

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**



**Evaluación *in vitro* e *in vivo* de la capacidad antagónica de
Trichoderma harzianum para el control de *Rhizoctonia* spp.,
Tumbes**

TESIS

Para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

Br. Ruth Elizabeth Gutiérrez Rivas

Tumbes, 2022

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**



**Evaluación *in vitro* e *in vivo* de la capacidad antagónica de
Trichoderma harzianum para el control de *Rhizoctonia* spp.,
Tumbes**

Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dr. Faustino Sanjinez Salazar (Presidente)

Dr. Milton Valladolid Ramos (Secretario)

Msc. Rosa Solís Castro (Vocal)

Tumbes, 2022

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS



**Evaluación *in vitro* e *in vivo* de la capacidad antagónica de
Trichoderma harzianum para el control de *Rhizoctonia* spp.,
Tumbes**

**Los suscritos declaramos que la tesis es original en su
contenido y forma**

Bach. Ruth Elizabeth Gutiérrez Rivas (Ejecutor)

Dr. Miguel Ángel Garrido Rondoy (Asesor)

Código ORCID: 0000-0002-8542-9353

Tumbes, 2022



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
EX FUNDO FISCAL LA CRUZ-CAMPUS UNIVERSITARIO
SECRETARIA ACADÉMICA



"AÑO DEL FORTALECIMIENTO DE LA SOBERANÍA NACIONAL"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Tumbes, a los veintidós día (s) del mes de Julio del dos mil veintidós, siendo las doce horas pm, en el aula virtual 01 de la Facultad de Ciencias Agrarias, se reunieron el Jurado Calificador de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Tumbes, ratificado por **Resolución N° 063-2022/UNTUMBES-VRACAD-FCA-D**, el Dr. FAUSTINO SANJINEZ SALAZAR (Presidente), Dr. MILTON VALLADOLID RAMOS (Secretario) y M Sc. ROSA LILIANA SOLIS CASTRO (Vocal), reconociendo en la misma resolución además, al Dr. MIGUEL ANGEL GARRIDO RONDOY como asesor, se procedió a evaluar, calificar y deliberar la sustentación de la tesis, titulada: "Evaluación *in vitro* e *in vivo* de la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia* spp., Tumbes", para optar el Título Profesional de Ingeniera Agrónoma, presentado por el (la) : **Br. GUTIERREZ RIVAS RUTH ELIZABETH**. Concluida la sustentación y absueltas las preguntas, por parte del (la) sustentante y después de la deliberación, el jurado según el artículo N° 65 del Reglamento de Tesis para Pregrado y Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes, declara al (a la): **Br. GUTIERREZ RIVAS RUTH ELIZABETH** con calificativo Muy Bueno.....

Se hace conocer al (a la) sustentante, que deberá levantar las observaciones finales hechas al informe final de tesis, que el jurado le indica.

En consecuencia, queda APTA para continuar con los trámites correspondientes a la obtención del título profesional de Ingeniero Agrónomo, de conformidad con lo estipulado en la Ley Universitaria N° 30220, el Estatuto, Reglamento General, Reglamento General de Grados y Títulos y Reglamento de Tesis para Pregrado y Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las trece horas y diez minutos del mismo día, se dio por concluida la ceremonia académica, en forma virtual, procediendo a firmar el acta en presencia del público asistente.

Tumbes, 22 de Julio del 2022.

Dr. FAUSTINO SANJINEZ SALAZAR
DNI N° 00361079
Presidente

Dr. MILTON VALLADOLID RAMOS
DNI N° 00218325
Secretario

M Sc. ROSA LILIANA SOLIS CASTRO
DNI N° 17628592
Vocal

Declaración de originalidad

Yo, Ruth Elizabeth Gutiérrez Rivas, declaro que el presente trabajo de investigación, titulado “Evaluación *in vitro* de la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia* spp., Tumbes”, es original y ha sido presentado con el fin de obtener el título de Ingeniero Agrónomo. En tal sentido, confirmo que, los resultados que se han reportado no han sido copiados de otros archivos o investigaciones. Por ello, la información que no me pertenece, usada para complementar y discutir la tesis, está citada y referenciada debidamente por derechos del autor. Siendo así, este trabajo, producto del esfuerzo de mi persona y asesor, en cuanto a su ejecución y redacción para su aprobación.

Br. Ruth Elizabeth Gutiérrez Rivas

DEDICATORIA

*A Dios, a mis padres y hermanos, los pilares
de mi vida.*

*A mis abuelos, que vivirán por siempre
en mi corazón.*

*A mi compañero de vida, por apoyarme y motivarme
cada día.*

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor, Dr. Miguel Ángel Garrido Rondoy, docente, colega, amigo y gran conocedor en la ciencia de Fitopatología.

A mi compañero de vida, por estar siempre conmigo y apoyarme incondicionalmente en cada fase de mi tesis; de lo contrario, este trabajo no hubiese podido ser.

A los miembros del jurado calificador, Dr. Faustino Sanjinez Salazar, Dr. Milton Valladolid Ramos y Msc. Rosa Solís Castro, por sus sugerencias con el fin de mejorar la presente investigación.

A mis compañeros y compañeras de estudio, por siempre alentarme en la culminación de mi Tesis.

A cada uno de los docentes de mi etapa universitaria, por brindarme sus mejores conocimientos, en especial a un gran amigo y colega, el Msc. Pedro Gerardo Calle Ulfe, que hoy nos guía desde el cielo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
CAPÍTULO I	16
1. INTRODUCCIÓN	16
CAPÍTULO II	18
2. ESTADO DEL ARTE	18
2.1 Antecedentes	18
2.2 <i>Rhizoctonia</i> en el cultivo de arroz (<i>Oryzae sativa</i>)	18
2.3 Control biológico	20
2.4 <i>Trichoderma harzianum</i>	20
CAPÍTULO III	288
3. MATERIALES Y MÉTODOS	288
3.2 Tipo de investigación	288
3.3 Materiales, quipos e insumos:	288
3.3.1 Materiales:	288
3.3.2 Equipos	288
3.3.3 Insumos:	29
3.4 Métodos	29
3.4.1 Selección del área de estudio	29
3.4.2 Obtención de las cepas de <i>Rhizoctonia</i> spp., y de las cepas de <i>T. harzianum</i> comercial y nativo	29
3.5 Ensayo <i>in vitro</i>	299
3.6 Ensayo <i>in vivo</i>	322
CAPÍTULO IV	344
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	344
Ensayo In Vitro con Cepas de <i>Trichoderma</i> : Comercial y nativo	344
4.1.1 Velocidad de crecimiento de las cepas <i>Trichoderma</i> comercial y nativa y, las cepas de <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>R. oryzae</i> y <i>R. oryzae – sativae</i> en medio de cultivo PDA.	344
4.1.2 Capacidad antagónica de la cepa comercial y nativa de <i>T. harzianum</i> frente a <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>R. oryzae</i> y <i>R. oryzae – sativae</i> en medio de cultivo PDA.	355

4.1.3 Interacción hifal de <i>Trichoderma</i> con <i>Rhizoctonia</i> spp.	388
4.1.4 Ancho de barrera por producción de metabolitos.....	455
4.2. Enfrentamientos: <i>Rhizoctonia</i> spp. con cepas de <i>T. harzianum</i> comercial y nativo.	455
4.3. Desarrollo ecto y endo parásito de <i>Trichoderma</i> comercial y nativo.	477
4.4. Capacidad de inducir el desarrollo radicular	499
CAPÍTULO V	511
5. CONCLUSIÓN.....	511
CAPÍTULO VI	522
6. RECOMENDACIÓN	522
CAPÍTULO VII	533
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	534
CAPÍTULO VIII	599
8. ANEXOS.....	599

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Grado de antagonismo de <i>T. harzianum</i> comercial y nativo vs <i>Rhizoctonia</i> spp.....	377
Tabla 2: Interacción hifal de <i>T. harzianum</i> comercial frente a <i>Rhizoctonia</i>	388
Tabla 3: Interacción hifal de <i>T. harzianum</i> nativo frente a <i>Rhizoctonia</i>	399
Tabla 4: Ancho de barrera por producción de metabolitos en <i>Trichoderma</i> comercial y nativo frente a <i>Rhizoctonia</i> spp.....	455

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Fig. 1	(a) Velocidad de crecimiento de la cepa <i>Trichoderma</i> comercial y nativo, (b) Velocidad de crecimiento de <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>R. oryzae</i> y <i>R. oryzae-sativae</i> . 34
Fig. 2	(a) Porcentaje de Inhibición de crecimiento radial (PICR) causado por <i>T. harzianum</i> comercial con <i>Rhizoctonia</i> spp., (b) Porcentaje de Inhibición de crecimiento radial causado por <i>T. harzianum</i> nativo frente a <i>Rhizoctonia</i> spp. 35
Fig. 3	Grado de antagonismo de <i>T. harzianum</i> comercial frente a <i>Rhizoctonia solani</i> (A), <i>R. oryzae-sativae</i> (B) y <i>R. oryzae</i> (C) 36
Fig. 4	Grado de antagonismo de <i>T. harzianum</i> nativo frente a <i>Rhizoctonia solani</i> (A), <i>R. oryzae-sativae</i> (B) y <i>R. oryzae</i> (C) 36
Fig. 5	Antagonismo de <i>T. harzianum</i> comercial frente a <i>Rhizoctonia solani</i> (A), <i>R. oryzae - sativae</i> (B) y <i>R. oryzae</i> (C). 37
Fig. 6	Antagonismo de <i>T. harzianum</i> nativo frente a <i>Rhizoctonia solani</i> (A), <i>R. oryzae - sativae</i> (B) y <i>R. oryzae</i> (C) 37
Fig. 7	Perforación (Per) Enrollamiento (E), Lisis (L) y Fragmentación (F) de <i>T. harzianum</i> comercial frente a <i>R. solani</i> 40
Fig. 8	Enrollamiento (E), Lisis (L), Fragmentación (F) y Perforación (Per) de <i>T. harzianum</i> comercial frente a <i>R. oryzae -sativae</i> 41
Fig. 9	Lisis (L), Enrollamiento (E), Penetración (P) y Granulación (G) de <i>T. harzianum</i> comercial frente a <i>R. oryzae</i> 42
Fig. 10	Lisis (L), Vacuolización (V), Enrollamiento (E) de <i>T. harzianum</i> nativo frente a <i>R. solani</i> 43
Fig. 11	Lisis (L), Vacuolización (V), Granulación (G) de <i>T. harzianum</i> nativo frente a <i>R. oryzae - sativae</i> 43
Fig. 12	Penetración (P), Lisis (L), Fragmentación (F) y Granulación (G) de <i>T. harzianum</i> nativo frente a <i>R. oryzae</i> 44
Fig. 13	Enrollamiento de la hifa de <i>Trichoderma harzianum</i> nativo 44
Fig. 14	Curva de desarrollo de <i>R. solani</i> , <i>R. oryzae</i> y <i>R. oryzae – sativae</i> frente a <i>Trichoderma harzianum</i> comercial 46

- Fig. 15 Curva de desarrollo de *R. solani*, *R. oryzae* y *R. oryzae – sativae* 47
frente a *Trichoderma harzianum* nativo
- Fig. 16 Desarrollo ecto parásito de *Trichoderma* comercial (a) y nativo (b) 47
en raíces de arroz
- Fig. 17 Micro fotografía, ecto parasitismo de *Trichoderma* comercial sobre 48
raicillas de arroz
- Fig. 18 Micro fotografía, endo parasitismo de *Trichoderma* comercial sobre 49
raicillas de arroz
- Fig. 19 Crecimiento radicular de planta de arroz inoculadas con 50
Trichoderma comercial (b) y Nativo (c), frente al Testigo (a).

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1: Siembra de <i>Trichoderma</i> y <i>Rhizoctonia</i> en placas con PDA.....	599
Anexo 2.: Inoculación de <i>Trichoderma</i> comercial y nativo en plantulas de arroz.	599
Anexo 3: Preparando cámaras húmedas con raíces de arroz, 40 días después del trasplante.....	600
Anexo 4: Método de Tinción modificado de Phillips y Hayman (1970), en raíces de arroz a los 15 después de la Inoculación con <i>Trichoderma</i> comercial y nativo.....	600
Anexo 5: Peso de raíces de plantas de arroz inoculadas con cepa comercial y nativa de <i>T. harzianum</i> (g).....	611
Anexo 6.: Resultados del Análisis de varianza (ANOVA) para el peso de raíces de arroz.	611
Anexo 7: Informe de originalidad.....	622

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Tumbes, entre octubre del 2021 a marzo del 2022, con la finalidad de conocer la capacidad antagónica de una cepa comercial y nativa de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae* y *R. oryzae – sativae*. Los resultados indican que, la cepa comercial de *Trichoderma*, a nivel in vitro, inhibe el crecimiento radial de *R. solani*, en un 60%, mientras que la cepa nativa lo hace en un 57,5%, algo similar ocurre con *R. oryzae - sativae*, donde la cepa comercial inhibe en 61,25% y la cepa nativa en un 58,63%; para el caso de *R. oryzae* la cepa nativa inhibió en un 61% y la comercial en 60.88%. A nivel de antagonismo, la cepa comercial mostró un alto nivel en lisis, vacuolización, fragmentación y enrollamiento frente a *R. solani* y *R. oryzae-sativae* y un nivel moderado con *R. oryzae*. No sucedió lo mismo con la cepa nativa, que solamente presentó un alto nivel en lisis y vacuolización frente a *R. solani* y, con *R. oryzae* fragmentación y vacuolización; el mecanismo de granulación y penetración se mostraron en un bajo nivel; al evaluar la acción de *Trichoderma* en la raíz, la cepa comercial desarrollo profusamente y mostró endoparasitismo, no ocurre lo mismo con la cepa de *Trichoderma* nativo que tuvo un desarrollo escaso en la raíz y no mostró acción endoparásita; finalmente, con la cepa comercial se mostró mayor desarrollo del sistema radicular, obteniendo un peso fresco promedio de 2.447 g., superando al tratamiento con cepa nativa 0.566 g. y en 1.242 g. al testigo.

Palabra clave: Endo y ecto parasitismo, mecanismos de acción, control biológico

ABSTRACT

This present research was carried out in the Phytopathology laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the National University of Tumbes, between October 2021 and March 2022, with the purpose of knowing the antagonistic capacity of the strain. commercial and native *Trichoderma harzianum* against *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae* and *R. oryzae – sativae*. The results indicate that the commercial strain of *Trichoderma*, at the in vitro level, inhibits the radial growth of *R. solani* by 60%, while the native strain does so by 57.5%, something similar occurs with *R. oryzae - sativae*, where the commercial strain inhibits by 61.25% and the native strain by 58.63%; In the case of *R. oryzae*, the native strain inhibited by 61% and the commercial one by 60.88%. At the level of antagonism, the commercial strain showed a high level of lysis, vacuolization, fragmentation and coiling against *R. solani* and *R. oryzae - sativae* and a moderate level with *R. oryzae*. The same did not happen with the native strain, which only presented a high level of lysis and vacuolization against *R. solani* and, with *R. oryzae*, fragmentation and vacuolization; the granulation and penetration mechanism were shown at a low level; when evaluating the action of *Trichoderma* in the root, the commercial strain developed profusely and showed endoparasitism, the same does not occur with the native *Trichoderma* strain that had a scarce development in the root and did not show endoparasitic action; Finally, with the commercial strain, greater development of the root system was observed, obtaining an average fresh weight of 2.447 g, exceeding the treatment with the native strain by 0.566 g. and the control by 1.242 g.

Keyword: Endo and ecto parasitism, mechanisms of action, biological control

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

Rhizoctonia spp., es un fitopatógeno que ataca al cultivo de arroz, y que, en niveles severos provoca grandes daños que pueden reducir parte de la producción. Los hongos de este género tienen la capacidad de sobrevivir por muchos años en condiciones adversas, a través de estructuras de conservación en el suelo.

Por mucho tiempo se ha manejado este problema con el mal uso del control químico, permitiendo la aparición de diversos problemas y la contaminación del medio ambiente. El uso de control biológico es una opción que es necesario implementar, pero el uso de microorganismos de dudoso proceso, hacen que se no se tengan los resultados que se esperan.

Trichoderma es un antagonista de mayor uso, que se comercializa con poco control, proveniente de un proceso artesanal, que no garantiza los resultados que se requiere en el control de un fitopatógeno. Las especies de *Trichoderma* están constituidas por cepas genéticamente distintas, con diferente capacidad antagónica, la ventaja de un producto comercial frente a un artesanal es su estabilidad genética y control frente a un fitopatógeno.

Esta investigación busca bridar las posibilidades de control que tiene *Trichoderma* frente a estos patógenos del suelo; por ende, un buen manejo de este biocontrolador permitirá reducir el uso de agroquímicos, disminuir las posibilidades de resistencia genética de los fitopatógenos, además de generar el menor impacto en la vida microbiana del suelo.

Por ello, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar la capacidad antagónica de dos cepas de *Trichoderma harzianum*, comercial y nativa, a nivel de laboratorio frente a *Rhizoctonia* spp., en Tumbes.

CAPÍTULO II

2. ESTADO DEL ARTE

2.1 Antecedentes

Estudios realizados en Tumbes por Garrido (2009), reportaron los daños ocasionados por las especies de *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae* y *R. oryzae-sativae*, en el cultivo de arroz. Posteriormente, Garrido (2019), a través de pruebas duales *in vitro* frente a una cepa comercial de *T. harzianum*, comprobó que, este antagonista presentó un alto grado de micoparasitismo frente a *Rhizoctonia* spp, corroborando lo descrito por Chet y Benhamou (1998), quienes aseguran que *Trichoderma* al entrar en contacto con *R. solani*, desarrolló un alto nivel de enrollamiento y penetración.

Reina et al. (2013), en su artículo reconoce los mecanismos de acción y afirma que mientras un aislamiento de *Trichoderma*, evidencie diferentes modos de acción frente a un patógeno, será más eficiente su control. Lo mismo reportan Harman y Kubicek (2014), al describir las habilidades micoparasíticas que poseen *Trichoderma*, como competencia por espacio y producción de compuestos que segregan frente a los fitopatógenos, ejerciendo un biocontrol tan importante en la agricultura. Por ello, Thrane et al. (1995), manifiestan que a veces esta capacidad de control se ve afectada por diversos factores ambientales, indicando que es necesario minimizar la variabilidad para garantizar su persistencia y optar por estos organismos como agentes de control.

Villegas (2005), determinó que al inocular la semilla con *T. harzianum*, disminuyen las poblaciones de *R. solani*. De igual modo, Orrala (2013), en su investigación afirma que, *Trichoderma* spp., tiene la capacidad de colonizar la superficie de la raíz, tanto en plantas adultas, como aquellas provenientes de semilla tratada.

Por ello que, son diversos los beneficios de *Trichoderma* al ser inoculado, entre ellos está el mejor desarrollo del sistema radicular, lo que lleva a una mayor producción de pelos absorbentes y un mayor enraizamiento de la planta inoculada (Harman, 2006).

Martínez et al. (2008), también asegura que el control de *Trichoderma* puede variar debido a la especificidad que tenga la cepa y de sus modos de acción. Ante ello, Pineda et al. (2017), indica que es importante realizar diversos estudios previos para la comercialización de los biopreparados, como considerar el nivel de concentración de inóculo, además de la viabilidad que tengan las esporas y que densidad de inóculo se mantenga al aplicar el producto.

En consecuencia, entre los formulados de hongos, *T. viride* y *T. harzianum* son las especies más usadas como ingredientes principales, debido a su amplia gama de hospederos, entre ellos *Rhizoctonia* spp. (Verma et al., 2007).

2.2 *Rhizoctonia* en el cultivo de arroz (*Oryza sativa*)

El complejo de hongos llamado *Rhizoctonia* tienen una gran distribución a nivel mundial; gran parte de este grupo, son patógenos que tienen importancia agrícola, forestal y acuática; con la excepción de algunos que no ocasionan daños. Otros son organismos saprobios que habitan en materia orgánica descompuesta, y otros pueden realizar simbiosis con algunas orquídeas y musgos (Cubeta y Vilgalys, 2000).

Rhizoctonia solani es la especie que más se ha estudiado (Parmeter y Whitney, 1970). Este patógeno distribuido mundialmente posee un rango muy amplio de hospedantes ocasionando daños en diversos cultivos. Por su versatilidad los estudios son de tipo ecológico, patológico y también de control biológico (Sneh et al., 1996).

2.3 Control biológico

Cuando las plantas sufren enfermedades se genera un obstáculo para la producción, ya que se ven afectados los rendimientos del cultivo originándose pérdidas económicas. Por esta razón, existe el control biológico, una alternativa segura y favorable para el medio ambiente que sirve para controlar las enfermedades en las plantas. Este control lo ejercen los mismos microorganismos, realizando diversas interacciones antagónicas con la finalidad de sobrevivir (Viterbo y Horwitz, 2010).

Trichoderma spp. tiene mayor uso, debido a su gran capacidad para disminuir enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos. *Trichoderma* ejerce el control a través de sus mecanismos de acción como la competencia por espacio y nutrientes, además de la antibiosis y el Micoparasitismo (Benhamou y Chet, 1997), permitiéndole su establecimiento en la rizósfera de la planta para realizar simbiosis sin generar virulencia u otro problema (Shoresh et al., 2010).

2.4 *Trichoderma harzianum*

Es un antagonista de los patógenos que dañan las raíces de las plantas. *Trichoderma* mejora el desarrollo radicular, bloqueando la acción de las enfermedades en el suelo y en las raíces del próximo cultivo. También actúa como acondicionador y bioestimulante de la flora nativa, secreta enzimas para hidrolizar la pared celular de los hongos patógenos y tomar los nutrientes, (β – glucanasas, quitinasas, celulasas y glucanasas) (Hernández et al, 2019); así mismo, absorbe nutrientes de los productos orgánicos ayudando a su descomposición, favoreciendo la incorporación de materia orgánica y compostaje; su velocidad de crecimiento permite la invasión de suelos para controlar.

Este agente es muy versátil y polifacético, que aporta muchos beneficios para el control de patógenos fúngicos y en la nutrición de microorganismos del suelo (Valdés, 2014). El ingrediente activo son esporas en latencia de *Trichoderma harzianum* (ORIOUS BIOTECH, 2017).

2.4.1 Funciones de *Trichoderma*.

a. Promotor del desarrollo vegetativo.

Al tener contacto con la planta, *Trichoderma*, genera un estímulo del crecimiento y desarrollo en las raíces, a través de la adherencia, penetración y colonización que se da dentro de las mismas. Gracias a la producción de metabolitos y hormonas como las auxinas, se pueden controlar estos estímulos, y además permite que la planta asimile algunos nutrientes como el zinc, cobre, etc. que fueron solubilizados por las cepas anteriormente (Hermosa, y otros, 2013). Los compuestos orgánicos volátiles o lipófilos son moléculas promotoras del crecimiento y han sido reconocidas y destacadas por realizar esta función en las plantas (Lee et al., 2016).

b. Inducción de resistencia (IRS)

Como todo ser vivo, las plantas viven rodeadas de muchos microorganismos, y con ello están expuestas a los peligros que pueden sufrir por éstos en su desarrollo. Al detectar alguna amenaza, las plantas crean sus propias respuestas de defensa con la finalidad de sobrevivir (Lorenzo et al., 2011).

Una buena capacidad se genera por la activación de las defensas, además de paredes celulares reforzadas y el almacenamiento de compuestos antimicrobianos, debido a la inmunidad innata del sistema vegetal. La resistencia sistémica adquirida (SAR) y la resistencia sistémica inducida (ISR) se activan cuando se detectan lesiones en el tejido, producida por los patógenos o por la interacción con microorganismos promotores del crecimiento (Zipfel, 2014).

Shoresh et al., (2010), asegura que, *Trichoderma spp.*, posee la habilidad para controlar patógenos que atacan las raíces, follaje y frutos. Esto se atribuye a la capacidad del hongo, el cual reprograma la expresión genética de la planta. Existen diversas clases de compuestos que se liberan en el lugar de interacción; así como diferentes especies de *Trichoderma* producen otros compuestos secundarios que inducen la resistencia en las plantas, y que a su vez esto lleva a una disminución de la enfermedad.

c. Facilitador de la solubilización y absorción de nutrientes

Trichoderma spp., es un organismo que necesita fuentes de carbono que son difíciles de biodegradar, como las ligninas y celulosas que ayudan a desarrollar su metabolismo. Además, tiene la capacidad de distribuir nutrientes que se encuentran en el suelo, a través de la excreción de enzimas extracelulares, para transformar los compuestos nitrogenados orgánicos en inorgánicos, como el amonio, y fosforados orgánicos en inorgánicos, entre otros. Cuando los nutrientes están solubilizados, las plantas pueden utilizarlos, mejorando su salud y resistencia contra los patógenos (Norte, 2008).

d. Biorremediador de suelos

Trichoderma es capaz de producir enzimas que degradan residuos vegetales, así como aquellas enzimas especializadas que degraden o simplifiquen las moléculas más complejas, como los compuestos que contienen los pesticidas (DDT, endosulfán, pentacloronitrobenzeno) y herbicidas (Trifluralin y Glifosato) entre otros (Norte, 2008).

e. Variabilidad genética

Es una de las características que permite ampliar los estudios basados en la selección de cepas vitales en el control biológico. Conocer la influencia de los

factores bioecológicos en su fisiología y el comportamiento de los mecanismos de acción en el control, son necesarios en *Trichoderma* spp.

A través del ADN puede analizarse la variabilidad inter e intraespecífica, que conduce al desarrollo de marcadores moleculares, útiles para los estudios filogenéticos y la obtención de una mayor información del genoma y de las expresiones que pueden influenciarse por el ambiente, con fines de resolver las relaciones filogenéticas en estudio (Druzhinina et al. 2012).

Los marcadores moleculares más utilizados son:

- Polimorfismo de la Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLP-Restriction Fragment Length Polymorphism).
- Polimorfismo del ADN Amplificado al Azar (RAPD-Random Amplified Polymorphic DNA).
- Secuencias Simples Repetidas (SSR-Single Sequences Repeat).
- Polimorfismo de la Longitud de los Fragmentos Amplificados (AFLP-Amplified Fragments Length Polymorphism).

Estos marcadores moleculares son herramientas de estudios genéticos y taxonómicos, que pueden identificar rápidamente caracteres de importancia y mapas genéticamente en poblaciones fúngicas. Estas técnicas han sido utilizadas para detectar variabilidad genética en especies de *Trichoderma*. Actualmente se sabe que, es preferible usar dos o más tipos de marcadores para obtener buenos resultados, considerando la experiencia del investigador, las ventajas y desventajas que presentan. Aun así, no es imposible llegar a una identificación precisa de las especies, siempre y cuando se introduzcan los nuevos avances biotecnológicos.

f. Interacción con otros microorganismos y plantas

Harman et al. (2004), asegura que algunas cepas de *Trichoderma* además de controlar biológicamente, pueden realizar interacciones y colonizar la epidermis de las raíces externamente. Esta acción de *Trichoderma* maximiza el sistema inmune de la planta, frente a los fitopatógenos (Vargas et al., 2011). Cuando *Trichoderma* llega a la rizósfera se genera un ambiente adecuado, que le permite a la planta dar una mejor respuesta frente al estrés biótico y abiótico; además se forma la interacción microorganismo-planta que trae consigo múltiples beneficios que promueve el crecimiento, la resistencia, entre otros (Keswani et al., 2014).

g. Importancia biotecnológica de *Trichoderma*

Algunas especies del género *Trichoderma* spp. han sido utilizadas en las aplicaciones biotecnológicas porque pueden producir proteínas de importancia biológica. Esto se debe a las enzimas que tienen para degradar celulasas y hemicelulasas, las cuales despolimerizan la biomasa en azúcares simples, resultando productos biocombustibles como el etanol, entre otros.

Los estudios basados en este género, se han amplificado con el pasar de los años por los beneficios que brinda en la agricultura, registrándose a nivel mundial más del 60% de biofungicidas compuestos por estos microorganismos (Verma et al., 2007).

Muchos estudios se basan en el desarrollo de cepas de *Trichoderma*, para producir compuestos como antibióticos, micotoxinas, fitotoxinas y enzimas. Explicar la relación de *Trichoderma*-planta y sus ventajas sigue siendo uno de los objetivos de estudio con el fin de conocer las interacciones con factores bióticos y abióticos (Hermosa et al., 2012).

2.4.2 Mecanismos de acción

1. Competencia por espacio y nutrientes

Es uno de los principales mecanismos que ejerce *Trichoderma* en el biocontrol, caracterizado por comportamiento desigual de varios organismos frente a una misma necesidad, siempre que uno logre obtenga mayor acceso del requerimiento que los demás (Infante et al., 2009).

La capacidad que tiene *Trichoderma* para desarrollarse rápidamente en el suelo, le permite competir por espacio y nutrientes mientras coloniza la rizósfera de las plantas. Además de producir sustancias que degradan la materia orgánica, para usarla como fuentes de carbono y nitrógeno, evitando que otros microorganismos no deseados puedan desarrollarse en el medio.

Otras características reportadas en estudios muestran que *Trichoderma* es capaz de segregar sideróforos, actuando como un agente quelante que toma los iones hierro, provocando un déficit de nutrientes para *Botrytis cinérea*. Así como también la producción de hidrofobinas, que favorece la unión de los filamentos a las raíces que no tienen contacto con el agua, y finalmente, las cepas han demostrado ser resistentes a las sustancias tóxicas que producen algunas plantas al detectar infecciones por hongos (Blaszczyk et al., 2014).

Otra característica recientemente reportada en cepas de *Trichoderma harzianum*, fue la producción y actividad mejorada de hidrofobinas durante la colonización de la raíz de la planta, lo que permite la unión de filamentos miceliales a superficies de raíces hidrófobas. Además, las cepas de *Trichoderma* son resistentes a fitoalexinas, flavonoides, terpenoides y fenoles que son compuestos tóxicos producidos por las plantas en respuesta a infecciones (Blaszczyk et al., 2014).

2. Antibiosis

Proceso en el que se interrumpe el crecimiento de un microorganismo debido a las sustancias que secreta otro sin tener contacto. Actualmente, estas sustancias son llamados metabolitos secundarios, los cuales más de 180 han sido caracterizados químicamente, demostrando que pueden inhibir a los fitopatógenos, siendo las diversas cepas de *Trichoderma* quienes pueden producirlas (Dennis y Webster, 1971).

Entre ellas, la especie *T. harzianum*, posee un antibiótico volátil (6-pentil- α -pirona) con efecto inhibitorio contra *Rhizoctonia solani*, entre otros patógenos (Reino et al., 2008).

Existen otros compuestos de los antagonistas que actúan como fungicidas y antibacterianos, para controlar *R. solani*, *F. oxysporum*, *Botrytis allii*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y otros (Blaszczyk et al., 2014). La secreción de estos compuestos realizados por una misma cepa de *Trichoderma*, disminuye el riesgo de que otros microorganismos patógenos generen resistencia, resultando de mucha importancia este mecanismo de acción propio del hongo benéfico.

3. Micoparasitismo

El Micoparasitismo es un mecanismo donde *Trichoderma* muestra su antagonismo directamente con los patógenos del suelo que afectan las raíces de las plantas (Viterbo y Horwitz, 2010). Consiste en el crecimiento quimioorganotrófico sobre el huésped, a través de la atracción, sujeción, el enrollamiento y la penetración de hifa. Un proceso complejo en el que se producen de enzimas líticas que se combinan con los antibióticos ejerciendo el antagonismo (Monte, 2001).

Howell (2003), sostuvo que estas enzimas degradan parcialmente las paredes celulares facilitando el ingreso de los antibióticos a las células patógenas de los hongos *B. cinerea* y *F. oxysporum* (Blaszczyk et al., 2014).

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio y tinglado de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Tumbes, ubicados en el distrito San Pedro de los Incas, de la provincia y departamento de Tumbes.

3.2 Tipo de investigación

Este trabajo es de carácter descriptivo.

3.3 Materiales, quipos e insumos:

3.3.1 Materiales:

- Placas Petri
- Asa de siembra
- Bandejas de plástico.

3.3.2 Equipos

- Cámara de flujo laminar
- Incubadora
- Microscopio – Estereoscopio

3.3.3 Insumos:

- Papa dextrosa agar.
- Semillas de arroz

3.4 Métodos

3.4.1 Selección del área de estudio

El proyecto se realizó en el departamento y provincia de Tumbes, en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Tumbes.

3.4.2 Obtención de las cepas de *Rhizoctonia* spp., y de las cepas de *T. harzianum* comercial y nativo

La cepa de *Trichoderma harzianum*, se obtuvo de una muestra comercial viable de Tricho D, de la empresa Orius Biotech y, las cepas nativas de *Trichoderma* spp, *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae* y *R. oryzae-sativae*, fueron tomadas del Taller de conservación de hongos de la facultad de ciencias agrarias.

3.5 Ensayo in vitro

Se evaluaron seis tratamientos con tres repeticiones y un testigo de todas las cepas en estudio.

T1: Cepa *Trichoderma* Comercial vs. *R. solani*.

T2: Cepa *Trichoderma* Comercial vs. *R. oryzae*.

T3: Cepa *Trichoderma* Comercial vs *R. oryzae-sativae*.

T4: Cepa *Trichoderma* Nativo vs. *R. solani*.

T5: Cepa *Trichoderma* Nativo vs. *R. oryzae*.

T6: Cepa *Trichoderma* Nativo vs. *R. oryzae-sativae*.

1. Prueba de antagonismo *in vitro* en cultivos duales:

Se realizó siguiendo la técnica de cultivo dual de Dennis y Webster (1971). En una placa Petri de 9 cm de radio, conteniendo papa dextrosa agar (PDA), se colocó en un extremo un disco de agar de 0.5 cm de diámetro con micelio de *Rhizoctonia* y en el extremo opuesto otro disco de agar de 0.5 cm., con micelio de *Trichoderma*. Las placas se incubaron a 24 °C, con alternancia de luz – oscuridad, a partir de este ensayo se evaluaron los siguientes indicadores:

- a. Capacidad antagonica de *Trichoderma* spp. La evaluación se realizó cinco días después de la siembra y se aplicó la escala propuesta por Bell et al., (1982) (Tabla 1).

Tabla 1: Escala de evaluación de la capacidad antagonica. Bell et al., 1982.

Grado	Capacidad antagonica
1	<i>Trichoderma</i> coloniza el 100% de la superficie del medio y crece sobre el fitopatogeno
2	<i>Trichoderma</i> coloniza dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo y limita el crecimiento del fitopatogeno
3	<i>Trichoderma</i> y el fitopatogeno colonizan cada uno la mitad de la superficie, ningún hongo domina
4	El fitopatogeno coloniza dos terceras partes de la superficie del medio y limita el crecimiento de <i>Trichoderma</i>
5	El fitopatogeno coloniza el 100% de la superficie del medio y crece sobre <i>Trichoderma</i> .

- b. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR). Los cultivos duales se evaluaron midiendo con una regla milimétrica cada 24 h el crecimiento radial de cada colonia de los hongos, durante siete días. El porcentaje se determinó aplicando la fórmula propuesta por Ezziyyani et al. (2004) donde:

$$\text{PICR} = [(R1-R2)/R1]*100$$

Donde:

R1: Diámetro del testigo

R2: Diámetro del organismo ensayado.

Con la información obtenida se evaluó la efectividad antagonista, según la escala propuesta por García (2015) (Tabla 2).

Tabla 2: Escala cualitativa para determinar la efectividad antagonista de las cepas de *Trichoderma* sobre los fitopatógenos. (García, 2015).

Grado	Antagonismo	Reducción del crecimiento micelial de <i>Trichoderma</i> sobre el fitopatógeno (%)
0	Nulo	≤0
1	Bajo	1-25
2	Moderado	26-65
3	Alto	66-85
4	Muy alto	≥86

c. Interacción hifal de *Trichoderma* con los fitopatógenos en estudio, se evaluó aplicando la escala propuesta Garrido (2018) (Tabla 3); en este ensayo se observa la presencia de un mecanismo de acción en un campo visual, considerándose la condición alto, medio y bajo en la medida que se observe con frecuencia un mecanismo de acción en el campo visual.

Las muestras de micelio, tomadas para su observación al microscopio óptico a 400 x de aumento, fueron obtenidas de la zona de confluencia *Trichoderma* – Fitopatógeno.

Tabla 3: Escala de nivel de Interacción de antagonismo por enfrentamiento (Garrido, 2018).

Grado	Características
Alto	+++
Moderado	++
Bajo	+

d. Producción de metabolitos solubles por *Trichoderma* frente a un fitopatógeno; la evaluación se realizó diez días después de la siembra, se midió el ancho de la barrera formada en la zona de confluencia *Trichoderma* – Fitopatógeno. (Tabla 4).

Tabla 4: Características de selección de *Trichoderma spp.* por producción de metabolitos solubles (Ortuño et. al. 2013).

Ancho de barrera (cm)	Características
0.7	Barrera gruesa
0.5 - 0.6	Barrera gruesa
0.4 - 0.5	Barrera delgada
0.2 - 0.3	Barrera delgada
0.1 - 0.2	Barrera fina
0	No presenta barrera

3.6 Ensayo *in vivo*

a. Tratamientos

Se evaluaron tres tratamientos con un testigo absoluto:

- **T1:** Cepa *Trichoderma* comercial.
- **T2:** Cepa *Trichoderma* nativo.
- **T0:** Testigo absoluto.

b. Análisis estadístico:

- **Diseño:** Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar (BCA), para el peso de raíces.
- **Prueba estadística:** La prueba estadística considerada en esta investigación, con respecto al peso de raíces, fue la de Tukey al 0.05%

c. Tinción de raíces

Para la tinción de raíces, *Trichoderma* fue sembrado en medio de cultivo PDA e inoculado en una bandeja conteniendo plántulas de arroz de 25 días de edad sembradas en suelo estéril. Quince días después de la inoculación, se tomaron raíces y se evaluó la colonización de *Trichoderma*, sobre o dentro de la raíz. Para determinar el crecimiento endoparásito se realizarán tinciones de raíces usando la técnica de Phillips y Hayman (1970).

d. Cámara húmeda

Para cámara húmeda, las raíces fueron lavadas con agua destilada estéril, se cortaron en pequeñas porciones, se dejaron secar y se colocan en la cámara por 48 horas, al término de ese periodo de tiempo se observó al estereoscopio y se determinó la presencia de *Trichoderma* en la superficie de las raíces o crecimiento ectoparásito.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo In Vitro con Cepas de *Trichoderma*: Comercial y nativo.

4.1.1 Velocidad de crecimiento de las cepas *Trichoderma* comercial y nativa y, las cepas de *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae* y *R. oryzae – sativae* en medio de cultivo PDA.

La cepa de *Trichoderma* nativo mostró mayor velocidad de crecimiento entre las 72 y las 120 horas, no ocurre lo mismo con T. comercial que alcanza su máximo desarrollo a las 144 horas; mientras que las cepas de *Rhizoctonia solani* y *R. oryzae – sativae* muestran similar desarrollo y superan a la cepa de *R. oryzae* entre las 48 y 120 horas. (Fig. 1a, 1b).

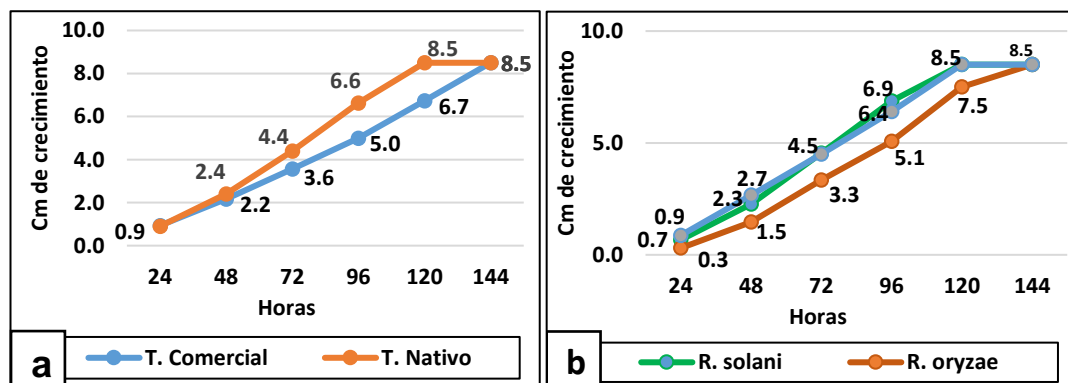


Figura 1. (a) Velocidad de crecimiento de la cepa *Trichoderma* comercial y nativo, (b) Velocidad de crecimiento de *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae* y *R. oryzae– sativae*.

4.1.2 Capacidad antagónica de la cepa comercial y nativa de *T. harzianum* frente a *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae* y *R. oryzae – sativae* en medio de cultivo PDA.

La competencia evaluada bajo condiciones *in vitro* (cultivo Dual), se da principalmente por espacio y nutrientes y, en ella intervienen la velocidad de crecimiento del antagonista y factores externos como temperatura, entre otros. (Martínez, 2013). En la comparación diaria del radio del crecimiento antagonista (RCA), con el radio de crecimiento patógeno (RCP) en cada cultivo Dual, se determina la competencia por nutrientes y espacio, encontrándose que *Trichoderma harzianum*, contenido en la muestra comercial, presentó el mayor desarrollo sobre la superficie del medio y genera inhibición de crecimiento radial (PICR) en *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae* y *R. oryzae – sativae*.

Trichoderma harzianum comercial presentó mayor inhibición frente a *Rhizoctonia* spp que *Trichoderma harzianum* nativo, con valores que oscilan entre 60 y 61.25%, el valor porcentual alcanzado con *R. oryzae* muestra similar respuesta con las dos cepas de *Trichoderma* (60.88 comercial y 61% nativo) (Fig. 2a, 2b).

De acuerdo a la escala propuesta por García (2015), se deduce que *Trichoderma* presenta un porcentaje de inhibición de tipo moderado frente a *Rhizoctonia* spp.

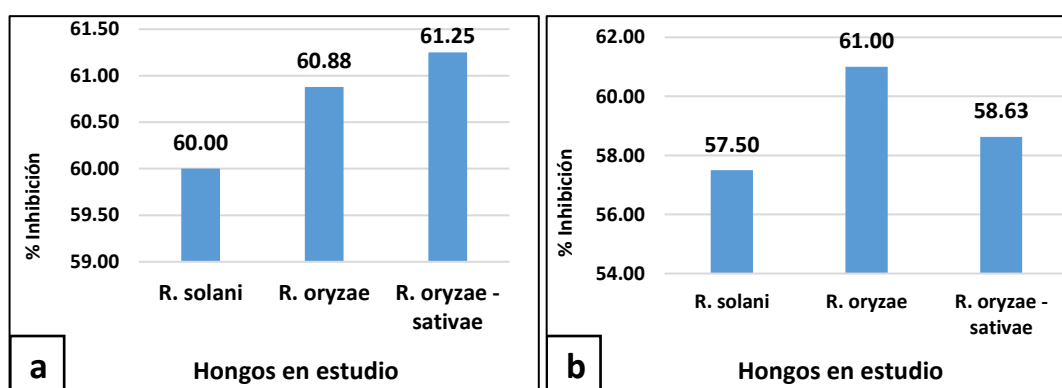


Figura 2. (a) Porcentaje de Inhibición de crecimiento radial causado por *T. harzianum* comercial frente a *Rhizoctonia* spp., (b) Porcentaje de Inhibición de crecimiento radial causado por *T. harzianum* nativo frente a *Rhizoctonia* spp.

Los porcentajes de inhibición mostrados por los dos tratamientos, expresan la habilidad de las cepas para colonizar el medio de cultivo y aprovechar los nutrientes, retrasando el crecimiento de los fitopatógenos en el sustrato (Rodríguez-Lacherre, 2011; Sánchez et al., 2015).

Estos resultados son un indicador directo del potencial biocontrolador de cada cepa. (Rivera-Mendez, 2016); de ahí que de acuerdo a los enfrentamientos en cultivos duales se puede ver que, *R. solani* resultó ser el menos afectado con la cepa de *Trichoderma harzianum* comercial.

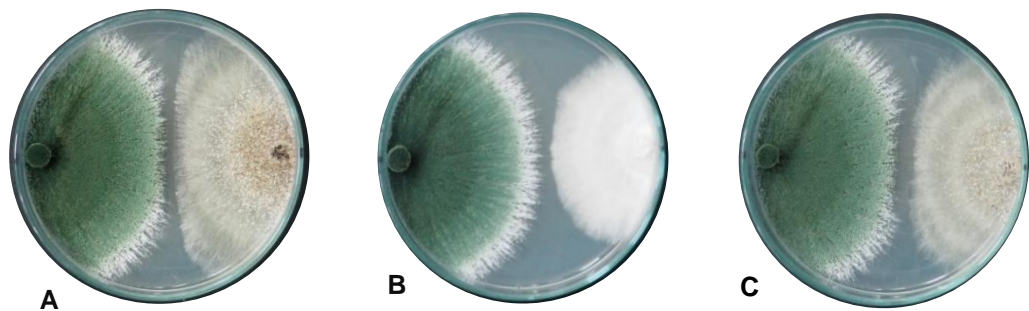


Figura 3: Grado de antagonismo de *T. harzianum* comercial frente a *Rhizoctonia solani* (A), *R. oryzae-sativae* (B) y *R. oryzae* (C).

En el caso de *Trichoderma harzianum* nativo, se observa que, *R. solani*, y *R. oryzae - sativae* son los menos afectados.

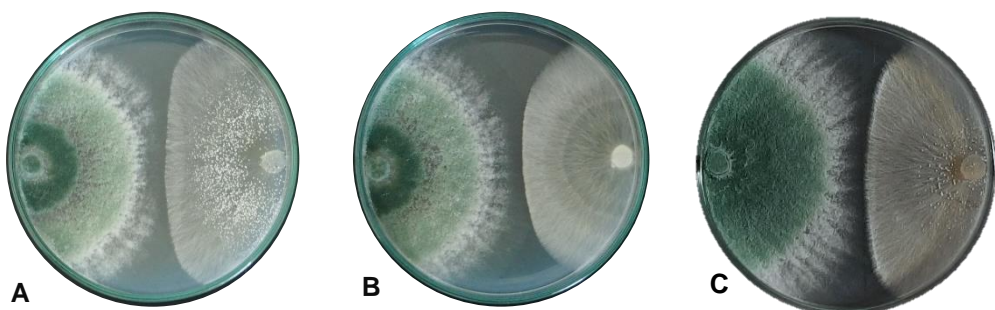


Figura 4. Grado de antagonismo de *T. harzianum* nativo frente a *Rhizoctonia solani* (A), *R. oryzae-sativae* (B) y *R. oryzae* (C).

De acuerdo al grado de antagonismo, propuesto Bell et al., (1982), *Trichoderma harzianum* (Comercial y Nativo), frente a *R. solani*, *R. oryzae – sativae* y *R. oryzae*, coloniza el 100% de la superficie del medio y crece sobre el fitopatógeno, limitando su crecimiento; estos resultados muestran la capacidad del antagonista de limitar el desarrollo de *Rhizoctonia* y de hiperparasitar su micelio en el medio de cultivo.

Figura 5. Antagonismo de *T. harzianum* comercial frente a *Rhizoctonia solani* (A), *R. oryzae-sativae* (B) y *R. oryzae* (C).

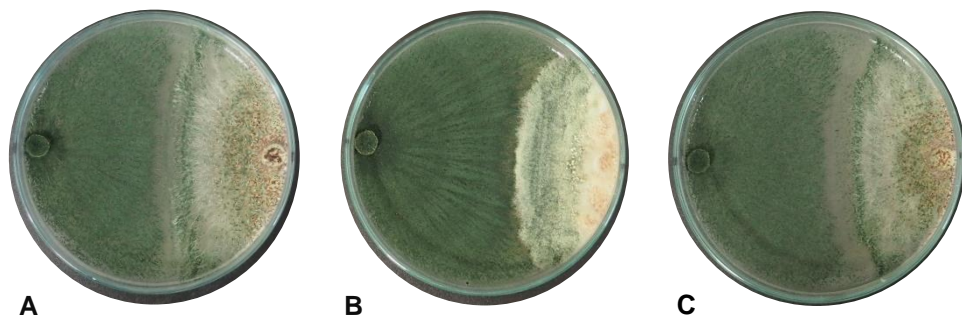
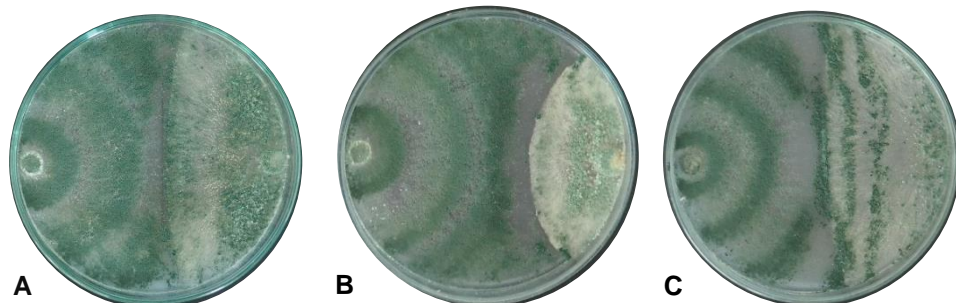


Figura 6. Antagonismo de *T. harzianum* nativo frente a *Rhizoctonia solani* (A), *R. oryzae-sativae* (B) y *R. oryzae* (C).



Alarcón et al. (2005), dice que *T. harzianum* presenta una elevada actividad antagónica e hiperparasítica contra *Rhizoctonia* en el medio de cultivo, mostrando su eficacia contra estos hongos del suelo, así como una colonización total de la placa en 120 h, similar a lo encontrado en este ensayo (Tabla 1).

Tabla 1: Grado de antagonismo de *T. harzianum* comercial y nativo vs *Rhizoctonia* spp.

Enfrentamientos	Comercial	Nativo
<i>Trichoderma</i> Vs. <i>R. solani</i>	Coloniza el 100%	Coloniza el 100%
<i>Trichoderma</i> Vs. <i>R. oryzae</i>	Coloniza el 100%	Coloniza el 100%
<i>Trichoderma</i> Vs. <i>R. oryzae - sativae</i> .	Coloniza el 100%	Coloniza el 100%

4.1.3 Interacción hifal de *Trichoderma* con *Rhizoctonia* spp.

De las muestras tomadas de las zonas de confluencia entre el antagonista y *Rhizoctonia*, se visualizó la presencia de diferentes mecanismos de acción como Lisis, Fragmentación, Vacuolización, Enrollamiento, Granulación y Penetración en cada fitopatógeno en estudio (Tabla 2 y 3), en la medida que el antagonista presente varios mecanismos de acción en un mismo fitopatógeno, su control será eficiente y será duradero (Infante et al, 2009).

La cepa comercial de *Trichoderma harzianum*, frente a *R. solani* y *R. oryzae – sativae*, muestra un alto grado de interacción hifal en los diferentes mecanismos de acción registrado, a excepción de la penetración que registró un nivel moderado; no ocurre lo mismo con *R. oryzae* que muestra un nivel moderado en las diferentes interacciones y bajo en penetración y granulación (Tabla 2).

Tabla 2: Interacción hifal de *T. harzianum* comercial frente a *Rhizoctonia*.

Fitopatógenos	Lisis	Fragment	Vacuoliz.	Enrollam.	Penet.	Granul.
<i>R. solani</i>	+++	+++	+++	+++	++	+
<i>R. oryzae</i>	++	++	++	++	+	+
<i>R. oryzae -sativae</i>	+++	+++	+++	+++	++	+

Alto: +++, Moderado: ++, Bajo: +

No ocurre lo mismo con la cepa de *T. harzianum* nativa, que muestra valores variados de respuesta en los mecanismos de acción.

Para el caso de *R. solani*, es alto en lisis y bajo en enrollamiento, para *R. oryzae – sativae*, es moderado en lisis y bajo en enrollamiento, dos mecanismos de

mucha importancia en un sistema de control, por ser dos modos de acción directa sobre el fitopatógeno; en estos dos fitopatógenos no se observó penetración.

Para el caso *R. oryzae*, fue moderado en lisis y bajo en enrollamiento, pero presento penetración micelial en un nivel bajo.

Tabla 3: Interacción hifal de *T. harzianum* nativo frente a *Rhizoctonia*.

Hongos fitopatógenos	Lisis	Fragment.	Vacuoliz.	Enrollam.	Penet.	Granul
<i>R. solani</i>	+++	++	+++	+	-	+
<i>R. oryzae</i>	++	+	++	+	+	+
<i>R. oryzae -sativae</i>	++	+++	+++	+	-	+

Alto: +++, Moderado: ++, Bajo: +

Estos resultados indican que las cepas de *Trichoderma* en estudio, tienen especificidad sobre algunos fitopatógenos, coincidiendo con Infante et al. (2009), quién dice que algunas cepas pueden mostrar mayor efecto antagónico frente a los fitopatógenos a diferencia de otras, lo que conlleva a un reconocimiento molecular de *Trichoderma* y el hospedante.

La mayor diferencia encontrada en esta comparación de resultados por interacción hifal, entre un *Trichoderma* comercial y un nativo, son los resultados de Lisis, Enrollamiento y Penetración, tres mecanismos de acción de mucho interés en todo sistema de control de fitopatógenos.

Es muy notorio que, con *Trichoderma* nativo, los tres fitopatógenos mostraron un nivel de enrollamiento bajo y para el caso de penetración mayormente no se registró dicho mecanismo de acción en la prueba realizada.

No siempre, todas estas interacciones son observadas, pues su presencia al parecer, dependen de la cepa de *Trichoderma*, del patógeno y de las condiciones

del ambiente, de la misma manera, Martínez (2013), indica que son los modos de acción que definen la capacidad antagonista de la cepa, pudiendo existir aislamientos que sean más eficientes para el control de un patógeno que de otro.

En el micoparasitismo, están involucradas diferentes interacciones hifales como: enrollamiento, penetración, vacuolización, granulación, coagulación, desintegración y lisis (Chet, 1981), que han sido observados en este ensayo y cuyo proceso concluye con la muerte de la célula o la pérdida de su contenido citoplasmático, como lo observado en todos los procesos de interacción que se han dado en este ensayo con los fitopatógenos estudiados (Fig. 7, 8, 9, 10, 11 y 12) y que Nico (2005), hace referencia de ellos.

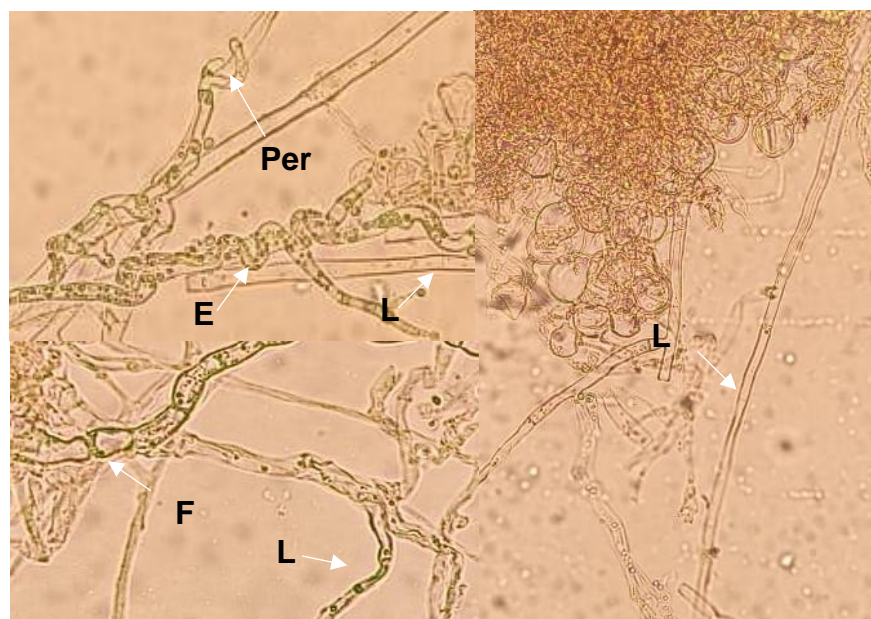


Figura 7: Perforación (Per) Enrollamiento (E), Lisis (L) y Fragmentación (F) de *T. harzianum* comercial frente a *R. solani*.

Los diferentes mecanismos de acción, producto de la interacción antagonista – patógeno, son parte del proceso de micoparasitismo de tipo complejo, donde Howell (2003), explica que la *Adhesión* y el *enrollamiento* es producto de la especificidad del antagonista por un sustrato (Reconocimiento), asociado a una azúcar de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno.

Martínez et al., (2008) agrega, que cuando *Trichoderma* reconoce las hifas del patógeno, se adhieren alrededor de estas y se genera un mecanismo de acción que genera un debilitamiento del fitopatógeno (Eraso et al., 2014) afectando su desarrollo y comprometiendo su vida. (Fig. 7 y 8).

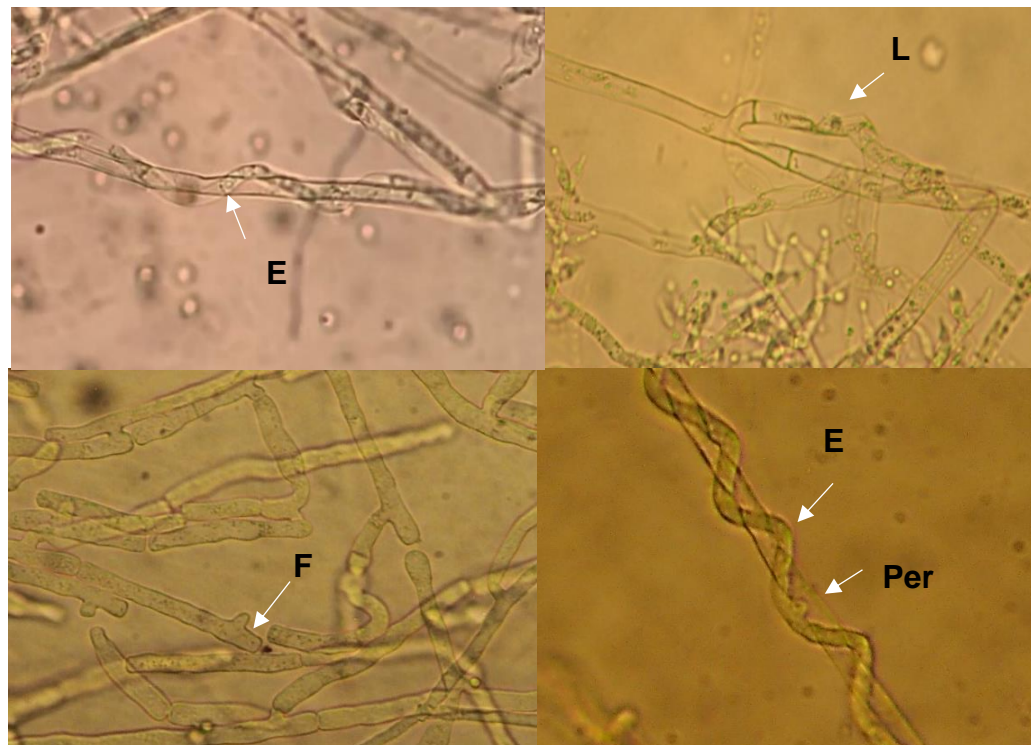


Figura 8: Enrollamiento (E), Lisis (L), Fragmentación (F) y Perforación (Per) de *T. harzianum* comercial frente a *R. oryzae -sativae*.

En este ensayo, se ha podido observar al microscopio de luz, que los enrollamientos que genera *Trichoderma* comercial varían entre uno y otro fitopatógeno, con *R. solani*, el enrollamiento que se genera es compacto (Fig. 7).

Para *R. oryzae* y *R. oryzae - sativae*, es lapso (Fig. 8 y 9); no ocurre lo mismo con *Trichoderma* nativo, que muestra un enrollamiento lapso con los patógenos estudiados. (Fig. 10, 11 y 12)

En todo este proceso de antagonismo, la Lisis con la pérdida del contenido celular y el enrollamiento son dos mecanismos de acción muy frecuente en este

ensayo (Fig. 7, 8, 9, 10, 11 y 12), en contraposición de la perforación y la penetración que son escasos, especialmente en *Trichoderma*.

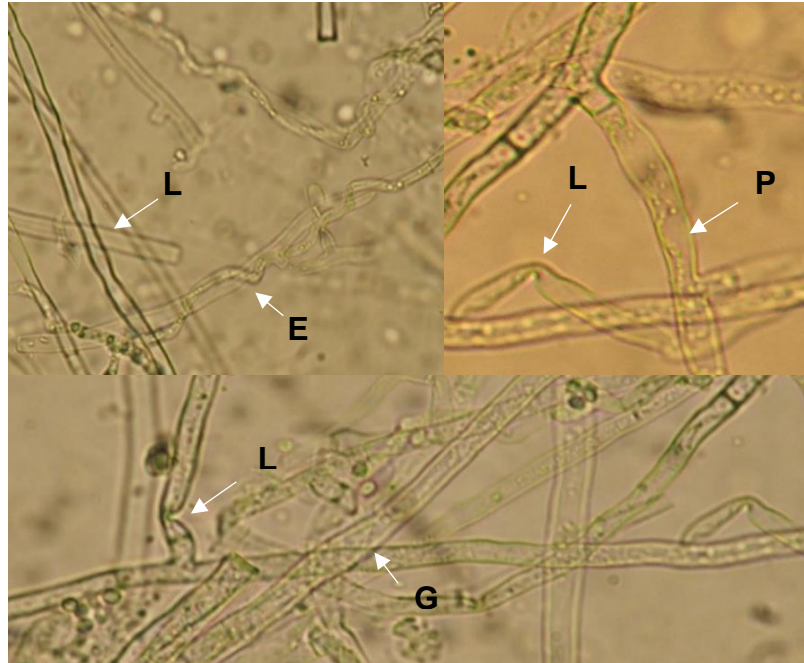


Figura 9: Lisis (L), Enrollamiento (E), Penetración (P) y Granulación (G) de *T. harzianum* comercial frente a *R. oryzae*.

La mayor diferencia entre los tratamientos (*Trichoderma* comercial y nativo), se expresa en la presencia o ausencia de un mecanismo de acción desarrollado frente a un fitopatógeno y, el nivel de interacción hifal que se desarrolla entre el antagonista y el fitopatógeno.

Sin embargo, para el uso adecuado de estos antagonistas, resulta importante conocer los mecanismos de acción que nos dé la mayor eficiencia de las cepas a usar, para el desarrollo de un control biológico seguro, para un medio ambiente libre de contaminantes. (Vidal-Martínez, 2021).

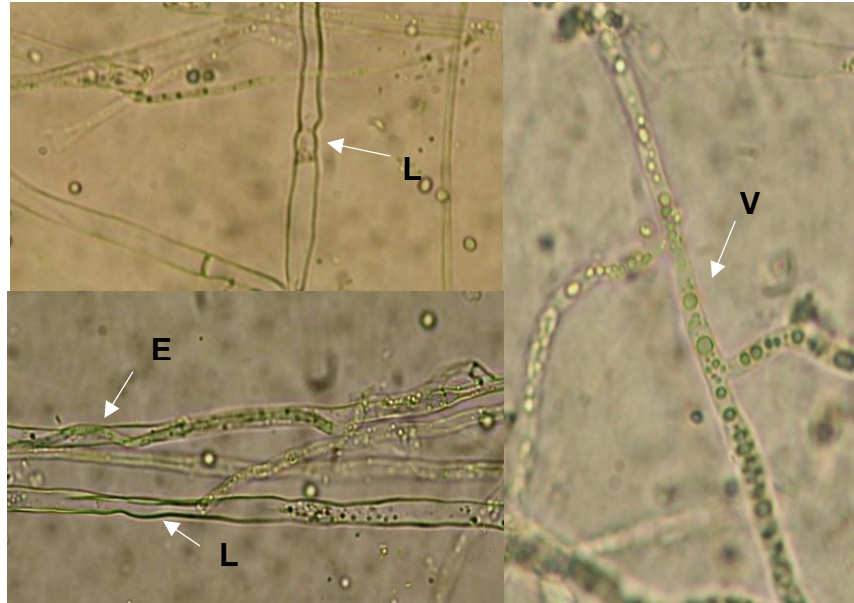


Figura 10: Lisis (L), Vacuolización (V), Enrollamiento (E) de *T. harzianum* nativo frente a *R. solani*.

La presencia simultánea de varios mecanismos de acción en un mismo aislado, no son excluyentes en ninguno de ellos (Campanioni, 2019), la presencia o ausencia de uno de ellos puede deberse más de un factor externo, si no, a la interacción antagonista del fitopatógeno.

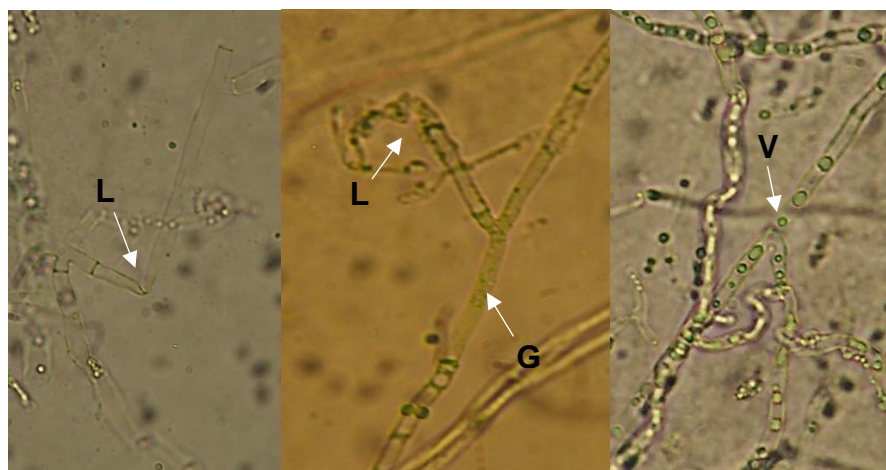


Figura 11: Lisis (L), Vacuolización (V), Granulación (G) de *T. harzianum* nativo frente a *R. oryzae – sativae*.

Aun cuando la granulación se ha dado en bajo nivel, no deja de ser menos importante o posible su presencia en el género *Trichoderma*. (Fig. 9; 11 y 12).

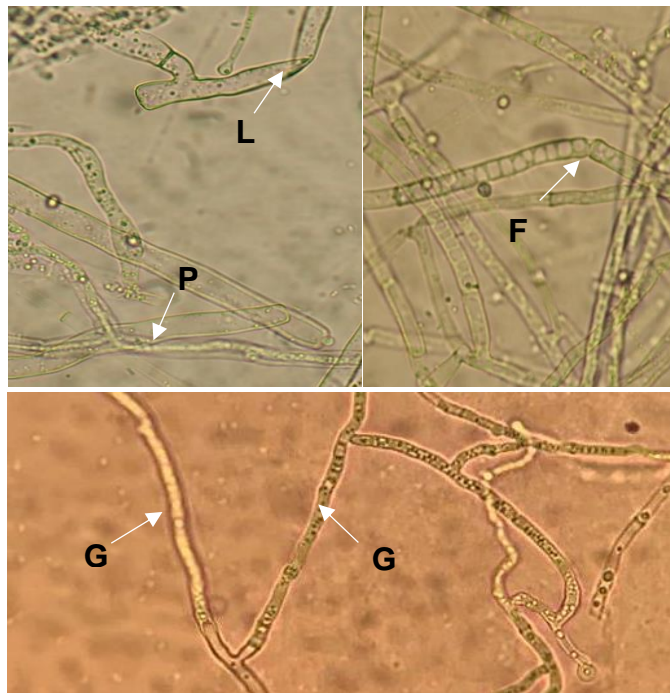


Figura 12: Penetración (P), Lisis (L), Fragmentación (F) y Granulación (G) de *T. harzianum* nativo frente a *R. oryzae*.

No siempre ocurre que en el proceso de reconocimiento de *Trichoderma* a un fitopatógeno genere un enrollamiento sobre la hifa, lo observado en la interacción *Trichoderma* nativo frente a *R. oryzae* pone en evidencia, que en algunos casos un antagonista puede generar un enrollamiento sin alcanzar al fitopatógeno (Fig. 13), conforme lo encontrado por Garrido (2019) con *Sclerotium rolfsii*; en casos como este, la competencia por espacio y nutrición es el mayor mecanismo de acción presente en esta interacción antagonista - fitopatógeno.

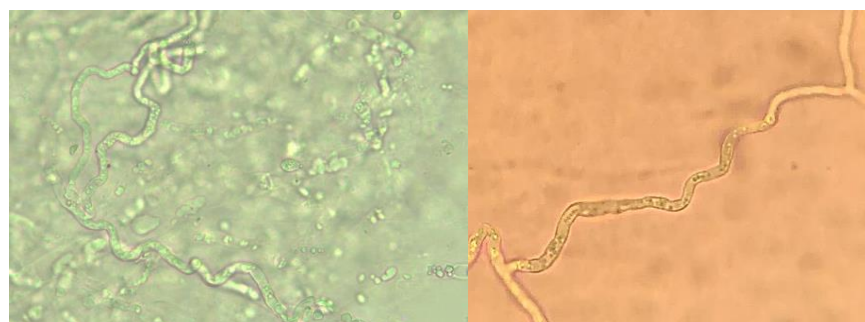


Figura 13: Enrollamiento de la hifa de *Trichoderma harzianum* nativo.

4.1.4 Ancho de barrera por producción de metabolitos

La formación de barrera de defensa se da entre cepas incompatibles en el área de crecimiento. En su inicio, una cepa enfrentada es capaz de inhibir a su antagonista a distancia, detecta su presencia, secreta sustancias antifúngicas y finalmente forma una barrera. (Ortuño, 2013).

Aun cuando la producción de metabolitos solubles en *Trichoderma* comercial, sea de escasa producción y la barrera formada sea de pocos milímetros (barrera fina), permite diferenciar a *Trichoderma* comercial de *Trichoderma* nativo, por no presentar este último, barrera.

Tabla 4: Ancho de barrera por producción de metabolitos en *Trichoderma* comercial y nativo frente a *Rhizoctonia* spp.

Enfrentamientos	Comercial	Nativo
<i>Trichoderma</i> Vs. <i>R. solani</i>	0.2 mm. barrera fina	0 mm. Sin barrera
<i>Trichoderma</i> Vs. <i>R. oryzae</i>	0.1 mm. barrera fina	0 mm. Sin barrera
<i>Trichoderma</i> Vs. <i>R. oryzae - sativae</i> .	0.1 mm. barrera fina	0 mm. Sin barrera

4.2. Enfrentamientos: *Rhizoctonia* spp. con cepas de *T. harzianum* comercial y nativo.

De las evaluaciones del radio del crecimiento antagonista (RCA), con el radio del crecimiento patógeno (RCP), en los enfrentamientos in Vitro, ha resultado que, a partir de las 24 horas, las cepas de *Trichoderma harzianum* comercial y nativo inician con un crecimiento mayor a las mostradas por las cepas en estudio. Sin embargo, luego de 48 horas, el enfrentamiento muestra un avance menor al crecimiento del testigo.

El desarrollo de las cepas de *Rhizoctonia* en medio de cultivo PDA, muestra una curva de desarrollo sigmoideal, con un crecimiento lento al inicio, seguido de un crecimiento rápido hasta alcanzar su máximo desarrollo entre las 72 y 96 horas.

Las cepas de *Trichoderma* comercial y nativo, si afectaron el desarrollo de los tres fitopatógenos en estudio. En el caso de la cepa de *Trichoderma* comercial, se observó que está afectó más a la cepa *R. oryzae – sativae* entre las 48 y las 72 horas; similar respuesta se obtuvo con *R. oryzae*.

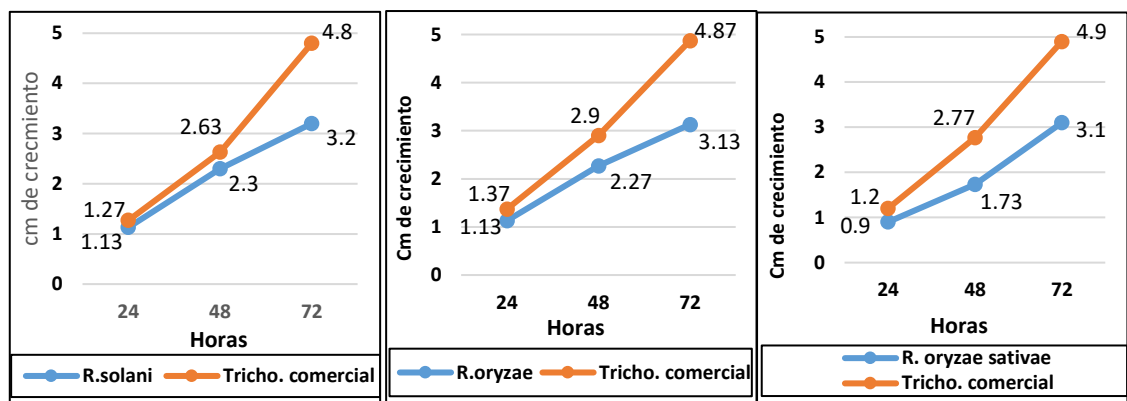


Figura 14. Curva de desarrollo de *R. solani*, *R. oryzae* y *R. oryzae – sativae* frente a *Trichoderma harzianum* comercial.

Con *Trichoderma* nativo, se observó que está cepa afectó más *R. oryzae – sativae* entre las 48 y las 96 horas; seguido de *R. oryzae*. Al comparar el desarrollo de las cepas de *Trichoderma* comercial y nativo en el enfrentamiento, se encontró que *Trichoderma* comercial muestra un desarrollo final de 4.8; 4.87 y 4.9 cm., mientras que con *Trichoderma* nativo el desarrollo alcanzado fue de 4.60; 4.69 y 4.88 cm., menor desarrollo que la cepa comercial.

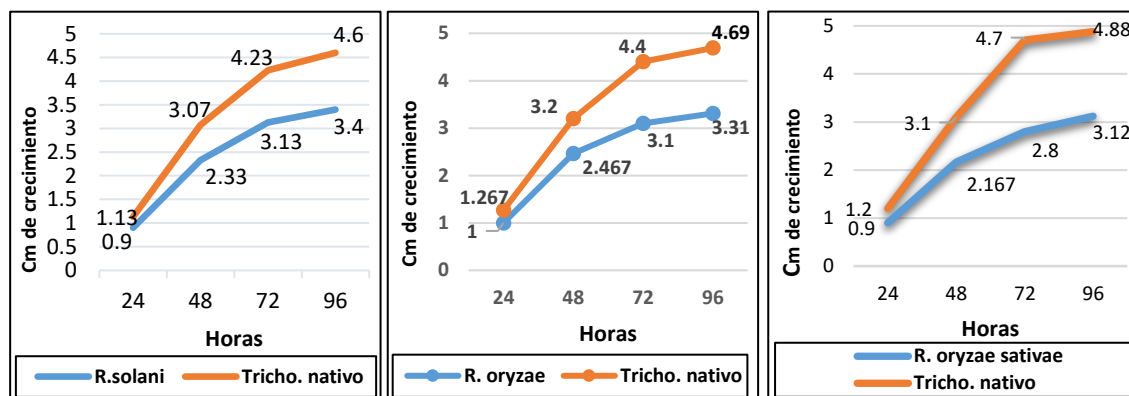


Figura 15: Curva de desarrollo de *R. solani*, *R. oryzae* y *R. oryzae – sativae* frente a *Trichoderma harzianum* nativo.

4.3. Desarrollo ecto y endo parásito de *Trichoderma* comercial y nativo.

Tanto la cepa de *Trichoderma* comercial y nativo, mostraron desarrollo sobre la superficie de las raíces cuando fueron puestas en cámara húmeda (Fig. 18); esta respuesta, muestra la capacidad de este antagonista por colonizar las raíces hasta cubrirlas, generando un mecanismo de defensa contra cualquier patógeno externo que trate de alcanzarlas.

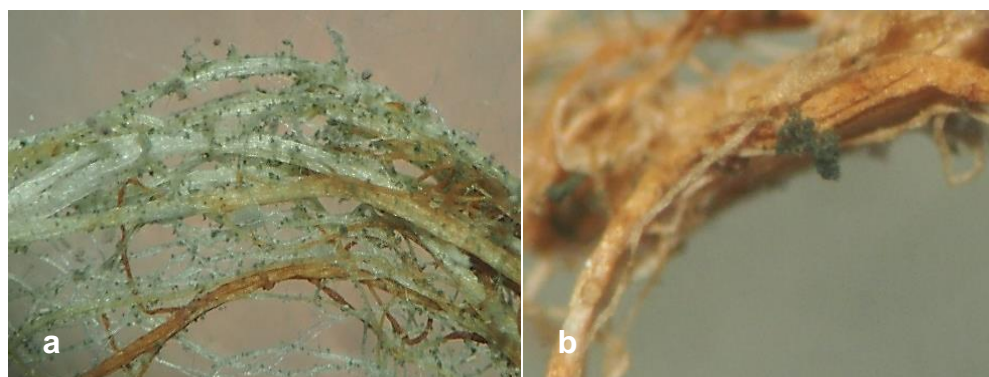


Figura 16: Desarrollo ecto parásito de *Trichoderma* comercial (a) y nativo (b) en raíces de arroz.

La capacidad mostrada por las dos cepas, para colonizar la superficie de las raíces evitando el desarrollo del patógeno (Díaz, 2019), dejan en claro su diferencia genética y la capacidad de protección al hospedero; *Trichoderma*

harzianum, comercial a diferencia de la cepa nativa, es una cepa que muestra una alta capacidad para invadir los espacios como la raíz del cultivo de arroz, protegiéndolas de manera preventiva contra los patógenos.

Por tanto, el control que realiza *Trichoderma* sobre el patógeno dependerá de la eficacia de los mecanismos de acción o de la combinación entre ellos (Companiononi, 2019), Martínez *et al.* (2008) agrega que además de sus modos de acción, depende de la especificidad de la cepa.

La técnica de Phillips y Hayman (1970), para determinar el crecimiento endoparásito mediante tinción, nos permitió verificar la presencia de hifas de *Trichoderma harzianum* comercial sobre la superficie de raicillas en un proceso de ectoparasitismo, siendo este mecanismo muy escaso en *Trichoderma* nativo (Fig. 17).

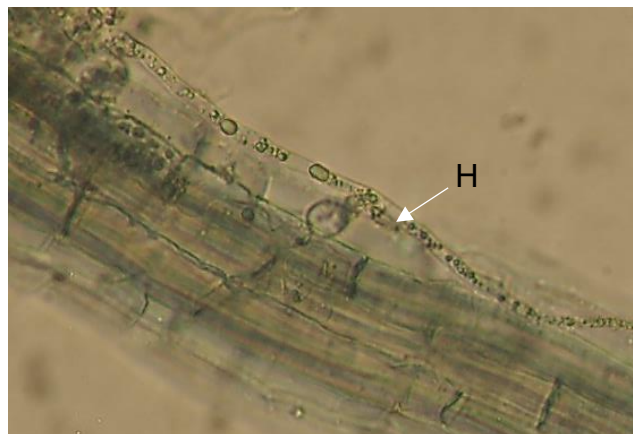


Figura 17: Micro fotografía, ecto parasitismo de *Trichoderma* comercial sobre raicillas de arroz.

Se corrobora el desarrollo endoparásito de la cepa de *Trichoderma* comercial, observándose la presencia de micelio en la parte interna de los tejidos de las raíces de arroz, mostrando un escaso desarrollo (Fig. 18).

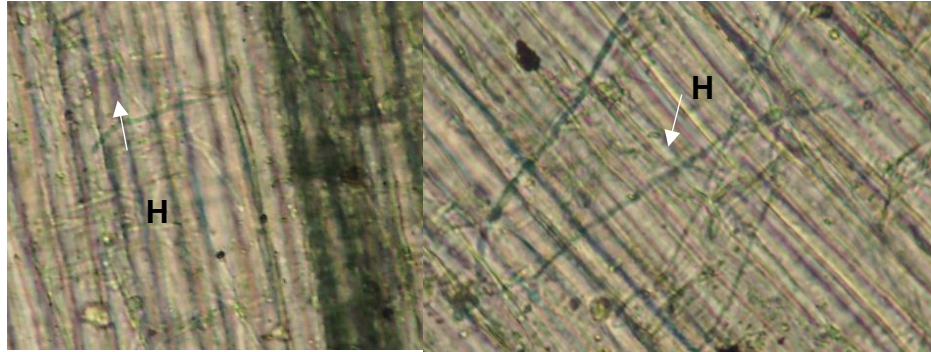


Figura 18: Micro fotografía, endoparasitismo de *Trichoderma* comercial sobre raicillas de arroz.

4.4. Capacidad de inducir el desarrollo radicular

Una de las ventajas del uso de *Trichoderma* spp. es la producción de raíces en plantas jóvenes, en los dos casos se observa una gran diferencia entre el testigo y los tratamientos, sobresaliendo el tratamiento *Trichoderma* comercial que, al colonizar todas las raíces, han mostrado mayor desarrollo y enraizamiento profundo, mayor producción de raicillas y pelos absorbentes, que hacen que la raíz se muestre muy densa, dificultando la separación de raíces (Fig. 19).

En el 2011, Cano incluye entre los efectos positivos de *Trichoderma*, un mayor desarrollo de las raíces, aumento de la formación de pelos radiculares y enraizamiento más profundo, características que coinciden con lo observado en este ensayo y permiten tener plantas de mayor diámetro de tallo; similar respuesta presenta Martínez (2013), indicando que *Trichoderma* acelera el desarrollo del sistema radicular, posibilitando la tolerancia al estrés por parte de la planta y estimulando el crecimiento vegetal.

Algunos de estos efectos positivos se observan en los campos comerciales de semilleros de banano y vid, donde los plantones con sustratos inoculados con

Trichoderma siempre muestran mayor cabellera radicular y plantas de mayor vigor, esta es una acción no evaluada en campo que está íntimamente relacionada al estudio realizado.



Figura 19: Crecimiento radicular de planta de arroz inoculadas con *Trichoderma* comercial (b) y Nativo (c), frente al Testigo (a).

En el análisis de los resultados de peso fresco de raíces, encontramos que con el tratamiento *Trichoderma* comercial, se obtuvo un peso fresco de 2.447 g., superando al tratamiento *Trichoderma* nativo en 0.566 g., y en 1.242 g., al testigo, similar respuesta se observó con el tratamiento *Trichoderma* nativo, siendo la diferencia con el testigo de 0.674 g., menor al registrado con el *Trichoderma* comercial (Tabla 5). Con los dos tratamientos se observa una alta significación estadística en la prueba de Tukey al 0.05%.

Tabla 5. Tukey al 0.05% para Peso fresco de raíces de arroz, 40 días después del trasplante.

Tratamiento	Peso de raíz (g.)
<i>Trichoderma</i> comercial	2.447 A
<i>Trichoderma</i> nativo	1.881 B
Testigo	1.2047 C
CV: 13.59%	

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIÓN

1. En el enfrentamiento Dual, de las cepas de *Trichoderma* comercial y nativo con las *Rhizoctonia* spp, se encontró que *Trichoderma* comercial muestra un desarrollo final de 4.8; 4.87 y 4.9 cm., mientras que con *Trichoderma* nativo el desarrollo alcanzado fue de 4.60; 4.69 y 4.88 cm.
2. Entre los mecanismos de acción registrados en la zona de influencia entre el antagonista y *Rhizoctonia*, se visualizó la presencia de Lisis, Fragmentación, Vacuolización, Enrollamiento, Granulación y Penetración; la presencia de estos mecanismos, al parecer, dependen de la cepa de *Trichoderma* y del patógeno.
3. Tanto la cepa de *Trichoderma* comercial y nativo, desarrollaron sobre la superficie de las raíces, siendo la cepa comercial quien muestra una alta capacidad para invadir la raíz, protegiéndola de manera preventiva.
4. La cepa de *Trichoderma* comercial mostró un desarrollo endo parásito, incentivo el desarrollo radicular y un enraizamiento profundo, con mayor producción de raicillas y pelos absorbentes, superando en peso fresco al tratamiento *Trichoderma* nativo en 28% y frente al testigo en 55%.

CAPÍTULO VI

6. RECOMENDACIÓN

1. Realizar trabajos de investigación que consideren el efecto de las cepas de *Trichoderma* nativos y comerciales en la vida microbiana del suelo.

CAPÍTULO VII

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- Alarcón, L., Reyes, T., Rodríguez, G., Pupo, A. 2005. Efectividad *in vitro* de *Trichoderma harzianum* (RIFAI) en el biocontrol de *Rhizoctonia solani* KÜHN Y *Pyricularia grisea* (SACC.) en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.). Fitosanidad 9(3): 5760.
- Aguirre, H. (2012). Colorante safranina O. Investigación en Discapacidad, 1(2), 83-85. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/invdis/ir-2012/ir122f.pdf>
- Benhamou, N., y Chet, I. (1997). Cellular and Molecular Mechanisms Involved in the Interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. (A. A. MICROBIOLOGY, Ed.) Applied And Environmental Microbiology, 63(5), 2095–2099. Obtenido de Ncbi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1389174/pdf/hw2095.pdf>
- Błaszczuk, L.; Siwulski, M.; Sobieralski, K.; Lisiecka, J., y Jędrzycka, M. (2014). *Trichoderma* spp. – application and prospects for use in organic farming and industry. Journal of Plant Protection Research, 54(4). Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/273338662_Trichoderma_spp_-_Application_and_prospects_for_use_in_organic_farming_and_industry/link/5514ccc90cf2eda0df343c56/download.
- Cano, M. 2011. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revisión. Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica 14 (2): 15 - 31.
- Companioni, B., Domínguez, G. y García, R. 2019. *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. Biotecnología Vegetal Vol. 19, No. 4: 237 - 248, Instituto de Biotecnología de las Plantas. Mexico.

- Chaudhary, R., Nanda, J., y Tran, D. (2003). FAO org. Obtenido de GUÍA PARA IDENTIFICAR LAS LIMITACIONES DE CAMPO EN LA PRODUCCIÓN DE ARROZ: <http://www.fao.org/3/y2778s/y2778s00.htm>.
- Chet I, Harman G, Baker R. 1981. *Trichoderma hamatum*: Its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Microbial Ecology*; 7:29-38.
- Chet y Benhamou. 1998. Mycoparasitism and lectin enzymes. In: *Trichoderma y Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. Harman GE, Kubice CP. (Eds.). Volumen 2. P.153-152pp.
- Companioni G. B., Domínguez A, G y García V, R. 2019. *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Biotecnología Vegetal* Vol. 19, No. 4: 237 - 248, octubre - diciembre, 2019. Instituto de Biotecnología de las Plantas. UCLV.
- Díaz, Y. (2019). Aislamiento y caracterización de cepas nativas de *Bacillus* spp y *Trichoderma* spp de la rizosfera de café con potencial antagonista frente a *Fusarium oxysporum* del valle de Monzón.
- Garrido, M. (2006, octubre). Etiología de La Pudrición de Tallos y Vainas Del Arroz. Retrieved from researchgate: <https://es.scribd.com/document/73702062/Etiologia-de-La-Pudricion-de-Tallos-y-Vainas-Del-Arroz>
- Garrido R., M. (2009). Manejo de la pudrición de tallos y vainas del arroz. SERFI SA, Lima (1).
- Garrido, M. (2019). Capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia*, *Nakateia sigmoidea* y *Sclerotium rolfsii* y su efecto en cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de cultivos de arroz. *Scientia Agropecuaria*, 10(2), 199 – 206. Obtenido de *Scientia Agropecuaria*: <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v10n2/a06v10n2.pdf>
- Harman, E. (2006). Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2), 190-194. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/23406889_Overview_of_Mechanisms_and_Uses_of_Trichoderma_spp

- Harman, E., Kubicek, P. (2014). *Trichoderma* and *Gliocladium*. Basic biology, taxonomy and genetics. Vol. 1. Boca Raton (USA): CRC Press. doi:10.1201/9781482295320
- Hermosa, R., Rubio, B., Cardoza, R., Nicolás, C., Monte, E., y Gutiérrez, S. (2013). The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. INTERNATIONAL MICROBIOLOGY, 16, 69-80. Obtenido de <http://revistes.iec.cat/index.php/IM/article/viewFile/72575/72340>
- Hernández, D., Ferrera, R., y Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: IMPORTANCIA AGRÍCOLA, BIOTECNOLÓGICA, Y SISTEMAS DE FERMENTACIÓN PARA PRODUCIR BIOMASA Y ENZIMAS DE INTERÉS INDUSTRIAL. Chilean J. Agric. Anim. Sci., 35(1), 98-112. Obtenido de *Trichoderma*: IMPORTANCIA AGRÍCOLA, BIOTECNOLÓGICA, Y SISTEMAS DE FERMENTACIÓN PARA PRODUCIR BIOMASA Y ENZIMAS DE INTERÉS INDUSTRIAL: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/chjaasc/v35n1/0719-3890-chjaasc-00205.pdf>
- 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. Obtenido de <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS.2003.87.1.4>
- Infante, D., Martínez, B., González, N., y Reyes, Y. (2009). MECANISMOS DE ACCIÓN DE *Trichoderma* FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS. Protección Veg., 14-21. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v24n1/rpv02109.pdf>
- Martínez, B., Reyes, Y., Infante, D., González, E., Baños, H., Cruz, A. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. Revista de Protección Vegetal, v. 23, n. 2, 2008, p.118-125.
- Martínez, B., Infante, D. y Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Universidad Agraria de La Habana. Rev. Protección Veg. Vol. 28 No. 1 (2013): 1-11

- Martínez, B., Reyes, Y., Infante, D., González, E., Baños, H., Cruz, A. (2008) Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. *Revista Protección Vegetal* 23(2): 118-125
- MINAGRI. (2019). PLAN NACIONAL DE CULTIVOS, Campaña Agrícola 2019 – 2020. Obtenido de MINAGRI: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/471867/Plan_Nacional_de_Cultivos_2019_2020b.pdf
- Nico, I., Monaco, I., Del Bello, G., Alippi, H. (2005). Efecto de la adición de enmiendas orgánicas al suelo sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia solani*: II Micoflora asociada y antagonismo in vitro de los aislados más frecuentes. *RIA.*; 34 (Pt II) (1):2944.
- Norte, A. (2008). El hongo *Trichoderma*. *SpainBonsai*, 95-112. Obtenido de http://www.spainbonsai.com/tricho_es.html
- Orrala, M. (2013). «Control biológico de oídio (*Podosphaera fusca* F.) y fusarium (*Fusarium oxysporum* F.) en el cultivo de sandía (*Citrullus lanatus* T.) en la comuna río verde, provincia de santa Elena» (Proyecto de tesis de grado previa a la obtención del Título de: Ingeniero agropecuario). FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS ESCUELA DE AGROPECUARIA, LA LIBERTAD - ECUADOR. Recuperado a partir de http://www.repositorio.upse.edu.ec:8080/bitstream/123456789/894/1/ORRA_LA_DOMINGUEZMARIANELA-2013.pdf
- ORIUS BIOTECH. (28 de septiembre de 2017). Orius biotech. Obtenido de Ficha Técnica de BIOFUNGO: <https://www.oriusbiotech.com/documentos/48-biofungo-wp-ficha-tecnica.pdf>
- Ortuño, N., Miranda, C., y Claros, M. (2013). Selección de cepas de *Trichoderma* spp. generadoras de metabolitos secundarios de interés para su uso como promotor de crecimiento en plantas cultivadas. *J. Selva Andina Biosph*, 1(1), 16-32. Obtenido de http://www.scielo.org.bo/pdf/jsab/v1n1/v1n1_a03.pdf
- Parmeter, J., y Whitney, H. (1970). *Taxonomy and nomenclature of the imperfect state*. University of California Press, 7. Obtenido de *Taxonomy and*

nomenclature of the imperfect state.:
<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1525/9780520318243-004/html>

- Phillips, M., Hayman, S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesiculararbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55, 158–161.
- Pineda, A., Benavides, E., Duarte, S., Burgos, A., Soto, P., Pineda, A., Fierro, J., Mora, S., Álvarez, E. (2017). Producción de biopreparados de *Trichoderma* spp: ICIDCA sobre los Derivados de la Caña de Azúcar 51(1):47–52.
- Reina, J., Torres, L., y Grizalez, M. (2013). Mechanism of action of *Trichoderma harzianum* as controlling agent of *Fusarium subglutinans*. Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología, Universidad de la Amazonia. Florencia (Caquetá), Colombia.
- Reino, J., Guerrero, R., Hernández, R., y Collado, I. (2008). Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochem*, 7, 89–123. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/226687943_Secondary_metabolites_from_species_of_the_biocontrol_agent_Trichoderma/link/55b1ef6e08aec0e5f43130f6/download.
- Rivera, W., Meneses, K., Zúniga, C., y Brenes, J. (2016). Antagonismo de *Trichoderma* sp. ante el patógeno *Stromatinia cepivora* en el cultivo de cebolla *Trichoderma's* antagonism in front of the pathogen *Stromatinia cepivora* in onion crops. *Tecnología en Marcha, Vol. Especial Biocontrol*.
- Shoresh, M., y Harman, G. (2008). The Molecular Basis of Shoot Responses of Maize Seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 Inoculation of the Root: A Proteomic Approach. *Plant Physiology*, 147, 2147–2163. Obtenido de <http://www.plantphysiol.org/content/plantphysiol/147/4/2147.full.pdf>
- Shoresh, M., Harman, G., y Mastouri, F. (8 de septiembre de 2010). Induced Systemic Resistance and Plant Responses to Fungal Biocontrol Agents. *Annual Review of Phytopathology*, 48, 21-43. Obtenido de

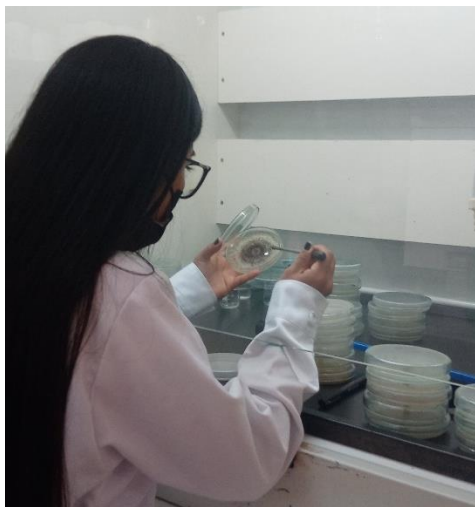
<https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-phyto-073009-114450>

- Valdés, L. (2014). Caracteres principales, ventajas y beneficios agrícolas que aporta el uso de *Trichoderma* como control biológico. *Agroecosistemas*, 2(1), 254-264. Obtenido de https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/40/pdf_24
- Verma, M., Brar, S., Tyagi, R., Surampalli, R., y Valéro, J. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*, 37, 1-20. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X07001994>.
- Vidal, A., Argumedo, R., Sánchez, R., Chiquito, G., González, D., Sánchez, G. (2021). Microorganismos antagonistas: una alternativa para el control biológico de enfermedades fúngicas presentes en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.). *ITEA-Información Técnica Económica Agraria* 117(3): 214-226. <https://doi.org/10.12706/itea.2020.042>
- Villegas, M. (2005). *Trichoderma*. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. Recuperado el 11 de marzo de 2010, desde <http://www.oriusbiotecnologia.com/tecnica/128-trichoderma-pers-caracteristicas-y-su-potencial-biologico-en-la-agricultura-sostenible>.
- Viterbo, A., y Horwitz, B. (02 de febrero de 2010). Interactions of fungi with plants or other fungi. *Cellular and Molecular Biology of Filamentous Fungi*, 676-693. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1128/9781555816636.ch42>
- Zipfel, C. (2014). Plant pattern-recognition receptors. *Trends in Immunology*, 35(7), 345-351. Obtenido de [Plant pattern-recognition receptors: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1471490614000945](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1471490614000945)

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

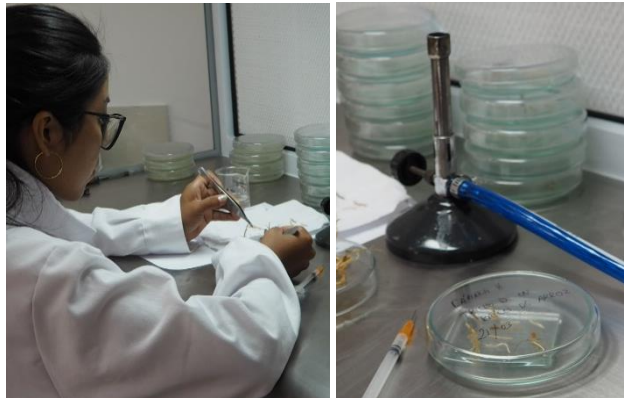
*Anexo 1: Siembra de *Trichoderma* y *Rhizoctonia* en placas con PDA.*



*Anexo 2: Inoculación de *Trichoderma* comercial y nativo en plántulas de arroz.*



Anexo 3: Preparando cámaras húmedas con raíces de arroz, 40 días después del trasplante.



Anexo 4: Método de Tinción modificado de Phillips y Hayman (1970), en raíces de arroz a los 15 después de la Inoculación con *Trichoderma* comercial y nativo.

Tinción con azul tripán con Lactoglicerol		
Pasos		Tiempo
1.	Lavar las raíces con abundante agua. Se recomienda utilizar un colador para evitar perder material radicular.	2 min.
2.	En un recipiente con tapa, resistente a la temperatura, colocar KOH al 10% hasta cubrir todas las raíces, a 60°C.	30 min (o toda la noche a temperatura ambiente).
3.	Retirar las raíces del KOH y lavar con abundante agua y cuidando.	1 min.
4.	Dentro del recipiente, agregarles solución de azul tripán (0,05%) en lactoglicerol (ácido láctico, glicerol, agua destilada 1:1:1), hasta cubrir todas las raíces, a 90 °C.	25 min.
Las raíces teñidas pueden ser conservadas en la solución de tinción. Otra alternativa es retirar la solución de tinción y agregarles agua destilada (quedará entonces una solución de tinción diluida).		

Anexo 5: Peso de raíces de plantas de arroz inoculadas con cepa comercial y nativa de *T. harzianum* (g).

	I	II	III	IV	Sumatoria	promedio
<i>Trichoderma</i> comercial	2.844	3.058	1.438	2.448	9.788	2.447
<i>Trichoderma</i> Nativo	2.113	1.471	2.059	1.88	7.523	1.88075
Testigo	1.131	1.208	1.275	1.205	4.819	1.20475
Suma	6.088	5.737	4.772	5.533	22.13	

Anexo 6: Resultados del Análisis de varianza (ANOVA) para el peso de raíces de arroz.

<i>F. V</i>	<i>S.C.</i>	<i>Gl</i>	<i>CM</i>	<i>Fcal</i>	<i>Probab.</i>	<i>Ftab (Tukey)</i>	<i>Signf.</i>	<i>Tukey w</i>
Tratamientos	3.0944	2	1.54720008	6.17480411	0.05	4.9	**	0.30694
Bloques	0.3096	3	0.10319567	0.41184914		N. S	N. S	
Error	1.5034	6	0.25056667					
Total	4.9074	11						

Anexo 7: Informe de originalidad

Evaluación in vitro e in vivo de
la capacidad antagónica de
Trichoderma harzianum para el
control de Rhizoctonia spp.,
Tumbes

por Ruth Elizabeth Gutiérrez Rivas

Fecha de entrega: 26-ago-2022 11:41p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1887772580

Nombre del archivo: TESIS_FINAL--_GUTI_RREZ.docx (29M)

Total de palabras: 9907

Total de caracteres: 55725



Dr. Miguel Ángel Garrido Rondoy

Código ORCID N°0000-0002-8542-9353

Evaluación in vitro e in vivo de la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia* spp., Tumbes

INFORME DE ORIGINALIDAD

16%	16%	4%	5%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	www.revistas.unitru.edu.pe Fuente de Internet	4%
2	www.ecorfan.org Fuente de Internet	2%
3	repositorio.untumbes.edu.pe Fuente de Internet	2%
4	www.scielo.org.pe Fuente de Internet	1%
5	repositorio.unal.edu.co Fuente de Internet	1%
6	www.scielo.org.bo Fuente de Internet	1%
7	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1%
8	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	<1%



Dr. Miguel Ángel Garrido Rondoy
Código ORCID N°0000-0002-8542-9353

9	www.sodiaf.org.do Fuente de Internet	<1 %
10	www.bioone.org Fuente de Internet	<1 %
11	doczz.es Fuente de Internet	<1 %
12	Submitted to Universidad Nacional de Tumbes Trabajo del estudiante	<1 %
13	uadeo.mx Fuente de Internet	<1 %
14	biblioteca.cenicafe.org Fuente de Internet	<1 %
15	tesis.ipn.mx Fuente de Internet	<1 %
16	doi.org Fuente de Internet	<1 %
17	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
18	ri.uaemex.mx Fuente de Internet	<1 %
19	www.mag.go.cr Fuente de Internet	<1 %
20	repositorio.unasam.edu.pe	



Dr. Miguel Ángel Garrido Rondoy
Código ORCID N°0000-0002-8542-9353

	Fuente de Internet	<1 %
21	aes.ucf.edu.cu Fuente de Internet	<1 %
22	revistabionatura.com Fuente de Internet	<1 %
23	www.scielo.org.ar Fuente de Internet	<1 %
24	Submitted to BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA BIBLIOTECA Trabajo del estudiante	<1 %
25	dspace.uclv.edu.cu Fuente de Internet	<1 %
26	ri.agro.uba.ar Fuente de Internet	<1 %
27	archivo.infojardin.com Fuente de Internet	<1 %
28	cia.uagraria.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
29	repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
30	repositorio.untumbes.edu.pe:8080 Fuente de Internet	<1 %
31	www.thefreelibrary.com Fuente de Internet	<1 %



Dr. Miguel Ángel Garrido Rondoy
Código ORCID N°0000-0002-8542-9353

<1%

Excluir citas Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía Activo



Dr. Miguel Ángel Garrido Rondoy

Código ORCID N°0000-0002-8542-9353