

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA ACADEMICA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTAGÓNICA *in vitro* DE CEPAS DE
Trichoderma AISLADOS DE SUELO AGRÍCOLA FRENTE A
Erysiphe necator “oidio”.**

TESIS:

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTADO POR:

Bach. JUNES FLORES, Geovana Margot

Bach. RAMIREZ GUTIERREZ, Zulma Liz

ICA-PERÚ

2019

Dedico este proyecto a mis padres Eusebio Junes Ventura e Ividia Flores Carlos y hermanos por todos sus consejos, esfuerzos, sacrificios y por su apoyo incondicional en mi desarrollo personal y profesional.

Geovana

Dedico este esfuerzo a Dios quien siempre está conmigo para guiarme y que me da fortaleza necesaria para seguir adelante y a mis padres Marcelo Ramírez Gutiérrez y Sonia

Gutiérrez Mitma, a mis hermanas por sus tolerancias, por sus consejos, sacrificios y por su apoyo incondicional en mi desarrollo personal y profesional.

Zulma

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darnos la sabiduría y fortaleza de seguir adelante.

A nuestra familia, a nuestros padres y hermanos, por confiar en nosotras y brindarnos de manera incondicional su apoyo moral y económico que permitieron concluir con el desarrollo de esta tesis.

A la Blga. Hanna Caceres Yparraguirre por habernos brindado la suficiente confianza para realizar este proyecto de investigación en las instalaciones del CITEagroindustrial, por su orientación constante, por su paciencia para con nosotras.

Al Blgo. Luis Antonio Cartagena Sigvas por su dedicación, apoyo incondicional, que nos brindó durante el desarrollo del presente trabajo.

Al Dr. Juan Jose Guillermo Albitres por su desinteresada participación en la identificación de las especies de Trichoderma.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
3.1. Materiales.....	8
3.2. Métodos.....	8
IV. RESULTADOS.....	15
V. DISCUSIÓN.....	31
VI. CONCLUSIONES.....	34
VII. RECOMENDACIONES.....	35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
IX. ANEXOS.....	46

RESUMEN

Las especies del género *Trichoderma* se destacan dentro de las más empleadas como agentes de control biológico actuando en ciertos casos como antagonistas de hongos y bacterias fitopatógenos.

La presente investigación estuvo orientada a la evaluación de la actividad antagónica de *Trichoderma* aislados de campos agrícolas frente a *Erysiphe necator* "oidio". El aislamiento se realizó con dos metodologías: aislamiento por diluciones seriadas de muestras de suelo y aislamiento con trampas de arroz, de muestras pertenecientes a la provincia de Ica y Ayacucho. Para la identificación del género y especies fue necesario la utilización de claves taxonómicas, teniendo en cuenta las características macroscópicas y microscópicas. Para probar la actividad antagónica *in vitro* de *Trichoderma* sobre *E. necator*, se empleó la técnica de enfrentamientos duales.

Se obtuvieron 19 cepas de *Trichoderma* de los cuales resultaron *T. harzianum* (12 cepas), *T. viride* (3 cepas) y 4 cepas de *Trichoderma spp.* Las cepas con mayor efectividad antagónica fueron *T. harzianum* (C16), *Trichoderma spp* (C3) y *Trichoderma spp* (C7), frente a *E. necator* por tener mayor porcentaje de crecimiento micelial 100% y un micoparasitismo de escala 4 a los 7 días del método dual, igual al control positivo *T. viride* (C20).

Se concluye que las cepas aisladas de *Trichoderma* tienen actividad antagónica siendo una alternativa de control biológico para *E. necator*, posibilitando la disminución del uso de agroquímicos y así contribuir con el bienestar del medio ambiente y el bienestar de las personas.

Palabras clave: *Trichoderma*, *Erysiphe necator*, antagonismo, control biológico.

ABSTRACT

The species of the genus *Trichoderma* stand out among those most commonly used as biological control agents, acting in certain cases as antagonists of fungi and phytopathogenic bacteria.

The present investigation was oriented to the evaluation of the antagonistic activity of *Trichoderma* isolated from agricultural fields against *Erysiphe necator* "oidio". The isolation was carried out with two methodologies: isolation by serial dilutions of soil samples and isolation with rice traps, from samples belonging to the province of Ica and Ayacucho. For the identification of the genus and species it was necessary to use taxonomic keys, taking into account the macroscopic and microscopic characteristics. To test the antagonistic in vitro activity of *Trichoderma* on *E. necator*, the technique of dual confrontations was used.

We obtained 19 strains of *Trichoderma*, which resulted in *T. harzianum* (12 strains), *T. viride* (3 strains) and 4 strains of *Trichoderma spp.* Strains with greater antagonistic effectiveness were *T. harzianum* (C16), *Trichoderma spp* (C3) and *Trichoderma spp* (C7), against *E. necator* for having a higher percentage of mycelial growth 100% and a mycoparasitism of scale 4 after 7 days of dual method, equal to the positive control *T. viride* (C20).

It is concluded that the isolated strains of *Trichoderma* have antagonistic activity being an alternative of biological control for *E. necator*, enabling the reduction of the use of agrochemicals and thus contribute to the welfare of the environment and the well-being of the people.

Key words: *Trichoderma*, *Erysiphe necator*, antagonism, biological control.

I. INTRODUCCIÓN

El uso indiscriminado de productos químicos ha tenido grandes consecuencias, que no sólo afecta a la flora y fauna que han sido expuestas en forma significativa, sino también han contribuido al deterioro de la calidad del aire, agua, suelos y alimentos, así como también de la salud de jornaleros y consumidores.

La tendencia actual es desarrollar nuevas alternativas para el manejo de enfermedades que atacan a los cultivos a través del uso de agentes de control biológico. A escala mundial se reconocen un grupo de hongos y de bacterias con acción antagonista, donde sobresale la efectividad de *Trichoderma* (Reyes y col., 2008).

Trichoderma es un hongo saprófito, reconocido por ser utilizado como controlador biológico por su capacidad micoparasítica sobre algunos hongos fitopatógenos, es un antagonista debido a la capacidad de sintetizar enzimas hidrolíticas que generan la muerte de hongos fitopatógenos, pero además es un buen competidor por oxígeno, nutrientes y espacio debido a su buena adaptabilidad y rápido crecimiento (Vásquez, 2010).

El desarrollo de *Trichoderma* se activa con la presencia de humedad, con un óptimo de 60% de la capacidad de retención de humedad del suelo. (Martínez y col., 2013).

Trichoderma puede contrarrestar el daño en la producción y calidad final del fruto que genera el fitopatógeno *Erysiphe necator* agente causal del oídio de la vid (Solano, 2017).

Desde el siglo XIX, el óidio ha sido controlado con fungicidas químicos (Fuentes, 2015), método que presenta desventajas económicas y ecológicas por lo costoso y agresivo que resultan estos al medio ambiente (Reyes y col., 2008) y porque *Erysiphe necator* ha desarrollado resistencia a muchos fungicidas de uso común en diversas partes del mundo (Washington State University, 2015), por esta razón es necesario introducir otras medidas de control para la buena producción del cultivo de vid.

El “óidio” puede afectar todos los tejidos suculentos de la vid, incluyendo hojas, tallos, frutos e inflorescencias. Las colonias del hongo se forman típicamente en la cara inferior de las hojas debido a que los conidios son muy sensibles a la luz directa del sol, o en ambas caras de hojas sombreadas. Este fitopatógeno corresponde a un parásito obligado que se encuentra ampliamente distribuido en todo el mundo (Fuentes, 2015). Los daños asociados van desde leves fisuras en bayas que pueden ser puerta de entrada a otras patógenos, hasta una severa defoliación que implicará la falta de grado zucarino de la producción del año y una fuerte disminución de los rendimientos en la producción del año próximo; llegando en extremos a la caída de las bayas. (Miano y col., 2014).

Las oidiosis son muy comunes y virulentas en climas cálidos y secos; esto se debe a que sus esporas del óidio, cuando son liberadas germinan y producen infección incluso cuando la humedad relativa de la atmósfera no es demasiada alta, lo que hace innecesaria la presencia de una película de agua sobre la superficie de la planta (Agrios, 1995). Solamente los estadios de desarrollo muy tempranos requieren de “agua libre” (agua en forma de lluvia, rocío o irrigación) (Washington State University, 2015).

II. ANTECEDENTES

A nivel internacional

Indu, S. y col. (2016), en Maharashtra (India), realizaron ensayos a escala preliminar, pequeña escala y escala de campo para seis aislados de *Trichoderma*, de las cuales cinco fueron obtenidos de la colección de cultivos microorganismos de la agricultura nacional (NAIMCC) de ICAR-NBAIM, y una cepa de *Trichoderma asperelloides* la cual fue obtenida de laboratorio de patología de plantas de ICAR-NRCG. De las cuales los aislados de NAIMCC-F-01938 y NAIMCC-F-01965 (cepas obtenidas de la colección de cultivos de microorganismos de la agricultura nacional de Mau-India) fueron superiores a los otros cuatro aislados de *Trichoderma*, reduciendo la enfermedad en un 43,67-50,36% y 35,71-53.40% respectivamente.

Jaramillo, J. (2014), en Honduras, evaluó la capacidad antagónica *in vitro* de *Trichoderma koningii*, *Trichoderma harzianum*, frente a *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.* y *Phytophthora sp.* Donde *T. harzianum* cepa Zamorano no presentó diferencias significativas en la inhibición del crecimiento de *Alternaria sp.* (73%) ($P \leq 0,05$) en comparación con *Phytophthora sp.* y *Fusarium sp.* (54 y 40% respectivamente). Con invadió más a *Alternaria sp.* y *Phytophthora sp.*, con porcentajes de 89 y 73 %, respectivamente; el porcentaje de invasión a *Fusarium sp.* con *T. koningii* no hubo diferencias significativas frente a *Fusarium sp.* ni *Phytophthora sp.* (56 y 42% respectivamente), pero *T. koningii* tuvo un porcentaje de inhibición de crecimiento radial menor sobre el patógeno *Alternaria sp.* (36%). Al día siete todos los tratamiento presentaron diferencias significativas con sus testigos, demostrando

que *T. koningii* inhibió el crecimiento de los tres patógenos y presentó un mejor antagonismo hacia *Alternaria sp.*

Infante, D. y col (2009), en la Habana - Cuba, resaltaron la importancia que tiene el conocimiento profundo de los mecanismos de acción que pueden presentar los diferentes aislados de Trichoderma. Este conocimiento es vital desde el punto de vista práctico, debido a que permite una adecuada y mejor selección de aislamientos con mayor potencialidad para el control de diferentes fitopatógenos. Mientras más modos de acción estén presentes en un aislamiento, mayor será la eficacia del mismo en el control del fitopatógeno, y por ende, menor el daño que puede causarle al cultivo.

Guigón, C. y col. (2003), en Chiguagua - México, aislaron seis cepas de *Trichoderma spp.* TC74 de chile jalapeño, TvVA y TbVA de nogal, TvB y TbB de menta y TS01 de durazno. Las cepas TS01, TC74 y TvB mostraron mayor actividad micoparásita *in vitro*. La tasa de crecimiento del patógeno se redujo prácticamente a la mitad al confrontarse con las cepas TC74, TvB y TS01, lo que al final del experimento se reflejó en una reducción del 51, 47 y 45% de su crecimiento, respectivamente ($P < 0.01$). Estas tres cepas lograron sobrecrecer hasta un 100% al patógeno, superando también en este sentido a las cepas TvVA y TbVA ($P < 0.002$), y mostrando así una mayor actividad antagónica sobre *Phytophthora capsici*.

A nivel nacional:

Vargas, R. (2014), en Arequipa - Perú, evaluó la competencia por espacio y nutrientes, micoparasitismo, antibiosis y el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) *in vitro* de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningiopsis* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* y *Phoma terrestres*. En la competencia por

espacio y nutrientes para *F. oxysporum* f. sp. *cepae*, el mayor radio de crecimiento fue de *T. koningiopsis* con 4,15 cm. Para *P. terrestris* el mayor radio de crecimiento fue de *T. koningiopsis* con un 4,41 cm. Observó un PICR de *T. harzianum* para *F. oxysporum* f. sp. *cepae* de 83,40%, *T. koningiopsis* con 77,45%, el PICR de *T. harzianum* para *P. terrestris* fue de 86,86%, de *T. koningiopsis* fue 84,78%. En cuanto al grado de micoparasitismo *T. harzianum* y *T. koningiopsis* mostraron un micoparasitismo grado cuatro frente a *F. oxysporum* f. sp. *cepae* y *P. terrestris*. La actividad antibiótica de *T. harzianum* para *F. oxysporum* f.sp. *cepae* fue de 33,57% y *T. koningiopsis* con 26,22%. Para *P. terrestris* la mayor inhibición del crecimiento radial fue de *T. harzianum* con 37,01% y *T. koningiopsis* con 26,40%.

Carhuavilca, N. (2011), en Cusco - Perú, determinó el efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en la incidencia y severidad de *Mycena citricolor* (ojo de pollo) sacc del café. *T. viride* mostró una reducción en el incremento de la incidencia de *M. citricolor* con un 5,88% en comparación a los demás tratamientos. En cuanto a la severidad de *M. citricolor* la combinación de *T. harzianum* y *T. viride* mostraron una reducción de 35,62%.

Rodríguez, M. y col. (2011), en Trujillo - Perú, determinaron el efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre hongos causantes de enfermedades en frutos de postcosecha de *Carica papaya* L. "papaya amarilla", (*Rhizopus nigricans*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Stemphylium lycopersici*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporu* y *Lasiodiplodia theobromae*). Con respecto al estudio de la competencia por nutrientes y espacio *A. alternata*, *S. lycopersici* y *L. theobromae*, fueron los hongos que resistieron mejor la acción antagónica de *T. harzianum*, con crecimientos promedio de 3,32; 3,13 y 3,25 cm respectivamente; en cambio *F. oxysporum* mostró una gran susceptibilidad a la acción antagónica de

T. harzianum con un crecimiento micelial promedio de 1,92 cm. En cuanto a la capacidad antagónica de *T. harzianum* sobre los hongos fitopatógenos fue en promedio de grado 2.

Castillo, D. y col. (2007), en Tacna - Perú, determinaron el grado de control de dos hongos de *Trichoderma* sobre el oídio en los racimos de las plantas de vid. Se aplicó 10 mL de inóculo de *Trichoderma*, constituido por una suspensión densa de conidios, por aspersión sobre los racimos de las plantas de vid con cinco repeticiones por tratamiento. *Trichoderma sp.* TL (cepa nativa) presentó un grado 6 de control sobre el oídio y *T. harzianum* un grado 5 en la disminución de infección de oídio en los racimos de uva. Concluyeron que el mayor grado de control encontrado en *Trichoderma sp.* TL sea porque es una especie nativa propia del lugar de Tacna, en comparación al otro *Trichoderma* que es proveniente de fuera de Tacna.

A nivel regional:

Huamani, C. y col. (2013), en Ica - Perú, aislaron e identificaron 7 cepas nativas de *Trichoderma*, de las cuales dos pertenecieron a la especie *T. viride*, uno a *T. longibrachiatum* y cuatro a *T. harzianum*. Se seleccionaron las cepas *T. viride* (TE - M018) con un porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) de 73,24%; *T. harzianum* (C - M072) con un PICR de 83,12% y *T. longibrachiatum* (LH - M044) con un PICR de 61,54%; siendo el aislamiento TE-M018 quien presentó un mayor efecto antagónico frente a *Fusarium sp.* en cultivo de algodón, por tener mayor porcentaje de plántulas vivas, con un 94%.

Araujo, C. y col. (2009), en Ica - Perú, aislaron 12 cepas nativas de *Trichoderma* de las cuales cinco fueron seleccionadas por presentar mayor actividad micoparasítica, producción de metabolitos volátiles y metabolitos

difusibles sobre *Fusarium oxysporum*. Estas fueron caracterizadas parcialmente como *T. harzianum*. Las temperaturas óptimas de crecimiento para las cepas de Trichoderma fueron 25°C y 30°C, a las 120 horas fue a 30°C.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. Material Biológico

- Cepas de *Trichoderma* aisladas de suelos agrícolas de Ica y Ayacucho. (Fig.8)
- Cepa de *Trichoderma viride* (control), obtenida del CITEagroindustrial de Ica (Fig.9)
- Hojas de vid infestadas con *Erysiphe necator* "oidio", obtenidas de la empresa agrícola RVR AGRO.

3.2. METODOS

3.2.1. Aislamiento de cepas nativas de *Trichoderma*

Las cepas nativas de *Trichoderma* se obtuvieron de suelos agrícolas que no hayan recibido aplicaciones previas de algún químico o tratamiento con otras especies de hongos.

El aislamiento se realizó con dos metodologías; aislamiento por diluciones seriadas de muestras de suelo y aislamiento con trampas de arroz.

Muestras de suelo: Se recolectaron tres muestras de suelo por cada hectárea del campo agrícola. Se extrajo aproximadamente 1 kg. de suelo en bolsas de primer uso, cada muestra de suelo se obtuvieron de unos 10-15 cm de profundidad según el tipo de cultivo y la sanidad de la planta (Hernández y col., 2011).

Obtenido las muestras se llevó a las instalaciones del laboratorio del CITEagroindustrial - Ica, donde el procesamiento de las muestras se

realizó homogenizando el suelo y tomando una submuestra de 10 gr., colocándola en 90 mL de agua destilada estéril y agitando durante 20 a 30 min. Posteriormente se tomó una alícuota de 1 mL que se diluyó en un tubo de ensayo con 9 mL de agua destilada estéril. Estas diluciones se realizaron por tres veces consecutivas. De las tres diluciones se tomó una alícuota de 0,1 mL que se depositó en las placas Petri contenido con medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) y con ayuda de un asa de Digrafsky previamente esterilizado se dispersó uniformemente toda la superficie (Gómez y col. 2013). Se llevó a incubar a 25°C por cuatro a cinco días; monitoreando el crecimiento del hongo de interés (Manayay y col. 2016); posteriormente se realizó montajes temporales en azul de lactofenol para identificar la presencia de *Trichoderma spp.*, basado en las descripciones de Barnett y Hunter (1998); una vez identificado al antagonista se hizo cultivos monospóricos (Guigón y col. 2003).

Trampas de arroz: Para el aislamiento por este método se realizó de la siguiente manera: Se cocinó el arroz durante 10 minutos, después se colocó el arroz cocido (3 a 4 g por trampa), a vasos descartables estériles con una cuchara desinfectada por acción del calor en la misma olla. Inmediatamente se procedió a tapar el vaso con la gasa estéril y se selló los bordes con una liga de caucho (Avila y col. 2014, adaptado por los autores y asesores).

Las trampas se colocaron tres por cada hectárea, se colocaron en el suelo, cerca del sistema radicular de plantas sanas y enfermas, haciendo una excavación en un promedio de 10 a 20 cm de profundidad según el tipo de cultivo y planta. De cinco a seis días se

procedió a coleccionar las trampas viendo las posibles cepas de interés (Nieto, 2013). (Fig.10)

Las colonias parecidas a las cepas de interés se aislaron en medio PDA, se dejó incubar a 25°C por cuatro – cinco días.

3.2.2. Identificación de cepas de Trichoderma

Los cepas de Trichoderma seleccionadas se caracterizaron parcialmente teniendo los siguientes criterios: coloración de la colonia, mediante observaciones macro y microscópicas, obtenidas a partir de montajes de la técnica de microcultivo.

Microcultivo: Para la realización de esta técnica se tuvo que disponer de una cantidad necesaria de placas Petri previamente esterilizados, en las cuales se colocó dentro de cada una de ellas un caballete de vidrio (dos laminas portaobjeto), un trozo pequeño de algodón humedecido con agua destilada estéril para evitar la desecación posterior del cultivo, luego con ayuda de una pipeta estéril se puso dos capas de PDA en la superficie de una lámina, se repico cada cepa de Trichoderma por puntura en el centro de la lámina y se colocó una laminilla estéril sobre este para después incubar a 25°C por cuatro días (Arias y col., 2008). (Fig. 11)

Después de cuatro días de incubación se procedió a la lectura de cada cepa, se observó al microscopio al aumento de 400X. Viendo las características morfológicas y con ayuda de claves y guías Barnett y Hunter (1909) se pudo identificar las especies de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*).

Caracterización de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*

Las colonias de *T. harzianum* crecen en una temperatura de 20 - 25°C, pueden alcanzar un diámetro mayor de 9 cm en cinco días. Inicialmente su crecimiento micelial es color blanco y de textura algodonosa y luego se van tornando a blanco - verdosas hasta llegar a un verde total con una textura aterciopelada levemente correosa (blando). En algunas ocasiones se pueden observar estructuras de resistencia pequeñas, blanquecinas, algodonosas que son las clamidosporas. Esta especie posee hifas hialinas, septadas, ramificadas de las cuales se desarrollan conidióforos ramificados piramidales, es decir, varias veces ramificados, con ramas cortas, que miden de 18 -25µm. A partir de fiálides delgadas en forma de botella se desprenden conidios de paredes lisas, subglobosos, cortos, ovoides con aproximadamente de 2,8 - 3,2X 2,5 - 2,8µm (Vásquez, 2010).

Las colonias de *T. viride* crecen 20 - 25°C pueden alcanzar un diámetro de 7,5 cm en cinco días. Estas durante su crecimiento micelial toman una coloración blanco amarillosa y más tarde se observan blanco verdosas con insertos de conidios en tonos verde oliva la textura es correosa (blando). Cuando las condiciones no son favorables, presenta estructuras de resistencia identificables por ser blancas y correosas. Este puede o no presentar pigmento difusible al medio durante su crecimiento. Las hifas de pared rugosa, hialinas, ramificadas, septadas que dan origen a conidióforos ramificados irregularmente piramidales, poseen fiálides agrupadas (entre 2 y 4), en forma cilíndrica. Los conidios presentan una pared rugosa

típicamente de forma globosa y rara vez elipsoidales, miden de 3,6-4,8 μm . (Vázquez, 2010)

3.2.3. Aislamiento de *Erysiphe necator* “oidio”

Las hojas infestadas con oídio fueron colectados de la empresa agrícola RVR AGRO. Se colocaron en recipiente estéril y fueron llevadas a las instalaciones del laboratorio de CITEagroindustrial – Ica donde se procedió al aislamiento del patógeno de interés, de la siguiente manera: Las hojas se desinfectaron con alcohol al 70% por un minuto, lejía al 1% por 15 segundos y tres veces de enjuague con agua destilada estéril por un minuto y dejar secar en papel toalla estéril aproximadamente cinco a diez minutos (Fig. 12), luego se coloca la hoja estéril en la placa Petri con agar agua al 1,2% finalmente se sellan con parafilm para evitar contaminación e incubar a 25°C con un fotoperiodo de 12 hrs y 75-78% de humedad relativa en una cámara de crecimiento por cinco - seis días. (Indu y col. 2016, adaptado por los autores) (Fig.12)

3.2.4. Método dual de cepas de *Trichoderma* frente a *Erysiphe necator* “oidio”.

Para probar el efecto antagonista *in vitro* de *Trichoderma* sobre el patógeno se empleó la técnica de enfrentamientos duales.

- ✓ **Método dual:** De las placas con PDA que contienen las cepas de *Trichoderma* (20 cepas) y con ayuda de un sacabocado se procedió a cortar discos de 5 mm de la masa de esporas de cada cepa incubadas ocho días, estos discos

cortadas se transfirió suavemente cerca de la colonia de *E. necator* (Indu y col. 2016) incubadas cinco - seis días, cada tratamiento se realizó por triplicado y se mantuvo a una temperatura de 25°C con un fotoperiodo de 12 hrs. y 70-78% de humedad relativa en una cámara de crecimiento; para su posterior evaluación. (Indu y col. 2016, adaptado por los autores y asesores) (Fig. 15).

✓ **Evaluación:** Para las evaluaciones se hizo observaciones en el estereoscopio y microscopio haciendo montaje con cinta adhesiva transparente y azul de lactofenol. Las variables que se evaluó en el experimento fue el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial y micoparasitismo, que consistió en: primera evaluación a los tres días, segunda evaluación a los cinco días, la tercera evaluación a los siete días y la cuarta evaluación a los nueve días después de la enfrentación de antagonista contra el patógeno (Abanto D. 2016 Modificado por el autor)

✓ **El porcentaje de inhibición de crecimiento micelial:** Se determinó en base al crecimiento de *Trichoderma* en las colonias que colapsaron los micelios de oídio, inhibiendo el crecimiento de la misma en la hoja de vid. (Fig.17) Se determinó el área del colapso de oídio con la ayuda del estereoscopio, microscopio al aumento de 100x y 400x.

Para hallar el área de las colonias de *E. necator* en las hojas de vid; se usó el programa de procesamiento de imagen digital IMAGEJ con este programa se puede traducir los

píxeles a distancias, respecto de algún punto de la imagen. Para ello lo que se hace es incluir en la imagen un objeto de dimensiones conocidas. Entonces, midiendo cuántos píxeles ocupa este elemento en la imagen se podrá saber cuánto mide un píxel en una medida de longitud.

- ✓ **Micoparasitismo:** Para determinar el grado de invasión – parasitismo de *Trichoderma* frente a *Erysiphe necator* se empleó la escala que determina la capacidad antagónica que posee el hongo *Trichoderma* en invadir y destruir la colonia de los hongos patógenos, utilizando índices o valores que van desde 0-4 (Tabla 12), considerando como índice 3 una capacidad antagónica satisfactoria. Se observó en el microscopio óptico a 400X de aumento, y se tomaron las fotografías correspondientes (Fig.18)

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Sitios de muestreo para el aislamiento de cepas nativas de *Trichoderma* durante los meses de febrero - marzo del 2018.

LUGAR DE OBTENCIÓN			ESPECIES			TOTAL
Distrito	Provincia	Dept.	<i>T. harzianum</i>	<i>Trichoderma spp.</i>	<i>T. viride</i>	
La Tinguina (Santa Rosa)	Ica	Ica	C1,		C4,	2
Parcona (Orongo)	Ica	Ica	C2, C11,			2
Tate	Ica	Ica	C5,	C3,		2
Santiago (Waylas)	Ica	Ica	C6, C12, C15,		C8, C14,	5
Chincha alta	Ica	Ica		C7, C10,		2
Los Aquijes	Ica	Ica	C9, C13,			2
Incuyo	Parinacochas	Ayacucho	C16, C17	C18		3
Los Molinos	Ica	Ica	C19			1
TOTAL			12	4	3	19

Dónde: C1, C2, C3,... C19 son números de cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de suelos agrícolas.

Tabla 2. Porcentaje de crecimiento micelial de cepas nativas de *Trichoderma* frente a *E. necator* aisladas de suelos.

Especies	Código de Cepas	1° Eval.	2° Eval.	3° Eval.	4° Eval.
		(3 días) %	(5 días) %	(7 días) %	(9 días) %
<i>T. harzianum</i>	C1	50,31	81,49	95,41	100,00
	C2	36,54	88,56	90,29	90,86
	C5	18,67	69,21	97,50	97,50
	C6	56,45	100,00	100,00	100,00
	C9	59,81	93,58	100,00	100,00
	C11	57,23	88,91	100,00	100,00
	C12	71,78	100,00	100,00	100,00
	C13	64,32	93,83	100,00	100,00
	C15	68,35	96,07	100,00	100,00
	C16	71,76	100,00	100,00	100,00
	C17	27,61	76,14	100,00	100,00
<i>Trichoderma spp.</i>	C19	18,72	76,13	100,00	100,00
	C3	74,05	100,00	100,00	100,00
	C10	9,56	76,82	92,31	100,00
	C18	52,03	94,45	100,00	100,00
<i>T. viride</i>	C7	47,55	94,94	100,00	100,00
	C8	52,67	89,79	96,90	96,90
	C4	49,32	71,71	100,00	100,00
<i>T. viride</i>	C14	25,41	77,66	99,31	99,91
	control - (c.comercial) C20	82,45	100,00	100,00	100,00

Tabla 3. Análisis de varianza y test de Tukey del porcentaje de crecimiento micelial de las cepas de *Trichoderma* frente a *E. necator* al tercer día del enfrentamiento dual.

Análisis de varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
1° Evaluación-3 días	60	0,66	0,50	35,68

Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	24630,96	19	1296,37	4,12	0,0001
Especies-Código de Cepas	24630,96	19	1296,37	4,12	0,0001
Error	12594,64	40	314,88		
Total	37225,60	59			

TEST DE TUKEY:

Especies-Código de Cepas		Medias	n	E.E.			
<i>Trichoderma spp.</i>	C10	9,56	3	10,24	A		
<i>T. harzianum</i>	C5	18,67	3	10,24	A	B	
<i>T. harzianum</i>	C19	18,72	3	10,24	A	B	
<i>T. viride</i>	C14	25,41	3	10,24	A	B	C
<i>T. harzianum</i>	C17	27,61	3	10,24	A	B	C D
<i>T. harzianum</i>	C2	36,54	3	10,24	A	B	C D
<i>Trichoderma spp.</i>	C7	47,55	3	10,24	A	B	C D
<i>T. viride</i>	C4	49,32	3	10,24	A	B	C D
<i>T. harzianum</i>	C1	50,31	3	10,24	A	B	C D
<i>Trichoderma spp.</i>	C18	52,03	3	10,24	A	B	C D
<i>T. viride</i>	C8	52,67	3	10,24	A	B	C D
<i>T. harzianum</i>	C6	56,45	3	10,24	A	B	C D
<i>T. harzianum</i>	C11	57,23	3	10,24	A	B	C D
<i>T. harzianum</i>	C9	59,81	3	10,24	A	B	C D
<i>T. harzianum</i>	C13	64,32	3	10,24	A	B	C D
<i>T. harzianum</i>	C15	68,35	3	10,24		B	C D
<i>T. harzianum</i>	C16	71,76	3	10,24		B	C D
<i>T. harzianum</i>	C12	71,78	3	10,24		B	C D
<i>Trichoderma spp.</i>	C3	74,05	3	10,24		C	D
<i>T. viride</i>	CTL	82,45	3	10,24			D

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

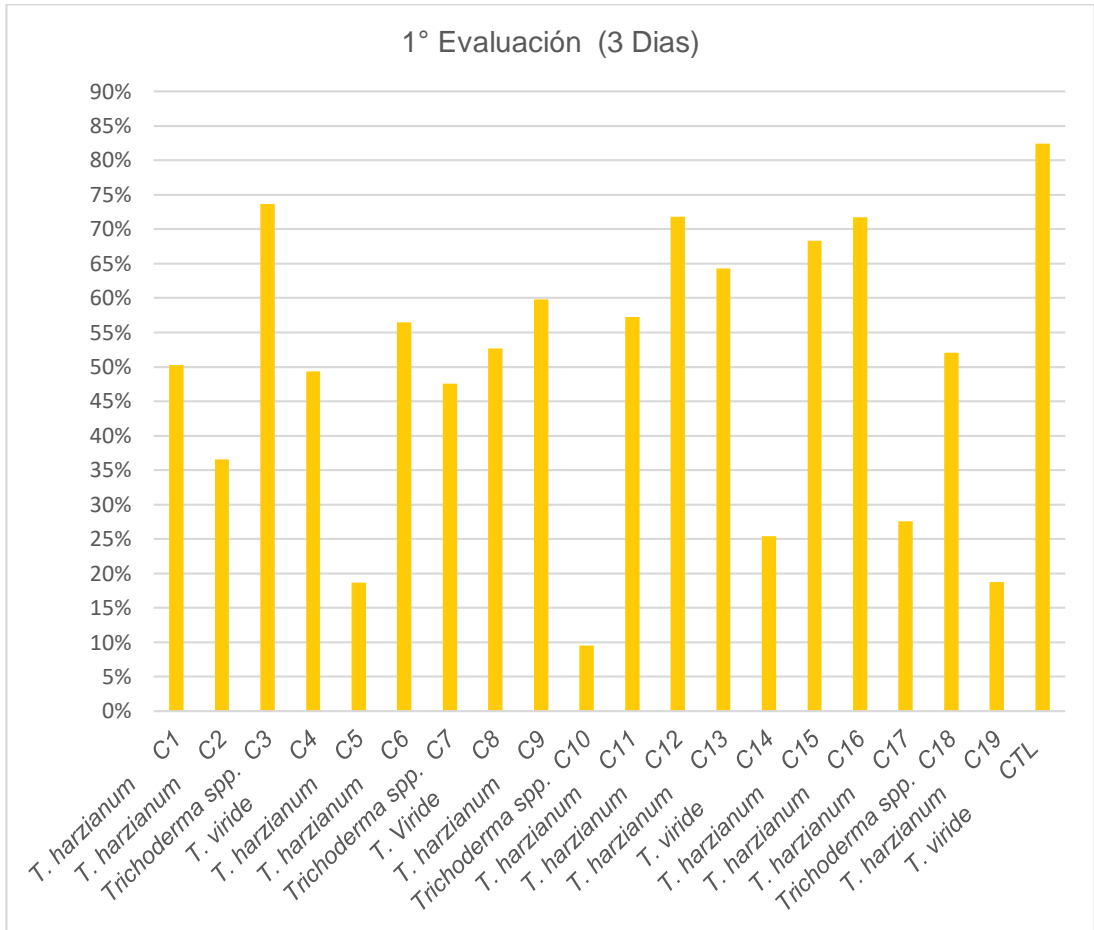


Fig. 1. Porcentaje de crecimiento micelial de las cepas de Trichoderma frente a *E. necator* al tercer día del enfrentamiento dual.

Tabla 4. Análisis de varianza y test de Tukey del porcentaje de crecimiento micelial de las cepas de *Trichoderma* frente a *E. necator* al quinto día del enfrentamiento dual.

Análisis de varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
2° Evaluación cinco días	60	0,44	0,18	16,04	
Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6344,58	19	333,93	1,66	0,0879
Especies-Código de Cepas	6344,58	19	333,93	1,66	0,0879
Error	8049,04	40	201,23		
Total	14393,63	59			

TEST DE TUKEY:

Especies-Código de Cepas		Medias	n	E.E.	
<i>T. harzianum</i>	C5	69,21	3	8,19	A
<i>T. viride</i>	C4	71,71	3	8,19	A
<i>T. harzianum</i>	C19	76,13	3	8,19	A
<i>T. harzianum</i>	C17	76,14	3	8,19	A
<i>Trichoderma spp.</i>	C10	76,82	3	8,19	A
<i>T. viride</i>	C14	77,66	3	8,19	A
<i>T. harzianum</i>	C1	81,49	3	8,19	A
<i>T. harzianum</i>	C2	88,56	3	8,19	A
<i>T. harzianum</i>	C11	88,91	3	8,19	A
<i>T. viride</i>	C8	89,79	3	8,19	A
<i>T. harzianum</i>	C9	93,58	3	8,19	A
<i>T. harzianum</i>	C13	93,83	3	8,19	A
<i>Trichoderma spp.</i>	C18	94,45	3	8,19	A
<i>Trichoderma spp.</i>	C7	94,94	3	8,19	A
<i>T. harzianum</i>	C15	96,07	3	8,19	A
<i>Trichoderma spp.</i>	C3	100,00	3	8,19	A
<i>T. harzianum</i>	C12	100,00	3	8,19	A
<i>T. harzianum</i>	C16	100,00	3	8,19	A
<i>T. harzianum</i>	C6	100,00	3	8,19	A
<i>T. viride</i>	CTL	100,00	3	8,19	A

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

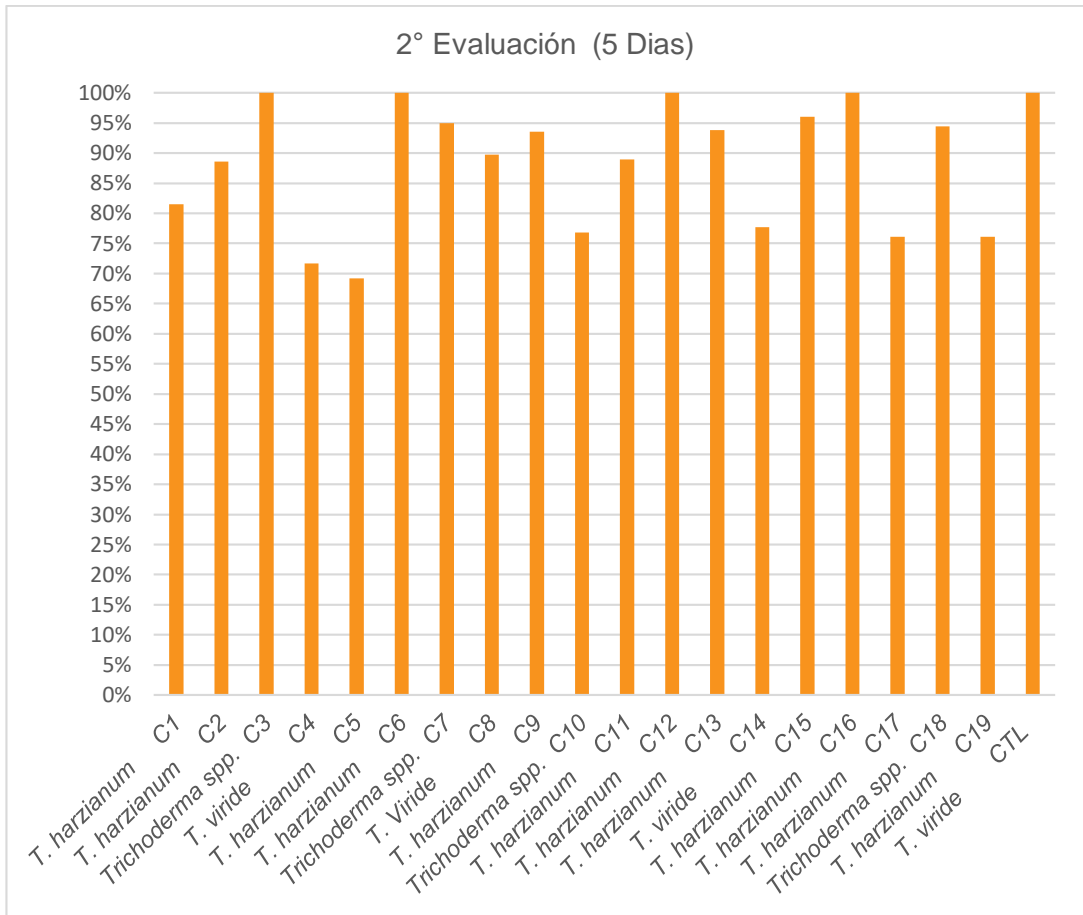


Fig. 2. Porcentaje de crecimiento micelial de las cepas de Trichoderma frente a *E. necator* al quinto día del enfrentamiento dual.

Tabla 5. Análisis de varianza y test de Tukey del porcentaje de crecimiento micelial de las cepas de *Trichoderma* frente a *E. necator* al séptimo día del enfrentamiento dual.

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
3° Evaluación-7 días	60	0,50	0,26	3,45

Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	452,94	19	23,84	2,06	0,0267
Especies-Código de Cepas	452,94	19	23,84	2,06	0,0267
Error	461,89	40	11,55		
Total	914,84	59			

TEST DE TUKEY:

Especies-Código de Cepas	Medias	n	E.E.	
<i>T. harzianum</i> C2	90,29	3	1,96	A
<i>Trichoderma spp.</i> C10	92,31	3	1,96	A
<i>T. harzianum</i> C1	95,41	3	1,96	A
<i>T. viride</i> C8	96,90	3	1,96	A
<i>T. harzianum</i> C5	97,50	3	1,96	A
<i>T. viride</i> C14	99,31	3	1,96	A
<i>T. viride</i> CTL	100,00	3	1,96	A
<i>T. harzianum</i> C12	100,00	3	1,96	A
<i>T. harzianum</i> C11	100,00	3	1,96	A
<i>Trichoderma spp.</i> C7	100,00	3	1,96	A
<i>Trichoderma spp.</i> C3	100,00	3	1,96	A
<i>Trichoderma spp.</i> C18	100,00	3	1,96	A
<i>T. viride</i> C4	100,00	3	1,96	A
<i>T. harzianum</i> C19	100,00	3	1,96	A
<i>T. harzianum</i> C17	100,00	3	1,96	A
<i>T. harzianum</i> C16	100,00	3	1,96	A
<i>T. harzianum</i> C15	100,00	3	1,96	A
<i>T. harzianum</i> C9	100,00	3	1,96	A
<i>T. harzianum</i> C6	100,00	3	1,96	A
<i>T. harzianum</i> C13	100,00	3	1,96	A

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

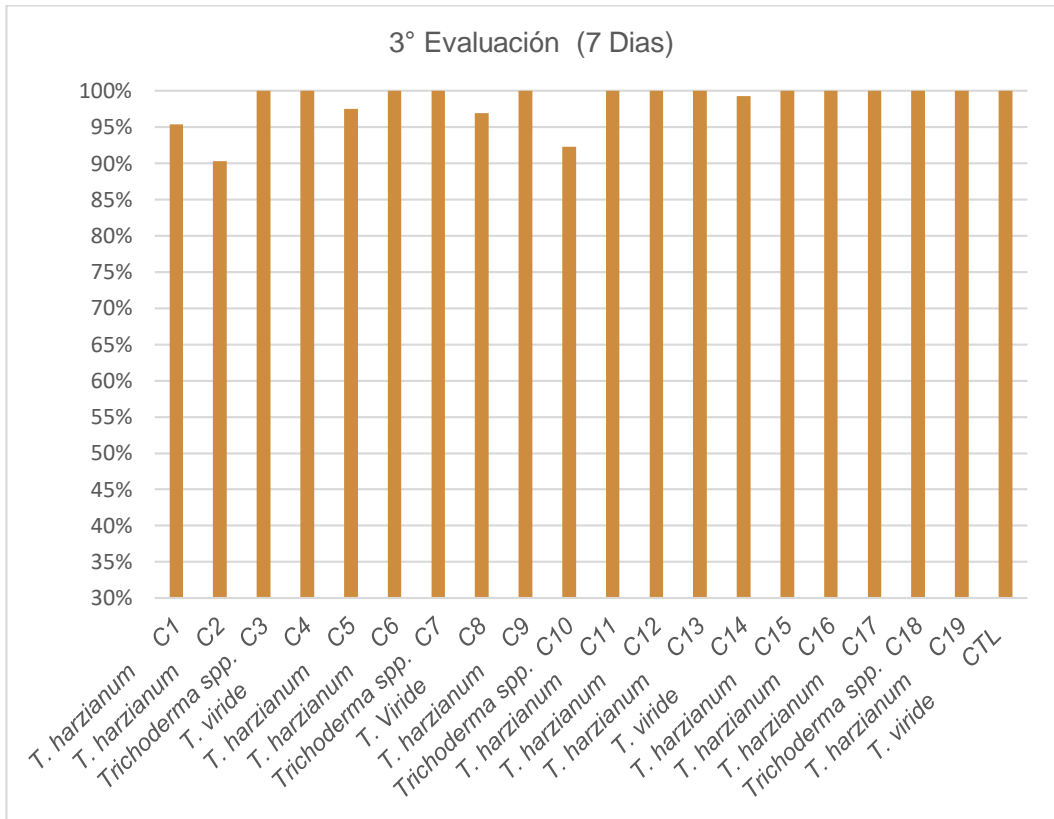


Fig. 3. Porcentaje de crecimiento micelial de las cepas de Trichoderma frente a *E. necator* al séptimo día del enfrentamiento dual.

Tabla 6. Análisis de varianza y test de Tukey del porcentaje de crecimiento micelial de las cepas de *Trichoderma* frente a *E. necator* al noveno día del enfrentamiento dual.

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
4° Evaluación-9 días	60	0,68	0,53	1,78

Análisis de varianza					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	265,12	19	13,95	4,46	<0,0001
Especies-Código de Cepas	265,12	19	13,95	4,46	<0,0001
Error	125,04	40	3,13		
Total	390,16	59			

TEST DE TUKEY:

Especies-Código de Cepas	Medias	n	E.E.	
<i>T. harzianum</i> C2	90.86	3	1,02	A
<i>T. viride</i> C8	96.9	3	1,02	B
<i>T. harzianum</i> C5	97,50	3	1,02	B
<i>T. viride</i> C14	99,91	3	1,02	B
<i>T. viride</i> CT	100,00	3	1,02	B
<i>T. harzianum</i> C1	100,00	3	1,02	B
<i>T. viride</i> C4	100,00	3	1,02	B
<i>Trichoderma spp.</i> C7	100,00	3	1,02	B
<i>Trichoderma spp.</i> C3	100,00	3	1,02	B
<i>Trichoderma spp.</i> C18	100,00	3	1,02	B
<i>Trichoderma spp.</i> C10	100,00	3	1,02	B
<i>T. harzianum</i> C9	100,00	3	1,02	B
<i>T. harzianum</i> C17	100,00	3	1,02	B
<i>T. harzianum</i> C16	100,00	3	1,02	B
<i>T. harzianum</i> C15	100,00	3	1,02	B
<i>T. harzianum</i> C13	100,00	3	1,02	B
<i>T. harzianum</i> C6	100,00	3	1,02	B
<i>T. harzianum</i> C11	100,00	3	1,02	B
<i>T. harzianum</i> C12	100,00	3	1,02	B
<i>T. harzianum</i> C19	100,00	3	1,02	B

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

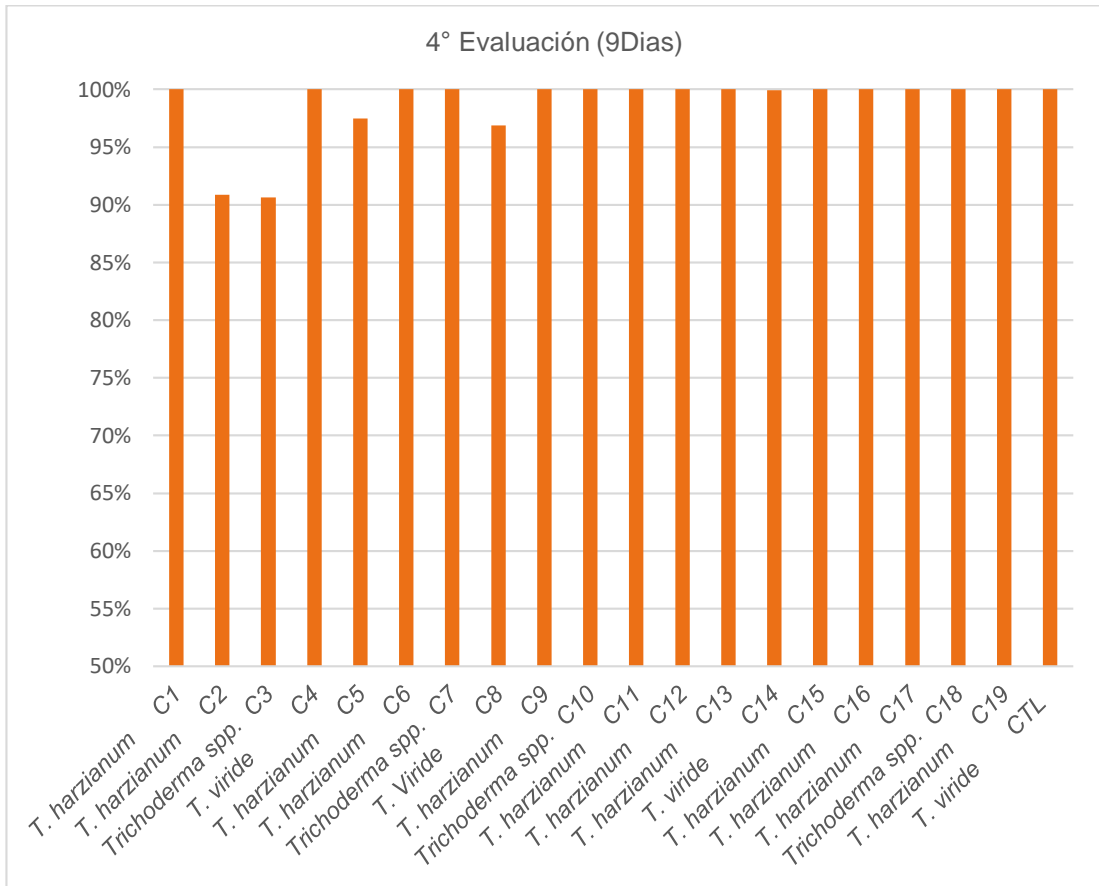


Fig. 4. Porcentaje de crecimiento micelial de las cepas de Trichoderma frente a *E. necator* al noveno día del enfrentamiento dual.

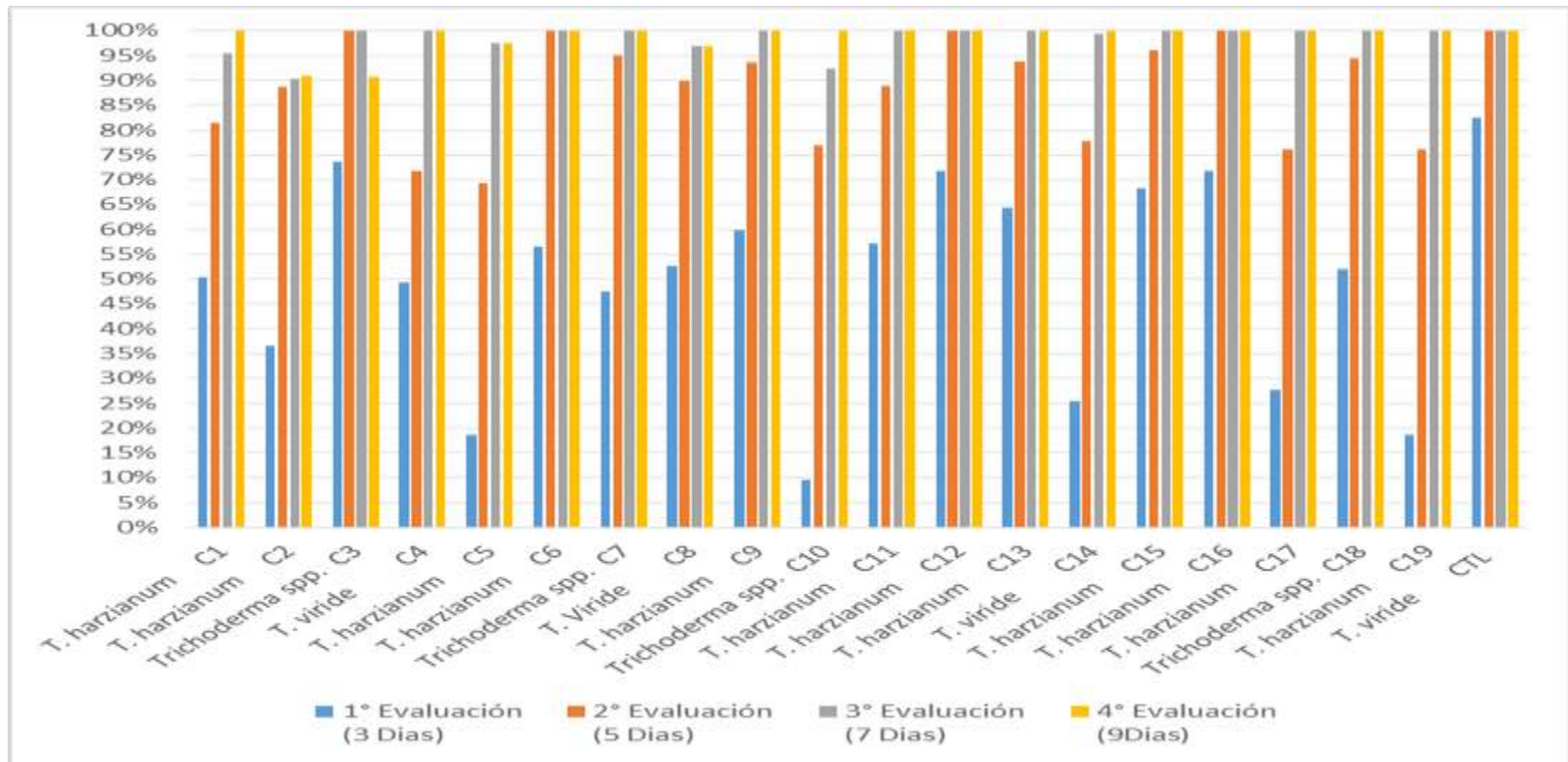


Fig. 5 Diferencia de las evaluaciones realizadas del porcentaje de crecimiento micelial de las cepas de Trichoderma frente a *E. necator*.

Tabla 7. Micoparasitismo de las cepas de *Trichoderma* frente a *E. necator* según las escalas citadas por Agamez y col. (2009):

Especies-Código de Cepas		7 días	9 días	11 días
<i>T. harzianum</i>	C1	1	2	3
<i>T. harzianum</i>	C2	1	2	2
<i>Trichoderma spp.</i>	C3	3	4	4
<i>T. viride</i>	C4	3	4	4
<i>T. harzianum</i>	C5	1	2	3
<i>T. harzianum</i>	C6	2	3	4
<i>Trichoderma spp.</i>	C7	3	4	4
<i>T. viride</i>	C8	2	3	4
<i>T. harzianum</i>	C9	1	2	3
<i>Trichoderma spp.</i>	C10	1	2	3
<i>T. harzianum</i>	C11	1	2	3
<i>T. harzianum</i>	C12	1	2	3
<i>T. harzianum</i>	C13	1	2	3
<i>T. viride</i>	C14	1	2	3
<i>T. harzianum</i>	C15	3	3	4
<i>T. harzianum</i>	C16	3	4	4
<i>T. harzianum</i>	C17	2	3	4
<i>Trichoderma spp.</i>	C18	2	3	4
<i>T. harzianum</i>	C19	2	3	4
<i>T. viride</i>	CT	3	4	4

Tabla 8. Comparación con Test de Tukey el micoparasitismo de cepas de *Trichoderma* frente a *Erysiphe necator* a los siete días de evaluación.

Especies-Código de Cepas		Medias	n	E.E.	
<i>T. harzianum</i>	C13	1,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i>	C12	1,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i>	C1	1,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i>	C11	1,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i>	C9	1,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i>	C5	1,00	3	0,00	A
<i>T. viride</i>	C14	1,00	3	0,00	A
<i>Trichoderma spp.</i>	C10	1,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i>	C2	1,00	3	0,00	A
<i>Trichoderma spp.</i>	C18	2,00	3	0,00	B
<i>T. viride</i>	C8	2,00	3	0,00	B
<i>T. harzianum</i>	C17	2,00	3	0,00	B
<i>T. harzianum</i>	C6	2,00	3	0,00	B
<i>T. harzianum</i>	C19	2,00	3	0,00	B
<i>Trichoderma spp.</i>	C7	3,00	3	0,00	C
<i>Trichoderma spp.</i>	C3	3,00	3	0,00	C
<i>T. viride</i>	C4	3,00	3	0,00	C
<i>T. viride</i>	CT	3,00	3	0,00	C
<i>T. harzianum</i>	C16	3,00	3	0,00	C
<i>T. harzianum</i>	C15	3,00	3	0,00	C

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

TABLA 9. Comparación con Test de Tukey el micoparasitismo de cepas de *Trichoderma* frente a *E. necator* a los nueve días de evaluación.

Especies-Código de Cepas	Medias	n	E.E.	
<i>T. harzianum</i> C2	2,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i> C1	2,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i> C5	2,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i> C9	2,00	3	0,00	A
<i>T. viride</i> C14	2,00	3	0,00	A
<i>Trichoderma spp.</i> C10	2,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i> C13	2,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i> C12	2,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i> C11	2,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i> C6	3,00	3	0,00	B
<i>T. harzianum</i> C15	3,00	3	0,00	B
<i>T. harzianum</i> C19	3,00	3	0,00	B
<i>T. viride</i> C8	3,00	3	0,00	B
<i>Trichoderma spp.</i> C18	3,00	3	0,00	B
<i>T. harzianum</i> C17	3,00	3	0,00	B
<i>T. viride</i> C4	4,00	3	0,00	C
<i>Trichoderma spp.</i> C7	4,00	3	0,00	C
<i>Trichoderma spp.</i> C3	4,00	3	0,00	C
<i>T. viride</i> CT	4,00	3	0,00	C

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

TABLA 10. Comparación con Test de Tukey el micoparasitismo de cepas de *Trichoderma* frente a *Erysiphe necator* a los 11 días de evaluación.

Especies-Código de Cepas	Medias	n	E.E.	
<i>T. harzianum</i> C2	2,00	3	0,00	A
<i>T. harzianum</i> C5	3,00	3	0,00	B
<i>T. harzianum</i> C9	3,00	3	0,00	B
<i>T. viride</i> C14	3,00	3	0,00	B
<i>Trichoderma spp.</i> C10	3,00	3	0,00	B
<i>T. harzianum</i> C13	3,00	3	0,00	B
<i>T. harzianum</i> C12	3,00	3	0,00	B
<i>T. harzianum</i> C11	3,00	3	0,00	B
<i>T. harzianum</i> C1	3,00	3	0,00	B
<i>Trichoderma spp.</i> C7	4,00	3	0,00	C
<i>T. viride</i> C8	4,00	3	0,00	C
<i>Trichoderma spp.</i> C3	4,00	3	0,00	C
<i>T. viride</i> CT	4,00	3	0,00	C
<i>Trichoderma spp.</i> C18	4,00	3	0,00	C
<i>T. harzianum</i> C19	4,00	3	0,00	C
<i>T. harzianum</i> C17	4,00	3	0,00	C
<i>T. harzianum</i> C16	4,00	3	0,00	C
<i>T. viride</i> C4	4,00	3	0,00	C
<i>T. harzianum</i> C6	4,00	3	0,00	C
<i>T. harzianum</i> C15	4,00	3	0,00	C

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

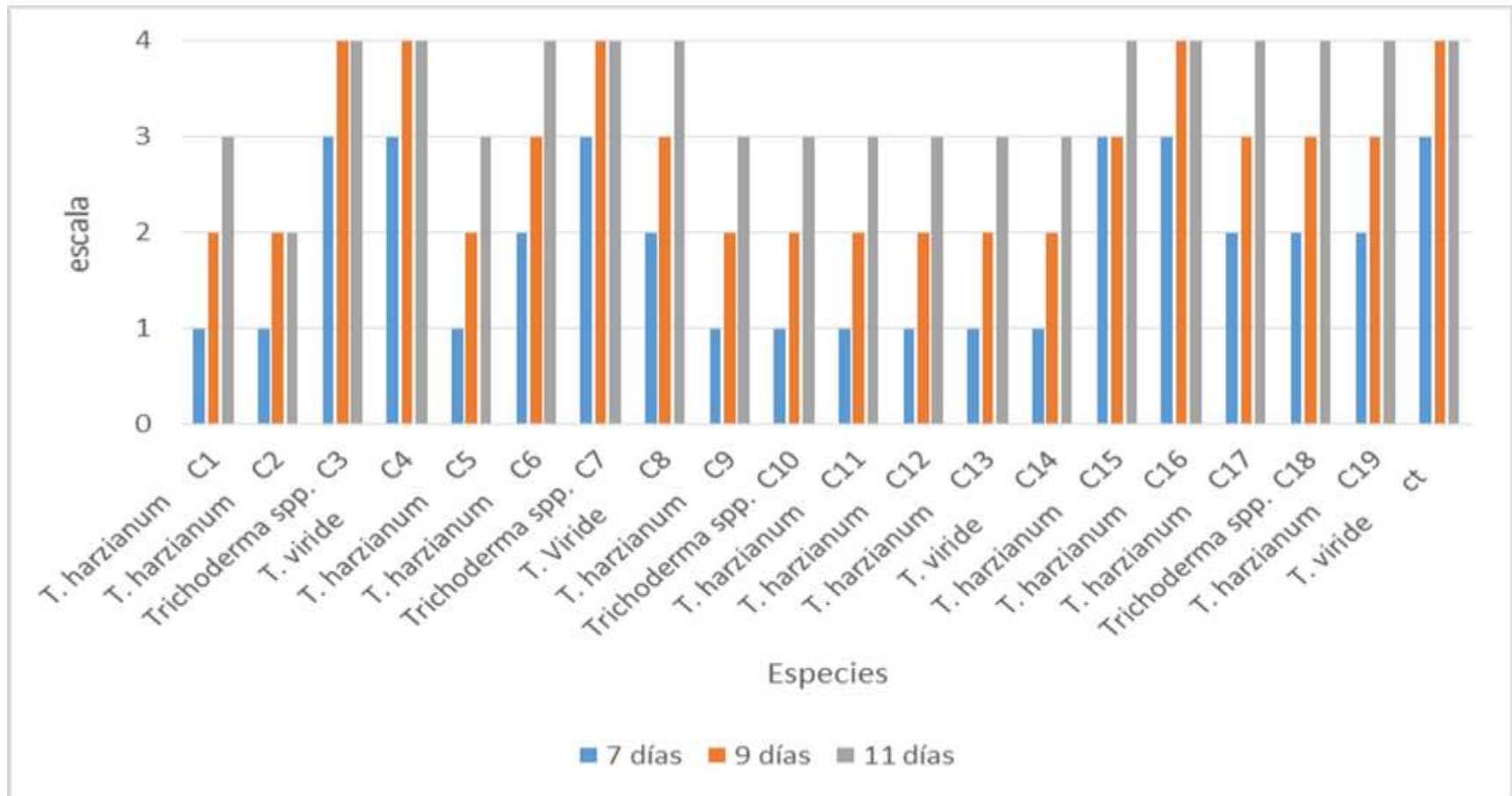


Fig. 6. Micoparasitismo de las cepas de Trichoderma frente a *Erysiphe necator* en las diferentes días de evaluación.

V. DISCUSIÓN

En la presente investigación se aislaron 19 cepas nativas de *Trichoderma* en suelos agrícolas, pertenecientes a tres especies: *T. harzianum* (12 cepas), *T. viride* (3 cepas) y *Trichoderma spp.* (4 cepas). Este es el tercer reporte de aislamiento de cepas nativas de *Trichoderma* en los suelos agrícolas para la provincia de Ica (Tabla 1) y es el primer reporte de aislamiento de *Trichoderma* para la región de Ayacucho.

Araujo y Peña (2009) aislaron 12 cepas nativas de *Trichoderma*, al igual que Huamani y Vilchez (2013) quienes reportaron 7 cepas aisladas de campos donde se practica una agricultura orgánica en la provincia de Ica. Los resultados obtenidos en la presente investigación coinciden en la diversidad de especies de *Trichoderma* a los aislados obtenidos por Rini y Sulochana (2007) quienes reportan 26 aislamientos de *Trichoderma* en India, Correa y Col. (2007) en Brasil, reportan 20 cepas aisladas de las cuales 15 pertenecen a la especie *T. harzianum*, los demás fueron *T. aureoviride* (2), *T. crassum* (2) y *T. viride* (1).

Según Araujo y Peña (2009) las cepas nativas de *Trichoderma* tuvieron un antagonismo de 73-81% frente a *Fusarium oxysporum*; de igual manera Huamani y Vilchez (2013) obtuvieron un antagonismo de 94% frente a *Fusarium sp.*

Michel y col. (2013) concluyeron que en condiciones *in vitro* el porcentaje de inhibición de *Trichoderma* frente al patógeno *Sclerotium rolfsii* varió desde 10% a 94%; según Caiza V. (2013) su mejor cepa de *Trichoderma sp.* obtuvo 94% de inhibición contra *Botrytis cinerea*. También Jaramillo G. (2014) en su experimento demostró que a los nueve días *Trichoderma harzianum* presentó mayor porcentaje

de invasión para *Alternaria sp.* y *Phytophthora sp.* 94 y 95%, respectivamente y 69% a *Fusarium sp.*

En los últimos diez años, se han utilizado especies de *Trichoderma* no solo para el control de hongos patógenos que habitan en el suelo, sino que se ha incursionado en su aplicación contra agentes causales de enfermedades foliares (Pérez y col. 2018).

Pérez y col. (2018) en su experimento obtuvieron una eficiencia del 80% de inhibición en las enfermedades fúngicas foliares de arroz (*Bipolaris oryzae*, *Pyricularia grisea* y *Sarocladium oryzae*).

Según Indu S. y col. (2017) los aislados de *Trichoderma* frente a *E. necator* redujo la enfermedad en un 50% en condiciones de campo, sin embargo en la experimentación *in vitro*, todas las cepas nativas de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento del hongo patógeno a un 75-100%.

Para el crecimiento de *E. necator* en cámara de crecimiento, según Moyer M. (2015) el hongo prefiere una humedad relativa por encima del 75%, condiciones subóptimas como lo son las temperaturas entre 20 y 29°C con bajos niveles de radiación solar. Indu S. y col. (2017) mantuvieron las hojas de vid infestadas con oidium en placas de agar de agua esterilizada 1,5% e incubaron durante 7 días a 23°C con un fotoperiodo 12 h en una cámara de crecimiento; esta metodología apporto en el desarrollo de la investigación modificando en un 1,2% de agar agua e incubar a 25°C con un fotoperiodo de 12 hrs y 75-78% de humedad relativa.

Como resultado de este trabajo todos los aislados presentaron una efectividad antagónica mayor de 60% (60-77,7% se consideran aceptables para este método de control biológico de enfermedades). Sin embargo para futuros ensayos en campo se seleccionaron los aislados que tuvieron una efectividad de 100% de inhibición de crecimiento micelial y una escala de 4 (100%). Resulta alentador

contar con cuatro aislamientos de las cuales dos son *Trichoderma spp*, uno es *T. viride* y uno es *T. harzianum* para su evaluación en campo, ya que existe una mayor probabilidad de disponer de aislamientos efectivos para el manejo biológico de *Erysiphe necator* en vid y con ello disminuir el uso de fungicida químicos y así contribuir con el bienestar del medio ambiente.

VI. CONCLUSIONES

1. Se aislaron 19 cepas nativas de *Trichoderma* de suelos agrícolas de Ica y Ayacucho las cuales fueron identificadas como: 12 cepas de *Trichoderma harzianum*, 3 cepas de *Trichoderma viride* y 4 cepas de *Trichoderma spp.*
2. Se determinó que todas las cepas nativas de *Trichoderma* aisladas, presentaron efecto antagónico sobre *E. necator* con excepción de la cepa *T. harzianum* (C2) tuvo un micoparasitismo menor, de escala 2.
3. Las cepas con mayor efectividad antagónica fueron *T. harzianum* (C16), *Trichoderma spp* (C3) y *Trichoderma spp* (C7), frente a *E. necator* por tener mayor porcentaje de crecimiento micelial 100% y un micoparasitismo de escala 4 a los 7 días del método dual.

VII. RECOMENDACIONES

1. Fomentar la utilización de Trichoderma en pequeños y medianos agricultores para minimizar el uso de productos químicos, que aumentan el costo en la producción, contaminación de los alimentos, que pueden afectar al productor y al consumidor y deterioro del medio ambiente.
2. Realizar ensayos con los aislamientos de Trichoderma nativos frente a otras especies de hongos fitopatógenos que causan enfermedades en los diferentes cultivos.
3. Mejorar el procedimiento para la identificación de Trichoderma con técnicas bioquímicas y moleculares.
4. Finalmente impulsar a realizar más investigaciones al respecto en condiciones de campo "in vivo" orientándose a la aplicación precisa de los antagonistas de acuerdo con el ciclo de la enfermedad en la planta.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Abanto, D. (2016).** Control de *Erysiphe necator schwein* usando el índice de riesgo del oídio, en el cultivo *Vitis vinífera l.* en Villacurí, Ica. Tesis: Título de Ing. Agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima. [Fecha de acceso: febrero 2018] Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1969/H20-A2-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
2. **Agamez, E. Barrera, J. Oviedo, L. (2009)** Evaluación del antagonismo y multiplicación de *Trichoderma sp.* en sustrato de plátano en medio líquido estático. Acta biol. Colomb., Vol. 14 N.º 3, 61 – 70 [Fecha de acceso: febrero 2018] Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2009000300005
3. **Araujo, C. Peña, J. (2009).** Evaluación del efecto antagónico de cepas nativas de *Trichoderma sp.* aisladas de suelo agrícola frente a *Fusarium oxysporum*. Tesis: Título de Biólogo. Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica. Facultad de Ciencias biológicas.
4. **Arbitto, M. (2017).** Evaluación in vitro de la capacidad antagonista de *Trichoderma sp.* frente a *Fusarium spp.* en Ecuador. Tesis: Título de Ingeniero en biotecnología de los recursos naturales. Universidad Politécnica Salesiana. Ecuador. [Fecha de acceso: Mayo 2018] Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14419/1/UPS-CT007088.pdf>
5. **Argumedo, R. Alarcón, A., Ferrera, R. y Peña, J. (2009)** El género fúngico *Trichoderma* y su relación con los contaminantes orgánicos e inorgánicos.

Rev. Int. Contam. Ambient. vol.25 N° 4 [Fecha de acceso: Julio 2018]

Disponible en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992009000400006

6. **Arias, E. Piñeros, P. (2008).** Aislamiento de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. Tesis: Título de Microbiólogo industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia. [Fecha de acceso: Julio 2018]. Disponible en: <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf>
7. **Astorga, K. Meneses, K. Zúñiga, C. Brenes, J. y Rivera, W. (2013)** Evaluación del antagonismo de *Trichoderma sp.* y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. Tecnología en Marcha. Vol. 27, N° 2. Pág. 82-91 [Fecha de acceso: Enero 2018].
8. **Ávila, C. Goretti, M. y Lizcano, R. (2014).** Aislamiento de *Trichoderma sp.*, en las unidades productivas agrícolas del centro de formación agroindustrial la angostura de Campoalegre (Huila). [Fecha de acceso: Mayo 2018]. Disponible en: <http://revistas.sena.edu.co/index.php/raaa/article/viewFile/145/166>
9. **Barnett, H. Hunter, B. (1909)** Illustrated genera of imperfect fungi, [Fecha de acceso: Marzo 2018]. Disponible en: http://www.academia.edu/35499449/Illustrated_genera_of_imperfect_fungi-fourth_edition._Barnett_y_Hunter._pdf.pdf
10. **Caiza, V. (2013).** Colección, identificación y pruebas de eficacia in vitro de (*Trichoderma sp.*) en el control biológico de *Botrytis cinerea* en la finca florícola Picasso Roses. Tesis: Título de Ingeniera Agropecuaria.

Universidad Politécnica Salesiana. Ecuador. [Fecha de acceso: Enero 2018]

Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/5073>

11. **Carhuavilca, N. (2011).** Evaluación de la eficacia de especies de *Trichoderma spp* en el control del ojo de pollo del café, en la provincia de la convención. Tesis: Título de Ingeniero Agrónomo Tropical Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Perú. [Fecha de acceso: Febrero 2018] Disponible en: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/1051/253T20110032.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
12. **Castillo, D. (2007).** Control biológico del oídium por acción de *Trichoderma harzianum* y *T. sp. tl.* en plantas de vid *Vitis vinifera* a nivel de campo, en Pocollay - Tacna. Ciencia y Desarrollo N° 11 pág. 35-40 [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en: <http://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/CYD/article/view/194/172>
13. **Chávez, M. (2006)** Producción de *Trichoderma sp.* y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*) Tesis: Título de Microbióloga industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia. [Fecha de acceso: Julio 2018] Disponible en: <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis286.pdf>
14. **Correa, S. Mello, M. Ávila, Z. Minare, L. Padua, R. y Gómez, D.** Cepas de *Trichoderma spp.* para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* sacc. Fitosanidad. 11(1): 3-9. [Fecha de acceso: Mayo 2018] Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/2091/209116144001/>
15. **Fuertes, A. (2015).** Efectividad de fungicidas biológicos en el control de oídio (*Erysiphe necator* Schwein) de la vid. Tesis: Título Ingeniero

Agrónomo. Universidad de Chile. Chile. [Fecha de acceso: Enero 2018]
Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/150920>

16. **Ger, T. (2014).** Evaluación en laboratorio de la capacidad antagonista de *Trichoderma spp.*, frente al crecimiento de lanosa (*Rosellinia spp.*), en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum L.*) CITTE-Art. Investigación Cód: CI-05-2014 [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en: <http://repositorio.upec.edu.ec/bitstream/123456789/44/2/184%20ARTICULO%20CIENTIFICO.pdf>
17. **González, C. Puertas, A. Fonseca, M. Suárez, E. y Blaya, R. (1999).** Actividad antagónica de *Trichoderma sp.* aislada de un suelo de la provincia Granma, Cuba frente a *Alternaria solani* sor. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 16: 167-173 [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en http://revfacagronluz.org.ve/v16_2/v162z005.html
18. **Gomez, H. Soberanis, W. Tenorio, M. y Torres, E. (2013).** Manual de producción y uso de hongos antagonistas. [Fecha de acceso: Abril 2018]. Disponible en: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2017/09/Manual-de-Producci%C3%B3n-y-Uso-de-Hongos-Antagonistas.pdf>
19. **Guerrero, R. Mónaco, C. Stocco, M. Rolleri, J. y Guerrero, N. (2017).** Selección de aislamientos de *Trichoderma spp.* Para el control del cáncer bacteriano (*Clavibacter michiganensis subsp. Michiganensis*) del tomate (*Lycopersicon esculentum mill.*). Amazónica Ciencia y Tecnología Vol. 6 N°1 Pág. 9-20 [Fecha de acceso: Febrero 2018] Disponible en <http://revistas.proeditio.com/REVISTAMAZONICA/article/view/1898/1894>
20. **Guigón, C. González, P. (2004).** Selección de Cepas Nativas de *Trichoderma spp.* con Actividad Antagónica sobre *Phytophthora capsici*

Leonian y Promotoras de Crecimiento en el Cultivo de Chile (*Capsicum annuum* L.) Rev. Mex. de Fitopatología, vol. 22, N° 1 pp. 117-124 [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en <http://www.redalyc.org/service/redalyc/downloadPdf/612/61222115/1>

- 21. Hernández, M. Cervantes, Z. Villalobos, F. y García, L. (2011).** Aislamiento de hongos entomopatógenos en suelo y sobre gallinas ciegas (coleoptera: Melolonthidae) en agroecosistemas de maíz. Acta Zoológica Mex. (n.s.), 27(3): 591-599 [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/575/57521382007.pdf>
- 22. Huamani, C. Vilchez, K. (2013).** Identificación y efecto antagónico de *Trichoderma* sp. aislados de campos agrícolas del distrito de Ocucaje frente a *Fusarium* sp. en plántulas de algodón. Febrero - Julio 2013. Tesis: Título de Biólogo. Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica. Facultad de Ciencias. Escuela Académico profesional de Biología.
- 23. IMAGEJ. (2018).** Imagej bundled with 64-bit Java 1.8.0_112 [Fecha de acceso: Junio 2018] Disponible en: <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>
- 24. Indu, S. Pallavi, N. Shashikant, B. Yogita, R. Varsha, P. Sanjay, D. (2017),** Control biológico mejorado del mildiu pulverulento en viñedos mediante la integración de una cepa de *Trichoderma afroharzianum* con azufre. Biol. Control 114 pág. 133-143 [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/321812930_Corrigendum_to_Enhanced_biological_control_of_powdery_mildew_in_vineyards_by_integrating_a_strain_of_Trichoderma_afroharzianum_with_sulphur_Biol_Control_114_2017_133-143

25. **Infante, D. Martínez, B. González, N. y Reyes, Y. (2009).** Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Rev. Protección Veg.* Vol. 24 No. 1: 14-21 [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002
26. **Jaramillo, G. (2014).** Evaluación in vitro de la capacidad antagónica de *Trichoderma spp.* frente a *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.* y *Phytophthora sp.* Tesis: Título de Ingeniera Agrónoma, Universidad Zamorano. Honduras. [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/3474/1/CPA-2014-045.pdf>
27. **Manayay, C. Cordova, L. Garcia, J. y Vásquez, J. (2016).** Efecto antagónico de una cepa de *Trichoderma sp.* sobre *Fusarium sp.* En planta de tomate Río Grande (*Solanum lycopersicum*). UCV-HACER. Revista de Investigación y Cultura, vol. 5, núm. 1, 2016. [fecha de acceso: abril 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/jatsRepo/5217/521753139008/html/index.html>
28. **Memenza, M. (2009).** Control biológico in vitro de *Botrytis cinerea* (Pers) mediante el uso de hongos antagonistas, en vid (*Vitis vinifera*) Tesis: Título de Biólogo, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. [Fecha de acceso: Febrero 2018] Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/877/Memenza_zm.pdf?sequence=1
29. **Martínez, B. Infante, D. y Reyes, Y. (2013)** *Trichoderma spp.* y su función en el control de plagas en los cultivos. *Rev. Protección Veg.* Vol. 28 No. 1, pág. 1-11 [Fecha de acceso: Julio 2018] Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>

- 30. Merchán, J. Ferrucho, R. y Álvarez, J. (2014).** Efecto de dos cepas de *Trichoderma* en el control de *Botrytis cinerea* y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria sp.*) Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas - vol. 8 - no. 1 - pp. 44-56 [Fecha de acceso: Enero del 2018] Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v8n1/v8n1a05.pdf>
- 31. Miano, J. Bureau, E. Lannoy, M. y Rodríguez, M. (2014)** Manejo Integrado de Plagas en vid: camino de sostenibilidad económico-ambiental del sistema vitícola. 37th World Congress of Vine and Wine and 12th General Assembly of the OIV, 05005. [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/301392253_Manejo_integrado_de_plagas_en_vinedos_desafio_solo_para_amantes_de_la_sustentabilidad
- 32. Michel, A. Otero, M. Ariza, R. Barrios, A. Alarcón, N. (2013).** Eficiencia biológica de cepas nativas de *Trichoderma spp.*, en el control de *Sclerotium rolfsii Sacc.*, en cacahuate. Avances en Investigación Agropecuaria, vol. 17, núm. 3, pp. 89-107. [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83728497008>
- 33. Moyer, M. (2015).** Oídio de la uva para producción comercial en el este de Washington: Biología y manejo de la enfermedad. [Fecha de acceso: Mayo 2018] Disponible en: <http://cru.cahe.wsu.edu/CEPublications/EM058ES/EM058ES.pdf>
- 34. Nieto, C. (2013).** Evaluación comparativa de la actividad del *Trichoderma spp.*, con el biocatalizador microbiano para la descomposición de la materia orgánica en desechos sólidos domiciliarios, en la ciudad de Guayaquil. Tesis: Título de Ingeniero Ambiental [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/6949/1/Tesis%20-%20UG.pdf>

35. Pérez, E. Bernal, A. Milanés, P. Sierra, Y. Leiva, M. Marín, S. y Monteagudo, O. (2018). Eficiencia de *Trichoderma harzianum* (cepa a-34) y sus filtrados en el control de tres enfermedades fúngicas foliares en arroz. *Bioagro* 30(1): 17-26 [Fecha de acceso: Julio 2018] Disponible en: [http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev30\(1\)/2.%20ms%201713.pdf](http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev30(1)/2.%20ms%201713.pdf)
36. Reyes, Y. Martínez, B. y Infante, D. (2008). Evaluación de la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma spp.* sobre *Rhizoctonia sp.* *Rev. Protección Veg.* v.23 n.2 [Fecha de acceso: Julio 2018] Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522008000200008
37. Rini, C. y Sulochana, K. (2007). Usefulness of *Trichoderma* and *Pseudomonas* against *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* infecting tomato. *J. Trop. Agriculture*; 45(1-2):21-28. [Fecha de acceso: Agosto 2018] Disponible en: [file:///D:/users/Downloads/168-168-1-PB%20\(1\).pdf](file:///D:/users/Downloads/168-168-1-PB%20(1).pdf)
38. Rivera, T. Caján, J. (2015). Productos biológicos y químicos para el control de pudrición gris y acida en el cultivo de vid (*Vitis vinífera* L.) en condiciones de campo, Chongoyape 2015. *Rev. Inv. Cult.* Vol. N° 2 pág. 66-75 [Fecha de acceso: Julio 2018] Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6090812>
39. Rodríguez, I. Flores, J. (2018). Capacidad antagónica *in vitro* de *Trichoderma spp.* frente a *Rhizoctonia solani* Kuhn Y *Fusarium verticillioides* Nirenberg. *Bioagro* 30(1): 49-58. [Fecha de acceso: Julio 2018] Disponible en: [http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev30\(1\)/5.%20ms%201723.pdf](http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev30(1)/5.%20ms%201723.pdf)
40. Rodríguez, M. y Veneros, R. (2011). Control biológico de *Trichoderma harzianum* RIFAI sobre hongos patógenos de frutos postcosecha de *Carica*

papaya procedente de zonas de distribución del distrito Trujillo (Perú) REBIOL, 31 (2) [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en: <file:///D:/users/Downloads/Control%20Biol%C3%B3gico%20de%20Trichoderma%20harzianum.pdf>

41. **Sarah, G. (2017).** Characterisation of metrafenone and succinate dehydrogenase inhibitor resistant isolates of the grapevine powdery mildew *Erysiphe necator*. Tesis: Doctor en Ciencias. Universidad de Kaiserslautern. Alemania. [Fecha de acceso: Junio 2018] Disponible en: <https://kluedo.ub.uni-kl.de/frontdoor/index/index/docId/5123>
42. **Solano, I. (2017)** Identificación, selección y evaluación de la resistencia a oídio (*E. necator*) en plantas de vid (*Vitis vinifera*) portadoras de RUN1 y REN1. Título de Ingeniero en Biotecnología Molecular. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias. Santiago - Chile. [Fecha de acceso: Julio 2018] Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/146216>
43. **Suárez, L. y Cabrales, C. (2008).** Identificación de especies de cepas nativas de *Trichoderma sp.* y *Bacillus sp.* y evaluación de su potencial antagonista in vitro frente al hongo fitopatógeno nativo *Moniliophthora roreri* en el departamento de Norte de Santander. Respuestas, Vol. 13, N° 1 pp. 45-56 (12) [Fecha de acceso: Abril 2018] Disponible en: <https://www.ingentaconnect.com/content/doi/0122820x/2008/00000013/0000001/art00005>
44. **Torres, E. Iannacone, J. y Gomez, H. (2008).** Biocontrol del moho foliar del tomate *Cladosporium fulvum* empleando cuatro hongos antagonistas. Bragantia, Campinas, v.67, n.1, p.169-178 [Fecha de acceso: Febrero 2018] Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/brag/v67n1/a21v67n1.pdf>

- 45. Torres, S. (2012).** Efecto in vitro de especies nativas de *Trichoderma* sobre la germinación y crecimiento de *Colletotrichum* sp. aislado del distrito de Jaen- Cajamarca. Tesis: Título de Biólogo-Microbiólogo. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. [Fecha de acceso: Febrero 2018] Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2636>
- 46. Valdés, E. (2014)** Caracteres principales, ventajas y beneficios agrícolas que aporta el uso de *Trichoderma* como control biológico. Vol.2 No.1: 254 - 264, 2014 [Fecha de acceso: Mayo 2018] Disponible en: <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/40>
- 47. Vargas, R. (2014).** Antagonismo de *Trichoderma koningiopsis* y *Trichoderma harzianum* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cepae* y *Phoma terrestris* in vitro. Tesis: Título Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Perú. [Fecha de acceso: Enero 2018] Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3193/AGvaverh.pdf?sequence=1>
- 48. Vásquez, J. (2010).** Caracterización microbiológica y producción de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en cultivo artesanal. Tesis: Título de Microbiólogo Agrícola y Veterinario. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia. [Fecha de acceso: Julio 2018] disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co:8443/bitstream/handle/10554/8662/tesis615.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

IX. ANEXO



Fig. 7. Imagen satelital del CITE agroindustrial donde se realizó la investigación.

Tabla 11. Lugar de obtención y coordenadas de las cepas nativas de Trichoderma

ESPECIES Y CÓDIGO DE CEPA	LUGAR DE OBTENCIÓN	COORDENADAS
<i>T. harzianum</i> C1	Tinguiña-Santa Rosa- Tara	Latitud: -14.03308 S 14°1'59.07" Longitud: -75. 71571 w 75°42'56.55"
<i>T. harzianum</i> C2	Parcona- Orongo- Pacay	N° -14°3'59.172" w - 75°42'50.142"
<i>Trichoderma spp.</i> C3	Los Aquijes, Tate-Plátano	14°09'09.3"S 75°41'27.3"W -14.152592, -75.690908
<i>T. viride</i> C4	Tinguiña, Santa Rosa - Ciruelo	Latitud: -14.03439 S 14°2'3.798" Longitud: -75. 7159 w 75°42'56.178"
<i>T. harzianum</i> C5	Los Aquijes, Tate-Yuca	14°09'09.3"S 75°41'27.3"W -14.152592, -75.690908
<i>T. harzianum</i> C6	Santiago Waylas-Durazno	Latitud: -14.19278 S 14°11'34.01891" Longitud: -75.69256 w 75°41'33.22738"
<i>Trichoderma spp.</i> C7	Chincha alta -Guanábana	-13.426633697700517 - 76.11157621682648
<i>T. viride</i> C8	Santiago-Waylas-Ciruelo	Latitud: -14.19309 S 14°11'35.1415" Longitud: -75.69234 w 75°41'32.43872"
<i>T. harzianum</i> C9	Urb. Las piedras de buena vista - Grama	Latitud: -14.07211 S 14°4'19.57942" Longitud: -75.68402 w 75°41'2.45408"
<i>Trichoderma spp.</i> C10	Chincha Alta-Palta	-13.42636517733638 - 76.11135420077635
<i>T. harzianum</i> C11	Parcona-Orongo-Pecano	Latitud: -14.0667 S 14°4'0.126" Longitud: -75. 7141 w 75°42'50.742"
<i>T. harzianum</i> C12	Santiago-Waylas- Mango	Latitud: -14.19314 S 14°11'35.28956" Longitud: -75. 69296 w 75°41'34.66244"
<i>T. harzianum</i> C13	Urb. Las Piedras de Buena Vista-Álamo	Latitud: -14.07269 S 14°4'21.70118" Longitud: -75. 68218 w 75°40'55.83446"
<i>T. viride</i> C14	Santiago-Waylas-Limón	Latitud: -14.19234 S 14°11'32.41" Longitud: -75. 69118 w 75°41'28.24289"
<i>T. harzianum</i> C15	Santiago-Waylas-Limón	Latitud: -14.19234 S 14°11'32.41" Longitud: -75. 69118 w 75°41'28.24289"
<i>T. harzianum</i> C16	Ayacucho-Incuyo- Tantar	15°14'31.0"S 73°34'24.6"W -15.241939, -73.573496
<i>T. harzianum</i> C17	Ayacucho-Incuyo- Tuna	15°14'31.0"S 73°34'24.6"W -15.241939, -73.573497
<i>Trichoderma spp.</i> C18	Ayacucho-Incuyo- Eucalipto	15°14'31.0"S 73°34'24.6"W -15.241939, -73.573498
<i>T. harzianum</i> C19	Los Molinos-bocatoma- sp.	Latitud: -13.94204 S 13°56'31.362" Longitud: -75. 67748 w 75°40'38.934"
<i>T. viride</i> ct	CITEAgroindustrial	CITEAgroindustrial

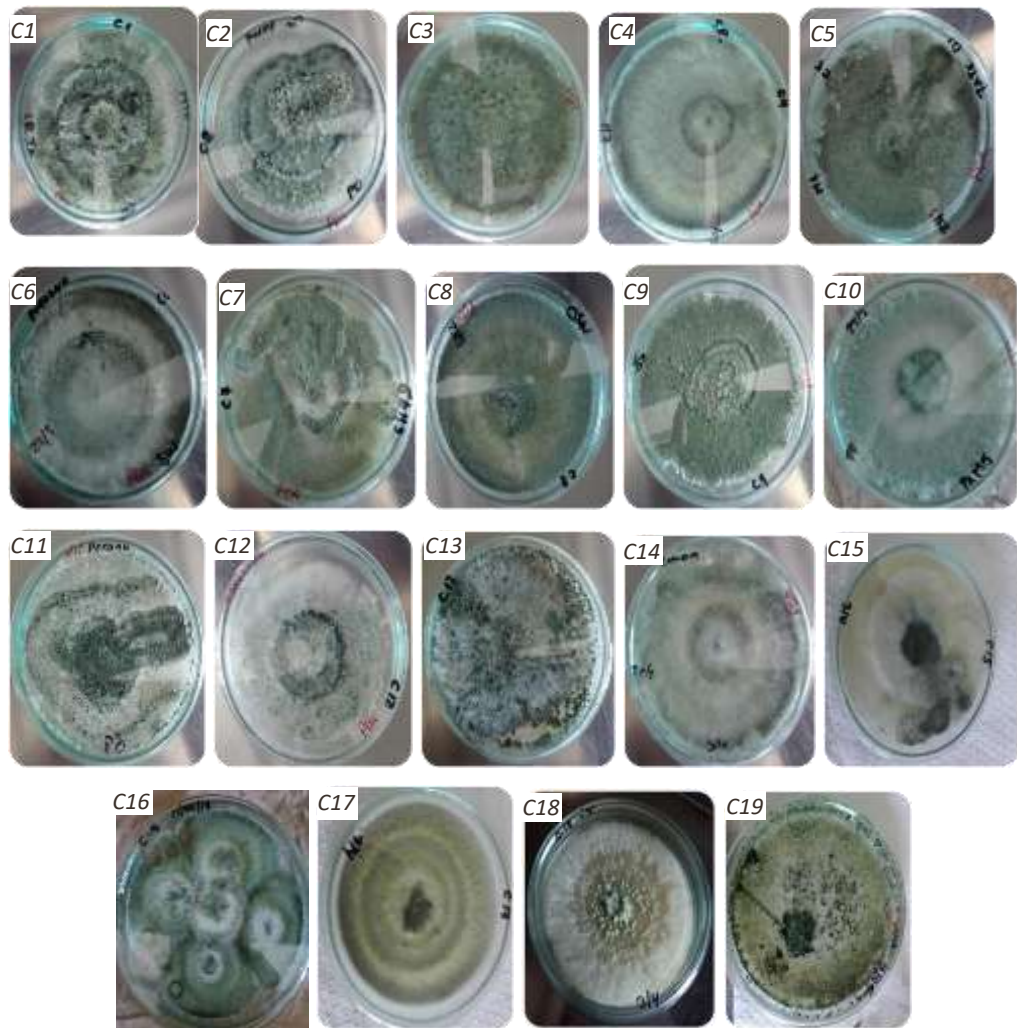


Fig.8. Vista Macroscópica de cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de suelos agrícolas en Enero y Marzo del 2018.

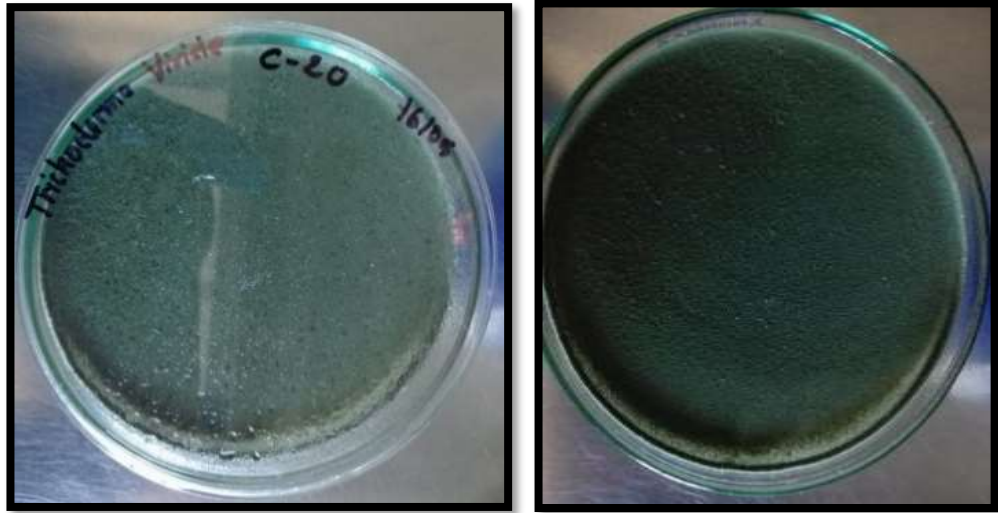


Fig.9. Vista macroscópica de *Trichoderma viride* obtenida del CITEagroindustrial



Fig.10. Aislamiento de *Trichoderma* con trampas de arroz.



Fig.11. Microcultivo para la identificación de las cepas de Trichoderma.



1. Desinfección de las muestras



2. Secado de las muestras



2. Colocar las muestras secas en placas con agar agua 1.2%



4. Llevar a incubar a 25°C con un fotoperiodo de 12 hrs y 75-78% de humedad relativa en una cámara de crecimiento (Fitotron) por 5-6 días.

Fig. 12. Esquema de aislamiento de *E. necator* "oidio"



Fig. 13. Vista de micelios de *Erysiphe necator* en el estereoscopio antes de la enfrentamiento dual.



Fig. 14. Vista de micelios de *Erysiphe necator* en el microscopio antes de la enfrentamiento dual.



Colonias de *Erysiphe necator*



Trichoderma sp



Método dual



Enfrentamientos
incubados en la cámara
de crecimiento.



Fig. 15. Esquema del método dual de *Trichoderma* frente a *Erysiphe necator*

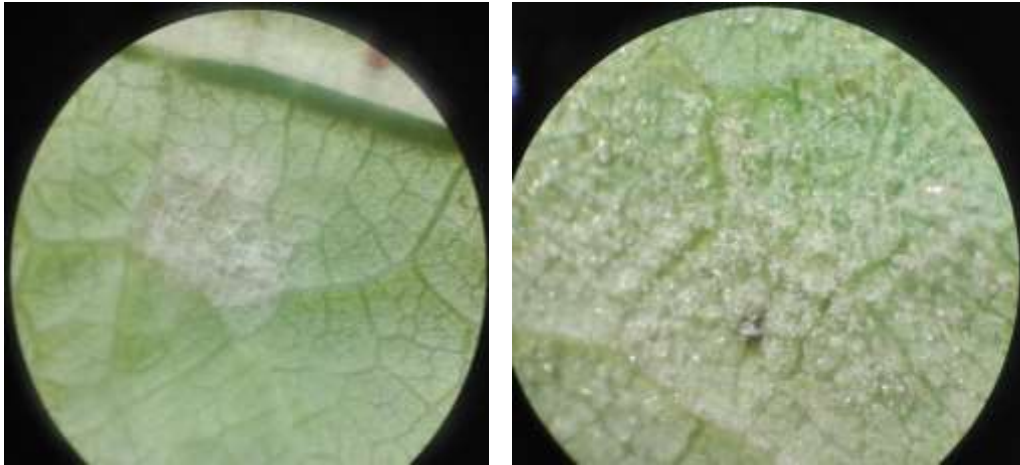


Fig. 16. Colonias de *Erysiphe necator* colapsadas vistas al estereoscopio al 100X izquierda y 400X a la derecha.

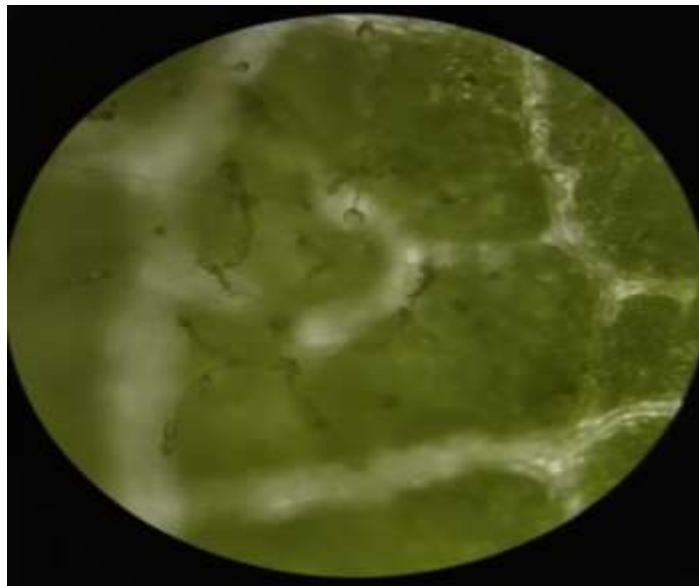


Fig. 17. Colonias de *Erysiphe necator* colapsadas vista al microscopio con un aumento de 400X.

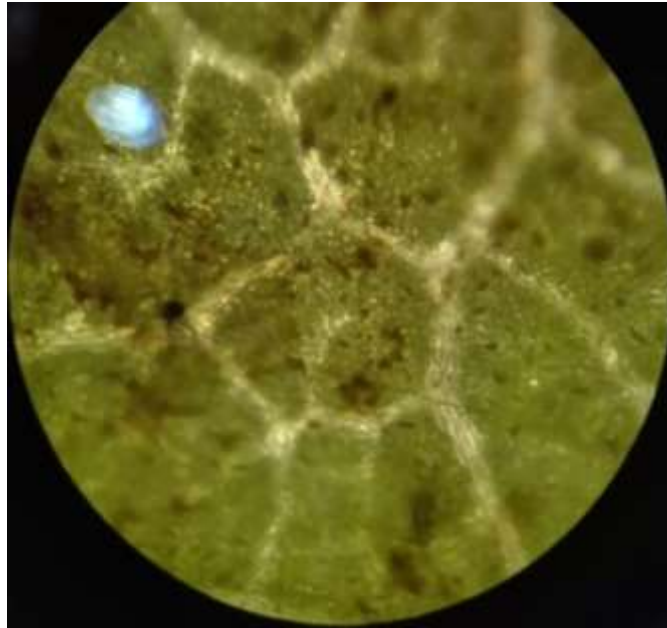


Fig. 18. Colonias de *Erysiphe necator* controlados vista al microscopio con un aumento de 400X.



Fig. 19. Calcado de las colonias de *Erysiphe necator* y el crecimiento micelial de *Trichoderma* en cada evaluación para hallar el área.

TABLA.12. Grado de escalas de capacidad antagónica

Indice de antagonismo	CAPACIDAD ANTAGONICA
0	Ninguna invasión del antagonista sobre la colonia de <i>Erysiphe necator</i>
1	Invasión de 25% del antagonista sobre la colonia de <i>Erysiphe necator</i> .
2	invasión de 50% del antagonista sobre la colonia de <i>Erysiphe necator</i>
3	invasión de 75% del antagonista sobre la colonia de <i>Erysiphe necator</i>
4	invasión de 100% del antagonista sobre la colonia de <i>Erysiphe necator</i>