) in AG8. *Mycological Research*, 101, 61-68.
- Mamani, G. (2017). *Aislamiento y caracterización de hongos endófitos del café (Coffea arabica L.) como biocontrolador de la roya amarilla (Hemileia vastatrix Berk. & Br.) y promotor de crecimiento en San Juan del Oro* (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú.
- Martínez, B., Infante, D. y Peteira, B. (2015). Taxonomía polifásica y variabilidad en el género *Trichoderma*. *Rev. Protección Veg.*, 30, 11-22.
- Martínez, B., Infante, D. y Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista Protección Vegetal*, 28(1), 1-11.
- Maugham, J., Bonifacio, A., Jellen, E., Stevens, M., Coleman, C., Ricks, M., Mason, S., Jarvis, D., Arduña, B. y Fairbank, D. (2004). A genetic linkage map of quinoa (*Chenopodium quinoa*) based on AFLP, RAPD, SSRs and AFLP. *Theor Appl Genet*, 109, 1188-1195.
- Michel, A. (2001). *Cepas nativas de Trichoderma spp. (Euascomycetes: Hypocreales), su antibiosis y micoparasitismo sobre Fusarium subglutinans y F. oxysporum (Hyphomycetes: Hyphales)* (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima. Tecoman, México.



- Mondino, P. (2003). *Bases conceptuales para el manejo ecológico de plagas y enfermedades. Control Biológico de Enfermedades de Plantas*. Capítulo 5-7. Montevideo, Uruguay.
- Mondino, P. y Vero, S. (2006). *Control biológico de patógenos en plantas*. Editorial. Facultad de Agronomía Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.
- Mont, K. (2002). *Manejo Integrado de Enfermedades de las plantas*. Lima, Perú.
- Mujica, A. (2000). *Quinoa *Chenopodium quinoa* Willd. Ancestral Cultivo Andino, alimento del presente y futuro*. Santiago, Chile.
- Mujica, A. y Chura, E. (2012). *Cultivo de cereales y granos andinos*. Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú.
- Mujica, A. y Jacobsen, S. (2006). La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres. *Botánica Económica de los Andes Centrales*, 449-457.
- Mukherjee, M., Mukherjee, P., Horwitz, B., Zachow, C., Berg, G., y Zeilinger, S. (2012). Trichoderma-Plant-Pathogen Interactions: Advances in Genetics of Biological Control. *Indian Journal of Microbiology*, 52(4), 522-529.
- Nina R., Smeltekop, H., Almanza, J. y Loza, M. (2011). Evaluación de la capacidad biocontroladora de cepas nativas de *Trichoderma* spp sobre *Rhizoctonia* sp y *Fusarium* sp en café (*Coffea arabica*) en condiciones experimentales. *Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivian.*, 2(1), 43-52.
- Ochoa, J. (1996). *Control biológico del marchitamiento vascular del clavel ocasionado por *Fusarium oxysporum*. f. sp. *dianthi*. Mediante el uso de los microorganismos potencialmente antagonistas *Pseudomonas fuorences*, *Streptomyces coelicolor* y*



- Trichoderma hamatum* (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias, Universidad Javeriana. México.
- OMS. (2005). *Manual de Bioseguridad en el Laboratorio*. 3ra edición. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza.
- Ortiz, H. (2001). *Evaluación de la Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) en tres localidades de la Cuenca del Titicaca* (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú.
- Ortuño, N., Navia, O., Angulo, V., Barja, D. y Plata, G. (2009). *Desarrollo de biofertilizantes en base a microorganismos nativos para una producción soberana en Bolivia*. Memoria V Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Oruro, Bolivia.
- Parmeter, J. (1970). *Rhizoctonia Solani Biology and Pathology*. University of California Press. Berkeley, CA, USA.
- Pascual, C., Hyakumachi, M. (2000). Distribution of Vegetatively Compatible Populations of *Rhizoctonia solani* AG1-IA in a Field Planted with Different Host Species. *J Gen Plant Pathol*, 66, 206-209.
- Pérez, C. (2012). *Aislamientos de Trichoderma spp., nativos de Venezuela, promisorios para el control de Rhizoctonia solani (Kühn) en maíz (Zea Mays L.)* (Tesis de Maestría). Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Venezuela.
- Pirgozliev, S., Edwards, S., Hare, M. y Jenkinson, P. (2003). Strategies for the control of *Fusarium* head blight in cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 731-742.



- Polanco, Y. (2016). *Biocontrol de Fusarium sp. por Trichoderma spp. en Theobroma cacao L en condiciones in vitro y vivero* (Tesis de Pregrado). Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología, Universidad de Carabobo. Naguanagua, Venezuela.
- Ponce, J. (1978). *Evaluación biométrica de 330 líneas del banco de germoplasma de quinua (Chenopodium quinoa Willd.)*. Facultad de Agronomía, UNTA. Puno, Perú.
- Popenoe, H., King, S., León, J. y Kalinowski, L. (1990). *Lost crops of the Incas*. National Academy Press. Washington, USA.
- Raaijmakers, J., Paulitz, T., Steinberg, C., Alabouvette, C. y Moëgne-Loccoz, Y. (2008). The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant Soil*, 321, 341-361.
- Regalado, O. (1982). *El requemo del cafeto Phoma costaricensis Ech. y su combate químico en plantaciones receptadas en la región central de Veracruz*. In Simposio Latinoamericano sobre Caficultura. II CAPROMECAFE. San Salvador, El Salvador.
- Riego, M. (2017). Análisis Económico de la Producción Nacional de la Quinua.
- Rifai, M. (1969). A revision of the genus Trichoderma. *Mycol. Pap.*, 116, 1-56.
- Rodríguez, V. (2002). *Efecto antagónico y biocontrolador de algunos microorganismos saprofitos contra Rhizoctonia solani un fitopatógeno causante del (damping off) en plantas de tomate* (Tesis de Maestría). Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Romero, G., Olivera, V. y Rodríguez, D. (2015). *Trichoderma harzianum* como agente de control biológico. En línea:



<https://www.engormix.com/agricultura/articulos/trichoderma-harzianum-como-agente-t32904.htm>

- Rosello, J., Sempere F, y Santamarina, M. (2004). Respuesta al agua y a la temperatura del agente causante de la fusariosis del tomate: *Fusarium oxysporum* f.sp.lycopersici. *Phytohemeroteca*, 162, 1-7.
- Royse, J., y Ries, M. (1978). The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. *Phytopathol*, 1, 603-607.
- Salas, B. (1976). *Enfermedades de la quinua*. Copia mimeografiada del curso de fitopatología. UNTA. Puno, Perú.
- Salgado, M., y Pfenning, L. (2000). *Identificao e caracterizacao morfológica de especies de Phoma do cafeeiro no Brasil*. In Simposio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Ministerio da Agricultura e do Abastecimiento. Pocos de caldas, Brasil.
- Samaniego, L., Harouna, M., Corbea, O., Rondón, A. y Placeres I. (2018). Aislamiento, identificación y evaluación de cepas autóctonas de *Trichoderma* spp. antagonistas de patógenos del suelo. *Revista de Protección Vegetal*, 33(3), 1-11.
- Sandoval, I. y López, M. (2000). Antagonismo de *Trichoderma harzianum* A34 hacia *Macrophomina phaeolina* y otros patógenos fúngicos del frijol. *Fitosanidad*, 4(3-4), 69-72.
- Saravia, R., Plata, G. y Gandarillas, A. (2014). *Plagas y enfermedades del cultivo de quinua*. Fundación PROINPA. Cochabamba, Bolivia.
- Sempere, F., Garcia, F. y Santamarina, M. (2004). Caracterización morfológica y cultural de *Fusarium culmorum* (W.G.Smith) Sacc. *Phytohemeroteca*, 162, 1-10.



- Sivila, N. y Álvarez, S. (2013). Producción artesanal de *Trichoderma*. Tecnologías para la agricultura familiar. Tecnologías agroecológicas para la agricultura familiar. Ed. Universitaria de Jujuy. Jujuy.
- Suárez, F., Vargas, C., López, M., Capel, C. y Moreno, J. (2007). Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Crop Protection*, 26(1), 46-53.
- Subramanian, C. (1983). *Hyphomycetes; taxonomy and biology*. 1ra edición. Academic Press, Nueva York.
- Sucaticona, F. (2018). *Actividad antagónica in vitro de los hongos Trichoderma spp y Lecanicillium spp. frente al hongo de la roya amarilla del café (Hemileia vastatrix) en condiciones de laboratorio* (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú.
- Sutton, C. (1980). The Coelomycetes. *Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England*, 378-391.
- Tapia, M. (1997). *Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación*. Oficina Regional de la FAO para América Latina y El Caribe. Santiago, Chile.
- Tapia, M., Gandarillas, H., Alandia, S., Cardozo, A., Mujica, A. y Ortiz, R. (1979). *La Quinoa y la Kañiwa cultivos andinos. Centro internacional de investigaciones para el desarrollo (CIID)*. Bogotá, Colombia.
- Tapia, M., Gandarillas, H., Alandia, S., Cardozo, A., Otazú, V., Ortiz, R., Rea, J., Salas, B., Zanabria, E. y Mujica, A. (1979). *La quinoa y la kañiwa: Cultivos Andinos*. Oficina Regional para América Latina. Bogotá, Colombia.



- Tapia, M., Mujica, A. y Cañahua, A. (1980). *Origen de distribución geográfica y sistemas de producción de la quinua*. En: I reunión sobre genética y fitomejoramiento de la quinua. PISCA-UNTAIBTA- IICA-CIID. Puno, Perú.
- Tenorio, R. (2011). *Aislamiento, identificación y ensayos de control biológico in vitro de fitopatógenos de la quinua (Chenopodium quinoa), la tuna (Opuntia picus-Indica), la castaña (Castanea sativa Miller), FCFB, UMSA. 2008-2010* (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias Farmacéuticas Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia.
- Tobar, M. (2008). *Análisis de competitividad de los productores de babaco de San Pablo de Tenta (Saraguro, Loja) con enfoque de agrocadena* (Tesis de Maestría) Programa de Estudios Latinoamericanos, Universidad Andina Simón Bolívar. Quito, Ecuador.
- Torres, H. (2002). *Manual de las enfermedades más importantes de la papa en el Perú*. Centro internacional de la papa (CIP). Lima, Perú.
- Ulacio, D., Salas, J., Querales, P. y Sanabria, M. (2002). Micobiota del suelo de zonas productoras de papa del Estado Mérida y su relación con *Rhizoctonia solani*. *Bioagro*, 14(1), 11-16.
- Van Lenteren, J. (2003). *Quality control and production of biological control agents. Theory and testing procedures*. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Vargas, R. (2014). *Antagonismo de Trichoderma koningiopsis y Trichoderma harzianum sobre Fusarium oxysporum f. sp. cepae y Phoma terrestris in vitro* (Tesis de Pregrado). Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Arequipa, Perú.



- Veneros, R., Cerna, L. y Chino., J. (2017). Efecto de la temperatura en el crecimiento de *Fusarium oxysporum* y *Alternaria solani*. *Sagasteguiana*, 5(1), 1-6.
- Vilca, A. (1972). *Estudio de la mancha foliar en quinua* (Tesis de Pregrado). Programa Académico de Ingeniería Agronómica, UNTA. Puno, Perú.
- Weindling, R. (1932). *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopathology*, 22, 837-845.
- Whipps, J. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52, 487-511.
- Zambolin, L., Chaves, G., Vale, F. y Pereira, A. (1996). *Manejo Integrado das doenças do cafeiro em cultivo adensado. Coffee diseases management in high density plantings. Simposio Internacional sobre café adensado*. Londrina, PR. Brasil.
- Zanabria, H. y Banegas, M. (1997). *Entomología económica sostenible, plagas de cultivos andinos: papa y quinua y el manejo agroecológico en ecosistemas frágiles de la región andina*. 1ra Edición. Aquarium Impresores y Editores. Puno, Perú.
- Zhirvi, C. (2016). *Evaluación de dos especies nativas y una comercial de Trichoderma sp. como agente de control de los hongos que ocasionan el damping off. (Rhizoctonia spp.) en semilleros de café (Coffea arabica L.) variedad bourbón* (Tesis de Maestría). Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.

ANEXOS

Anexo 1. Datos obtenidos del Diámetro de Crecimiento del Antagonista (DCA) y Diámetro de Crecimiento del Patógeno (DCP).

Diámetro de Crecimiento del Antagonista (DCA) y Diámetro de Crecimiento del Patógeno (DCP)		Diámetro de Crecimiento (mm) / Horas																				
		12	24	36	48	60	72	84	96	108	120											
HONGO	Repetición																					
	r1	12.00	26.00	34.00	48.00	58.00	64.00	76.00	88.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	
	r2	14.00	30.00	38.00	46.00	58.00	64.00	78.00	88.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	
	r3	16.00	26.00	36.00	42.00	60.00	68.00	80.00	88.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	
	r4	14.00	30.00	36.00	46.00	56.00	66.00	78.00	88.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	
	Promedio	14.00	28.00	36.00	46.00	58.00	66.00	78.00	88.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00	
<i>Trichoderma</i>	r1	6.00	8.00	14.00	20.00	28.00	34.00	38.00	42.00	48.00	52.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	
	r2	6.00	8.00	16.00	20.00	28.00	36.00	40.00	42.00	46.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	
	r3	8.00	10.00	16.00	22.00	26.00	34.00	38.00	40.00	48.00	52.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	
	r4	4.00	6.00	10.00	18.00	24.00	34.00	34.00	42.00	44.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00
	r5	6.00	8.00	14.00	20.00	24.00	32.00	40.00	44.00	44.00	44.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00
	Promedio	6.00	8.00	14.00	20.00	26.00	34.00	38.00	42.00	46.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	
<i>Rhizoctonia</i>	r1	6.00	12.00	20.00	26.00	30.00	38.00	42.00	50.00	56.00	60.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	
	r2	6.00	12.00	18.00	24.00	32.00	40.00	46.00	50.00	56.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	
	r3	6.00	10.00	22.00	26.00	30.00	40.00	48.00	52.00	58.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	
	r4	8.00	14.00	20.00	28.00	30.00	42.00	46.00	48.00	56.00	64.00	64.00	64.00	64.00	64.00	64.00	64.00	64.00	64.00	64.00	64.00	
	r5	4.00	12.00	20.00	26.00	28.00	40.00	48.00	50.00	54.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	
	Promedio	6.00	12.00	20.00	26.00	30.00	40.00	46.00	50.00	56.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	62.00	
<i>Fusarium</i>	r1	4.00	6.00	12.00	16.00	18.00	22.00	28.00	30.00	36.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	
	r2	2.00	6.00	10.00	14.00	18.00	22.00	26.00	32.00	38.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	
	r3	4.00	8.00	14.00	16.00	22.00	26.00	28.00	32.00	36.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	
	r4	6.00	10.00	14.00	18.00	20.00	24.00	28.00	34.00	34.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	
	r5	4.00	10.00	10.00	16.00	22.00	26.00	30.00	30.00	36.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	
	Promedio	4.00	8.00	12.00	16.00	20.00	24.00	28.00	32.00	36.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	
<i>Phoma</i>	r1	4.00	8.00	10.00	16.00	20.00	24.00	28.00	32.00	36.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	
	r2	4.00	10.00	10.00	16.00	22.00	26.00	30.00	32.00	36.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	
	r3	4.00	8.00	14.00	16.00	22.00	26.00	28.00	32.00	36.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	
	r4	6.00	10.00	14.00	18.00	20.00	24.00	28.00	34.00	34.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	
	r5	4.00	10.00	10.00	16.00	22.00	26.00	30.00	32.00	36.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	
	Promedio	4.00	8.00	12.00	16.00	20.00	24.00	28.00	32.00	36.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00	

Anexo 2. Datos del Crecimiento Radial del Enfrentamiento Dual de *Trichoderma* sp. frente a los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp.

Crecimiento radial del enfrentamiento dual de <i>Trichoderma</i> sp. (TTQ-I) frente a <i>Rhizoctonia</i> sp.																
N°	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R
Rep.	12 Hrs.	24 Hrs.	36 Hrs.	48 Hrs.	60 Hrs.	72 Hrs.	84 Hrs.	96 Hrs.	108 Hrs.	120 Hrs.						
r1	TTQ-I vs <i>Rhizoctonia</i>	4.00	3.00	5.00	3.00	10.00	6.00	12.00	8.00	15.00	12.00	19.00	13.00	24.00	14.00	27.00
r2	TTQ-I vs <i>Rhizoctonia</i>	3.00	3.00	4.00	3.00	9.00	6.00	11.00	7.00	14.00	12.00	17.00	13.00	23.00	14.00	26.00
r3	TTQ-I vs <i>Rhizoctonia</i>	4.00	3.00	5.00	4.00	10.00	7.00	12.00	9.00	15.00	14.00	19.00	14.00	24.00	15.00	27.00
r4	TTQ-I vs <i>Rhizoctonia</i>	4.00	4.00	5.00	4.00	10.00	7.00	12.00	9.00	15.00	13.00	19.00	14.00	24.00	14.00	28.00
r5	TTQ-I vs <i>Rhizoctonia</i>	4.00	4.00	6.00	4.00	11.00	7.00	12.00	9.00	16.00	13.00	18.00	14.00	25.00	15.00	28.00
	Promedio	3.80	3.40	5.00	3.60	10.00	6.60	11.80	8.40	15.00	12.80	18.40	13.60	24.00	14.40	27.80

Crecimiento radial del enfrentamiento dual de <i>Trichoderma</i> sp. (TTQ-II) frente a <i>Fusarium</i> sp.																
N°	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F
Rep.	12 Hrs.	24 Hrs.	36 Hrs.	48 Hrs.	60 Hrs.	72 Hrs.	84 Hrs.	96 Hrs.	108 Hrs.	120 Hrs.						
r1	TTQ-II vs <i>Fusarium</i>	4.00	4.00	7.00	4.00	10.00	6.00	13.00	8.00	16.00	10.00	20.00	12.00	23.00	12.00	27.00
r2	TTQ-II vs <i>Fusarium</i>	4.00	3.00	7.00	4.00	9.00	7.00	13.00	9.00	15.00	11.00	19.00	12.00	22.00	12.00	26.00
r3	TTQ-II vs <i>Fusarium</i>	4.00	3.00	7.00	4.00	10.00	7.00	13.00	9.00	16.00	11.00	20.00	12.00	23.00	13.00	27.00
r4	TTQ-II vs <i>Fusarium</i>	3.00	3.00	6.00	4.00	9.00	6.00	13.00	8.00	15.00	10.00	20.00	11.00	22.00	12.00	26.00
r5	TTQ-II vs <i>Fusarium</i>	4.00	3.00	7.00	4.00	10.00	6.00	13.00	8.00	16.00	11.00	20.00	12.00	23.00	13.00	29.00
	Promedio	3.80	3.20	6.80	4.00	9.60	6.40	13.00	8.40	15.60	10.60	19.80	11.80	22.60	12.20	26.60

Crecimiento radial del enfrentamiento dual de <i>Trichoderma</i> sp. (TTQ-III) frente a <i>Phoma</i> sp.																
N°	T	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T	P
Rep.	12 Hrs.	24 Hrs.	36 Hrs.	48 Hrs.	60 Hrs.	72 Hrs.	84 Hrs.	96 Hrs.	108 Hrs.	120 Hrs.						
r1	TTQ-III vs <i>Phoma</i>	3.00	2.00	7.00	4.00	11.00	5.00	14.00	7.00	18.00	8.00	21.00	9.00	25.00	10.00	29.00
r2	TTQ-III vs <i>Phoma</i>	2.00	2.00	6.00	4.00	10.00	5.00	13.00	7.00	17.00	8.00	20.00	9.00	24.00	10.00	29.00
r3	TTQ-III vs <i>Phoma</i>	3.00	3.00	7.00	4.00	11.00	6.00	14.00	8.00	18.00	9.00	21.00	10.00	25.00	11.00	28.00
r4	TTQ-III vs <i>Phoma</i>	2.00	2.00	6.00	4.00	10.00	5.00	13.00	7.00	17.00	8.00	20.00	9.00	24.00	10.00	28.00
r5	TTQ-III vs <i>Phoma</i>	3.00	2.00	7.00	4.00	11.00	5.00	14.00	7.00	18.00	8.00	21.00	9.00	25.00	10.00	29.00
	Promedio	2.60	2.20	6.60	4.00	10.60	5.20	13.60	7.20	17.60	8.20	20.60	9.20	24.60	10.40	28.60

Anexo 3. Datos obtenidos del Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) y Dato Transformado (DT) para la realizar el análisis estadístico.

Enfrentamiento dual		24 Hrs.		48 Hrs.		72 Hrs.		96 Hrs.		120 Hrs.		
		Rep.	PICR %	DT	PICR %	DT	PICR %	DT	PICR %	DT	PICR %	DT
<i>Trichoderma</i>	TTQ-I vs <i>Rhizoctonia</i>	r1	25.00	5.10	20.00	4.58	23.53	4.95	33.33	5.86	40.00	6.40
<i>Trichoderma</i>	TTQ-I vs <i>Rhizoctonia</i>	r2	25.00	5.10	30.00	5.57	23.53	4.95	33.33	5.86	44.00	6.71
<i>Trichoderma</i>	TTQ-I vs <i>Rhizoctonia</i>	r3	0.00	1.00	10.00	3.32	17.65	4.32	28.57	5.44	40.00	6.40
<i>Trichoderma</i>	TTQ-I vs <i>Rhizoctonia</i>	r4	0.00	1.00	10.00	3.32	17.65	4.32	33.33	5.86	44.00	6.71
<i>Trichoderma</i>	TTQ-I vs <i>Rhizoctonia</i>	r5	0.00	1.00	10.00	3.32	17.65	4.32	28.57	5.44	40.00	6.40
<i>Trichoderma</i>	TTQ-II vs <i>Fusarium</i>	r1	33.33	5.86	38.46	6.28	40.00	6.40	52.00	7.28	58.06	7.69
<i>Trichoderma</i>	TTQ-II vs <i>Fusarium</i>	r2	33.33	5.86	30.77	5.64	40.00	6.40	48.00	7.00	58.06	7.69
<i>Trichoderma</i>	TTQ-II vs <i>Fusarium</i>	r3	33.33	5.86	30.77	5.64	40.00	6.40	48.00	7.00	58.06	7.69
<i>Trichoderma</i>	TTQ-II vs <i>Fusarium</i>	r4	33.33	5.86	38.46	6.28	45.00	6.78	52.00	7.28	58.06	7.69
<i>Trichoderma</i>	TTQ-II vs <i>Fusarium</i>	r5	33.33	5.86	38.46	6.28	40.00	6.40	48.00	7.00	58.06	7.69
<i>Trichoderma</i>	TTQ-III vs <i>Phoma</i>	r1	0.00	1.00	12.50	3.67	25.00	5.10	37.50	6.20	47.62	6.97
<i>Trichoderma</i>	TTQ-III vs <i>Phoma</i>	r2	0.00	1.00	12.50	3.67	25.00	5.10	37.50	6.20	47.62	6.97
<i>Trichoderma</i>	TTQ-III vs <i>Phoma</i>	r3	0.00	1.00	0.00	1.00	16.67	4.20	31.25	5.68	47.62	6.97
<i>Trichoderma</i>	TTQ-III vs <i>Phoma</i>	r4	0.00	1.00	12.50	3.67	25.00	5.10	31.25	5.68	47.62	6.97
<i>Trichoderma</i>	TTQ-III vs <i>Phoma</i>	r5	0.00	1.00	12.50	3.67	25.00	5.10	37.50	6.20	47.62	6.97

Anexo 4. Análisis estadístico del Diámetro de Crecimiento del Antagonista (DCA) y Diámetro de Crecimiento del Patógeno (DCP) en el Software Infostat/Libre 2020.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIÁMETRO DE CRECIMIENTO	20	0,99	0,99	2,59

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6620,00	3	2206,67	882,67	<0,0001
HONGOS	6620,00	3	2206,67	882,67	<0,0001
Error	40,00	16	2,50		
Total	6660,00	19			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,86102

Error: 2,5000 gl: 16

HONGOS	Medias	n	E.E.	
Phoma	42,00	5	0,71	A
Rhizoctonia	50,00	5	0,71	B
Fusarium	62,00	5	0,71	C
Trichoderma	90,00	5	0,71	D

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

Anexo 5. Análisis estadístico del crecimiento radial del enfrentamiento dual de *Trichoderma* sp. frente a los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Phoma* sp. en el Software Infostat/Libre 2020.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CRECIMIENTO RADIAL	30	1,00	1,00	2,30

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2378,30	5	475,66	1902,64	<0,0001
HONGO BIOCONTROL Y FITOPAT..	2378,30	5	475,66	1902,64	<0,0001
Error	6,00	24	0,25		
Total	2384,30	29			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,97775

Error: 0,2500 gl: 24

HONGO BIOCONTROL Y FITOPAT..	Medias	n	E.E.	
Phoma	11,00	5	0,22	A
Fusarium	13,00	5	0,22	B
Rhizoctonia	14,60	5	0,22	C
Trichoderma TTQ-I	29,80	5	0,22	D
Trichoderma TTQ-II	30,60	5	0,22	D E
Trichoderma TTQ-III	31,20	5	0,22	E

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

Anexo 6. Análisis estadístico del Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) con los datos transformados, en el Software Infostat/Libre 2020.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PICR	15	0,97	0,96	1,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,46	2	1,73	180,10	<0,0001
ENFRENTAMIENTO DUAL	3,46	2	1,73	180,10	<0,0001
Error	0,12	12	0,01		
Total	3,58	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,16541

Error: 0,0096 gl: 12

ENFRENTAMIENTO DUAL	Medias	n	E.E.	
Trichoderma TTQ-I vs Rhizo..	6,52	5	0,04	A
Trichoderma TTQ-III vs Pho..	6,97	5	0,04	B
Trichoderma TTQ-II vs Fusa..	7,69	5	0,04	C

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

Anexo 7. Panel fotográfico.



Figura 15. Zonas recolección de muestras, cultivos de quinua.



Figura 16. Muestras de raíces, tallo y hojas, recolectadas de las plántulas de quinua.



Figura 17. Preparación de materiales de vidrio para la esterilización en autoclave en el Laboratorio de Sanidad Vegetal, Universidad Nacional del Altiplano.



Figura 18. Preparación del medio de cultivo PDA, autoclavado a 180°C por 20 minutos, y adición de 1gr de cloranfenicol.

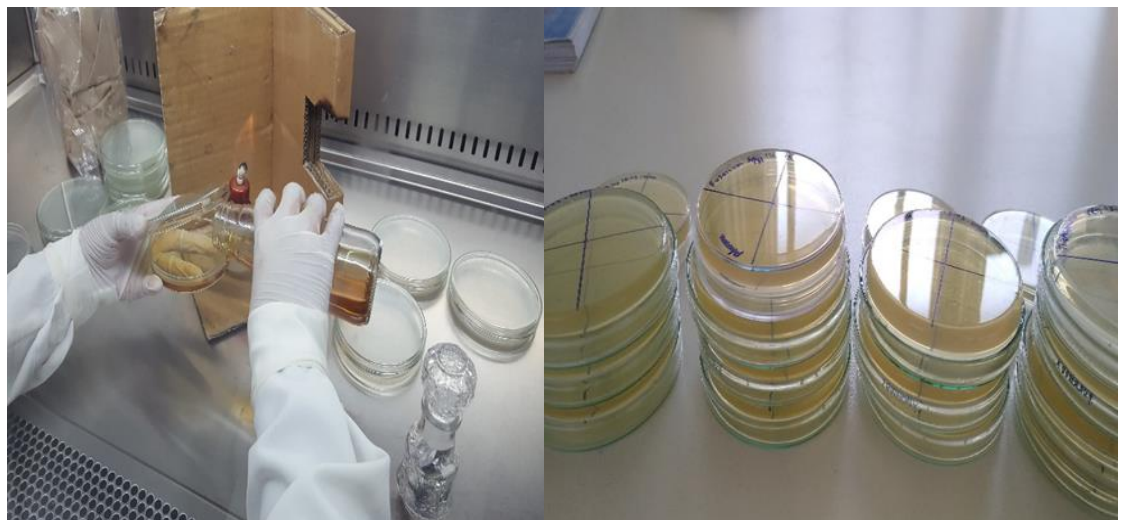


Figura 19. Plaqueado del medio de cultivo PDA en las placas Petri.



Figura 20. Lavado, cortado y secado a temperatura ambiente de las muestras de raíz, tallo y hojas con aparente presencia de hongos fitopatógenos del cultivo de quinua.



Figura 21. Desinfección de muestra, siembra en medio de cultivo PDA de las partes de la planta de quinua como raíz, tallo y hojas con aparente presencia de hongos fitopatógenos.

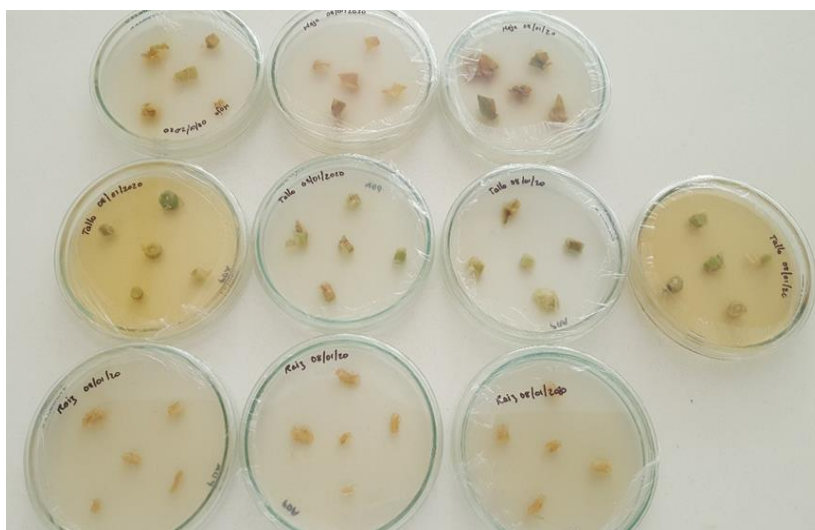


Figura 22. Placas Petri con medio de cultivo PDA, sembradas con las partes de quinua como raíz, tallo y hojas con aparente presencia de hongos fitopatógenos.



Figura 23. Crecimiento de hongos fitopatógenos provenientes de la quinua a las 72 horas.

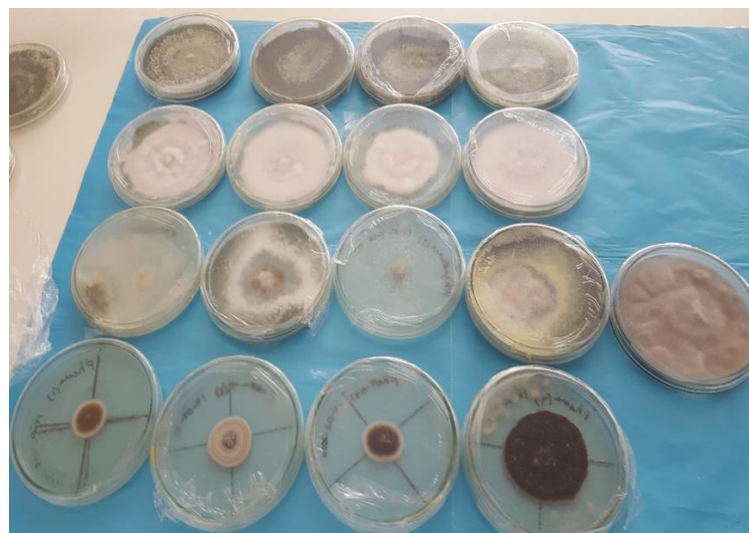


Figura 24. Crecimiento de los hongos fitopatógenos en cultivo puro a las 120 horas.

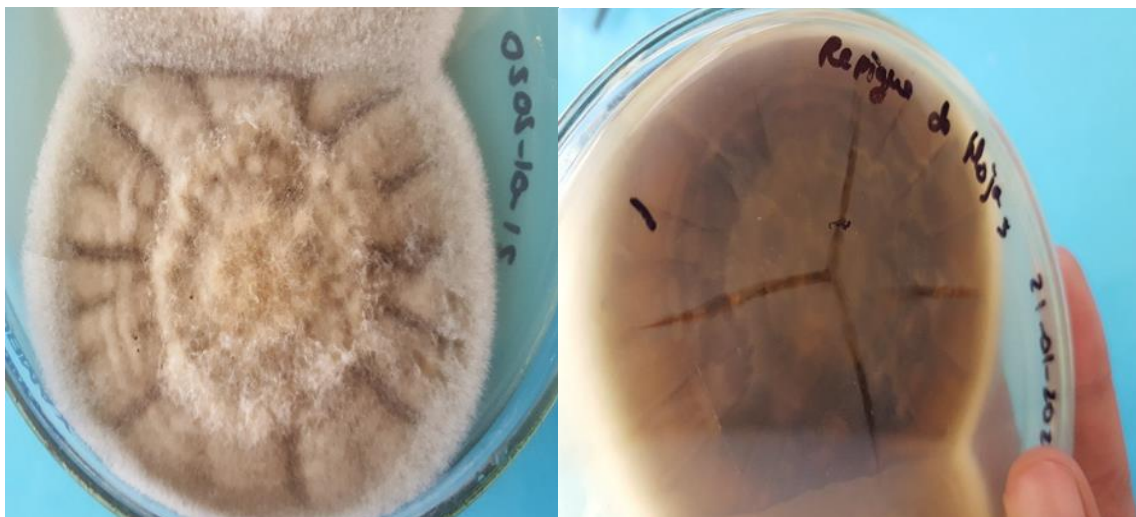


Figura 25. Crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *Rhizoctonia* sp. anverso y reverso de la placa.



Figura 26. Crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *Fusarium* sp. anverso y reverso de la placa.

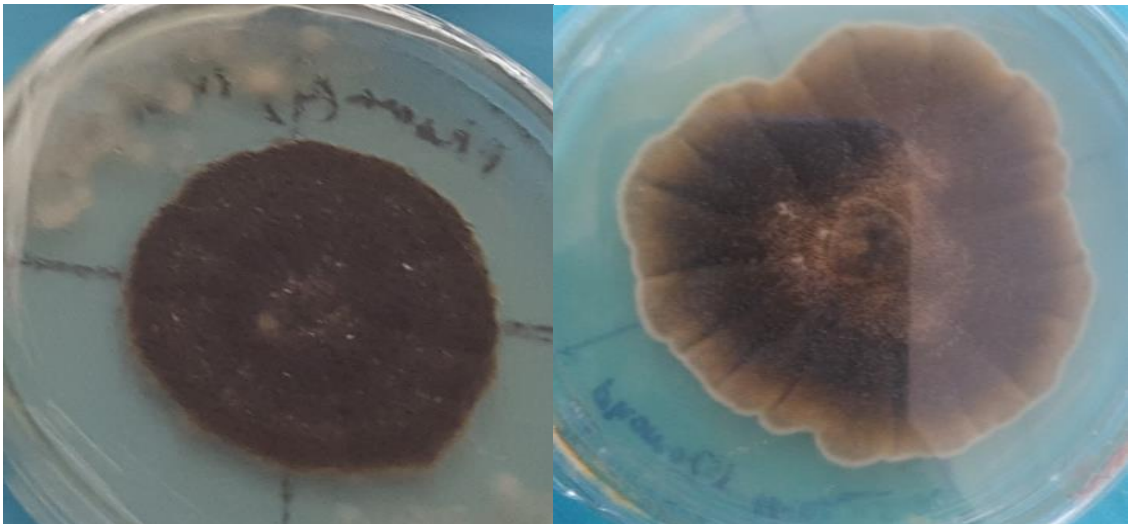


Figura 27. Crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *Phoma* sp. anverso y reverso de la placa.

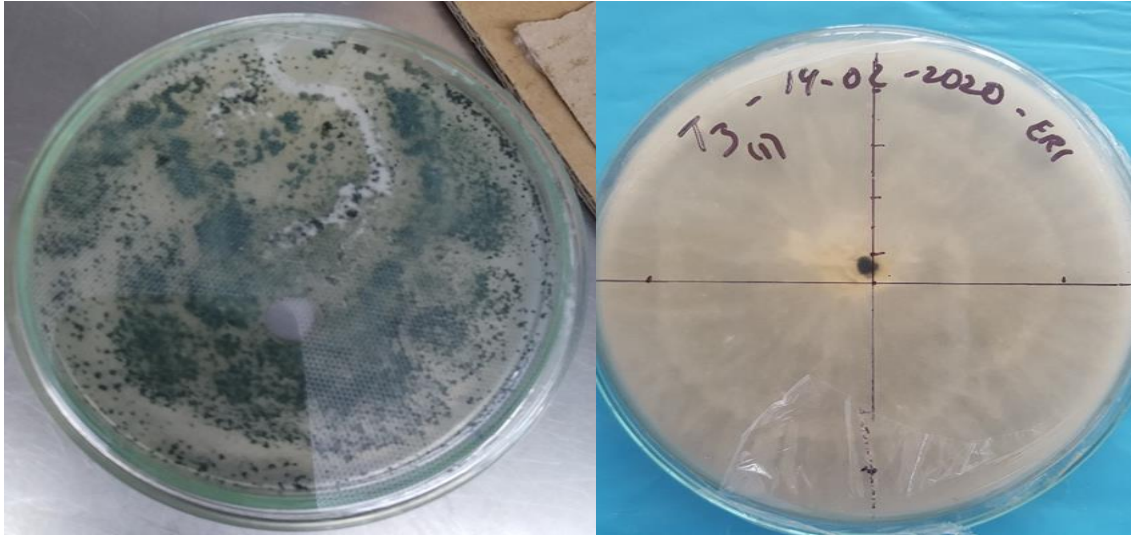


Figura 28. Crecimiento micelial del hongo biocontrolador *Trichoderma* sp. anverso y reverso de la placa.



Figura 29. Aplicación del método de cinta con azul de lactofenol para la identificación de los hongos fitopatógenos y observación microscópica a 40X.

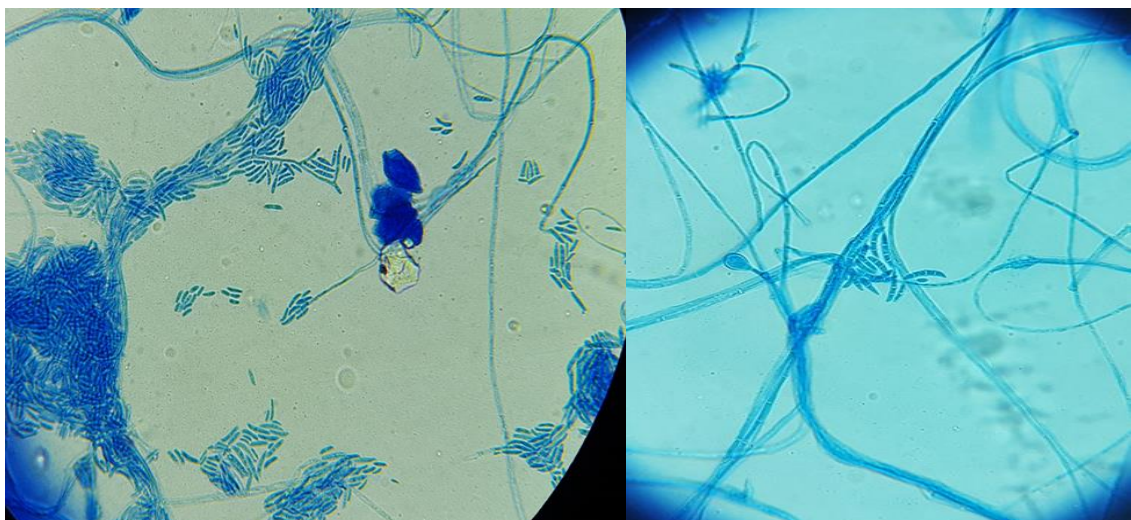


Figura 30. Observación microscópica de hifas y conidios de *Fusarium* sp. a 40X.

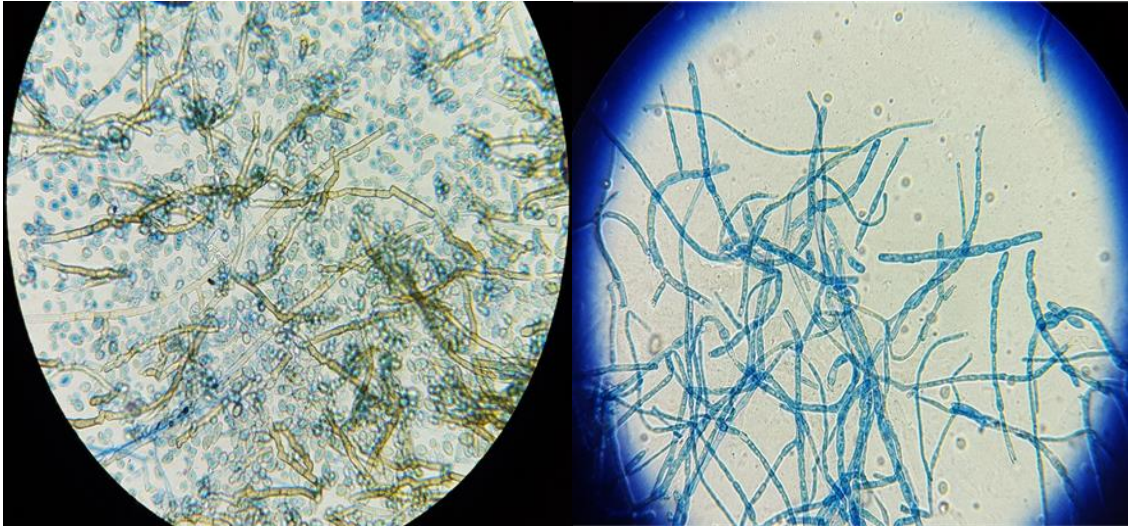


Figura 31. Observación microscópica de hifas y conidios de *Rhizoctonia* sp. a 40X.

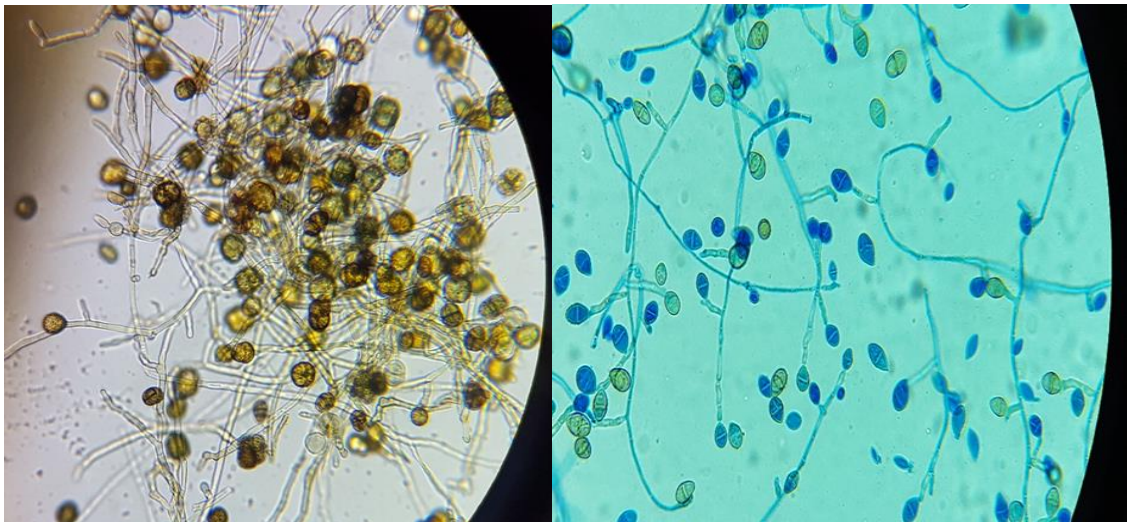


Figura 32. Observación microscópica de hifas y conidios de *Phoma* sp. a 40X.

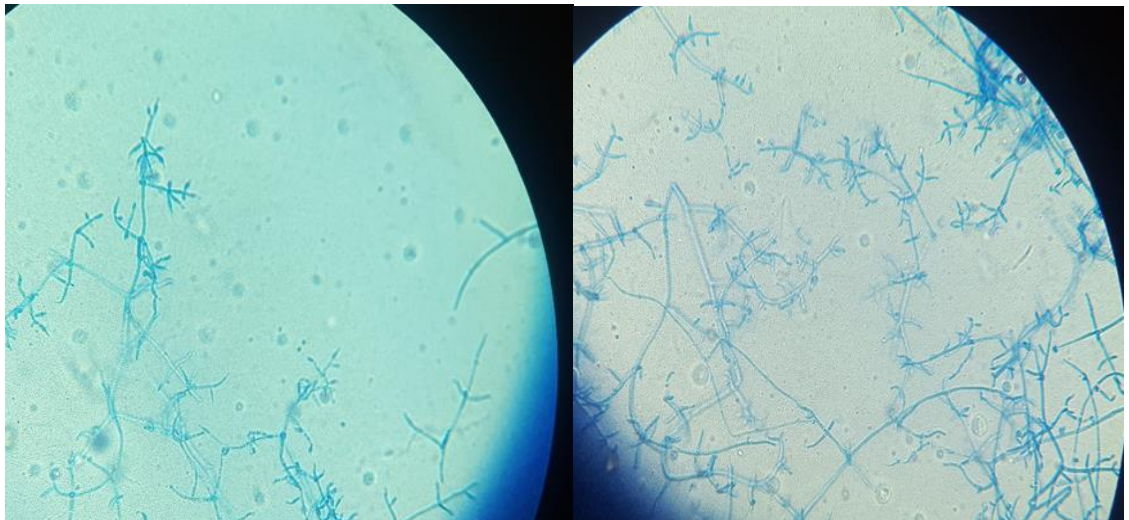


Figura 33. Observación microscópica de hifas y conidios de *Trichoderma* sp. a 40X.

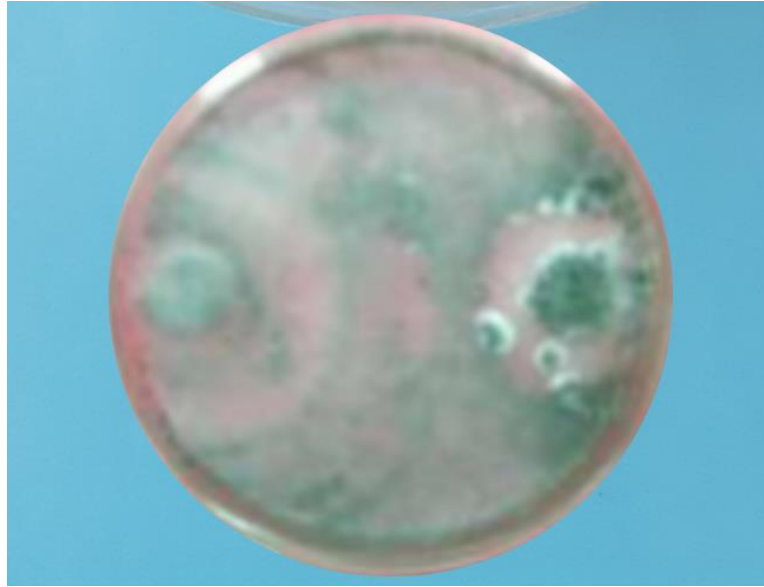


Figura 34. Observación macroscópica del enfrentamiento dual *Trichoderma* sp. frente a *Rhizoctonia* sp.



Figura 35. Observación macroscópica del enfrentamiento dual *Trichoderma* sp. frente a *Fusarium* sp.



Figura 36. Observación macroscópica del enfrentamiento dual *Trichoderma* sp. frente a *Phoma* sp.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGRÓNOMICA



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE JEFE DE LABORATORIO DE SANIDAD VEGETAL DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRONÓMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO.

DR. ISRAEL LIMA MEDINA, Otorga la presente CONSTANCIA de ejecución de tesis de investigación a:

ERICA ESTHER HUAMAN ESTOFANERO, Bachiller en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, identificada con DNI N° 70331004.

Quien ha realizado la Ejecución de su tesis de investigación titulada: “**CONTROL BIOLÓGICO *in vitro* POR *Trichoderma sp.*, SOBRE HONGOS FITOPATOGENOS DE LA QUINUA *Rhizoctonia sp.*, *Fusarium sp.* y *Phoma sp.***” en el Megalaboratorio, ambiente de Sanidad Vegetal de la EPIA – FCA, Universidad Nacional del Altiplano, desde enero hasta Marzo del 2020.

Se le expide la Presente CONSTANCIA a solicitud del interesado(a) para fines de tramite de sustentación de tesis.

Puno, 10 de Marzo del 2021.



UNA
PUNO

Firmado digitalmente por LIMA
MEDINA Israel FAU 20145496170
soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 10.03.2021 16:17:01 -05:00

.....
Jefe De Laboratorio Sanidad Vegetal
Dr. Israel Lima Medina