

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

“EFECTO ANTAGÓNICO DE *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviana* CONTRA *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary EN CONDICIONES IN VITRO”

Para optar el Título Profesional de:
INGENIERO AGRÓNOMO

Presentado por la Bachiller:
ARACELI EUGENIO LEIVA

Asesor:
Dr. MANUEL SALOMÓN RONCAL ORDÓÑEZ

CAJAMARCA – PERÚ

2025

CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. **Investigador:** EUGENIO LEIVA ARACELI
DNI: 77064592
Escuela Profesional/Unidad UNC: Agronomía
2. **Asesor:** DR. MANUEL SALOMÓN RONCAL ORDÓÑEZ
Facultad/Unidad UNC: Ciencias Agrarias
3. **Grado académico o título profesional:**
☐ Bachiller ☒ Título profesional ☐ Segunda especialidad
☐ Maestro ☐ Doctor
4. **Tipo de Investigación:**
☒ Tesis ☐ Trabajo de investigación ☐ Trabajo de suficiencia profesional
☐ Trabajo académico
5. **Título de Trabajo de Investigación:** "EFECTO ANTAGÓNICO DE *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis* CONTRA *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary EN CONDICIONES IN VITRO"
6. **Fecha de evaluación:** 03/03/2026
7. **Software antiplagio:** ☒ TURNITIN ☐ URKUND (OURIGINAL) (*)
8. **Porcentaje de Informe de Similitud:** 7%
9. **Código Documento:** oid: 3117:563120675
10. **Resultado de la Evaluación de Similitud:** 7%
☒ APROBADO ☐ PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO

Fecha Emisión: 03/03/2026

Firma y/o Sello Emisor Constancia
 Dr. Manuel Salomón Roncal Ordóñez DNI: 26714181



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

"NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA"

Fundada por Ley N° 14015, del 13 de febrero de 1962

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Secretaría Académica

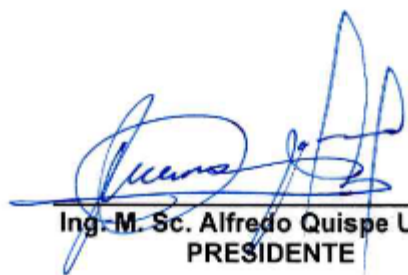


ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Cajamarca, a los veinte días del mes de octubre del año dos mil veinticinco, se reunieron en el ambiente 2C - 202 de la Facultad de Ciencias Agrarias, los miembros del Jurado, designados según **Resolución de Consejo de Facultad N° 530-2025-FCA-UNC, de fecha 15 de setiembre del 2025**, con la finalidad de evaluar la sustentación de la **TESIS** titulada: **"EFECTO ANTAGÓNICO DE *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis* CONTRA *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary EN CONDICIONES IN VITRO"**, realizada por la Bachiller **ARACELI EUGENIO LEIVA** para optar el Título Profesional de **INGENIERO AGRÓNOMO**.

A las quince horas y veinte minutos, de acuerdo a lo establecido en el **Reglamento Interno para la Obtención de Título Profesional de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca**, el Presidente del Jurado dio por iniciado el Acto de Sustentación, luego de concluida la exposición, los miembros del Jurado procedieron a la formulación de preguntas y posterior deliberación. Acto seguido, el Presidente del Jurado anunció la aprobación por unanimidad, con el calificativo de dieciséis (16); por tanto, la Bachiller queda expedita para proceder con los trámites que conlleven a la obtención del Título Profesional de **INGENIERO AGRÓNOMO**.

A las dieciséis horas y cincuenta minutos del mismo día, el Presidente del Jurado dio por concluido el Acto de Sustentación.



Ing. M. Sc. Alfredo Quispe Urteaga
PRESIDENTE



Ing. Oscar Rogelio Sáenz Narro
SECRETARIO



Ing. José Lizandro Silva Mego
VOCAL



Dr. Manuel Salomón Roncal Ordóñez
ASESOR

DEDICATORIA

A mis padres Hilda Leiva y Vidal Eugenio, cuyo amor, sacrificio y enseñanzas han sido la brújula que me ha guiado hasta este momento. Su apoyo incondicional, paciencia y fe en mis capacidades me han impulsado a superar cada obstáculo. Cada paso en este camino es un reflejo del esfuerzo y valores que me inculcaron, y por eso este logro también es suyo.

A mis queridos hermanos, por su apoyo emocional. Gracias por las risas compartidas, los consejos sinceros y la fortaleza que me han brindado en los momentos difíciles. Este logro también es suyo, porque sin ustedes, este camino habría sido mucho más difícil de recorrer. Con todo mi cariño y gratitud, este trabajo está dedicado a ustedes.

A mis adorados sobrinos, por ser una fuente inagotable de alegría, inspiración y amor en mi vida; sus sonrisas y energía me recuerdan siempre la importancia de luchar por mis sueños y dar lo mejor de mí. Este esfuerzo está dedicado a ustedes, con la esperanza de que sigan creciendo con ilusión, curiosidad y valentía para alcanzar todo lo que deseen.

EUGENIO LEIVA, A

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios, quien con su guía y fortaleza me ha permitido alcanzar este logro académico. Su presencia constante en mi vida ha sido mi principal fuente de inspiración y esperanza.

Expreso mi más profundo agradecimiento a mi asesor, Manuel Salomón Roncal Ordoñez, por su guía, paciencia y sabiduría a lo largo de este proyecto. Sus consejos, palabras de aliento y dedicación a mi formación académica han sido fundamentales para el desarrollo de esta tesis. También agradezco a los docentes y profesionales que, directa o indirectamente, aportaron a mi aprendizaje con su experiencia y motivación.

Finalmente, agradezco a las instituciones y personas que contribuyeron, directa o indirectamente, a la realización de esta tesis. Ya sea mediante recursos, orientación o palabras de motivación, cada uno de ustedes ha sido parte fundamental de este logro.

EUGENIO LEIVA, A

ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE TABLAS.....	7
ÍNDICE DE FIGURAS.....	8
RESÚMEN.....	10
ABSTRAC	11
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1. Descripción del problema.....	2
1.2. Formulación del problema	2
1.3. Justificación	3
1.4. Objetivo general	3
1.5. Hipótesis de la investigación	3
CAPÍTULO II	4
REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Antecedentes de la investigación.....	4
2.2. Bases Teóricas.....	11
2.2.1. Mecanismos de acción de hongos antagonicos	11
2.2.2. Generalidades de <i>Trichoderma viride</i>	13
2.2.3. Generalidades de <i>Beauveria peruviansis</i>	16
2.2.4. Generalidades de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary	18
2.2.4.1. Taxonomía de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	18
2.2.4.2. Colonización y fases patogénicas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	18
2.2.4.3. Ciclo de vida de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	19
2.2.4.4. Estructuras de conservación de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	20
2.2.4.5. Síntomas causados por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	20
2.3. Definición de términos	21
CAPÍTULO III.....	24
MATERIALES Y MÉTODOS	24

3.1. Ubicación geográfica del trabajo de investigación	24
3.2. Materiales	25
3.2.1. Material biológico	25
3.2.2. Materiales y equipos de campo	25
3.2.3. Materiales y equipos de laboratorio	25
3.3. Metodología.....	26
3.3.1. Trabajo en campo.....	26
3.3.2. Trabajo en laboratorio.....	26
3.3.3. Ensayos de antagonismo.	28
3.3.3.1. Protocolo de antagonismo en cultivos duales.	28
3.3.3.2. Ensayo de antagonismo de <i>Trichoderma viride</i> y <i>Beauveria peruviansis</i> contra <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en condiciones “in vitro”.	29
CAPÍTULO IV	32
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1. Evaluaciones de porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PIC) del T1 (mSs/mTv), T2 (mSs/mBp), T3 (eSs/mTv) y T4 (eSs/mBp) en condiciones “in vitro”.....	32
4.2. Antagonismo de <i>Trichoderma viride</i> y <i>Beauveria peruviansis</i> contra <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en condiciones “in vitro”.	32
4.3. Antagonismo por aspersión de conidios de <i>Trichoderma viride</i> y <i>Beauveria peruviansis</i> sobre micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en condiciones in vitro (T5 y T6).....	41
4.4. Evaluaciones de antagonismo por aspersión conidios de <i>Trichoderma viride</i> (T7 = eSs/acTv) y <i>Beauveria peruviansis</i> (T8 = eSs/acBp) sobre esclerocios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en condiciones in vitro.	45
4.5. Antagonismo por aspersión de conidios de <i>Trichoderma viride</i> y <i>Beauveria peruviansis</i> sobre esclerocios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en condiciones in vitro (T7 y T8).....	46
CAPÍTULO V.....	52

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	52
CAPÍTULO VI.....	53
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	53
ANEXOS.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Tratamientos de antagonismo de micelio Trichoderma viride y Beauveria peruviansis frente a micelio y esclerocio de Sclerotinia sclerotiorum en condiciones in vitro.</i>	30
Tabla 2. <i>Escala de evaluación de deterioro e inhibición de brotamiento de hifas de esclerocios de Sclerotinia sclerotiorum asperjado con conidios de Trichoderma viride y Beauveria peruviansis.</i>	31
Tabla 3. <i>Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de micelio de S. sclerotiorum frente a micelio de T. viride y B. peruviansis.</i>	32
Tabla 4. <i>Análisis de varianza (ANOVA) para la inhibición de micelio y esclerocio de Sclerotinia sclerotiorum.</i>	34
Tabla 5. <i>Prueba de Tukey para la inhibición de micelio y esclerocio de Sclerotinia sclerotiorum</i>	34
Tabla 6. <i>Porcentaje de afectación a esclerocios de S. sclerotiorum asperjado de conidios de T. viride y B. peruviansis.</i>	45
Tabla 7. <i>Análisis de varianza (ANOVA) para la afectación de esclerocios de Sclerotinia sclerotiorum</i>	47
Tabla 8. <i>Prueba de Tukey para la afectación de esclerocios de Sclerotinia sclerotiorum</i>	47
Tabla 9. <i>Promedios del porcentaje de inhibición de crecimiento radial durante 168 horas</i>	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esclerocios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en medio PDA	28
Figura 2. Enfrentamiento dual de patógeno y antagonista	29
Figura 3. Porcentaje de inhibición de micelio y esclerocio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	34
Figura 4. Inhibición de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en relación del tiempo	35
Figura 5. Enfrentamiento dual entre micelio de <i>Trichoderma viride</i> y micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (mSs/mTv) (A) y Testigo (B) a 72 horas.....	36
Figura 6. Enfrentamiento dual entre micelio de <i>Trichoderma viride</i> y micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (mSs/mTv) (A) y Testigo (B) a 168 horas.....	36
Figura 7. Enfrentamiento dual entre micelio <i>Beauveria peruviansis</i> y micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (mSs/mBp) (A) y Testigo (B) a 72 horas.	37
Figura 8. Enfrentamiento dual entre micelio de <i>Beauveria peruviansis</i> y micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (mSs/mBp) (A) y Testigo (B) a 168 horas.	38
Figura 9. Enfrentamiento dual entre micelio de <i>Trichoderma viride</i> y esclerocio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (eSs/mTv) (A) y Testigo (B) a 72 horas.....	38
Figura 10. Enfrentamiento dual entre micelio de <i>Trichoderma viride</i> y esclerocio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (eSs/mTv) (A) y Testigo (B) a 168 horas.....	39
Figura 11. Enfrentamiento dual entre micelio de <i>Beauveria peruviansis</i> y esclerocio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (eSs/mBp) (A) y Testigo (B) a 72 horas.	40
Figura 12. Enfrentamiento dual entre micelio de <i>Beauveria peruviansis</i> y esclerocio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (eSs/mBp) (A) y Testigo (B) a 168 horas.	41
Figura 13. Efecto antagónico de <i>Trichoderma viride</i> , en hifas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ; donde se aprecia el incremento de volumen de células del patógeno (mSs/acTv).....	43
Figura 14. Destrucción de hifas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> por efecto de estrangulamiento de hifas de <i>Trichoderma viride</i> (mSs/acTv).....	43
Figura 15. Incremento de micelio de <i>Trichoderma viride</i> ; desaparición paulatina de hifas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (mSs/acTv).....	44
Figura 16. Hifa de <i>Beauveria peruviansis</i> parasitando células de hifas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (mSs/acBp).....	45
Figura 17. Afectación de esclerocios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en relación del tiempo	47

Figura 18. Antagonismo por aspersión de conidios de <i>Trichoderma viride</i> sobre esclerocios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> a 120 horas.....	49
Figura 19. Antagonismo por aspersión de conidios de <i>Trichoderma viride</i> sobre esclerocios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> a 240 horas.....	49
Figura 20. Antagonismo por aspersión de conidios de <i>Beauveria peruviansis</i> sobre esclerocios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> a 120 horas.....	50
Figura 21. Antagonismo por aspersión de conidios de <i>Beauveria peruviansis</i> sobre esclerocios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> a 240 horas.....	51
Figura 22. Cultivo dual a 168 horas de evaluación, micelio de <i>Trichoderma viride</i> frente a micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	64
Figura 23. Cultivo dual a 168 horas de evaluación, micelio de <i>Beauveria peruviansis</i> frente a micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	64
Figura 24. Cultivo dual a 168 horas de evaluación, micelio de <i>Trichoderma viride</i> frente a esclerocio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	66
Figura 25. Cultivo dual a 168 horas de evaluación, micelio de <i>Beauveria peruviansis</i> frente a esclerocio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	67
Figura 26. Instalación del experimento por aspersión de conidios de <i>Trichoderma viride</i> y <i>Beauveria peruviansis</i> sobre micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	68
Figura 27. Antagonismo por aspersión de conidios de <i>Trichoderma viride</i> sobre esclerocios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> a 240 horas.....	69
Figura 28. Antagonismo por aspersión de conidios de <i>Beauveria peruviansis</i> sobre esclerocios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> a 240 horas.....	70
Figura 29. Colecta de esclerocios para los ensayos de antagonismo (A), Desinfección de esclerocios (B).....	71
Figura 30. Desprendimiento de conidios de los hongos antagónicos mediante el agitador (A), Observación de muestras en el microscopio (B).	72

RESÚMEN

La presente investigación buscó determinar el efecto antagónico de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis* contra *Sclerotinia sclerotiorum* en condiciones in vitro. Se realizaron ensayos de enfrentamiento dual entre micelios de antagonistas y patógeno, aspersión de conidios sobre micelio y esclerocio del patógeno. En el primer experimento se observó diferencias significativas ($p < 0.0001$), destacando el T3(eSs/mTv) con 81.63% y T1(mSs/mTv) con 80.98% de inhibición. En la aspersión de conidios de antagonistas sobre micelio del patógeno el T5(mSs/acTv), mostró parasitismo mediante haustorios, degradando la pared celular del patógeno; mientras que el T6(mSs/acBp) el antagonista actuó por competencia y leve hiperparasitismo. En la evaluación sobre aspersión de conidios de antagonistas sobre esclerocios, el T7(eSs/acTv) mostro 92% de inhibición y el T8(eSs/acBp) 90%; concluyendo que *T. viride* deteriora esclerocios y limita el desarrollo de hifas, mientras que *B. peruviansis* solo limita el desarrollo de hifas en la superficie del esclerocio de *S. sclerotiorum*.

Palabras claves: *Trichoderma viride*, *Beauveria peruviansis*, *Sclerotinia sclerotiorum*, micelio, esclerocio, antagonismo, competencia, parasitismo, antibiosis.

ABSTRAC

The present research sought to determine the antagonistic effect of *Trichoderma viride* and *Beauveria peruviansis* against *Sclerotinia sclerotiorum* under in vitro conditions. Dual confrontation assays were performed between antagonist and pathogen mycelia, and conidial sprays were applied on the pathogen's mycelium and sclerotia. In the first experiment, significant differences were observed ($p < 0.0001$), with treatment T3((eSs/mTv) showing 81.63% and T1(mSs/mTv) 80.98% inhibition. In the conidial spray assay on the pathogen's mycelium, treatment T5(mSs/acTv) showed parasitism through haustoria, degrading the pathogen's cell wall, while in T6(mSs/acBp) the antagonist acted by competition and mild hyperparasitism. In the evaluation of conidia spraying of antagonists on sclerotia, T7(eSs/acTv) showed 92% inhibition and T8(eSs/acBp) 90%; concluding that *T. viride* deteriorates the sclerotia and limits hyphal development, while *B. peruviansis* only limits hyphal development on the surface of the sclerotium of *S. sclerotiorum* sclerotia.

Keywords: *Trichoderma viride*, *Beauveria peruviansis*, *Sclerotinia sclerotiorum*, mycelium, sclerotia, antagonism, competition, parasitism, antibiosis.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

A partir de las últimas décadas del siglo anterior, se ha intensificado el interés por la conservación del ambiente, por lo que se hace indispensable mantener en equilibrio los ecosistemas en beneficio de las futuras generaciones, una de las actividades que ha generado el desorden ecológico mundial, es el manejo de fitoenfermedades, utilizando agroquímicos, con consecuencias irreversibles para las diferentes formas de vida (Mondino & Vero, 2006).

En la agricultura mundial se están estableciendo nuevas actividades agrícolas producto de la investigación científica; como el uso de hongos, bacterias y virus con propiedades antagónicas contra los fitopatógenos comunes; así mismo se utilizan insectos parásitos, para reducir la población de plagas (Guédez et al., 2009).

El hongo polífago *Sclerotinia sclerotiorum*, se presenta en cultivos semestrales y anuales (Roncal, 2004), los efectos en cada uno de ellos ocasionan pérdidas económicas de consideración (Madloo et al., s.f.); su control se hace dificultoso debido a que forma un conglomerado de hifas en condiciones adversas, llamados esclerocios o estructuras de conservación que se mantienen viables por varios años, tanto en el suelo como en restos del cultivo (Ordóñez-Valencia et al., 2018). Este patógeno se caracteriza por tener hifas hialinas, septadas, ramificadas y multinucleadas; el micelio es de color blanco a bronceado, no produce conidios (Bolton et al., 2006); es capaz de infectar más de 400 especies de plantas, alterando significativamente el rendimiento (Dilantha Fernando et al., 2004).

La finalidad de la investigación es determinar el efecto antagónico que ejerce *T. viride* y *B. peruviansis* contra *S. sclerotiorum* en condiciones in vitro.

1.1. Descripción del problema

El Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) y sus centros experimentales como la Estación Experimental Agraria Baños del Inca y el Programa de Recursos Genéticos, están desarrollando investigaciones de mantenimiento y conservación de diversos cultivos andinos, dentro de los cuales destacan la kiwicha (*Amaranthus* spp.), yacón = llacón (*Smallanthus sonchifolius*), arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*), chago = mauka (*Mirabilis expansa*) y achica (*Canna indica*). En cada ensayo y de acuerdo a las condiciones ambientales, muestran susceptibilidad a diferentes patógenos.

El cultivo de kiwicha es afectado por *Sclerotinia sclerotiorum*; cuya patogénesis depende del periodo vegetativo de la planta; las infecciones en plantas en emergencia presentan chupadera; en estado vegetativo y reproductivo, este patógeno tiende a establecerse en el tejido esponjoso del tallo, causando caída de panoja y granos.

Para el control, el agricultor recurre al uso de productos químicos; sin embargo, estos han demostrado ser poco efectivos, generando efectos adversos. Como consecuencia, se observa un incremento del inóculo del hongo en cada campaña agrícola; lo que favorece el incremento de la población de *S. sclerotiorum*, afectando a otros cultivos, debido a que el patógeno es omnívoro. Frente a ello se ha visto necesario emplear alternativas sostenibles de manejo integrado de fitoenfermedades, como el uso de hongos antagonistas capaces de inhibir el desarrollo de *S. sclerotiorum*.

1.2. Formulación del problema

¿*Trichoderma viride* y *Beauveria peruviana*, tienen efecto antagonista sobre *Sclerotinia sclerotiorum* en condiciones in vitro?

1.3. Justificación

La investigación se justifica por la necesidad de encontrar alternativas biológicas sostenibles para el manejo de *Sclerotinia sclerotiorum*, hongo que ocasiona pérdidas económicas de consideración en diversos cultivos agrícolas y con la finalidad de evitar el uso de agroquímicos, que científicamente se ha demostrado que afecta el medio ambiente (agua, aire, suelo, flora y fauna) y la salud del hombre, se hace indispensable investigar el tratamiento de diferentes fitopatógenos con microorganismos antagónicos (*Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis*), debido a sus mecanismos de acción, entre ellos el micoparasitismo, la competencia por espacio y nutrientes y la inducción a resistencia.

En el Área de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, se desarrolló la presente investigación con el fin de determinar el efecto antagónico de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis*, contra *Sclerotinia sclerotiorum* en condiciones in vitro, con el propósito de generar conocimientos que contribuyan al desarrollo de estrategias de manejo biológico y a futuras investigaciones orientadas al control sostenible de enfermedades fungosas.

1.4. Objetivo general

Determinar el efecto antagónico de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis* contra *Sclerotinia sclerotiorum* bajo condiciones in vitro.

1.5. Hipótesis de la investigación

Trichoderma viride y *Beauveria peruviansis* inhiben el brotamiento de esclerocios, crecimiento y desarrollo del micelio de *Sclerotinia sclerotiorum* en condiciones in vitro.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes de la investigación

Bae & Knudsen (2007) realizaron estudios en campo durante dos temporadas demostrando que la eficacia de *Trichoderma* spp. en la colonización de esclerocios de *S. sclerotiorum* se ve influenciado por el patrón espacial de los esclerocios, la densidad del agente de biocontrol y los aditivos en formulación. La aplicación de *T. harzianum* encapsulado en pellets de alginato con aditivos como salvado o polietilenglicol, incrementó la colonización de esclerocios, aunque sin diferencias entre aditivos. Determinando que la mayor densidad de pellets (200 pellets/m² frente a 40 pellets/m²) permitió el aumento de colonización en una temporada; Además, los esclerocios dispuestos de manera altamente agregada fueron colonizados en mayor proporción que los dispuestos aleatoriamente.

Abdullah et al. (2008) en su investigación de control biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary con *Trichoderma harzianum* y *Bacillus amyloliquefaciens*; evaluaron un aislado de *Trichoderma harzianum* y dos de *Bacillus amyloliquefaciens* en condiciones in vitro e in vivo. Concluido el trabajo se determinó que ambos hongos antagonistas inhiben el crecimiento de micelios y la formación de esclerocios. *T. harzianum* mostró micoparasitismo, mientras que las cepas de *B. amyloliquefaciens* actuaron a través de antibiosis. En pruebas in vivo, estos antagonistas protegieron más del 80% de las plántulas de tomate, calabaza y berenjena inoculadas con *S. sclerotiorum*.

Ibarra-Medina et al. (2010) investigaron la capacidad micoparasítica de 71 cepas de *Trichoderma* (IBA), aislados de suelos agrícolas y forestales, contra *Sclerotinia sclerotiorum* y *S. minor*; esta investigación se condujo en cultivos duales “in vitro”, utilizando micelio y esclerocios de los patógenos. Los aislamientos IBA-3, IBA-4, IBA-38 e IBA-54 mostraron más del 90% de colonización sobre ambos patógenos, cuya agresividad en la parasitación y degradación de esclerocios fue notable en varios aislamientos, especialmente con IBA-3, IBA-4, IBA-23, IBA-38, IBA-46, IBA-54 e IBA-56. Cuatro de los aislamientos más destacados fueron identificados como *T. viride* (IBA-4), *T. pseudokoningii* (IBA-23), *T. harzianum* (IBA-38) y *T. virens* (IBA-46), los cuales tienen un alto potencial como antagonistas de *S. sclerotiorum* y *S. minor*.

Ordoñez Valencia (2014) evaluó la acción antagonista de *Trichoderma viride* frente a *S. sclerotiorum* y su interacción con los agentes químicos iprodione y bicarbonato de potasio (KHCO₃). En condiciones in vitro se observó que *T. viride* presentó la mayor capacidad inhibitoria sobre el crecimiento micelial y formación de esclerocios, a través de la producción de enzimas hidrolíticas. Mediante microscopia óptica y electrónica de barrido se comprobó que *T. viride* destruye las estructuras internas de los esclerocios tras un periodo prolongado de interacción. Además, este antagonista fue más tolerante a KHCO₃. Concluyendo que *T. viride* y KHCO₃ en combinación tienen mejor control que el fungicida Iprodione.

Martínez-Martínez et al. (2020) en su investigación de “Antagonismo de *Trichoderma harzianum* contra la fusariosis del garbanzo y su efecto biofertilizante, determinaron que la necrosis del hospedero no solo es causada por *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, sino también por *Macrophomina phaseolina* y *Sclerotium rolfsii*, por tanto, evaluaron el antagonismo que ejercen dos cepas de *Trichoderma harzianum* (T1 y T2). Concluida la investigación determinaron que ambas cepas de *Trichoderma* son

antagónicas en diferentes grados a estos fitopatógenos. Además, se demostró el efecto biofertilizante, obteniendo plantas vigorosas, con incremento de flores (30%), vainas (24%), altura (3%), diámetro del tallo (3.5%), longitud de la raíz (13%) y el rendimiento de grano (23%).

Michel-Aceves et al. (2019) evaluaron la capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. nativa, contra *Phytophthora parasitica* y *Fusarium oxysporum* aislados de cultivos de Jamaica. Determinando que cinco cepas de *Trichoderma* sobrecrecieron, cubriendo el 100% de micelio de *P. parasítica*; mientras que contra *F. oxysporum*, el crecimiento fue del 66%. Las cepas de *Trichoderma* spp., de mejor comportamiento antagónico contra *F. oxysporum*, fueron *T. inhamatum* (cepa 14) con 95% de inhibición, seguido por las cepas Ti14 y Ta10. Resultados que conducen a utilizar cepas de *Trichoderma* spp., para controlar “Pata Prieta”.

Ezziyyani et al. (2004) en su estudio sobre “*Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.)”; determinó que *Trichoderma harzianum*, desarrollado en Agua-Avena-Vermiculita, utilizado en condiciones “in vitro”, contra el patógeno, se demostró el efecto de enzimas hidrolíticas, competencia por nutrientes y micoparasitismo, reduciendo significativamente la colonia del patógeno. Este mismo principio ocurrió en condiciones “in vivo”; las plantas tratadas con *T. harzianum* mostraron mayor peso seco y una reducción del 65% de la enfermedad.

En el trabajo de Romero-Cortes et al. (2016) denominada modelado cinético del micoparasitismo por *Trichoderma harzianum* contra *Cladosporium cladosporioides* aislado de frutos de cacao (*Theobroma cacao*), se demostró que la cepa de *Trichoderma harzianum* VSL291, a los siete días del enfrentamiento contra el patógeno, mostró

76.29% de inhibición, por acción de enzimas proteolíticas: β -1,3 glucanasas, quitinasas, lipasas, proteasas y xilanasas, contra el patógeno principal y otras cepas fungosas.

Duarte-Leal et al. (2018) evaluando antagonismo in vitro de aislamientos de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a *Sclerotium rolfsii* Sacc., aislado de frijol (*Phaseolus vulgaris*); utilizando el método de cultivo dual, determinaron el efecto de antibiosis, competencia por nutrientes y micoparasitismo. En la mayoría de las cepas antagónicas se evaluó el grado 2 en la escala de Bell, siendo la cepa Ta.17 la única con grado 5. Las cepas Ta.28, Ta.13 y Ta.90 mostraron el mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *S. rolfsii*. La cepa Ta.28 destacó en competencia por nutrientes; la Ta.90 mostró mejor capacidad de micoparasitismo. Concluyendo que las cepas Ta.13, Ta.28 y Ta.90 son prometedoras para el biocontrol de *S. rolfsii* en cultivos de frijol.

González Rodríguez et al. (2005) evaluaron la efectividad de *Trichoderma* spp. para el control de hongos patógenos de la semilla y el suelo en el cultivo del frijol. Se utilizó cepas de *Trichoderma harzianum* (A-34), *Trichoderma viride* (C-66) y un testigo sin biopreparado; en ensayos in vitro y campo; reportando que las cepas de *Trichoderma* inhiben el crecimiento y desarrollo de *Rhizoctonia solani* hasta el 99%, mientras que *T. viride* (C-66) mostró efectividad contra *Macrophomina phaseoli* en el orden de 97,4%. En campo, el tratamiento C-66 aplicado al suelo en siembra y dos veces más cada 15 días fue el más efectivo.

Hoyos-Carvajal et al. (2008) estudiaron la actividad micoparasítica de 73 aislamientos de *Trichoderma* spp., contra tres aislamientos de *Sclerotinia* spp. y dos de *Rhizoctonia* spp. La investigación se realizó en condiciones “in vitro”, dispuestos en cultivos duales; analizando los resultados con la prueba de Kruskal-Wallis. Reportan

que *T. asperellum* T51 y *T. harzianum* T53, combatieron a los fitopatógenos. En cambio *T. harzianum* T21 mostró un bajo grado de antagonismo.

Echeverry Prieto et al. (2020) investigando el efecto de tres cepas de *Trichoderma* spp. (B, D, F), y tres cepas de *Aspergillus* spp (A, C, E) para controlar *Sclerotinia* sp., causante del 50% de pudrición blanca en lechuga, en Colombia, reportan que el efecto de las cepas antagónicas en forma individual y en consorcio tienen efecto antagónico contra el patógeno. Así los consorcios A+C+B, A+C+D y A+C+F mostraron inhibición, siendo A+C+D el más eficaz con un 85% de inhibición. La cepa de “D” de *Trichoderma* y la cepa “A” de *Aspergillus* lograron un 96% de inhibición de *Sclerotinia* sp.

Gonzalez-Chingaté et al. (2019) en la Universidad de Cundinamarca, evaluaron la efectividad antagónica de *Trichoderma* sp., contra hongos fitopatógenos en el cultivo de maíz (*Zea mays*); destacando roya, así como también *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Verticillium* sp. y actinomicetos causantes de pudrición blanda. La roya se mostró con alta incidencia y severidad, alcanzando 100%. La efectividad de *Trichoderma* sp., fue contra *Verticillium* sp., con 49% de antagonismo.

Jaimes Suárez et al. (2009) realizaron un trabajo de “Inducción de resistencia sistémica contra *Fusarium oxysporum* en tomate por *Trichoderma koningiopsis* Th003”; determinando que existe eficacia de control de la cepa antagónica contra el patógeno. El proceso de la investigación consistió en inocular *T. koningiopsis* Th003, en una porción de raíces de tomate, 96 horas antes de inocular *F. oxysporum*, este método permitió reconocer que *T. koningiopsis* Th003, genera respuestas sistémicas de defensa en la planta de tomate.

Garrido Rondoy & Nasstie Vilela (2019) evaluaron la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia* spp., *Nakatea sigmoidea* y *Sclerotium*

rolfsii y su efecto en cepas nativas de *Trichoderma* spp., aisladas de cultivos de arroz. La cepa de *T. harzianum*, mostró actividad antagónica e hiperparasítica contra *Rhizoctonia* spp. con enrollamiento y penetración de hifas; contra *N. sigmoidea* mostro solo enrollamiento y nulo efecto contra *S. rolfsii*. Referente al efecto de la cepa antagónica comercial, contra 14 cepas nativas de *Trichoderma* spp., se evidenció que la cepa comercial no afecta a las cepas nativas; pero si supera en la producción de inóculo en 29.53%.

Según el estudio de Leon Ttacca et al. (2018) *Peronospora variabilis*, es la principal enfermedad que afecta a la quinua en el altiplano peruano, reduciendo su rendimiento hasta en un 99%. Utilizaron 10 cepas de *Trichoderma* spp., contra *Peronospora variabilis* Gäum., causante del mildiu en quinua, variedad Salcedo INIA, reportando que la cepa T10, tubo 60% de parasitismo endofítico, seguido por la cepa T3, con 56.67% y T2 con 43.33%. Los tratamientos tratados con las cepas T1, T3 y T2 mostraron menor severidad de mildiu y mayores rendimientos de grano (3127.30, 3029.12 y 2866.57 kg/ha) en comparación con el testigo (1141.27 kg/ha).

Pérez & García-Godos (2019) realizaron un estudio titulado Identificación del agente causal del marchitamiento en *Caesalpinia spinosa* “tara” y el efecto antagónico de aislados de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* sp., con el objetivo de identificar el patógeno responsable del marchitamiento vascular en tara y evaluar microorganismos antagonistas para su control. Se colectaron 27 cepas de hongos filamentosos mediante el método de Pitt. Los ensayos in vitro enfrentaron cepas de *Fusarium* spp. con dos cepas de *Trichoderma* sp. y 18 de *Bacillus* spp. Reportando que las cepas de *Bacillus* spp. (TBa 4, TBa 6, TBa 9, TBa 11 y TBa 18), en contacto directo contra el patógeno tuvieron comportamiento inhibitorio de 88.9% a 93.3%. Mientras que, en cultivo dual, los tratamientos con *Bacillus* sp., (TBa 4, TBa 6, TBa 11 y TBa 18); inhibieron a *Fusarium*

spp., en el orden de 90.0% a 92.2%. Las cepas de *Trichoderma* sp., inhibieron al patógeno en el orden de 74.4% a 77.8%.

Montoya et al. (2016) en su investigación, referente a la expresión de la enzima β -1,3-Glucanasas del hongo *Beauveria bassiana*; cultivado en extractos de *Peronospora variabilis* y *Fusarium oxysporum*; se determinó que la enzima en mención tiene mayor capacidad inhibitoria contra *F. oxysporum* y menor contra *P. variabilis*.

Ríos Da Silva et al. (2020) en su trabajo de investigación bajo diseño estadístico (DCA), de eficacia de los entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, contra insectos plaga de col y lechuga, cultivados en sistema acuapónicos, en tanques con el pez cachama roja (*Piaractus brachypomus*); se determinó que la aplicación de los entomopatógenos en combinación, causaron la muerte de 73% y 79% de *Bemisia tabaci*, en haz y envés de lechuga respectivamente y *B. bassiana* en forma individual causó la muerte de 84% de *Brevicoryne brassicae*, en col y *M. anisopliae* causó la muerte de 88% de *B. brassicae*.

Pariona et al. (2007) aislaron y caracterizaron cuatro cepas de *Beauveria* sp. (ABvPr11, ABvPr8, ABvPr3 y ABvSr4) de langostas (*Schistocerca piceifrons peruviana*) procedentes de Huamanga – Ayacucho. Las cuatro cepas de *Beauveria* sometidas en concentración de 10^8 conidios por mililitro mostraron 100% de mortalidad entre 12, 14 y 16 días; destacando la cepa ABvPr11 con 90% de mortandad; la ABvSr4, con 74%; la ABvPr8 con 72% y ABvPr3 con 64.6%.

Valbuena Puentes et al. (2021) evaluaron el efecto de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, contra el parásito conocido como oveja ked o falsa garrapata (*Melophagus ovinus*); se diseñó un ensayo con tres tratamientos T1 (3.2×10^8 conidios/ml), T2 (3.2×10^8 conidios/ml + 5% de azúcar) y T control (agua destilada).

Concluida la investigación se determinó que, a partir de los 14 días ocurre la mortandad del parásito en un 90%.

El estudio realizado por Chaccara (2021) utilizando *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*, contra *Sclerotinia sclerotiorum* en alcachofa, se determinó que ambos microorganismos tuvieron comportamiento antagónico, disminuyendo la severidad en el orden de 10 y 12.5% respectivamente.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Mecanismos de acción de hongos antagónicos

Howell (2003), menciona que los microorganismos antagónicos utilizan diversos mecanismos de acción contra el agente etiológico patogénico. Los mecanismos utilizados para dicho fin son la competencia por espacio, nutrientes, producción de metabolitos antibióticos, micoparasitismo e inducción de resistencia a la planta (Ezziyyani et al., 2004; Howell, 2003).

a) Competencia

La competencia entre antagonista y patógeno se da por espacio y nutrientes (Chavez, 2006); compitiendo por hierro (Fe), nitrógeno (N) y potasio (K) (Jensen y Lumsden, 1999, citado por Ordoñez, 2014). Al tratarse de espacio, el patógeno tiene dificultad para instalarse en el tejido vegetal, debido a la población del antagonista (Howell, 2003).

b) Antibiosis

Esta actividad ocurre cuando hay producción de metabolitos inhibidores (toxinas y enzimas), que intervienen impidiendo el crecimiento y desarrollo del fitopatógeno (Roncal, 2004; Martínez et al., 2013).

Howell y Stipanovic (1995), citado por Quiroz-Sarmiento et al. (2008) reportan

que en el suelo existen diversos microorganismos que poseen capacidad antagonica, contra fitopatógenos, destacando *Trichoderma* spp.

Los microorganismos antagonicos, para utilizar a los fitopatógenos, como alimento, utilizan enzimas que degradan sus paredes celulares, destacando las enzimas quitinasas, celulasa, B-1,3-glucanasa y proteasa, las cuales se encargan de romper las estructuras del patógeno para así poder parasitarlo. (Ezziyyani et al., 2004; Montoya et al., 2016).

c) Micoparasitismo

Fenómeno en el que un hongo coloniza a otro. Para que ocurra este principio el micoparasítico reconoce a células especiales del hospedero para iniciar el ataque y posterior penetración, provocando la muerte del hospedero (Benitez et al., 2004). Este proceso ocurre a través de enzimas generadas por el antagonista (Mukherjee y col, 2004), destacando las glucanasas y quitinasas, para degradar a los compuestos de las paredes celulares como los β – glucanos y quitina (Howell, 2003).

Martínez et al. (2013) reportan que, en el proceso de interacción entre el antagonista y patógeno ocurren etapas bien definidas. La primera comprende el crecimiento de la hifa a través del quimiotrofismo (el antagonista detecta a distancia a sus posibles hospederos, de acuerdo al componente químico que requiere como alimento); la segunda fase corresponde al reconocimiento de estructuras somáticas del patógeno que utilizará como alimento; la tercera fase comprende la adhesión y enrollamiento (ocurre por la detección de un azúcar en la pared celular del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno) y la cuarta fase, es la actividad lítica (degradación de paredes celulares del patógeno por acción de enzimas líticas extracelulares como las quitinasas,

glucanasas y proteasas; posibilitando la penetración de hifas del antagonista).

d) Inducción de resistencia

La inducción a resistencia a infecciones está relacionada con mecanismos de defensa intrínsecos, debido a que se activan moléculas activadoras de defensa (Howell, 2003), como proteínas, péptidos y compuestos de bajo peso molecular (Viterbo et al., 2007, citado en Ordoñez, 2014).

Martínez et al. (2013) reporta que las cepas de *Trichoderma* spp., mediante la producción de metabolitos, potencian los mecanismos de defensa de las plantas ante el ataque de diferentes agentes etiológicos, haciéndolas resistentes a enfermedades.

Diferentes especies de *Trichoderma* spp., son capaces de producir auxinas y giberelinas, fitohormonas que intervienen en diversos procesos de crecimiento y desarrollo de los cultivos (Andrade-hoyos et al., 2023).

2.2.2. Generalidades de *Trichoderma viride*

Este microorganismo fungoso, probablemente existe en nuestro planeta hace diez millones de años, siendo reconocido su bondad antagónica en la década de los años setenta del siglo XX (Gupta et al., 2014). El hábitat natural de las diferentes especies de *Trichoderma* spp., se encuentran en bosques y suelos agrícolas bajo temperaturas de 25 a 30°C, además tienen bajo requerimiento nutricional (Sandle, 2014).

Taxonómicamente integra la clase forma Deuteromycetes, orden forma Moniliales, familia forma Moniliaceae, género *Trichoderma* (Barnett y Hunter, 1998); destacan las especies *T. harzianum*, *T. viride*, *T. virens*, *T. martiale*, *T. asperellum*, *T. lignorum*. (Gómez et al., 2013).

2.2.2.1. Características macroscópicas de *Trichoderma viride*

Inicialmente el micelio de las colonias en medio de cultivo sintético se observa de color blanco, posteriormente se torna de verde amarillento, terminando de color verde (Barnett & Hunter, 1998).

Las colonias en medio de cultivo PDA (Andrade et al., 2019), con pH de 4 a 7 e incubados entre 20 a 30°C, a los cinco días muestran micelio algodonoso (Akiyama, 2017), observándose el reverso de las placas de Petri, incolora, beige, amarillo ambar o amarillo verdoso (Gams et al., 1998, citado en Howell, 2003); la producción de conidios en el medio de cultivo se aprecia en forma de anillos concéntricos (Arango et al., 1988).

2.2.2.2. Características microscópicas de *Trichoderma viride*

Morfológicamente, presentar hifas septadas, de estas se diferencian células que dan origen a conidióforos ramificados, cada rama da origen a fiálides, en cuya parte terminal se diferencia y desarrolla conidios unicelulares, que se mantienen agrupados en una sustancia gelatinosa (Barnett & Hunter, 1998).

- **Los Conidióforos:** erectos, hialinos, con ramificación piramidal, no verticilados, estas ramificaciones terminan en fiálides solitarios o en grupos (Barnett & Hunter, 1998).
- **Conidios:** unicelulares, ovoides, hialinos, lisos; agrupados en cabezuelas en la porción terminal de la fiálide; que a medida que maduran se tiñen de verde claro (Barnett & Hunter, 1998).
- **Fiálide:** en forma de botella, pueden ser únicas o en grupos, verticiladas y algunas especies poseen apéndices terminales en el extremo del conidióforo (Barnett & Hunter, 1998).

Trichoderma spp., tiene la particularidad de secretar enzimas exógenas que le permiten actuar como biopesticidas (Acurio & España, 2017), además de producir enzimas promotoras de crecimiento vegetal y compuestos volátiles (Hernández-Melchor et al., 2019).

La actividad antagonica de *Trichoderma* involucran mecanismos de acción como micoparasitismo, antibiosis, competencia por nutrientes, desactivación de enzimas del patógeno, resistencia inducida, etc. (Chiriboga et al., 2015; Hernández-Melchor et al., 2019; Infante et al., 2009). Además, otorga a las plantas resistencia sistémica ante las enfermedades, mejorando su desarrollo de la planta (Ghazanfar et al., 2018; Guzmán-Guzmán et al., 2019, citado en Michel-Aceves et al., 2019).

Trichoderma es considerado uno de los hongos más importantes como controlador biológico, por actuar eficientemente en un amplio rango de hongos fitopatógenos; cuando se aplica al suelo, coloniza el sistema radicular, alimentándose de exudados, formando de esta manera una capa protectora tipo simbiosis; además por la forma de alimentarse del hongo patógeno, se tipifica como hiperparásito; compite por nutrientes a través de la producción de metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas produciendo sustancias promotoras de crecimiento celular (Navarrete Ramos & Tello Gonzales, 2018).

Trichoderma produce enzimas como: quitinasas, glucanasas y proteasas encargadas de la degradación de la pared celular del hospedante (Harán et al., 1996), posibilitando que las hifas de *Trichoderma* se adhieren a las hifas del hospedante, enrollándose para luego penetrar y crecer dentro del micelio, dejando a las hifas del hospedante vacuoladas; generando la reducción, colapso y desintegración de las mismas (Chet et al., 1981).

2.2.3. Generalidades de *Beauveria peruviansis*

En el control biológico los hongos entomopatógenos constituyen un grupo muy importante; debido a que la mayoría de insectos son susceptibles a estos. Aproximadamente se conoce 100 géneros y 700 especies de hongos entomopatógenos, entre los cuales sobresale *Beauveria* (Monzón, 2001). El género *Beauveria*, como hongo imperfecto, es capaz de infectar más de 200 especies de insectos; en medio de cultivo tiene apariencia polvosa de color blanco o amarillo cremoso (INTAGRI, 2016).

La especie *Beauveria peruviansis* fue aislada de la broca de café, encontrándose en frutos de plantaciones de café de la región amazónica en el noreste del Perú y solo se encontró la etapa asexual; esta especie morfológicamente es muy similar a *Beauveria bassiana*, pero difieren en la relación filogenética hermana (Bustamante et al., 2019).

El micelio de *Beauveria peruviansis* se encuentra muy adherido a la superficie de agar, teniendo 3.5 mm de espesor, de color blanco cambiando a blanco amarillento conforme va envejeciendo; los conidios se encuentran en racimos esféricos de 0.1 mm, con hifas septadas, ramificadas hialinas y de paredes lisas (Bustamante et al., 2019).

2.2.3.1. Características macroscópicas de *Beauveria peruviansis*

Este hongo crece en medio de cultivo específico (PDA) formando una estructura algodonosa conocida como muscardina blanca y cuando la colonia va envejeciendo se torna de color crema amarillenta. Cuando el hongo está en crecimiento el centro es de color rojizo y amarillo alrededor (Chiriboga et al., 2015).

2.2.3.2. Características microscópicas de *Beauveria peruviansis*

Morfológicamente se caracteriza por presentar micelio blanco, hifas septadas, conidióforos simples en forma de botella, en cuya parte terminal desarrolla una

estructura filiforme de crecimiento indefinido en zigzag, debido a la diferenciación, crecimiento y desarrollo de conidios unicelulares ovoides, en forma secuencial (Barnett & Hunter, 1998). Las hifas tienen de 1 a 2 μm de diámetro, conidios esféricos y ovoides de 2 a 3 μm insertas en una estructura especial denominada raquis (Chiriboga et al., 2015).

En información difundida por INTAGRI (2016) se menciona que *Beauveria* tiene vida patogénica y saprofita, capaz de infectar más de 200 especies de insectos. El comportamiento patogénico, de *Beauveria* spp., ocurre en etapas:

- a) Adhesión: contacto del conidio con el integumento del insecto.
- b) Germinación del conidio: para que ocurra la germinación, el conidio requiere de 92 % de humedad relativa y 23 a 25 °C; posterior a este proceso ocurre la formación del apresorio u órgano sujetador.
- c) Penetración: el tubo germinativo gracias al apresorio, crece y desarrolla, invadiendo los tejidos blandos del hospedero; principio que ocurre por acción enzimática, destacando las proteasas, lipasas y quitinasas.
- d) Producción de toxinas: las hifas que han invadido el tejido blando del insecto producen toxinas como la Beauvericina, que afecta el sistema inmunológico del insecto; así también las beauvericin, beauverolides, bassianolide, isarolides, ácido oxálico y los pigmentos tenellina y bassianina; que tienen propiedades insecticidas.
- e) Muerte del hospedero: el hongo al colonizar a los diferentes órganos vitales; ocasiona la muerte del insecto.
- f) Multiplicación y crecimiento del entomopatógeno: después de la muerte del

insecto, el hongo sigue creciendo y desarrollando, produciendo inóculo, fácilmente diseminado por el viento (INTAGRI, 2016).

2.2.4. Generalidades de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary

Sclerotinia sclerotiorum, hongo necrótrofo, de la familia Sclerotiniaceae; afecta diversos cultivos (Bolton et al., 2006); se han determinado 250 especies, del género *Sclerotinia*, cuyas infecciones causan pérdidas económicas de consideración (Saharan & Mehta, 2008); como hongo polífago, se estima que infecta a más de 400 especies cultivadas, de preferencia dicotiledóneas (Bolton et al., 2006). La fitoenfermedad es conocida como moho blanco, podredumbre blanda acuosa, podredumbre algodonosa, pudrición por *Sclerotinia* (Bolton et al., 2006; Roncal, 2014); en condiciones adversas forman estructuras de conservación llamadas esclerocios, inóculo que se mantiene viable en el suelo por varios años (Bolton et al., 2006; Ordoñez-Valencia et al., 2018).

2.2.4.1. Taxonomía de *Sclerotinia sclerotiorum*

En estado teleomorfo se ubica en el reino Hongos, phylum Ascomycota, clase Discomycetes, orden Helotiales, familia Sclerotiniaceae, género *Sclerotinia* y especie *Sclerotinia sclerotiorum* (Bolton et al., 2006) y en la fase anamorfa pertenece a la clase forma Deuteromycetes, orden forma Micelio Esteril o Agonomycetales, familia forma Agonomycetaceae y género *Sclerotinia* = *Wetzelinia* (Roncal, 2004).

2.2.4.2. Colonización y fases patogénicas de *Sclerotinia sclerotiorum*

El principal inóculo son los esclerocios, que en condiciones de humedad relativa superior al 75% y temperatura variable de 8 a 25°C, brotan siempre y cuando encuentren órganos susceptibles de los diferentes cultivos. El inicio de las infecciones ocurre, cuando la célula terminal de la hifa somática, penetra el tejido del hospedero, por acción de un complejo de enzimas del orden de las poligalacturonasas, quienes degradan el

ácido galacturónico, componente de las paredes celulares del hospedero, generando agua; de allí el síntoma de pudrición acuosa (Roncal, 2004); el tejido macerado, es el substrato fuente de alimento del hongo (Hegedus & Rimmer, 2005); característica que permite categorizarlo como necrófago (Roncal, 2004).

S. sclerotiorum, como patógeno omnívoro, afecta al hospedero en sus diferentes estados fenológicos (Živković et al., 2016). En las primeras infecciones el hongo se alimenta de los tejidos degradados, por lo que se considera que tiene comportamiento saprófito. Con la formación de micelio, desarrollo y crecimiento de hifas en forma intra e intercelular en los tejidos que conforman los órganos del hospedero, genera ácido oxálico, moléculas de oligo-galacturónidos y péptidos, limitando de esta manera la síntesis de metabolitos de defensa de la planta; posterior a este proceso, interviene el complejo enzimático conformado por enzimas del orden de las poligalacturonasas (SSPG1) y proteasa (ASPS), degradando de esta manera paredes y membranas celulares (Hegedus & Rimmer, 2005).

En la fase saprofita, la fisiología del hongo se altera y disminuye los niveles de Adenosín monofosfato cíclico (AMPC, cAMP), como glucosa; de esta manera se reprime la síntesis de enzimas hidrolíticas, generando un ambiente ácido debido a la secreción de ácido oxálico promoviendo el desarrollo de las estructuras de conservación del patógeno (esclerocios) (Hegedus & Rimmer, 2005).

2.2.4.3. Ciclo de vida de *Sclerotinia sclerotiorum*

Cuando el hongo cumple la fase patogénica en el hospedero, por falta de alimento; las hifas se agrupan desordenadamente, formando un tejido plectenquimático compacto, denominado esclerocio, cubierto de melanina (Roncal, 2004), estructuras que por naturaleza se quedan en el suelo por años (Madloo et al., s.f.), que bajo condiciones de

humedad, temperatura y hospedero susceptible, brotan hifas, formando micelio algodonoso de color blanco (Roncal, 2004); éstas en contacto de órganos del hospedero, inician la infección seguido por el proceso característico de la patogénesis (Marques et al., 2016, citado en Chaccara, 2021).

La fase teleomorfa de *S. sclerotiorum*, aún no se reporta en Perú; posiblemente también ocurra en los países vecinos; en cambio en Europa y en el Hemisferio Norte, si es factible observar a los ascocarpos en apotecios pedunculados, emergiendo de los esclerocios; el himenio de cada apotecio está constituido por miles de ascas, con ocho ascosporas (Roncal, 2004); calculando en diez millones de unidades por cuerpo fructífero (Madloo et al., s.f.), constituyendo inóculo de fácil diseminación, por el viento, agua, el hombre y animales (Marques et al., 2016, citado en Chaccara, 2021).

2.2.4.4. Estructuras de conservación de *Sclerotinia sclerotiorum*

La estructura de conservación son esclerocios, de consistencia dura y resistente (Martínez, 2008), constituyen el inóculo ideal de menor vulnerabilidad en condiciones adversas, permaneciendo viable por varios años, en el suelo (López, 2010).

Christias y Lockwood (1973), como se citó en Peluffo (2010), menciona que los esclerocios en su desarrollo se caracterizan por presentar 3 estadios: a) Iniciación, etapa en la que las hifas forman masas algodonosas, b) Desarrollo, periodo de crecimiento y ramificación de hifas y c) Maduración, delimitación superficial, consolidación interna y melanización celular.

2.2.4.5. Síntomas causados por *Sclerotinia sclerotiorum*

Las infecciones ocurren desde el proceso de germinación de semillas, causando el síntoma denominado chupadera fungosa pre y post emergente; a nivel de planta los

órganos vulnerables son raíces, ramificaciones y cuello de la planta, quienes se muestran acuosos por acción de enzimas de orden de las poligalacturonasas (Roncal, 2004).

Hojas y frutos que prosperan a nivel del suelo son afectados, mostrándose macerados; las infecciones progresan a los pedúnculos, llegando a comprometer al tallo principal, cuyas necrosis se tiñen de color marrón claro a oscuro, que en corte transversal deja ver el micelio, formando masas algodonosas y dentro de estas la formación paulatina de esclerocios multiformes de color negro (Bolton et al., 2006).

2.3. Definición de términos

Antagonismo: relación entre diferentes organismos, en la que uno inhibe parcial o totalmente el crecimiento del otro (Gasparotho et al., 2012).

Apresorio: órgano aplanado, hifal, a partir del cual crece un pequeño botón de infección, que entra en la célula epidérmica del huésped (Alexopoulos & Mims, 1985). Extremo hinchado de una hifa o tubo germinativo que facilita la fijación y penetración de un hongo en su hospedante (Agrios, 2005).

Asca: célula en forma de saco de una hifa que pasa por meiosis y que contiene a las ascosporas (por lo común, ocho) (Agrios, 2005).

Ascocarpio: cuerpo fructífero que contiene ascas (Alexopoulos & Mims, 1985).

Ascospora: espora que se produce sexualmente en un asca (Agrios, 2005).

Conidio: espora asexual no móvil, que suele formarse en el ápice o en el lado de una célula esporógena; en algunos casos una célula hifal preexistente puede convertirse en un conidio (Alexopoulos & Mims, 1985).

Conidióforo: hifa especializada sobre la cual se forman uno o más conidios (Agrios, 2005).

Control biológico de enfermedades: destrucción parcial o total de las poblaciones del patógeno por medio de otros organismos (Agrios, 2005).

Diagnosia fitopatológica: proceso mediante el cual se identifica y determina la causa de una enfermedad en los cultivos (Roncal, 2004).

Enfrentamiento dual: Técnica utilizada para evaluar la interacción directa entre un organismo antagonista y un patógeno en condiciones controladas, generalmente en un medio de cultivo.

Esclerocio: cuerpo de resistencia, duro, resistente a condiciones desfavorables, que puede permanecer en reposo durante periodos de tiempo largos y germinar al volver las condiciones favorables (Alexopoulos & Mims, 1985).

Fiálida: tipo de célula conidiógena que puede produce conidios blásticos de una manera basípeta, sin un aumento detectable de su longitud (Alexopoulos & Mims, 1985).

Fitoenfermedad: es la alteración que causa un patógeno en las células de los órganos de la planta, desequilibrando las cadenas fisiológicas, se dice que este proceso no utiliza la energía física (Roncal, 2004).

Haustorio: órgano de absorción que se origina en una hifa del parásito y penetra en una célula del huésped (Alexopoulos & Mims, 1985).

Hifa: unidad estructural de la mayoría de hongos; es un filamento tubuloso (Alexopoulos & Mims, 1985).

Hipertrofia: agrandamiento excesivo de las células (Alexopoulos & Mims, 1985).

Micelio: masa de hifas que constituyen el cuerpo vegetativo del hongo (Alexopoulos & Mims, 1985).

PDA: medio de cultivo, constituido por papa, dextrosa y agar.

Patógeno: seres vivos, macro y microscópicos, conformados por hongos, bacterias, líquenes, fanerógamas, algas, micoplasmas, nematodos, parásitos y partículas virus que viven a expensas de un hospedero ocasionándoles daño (Roncal, 2004).

Septo: pared transversal de una hifa (Alexopoulos & Mims, 1985).

Síntoma: es el daño que ocasiona un patógeno a los diferentes órganos de su hospedero, los síntomas pueden ser generalizados o localizados, externos o internos, macroscópicos o microscópicos (Roncal, 2004).

Susceptibilidad: incapacidad de una planta para resistir el efecto de un patógeno u otro factor perjudicial (Agrios, 2005).

Tubo germinativo: crecimiento inicial del micelio debido a la germinación de las esporas de un hongo (Agrios, 2005).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación geográfica del trabajo de investigación

El trabajo de investigación se desarrolló principalmente en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, donde se realizó el aislamiento, purificación y multiplicación de *Sclerotinia sclerotiorum*; además del enfrentamiento dual entre los hongos antagonistas (*Trichoderma viride*, *Beauveria peruviansis*) y el patógeno (*S. sclerotiorum*). Este laboratorio se encuentra situado a 2700 m de altitud y a 3.5 km distante de la ciudad de Cajamarca, carretera Baños del Inca, 7° 10' 48'' de latitud sur y 78° 06' 48'' de longitud oeste.

En campo, se colectaron muestras de tallos con síntomas de *Sclerotinia sclerotiorum* que se obtuvieron del cultivo de kiwicha, perteneciente al banco nacional de germoplasma de kiwicha de la Estación Experimental Agraria Baños del Inca del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) que se encuentra ubicada en el Anexo Experimental Cochamarca, distrito de Gregorio Pita, provincia de San Marcos, departamento de Cajamarca. La parcela se encuentra situada a 46 km y 800 m de la ciudad de Cajamarca, teniendo como características geográficas: altitud 2820 m s. n. m. 7° 16' 5'' de latitud sur y 78° 13' 09'' de longitud este.

La presente investigación es de tipo experimental, ya que se realizó la manipulación de variables de manera controlada.

3.2. Materiales

3.2.1. Material biológico

Cepas de hongos antagonistas: *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis*.

Cepa del hongo fitopatógeno: *Sclerotinia sclerotiorum*

Plantas enfermas de kiwicha (*Amaranthus* spp.).

3.2.2. Materiales y equipos de campo

Libreta de apunte, etiquetas de identificación, plumón indeleble, bolsas ziploc de 5x7, cinta de embalaje, cutter, tijera de podar.

3.2.3. Materiales y equipos de laboratorio

3.2.3.1. Equipos de medida, esterilización y asepsia

Autoclave, estufa, incubadora, cámara de flujo laminar, balanza digital, cocina eléctrica encendedor, cámaras húmedas de plástico de 1000 CC., 500 CC. y 250 CC. mecheros, pulverizador manual.

3.2.3.2. Equipo óptico

Lupa, estereoscopio, microscopio compuesto y cámara fotográfica.

3.2.3.3. Materiales de vidrio

Láminas porta y cubre objetos, tubos de ensayo de diferente capacidad, placas Petri, matraz Erlenmeyer de diferente capacidad.

3.2.3.4. Desinfectantes

Alcohol etílico al 70 %, y 90 %, hipoclorito de sodio al 2 %.

3.2.3.5. Medio de cultivo

Papa, dextrosa, agar (PDA).

3.2.3.6. Otros materiales

Franela, papel toalla, papel de aluminio, agua destilada estéril, tijeras, navajas, agujas hipodérmicas N° 25, agujas MRO (modificación del asa de siembra), pinzas, sorbetes de plástico, algodón, fólderes, papel bond A4, lapiceros, perforador, regla graduada, cinta masking y cinta adhesiva.

3.3. Metodología

3.3.1. Trabajo en campo

Se colectaron tallos de kiwicha, que mostraban micelio y esclerocios de color negro; dichos tallos se dispusieron en depósitos asépticos de plástico de 250 ml y bolsas ziploc para ser transportados al Laboratorio de Fitopatología y realizar los aislamientos.

3.3.2. Trabajo en laboratorio

3.3.2.1. Preparación de cámaras húmedas

En el Laboratorio de Fitopatología se realizó cámaras húmedas, que consiste en la utilización de frascos de plástico de 50 ml, colocando al fondo algodón húmedo con agua destilada estéril y sobre este se dispuso papel bond, con la finalidad que el tejido enfermo no esté en contacto con el algodón, facilitando de esta manera el desarrollo del micelio de *S. sclerotiorum*.

3.3.2.2. Aislamiento, purificación y conservación de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis*

Bajo condiciones asépticas, se extrajeron porciones de micelio de *S. sclerotiorum* las cuales prosperaron en la cámara húmeda, para ser observadas a través del microscopio visualizando las hifas del hongo. Posteriormente con la ayuda de agujas hipodérmicas N°25 se procedió a realizar la siembra en placas de Petri con medio PDA;

del mismo modo se procedió con la desinfestación de esclerocios con hipoclorito de sodio al 2%. Para calcular el volumen en la dilución se utilizó la siguiente formula:

$$V1 = (V2 \times C2)/C1$$

Donde:

V1= Es el volumen de hipoclorito de sodio que se requiere para preparar la solución de este producto al 2%.

V2= Es el volumen de la solución final de hipoclorito de sodio que se preparó, para desinfestar a los esclerocios.

C1= Es la concentración de hipoclorito de sodio que contiene la solución original.

C2= Es la concentración de la solución final de hipoclorito de sodio que se preparó.

$$V1 = \frac{100 \text{ ml} \times 0.5\%}{4\%} = 12.5 \text{ ml de hipoclorito de sodio}$$

100 ml -12.5ml = 87.5 ml de agua destilada

La cepa del hongo antagonista *Beauveria peruviansis* fue donada por el personal responsable del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Toribio Rodríguez de Mendoza y la cepa de *Trichoderma viride* fue donada por SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria) sucursal Cajamarca, dichas cepas se multiplicaron en medio PDA y se conservaron en tubos de ensayo.

Figura 1

Esclerocios de Sclerotinia sclerotiorum en medio PDA



3.3.3. Ensayos de antagonismo.

3.3.3.1. Protocolo de antagonismo en cultivos duales.

Para determinar el efecto antagónico se utilizó la técnica de “cultivos duales”. En cajas de Petri, con 17 ml de PDA, se realizó el proceso de confrontación de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis* contra *Sclerotinia sclerotiorum*. Porciones de micelio de 3 mm de diámetro de los hongos a confrontarse se dispusieron a 01 cm del margen de la caja Petri; inmediatamente se incubó entre 18 y 22°C. Realizándose las evaluaciones cada 24 horas durante siete días. Para identificar si hay o no porcentaje de inhibición del crecimiento radial del micelio, se utilizó la fórmula propuesta por Skidmore y Dickinson (1976):

$$\text{PIC} = [(c1 - c2 / c1) \times 100]$$

Leyenda:

PIC= porcentaje de inhibición de crecimiento radial.

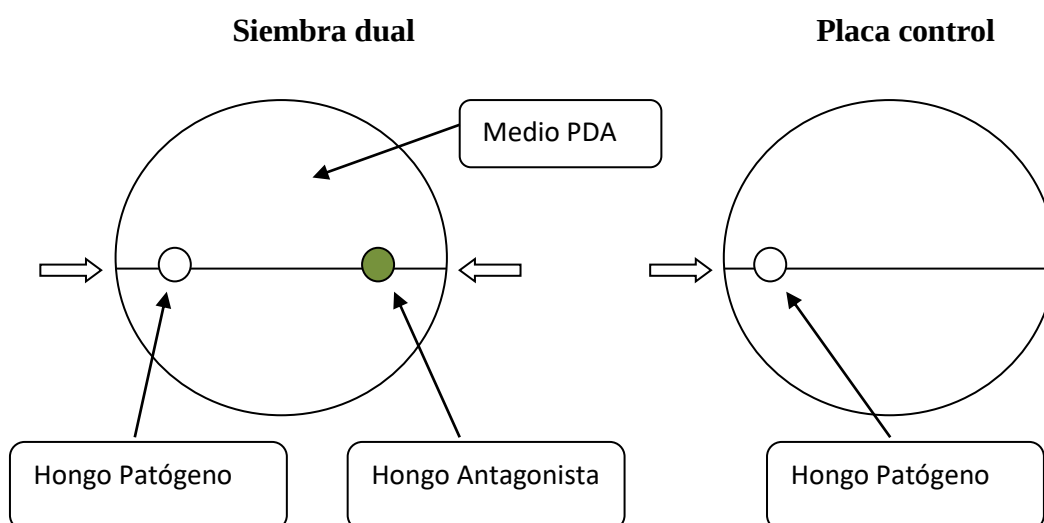
c1 = Crecimiento radial del testigo (fitopatógeno sin antagonista).

c2 = Crecimiento radial del patógeno, en orientación directa al crecimiento del

antagonista (cultivo dual).

Figura 2

Enfrentamiento dual de patógeno y antagonista



3.3.3.2. Ensayo de antagonismo de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis* contra *Sclerotinia sclerotiorum* en condiciones “in vitro”.

En esta investigación se tubo nueve tratamientos (T0, T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 y T8) y 5 repeticiones. La unidad experimental consistió en una placa Petri. En los tratamientos T1, T2, T3, T4 se utilizó el Diseño Completo al Azar (DCA), donde se determinó el porcentaje de inhibición del micelio y esclerocios del patógeno por hiperparasitismo de los antagonicos. Para el T5 y T6 se dejó desarrollar micelio de *S. sclerotiorum* en medio de cultivo PDA, antes de la formación de esclerocios se asperjó conidios de los hongos antagonicos y se incubo entre 18 – 22°C durante 30 días, con el propósito de apreciar el proceso de hiperparasitismo; las observaciones se realizaron cada 24 horas, a través del estereoscopio y microscopio. Para el T7 y T8 se utilizó el Diseño Completo al Azar (DCA), con tres tratamientos (T0, T7, T8) y cinco repeticiones, en cada repetición se utilizó 5 esclerocios. La unidad experimental

consistió en una placa Petri. Este ensayo tuvo el objetivo de determinar el porcentaje de deterioro del esclerocio e inhibición de brotamiento de hifas del patógeno.

En la presente investigación se evaluaron las siguientes variables: variable independiente (hongos antagonistas como *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis*), variable dependiente (efecto antagónico frente a *Sclerotinia sclerotiorum*, medido a través del porcentaje de inhibición de crecimiento micelial, tipo de interacción antagónica y deterioro de esclerocios) y variables controladas (medio de cultivo PDA, condiciones de incubación, cantidad de inóculo y disposición de tratamientos bajo un diseño completo al azar).

Tabla 1

Tratamientos de antagonismo de micelio Trichoderma viride y Beauveria peruviansis frente a micelio y esclerocio de Sclerotinia sclerotiorum en condiciones in vitro.

Tratamiento	Clave	Descripción
T0	Testigo	Micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , sin antagonista
T1	mSs/mTv	Micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> frente a micelio de <i>Trichoderma viride</i>
T2	mSs/mBp	Micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> frente a micelio de <i>Beauveria peruviansis</i>
T3	eSs/mTv	Esclerocio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> frente a micelio de <i>Trichoderma viride</i>
T4	eSs/mBp	Esclerocio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> frente a micelio de <i>Beauveria peruviansis</i>
T5	mSs/acTv	Micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> asperjado con conidios de <i>Trichoderma viride</i>
T6	mSs/acBp	Micelio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> asperjado con conidios de <i>Beauveria peruviansis</i>
T7	eSs/acTv	Esclerocio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> asperjado con conidios de <i>Trichoderma viride</i>
T8	eSs/acBp	Esclerocio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> asperjado con conidios de <i>Beauveria peruviansis</i>

Tabla 2

*Escala de evaluación de deterioro e inhibición de brotamiento de hifas de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* asperjado con conidios de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis*.*

Escala	Capacidad antagónica
0	0% de brotamiento de hifas del esclerocio
1	1% al 25% de formación de micelio del antagonista en la superficie del esclerocio
2	26% al 50% de formación de micelio del antagonista en la superficie del esclerocio
3	51% al 75% de formación de micelio del antagonista en la superficie del esclerocio
4	76% al 100% de formación de micelio del antagonista en la superficie del esclerocio

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Evaluaciones de porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PIC) del T1 (mSs/mTv), T2 (mSs/mBp), T3 (eSs/mTv) y T4 (eSs/mBp) en condiciones “in vitro”

Tabla 3

Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de micelio de S. sclerotiorum frente a micelio de T. viride y B. peruviansis.

R/T	T1	T2	T3	T4
R1	77.00	39.96	80.35	31.74
R2	82.70	39.13	92.00	29.11
R3	82.07	36.96	77.00	45.17
R4	82.24	41.39	80.09	33.70
R5	80.89	41.48	78.72	30.39
Promedio %	80.98	39.78	81.63	34.02

4.2. Antagonismo de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis* contra *Sclerotinia sclerotiorum* en condiciones “in vitro”.

La Tabla 4, presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) utilizados para evaluar el porcentaje de inhibición del crecimiento de *Sclerotinia sclerotiorum* bajo el efecto de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis*. Para los tratamientos se encontró significación estadística, dado que el valor de significación (p-valor = 0.0001) es menor al 0.05. Este resultado indica que existen diferencias significativas entre los efectos de los tratamientos sobre la inhibición del crecimiento de *Sclerotinia sclerotiorum*; es decir, al menos uno de los tratamientos aplicados, que incluyen *T. viride* y *B. peruviansis*, tanto frente a micelio como a esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum*, tiene un impacto distinto en la inhibición del crecimiento del patógeno (T1 y T3).

El coeficiente de variación de 6.43 %, indica que existe baja variabilidad en las mediciones de la inhibición, que ejerce *T. viride* contra micelio de *S. sclerotiorum*, bajo condiciones de enfrentamiento dual en medio de cultivo PDA.

Según la prueba de Tukey (Tabla 5), con el tratamiento T3 (eSs/mTv), se obtuvo el mayor porcentaje de inhibición, alcanzando un 81.63 %. Estos resultados coinciden parcialmente con lo reportado por Ibarra-Medina et al. (2010) quienes observaron que sus aislamientos de *Trichoderma* colonizan más del 90 % parasitando y degradando esclerocios. Similarmente, el tratamiento T1 (mSs/mTv), mostró eficacia de inhibición del 80.98 %. Resultado que coincide con lo reportado por Pérez & García-Godos (2019).

Ambos tratamientos, T1 y T3, se agrupan (A), lo que significa que no existe diferencias significativas entre ellos en cuanto a su capacidad para inhibir el crecimiento del patógeno. Esto indica que *Trichoderma viride* es eficaz para inhibir el desarrollo de micelio y esclerocio del patógeno; además se evidenció que *T. viride*; no permite mucha multiplicación de esclerocios (3 esclerocios), a diferencia del testigo que superaban a 20 esclerocios por cada repetición. Resultados similares fueron reportados por Abdullah et al. (2008) quienes determinaron que *Trichoderma* inhibe el crecimiento de micelio y la formación de esclerocios.

Por otro lado, el tratamiento T2 (mSs/mBp), logró una inhibición del 39.78 %, mientras que el tratamiento T4 (eSs/mBp), alcanzó una inhibición del 34.02 %. Ambos tratamientos están en el grupo B, lo que indica que son menos efectivos en comparación con los tratamientos T1 y T3. Estos resultados destacan la superioridad de *Trichoderma viride* en la inhibición de *Sclerotinia sclerotiorum*, siendo más eficaz en comparación con *Beauveria peruviansis*.

Tabla 4

Análisis de varianza (ANOVA) para la inhibición de micelio y esclerocio de Sclerotinia sclerotiorum

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	p-valor
Tratamientos	1.1354	3	0.3785	115.8336	<0.0001
Error	0.0523	16	0.0033		
Total	1.1877	19			

CV = 6.43 %

Tabla 5

Prueba de Tukey para la inhibición de micelio y esclerocio de Sclerotinia sclerotiorum

Tratamientos	Inhibición (%)	Agrupación
T3	81.63	A
T1	80.98	A
T2	39.78	B
T4	34.02	B

Figura 3

Porcentaje de inhibición de micelio y esclerocio de Sclerotinia sclerotiorum

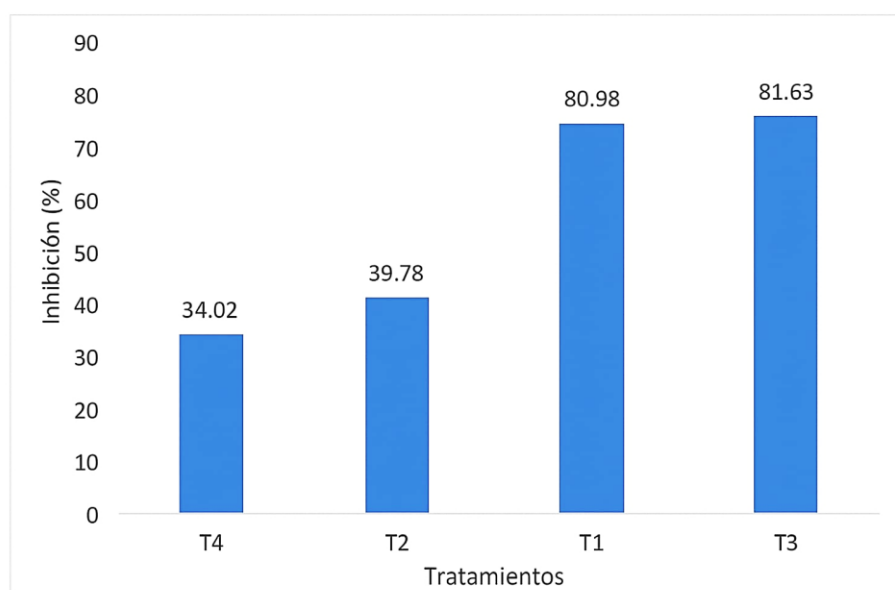
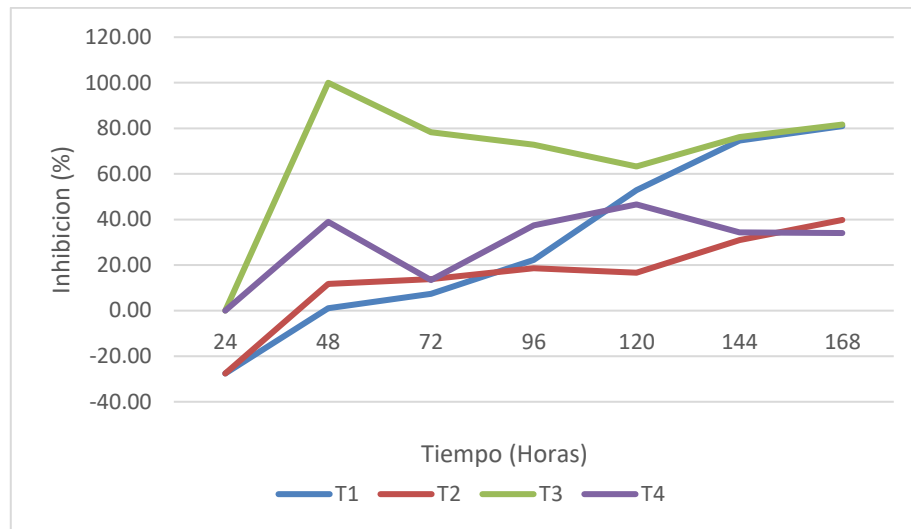


Figura 4

Inhibición de Sclerotinia sclerotiorum en relación del tiempo



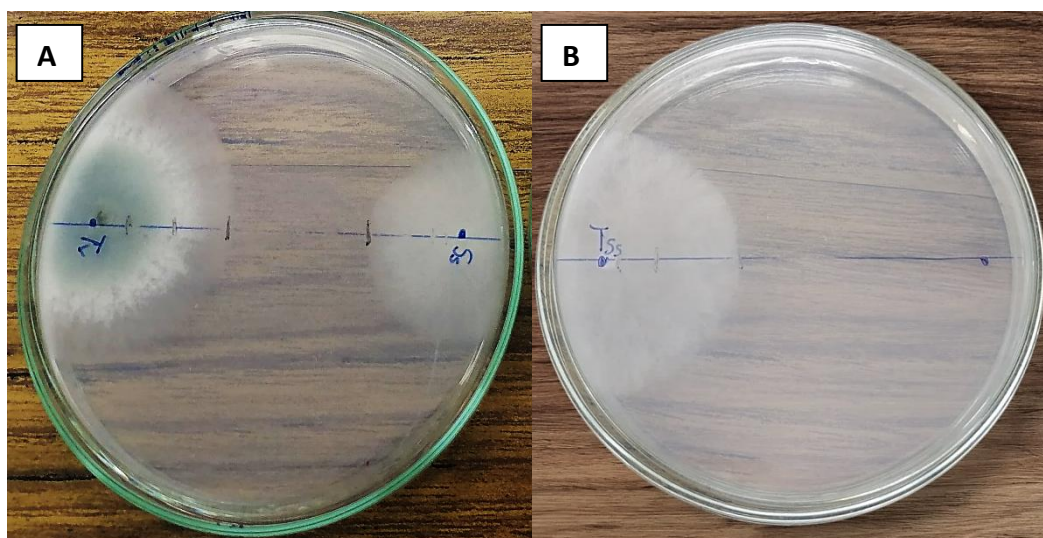
La Figura 3 y 4, muestran la inhibición de micelio y esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum* en relación con el tiempo y los tratamientos, los cuales revelan que *Trichoderma viride* (T1 y T3) muestra una eficacia superior en el control del patógeno en comparación con *Beauveria peruviansis* (T2 y T4). A las 48 horas, T3 alcanza una inhibición del 100 %, mientras que T1 también muestra una eficacia con un 80.98 % de inhibición. A medida que avanza el tiempo, T1 y T3 continúan siendo los tratamientos más efectivos, con inhibiciones que se mantienen altas y estables hasta las 168 horas, alcanzando 80.98 % y 81.63 %, respectivamente. Resultados que concuerdan con los estudios realizados por Duarte-Leal et al. (2018) y Chaccara (2021) quienes reportan que *Trichoderma* muestran antagonismo sobre *Sclerotinia*.

Por otro lado, los tratamientos T2 y T4 presentan una menor eficacia, con inhibiciones que son más bajas en comparación con T1 y T3. Aunque ambos tratamientos muestran un aumento en la inhibición con el tiempo, sus valores no superan el 39.78 % para T2 y el 34.02 % para T4, incluso después de 168 horas. Esto indica que *Trichoderma viride* es claramente más efectivo en la inhibición del crecimiento de

Sclerotinia sclerotiorum en las condiciones experimentales evaluadas.

Figura 5

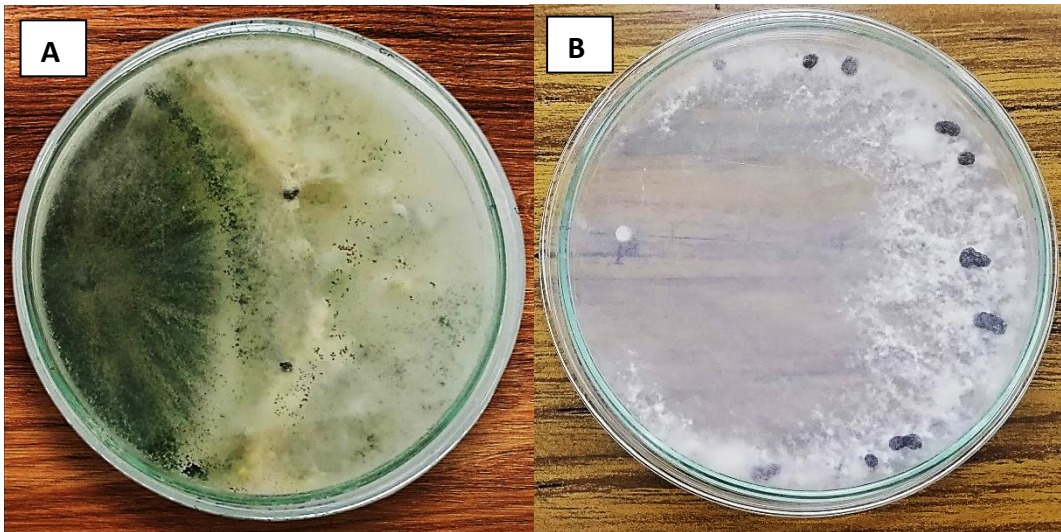
Enfrentamiento dual entre micelio de Trichoderma viride y micelio de Sclerotinia sclerotiorum (mSs/mTv) (A) y Testigo (B) a 72 horas.



En la figura 5A, se observa el inicio del enfrentamiento dual entre micelio de *T. viride* y micelio de *S. sclerotiorum* a las 72 horas, mostrando un crecimiento rápido del antagonista hacia el patógeno y en la 5B se aprecia un crecimiento del patógeno sin antagonista.

Figura 6

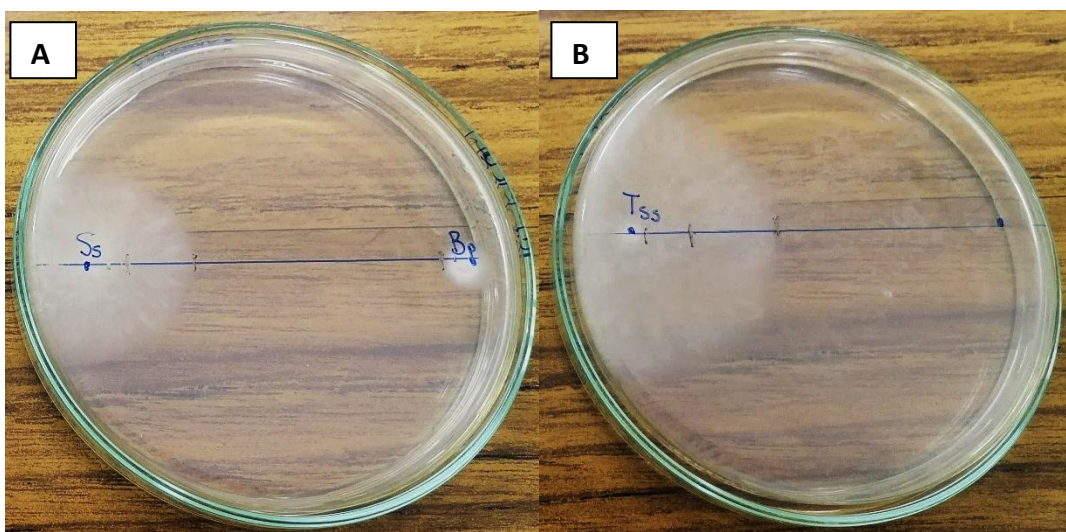
Enfrentamiento dual entre micelio de Trichoderma viride y micelio de Sclerotinia sclerotiorum (mSs/mTv) (A) y Testigo (B) a 168 horas.



En la figura 6A se aprecia el enfrentamiento dual entre micelio de *T. viride* y micelio de *S. sclerotiorum* a las 168 horas, observándose conidios del antagonista sobre el micelio del patógeno, además de una coloración amarilla del micelio del patógeno debido al uso de enzimas y toxinas de *T. viride*. En la figura 6B se aprecia un crecimiento del patógeno sin antagonista, mostrando la formación de esclerocios.

Figura 7

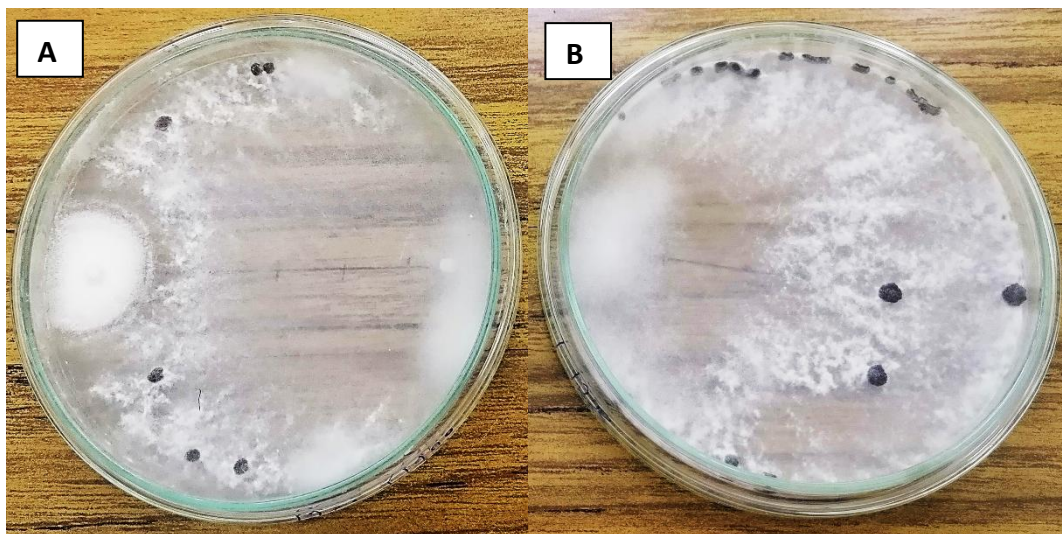
Enfrentamiento dual entre micelio Beauveria peruviana y micelio de Sclerotinia sclerotiorum (mSs/mBp) (A) y Testigo (B) a 72 horas.



La figura 7A muestra el inicio del enfrentamiento dual entre micelio de *B. peruviansis* y micelio de *S. sclerotiorum* a las 72 horas, apreciándose el rápido crecimiento del micelio del patógeno a diferencia del antagonico y la figura 7B muestra micelio *S. sclerotiorum* sin antagonista.

Figura 8

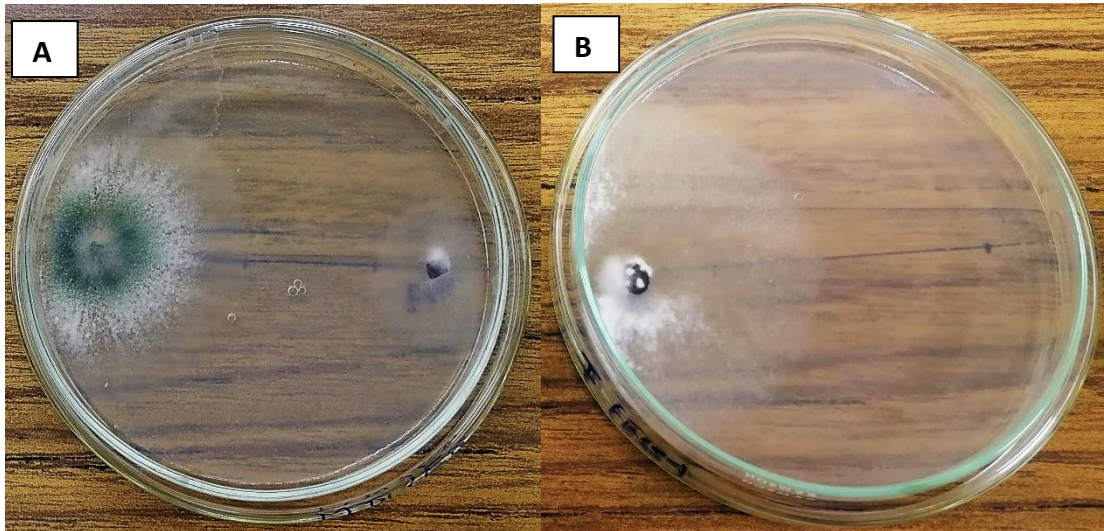
Enfrentamiento dual entre micelio de Beauveria peruviansis y micelio de Sclerotinia sclerotiorum (mSs/mBp) (A) y Testigo (B) a 168 horas.



La figura 8A muestra el enfrentamiento dual entre micelio de *B. peruviansis* y micelio de *S. sclerotiorum* a las 168 horas, apreciándose el antagonismo y la poca producción de esclerocios del patógeno a diferencia del testigo. La figura 8B muestra micelio *S. sclerotiorum* sin antagonista, con abundante producción de estructuras de conservación (esclerocios).

Figura 9

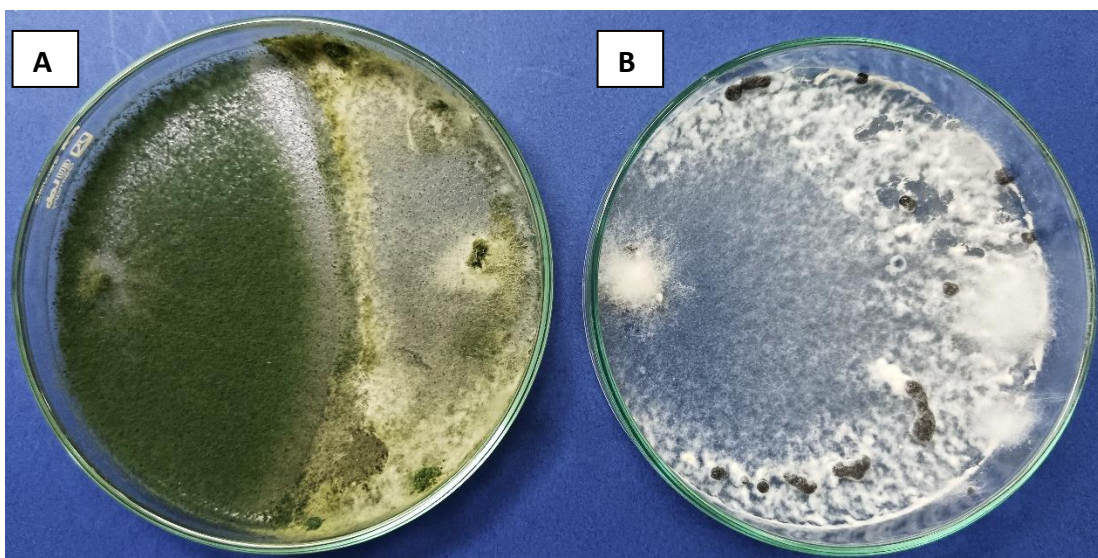
Enfrentamiento dual entre micelio de Trichoderma viride y esclerocio de Sclerotinia sclerotiorum (eSs/mTv) (A) y Testigo (B) a 72 horas.



La figura 9A muestra el inicio del enfrentamiento dual entre micelio *T. viride* y esclerocio de *S. sclerotiorum* a las 72 horas, apreciándose el rápido crecimiento del antagonista. La figura 9B muestra la germinación del esclerocio de *S. sclerotiorum* sin antagonista.

Figura 10

Enfrentamiento dual entre micelio de Trichoderma viride y esclerocio de Sclerotinia sclerotiorum (eSs/mTv) (A) y Testigo (B) a 168 horas.

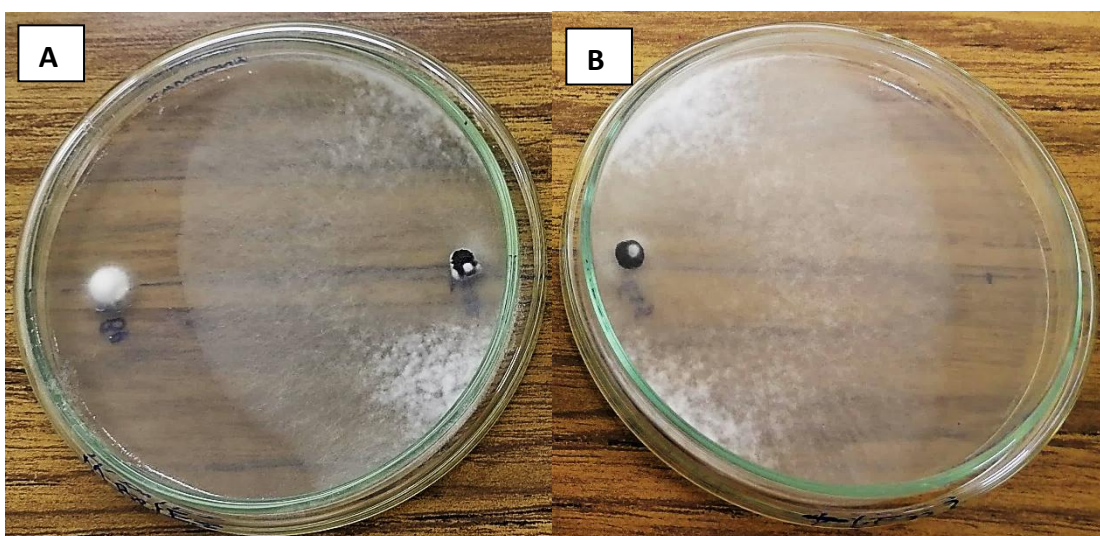


La figura 10A muestra el enfrentamiento dual entre micelio *T. viride* y esclerocio de *S. sclerotiorum* a las 168 horas, donde se aprecia la invasión del antagonista hacia el

micelio del patógeno, generando la destrucción de hifas y evitando el desarrollo de esclerocios. Este efecto refleja la capacidad micoparasítica del antagonista, que limita el desarrollo del hongo fitopatógeno mediante la competencia por espacio y nutrientes, así como la acción enzimática. La figura 10B muestra al tratamiento testigo, donde se aprecia el crecimiento normal de *S. sclerotiorum* y la formación abundante de esclerocios. En este caso no hay acción del antagonista por lo que el patógeno completa su ciclo.

Figura 11

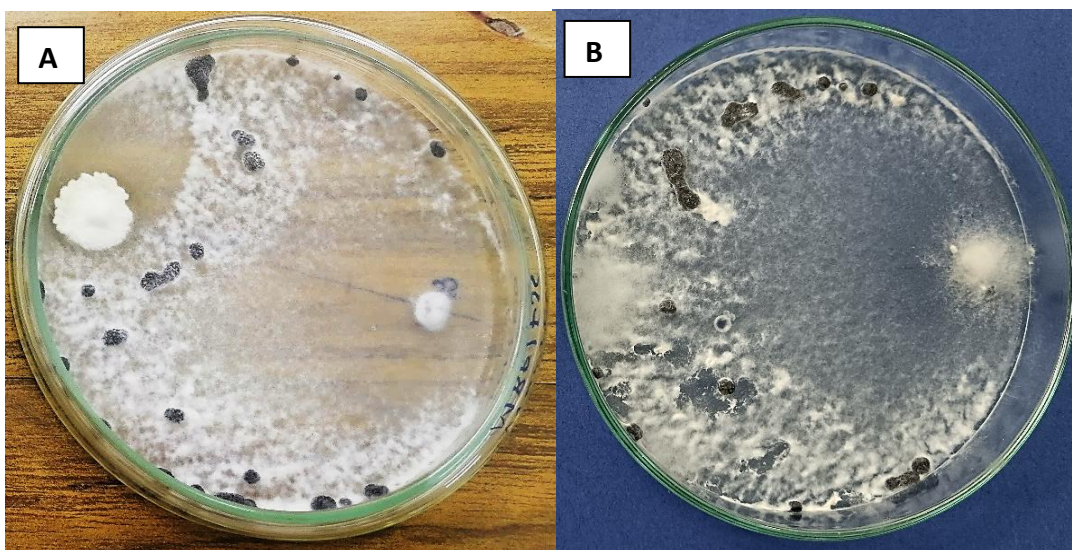
Enfrentamiento dual entre micelio de Beauveria peruviansis y esclerocio de Sclerotinia sclerotiorum (eSs/mBp) (A) y Testigo (B) a 72 horas.



La figura 11A muestra el enfrentamiento dual entre micelio de *B. peruviansis* y esclerocio de *S. sclerotiorum* a 72 horas, observándose el crecimiento predominante del patógeno. En la figura 11B se aprecia a *S. sclerotiorum* sin antagonista.

Figura 12

Enfrentamiento dual entre micelio de Beauveria peruviansis y esclerocio de Sclerotinia sclerotiorum (eSs/mBp) (A) y Testigo (B) a 168 horas.



La figura 12A muestra el enfrentamiento dual entre micelio de *B. peruviansis* y esclerocio de *S. sclerotiorum* a las 168 horas, se observa el crecimiento predominante del patógeno, que cubre la mayor parte del medio de cultivo. El crecimiento del antagonista se limita en una pequeña zona de la placa, sin evidenciar una inhibición marcada del patógeno. La figura 12B corresponde al tratamiento testigo donde *S. sclerotiorum* crece libremente sin llegar afectar su crecimiento ni producción de esclerocios.

4.3. Antagonismo por aspersión de conidios de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis* sobre micelio de *Sclerotinia sclerotiorum* en condiciones in vitro (T5 y T6).

Conidios de *T. viride* y *B. peruviansis*, en concentración de 10^6 conidios/mL, asperjados sobre micelio de *S. sclerotiorum* mostraron efecto antagónico de diferente magnitud; las observaciones microscópicas de este ensayo se realizaron cada 24 horas

durante 10 días.

El efecto antagónico de *T. viride* (T5= mSs/acTv), se mostró a partir de las 24 horas, los conidios del antagonista mostraron los tubos de germinación en la superficie de hifas del patógeno; transcurrido el tiempo el tubo germinativo del microorganismo antagónico rotura la pared celular del patógeno, por acción enzimática como lo mencionan Ezziyyani et al. (2004) y Montoya et al. 2(016). En cuanto a la degradación de la membrana celular, no fue posible apreciarlo microscópicamente; por lo que presume que *T. viride*, succiona el contenido citoplasmático de las células de la hifa del hongo patógeno a través de haustorios, o directamente por osmosis; de esta manera se consolida el antagonismo por el principio de hiperparasitismo (Sánchez-García et al., 2017).

Las células de las hifas de *S. sclerotiorum*, invadidas por el haustorio de *T. viride*, se modifican, aumentando su volumen; la hifa del antagónico avanza sobre la superficie de la hifa del patógeno, hasta encontrar otra célula donde penetra otro haustorio; de esta manera se degrada la pared celular del hongo invadido hasta desaparecer por completo. Resultados que concuerdan con lo reportado por Henis et al. (1983) y Goldman et al. (1994).

Otra forma de la acción antagónica de *T. viride* sobre *S. sclerotiorum*, es el recorrido en espiral de la hifa del antagonista, causando estrangulamiento a la hifa del patógeno, como se muestra en la figura 14. Estos procesos de antagonismo también lo reportan Garrido Rondoy & Nasstie Vilela (2019) y Chet et al. (1981).

Figura 13

Efecto antagónico de Trichoderma viride, en hifas de Sclerotinia sclerotiorum; donde se aprecia el incremento de volumen de células del patógeno (mSs/acTv).



Figura 14

Destrucción de hifas de Sclerotinia sclerotiorum por efecto de estrangulamiento de hifas de Trichoderma viride (mSs/acTv).



A medida que ocurre el proceso de destrucción de las hifas de *S. sclerotiorum*, se incrementa las hifas del antagonista, mostrándose el micelio de color amarillo claro que cambia progresivamente a color verde, como consecuencia de la diferenciación y

crecimiento de conidióforos y conidios del antagonista.

Figura 15

Incremento de micelio de Trichoderma viride; desaparición paulatina de hifas de Sclerotinia sclerotiorum (mSs/acTv).



El efecto antagónico de *Beauveria peruviansis* contra el micelio de *S. sclerotiorum* (T6 = mSs/acBp); es menos notorio que la acción de *T. viride*; este principio antagónico se debe a competencia por alimento y espacio, seguido de hiperparasitismo leve; más no existe acción por antibiosis. Características que se aprecian en la figura 16.

Los conidios de *B. peruviansis*, al germinar producen un tubo germinativo que a través de enzimas roturan a las paredes celulares para alimentarse del contenido citoplasmático de las hifas del patógeno; en este proceso se aprecia el incremento de volumen de estas células; incluso desaparece los septos; las hifas del antagonista continúan su crecimiento y desarrollo atravesando las células del patógeno y en algunos casos crecen en el interior de las hifas de *S. sclerotiorum*, hasta desaparecerlos.

Figura 16

Hifa de Beauveria peruviansis parasitando células de hifas de *Sclerotinia sclerotiorum* (mSs/acBp).



4.4. Evaluaciones de antagonismo por aspersión conidios de *Trichoderma viride* (T7 = eSs/acTv) y *Beauveria peruviansis* (T8 = eSs/acBp) sobre esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* en condiciones in vitro.

Tabla 6

Porcentaje de afectación a esclerocios de S. sclerotiorum asperjado de conidios de T. viride y B. peruviansis.

R/T	T 7	T 8	Testigo
R1	90	90	0
R2	87	85	0
R3	95	90	0
R4	93	95	0
R5	95	90	0
Promedio %	92	90	0

4.5. Antagonismo por aspersión de conidios de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis* sobre esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* en condiciones in vitro (T7 y T8).

En el análisis de varianza realizado para evaluar el efecto antagónico de conidios de *Trichoderma viride* (T7= eSs/acTv) y *Beauveria peruviansis* (T8= eSs/acBp), aplicados sobre los esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* y el comportamiento de permitir o no, el brotamiento de hifas se observó que la fuente de variación asociada a los tratamientos presenta un valor de significación (p-valor = 0.0001) menor al 0.05.

El coeficiente de variación fue de 4.71 %, el cual indica que hubo una baja variabilidad en las mediciones de la inhibición entre las diferentes muestras analizadas por cada tratamiento (Tabla 7).

La prueba de Tukey (Tabla 8) realizada para evaluar la inhibición del brotamiento de hifas del esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum*, se observa que *Trichoderma viride* inhibe 92% del esclerocio y *Beauveria peruviansis* el 90 % del esclerocio, se agrupan en el mismo (A). Esto indica que no existe diferencia significativa entre ambos tratamientos en términos de su capacidad para inhibir el brotamiento de hifas del esclerocio, por lo que se les considera inhibidores efectivos.

En contraste, el testigo, que presenta una inhibición del 0%, se diferencia significativamente de los tratamientos con *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis*. Esto indica que ambos tratamientos tienen un efecto significativo en la inhibición del esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum* en comparación con el testigo, donde no se observa ninguna inhibición.

Tabla 7

Análisis de varianza (ANOVA) para la afectación de esclerocios de Sclerotinia sclerotiorum

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F Calculado	p-valor
Tratamientos	27613.33	2	13806.67	1690.61	<0.0001
Error	98	12	8.17		
Total	27711.33	14			

CV = 4.71 %

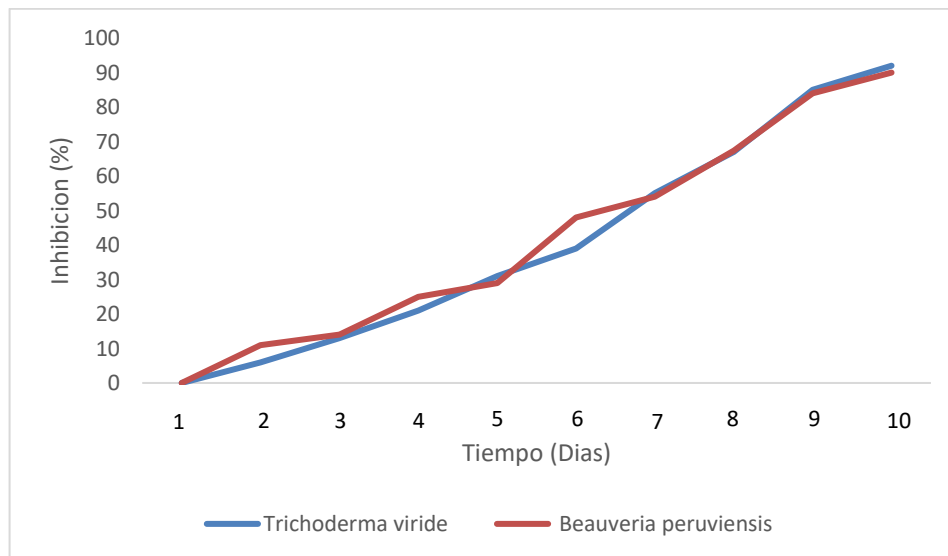
Tabla 8

Prueba de Tukey para la afectación de esclerocios de Sclerotinia sclerotiorum

Tratamientos	Inhibición (%)	Agrupación
<i>Trichoderma viride</i>	92	A
<i>Beauveria peruviansis</i>	90	A
Testigo	0	B

Figura 17

Afectación de esclerocios de Sclerotinia sclerotiorum en relación del tiempo



La Figura 17, presenta el comportamiento de la inhibición del esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum* en función del tiempo, evaluando el efecto de los tratamientos con *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis* a lo largo de diez días.

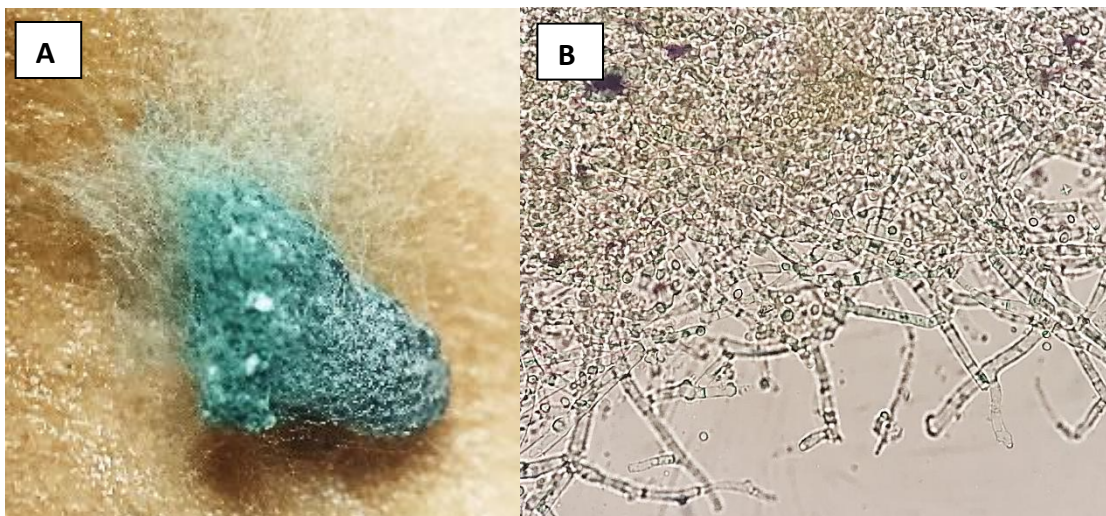
En el primer día, en ambos tratamientos no se diferenció inhibición. Sin embargo, a medida que transcurrieron los días, se evidenció crecimiento y desarrollo del micelio en la superficie del esclerocio. El antagonismo se evaluó a través del estereoscopio, observando el desarrollo del micelio del antagonista, en la superficie del esclerocio.

A partir del tercer día, ambos tratamientos mostraron inhibición del brotamiento del esclerocio. Al séptimo día, *Trichoderma viride* ocupa el 55% de la superficie del esclerocio y *Beauveria peruviansis* llegó al 54%; reflejando en eficacia el deterioro de esclerocios al octavo día causado por la población micelial de 67.4% de *T. viride*; esta estructura además se muestra de consistencia gelatinosa; en cambio el micelio de *Beauveria peruviansis*, ocupa el 67% de la superficie del esclerocio, no permite el brotamiento de hifas del patógeno, con ligera flacidez.

Al finalizar el experimento, en el décimo día, *Trichoderma viride* mostró 92% de inhibición y *Beauveria peruviansis* alcanzó el 90 %. Concluyendo que *Trichoderma viride* deteriora esclerocios y limita el desarrollo de hifas (Ibarra-Medina et al., 2010); mientras que *Beauveria peruviansis* solo limita el desarrollo de hifas en la superficie del esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Figura 18

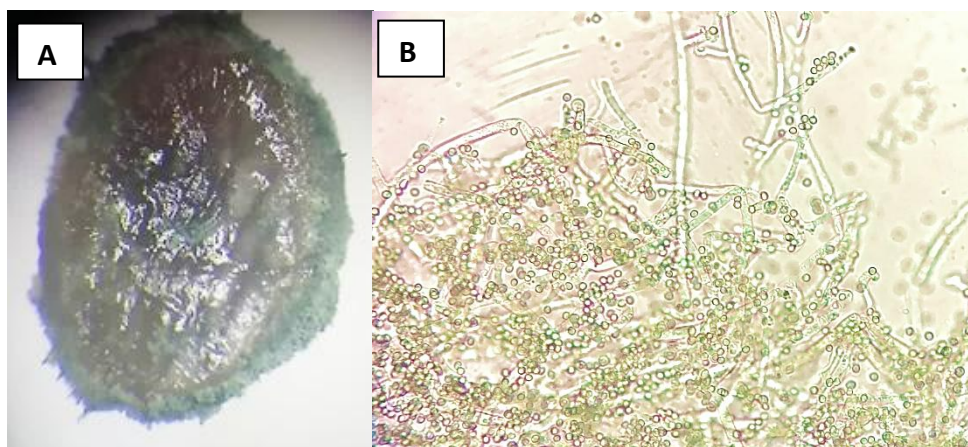
Antagonismo por aspersión de conidios de Trichoderma viride sobre esclerocios de Sclerotinia sclerotiorum a 120 horas.



La figura 18A muestra el desarrollo de *Trichoderma viride* sobre esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum* (eSs/acTv). La figura 18B muestra el corte transversal del esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum* mostrando hifas y conidios de *Trichoderma viride*.

Figura 19

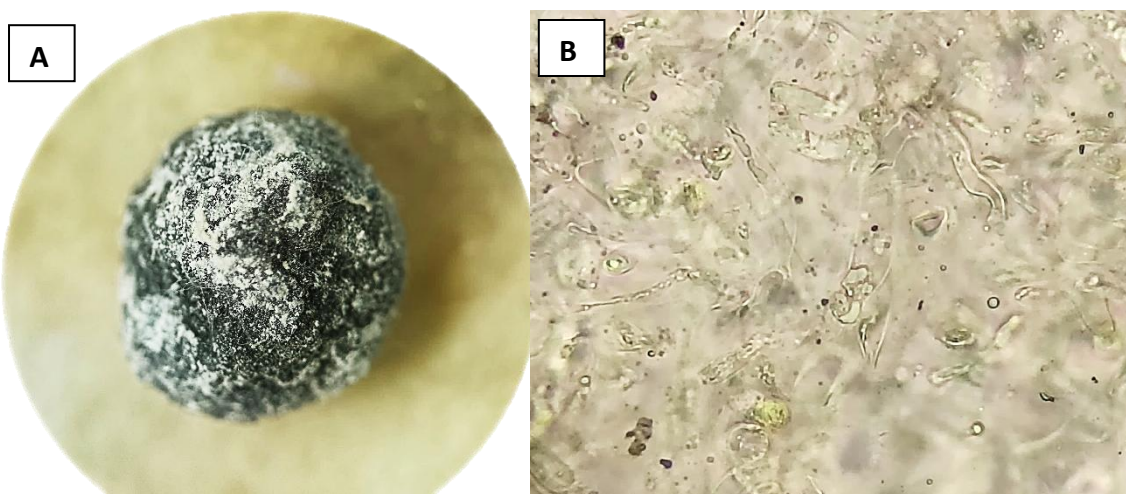
Antagonismo por aspersión de conidios de Trichoderma viride sobre esclerocios de Sclerotinia sclerotiorum a 240 horas.



En la figura 19A se aprecia el corte transversal de esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum*, afectado por *Trichoderma viride* (eSs/acTv), mostrando un esclerocio de consistencia flácida. La figura 19B muestra hifas y conidios de *Trichoderma viride*, en el tejido interior del esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Figura 20

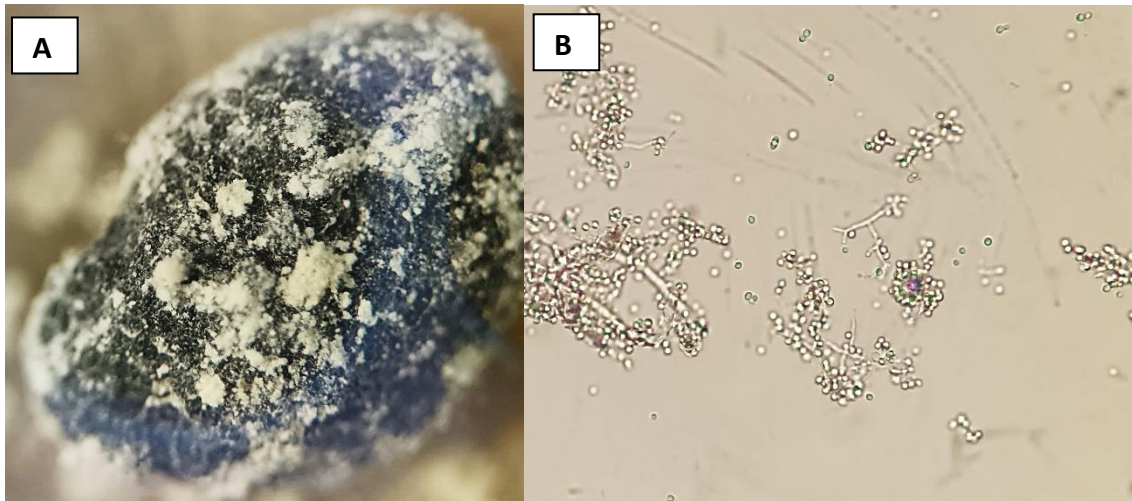
Antagonismo por aspersión de conidios de *Beauveria peruviansis* sobre esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* a 120 horas.



En la figura 20 se aprecia el desarrollo de *Beauveria peruviansis* sobre esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum* (eSs/acBp). En la figura 20B se muestra el corte transversal del esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum* mostrando mínima cantidad de conidios de *Beauveria peruviansis*.

Figura 21

Antagonismo por aspersión de conidios de Beauveria peruviansis sobre esclerocios de Sclerotinia sclerotiorum a 240 horas.



En la figura 21A se muestra el desarrollo de *Beauveria peruviansis* sobre esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum* (eSs/acBp), afectando la germinación de hifas del patógeno. La figura 21B muestra hifas y conidios de *B. peruviansis*, presentes en la superficie del esclerocio *Sclerotinia sclerotiorum*.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Bajo la técnica de cultivos duales, el efecto antagónico de *Trichoderma viride* en condiciones in vitro tanto en micelio como esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum* alcanzó un porcentaje máximo de 80.98% (T1 = mSs/mTv) y 81.63% (T3 = eSs/mTv), lo que demuestra su alta capacidad de parasitismo y antibiosis.
- El efecto antagónico de *Beauveria peruviansis* contra micelio de *Sclerotinia sclerotiorum*; es por competencia y parasitismo obteniendo un 39.78% de inhibición en micelio y un 34.01% en esclerocio.
- En el efecto antagónico por aspersión de conidios de los antagonistas sobre esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum*; se mostró con mayor eficacia *Trichoderma viride* con 92% (T7= eSs/acTv) y *Beauveria peruviansis* con el 90 % (T8= eSs/acBp); debido a la desnaturalización e inhibición del desarrollo de hifas del esclerocio.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda seguir realizando ensayos de antagonismo en condiciones in vitro y en campo, para confirmar la eficacia de *Trichoderma viride* frente a *Sclerotinia sclerotiorum*.
- Se recomienda seguir realizando investigaciones de antagonismo fúngico con *Beauveria peruviansis*.
- Promover el uso de *Trichoderma viride* como una alternativa ecológica en programas de manejo integrado de enfermedades, contribuyendo a la reducción del uso de fungicidas.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abdullah, M. T., Ali, N. Y., & Suleman, P. (2008). Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *Crop Protection*, 27(10), 1354–1359. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.05.007>
- Acurio, R. y C. España. 2017. Aislamiento, caracterización y evaluación de *Trichoderma* spp. como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). La Granja: *Revista de Ciencias de la Vida*. 25(1), 53-61. <http://doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>
- Agrios, g. (2005). Fitopatología, 2ª ed. Editorial Limusa, México D.F.
- Alexopoulos, C. J. y Mims, C. W. (1985). Introducción a la micología, 1 ed. Editorial John Wiley & Sons de New York, Barcelona.
- Andrade-Hoyos, P., Rivera-Jiménez, M. N., Landero-Valenzuela, N., Silva-Rojas, H. V., Martínez-Salgado, S. J., y Romero-Arenase, O. (2023). Beneficios ecológicos y biológicos del hongo cosmopolita *Trichoderma* spp. en la agricultura: una perspectiva en el campo mexicano. *Revista Argentina de Microbiología*, 55 (4), 366-377. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2023.06.005>
- Akiyama, S. M. (2017). “Evaluación de La Promoción Del Crecimiento, la calidad de planta y la incidencia de enfermedades en vivero de producción de Ciclamen (*Cyclamen Persicum* Mill.) mediante el uso de *Trichoderma Harzianum* Rifai.” [Tesis final de pre grado, Universidad Nacional de Luján]. <http://ri.unlu.edu.ar/xmlui/handle/rediunlu/540>
- Arango, M., Ordoñez, N., Castañeda, E. & Restrepo, A. (1988). Manual hongos

- contaminantes del laboratorio. Instituto Nacional de Salud. Instituto Nacional de Salud. Corporación para Investigaciones Biológicas, Pág.127.
- Bae, Y. S. and Knudsen, G. R. (2007). Effect of sclerotial distribution pattern of *Sclerotinia sclerotiorum* on biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. *Applied Soil Ecology*, 35(1), 21–24. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.05.014>
- Barnett, H. & Hunter, B. (1998). Illustrated genera of imperfect fungi. (4a ed). Edit, The American Phytopathological Society.
- Benítez T, Rincón AM, Limón MC, Codón AC. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Int Microbiol. Dec*, 7(4):249-60. PMID: 15666245.
- Bolton, M. D., Thomma, B. P. H. J., & Nelson, B. D. (2006). *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Molecular Plant Pathology*, 7(1), 1–16. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00316.x>
- Bustamante DE, Oliva M, Leiva S, Mendoza JE, Bobadilla L, Angulo G, Calderon MS (2019) Phylogeny and species delimitations in the entomopathogenic genus *Beauveria* (Hypocreales, Ascomycota), including the description of *B. peruviansis* sp. nov. *MycKeys* 58: 47–68. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.58.35764>
- Chaccara Reyna, M. A. (2021). “Control biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* con *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en alcachofa (*Cynara scolymus* L.) var. Imperial Star en cañete” [Tesis para obtener título de ingeniero agrónomo, Universidad José Faustino Sánchez Carrión]. Repositorio UNJFSC. <http://repositorio.unjfsc.edu.pe/handle/UNJFSC/6299>

- Chavez M. P. (2006). Producción de *Trichoderma* spp. y Evaluación de su Efecto en Cultivo de Crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Microbiología Industrial - Agrícola y Veterinaria. Tesis. Bogotá - Colombia. 178 p.
<https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/8312>
- Chet, I., Harman, G & Baker, R. (1981). *Trichoderma hamatum*: Its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Microbial Ecology*. 7(1), 29-38.
<https://doi.org/10.1007/BF02010476>
- Chiriboga, H., Gómez, G., Garcés, K. (2015). Protocolos para formulación y aplicación del bio-insumo: *Trichoderma* spp. para el control biológico de enfermedades. IICA – Asunción, Paraguay. <http://repositorio.iica.int/handle/11324/2647>
- Chiriboga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). Protocolos para formulación y aplicación del Bio-Insumo: *Beauveria bassiana*, hongo entomopatógeno para el control biológico de hormigas cortadoras (YSAÚ). IICA - Asunción, Paraguay. <http://repositorio.iica.int/handle/11324/2646>
- Duarte-Leal, Y., & Lamz-Piedra, A. (2018). Antagonismo in vitro de aislamientos de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Revista De Protección Vegetal*, 32(3). Recuperado a partir de <https://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article/view/925>
- Echeverry Prieto, L.C., Zubieta Coronado, D.A., & Zafra Mejía, C.A. (2020). Antagonismo in vitro por consorcios de *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. contra el fitopatógeno *Sclerotinia* sp. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 19(1), 16–31. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(19\)16-31](https://doi.org/10.18684/BSAA(19)16-31)
- Ezziyyani, M., Pérez Sánchez, C., Sid Ahmed, A., Requena, M. E., & Candela Castillo, M. E. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el

- biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología*, (26), 35–45. Recuperado a partir de <https://revistas.um.es/analesbio/article/view/30441>
- Dilantha Fernando, W. G., Nakkeeran, S., & Zhang, Y. (2004). Ecofriendly methods in combating *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Recent Research in Developmental and Environmental Biology*, 1. <https://www.researchgate.net/publication/238111476>
- Garrido Rondoy, M., & Nasstie Vilela, S. (2019). Antagonistic capacity of *Trichoderma harzianum* compared to *Rhizotecnia*, *Nakataea sigmoidea*, *Sclerotium rolfii* and its effect in native strains of *Trichoderma* isolated from rice crops. *Scientia Agropecuaria*, 10(2), 199–206. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.05>
- Gasparotto, L., Resene Pereira, J. C., Hanada, R. E., Abreu de Araujo, J. C., & Da Silva Ângelo. P. C. (2012). Glossário de Fitopatologia (2ª ed.). Embrapa.
- Goldman, G. H., Hayes, C., & Harman, G. E. (1994). Molecular and cellular biology of biocontrol by *Trichoderma* spp. *Trends in Biotechnology*, 12(12), 478-482. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(94\)90055-8](https://doi.org/10.1016/0167-7799(94)90055-8)
- Gonzalez Chingaté, E. J., Liévano, K. S., & Cubillos, D. D. (2020). Evaluación de la efectividad de antagonismo de *Trichoderma* sp. sobre diferentes hongos Fitopatógenos presentes en el cultivo de maíz (*Zea mays*). *Ciencias Agropecuarias*, 6(1), 19–34. <https://doi.org/10.36436/24223484.279>
- González Rodríguez, M., Castellanos González, L., Ramos Fernández, M., & Pérez González, G. (2005). Efectividad de *Trichoderma* spp. para el control de hongos patógenos de la semilla y el suelo en el cultivo del frijol. *Fitosanidad*, 9(1), 37-41.

- Gómez, H., Soberanis, W., Tenorio, M. y Torres, E. (2013). Manual de Producción y Uso de Hongos Antagonistas. Lima - Perú. Laboratorio de Antagonistas SCB-SENASA. Recuperado de <https://www.coursehero.com/file/159023450/Manual-de-Producci%C3%B3n-y-Uso-de-Hongos-Antagonistaspdf/>
- Guédez, C., Castillo, C., Cañizales, L., & Olivar, R. (2009). Control biológico: una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. *Academia*, 7(13), 50–74. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/236852483_Control_Biologico_Una_herramienta_para_el_desarrollo_sustentable_y_sostenible
- Gupta, V. K., Schmoll, M., Herrera-Estrella, A., Upadhyay, R. S., Druzhinina, I., Tuohy, M. G. (2014). Biotechnology and biology of trichoderma. *Elsevier*.
- Harán, S., Schickler, H & Chet, I. (1996). Molecular mechanisms of lictin enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. *Microbiology*. 142(9), 2321-2331. <https://doi.org/10.1099/00221287-142-9-2321>
- Hegedus, D. D., & Rimmer, S. R. (2005). *Sclerotinia sclerotiorum*: When “to be or not to be” a pathogen. *FEMS Microbiology Letters*, (251), 177–184. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.07.040>
- Henis, Y., Adams, P. B., Lewis, J. A., & Papavizas, G. C. (1983). Penetration of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 73(7), 1043–1046.
- Hernández-Melchor, D. J., Ronald Ferrera-Cerrato, R & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: Importancia agrícola, biotecnológica y sistemas de fermentación. *Chilean Jurnal of Agricultural & Animal Sciences*. 35(1), 98-112. <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>

- Hoyos-Carvajal, L., Duque, G., & Orduz P., S. (2008). Antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. sobre aislamientos de *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp. *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 2(1), 76–86.
<https://doi.org/10.17584/rcch.2008v2i1.1175>
- Howell, C. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87(1), 4-10.
<https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.1.4>
- Ibarra-Medina, V. A., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Lara-Hernández, M. E., & Valdez-Carrasco, J. M. (2010). Aislamiento y selección de cepas de *Trichoderma* antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor*. *Revista Mexicana de Micología*, 31, 53–63.
- Infante, D., Martínez, B., Gonzáles, N y Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*. 21(1), 14-21. Recuperado en 05 de abril de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002&lng=es&tlng=es.
- INTAGRI. (2016). *Beauveria bassiana* en el Control Biológico de Patógenos. Serie Fitosanidad. Núm. 38. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 4 p.
<https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/beauveria-bassiana-en-el-control-biologico-de-patogenos>
- Jaimes Suárez, Y., Moreno Velandia, C., & Cotes Prado, A. (2009). Inducción de resistencia sistémica contra *Fusarium oxysporum* en tomate por *Trichoderma koningiopsis* th003. *Acta Biológica Colombiana*, 14(3), 111-120.
- Leon Ttacca, B., Ortiz Calcina, N., Condori Ticona, N., & Chura Yupanqui, E. (2018).

- Cepas de *Trichoderma* con capacidad endofítica sobre el control del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) y mejora del rendimiento de quinua. *Revista De Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 20(1), 19-30. <https://doi.org/10.18271/ria.2018.327>
- López-Rodríguez, O. D. (2010). Microorganismos que Utilizan Oxalato de Calcio como Antagonistas Potenciales a *Sclerotinia sclerotiorum* en frijol. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación. Para el Desarrollo Integral Regional CIIDIR - Sinaloa. México. 72 p. <http://tesis.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/10419/1/365.pdf> 27.
- Madloo, P., Rodríguez, V. M., Ramos, M., Lema, M., & Soengas, P. (S.f.). La enfermedad del hongo blanco de las brásicas. https://digital.csic.es/bitstream/10261/157944/1/Madloo_La%20enfermedad%20del%20moho%20blanco...pdf
- Martínez, Z. A. (2008). Algunos Aspectos Epidemiológicos del Moho Blanco de la Lechuga (*Lactuca sativa* L.) en dos Municipios Productores de Cundinamarca. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Industrial. Tesis. Bogotá - Colombia. 99 p. <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis110.pdf>
- Martínez-Martínez, T. O., Guerrero-Aguilar, B. Z., Pecina-Quintero, V., Rivas-Valencia, P., González-Pérez, E., & Angeles-Núñez, J. G. (2020). Antagonismo de *Trichoderma harzianum* contra la fusariosis del garbanzo y su efecto biofertilizante. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(5), 1135-1147. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i5.2325>
- Martínez, B.; Infante, D. y Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria

- (CENSA). Universidad Agraria de La Habana. Cuba. Rev. Protección Veg. Vol. 28 N° 1, pp. 1-11. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>
- Michel-Aceves, A. C., Hernández-Morales, J., Toledo-Aguilar, R., Sabino López, J. E., & Romero-Rosales, T. (2019). Capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. nativa contra *Phytophthora parasitica* y *Fusarium oxysporum* aislados de cultivos de Jamaica. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 42(3), 235-241. <https://doi.org/10.35196/rfm.2019.3.235-241>
- Mondino, P., & Vero, S. (2006). Control biológico de patógenos de plantas. Recuperado de <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/14783/1/Control-Biologico-de-enfermedades-de-plantas-en-Uruguy.cap.17.2014.pdf>
- Montoya Espinoza, W. J., Nolasco Cárdenas, O. P., Acuña Payano, R. K., & Gutiérrez, A. I. (2016). Expresión de B-1,3-Glucanasas de *Beauveria bassiana* en cultivo con extracto de los fitopatógenos *Peronospora variabilis* y *Fusarium oxysporum*. *Scientia Agropecuaria*, 7(3), 253-257. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.13>
- Monzón, A. (2001). Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas* 63: 95-103.
- Mukherjee, P.; Latha, J.; Hadar, R.; Horwitz, B. A. (2004). Role of Two G-Protein Alpha Subunits, TgaA and TgaB, in the Antagonism of Plant Pathogens by *Trichoderma virens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(1), 542–549. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.1.542-549.2004>
- Navarrete-Ramos, R. S., & Tello-Gonzales, X. B. (2021). “Efecto antagónico in vitro de *Trichoderma* sp. Y *Pseudomonas* sp. Frente a *Lasiodiplodia* sp., ICA, agosto 2017– enero 2018” [Tesis para obtener título de biólogo,

Universidad Nacional “San Luis Gonzaga”]. Recuperado de https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNIC_787b61a8a7d491f711fc01fabc8c72d3

Ordoñez Valencia, C. (2014). Interacción de *Trichoderma viride* y agentes químicos antifúngicos en el crecimiento y desarrollo de *Sclerotinia sclerotiorum*. [Trabajo de grado, doctor en ciencias]. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas, campus montecillo postgrado de edafología.

[http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/2267/Ordon
ez%20_Valencia_C_DC_Edafologia_2014.pdf;jsessionid=9DB17A110762BE
9B4C7C1B4A12384425?sequence=1](http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/2267/Ordon%20_Valencia_C_DC_Edafologia_2014.pdf;jsessionid=9DB17A110762BE9B4C7C1B4A12384425?sequence=1)

Ordóñez-Valencia, C., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Hernández-Cuevas L. V y Larsen, J. (2018). Desarrollo morfológico temprano de esclerocios por *Sclerotinia sclerotiorum* en presencia de bicarbonato de potasio. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 36(3), 363-378. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1803-4>

Pariona, N., Castellanos, P., & León, E. (2007). Capacidad entomocida de cepas nativas de *Beauveria sp.* sobre *Schistocerca piceifrons peruviana* (Lynch Arribalzaga, 1903). *Revista Peruana de Biología*, 14(2), 253-257. <https://doi.org/10.15381/rpb.v14i2.1794>

Peluffo, L. (2010). Caracterización de los Mecanismos de Defensa a *Sclerotinia sclerotiorum*, Agente causal de la Podredumbre Húmeda del Capítulo de Girasol a través del Estudio de Perfiles Metabólicos y Transcripcionales (Tesis doctoral). Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. INTA - Castelar Argentina. 122 p. Consultado 17 de diciembre 2024.

https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n4765_Peluffo.pdf

Pérez, D., & García-Godos, P. (2019). Identificación del agente causal del marchitamiento en *Caesalpinia spinosa* “tara” y el efecto antagónico de aislados de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* sp. *Ecología Aplicada*, 18(1), 51-57. <https://doi.org/10.21704/rea.v18i1.1306>

Quiroz-Sarmiento, Vivian Francisca, Ferrera-Cerrato, Ronald, Alarcón, Alejandro, & Lara Hernández, María Encarnación. (2008). Antagonismo in vitro de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo del ajo. *Revista mexicana de micología*, 26, 27-34. Recuperado en 04 de marzo de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802008000100005&lng=es&tlng=es.

Ríos Da Silva, R., Vargas-Flores, J., Sánchez-Choy, J., Oliva-Paredes, R., Alarcón-Castillo, T., & Villegas Panduro, P. P. (2020). *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* como controladores compatibles y eficientes de insectos plaga en cultivos acuapónicos. *Scientia Agropecuaria*, 11(3): 419-426. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.14>

Romero-Cortes, T., López-Pérez, P. A., Ramírez-Lepe, M., & Cuervo-Parra, J. A. (2016). Modelado cinético del micoparasitismo por *Trichoderma harzianum* contra *Cladosporium cladosporioides* aislado de frutos de cacao (*Theobroma cacao*). *Chilean Journal of agricultural & animal sciences*, 32(1), 32-45. <https://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902016000100004>

Roncal Ordóñez, M. S. (2004). Principios de fitopatología andina. 1 ed. Editorial Bracamonte – Lima Perú. 420 p.

Saharan, G. S & Mehta, N. (2008). The Pathogen – Sclerotinia en Springer (ed). *Sclerotinia Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management*

- (pp. 77-111). https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8408-9_7
- Sandle, T. (2014). Trichoderma. Encyclopedia of Food Microbiology, 3: 644–646. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00337-2>
- Sánchez-García, B. M., Espinosa-Huerta, E., Villordo-Pineda, E., Rodríguez-Guerra, R., & Mora-Avilés, M. A. (2017). Identificación molecular y evaluación antagónica in vitro de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopatógenos de raíz en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. *Montcalm*. *Agrociencia*, 51(1), 63–78. <https://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v51n1/1405-3195-agro-51-01-00063.pdf>
- Skidmore A.M. y Dickinson, C.H. (1976). Colony interactions and hyphal interference between *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 66(1), 57-64. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(76\)80092-7](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(76)80092-7)
- Valbuena Puentes, A. H., Galindo Soracá, A. M., & Boyacá Quintana, Y. M. (2021). Efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (balsamo) Vuillemin en el control de la oveja ked (*Melophagus ovinus*). *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 32(2), e18362. <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i2.18362>
- Živković, S., Gavrilović, V., Gasic, K., Ristić, D. Dimkic, V., Stankovic, S. & Fira, D. (2016). Antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus* sp. against the lettuce pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. Conference: VII International Scientific Agriculture Symposium “Agrosym 2016”, At Jahorina, Bosnia and Herzegovina, Volume: Book of Proceedings, 1363-1368.

ANEXOS

1. Antagonismo de micelio de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviana* frente a micelio de *Sclerotinia sclerotiorum* a 168 horas en 5 repeticiones.

Figura 22

Cultivo dual a 168 horas de evaluación, micelio de *Trichoderma viride* frente a micelio de *Sclerotinia sclerotiorum*.

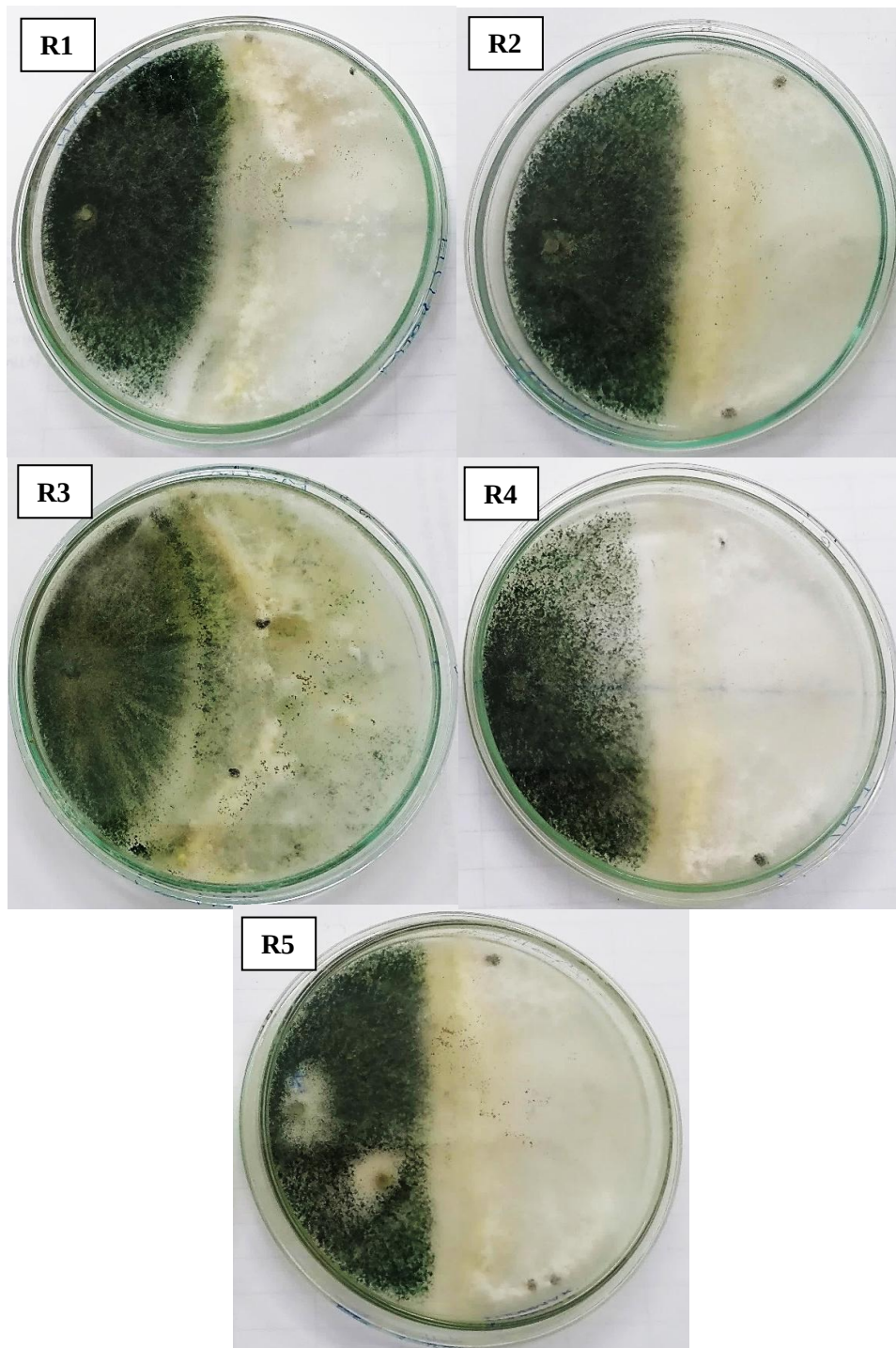
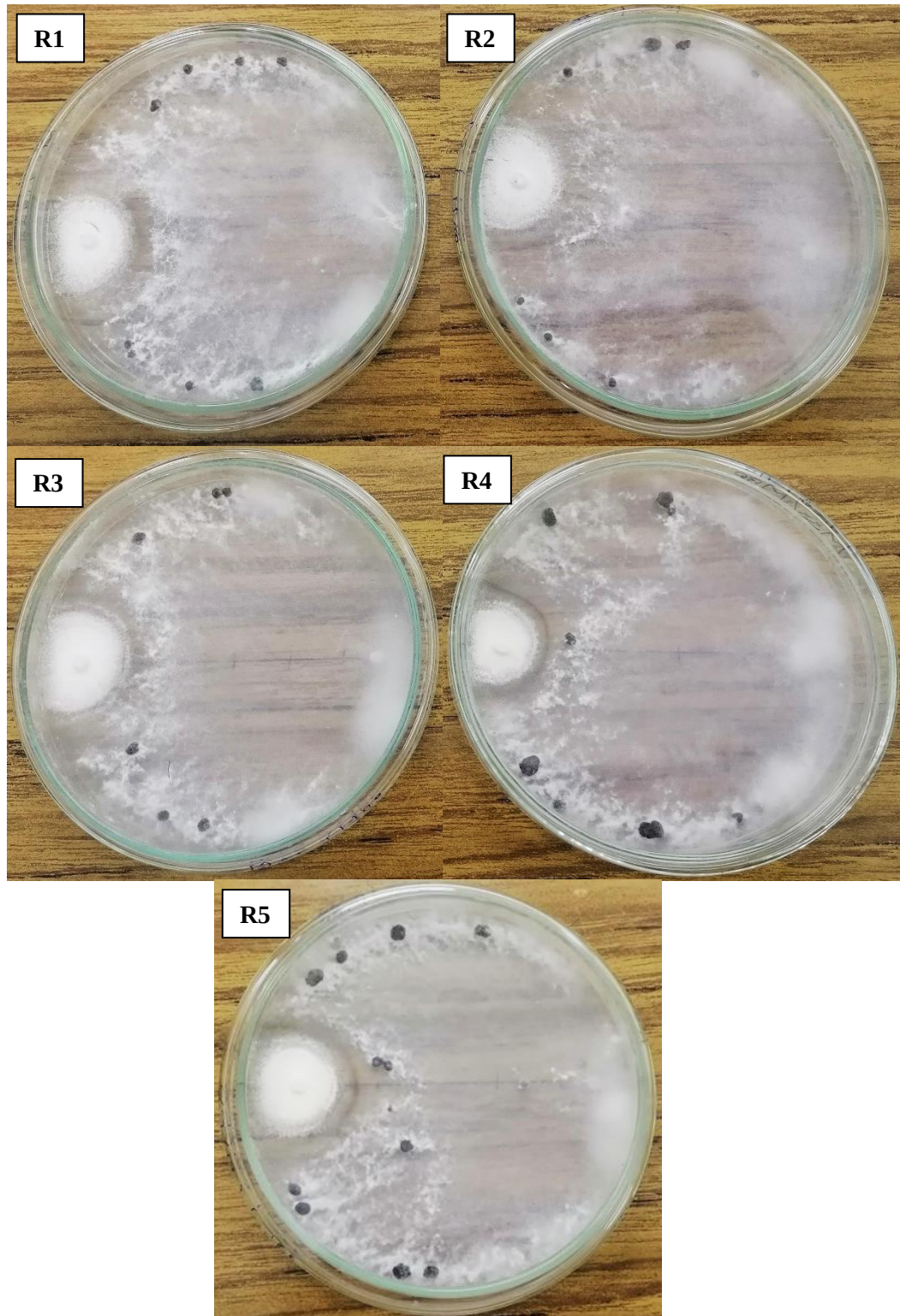


Figura 23

Cultivo dual a 168 horas de evaluación, micelio de Beauveria peruviana frente a micelio de Sclerotinia sclerotiorum.



2. Antagonismo de micelio de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviana* contra esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum* a 168 horas en 5 repeticiones.

Figura 24

Cultivo dual a 168 horas de evaluación, micelio de *Trichoderma viride* frente a esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum*.

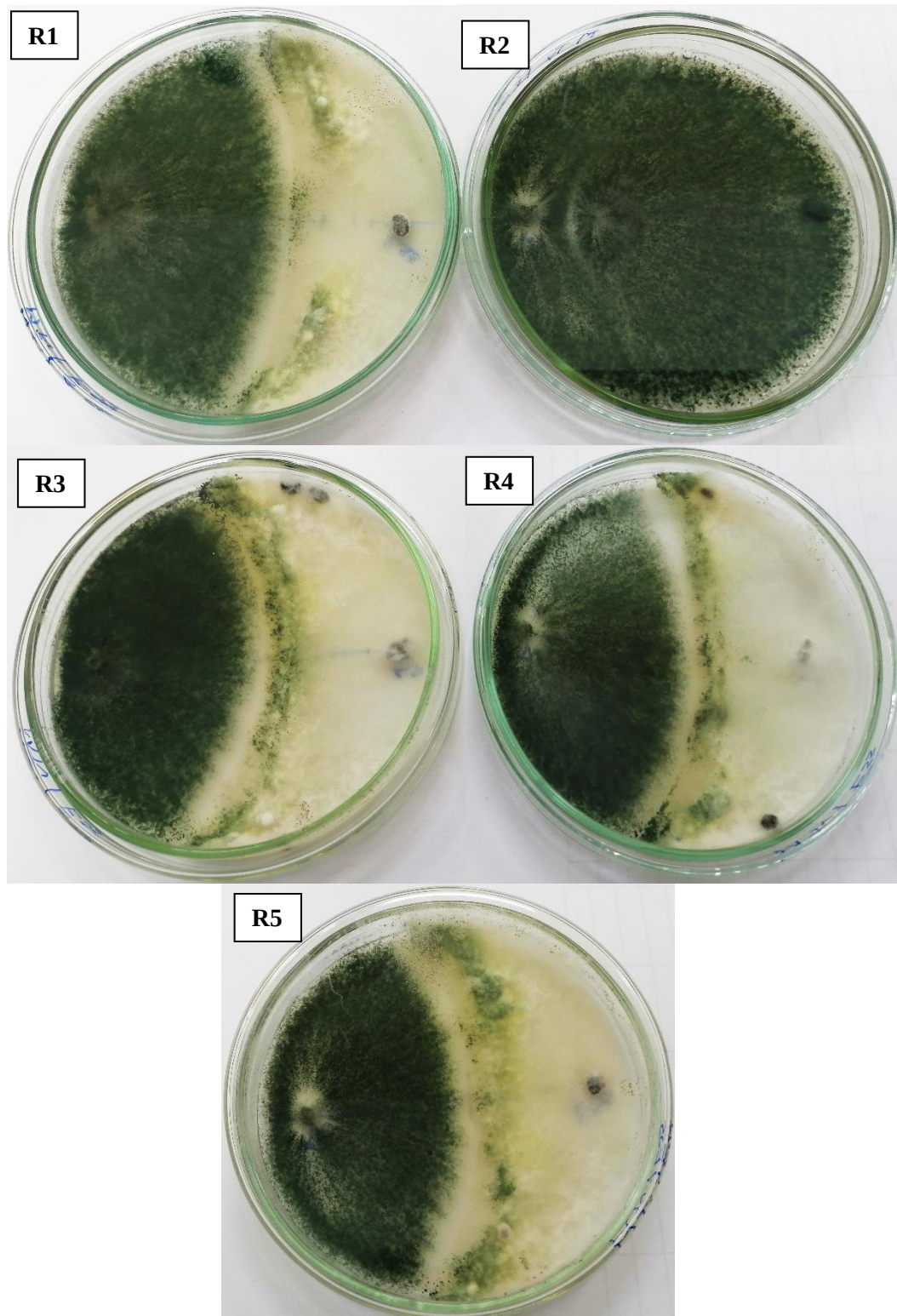
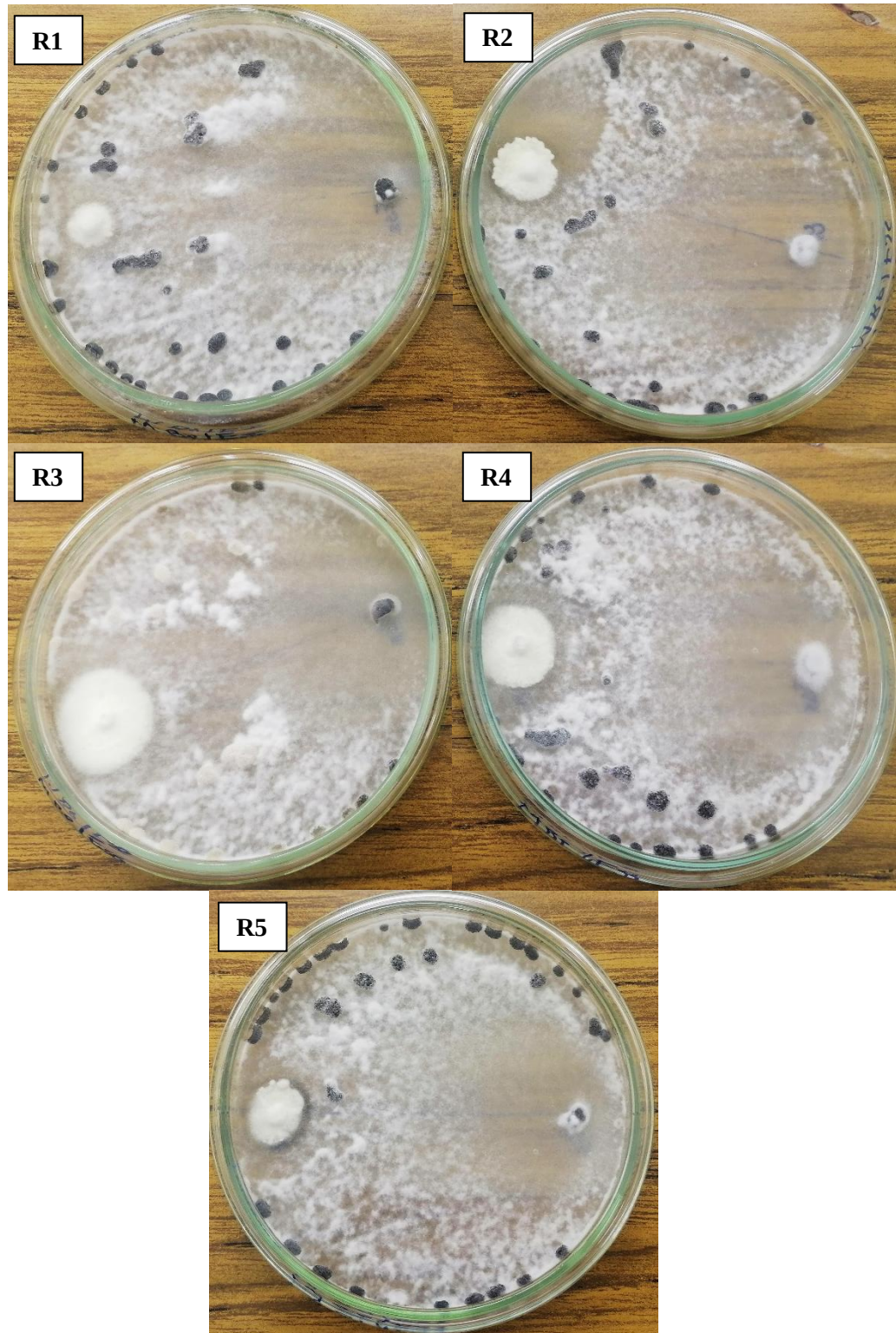


Figura 25

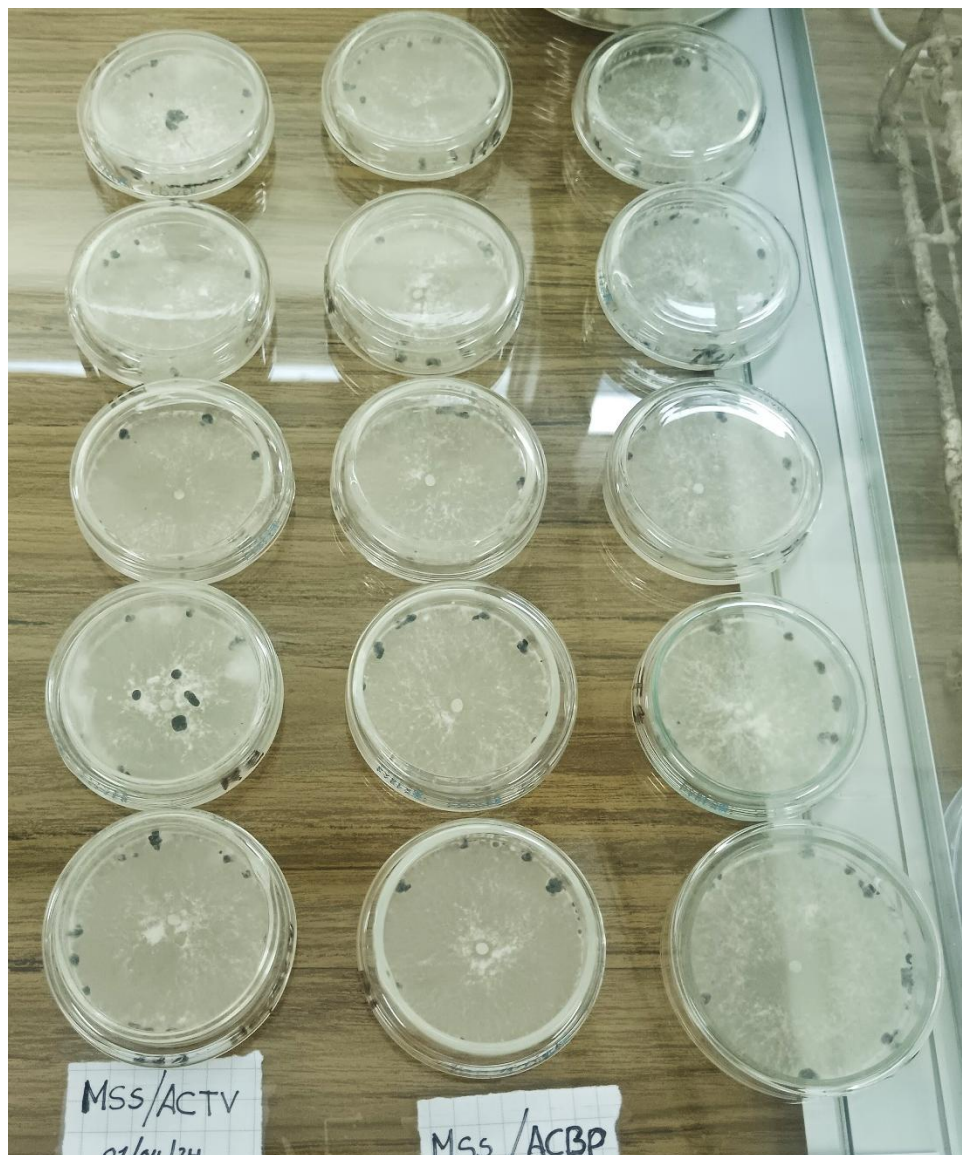
Cultivo dual a 168 horas de evaluación, micelio de Beauveria peruviana frente a esclerocio de Sclerotinia sclerotiorum.



3. Antagonismo por aspersión de conidios de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviansis* contra micelio de *Sclerotinia sclerotiorum* en 5 repeticiones y su testigo.

Figura 26

Instalación del experimento por aspersión de conidios de Trichoderma viride y Beauveria peruviansis sobre micelio de Sclerotinia sclerotiorum.



4. Antagonismo por aspersión de conidios de *Trichoderma viride* y *Beauveria peruviana* contra esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum* en 5 repeticiones.

Figura 27

Antagonismo por aspersión de conidios de Trichoderma viride sobre esclerocios de Sclerotinia sclerotiorum a 240 horas.

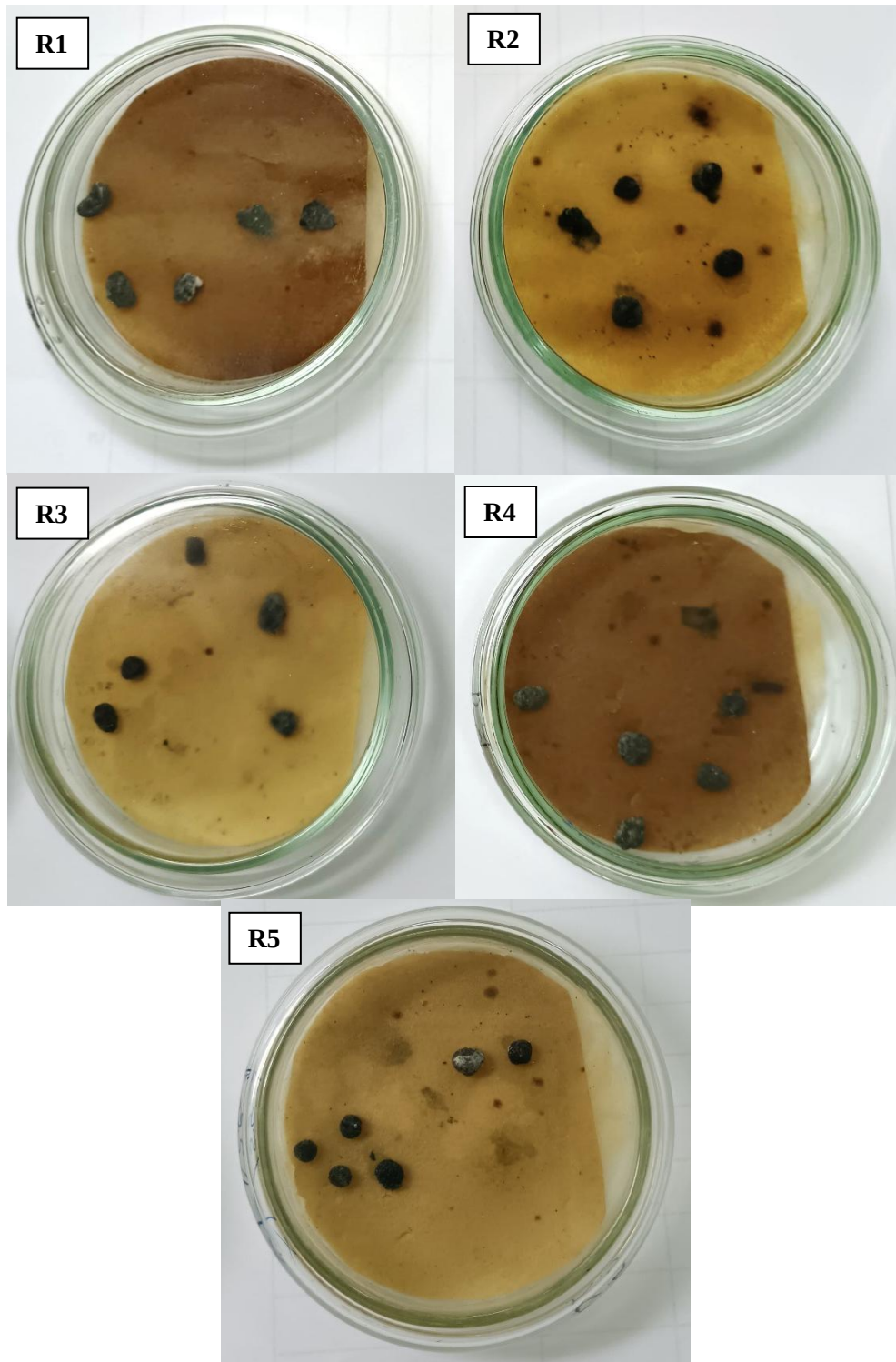
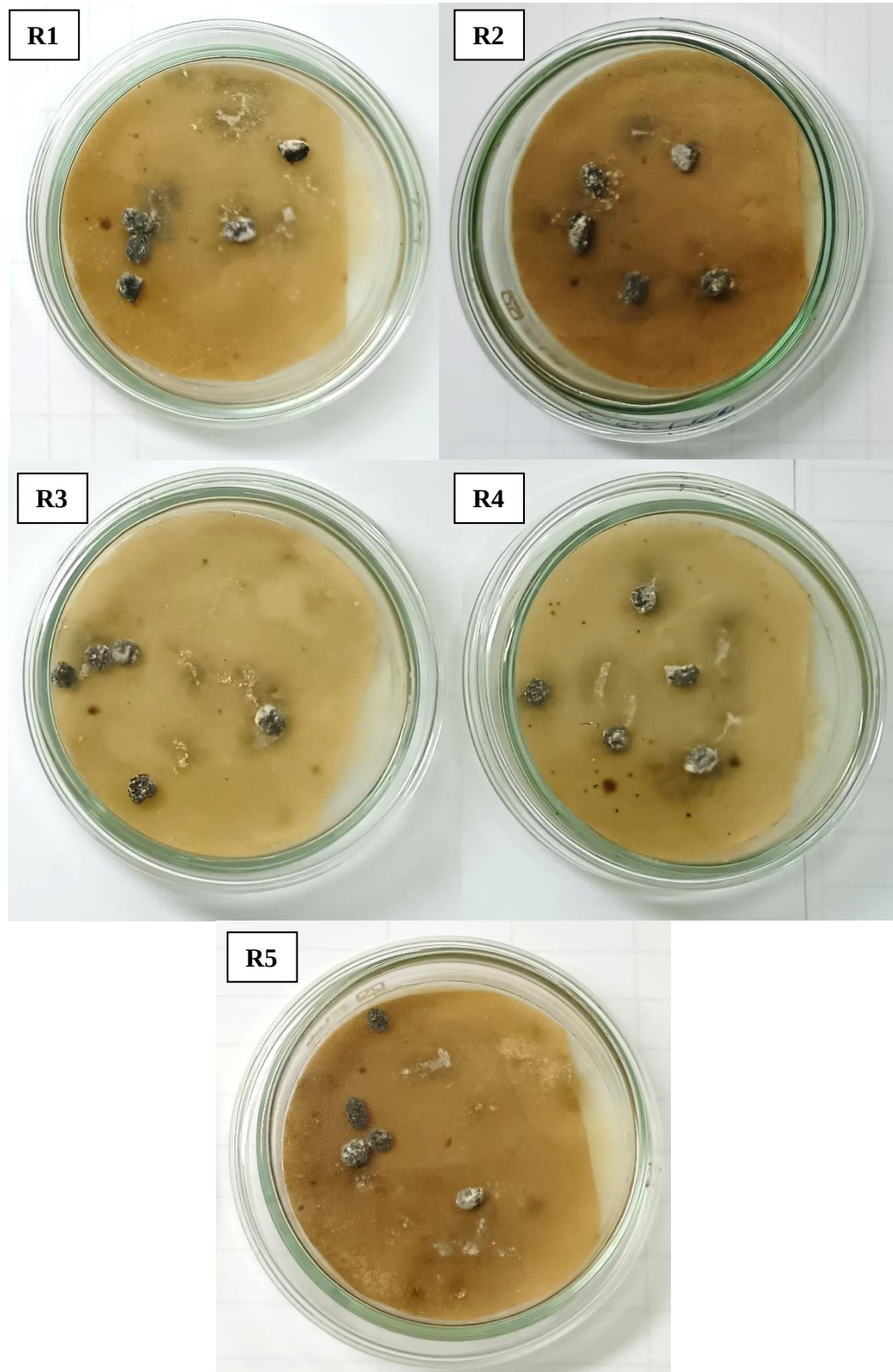


Figura 28

Antagonismo por aspersión de conidios de Beauveria peruviansis sobre esclerocios de Sclerotinia sclerotiorum a 240 horas.



5. Evaluaciones de porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PIC) en condiciones in vitro durante 7 días (168 horas).

Tabla 9

Promedios del porcentaje de inhibición de crecimiento radial durante 168 horas

H/T	T1	T2	T3	T4
24	-27.59	-27.59	0.00	0.00
48	0.98	11.76	100.00	38.93
78	7.32	13.86	78.29	13.45
96	22.29	18.61	72.78	37.39
120	52.92	16.62	63.27	46.60
144	74.66	31.02	73.14	34.34
168	80.98	39.78	81.63	34.02

6. Trabajos realizados en el laboratorio de Fitopatología

Figura 29

Colecta de esclerocios para los ensayos de antagonismo (A), Desinfección de esclerocios (B).

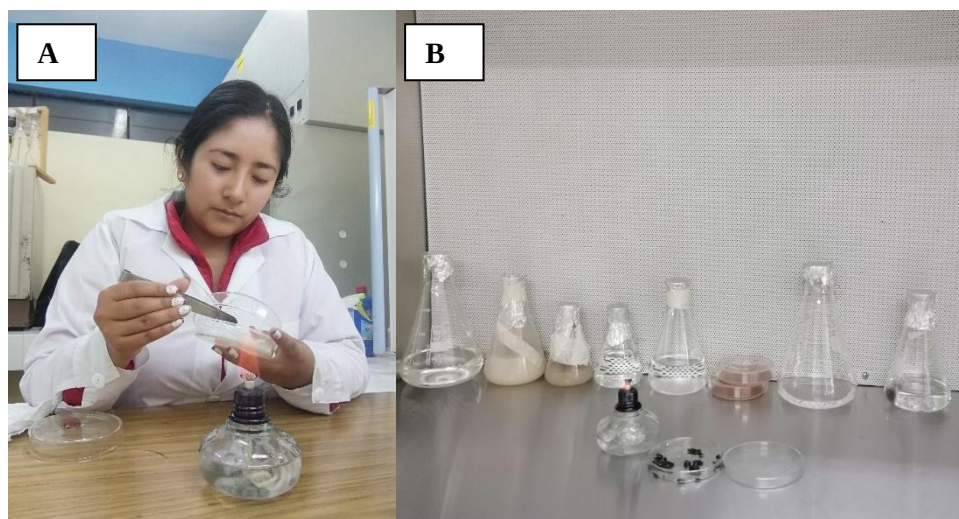


Figura 30

*Desprendimiento de conidios de los hongos antagonísticos mediante el agitador (A),
Observación de muestras en el microscopio (B).*

