UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAÑETE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

“Cepas de hongos endófitos para el control del “Pie Negro” ocasionado por *Dactylonectria* sp. y crecimiento vegetal de la vid a nivel de vivero”

TESIS

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR:

Jefferson Michael Rosas Martínez

ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9173-9078

ASESORA:

Dra. Betsabé Leon Ttacca

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4343-2431

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Investigación Aplicada

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Sanidad Vegetal

CAÑETE – PERÚ

2024

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAÑETE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

"Cepas de hongos endófitos para el control del "Pie Negro" ocasionado por *Dactylonectria* sp. y crecimiento vegetal de la vid a nivel de vivero"

TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR:

Jefferson Michael Rosas Martínez

APROBADA POR:

FIRMA DIGITAL
Firmado digitalmente por: ALVAREZ BERNAOLA LUIS ARMANDO FIR 21538312 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 16/03/2025 10:36:58-0500

. . . . . .
Dr. Luis Armando Álvarez Bernaola
Presidente

REPÚBLICA DEL PERÚ Firma Digital
Firmado digitalmente por: COAQUIRA INCACARI Roberto FAU 20491363402 soft
Motivo: En señal de conformidad
Fecha: 21/03/2025 14:17:38-0500

. . . . . .
Ph.D. Roberto Coaquira Incacari
Secretario

. . . . . .
Mg. Sc. Alexéi Armando Montero Ravel
Vocal

FIRMA DIGITAL
Firmado digitalmente por: MONTERO RAVELO Alexei Armando FAU 20491363402 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 06/02/2025 22:00:53-0500

FIRMA DIGITAL
Firmado digitalmente por: LEON TTACCA BETSABE FIR 41288646 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 06/02/2025 07:48:27-0500

. . . . . .
Dra. Betsabé León Ttacca
Asesora

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO

En la ciudad de San Luis, en el Auditorio del Pabellón de Usos Múltiples, siendo las 11:30 horas, del día 30 de diciembre del 2024, se reunió el Jurado Evaluador y el asesor, designados por DECRETO N.º058-2023-UI/FCA/UNDC.

Presidente : Dr. Luis Armando Álvarez Bernaola
Secretario : Ph.D. Roberto Coaquira Incacari
Vocal : Mg. Sc. Alexéi Armando Montero Ravelo
Asesora : Dra. Betsabé León Ttacca

Para el acto de sustentación de la tesis titulada: "Cepas de hongos endófitos para el control del "Pie Negro" ocasionado por *Dactylonectria sp.* y crecimiento vegetal de la vid a nivel de vivero", presentado por el Bachiller Jefferson Michael Rosas Matínez, para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo.

Después de concluido el acto de sustentación y luego de que el sustentante dio respuesta a las preguntas respectivas, el Jurado Evaluador calificó la sustentación o defensa de la investigación según los siguientes criterios, y promediando las notas del jurado se obtuvo:

Criterio	Desaprobado (menor de 14)	Regular (14 -15)	Bueno (16-17)	Muy bueno (18-19)	Excelente (20)	Puntaje
Claridad de la exposición			17			17
Dominio del tema			17			17
Visión holística del trabajo			17			17
Promedio						17

** Para el caso de sustentación de dos personas se debe incorporar dos cuadros, uno para cada uno.

Para obtener la nota final de todo el proceso de investigación, conforme al artículo 100º y 101º del Reglamento General de Investigación de la Universidad Nacional de Cañete aprobado mediante Resolución Nº 180-2023-UNDC/CO, se procedió a calcular la nota final:

Nota del Informe (valor 40%)	Nota de Sustentación (valor 60%)	Nota Final
18	17	17

(*) Cálculo: (Nota Informe * 0.40) + (Nota de Defensa * 0.60) = Nota final
Para el caso de dos sustentantes, se debe incluir una columna adicional a la izquierda y poner los nombres de cada uno de ellos, y calificar en forma individual.

Toda copia de este documento, sea del entorno virtual o del documento original en físico es considerada "copia no controlada"

Y, establece como calificación FINAL: ..17... (..Diecisiete....)

- Aprobado, con nota Regular (...), Bueno (X), Muy Bueno (...), Excelente (...)
- Desaprobado (...)

Por tanto, el graduado se encuentra expedito(s) (X), impedido(s) ( ) para realizar los trámites que corresponden a la obtención del Título Profesional de Ingeniero Agrónomo.

****Si fuera el caso, que de los dos sustentantes uno fuera aprobado y otro desaprobado, se tendrá que diferenciar quien queda expedito y quien impedido de seguir los trámites.**

Siendo las..12:45 Horas se dio por terminado el acto de sustentación.

Ph.D. Roberto Coaquira Incacari **Secretario**	Dr. Luis Armando Alvarez Bernaola **Presidente**	Mg. Sc. Alexéi Armando Montero Ravelo **Vocal**	Dra. Betsabé León Ttacca **Asesor**

Toda copia de este documento, sea del entorno virtual o del documento original en físico es considerada "copia no controlada"

VICEPRESIDENCIA DE INVESTIGACIÓN

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Código N°007-2024

CONSTANCIA DE VERIFICACIÓN DE SIMILITUD

Yo, **Betsabé León Ttacca**, Directora (e) de la Unidad de Investigación del informe titulado: **Cepas de hongos endófitos para el control del "Pie Negro" ocasionado por *Dactylonectria sp.* y crecimiento vegetal de la vid a nivel de vivero,** Cuyo autor es Jefferson Michael Rosas Martínez, identificado con DNI N°73107403, declaro que la evaluación realizada por el programa informático, ha constatado un **porcentaje de similitud del 6%**, verificable en el resumen de reporte automatizado de similitudes que se adjunta.

El suscrito analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas dentro del porcentaje de similitud no constituye plagio, y que el documento cumple con la integridad científica y con las normas para el uso de citas y referencias establecidas en los protocolos respectivos.

Se cumple con adjuntar, además, el recibo digital a efectos de la trazabilidad respectiva del proceso.

Cañete, 16 diciembre del 2024

Se adjunta:

- Resumen del reporte automatizado de similitudes
- Recibo Digital

VALIDADO POR:

FIRMA DIGITAL

Firmado digitalmente por: LEON TTACCA BETSABE FIR 41288646 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 17/12/2024 16:03:37-0500

Dra. BETSABÉ LEÓN TTACCA
Directora (e) de la Unidad de Investigación
Facultad de Ciencias Agrarias

Toda copia de este documento, sea del entorno virtual o del documento original en físico es considerada "copia no controlada"

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado

A Dios, porque en los momentos de duda y dificultad siempre encontré en Él la fuerza y la esperanza para seguir adelante. Su presencia en mi vida ha sido una guía constante y un refugio en este largo camino.

A mi abuelo, cuya memoria vive en cada uno de mis logros. Aunque ya no estás físicamente, tu amor, tus enseñanzas y tu ejemplo siguen iluminando mi camino. Este trabajo está dedicado a ti, con todo mi cariño y gratitud.

A mis padres, quienes con su amor, sacrificio y fe en mí me han mostrado que todo es posible. Son mi ejemplo de esfuerzo y perseverancia; este logro no sería realidad sin ustedes.

A mis docentes, por compartir su conocimiento, por su paciencia y por motivarme a dar siempre lo mejor de mí. Sus enseñanzas serán una base sólida para mi futuro.

A mis compañeros, por las risas, las largas jornadas de estudio y el apoyo mutuo. Juntos convertimos este proceso en una experiencia inolvidable.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por permitirme concluir mi carrera, este proyecto y las metas que tanto soñé alcanzar. Su guía y cuidado han sido mi refugio y mi fortaleza en cada paso, recordándome siempre que con fe todo es posible.

A mis padres, cuyo esfuerzo, amor y sacrificio han sido la base de este logro. Gracias por brindarme todas las facilidades para formarme y por estar siempre a mi lado, apoyándome incondicionalmente. Este logro también es suyo.

A la Dra. Betsabe Leon Ttacca por guiarme en cada etapa de este proyecto. Gracias por brindarme su tiempo, paciencia y dedicación en todo momento. Por proporcionarme las herramientas necesarias para llevar a cabo la investigación y por motivarme a seguir, incluso cuando el camino parecía desafiante.

Al Dr. Luis Armando Álvarez Bernaola, por siempre estar dispuesto a guiarme, compartir sus ideas y ayudarme a mejorar mi trabajo. Su colaboración fue esencial para llevar a cabo este proyecto de manera exitosa.

A la Universidad Nacional de Cañete, por brindarme los recursos, el conocimiento y las herramientas necesarias para mi formación académica y profesional.

Finalmente, a todos aquellos que, de una manera u otra, han formado parte de este proceso. Su compañía, palabras de aliento y apoyo han hecho de este camino una experiencia inolvidable.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA ..... **vi**

AGRADECIMIENTO ..... **vii**

ÍNDICE DE TABLAS ..... **xi**

ÍNDICE DE FIGURAS ..... **xiii**

ÍNDICE DE ANEXOS ..... **xv**

RESUMEN……..... **xvi**

ABSTRAC… ..... **xvii**

Capítulo I. Introducción **1**

Capítulo II. Marco Teórico **3**

2.1. Antecedentes del Problema 3

2.1.1. Antecedentes Nacionales 3

2.1.2. Antecedentes Internacionales 4

2.2. Bases Teóricas 4

2.2.1. Generalidades Sobre la Vid 5

2.2.2. Enfermedades de la Vid 8

2.2.3 Pie Negro de la Vid 9

2.2.4. Control del Pie Negro de la Vid (*Dactylonectria* sp.) 11

2.2.5. Hongos Endófitos 12

2.2.6. Mecanismos de acción de hongos endófitos 13

2.3. Glosario 15

2.3.1. Antagonista 15

2.3.2. Antibiosis 15

2.3.3. Cepa 15

2.3.4. Ciclo de la Enfermedad 15

2.3.5. Control Biológico 15

2.3.6. Hongo Endófito 16

2.3.7. In vitro 16
2.3.8. In vivo 16
2.3.9. Inoculación 16
2.3.10. Lesión 16
2.3.11. Metabolitos Secundarios en Hongos 16
2.3.12. Micoparasitismo 16
2.3.13. Patogenicidad 16
2.3.14. Portainjerto 16
2.3.15. Signo 16
2.3.16. Síntoma 17
Capítulo III. Materiales y Métodos 18
3.1. Definición de Variables 18
3.1.1. Variable Independiente 18
3.1.2. Variable Dependiente 18
3.2. Operacionalización de Variables 19
3.3 Tipo y Diseño de la Investigación 19
3.3.1. Tipo de la Investigación 19
3.3.2. Diseño de la Investigación 20
3.3.3. Ubicación y Descripción Geográfica 22
3.4 Población y muestra 22
3.4.1. Población 22
3.4.2. Muestra 22
3.5 Procedimiento De La Investigación 22
3.5.1. Identificación y Conservación de *Dactylonectria s*p 22
3.5.2. Prueba de patogenicidad 23
3.5.3. Reactivación de cepas endófitas 24
3.5.4. Ensayos In Vitro de Capacidad Antagónica. 27

3.5.5. Ensayos In Vivo de Control de Pie Negro de la Vid (*Vitis* sp.) y Promoción de Crecimiento 30

3.6. Análisis de Datos 37

Capítulo IV. Resultados y Discusiones 39

4.1. Resultados 39

4.1.1. Capacidad Antagónica de Cepas de Hongos Endófito Hacia *Dactylonectria sp*., Hongo de Madera de la Vid (*Vitis* sp.) (Exp 1-2). 39

4.1.2 Control de Pie Negro (*Dactylonectria* sp.) de la Vid (*Vitis* sp.) por Hongos Endófitos (Exp 3). 49

4.1.3. Efecto de los hongos endófitos en el crecimiento vegetativo de vid (*Vitis* sp.) (Exp 4) 51

4.2 Discusión 61

Capítulo V. Conclusiones 65

Capítulo VI. Recomendaciones 66

Capítulo VII. Referencias Bibliográficas 67

ANEXOS……. 75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. *Clasificación taxonómica de Vitis* sp **5**

Tabla 2. *Clasificación taxonómica de Dactylonectria* sp. **9**

Tabla 3. *Operacionalización de Variables* **19**

Tabla 4. *Lista de cepas de hongos endófitos empleados en la investigación* **25**

Tabla 5. Producción de esporas de hongos endófitos en sustrato solido de arroz (UFC/G de arroz)……...**31**

Tabla 6. *Datos meteorológicos durante los meses del ensayo en vivero.* **37**

Tabla 7. *Resultados de las Pruebas de Normalidad y Homogeneidad de Varianzas para las Variables Analizadas*..... **38**

Tabla 8. *Análisis de varianza de inhibición de crecimiento micelial de Dactylonectria* sp. *por cepas de hongos endófitos mediante el enfrentamiento dual.* **39**

Tabla 9. *Comparación de medias de colonización de Dactylonectria* sp. *por hongos endófitos……* **43**

Tabla 10. *Análisis de varianza de la inhibición de crecimiento micelial de Dactylonectria* sp. *por metabolitos secundarios de hongos endófitos* **46**

Tabla 11. *Análisis de varianza para evaluar el efecto de cepas de hongos endófitos en el contenido relativo de agua en raíces de plantas inoculadas con Dactylonectria* sp..... **49**

Tabla 12. *Comparación de medias y categorización de los tratamientos en función del contenido relativo de agua en raíces (CRA)*..... **50**

Tabla 13. *Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el tamaño de brote de la vid (Vitis* sp.*)* **51**

Tabla 14. *Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el diámetro de brote de la vid (Vitis sp.)*..... **52**

Tabla 15. *Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en cantidad de hojas de la vid (Vitis* sp.*)* **54**

Tabla 16. *Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el tamaño de raíz de la vid (Vitis* sp.*)* **54**

Tabla 17. *Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el peso de biomasa aérea fresca de la vid* (*Vitis* sp.)..... **56**

Tabla 18. *Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el peso de biomasa aérea seca de la vid* (*Vitis* sp.) **57**

Tabla 19. *Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el peso de biomasa radicular fresca de la vid* (*Vitis* sp.).....**58**

Tabla 20. *Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el peso de biomasa radicular seca de la vid* (*Vitis* sp.) **60**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. *Estructura de Dactylonectria* sp. **10**

Figura 2. *Signo de pie negro de la vid* **10**

Figura 3. *Sintomatología de especies asociadas al pie negro de la vid* **11**

Figura 4. *Efecto de inoculación de hongos endófitos en las plantas* **13**

Figura 5. *Mecanismos de los hongos endófitos para el control de patógeno* **15**

Figura 6. *Aleatorización de los tratamientos del objetivo específico1* **21**

Figura 7. *Aleatorización de los tratamientos del objetivo específico 2* **21**

Figura 8. *Aleatorización de los tratamientos del objetivo específico 3* **21**

Figura 9. *Identificación y Conservación de Dactylonectria* sp **23**

Figura 10. *Prueba de patogenicidad de Dactylonectria* sp. *en plantas de vid (Vitis* sp.) ... **24**

Figura 11. *Cepas de hongos endófitos* **26**

Figura 12. *Antibiosis y micoparasitismo mediante enfrentamiento dual de cepas hongos endófitos hacia Dactylonectria* sp. **28**

Figura 13. *Antibiosis de metabolitos secundarios de cepas de hongos endófitos hacia Dactylonectria* sp. **29**

Figura 14. *Producción de hongos endófitos en sustrato de arroz* **31**

Figura 15. *Instalación de invernadero y plantas* **32**

Figura 16. *Inoculación de hongos endófito*s. **33**

Figura 17. *Aplicación de Dactylonectria* sp. *en sustrato de arroz* **34**

Figura 18. *Evaluación de plantas para OE2 Y OE3* **36**

Figura 19. *Comparación de medias inhibición de crecimiento micelial de Dactylonectria* sp. *por cepas de hongos endófitos mediante el enfrentamiento dual* **40**

Figura 20. *Enfrentamiento dual de cepas de hongos endófitos frente a Dactylonectria* sp……. **41**

Figura 21. *Colonización de Dactylonectria* sp. *por Cepas de Hongos Endófitos* **44**

Figura 22. *Comparación de medias inhibición de crecimiento micelial de Dactylonectria* sp. *por metabolitos secundarios de cepas de hongos endófitos* **47**

Figura 23. *Efecto de metabolitos de hongos endófitos hacia Dactylonectria* sp **48**

Figura 24. *Comparación de medias de contenido relativo de agua en raíces de vid entre los tratamientos y testigos* **50**

Figura 25. *Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el crecimiento de brote de la vid (Vitis* sp.*)* **52**

Figura 26. *Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el diámetro de brote de la vid (Vitis* sp.*)* **53**

Figura 27. *Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el tamaño de raíz de la vid (Vitis* sp.*)* **55**

Figura 28. *Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el peso de biomasa aérea fresco de la vid (Vitis* sp.*)* **57**

Figura 29. *Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el peso de biomasa aérea seca de la vid (Vitis* sp.*)* **58**

Figura 30. *Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el peso de biomasa radicular fresca de la vid (Vitis* sp.*)* **59**

Figura 31. *Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el peso de biomasa radicular seca de la vid (Vitis* sp.*)* **60**

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. *Matriz de consistencia* **75**

Anexo 2. *Ubicación del proyecto de investigación* **76**

Anexo 3. *Datos de ensayos in vitro de control de Dactylonectria* sp. *por cepas de hongos endófitos…….* **77**

Anexo 4. *Datos de ensayo de control de pie negro de la vida por hongos endófitos* **81**

Anexo 5. *Datos del efecto de hongos endófitos como promotor de crecimiento en plantas de vid (Vitis* sp.*)* **84**

Anexo 6. *Registro de temperatura y humedad relativa del invernadero donde se desarrollo el OE2 y OE3* **86**

Anexo 7. *Prueba de patogenicidad* **89**

Anexo 8. *Selección y reactivación de cepas de hongos endófitos.* **89**

Anexo 9. *Metabolitos secundarios de hongos endófitos* **90**

Anexo 10. *Evaluación de ensayos* **90**

Anexo 11. *Cepas de hongos endófitos en sustrato de arroz* **91**

Anexo 12. *Inicio de desarrollo de plantas de vid, luego de 7 días después de inoculación de hongos endófitos* **91**

Anexo 13. *Desarrollo de plantas de vid, luego de 31 días después de la inoculación de hongos endófitos* **92**

Anexo 14. *Plantas de vid, luego de 2 meses de la inoculación de Dactylonectria* sp. **92**

Anexo 15. *Desarrollo de plantas de vid con hongos endófitos* **93**

Anexo 16. *Evaluación de CRA y parámetros de promotor de crecimiento* **94**

Anexo 17. *Siembra de fragmento de cuello de tallo de plantas de vid.* **94**

Anexo 18. *Prueba de similitud* **95**

RESUMEN

El "pie negro" es una enfermedad que afecta severamente el desarrollo de la vid (*Vitis* sp.), causando importantes pérdidas económicas en la industria vitícola. Frente a esta problemática, los hongos endófitos emergen como una alternativa sostenible al uso de fungicidas químicos. Esta investigación evaluó el efecto de cepas de hongos endófitos (HE) en el control de *Dactylonectria* sp., agente causal del "pie negro," y en la promoción del crecimiento de plantas de vid en vivero. Se llevaron a cabo cuatro experimentos bajo un diseño completamente al azar (DCA) en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional de Cañete y en un vivero ubicado en Chincha. En los experimentos in vitro (1 y 2), se emplearon 41 tratamientos (cepas de HE) para analizar la inhibición del crecimiento micelial del patógeno y colonización de los HE sobre el patógeno mediante cultivos duales e inhibición de crecimiento en medios envenenados con metabolitos secundarios. A nivel de vivero (experimentos 3 y 4), se evaluaron 14 tratamientos (cepas de HE) para determinar el contenido relativo de agua (CRA) en las raíces de plantas inoculadas con el patógeno y hongos endófitos, así como parámetros morfológicos relacionados con la promoción del crecimiento vegetal (PGP). Entre los resultados destacados, *Trichoderma asperelloides* fue la cepa más eficaz en la inhibición del crecimiento del patógeno (79.99 %) y colonización (86.67 %). Además, los metabolitos secundarios de *Cladosporium halotolerans* y *Aspergillus niger* (HEAT-117 y HEAT-111) lograron inhibiciones superiores al 94 %. En vivero, *T. inhamatum* y *T. asperelloides* mostraron los mayores valores de CRA, con 91.22 % y 88.76 %, respectivamente. En cuanto a PGP, *A. niger* (HEAT-117) promovió el mayor crecimiento de brotes (23.99 cm), diámetro de tallo (4.28 mm) y biomasa aérea (7.32 g fresca y 2.08 g seca). Por su parte, *T. asperelloides* destacó en crecimiento radicular (15.14 cm) y biomasa radicular fresca (10.16 g), mientras que *T. asperellum* (HERV-02) registró el mayor peso radicular seco (3.09 g).

Estas cepas de hongos endófitos, en especial *T. asperelloides*, *T. inhamatum*, *C. halotolerans* y *A. niger*, demostraron su potencial para el manejo integrado de cultivos. Ofrecen soluciones sostenibles para el control del "pie negro" y la promoción del crecimiento de la vid en viveros, reduciendo la necesidad de fungicidas químicos y mejorando el rendimiento de las plantas.

Palabras claves: Hongos endófitos, pie negro de la vid, promoción de crecimiento vegetal, contenido relativo de agua, control biológico, metabolitos secundarios.

ABSTRAC

Blackleg is a disease that severely affects the development of grapevine (*Vitis* sp.), causing important economic losses in the wine industry. In response to this problem, endophytic fungi emerge as a sustainable alternative to the use of chemical fungicides. This research evaluated the effect of endophytic fungi (HE) strains in the control of *Dactylonectria* sp., the causal agent of "blackleg", and in the growth promotion of grapevine plants in nurseries. Four experiments were carried out under a completely randomized design (CRD) in the Plant Health Laboratory of the National University of Cañete and in a nursery located in Chincha In the in vitro experiments (1 and 2), 41 treatments (HE strains) were used to analyze mycelial growth inhibition of the pathogen and colonization of HE on the pathogen by dual cultures and growth inhibition in media poisoned with secondary metabolites. At the nursery level (experiments 3 and 4), 14 treatments (HE strains) were evaluated to determine the relative water content (RWC) in the roots of plants inoculated with the pathogen and endophytic fungi, as well as morphological parameters related to plant growth promotion (PGP). Among the outstanding results, *Trichoderma asperelloides* was the most effective strain in inhibiting pathogen growth (79.99 %) and colonization (86.67 %). In addition, secondary metabolites of *Cladosporium halotolerans* and *Aspergillus niger* (HEAT-117 and HEAT-111) achieved inhibitions higher than 94 %. In nursery, *T. inhamatum* and *T. asperelloides* showed the highest CRA values, with 91.22 % and 88.76 %, respectively. As for PGP, *A. niger* (HEAT-117) promoted the highest shoot growth (23.99 cm), stem diameter (4.28 mm) and aerial biomass (7.32 g fresh and 2.08 g dry). On the other hand, *T. asperelloides* stood out in root growth (15.14 cm) and fresh root biomass (10.16 g), while *T. asperellum* (HERV-02) recorded the highest dry root weight (3.09 g).

These endophytic fungal strains, especially *T. asperelloides*, *T. inhamatum*, *C. halotolerans* and *A. niger*, demonstrated their potential for integrated crop management. They offer sustainable solutions for blackleg control and vine growth promotion in nurseries, reducing the need for chemical fungicides and improving plant performance.

Key words: Endophytic fungi, grapevine blackleg, plant growth promotion, relative water content, biological control, secondary metabolites

Capítulo I

Introducción

El cultivo de la vid en Perú se ha consolidado como uno de los principales productos frutales de exportación, abasteciendo a los principales mercados exigentes como Estados Unidos, Países Bajos y México, así como a mercados emergentes como Ecuador y Japón. Con aproximadamente 22,343 hectáreas dedicadas a este cultivo, el país se ha posicionado como el principal exportador de uva. Sin embargo, en la campaña 2023/2024, las exportaciones disminuyeron cerca del 10% en comparación con la campaña anterior, debido a los problemas climáticos que afectaron la zona norte del país (León, 2024).

La gran extensión y diversificación del cultivo de la vid lo convierten en una actividad agrícola muy prometedora. Sin embargo, las plantaciones jóvenes se ven amenazadas por enfermedades vasculares causadas por hongos de madera. Este grupo de patógenos fúngicos ha tomado relevancia en los problemas fitosanitarios que afectan los viñedos en la actualidad, siendo considerado por algunos autores como la “filoxera del siglo XXI”, el aumento de la incidencia de estos patógenos en los viñedos jóvenes está relacionado con el mal estado.

El pie negro de la vid es una de las enfermedades más destructivas en los viñedos, caracterizándose por causar necrosis en la base del patrón, lo que afecta severamente el sistema radicular y limita el crecimiento de las raíces. Esto, a su vez, reduce el desarrollo de las plantas jóvenes y eleva los costos de producción (Silla, 2019).

El uso de fungicidas, que es el método convencional de control, ha demostrado ser insuficiente para enfrentar esta enfermedad de manera efectiva a largo plazo. Además, su aplicación presenta riesgos ambientales, lo que hace necesario explorar alternativas más sostenibles. En este contexto, el control biológico emerge como una opción viable dentro de un manejo integrado de plagas, ya que no depende de las condiciones climáticas ni tiene el impacto negativo de los productos químicos. Los hongos endófitos, en particular, se destacan por su capacidad para formar relaciones simbióticas con las plantas, lo que les permite adaptarse a condiciones adversas y generar metabolitos secundarios que inhiben el crecimiento de patógenos sin afectar al entorno(Abello y Kelemu, 2007).

Es por ello que el trabajo de investigación tuvo los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar el efecto de cepas de hongos endófitos en el control de *Dactylonectria* sp agente causal del “pie negro” y en el crecimiento vegetal de la vid a nivel de vivero.

Objetivos específicos

OE1 Evaluar la capacidad antagónica de hongos endófitos para el control de *Dactylonectria* sp *In vitro.*

OE2 Evaluar el efecto de hongos endófitos antagónicos para control del pie negro de la vid (*Dactylonectria* sp*)* a nivel de vivero.

OE3 Evaluar el efecto de cepas de hongos endófitos antagónicos en el crecimiento vegetativo de la vid a nivel de vivero

Capitulo II

Marco Teórico

2.1. Antecedentes del Problema

2.1.1. Antecedentes Nacionales

Morales *et al.* (2022) evaluaron el potencial de microorganismos endófitos nativos procedentes de la raíz y rizosfera, como agentes de biocontrol in vitro contra *Lasiodiplodia theobromae, Campylocarpon pseudofasciculare* y *Phaeoacremonium parasiticum*, trabajando con 7 cepas endófitas de *Trichoderma* spp. Los mecanismos de antagonismo fueron: la "competencia por sustrato" (CS) con la escala de Bell y antibiosis por el porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC). Con respecto al CS para *L. theobromae*, las cepas de *Trichoderma* spp. (Tr-1 y Tr-7), según la escala, mostraron antagonismo clase 1, cubriendo por completo al patógeno. Las demás cepas fueron clase 2, ocupando solo los 2/3 de la placa Petri. Mientras que para *C. pseudofasciculare* y *P. parasiticum*, todas las cepas fueron clasificadas como clase 1. Por otro lado, con respecto a la antibiosis para *L. theobromae*, el PCI fue de 37.8–57.7 %, para el patógeno *C. pseudofasciculare* el PCI fue de 75.6–84.6 %, y para *P. parasiticum* el PCI fue de 71.4–85.7 %. Concluimos que las cepas endófitas empleadas demostraron control in vitro frente a los patógenos, resaltando la cepa Tr-5 con el mejor promedio.

Suárez y Varas (2022) determinaron el efecto in vitro de *Trichoderma viride*, *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma asperellum* sobre la germinación y el crecimiento de *Cylindrocarpon* sp. mediante la técnica de cultivo dual en medio agar Sabouraud, también realizando observaciones microscópicas del micoparasitismo de las cepas de *Trichoderma* sobre *Cylindrocarpon* sp., evaluando según la escala de Bell. Concluyeron que *T. viride* causa un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Cylindrocarpon* sp. Las cepas *T. asperellum* y *T. atroviride* presentaron antagonismo tipo 2 y 3.

Yactayo (2021) determinó la capacidad antagónica de cepas de hongos endófitos (HE) hacia *B. cinerea*, realizando las pruebas de micoparasitismo y antibiosis con un total de 20 cepas de HE extraídas de plantas de arándano. Con respecto a la primera prueba, las cepas de los géneros *Trichoderma* (1, 91, 93 y 94), *Fusarium* (78 y 106), *Cladosporium* (41) y *Lasiodiplodia* (49) llegaron a colonizar un 100 % al patógeno *Botrytis cinerea*, considerándose como micoparásitos agresivos. Mientras que para la prueba de antibiosis, se extrajeron metabolitos secundarios de las cepas de HE, en donde se evaluó el porcentaje de inhibición del

crecimiento micelial del patógeno. El mejor resultado lo tuvo la cepa 111 del género *Aspergillus*, que inhibió un 100 %, seguida del género *Nigrospora* (58) con un porcentaje de 89.82 %.

2.1.2. Antecedentes Internacionales

Muñoz (2021) evaluó la capacidad antagonista de hongos endófitos de lima Tahití frente al fitopatógeno *Colletotrichum acutatum* C-100 en pruebas duales e in vivo. Con respecto a las pruebas duales, se seleccionaron 5 morfoespecies, de las cuales solo 2 hongos, HELT-10 y HELT-13, demostraron significativa inhibición micelial. Estas mismas cepas fueron puestas a prueba de antibiosis en flores de lima, donde se logró confirmar que estas cepas de hongos endófitos lograron controlar la antracnosis inducida por *C. acutatum* en pétalos de flores de lima Tahití. Se concluye que la capacidad antagónica de estas cepas frente a *C. acutatum* está relacionada con la producción de metabolitos secundarios y mecanismos de competencia demostrados en las dos pruebas, lo cual sería una alternativa de control frente a esta enfermedad.

Guzmán *et al.* (2020) evaluaron la interacción entre una *Trichoderma* sp. T154, aislado de vid, y *Phaeoacremonium mínimum* en condiciones in vitro e in planta. Se realizó un ensayo dual de confrontación con algunas modificaciones, primero se colocó el disco del patógeno y luego de 14 días se agregó el disco del *Trichoderma* a una distancia de 5 cm, utilizando el microscopio CSLM se observó que el *Trichoderma* sp. *T154* fue capaz de colonizar toda la placa de Petri y exhibió una alta capacidad para sobrecrecer el patógeno. con respecto a la interacción en planta se consiguieron plantas latentes de un año de edad, las cuales fueron puestas en cámara fitotrónica, luego que la planta desarrollo al menos 6 hojas completamente desarrolladas, se realizó la inoculación en un daño realizado en el entrenudo, para luego cubrir y seguir manteniendo en cámara fitotrónica, luego de 6 semanas se evaluó la interacción en donde *Trichoderma* sp. T154 exhibió un buen desarrollo en planta, lo que al principio resultó en el hallazgo de una alta proporción de hifas y esporas, todas ellas se encontraron en grupos en el interior de los tejidos, las hifas mayormente. Sin embargo, después de 12 semanas, la cepa de *Trichoderma* se encontró en tasa muy bajas, por lo que se interpretaría una capacidad endofítica deficiente dentro de la planta o una falta de desarrollo óptimo de la planta por deficiencias, Por lo tanto, se requieren más estudios para seguir con este tipo de investigación.

Redondo (2019) evaluó la capacidad de biocontrol de una cepa *Trichoderma atroviride* para el control de 5 especies de la familia *Botryosphaeriaceae* en pruebas in vitro, empleando

la metodología de cultivos duales, en donde se valoró el índice de antagonismo y la interacción del hongo antagonista y el patógeno, según la escala de Badalyan. El resultado fue que *T. atroviride* produjo un índice de antagonismo de 43.9 – 60.7 %, mientras que todas las interacciones en los enfrentamientos de *T. atroviride* sobre las 5 especies de la familia *Botryosphaeriaceae* fueron valoradas como CA2 (reemplazo total tras haber entrado en contacto). En pruebas in vivo, se realizaron ensayos de biocontrol en sarmientos (inoculación en varetas) y plantas (inoculación a 4 cm desde el injerto), donde se emplearon 2 metodologías (método curativo y método preventivo), evaluando la necrosis vascular. Las lesiones producidas por los patógenos en las varetas oscilaron entre los 13.5 y 4.6 mm. La aplicación de *Trichoderma* para el biocontrol en sarmientos redujo la longitud de las lesiones en un 32.5 % como método curativo, mientras que como método preventivo redujo las lesiones un 92.4 %. En el biocontrol en plantas, *T. atroviride* redujo las lesiones de los patógenos en una media de 44.3 % con respecto al método curativo y, en el método preventivo, se redujeron las lesiones un 79.6 %. Concluyendo que la aplicación de *T. atroviride* tiene un efecto significativo en la capacidad de biocontrol frente a 5 especies de la familia *Botryosphaeriaceae*2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Generalidades Sobre la Vid

2.2.1.1. Taxonomía. Lyndad (2018) nos menciona que el cultivo de la vid recibe la siguiente clasificación:

Tabla 1.

Clasificación taxonómica de Vitis sp.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Vitales
Familia	Vitaceae
Sub familia	Vitoideae
Género	Vitis
Especie	*Vitis* sp. L

Nota. Extraído de Lyndad (2018).

2.2.1.2. Origen y Distribución. La vid es considerada originaria del Cáucaso y Asia occidental, se cree que durante la Edad Terciaria ya existían vides silvestres, siendo en el periodo Paleolítico donde estas ya eran cosechadas. Durante el Neolítico (6000 años a. C.) se originó el desarrollo del cultivo de la vid en Asia Menor y Oriente Próximo. Con el transcurso de los años se fueron realizando selecciones de especies con mejores frutos, llegando a las especies que actualmente se desarrollan con frutos de mayor tamaño. Los antiguos egipcios ya conocían de este cultivo, pero fueron los griegos y romanos quienes lo expandieron por toda Europa y desarrollaron en mayor escala la viticultura. Siendo los españoles quienes en la colonización la llevaron a América del norte (Anuario FAO, 2020).

2.2.1.3. Propagación. El cultivo de la vid puede ser propagado de forma sexual y asexual, la sexual mediante semilla botánica es un proceso que comúnmente se realiza con la finalidad de hacer cruzas y mejoramiento de características, siendo de mucho interés y practicado por los genetistas y mejoradores, la propagación asexual es la comúnmente usada para la comercialización de plantas, es una técnica simple contada por estaca e injerto, que generan plantas productivas en corto tiempo y homogéneas (Cuya, 2013).

2.2.1.4. Descripción Morfológica de la Planta. La planta de vid está conformada por el patrón o portainjerto *(Vitis* sp.*)* del grupo americano, en su mayoría y por la parte aérea (*V. vinífera L*.), denominada púa o variedad, la unión entre ambas zonas se realiza a través del punto de injerto. El conjunto comúnmente se conoce con el nombre de cepa (Martínez, 1991).

Picornell y Melero (2012) describe a la vid morfológicamente de la siguiente forma:

Raíz: caracterizado por ser denso y de acelerado crecimiento, beneficiando el anclaje y la absorción de minerales y agua, también funciona como un órgano de acumulación de reservas para asegurar la brotación después del reposo.

Tallo: se encarga de la conducción de sustancias fotosintetizadas disueltas de agua elementos minerales, de aspecto agrietado y retorcido, normalmente se encuentra definido por el sistema de formación.

Brazos: encargados de sobre llevar la forma de distribución foliar y fructífera, encargados de conducir los nutrientes.

Sarmiento: brote surgente originario de una yema, que darán origen a las futuras hojas, zarcillos e inflorescencias.

Hojas: sobrellevan la respiración, transpiración y fotosíntesis de la planta, son simples, alternas, dísticas con ángulo de 180°, conformadas por un peciolo y un ensanchamiento en la lámina.

Yemas: conformación de grupo de escamas que protegen los primordios de brotación, que aseguran el crecimiento y formarán las futuras hojas o futuro pámpano, suelen ser de color pardo.

Zarcillo: es considera como hoja o tallo modificado, de estructura delgada que se adhiere enrollándose y benefician el sostén.

Flores: caracterizadas por ser de color verde, presenta una inflorescencia de racimo, miden aproximadamente 2mm y son hermafroditas.

Baya: su color depende de la variedad al igual que su contenido de semilla, de forma circular constituida por una pulpa de sabor dulce, película exterior y hollejo

Semilla: de testa dura es el órgano encargado de hacer perdurar la especie, en la actual hay variedades que no la poseen, es originario de los óvulos de la flor después de la fecundación.

2.2.1.5. Requerimientos Ambientales. la vid suele adaptarse a diferentes climas siendo de su preferencia los climas tropicales y subtropicales, con temperatura que oscilen de 7 a 25 ° C y humedad relativa de 70% u 80%, se acomoda a gran diversidad de suelos teniendo por preferencia los suelos sueltos y profundos, de textura franco-arcillosos, con presencia de materia orgánica de 1,5-2,5%, su rango de pH optimo es de 5.6 a 7.7. La cantidad de riegos y el volumen de agua a emplear por riego dependerá, de la capacidad de retención de agua del suelo, las condiciones climáticas, el estado vegetativo de las plantas y de las variedades (MIDAGRI, 2018).

2.2.1.6. Importancia de la Vid en el Perú.

Durante la campaña 2023/2024 de uva de mesa, las exportaciones registraron una disminución del 12% en volumen en comparación con la campaña previa y un 3.5% menos respecto a la campaña 2021. Esta reducción se debió a fenómenos climatológicos adversos en la región norte del país, particularmente en Piura, Lambayeque, La Libertad y Áncash, donde las altas temperaturas y las lluvias intensas provocaron un estrés significativo en las plantas, reduciendo la producción en un 30% con respecto a la campaña anterior, mientras que la zona sur presentó un crecimiento del 6%(León, 2024).

Los principales destinos de exportación fueron Estados Unidos, que recibió aproximadamente el 46% del total, seguido por Países Bajos con un 12%, México con un 9% y China con un 8%. En cuanto a las variedades exportadas, el 54% correspondió a uva blanca sin semillas (*Sweet Globe*, *Autumn Crisp*), seguido de uvas rojas sin semillas con el 25% del total. A pesar de la disminución en el volumen de exportación, el precio promedio de la uva de mesa aumentó un 16%(FLUCTUANTE, 2024).

La Asociación de Productores de Uva de Mesa del Perú (Provid) estima una notable recuperación en la producción de uva para la campaña 2024/2025, tras el impacto de las alteraciones climáticas en la temporada anterior. Se proyecta que Perú exportará 78.7 millones de cajas de 8.2 kilos cada una, lo que supone un aumento del 25.4% en comparación con los 62.7 millones de cajas exportadas durante la campaña 2023/2024 (Ortiz, 2024).

2.2.2. Enfermedades de la Vid

Como todo cultivo, la vid está propensa a enfermedades. Entre los principales patógenos que afectan este cultivo se encuentran: *Plasmopara viticola*, *Uncinula necator*, *Botrytis cinerea* y otros patógenos que causan daños en las bayas, poniendo en riesgo la calidad del producto. Existe otro grupo de hongos considerados hongos de madera, donde encontramos distintos patógenos como: *Eutypa lata*, *Phaeoacremonium* sp., *Dactylonectria* sp. y otros causantes de diversas enfermedades, caracterizadas por producir la obstrucción de los vasos de la madera de la planta. Se distinguen por su presencia en diferentes tiempos y etapas de la planta; sin embargo, todas afectan el desarrollo de la planta, provocando un crecimiento retardado o incluso la muerte. (Gonzáles, 2019).

2.2.3 Pie Negro de la Vid

2.2.3.1. Taxonomía. (Cabral y Crous, 2012) menciona que la clasificación de *Dactylonectria sp* es:

Tabla 2.

Clasificación taxonómica de Dactylonectria sp.

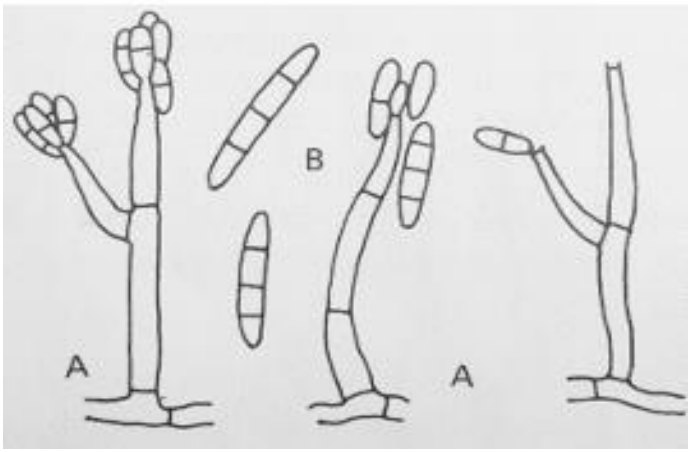
Reino	Fungí
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hipocreales
Familia	Nectriaceae
Género	Dactylonectria
Especie	*Dactylonectria* sp

Nota. Extraído de Cabral y Crous (2012).

2.2.3.2. Morfología del Patógeno. El género *Dactylonectria* se caracteriza por tener conidióforos simples que surgen lateral o terminalmente del micelio aéreo, solitarios o poco agregados, no ramificados o escasamente ramificados, septados, con hasta tres fiálides. *Macro conidios* cilíndricos, hialinos, de rectos a ligeramente curvados, de 1 a 4 septados, ápice o célula apical típicamente ligeramente inclinada hacia un lado y minúsculamente picuda, base con hilio visible, ubicado en el centro o desplazado lateralmente. *Microconidios* elipsoides a ovoides, hialinos, rectos, aseptados a 1-septados, con un hilio diminuto o claramente desplazado lateralmente. *Las clamidosporas* rara vez se forman, de globosas a subglobosas, lisas, pero a menudo parecen ásperas debido a los depósitos, de paredes gruesas, que se presentan principalmente en cadenas (Lombard *et al.*, 2015).

Figura 1.

Estructura de Dactylonectria sp.



Nota. (A) Conidióforos con conidios unidos, (B) conidios, tomado de Barnett y Hunter (1972).

2.2.3.4. Signo. El pie negro daña principalmente el sistema radicular y base del patrón en plantas jóvenes, generado el daño en raíces, se logra observar lesiones oscuras, necróticas y deprimidas. Algo similar a lo observado en la parte basal del portainjerto que de igual forma se observan coloraciones oscuras y necróticas, las cuales son el origen del nombre de la enfermedad denominada “pie negro de la vid” (Agustí *et al*., 2013).

Figura 2.

Signo de pie negro de la vid

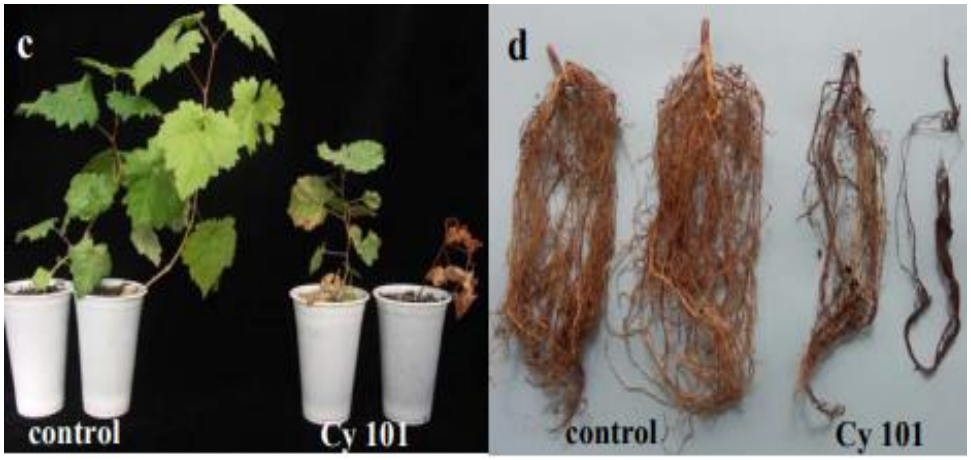


Nota. Vid joven con síntomas de pie negro, tomado de Halleen *et al*. (2006).

2.2.3.5. Síntomas. Esta enfermedad afecta drásticamente el crecimiento y desarrollo del sistema radicular, consecuente a ello, las plantas infectadas evidencias los síntomas de la enfermedad mostrando menor vigor, desarrollo mínimo, decaimiento o retraso de brotación (en algunos casos sobre algunas yemas o toda la planta), acortamiento de entrenudos, clorosis en hojas y/o marchitez y un decaimiento general que puede ocasionar incluso la muerte de la planta durante el período vegetativo o durante el invierno siguiente (Halleen *et al.*, 2006).

Figura 3.

Sintomatología de especies asociadas al pie negro de la vid



Nota. sintomatología de la enfermedad de pie negro de la vid en plántulas de variedad tempranillo 2 meses después de inoculación, © comparación de síntomas aéreos de plántulas inoculados con aislado Cy 101 y sin inocular (d) comparación de síntomas radicular de plántulas inoculados con aislado Cy 101 y sin inocular, tomado de Alaniz (2008).

2.2.3.6. Ciclo de la Enfermedad. Los hongos causantes de esta enfermedad son habitantes del suelo, a través de clamidosporas sobreviven largos tiempo en ausencia de un hospedante, poseen un amplio rango de hospedantes herbáceos y leñosos. Infectan a las vides a través de sus raíces y en algunos casos por la base del portainjerto, cuando estas son plantadas en los suelos de viveros, el patógeno ingresa a través de heridas ocasionadas en el proceso de propagación. En Sudáfrica, la presencia de estos patógenos en la zona del injerto, se debe a la práctica que efectúan algunos viveros, la cual consiste en cubrir con suelo durante algunos días la planta injertada por encima del injerto para evitar su deshidratación (Halleen *et al.*, 2003).

2.2.4. Control del Pie Negro de la Vid (Dactylonectria sp.*)*

Las principales medidas de control se basan en un buen manejo del material de propagación y buenas actividades culturales en los primeros estados de la planta, se busca evitar situaciones que podrían favorecer a la enfermedad como los periodos largos sin agua, riegos

excesivos, etc. Todo ello con la finalidad del material vegetal de propagación permanezca intacto por mucho más tiempo, actualmente se realizan investigaciones enfocadas en el saneamiento de las plantas en etapa de vivero mediante diferentes medidas de control (Alaniz, 2008).

En una investigación en Portugal se puso a prueba el efecto de 14 fungicidas tanto *in vitro* e *in vivo* frente un agente causal del pie negro de la vid, evaluando el crecimiento micelial, la germinación de conidios in vitro, *in vivo* determino el porcentaje de plantas infectadas, demostrando efecto de algunos funguicidas como cyprodinil, fludioxinil tanto *in vivo* como *in vitro* (Rego *et al.,* 2006).

Existen otras investigaciones o medidas recomendadas como la limpieza del material de propagación por termoterapia a temperaturas de 55 -60ºC, asimismo, existen algunas especies con capacidad antagónica como *Bacillus sp*, esta bacteria coloniza la rizosfera e inhibe el ingreso de hongos patógenos, de igual forma hongos biocontroladores del género *Trichoderma* inhiben a estos hongos de madera (Álvarez, 2013).

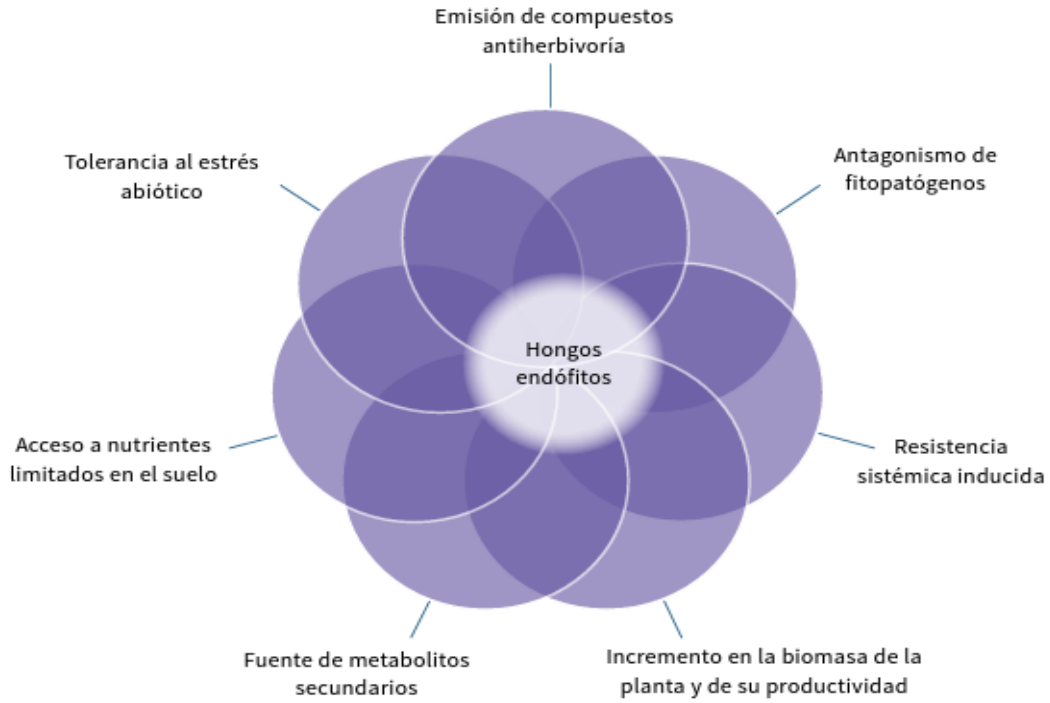
2.2.5. Hongos Endófitos

Son organismos que viven parte o todo su ciclo de vida dentro de los tejidos de las plantas sin generar algún tipo de enfermedad, estos actualmente están recibiendo mucha atención en investigaciones, debido a que es un grupo amplio y diverso de organismos distribuidos en todos los ecosistemas terrestres, estudios sobre la micobiota endófita validan que las especies de plantas que se desarrollan en zonas tropicales poseen mayor población y diversidad de hongos endófitos (Uitzil, 2019).

La interacción que se desarrolla entre planta hospedera y hongo endófito se ve muy influenciada por factores ambientales, esta puede ir desde el mutualismo hasta la patogénesis, cuando hay un equilibrio con respecto a las defensas de la planta y la virulencia del hongo, hay una relación endofítica, por otro lado, en algunos casos cuando la planta se encuentra en estrés o senescencia el hongo toma a favor y expresa su patogenicidad. El bien que reciben el hongo endófito de su hospedera es protección y absorción de nutrientes, a cambio atribuyen ciertos beneficios como incrementar su tolerancia a estrés, favorecer el crecimiento y elaboración de metabolitos secundarios que permite el resguardo y resistencia frente a microorganismos fitopatógenos y herbívoros (Sánchez *et al.,* 2013).

Figura 4.

Efecto de inoculación de hongos endófitos en las plantas



Nota. Extraído de Aragón y Beltrán (2019)

2.2.6. Mecanismos de acción de hongos endófitos

Sánchez *et al*. (2013) menciona que los hongos endófitos suelen contribuir a su hospedera por medio de tres mecanismos

2.2.6.1. Mecanismo Directo.

Es cuando el propio hongo endófito produce enzimas o metabolitos secundarios con capacidad anti patógeno, con la finalidad de inhibir el crecimiento del patógeno, en la actualidad la extracción de estos metabolitos secundarios es el tema primordial de investigaciones que se realiza sobre estos hongos endófitos.

En México se evaluó el potencial antifúngico de los metabolitos secundarios de 24 de estos hongos sobre 4 patógenos de importancia, teniendo como resultado que el patógeno más afectado fue *Alternaria alternata*, en donde 17 hongos manifestando un porcentaje de inhibición de 20 a 50%, se destacan algunos endófitos como MA2h2ell y MA1d1II que

presentaron un porcentaje de inhibición de 20 – 70% frente a los 4 patógenos (Armendáriz, 2013).

2.2.6.2. Mecanismo Indirecto. Es cuando los hongos endófitos ayudan a incrementar e inducir la expresión de los mecanismos de defensa fisiológicos intrínsecas o químicas de su planta hospedera.

En una investigación en donde se trabajó con un hongo endófito identificado como *Piriformospora indica*, se evaluó su aplicación en plántulas de cebada *(Hordeum vulgare)* inoculadas también con los patógenos *Fusarium culmorum* KF 350 y *Cochliobolus sativus*, se demostró que el endófito redujo la perdida de biomas y severidad de los patógenos, concluyendo que tiene efecto significativo en el control de los patógenos e incrementan el rendimiento (Waller *et al.*, 2005).

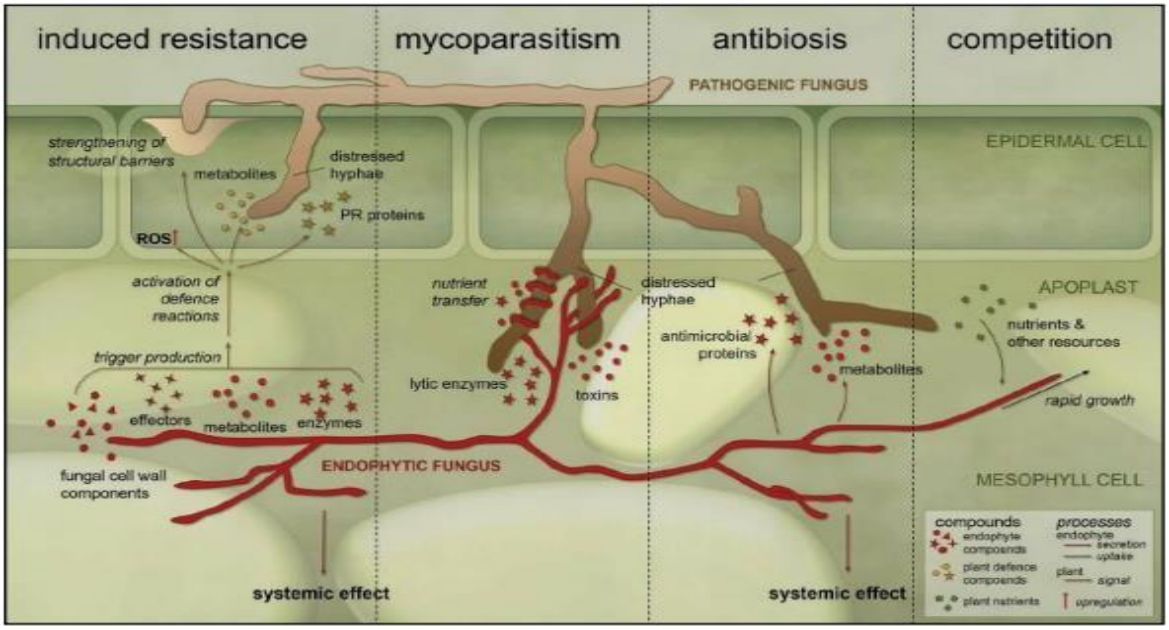
2.2.6.3. Mecanismo Ecológico.

Es cuando se da el contacto directo de hongo endófito con el patógeno originándose el nicho ecológico, tal como es el caso de los hongos del género *Trichoderma*, que a través de diferentes investigaciones .se ha demostrado su capacidad de parasitismo a diferentes hongos patógenos a través de hiperparasitimo y depredación.

En una investigación se realizaron pruebas de antagonismo in vitro en donde se comprobó la disminución de crecimiento y reducción de viabilidad de *Sclerotinia sclerotiorum* frente a *Trichoderma harzianum*, se pudo observar la degradación de las paredes celulares de las hifas del patógeno (Menéndez, 1996).

Figura 5.

Mecanismos de los hongos endófitos para el control de patógeno



Nota. Extraído de Latz *et al.* (2018).

2.3. Glosario

2.3.1. Antagonista

Que tiene efecto contrario o suposición, en microorganismos la capacidad que tienen de control que tienen unos hongos frente a otro (Hernández *et al*., 2007).

2.3.2. Antibiosis

Interacción biológica, entre dos organismos de diferente especie, en donde a través de la producción de sustancias buscan dañar y perjudicar al otro organismo (Roldán, 2021).

2.3.3. Cepa

Grupo de microorganismo similares aislados de un cultivo puro, perteneciente a una raza o especie (Agrios, 2005).

2.3.4. Ciclo de la Enfermedad

comprende desde el desarrollo del patógeno hasta los efectos de la enfermedad, es decir es toda la actividad que comprende el desarrollo de la enfermedad (Agrios, 2005).

2.3.5. Control Biológico

Capacidad de controlar, disminuir o destruir poblaciones de patógenos por parte de otros microorganismos (Agrios, 2005).

2.3.6. Hongo Endófito

Organismo que viven dentro de una planta sin causar ningún tipo de daño estableciendo una relación simbiótica (Uitzil, 2019).

2.3.7. In vitro

Desarrollo de experimento fuera de un organismo vivo o hospedante en condiciones controladas (Agrios, 2005).

2.3.8. In vivo

Desarrollo del experimento en la interacción patógeno- huésped (Agrios, 2005).

2.3.9. Inoculación

Infectar un hospedante con su patógeno (Agrios, 2005).

2.3.10. Lesión

Daño generado por otros organismo o agente físico o químico sobre un organismo, (Agrios, 2005)

2.3.11. Metabolitos Secundarios en Hongos

Metabolismo secundario de los hongos que le permite producir sustancias químicas que terminan beneficiando a las plantas al contrarrestar a otros microorganismos (Frago, 2021).

2.3.12. Micoparasitismo

Mecanismo de acción antagónica de un organismo, en donde un hongo parasita a otro, penetrando su pared celular y adhiriéndose a sus estructuras (Infante *et al.*, 2009) .

2.3.13. Patogenicidad

Capacidad de un microorganismo infeccioso de causar daños en su hospedante.(Agrios, 2005)

2.3.14. Portainjerto

Planta que recibe proporción de otra planta a la cual se le une con la finalidad de mejorar diferentes características (RAE, s. f.).

2.3.15. Signo

Parte visible del patógeno en la planta se puede apreciar a simple vista o microscópicamente (Agrios, 2005).

2.3.16. Síntoma

Alteraciones en el funcionamiento normal de la planta a causa de infección de un microorganismo (Agrios, 2005).

Capítulo III

Materiales y Métodos

3.1. Definición de Variables

3.1.1. Variable Independiente

Las cepas de hongos endófitos son el principal factor de estudio en este trabajo y se evalúan bajo tres modalidades distintas:

Cultivos puros: Se utilizan cultivos puros para determinar la capacidad de los hongos endófitos para inhibir el crecimiento micelial y el porcentaje de colonización en tejidos vegetales.

Extractos de metabolitos secundarios: Se evalúan extractos de metabolitos secundarios producidos por los hongos endófitos, los cuales se emplean como inhibidores del crecimiento micelial de *Dactylonectria* sp.

Suspensiones de esporas sólidas: Se utilizan suspensiones de esporas sólidas tanto para el control biológico del pie negro como para promover el crecimiento de plantas de vid (*Vitis* sp.) bajo condiciones de invernadero.

3.1.2. Variable Dependiente

VD 1: Control de *Dactylonectria* sp. por hongos endófitos

Esta variable evalúa la capacidad de los hongos endófitos para inhibir el crecimiento de *Dactylonectria* sp. y determinar el porcentaje de colonización de los hongos endófitos al patógeno.

VD 2: Control de la enfermedad de pie negro en la vid (*Vitis* sp.)

Se analiza el efecto de los hongos endófitos en la reducción de infección de pie negro, mediante el contenido de agua en las raíces de las plantas, como un indicador clave del estrés hídrico que experimentan.

VD 3: Promoción del crecimiento vegetativo

Esta variable evalúa cómo los hongos endófitos influyen en el crecimiento de las plantas, considerando aspectos como el tamaño y diámetro de brote, el número de hojas, tamaño de raíz y peso fresco y seco de biomasa radicular y aérea.

3.2. Operacionalización de Variables

Tabla 3.

Operacionalización de Variables

Variable	Indicadores	Índice
Variable Independiente		
Cepas de hongos endófitos	Colonias de hongos endófitos	Discos 5 mm de diámetro
	Metabolitos secundarios de hongos endófitos	50%
	Suspensión de esporas de hongos endófitos	$1x10^6$ ufc.g
Variable Dependiente		
Control de *Dactylonectria* sp. por hongos endófitos	Colonización de hongos endófitos	Porcentaje (%)
	Inhibición de crecimiento micelial	Porcentaje (%)
Control de la enfermedad de pie negro de la vid	Contenido relativo de agua	Porcentaje (%)
Promoción de crecimiento vegetativo	Tamaño de brote	Centímetro(cm)
	Cantidad de hojas	Unidades
	Diámetro de brote	Milímetro (mm)
	Tamaño de raíz	Centímetro(cm)
	Biomasa fresca aérea	Gramo (g)
	Biomasa seca aérea	Gramo (g)
	Biomasa fresca radicular	Gramo (g)
	Biomasa seca radicular	Gramo (g)

Nota. Elaboración propia (2024).

3.3 Tipo y Diseño de la Investigación

3.3.1. Tipo de la Investigación

Según Ivaldi (2022) la investigación es del tipo aplicada experimental, puesto que tiene como finalidad principal proponer alternativas de biocontrol, determinando el efecto antagónico de cepas de hongos endófitos sobre la enfermedad de pie negro *(Dactylonectria* sp.*)* tanto *in vitro* como *in vivo* y su efecto en el crecimiento vegetativo de la vid, de tipo cuantitativo, debido a que se evaluó diferentes parámetros como la inhibición de crecimiento

micelial y la colonización de los hongos endófitos a *Dactylonectria* en los ensayos realizados en laboratorio, mientras que para los ensayos realizados en vivero se determinó el contenido relativo de agua como indicar de estrés de la planta por parte de la enfermedad de pie negro, con respecto al crecimiento vegetativo de la vid *(Vitis* sp.*)* se evaluó la biomasa radicular y aérea, longitud de raíz, altura de la planta y números de hojas. Por efecto de colonias, metabolitos secundarios y suspensión de esporas de hongos endófitos.

La investigación es de nivel explicativo, debido a que se establece una relación causa – efecto, explicando el comportamiento de las cepas de hongos endófitos sobre el control de la enfermedad del pie negro (*Dactylonectria*) y crecimiento vegetativo de la vid *(Vitis* sp.*).*

3.3.2. Diseño de la Investigación

La investigación se llevó a cabo utilizando un diseño completamente al azar (DCA) para todos los objetivos específicos, La variación estuvo en la cantidad de tratamientos. Para el **OE1**, se utilizaron 42 tratamientos (41 cepas de hongos endófitos y un testigo) con tres repeticiones. El **OE2** contó con 16 tratamientos (14 cepas de hongos endófitos y 2 testigos: uno inoculado solo con *Dactylonectria sp.* y el otro sin inoculación) con 4 repeticiones. Por último, el **OE3** incluyó 15 tratamientos (14 cepas de hongos endófitos y un testigo) con 4 repeticiones. El modelo completo de medias de un Diseño Completamente Alzar está dado por:

$$Yij = \mu + Tj + Eij$$

$$i=1, \ldots, r \; j=1, \ldots, t$$

Donde:

r es el número de réplicas y t el número de tratamientos.

Yij: i-ésima observación del j-ésimo tratamiento

μj: Media del j-ésimo tratamiento

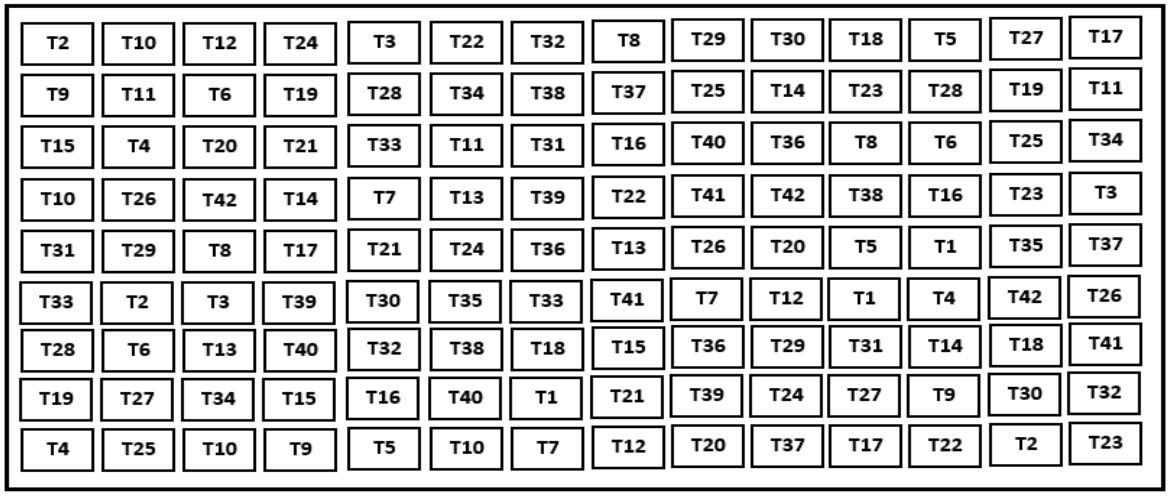
Tj = μj - μ: Efecto sobre la respuesta del j-ésimo tratamiento

Eij: i-ésimo error experimental del j-ésimo tratamiento.

La distribución aleatoria de los tratamientos se realizó de la siguiente forma, según cada objetivo específico los resultados se muestran en la figura 6,7 y 8.

Figura 6.

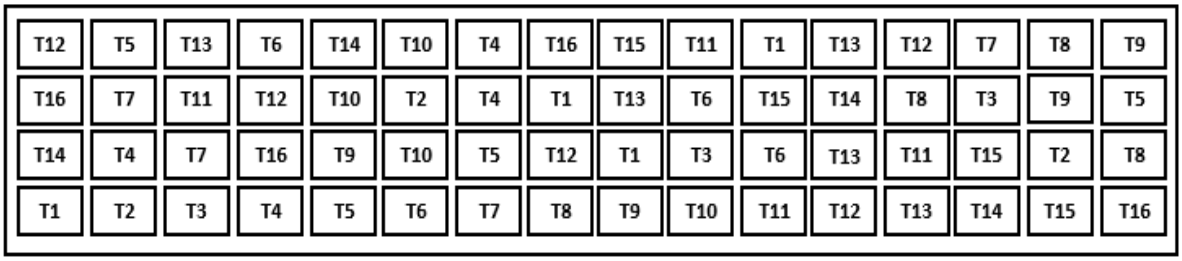
Aleatorización de los tratamientos del objetivo específico1



Nota. Elaboración propia (2024).

Figura 7.

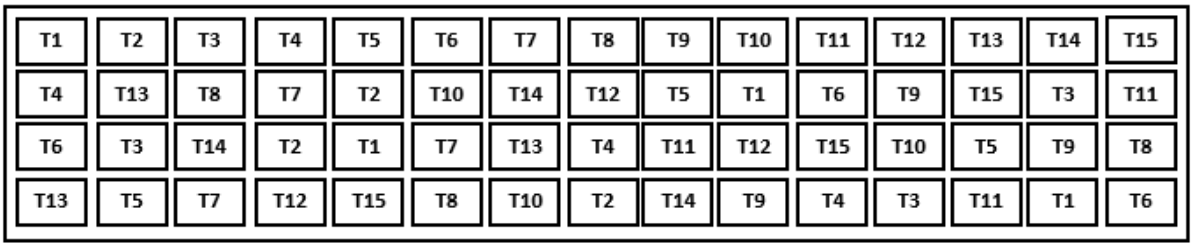
Aleatorización de los tratamientos del objetivo específico 2



Nota. En la siguiente distribución se incluyen 14 tratamientos y dos controles: uno sin inoculación de tratamiento ni patógeno, y otro inoculado solo con el patógeno. Elaboración propia (2024).

Figura 8.

Aleatorización de los tratamientos del objetivo específico 3



Nota. En la siguiente distribución se consideran 14 tratamientos y un testigo sin aplicación. Elaboración propia (2024).

3.3.3. Ubicación y Descripción Geográfica

El trabajo de investigación se ejecutó en el laboratorio de sanidad vegetal perteneciente a la escuela profesional de agronomía de la Universidad Nacional de Cañete (UNDC) sede CNI, geográficamente y políticamente ubicado en las siguientes coordenadas.

Coordenadas

Longitud= 76°21’6.627”

Latitud= 13°3’50.458”

Altitud= 82.38 m.s.n.m

Ubicación Política del Experimento

Departamento: Lima Provincia: Cañete Distrito: Imperial

Dirección: Urb. Santa Rosa de Hualcará, Canal María Angola S/ (Laboratorio CNI).

El invernadero donde se ejecutaron los OE2 y OE3 se instaló en el distrito de Sunampe, provincia de Chincha, departamento de Ica. Dirección: Av. Las Magnolias 101, interior 10.

3.4 Población y muestra

3.4.1. Población

Para este trabajo de investigación la población es infinita ya que se desconoce la cifra exacta de los microorganismos endófitos que existen.

3.4.2. Muestra

Se empleó un muestreo de tipo no probabilístico. Para el **OE1**, se utilizaron un total de 630 placas en los distintos ensayos *in vitro* (antibiosis por metabolitos secundarios y antibiosis y micoparasitismo por método de placa dual). Por otro lado, para el **OE2**, se evaluaron 128 plantas distribuidas por cada tratamiento y repetición. Finalmente, para el **OE3**, se evaluaron 120 plantas de patrón *Salt Creek* (*Vitis* sp.).

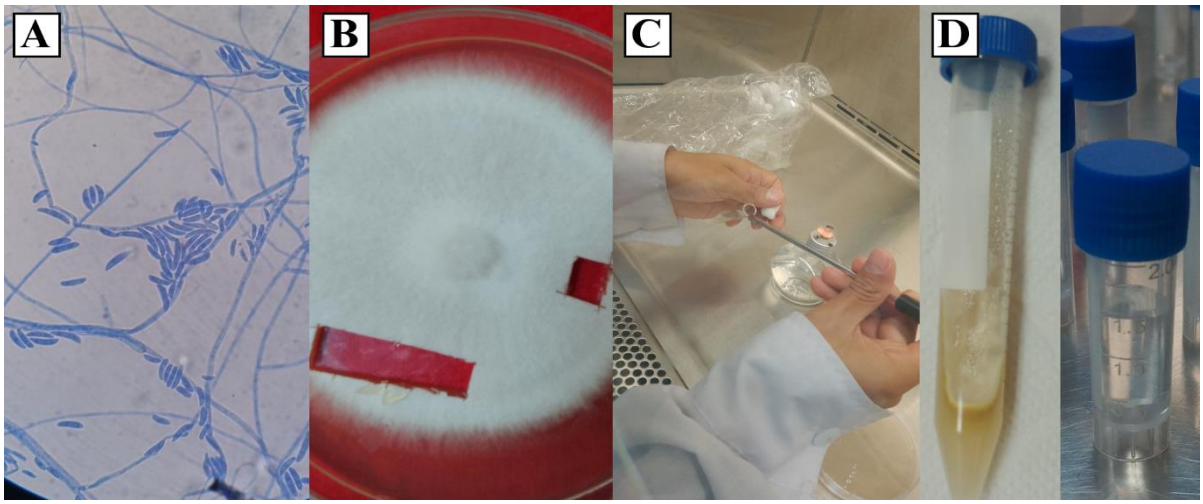
3.5 Procedimiento De La Investigación

3.5.1. Identificación y Conservación de Dactylonectria sp

La cepa de *Dactylonectria* sp. ya identificada fue proporcionada por el laboratorio Foliumlab EIRL. Se replicó en placas Petri con medio PDA. La cepa se conservó en tubos de 15 ml con medio PDA inclinado a 5 ºC y en viales con una solución de glicerol al 18%, los cuales fueron almacenados a -18 ºC, según lo mencionado por Nakasone *et al.* (2004).

Figura 9.

Identificación y Conservación de Dactylonectria sp.



Nota. **(A)** Estructura microscópica de *Dactylonectria* sp.; **(B)** colonia pura de *Dactylonectria* sp.; **(C)** procedimiento de conservación de *Dactylonectria* sp.; **(D)** cepa de *Dactylonectria* sp. conservada en tubo con PDA y vial con glicerol al 18%. Elaboración propia (2024).

3.5.2. Prueba de patogenicidad

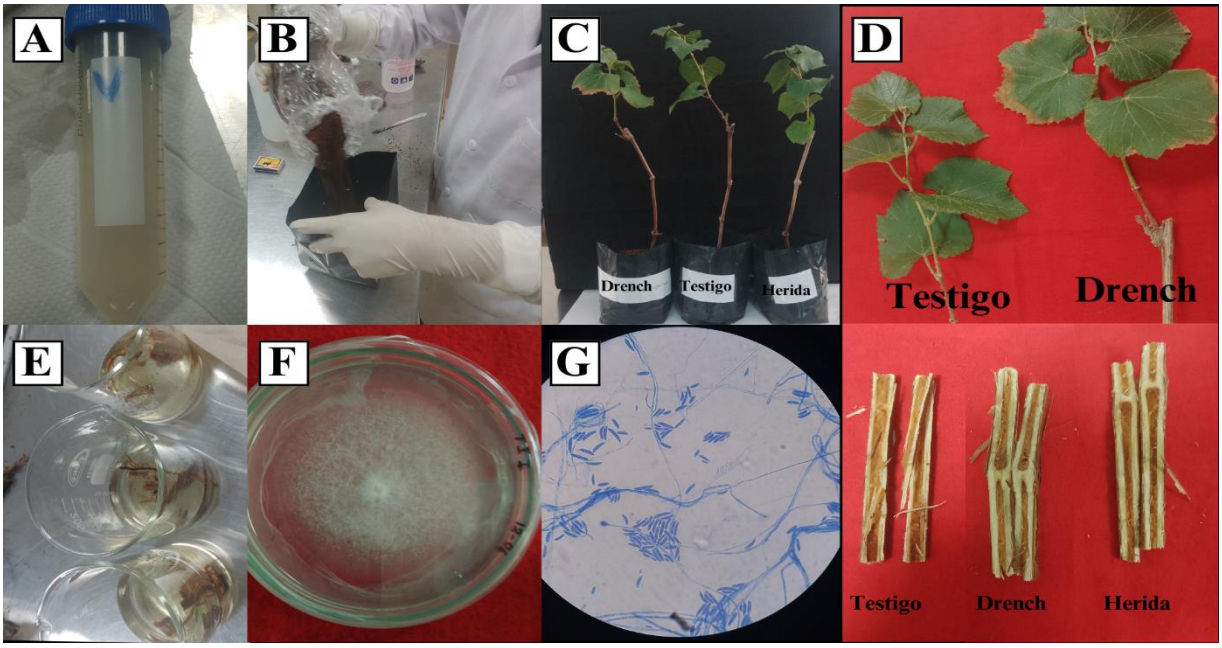
Se realizó la prueba de patogenicidad en plantas de patrón *Salt Creek* (*Vitis* sp.) de 2 meses de edad, tras el brote. Estas plantas fueron trasladadas a bolsas de polietileno negro con capacidad para 175 g de sustrato previamente esterilizado, compuesto por una mezcla de arena y turba en una proporción de 2:1. Para la inoculación de la cepa patógena, se emplearon dos metodologías. La primera consistió en hacer una herida en la zona del cuello del tallo mediante un raspado de aproximadamente 3 cm, sobre el cual se colocó un disco de micelio del patógeno de 5 mm. Este se envolvió con parafilm y algodón para mantener la humedad, y luego se cubrió con papel aluminio, según la metodología de Redondo (2021). Por otro lado, se siguió la metodología propuesta por Alaniz (2008) , que consistió en añadir 10 mL de agua destilada estéril (ADE) a un cultivo de 12 días del patógeno en una placa Petri, raspando la superficie mecánicamente con una espátula. Luego, la suspensión de esporas se transfirió a un tubo Falcon de 45 mL para medir la concentración, ajustándola a 10^6 ufc.g de sustrato. El inóculo se aplicó mediante riego tipo drench. Además, se incluyó una planta testigo a la que se le agregó solo agua destilada.

Transcurrido un mes, en la planta inoculada mediante drench se observó un leve marchitamiento en las hojas y tallo, en comparación con el testigo, que permaneció sano (Figura 10). En consecuencia, se procedió a trozar las plantas y desinfectar el material vegetal

con hipoclorito de sodio al 1 %, alcohol al 70º y agua destilada, para luego sembrarlo en placas con PDA, con el fin de recuperar e identificar la cepa del patógeno *Dactylonectria* sp. Por otro lado, la planta testigo y la planta inoculada mediante herida no presentaron ningún tipo de síntoma de la enfermedad.

Figura 10.

Prueba de patogenicidad de Dactylonectria sp en plantas de vid (Vitis sp.*)*



Nota. **(A)** Solución de esporas del patógeno; **(B)** preparación de bolsas de polietileno con sustrato estéril; **(C)** plantas de patrón Salt creek (*Vitis* sp.) tratadas; **(D)** leve marchitamiento de hojas y necrosis de tallo ocasionados por la inoculación de *Dactylonectria* sp. vía drench; **(E)** desinfección de material vegetal; **(F)** colonia recuperada de *Dactylonectria* sp.; **(G)** estructura microscópica de la cepa de *Dactylonectria sp.* recuperada. Elaboración propia (2024).

3.5.3. Reactivación de cepas endófitas

Se realizó una selección de las cepas de hongos endófitos conservadas a 5 ºC en el laboratorio de sanidad vegetal de la Universidad Nacional de Cañete, en la sede CNI, que en trabajos previos de investigación sobre control *in vitro* o promoción de crecimiento hayan mostrado los mejores resultados (Tabla 4 y Figura 1), considerando también diferentes géneros. Los hongos, conservados en tubos con medio PDA, fueron activados en placas con PDA y se incubaron durante 7 días a 25 ºC. Una vez purificados, se conservó y corroboró su identificación para luego multiplicar los cultivos en más placas para su empleo en los ensayos (Peteira *et al*., 2021)

Tabla 4.

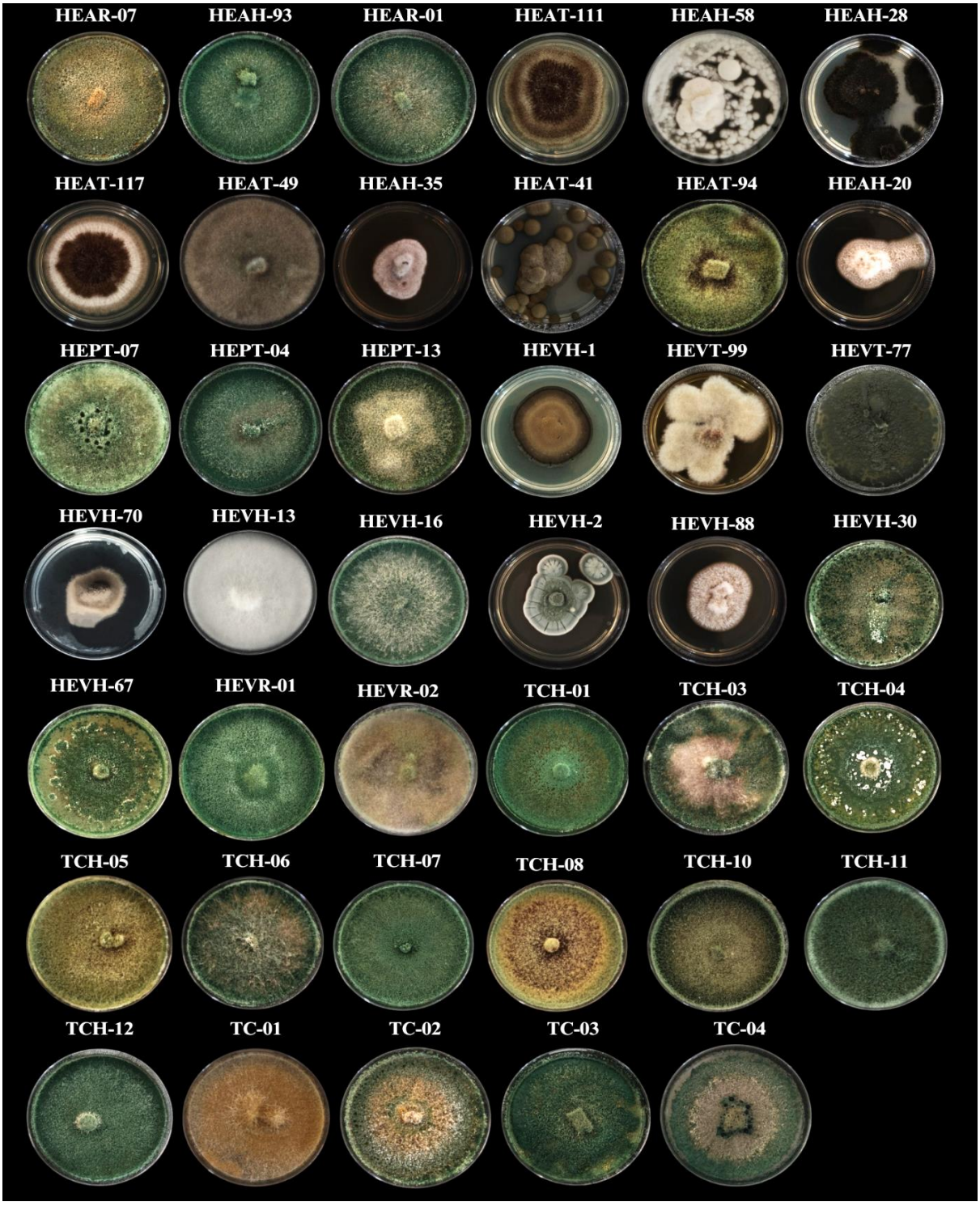
Lista de cepas de hongos endófitos empleados en la investigación

Nº	Cepa	Identificación	Cultivo	Lugar de origen	Cepario	
1	HEAR - 07	*Trichoderma sp.*	Arándano	Cañete	UNDC	
2	HEAH - 93	*Trichoderma asperellum.*	Arándano	Pisco	UNDC	*
3	HEAR - 01	*Trichoderma sp.*	Arándano	Cañete	UNDC	
4	HEAT - 111	*Aspergillus niger.*	Arándano	Pisco	UNDC	
5	HEAH - 58	*Nigrospora sp.*	Arándano	Cañete	UNDC	
6	HEAH - 28	*Ulocladium sp.*	Arándano	Cañete	UNDC	*
7	HEAT - 117	*Aspergillus niger.*	Arándano	Pisco	UNDC	*
8	HEAT - 49	*Lasiodiplodia pseudotheobromae.*	Arándano	Cañete	UNDC	
9	HEAH - 35	*Stemphylium vesicarium.*	Arándano	Cañete	UNDC	
10	HEAT - 41	*Cladosporium halotolerans.*	Arándano	Cañete	UNDC	*
11	HEAT - 94	*Trichoderma harzianum.*	Arándano	Pisco	UNDC	
12	HEAH - 20	*Alternaria alternata.*	Arándano	Cañete	UNDC	
13	HEPT - 07	*Trichoderma sp.*	papa	Cañete	UNDC	*
14	HEPT - 04	*Trichoderma asperellum.*	papa	Cañete	UNDC	*
15	HEPT - 13	*Trichoderma asperellum.*	papa	Cañete	UNDC	
16	HEVH - 01	*Cladosporium sp.*	Vid	Cañete	UNDC	
17	HEVT - 99	*Alternaria mali.*	Vid	Cañete	UNDC	
18	HEVT - 77	*Aspergillus fumigatus.*	Vid	Cañete	UNDC	
19	HEVH - 70	*Alternaria alternata.*	Vid	Cañete	UNDC	
20	HEVH - 13	*Nigrospora sp.*	Vid	Cañete	UNDC	*
21	HEVH - 16	*Trichoderma hamatum.*	Vid	Cañete	UNDC	
22	HEVH - 02	*Penicillium steckii.*	Vid	Cañete	UNDC	*
23	HEVH - 88	*Fusarium sp.*	Vid	Cañete	UNDC	
24	HEVH - 30	*Trichoderma sp.*	Vid	Cañete	UNDC	*
25	HEVH - 67	*Trichoderma harzianum.*	Vid	Cañete	UNDC	
26	HEVR - 01	*Trichoderma sp.*	Vid	Chincha	UNDC	
27	HEVR - 02	*Trichoderma asperellum.*	Vid	Chincha	UNDC	*
28	TCH - 01	*Trichoderma afroharzianum.*	Cacao	Chachapoyas	LABVISAN	
29	TCH - 03	*Trichoderma afroharzianum.*	Cacao	Chachapoyas	LABVISAN	*
30	TCH - 04	*Trichoderma parareesei.*	Cacao	Chachapoyas	LABVISAN	
31	TCH - 05	*Trichoderma afroharzianum.*	Cacao	Chachapoyas	LABVISAN	
32	TCH - 06	*Trichoderma asperelloides.*	Cacao	Chachapoyas	LABVISAN	*
33	TCH - 07	*Trichoderma inhamatum.*	Cacao	Chachapoyas	LABVISAN	*
34	TCH - 08	*Trichoderma afroharzianum.*	Cacao	Chachapoyas	LABVISAN	
35	TCH - 10	*Trichoderma parareesei.*	Cacao	Chachapoyas	LABVISAN	*
36	TCH - 11	*Trichoderma sp.*	Cacao	Chachapoyas	LABVISAN	
37	TCH - 12	*Trichoderma sp.*	Cacao	Chachapoyas	LABVISAN	
38	TC - 01	*Trichoderma harzianum.*	-	Chincha	Producto comercial	
39	TC - 02	*Trichoderma asperellum.*	-	Cañete	Producto comercial	
40	TC - 03	*Trichoderma atroviride.*	-	Cañete	Producto comercial	
41	TC - 04	*Trichoderma viride.*	-	Cañete	Producto comercial	

Nota: Las. 41 cepas mencionadas se usaron en el **OE1**, mientras que para el **OE2** y **OE3** se emplearon 14 cepas resaltadas con un (*) como se muestra en la tabla. Elaboración propia (2024).

Figura 11.

Cepas de hongos endófitos



Nota. Elaboración propia (2024).

3.5.4. Ensayos In Vitro de Capacidad Antagónica.

3.5.4.1. Ensayo de Antibiosis y Micoparasitismo de Cepas de Hongos Endófitos Hacia *Dactylonectria* sp. Para los ensayos de micoparasitismo se desarrolló la prueba de enfrentamiento dual siguiendo la metodología de Bailey *et al*., (2008). Para ello, se requirieron cultivos puros y jóvenes de 7 días de las cepas de hongos endófitos y cultivos puros de 12 días del patógeno. Dentro de la cabina de flujo laminar, se extrajeron discos de micelio de 5 mm de los cultivos del patógeno utilizando un sacabocado, y se colocaron en un extremo de placas Petri (90x15 mm) con medio PDA. Luego, en el otro extremo de la misma placa, se colocaron discos de micelio de los hongos endófitos. Las placas fueron selladas con Parafilm e incubadas a 25°C durante 14 días, hasta que la placa con el testigo, donde solo se colocó un disco del patógeno, llenó completamente la placa. Para cada hongo endófito y el testigo se realizaron 3 repeticiones. Se evaluó la inhibición del crecimiento micelial de *Dactylonectria* sp. por los hongos endófitos, midiendo el crecimiento del patógeno en cada tratamiento y empleando la siguiente fórmula:

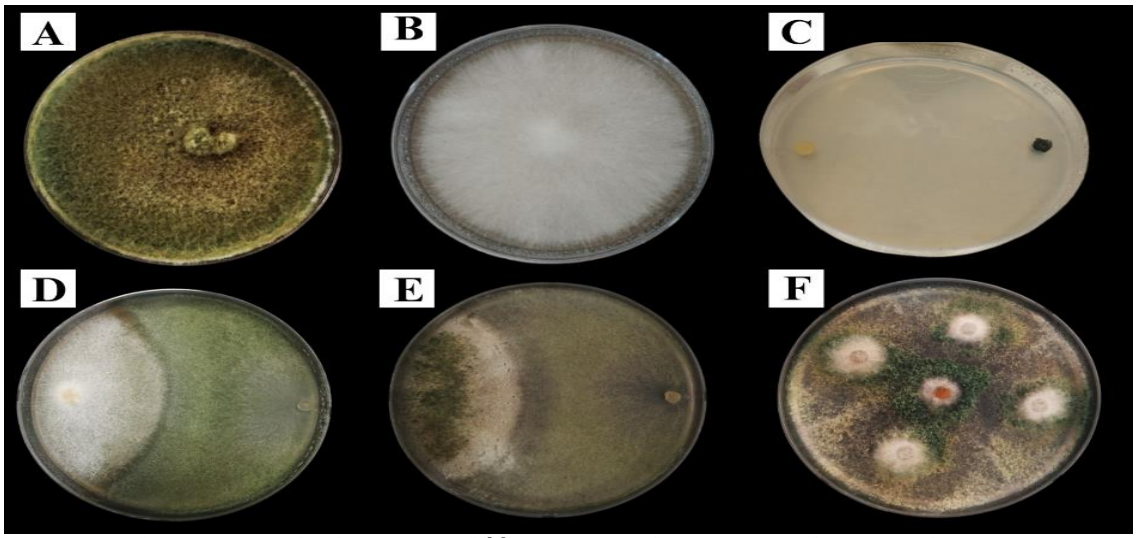
Inhibición de crecimiento micelial (%) = ((CMC-CMT) /CMC*100)

Siendo **CMC** el crecimiento del patógeno en el testigo (Sin metabolitos HE) y **CMT** crecimiento micelial del patógeno en los tratamientos.

Posteriormente, estas placas se incubaron durante 14 días para evaluar la colonización de las cepas de hongos endófitos sobre *Dactylonectria* sp. Transcurrido el periodo de incubación, se extrajeron 10 discos de micelio cercanos al disco inicial del patógeno, los cuales se sembraron en nuevas placas Petri con PDA (5 discos por placa) e incubaron a 25°C durante 4 días. Para la evaluación de colonización, se consideró como colonización positiva (+) cuando solo se presentó el crecimiento del hongo endófito, y negativa (-) si el crecimiento correspondió solo al patógeno o a una combinación de patógeno y hongo endófito.

Figura 12.

Antibiosis y micoparasitismo mediante enfrentamiento dual de cepas hongos endófitos hacia Dactylonectria sp.



Nota. **(A)** cultivo puro de hongo endófito; **(B)** cultivo puro de *Dactylonectria* sp.; **(C)** enfrentamiento dual 0 días; **(D)** enfrentamiento dual 14 días después de siembra; **(E)** enfrentamiento dual 28 días después de siembra; **(F)** reaislamiento de zona aproximada al patógeno tras 4 días de incubación. Elaboración propia (2024).

3.5.4.2. Ensayo de Antibiosis de Metabolitos Secundarios de Hongos Endófitos Hacia *Dactylonectria* sp. De las 41 cepas de hongos endófitos se extrajeron metabolitos secundarios y se evaluó su capacidad para inhibir el crecimiento micelial, siguiendo la metodología de Bailey et al., (2008). A partir de cultivos puros y jóvenes de los hongos endófitos, se realizaron diluciones seriadas, vertiendo 5 discos en tubos falcón con 10 ml de ADE (agua destilada estéril) y se efectuó el conteo de esporas para obtener un inóculo estandarizado a una concentración de 1×10^{6} ufc/ml $^{-1}$. Posteriormente, se agregó 1 ml de cada inóculo en matraces con 100 ml de caldo de papa y sacarosa previamente esterilizado. Cada cepa contó con tres matraces, considerados como tres repeticiones. Una vez inoculados, los matraces fueron colocados en un agitador orbital a 120 rpm durante siete días a temperatura ambiente.

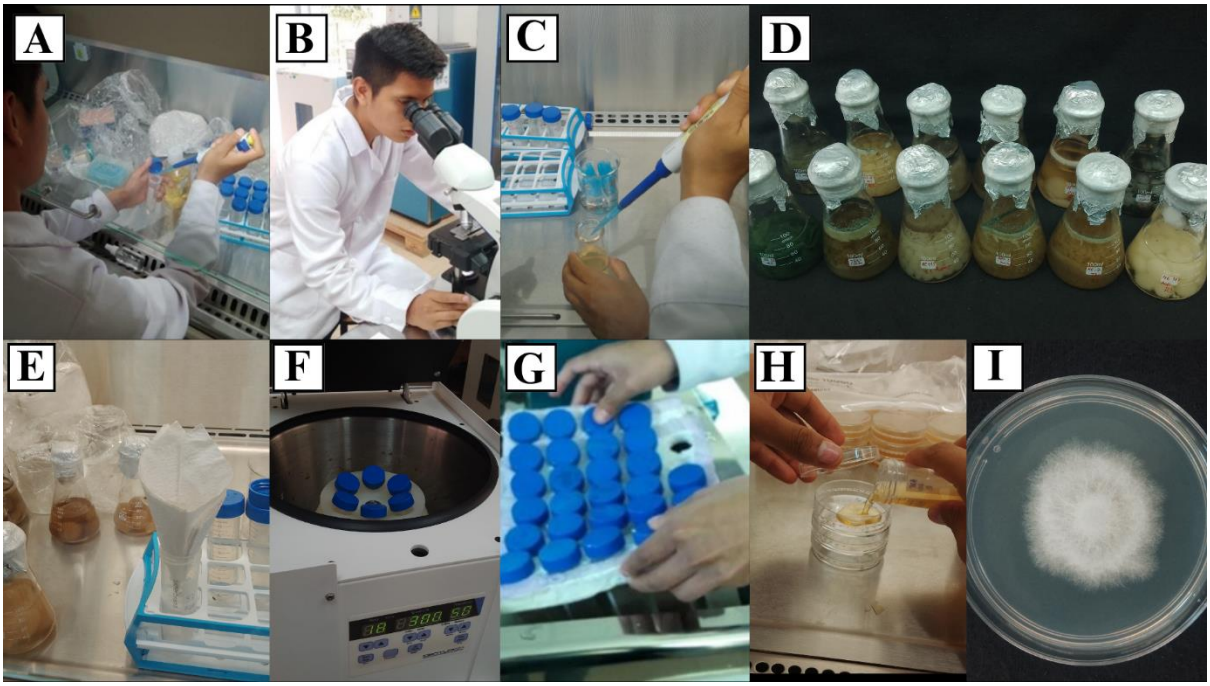
Transcurrido el tiempo de agitación, los matraces se filtraron, obteniéndose 35 ml en tubos Falcon, que luego fueron centrifugados a 3000 rpm durante cinco minutos. El sobrenadante se separó de los sedimentos y se colocó en un nuevo tubo para luego ser sometido a baño maría a 90ºC durante una hora. Posteriormente, se preparó una mezcla de PDA (agar 2x) con el líquido de metabolitos en una proporción 1:1, la cual se vertió en placas Petri de 60

x 15 mm. Una vez solidificado, se sembró un disco de micelio de 5 mm de un cultivo puro del patógeno en el centro de cada placa, que luego se incubaron a 25ºC.

La evaluación se realizó cuando el testigo o control (disco de patógeno sembrado en la mezcla de PDA 2x + caldo de papa y sacarosa sin inocular) cubrió toda la placa. Se midieron los cuatro radios de crecimiento del patógeno para calcular el porcentaje de inhibición micelial empleando la misma fórmula anteriormente mencionado. El proceso se muestra en la Figura 13.

Figura 13.

Antibiosis de metabolitos secundarios de cepas de hongos endófitos hacia Dactylonectria sp.



Nota. **(A)** Diluciones seriadas de cepas de hongos endófitos; **(B)** conteo de esporas; **(C)** Inoculación de 1 ml de suspensión de esporas de hongos endófitos a una concentración de 1×10^{6} ufc/ml $^{-1}$ en matraces con caldo de papa y sacarosa; **(D)** caldo de metabolitos obtenidos tras 7 días de agitación a 120 rpm; **(E)** Filtración de caldo de metabolitos; **(F)** centrifugación de caldo de metabolitos a 3000 rpm durante 5 minutos; **(G)** caldo de metabolitos en baño maría a 90ºC durante 1 hora; **(H)** plaqueo de la mezcla de caldo de metabolitos son PDA agar 2x; **(I)** crecimiento del patógeno *Dactylonectria* sp en medio de caldo de metabolitos. Elaboración propia (2024).

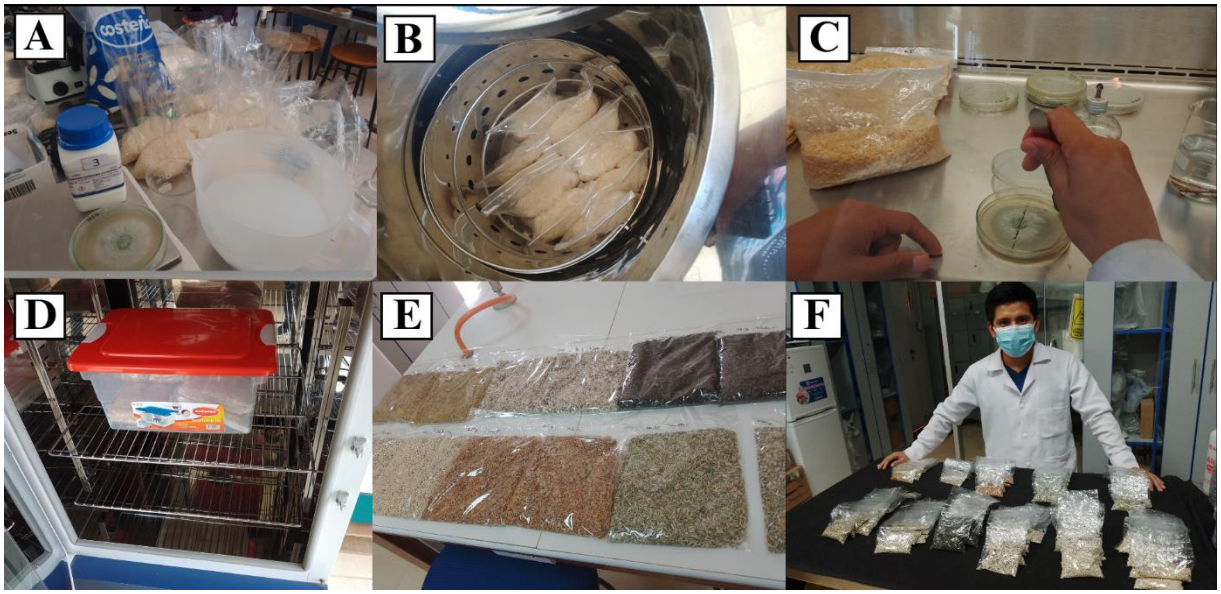
3.5.5. Ensayos In Vivo de Control de Pie Negro de la Vid (Vitis sp.*) y Promoción de Crecimiento*

3.5.5.1. Producción de Hongos Endófitos en Sustrato de Arroz. Para la siguiente fase de la investigación, se redujeron los tratamientos de hongos endófitos de 41 a 14, seleccionando aquellos con los mejores resultados en los ensayos de antagonismo y considerando la diversidad de géneros y especies para los ensayos en invernadero. Con el fin de obtener suficiente inóculo de cada cepa, los hongos endófitos se produjeron en un sustrato de arroz siguiendo la metodología de Arévalo *et al.*, (2017) . Para ello, se prepararon bolsas de polipropileno de 6 por 12 pulgadas, a las cuales se les agregaron 300 gramos de arroz, 90 ml de ADE y 4.5 g. l^{-1} de carbonato de calcio por bolsa. Las bolsas fueron mezcladas hasta que el arroz quedara completamente húmedo, luego se sellaron y se esterilizaron durante 45 minutos a 121 ºC y 15 libras de presión. Una vez estéril el sustrato, se agregaron cuidadosamente cultivos jóvenes de hongos endófitos esporulados en placas Petri con PDA, incorporando ¼ del contenido de cada placa al sustrato estéril. Posteriormente se mezcló cuidadosamente el PDA colonizado con el arroz, se sellaron las bolsas y se incubaron a 25 ºC en oscuridad durante 5 días. Finalmente, se abrieron las bolsas y se expusieron a luz artificial para secar completamente el arroz colonizado a temperatura ambiente, antes de pesarlo y conservarlo.

Una vez listo el arroz colonizado por los hongos endófitos, se determinó la concentración de esporas por gramo de arroz en cada tratamiento (Tabla 5). Asimismo, se estandarizó la cantidad necesaria de sustrato colonizado, siendo la dosis requerida por aplicación de 1×10^6 ufc. g^{-1} de sustrato. Una vez determinada la cantidad requerida para cada tratamiento, se pesó y embolsó para su conservación a 5 ºC.

Figura 14.

Producción de hongos endófitos en sustrato de arroz



Nota. **(A)** Preparación de sustrato para esterilización; **(B)** esterilización de sustrato; **(C)** inoculación de sustrato de arroz con hongos endófitos; **(D)**conservación de sustrato inoculado a 25ºC y completa oscuridad; **(E)** sustrato de arroz colonizado por hongos endófitos y secado completamente; **(F)** tratamientos embolsados individualmente para su aplicación y conservación. Elaboración propia (2024).

Tabla 5.

Producción de esporas de hongos endófitos en sustrato solido de arroz (UFC.G de arroz)

Nº	Cepa	Identificación	Cultivo	Concentración
1	HEAH - 93	*Trichoderma asperellum.*	Arándano	$4.98x10^{9}$ ufc. g
2	HEAH - 28	*Ulocladium* sp.	Arándano	$6.42x10^{7}$ ufc. g
3	HEAT - 117	*Aspergillus niger.*	Arándano	$2.62x10^{7}$ ufc. g
4	HEAT - 41	*Cladosporium halotolerans.*	Arándano	$6.67x10^{6}$ ufc. g
5	HEPT - 07	*Trichoderma* sp.	Papa	$5x10^{8}$ ufc. g
6	HEPT - 04	*Trichoderma asperellum.*	Papa	$7.08x10^{7}$ ufc. g
7	HEVH - 13	*Nigrospora* sp.	Vid	$6.5x10^{7}$ ufc. g
8	HEVH - 02	*Penicillium steckii.*	Vid	$1.89x10^{8}$ ufc. g
9	HEVH - 30	*Trichoderma* sp.	Vid	$4.67x10^{7}$ ufc. g
10	HEVR - 02	*Trichoderma asperellum.*	Vid	$6.5x10^{7}$ ufc. g
11	TCH - 03	*Trichoderma afroharzianum.*	Cacao	$2.75x10^{8}$ ufc. g
12	TCH - 06	*Trichoderma asperelloides.*	Cacao	$1.6x10^{9}$ ufc. g

13	TCH - 07	*Trichoderma inhamatum.*	Cacao	$3x10^8$ ufc. g
14	TCH - 10	*Trichoderma parareesei.*	Cacao	$7x10^7$ ufc. g

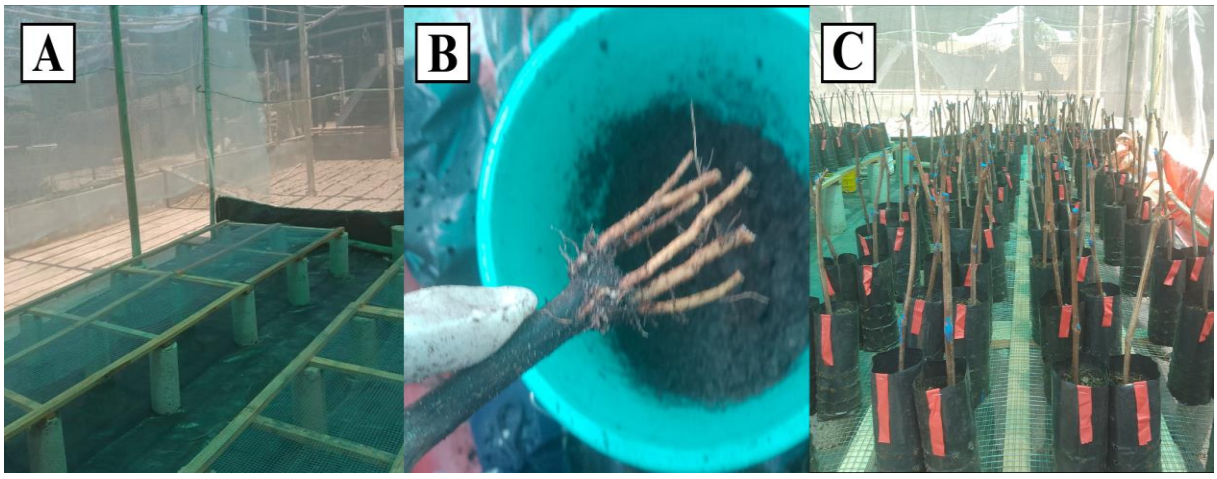
Nota. En cada aplicación se empleó una concentración de $1x10^6$ ufc. g de sustrato. Elaboración propia (2024).

3.5.5.2. Instalación de Invernadero y Plantas. Para llevar a cabo los **OE2** Y **OE3**, se instaló un pequeño invernadero de 5 metros de largo, 4 metros de ancho y 2 metros de alto, cubierto con malla antiafida. En este espacio se mantuvieron durante cuatro meses las 248 plantas de la variedad Salt Creek (*Vitis* sp.), donadas por la empresa Vivero Los Viñedos S.A.C. para fines de investigación. Las plantas fueron recibidas en estado de dormancia, en bolsas de polietileno negro de 15 cm de alto y 8 cm de ancho, con capacidad para 1 kg de sustrato estéril, compuesto por un 70% de arena y un 30% de turba.

Antes de aplicar los tratamientos, se homogeneizaron los tamaños de las raíces en todas las plantas, dejando la misma cantidad de raíces y una longitud de 5 cm. Posteriormente, se aplicó un fungicida por vía drench, cuyo ingrediente activo es Benomil, con el objetivo de prevenir infecciones de hongos de madera en las zonas de corte. Además, se aplicaron Kelpak (extracto de algas marinas) y quitosano para estimular el desarrollo radicular. También se realizó una poda, dejando solo dos yemas y cubriendo los cortes con el sellador cicatrizante Sanex (que contiene betaina, sulfato de zinc, propanotriol y ácido alfa-naftalenacético).

Figura 15.

Instalación de invernadero y plantas

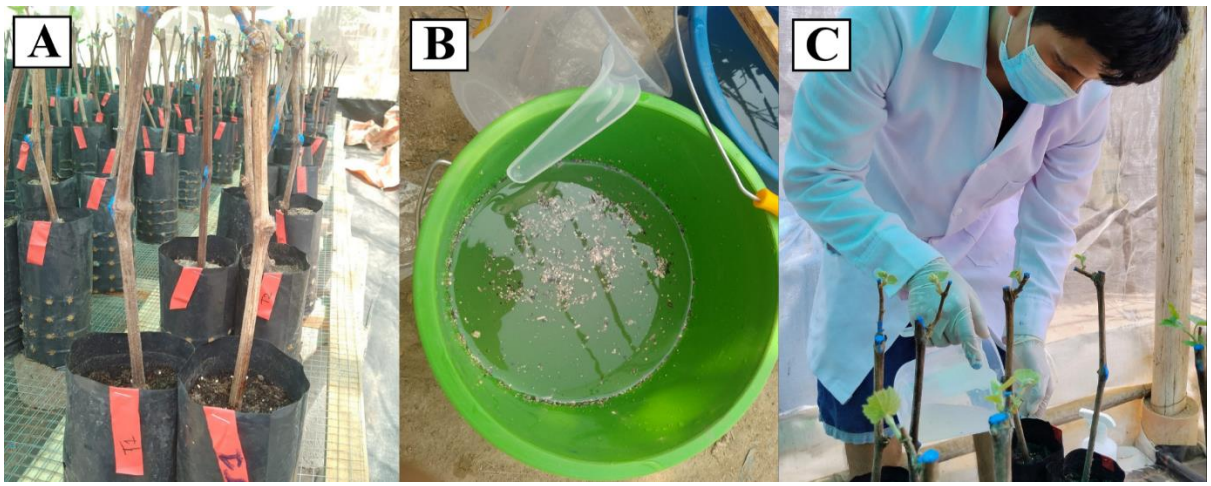


Nota. **(A)** instalacion de vivero; **(B)** homogeneización de raíces; **(C)** ubicación de plantas según objetivos. Elaboración propia (2024).

3.5.5.3. Inoculación de Hongos Endófitos. Transcurridos 10 días desde la aplicación del enraizante y el fungicida, se realizó la primera aplicación de los tratamientos. Para ello, se distribuyeron aleatoriamente las plantas por tratamientos y repeticiones, como se muestra en las figuras 7 y 8. Se añadió a baldes individuales con agua la cantidad de hongo endófito cultivado en sustrato de arroz necesaria para cada tratamiento, ajustando la mezcla para alcanzar una concentración final de 1×10^6 ufc. g de sustrato, añadiendo 200 ml de la mezcla a cada planta. El sustrato de arroz se dejó en remojo durante 30 minutos para asegurar una aplicación uniforme. Los tratamientos se aplicaron a las plantas mediante la técnica de drench, repitiendo la aplicación de hongos endófitos cada 15 días, tanto para las plantas del **OE2** Y **OE3**.

Figura 16.

Inoculación de hongos endófitos.

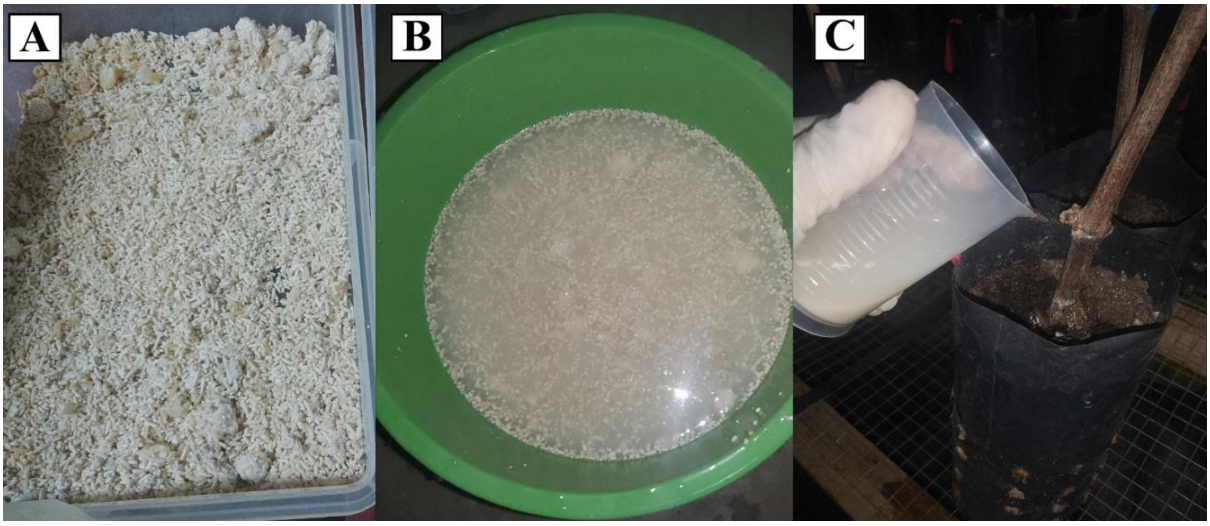


Nota. **(A)** Distribución de plantas aleatoriamente; **(B)** remojo de sustrato colonizado por hongos endófitos; **(C)** aplicación de tratamientos. Elaboración propia (2024).

3.5.5.4. Inoculación de *Dactylonectria* sp. Para la inoculación del patógeno *Dactylonectria sp.* en las plantas de vid de patron Salt creek, fue necesario preparar el inóculo en sustrato de arroz, siguiendo la misma metodología utilizada para los hongos endófitos. De igual forma, se ajustó la preparación para obtener una concentración de 1×10^6 ufc. g de sustrato del patógeno. Esta aplicación se llevó a cabo en las 120 plantas tratadas según el **OE2**, 30 días después de la primera aplicación de los tratamientos.

Figura 17.

Aplicación de Dactylonectria sp. *en sustrato de arroz*



Nota. **(A)** Arroz inoculado con patógeno *Dactylonectria* sp, **(B)** preparación de inoculo para aplicación en plantas, **(C)** aplicación de inoculo en plantas de vid. Elaboración propia (2024).

3.5.5.5. Manejo de Plantas en Invernadero. Durante el desarrollo del cultivo, se tomaron en cuenta varias consideraciones. El riego fue frecuente al inicio, debido a las altas temperaturas y a la necesidad de mantener el sustrato húmedo a capacidad de campo, aplicando 200 ml por planta. Además, se instalaron trampas adhesivas para el monitoreo de plagas y se realizaron aplicaciones foliares de Amiprid (Acetamiprid) para el control de la mosca blanca y de Kieto (Emamectina benzoato) para el control de gusanos de hojas.

3.5.5.6. Parámetros de Evaluación. Las evaluaciones se realizaron a los 105 días después de la primera inoculación de los hongos endófitos a las plantas de patrón Salt creek (*Vitis* sp.) del **OE2** y **OE3**.

Contenido Relativo de agua

La evaluación se realizó cuando el cuello del tallo y las raíces mostraron una severa infección por *Dactylonectria* sp. Como parámetro de evaluación del **OE2**, se determinó el contenido relativo de agua (**CRA**), indicador de estrés en las plantas, siguiendo la metodología de González y González (2001). Para ello las raíces de las plantas fueron lavadas y secadas con papel toalla para registrar los datos del peso fresco **(PF)**, asimismo las mismas raíces fueron rotuladas y se colocaron en agua durante 18 horas para determinar el peso de turgencia **(PT)**. Luego, las muestras de raíces se secaron en una estufa a 60 ºC hasta que el material vegetal

dejó de perder peso (aproximadamente 3 días), obteniéndose el peso seco (**PS**). Finalmente, el contenido relativo de agua se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$CRA\ (\%) = [(PF-PS)\ /(PT-PS)]100$$

Tamaño de brote

Se evaluó midiendo con una regla de 30 cm, tomando como referencia el punto de origen del brote hasta su zona apical.

Cantidad de hojas

Se evaluó mediante el conteo manual del número de hojas por brote.

Diámetro de brote

Se evaluó midiendo el diámetro en la base del brote utilizando un vernier digital.

Tamaño de raíz

Se evaluó midiendo con un vernier digital, desde el punto de inicio de las raíces hasta la raíz de mayor longitud.

Peso fresco biomasa aérea

Se cortaron los brotes, los cuales se pesaron frescos en una balanza, registrándose los datos obtenidos.

Peso seco biomasa aérea

Las muestras se colocaron en sobres manila y se secaron en una estufa a 60 ºC durante 3 días. Posteriormente, se pesaron y los datos fueron registrados.

Peso freso biomasa radicular

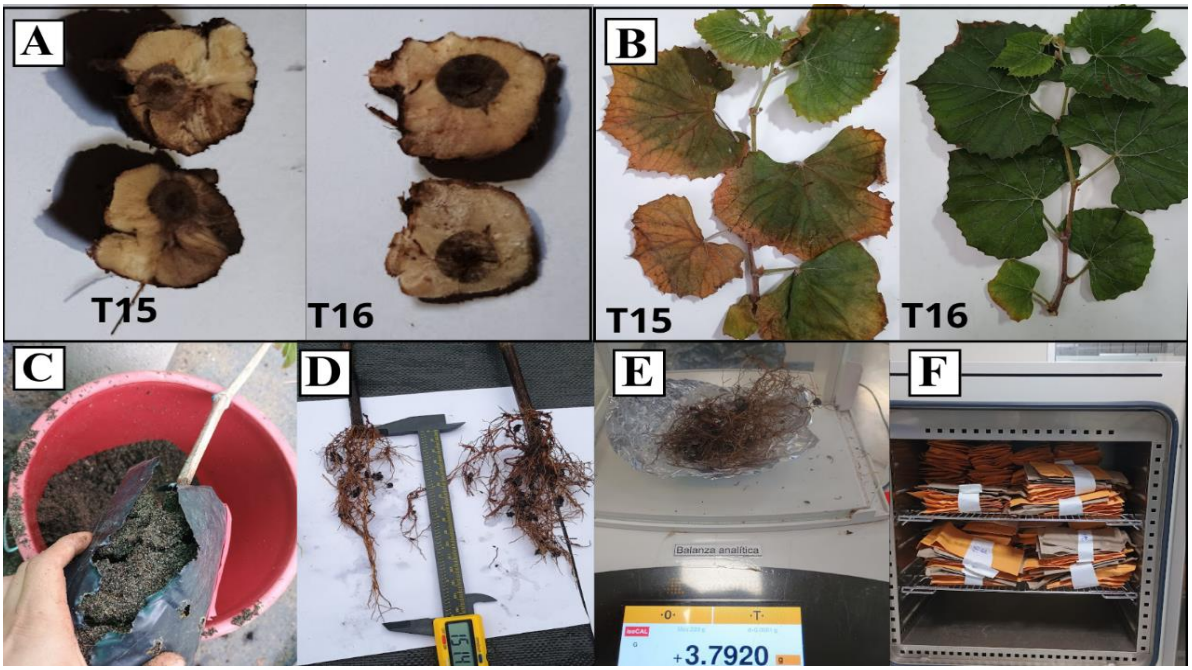
Las raíces se lavaron con agua potable para remover residuos de sustrato. Luego se secaron y se registró su peso fresco.

Peso seco biomasa radicular

Las muestras de raíces se colocaron en sobres manila y se secaron en una estufa a 60 ºC durante 3 días. Posteriormente, se pesaron y se registraron los datos.

Figura 18.

Evaluación de plantas para OE2 Y OE3



Nota. **(A)** T15 Sintomatología de plantas con infección de *Dactylonectria* sp y T16 planta sana; **(B)** T15 sintomatología de hojas con *Dactylonectria* sp y T16 planta sana; **(C)** retiro de sustrato de plantas; **(D)** Mediciones de raíces y brote; **(E)** pesado de biomasa radicular y aérea; **(F)** secado en estufa por 3 días a 60ºC de biomasa radicular y aérea. Elaboración propia (2024).

3.5.5.7. Registro de Datos Meteorológicos. Durante el desarrollo de la investigación, se instaló un termohigrómetro en el vivero para monitorear la temperatura y la humedad relativa. Los registros se tomaron diariamente en tres horarios: a las 6:00 a.m., 12:00 a.m. y 6:00 p.m. durante los meses de marzo, abril, mayo, junio y julio. La temperatura y humedad relativa promedio mensual fue la siguiente:

Tabla 6.

Datos meteorológicos durante los meses del ensayo en vivero.

Mes	TEMPERATURA (ºC)			HUMEDAD (%)		
	Mañana (6am)	Medio día (12 pm)	Tarde (6pm)	Mañana (6am)	Medio día (12 pm)	Tarde (6pm)
Marzo	20.0	29.1	22.0	84.2	57.7	66.0
Abril	21.1	28.5	21.9	86.2	53.3	70.1
Mayo	17.9	23.8	20.0	92.8	62.9	73.4
Junio	15.7	20.3	18.0	94.4	74.9	79.2
Julio	16.0	20.1	18.8	94.1	68.3	75.8

Nota. Elaboración propia (2024).

3.6. Análisis de Datos

Para el análisis de datos, se verificó el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas utilizando los softwares estadísticos Minitab (versión 17) e InfoStat (versión estudiantil). La normalidad de los datos se evaluó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, ya que el número de observaciones registradas para las distintas variables era superior a 50. Además, se generaron residuos equivalentes a la cantidad de datos registrados.

La homogeneidad de varianzas se comprobó mediante la prueba de Bartlett. Una vez que se cumplieron ambos supuestos, se aplicó la prueba de contraste de Tukey para identificar diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, con un nivel de significancia del 5% ($p < 0.05$).

Sin embargo, para las variables relacionadas con indicadores de colonización (evaluados mediante el método de enfrentamiento dual) y la cantidad de hojas en el ensayo de promoción del crecimiento, fue necesario realizar un análisis de varianza no paramétrico, utilizando la prueba de Kruskal-Wallis.

Tabla 7.

Resultados de las Pruebas de Normalidad y Homogeneidad de Varianzas para las Variables Analizadas

Variables de medida	Supuestos (p valor)	
	Normalidad	**Homogeneidad de varianzas**
Control de *Dactylonectria* sp		
Inhibición micelial mediante enfrentamiento dual (%)	0.15	0.128
Colonización mediante enfrentamiento dual (%)	Kruskall Wallis	Kruskall Wallis
Inhibición micelial por metabolitos secundarios (%)	0.15	0.175
Control de pie negro de la vid		
Contenido relativo de agua (%)	0.15	1.000
Promoción de crecimiento		
Tamaño de brote (cm)	0.15	0.292
Cantidad de hojas (unidades)	Kruskall Wallis	Kruskall Wallis
Diámetro de brote (mm)	0.15	0.523
Tamaño de raíz (cm)	0.15	0.614
Biomasa fresca aérea (g)	0.15	0.069
Biomasa seca aérea (g)	0.15	0.102
Biomasa fresca radicular (g)	0.15	0.161
Biomasa seca radicular (g)	0.15	0.258

Nota. Elaboración propia (2024).

Capítulo IV

Resultados y Discusiones

4.1. Resultados

4.1.1. Capacidad Antagónica de Cepas de Hongos Endófito Hacia Dactylonectria sp., Hongo de Madera de la Vid (Vitis sp.*) .*

4.1.1.1. Inhibición Micelial de *Dactylonectria* sp. por Cepas de Hongos Endófitos Mediante Método de Enfrentamiento Dual. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar el efecto de cepas de hongos endófitos sobre la inhibición de crecimiento micelial de *Dactylonectria* sp. mediante el método de placa dual. Los resultados muestran un valor F=67.85 y un p-valor < 0.05, lo que indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Esto sugiere que las cepas de hongos endófitos no tienen un comportamiento uniforme, y algunas de ellas muestran mayor eficacia en la inhibición del crecimiento micelial de *Dactylonectria* sp. que otras. El modelo explica el 97.1% de la variabilidad total en la inhibición micelial, resaltando la relevancia de las cepas como factor determinante.

Tabla 8.

Análisis de varianza de inhibición de crecimiento micelial de Dactylonectria sp. *por cepas de hongos endófitos mediante el enfrentamiento dual.*

F. V	SC	GL	MC	Fe	p-Valor
Tratamientos	36919	40	922.98	67.58	0
Error	1120	82	13.66		
Total	38039	122			

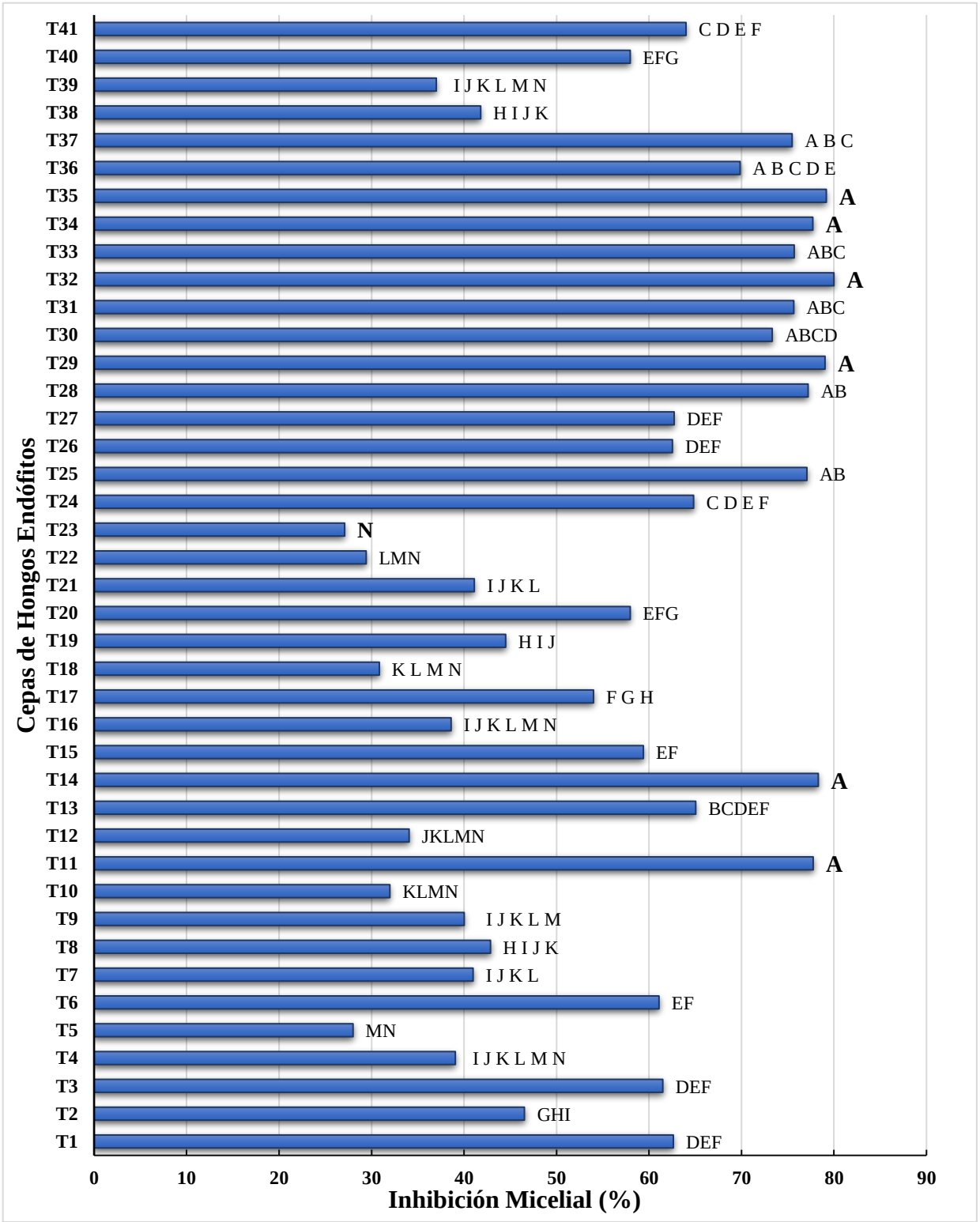
CV: 6.52 R^2: 0.97

Nota. Elaboración propia (2024).

En la Figura 19 se presentan las medias de inhibición del crecimiento de los hongos endófitos hacia el patógeno, mostrando que todos los hongos endófitos evaluados inhiben el crecimiento del patógeno en un porcentaje superior al 27.09%. Las cepas del género *Trichoderma* mostraron el mayor efecto inhibidor. En particular, las cepas *Trichoderma asperelloides* (T32), *Trichoderma parareesei* (T35), *Trichoderma afroharzianum* (T29), *Trichoderma asperellum* (T14), *Trichoderma harzianum* (T11) y *Trichoderma afroharzianum* (T34) inhibieron el crecimiento micelial de *Dactylonectria* sp. en un rango de 77.71% a 79.99%. Por otro lado, la cepa *Fusarium sp*. (T23), presentó el efecto inhibidor más bajo, con un 27.09% de inhibición.

Figura 19.

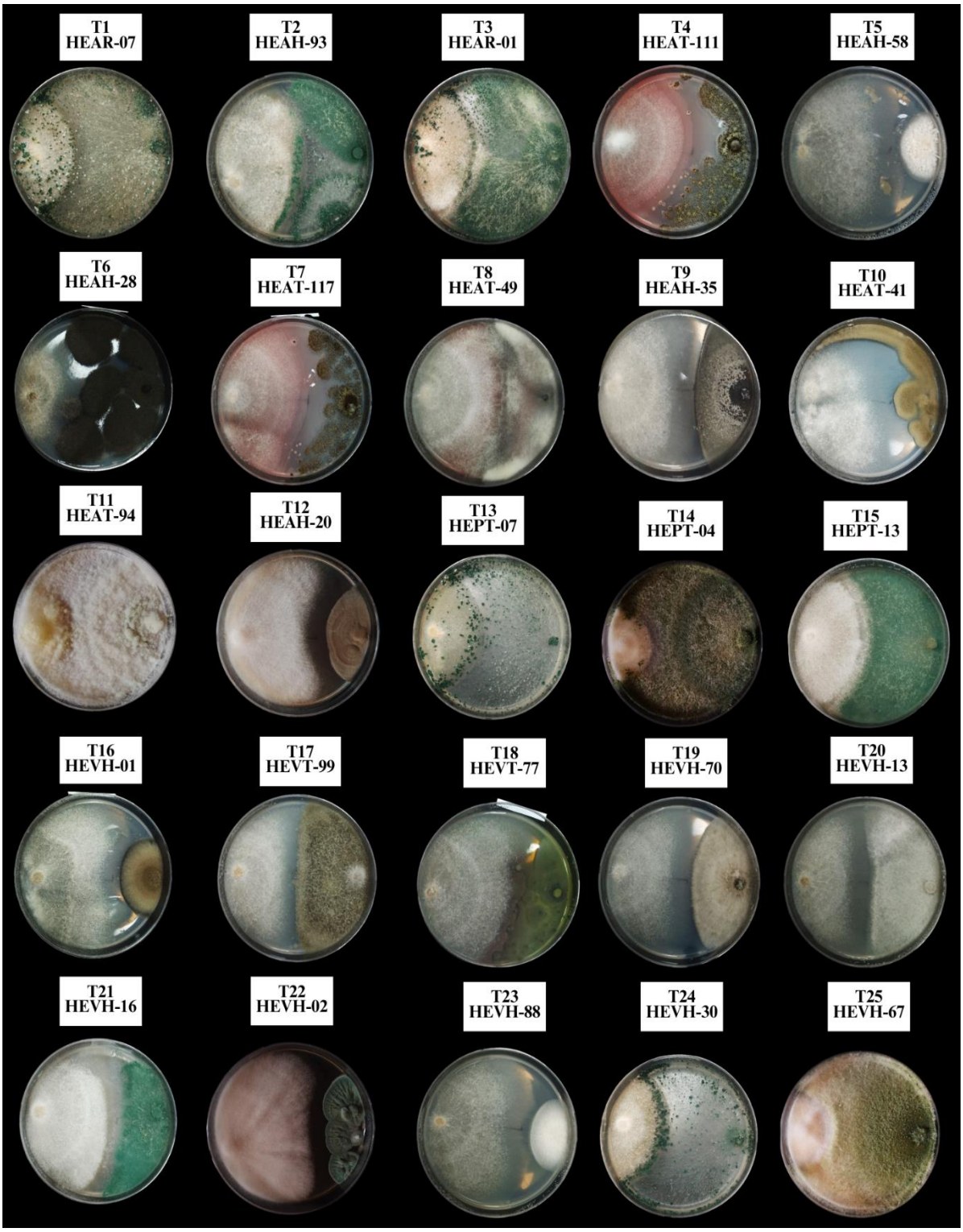
*Com*paración de medias inhibición de crecimiento micelial de *Dactylonectria* sp. por cepas de hongos endófitos mediante el enfrentamiento dual

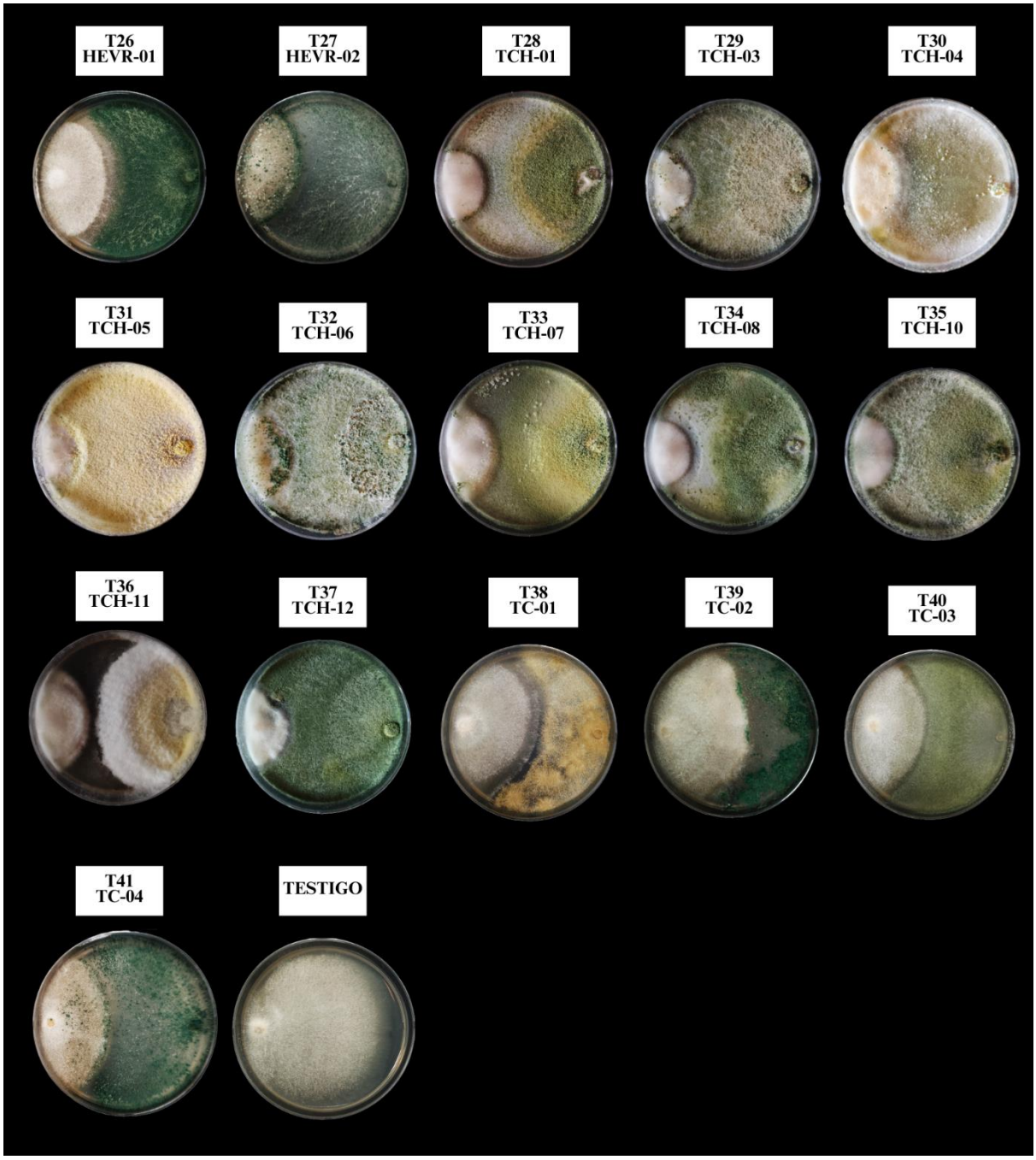


Nota. Elaboración propia (2024).

Figura 20.

Enfrentamiento dual de cepas de hongos endófitos frente a Dactylonectria sp.





Nota. Elaboración propia (2024).

4.1.1.2. Colonización de *Dactylonectria* sp. por Cepas de Hongos Endófitos Mediante Método de Enfrentamiento Dual. Para esta variable, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia de 0.05. El valor de p obtenido (0.0001) es menor que 0.05, lo que lleva al rechazo de la hipótesis nula. Por lo tanto, se concluye que existen diferencias significativas, lo cual queda reflejado en la Tabla 9.

En la comparación de medias, se observó que no todos los hongos endófitos lograron colonizar *Dactylonectria* sp. De hecho, las únicas cepas capaces de colonizar fueron algunas

del género *Trichoderma*, destacando la cepa de *Trichoderma asperelloides* (T32), que inhibió el crecimiento de *Dactylonectria* sp. en un 86.67%, seguido de la cepa de *Trichoderma afroharzianum* (T29) con 73.33 % de colonización. Las diferencias entre medias y la categorización correspondiente se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9.

Comparación de medias de colonización de Dactylonectria sp. por hongos endófitos

Tratamiento	Cepa	Colonización (%)	Agrupación
T32	*Trichoderma asperelloides.*	86.67	A
T29	*Trichoderma afroharzianum.*	73.33	A
T35	*Trichoderma parareesei.*	66.67	A
T14	*Trichoderma asperellum.*	66.67	A
T13	*Trichoderma* sp.	53.33	A
T27	*Trichoderma asperellum.*	46.67	A
T33	*Trichoderma inhamatum.*	40.00	A
T36	*Trichoderma* sp.	33.33	AB
T1	*Trichoderma* sp.	33.33	AB
T34	*Trichoderma afroharzianum.*	26.67	AB
T37	*Trichoderma* sp.	26.67	AB
T21	*Trichoderma hamatum.*	0.00	B
T15	*Trichoderma asperellum.*	0.00	B
T20	*Nigrospora* sp.	0.00	B
T23	*Fusarium* sp.	0.00	B
T22	*Penicillium steckii.*	0.00	B
T12	*Alternaria alternata.*	0.00	B
T2	*Trichoderma asperellum.*	0.00	B
T17	*Alternaria mali.*	0.00	B
T11	*Trichoderma harzianum.*	0.00	B
T18	*Aspergillus fumigatus.*	0.00	B
T19	*Alternaria alternata.*	0.00	B
T10	*Cladosporium halotolerans.*	0.00	B
T16	*Cladosporium* sp.	0.00	B
T24	*Trichoderma* sp.	0.00	B
T5	*Nigrospora* sp.	0.00	B
T41	*Trichoderma viride.*	0.00	B
T40	*Trichoderma atroviride.*	0.00	B
T4	*Aspergillus niger.*	0.00	B
T9	*Stemphylium vesicarium.*	0.00	B
T8	*Lasiodiplodia pseudotheobromae.*	0.00	B
T7	*Aspergillus niger.*	0.00	B
T6	*Ulocladium* sp.	0.00	B
T3	*Trichoderma* sp.	0.00	B
T28	*Trichoderma afroharzianum.*	0.00	B
T26	*Trichoderma* sp.	0.00	B
T25	*Trichoderma harzianum.*	0.00	B
T39	*Trichoderma asperellum.*	0.00	B
T38	*Trichoderma harzianum.*	0.00	B

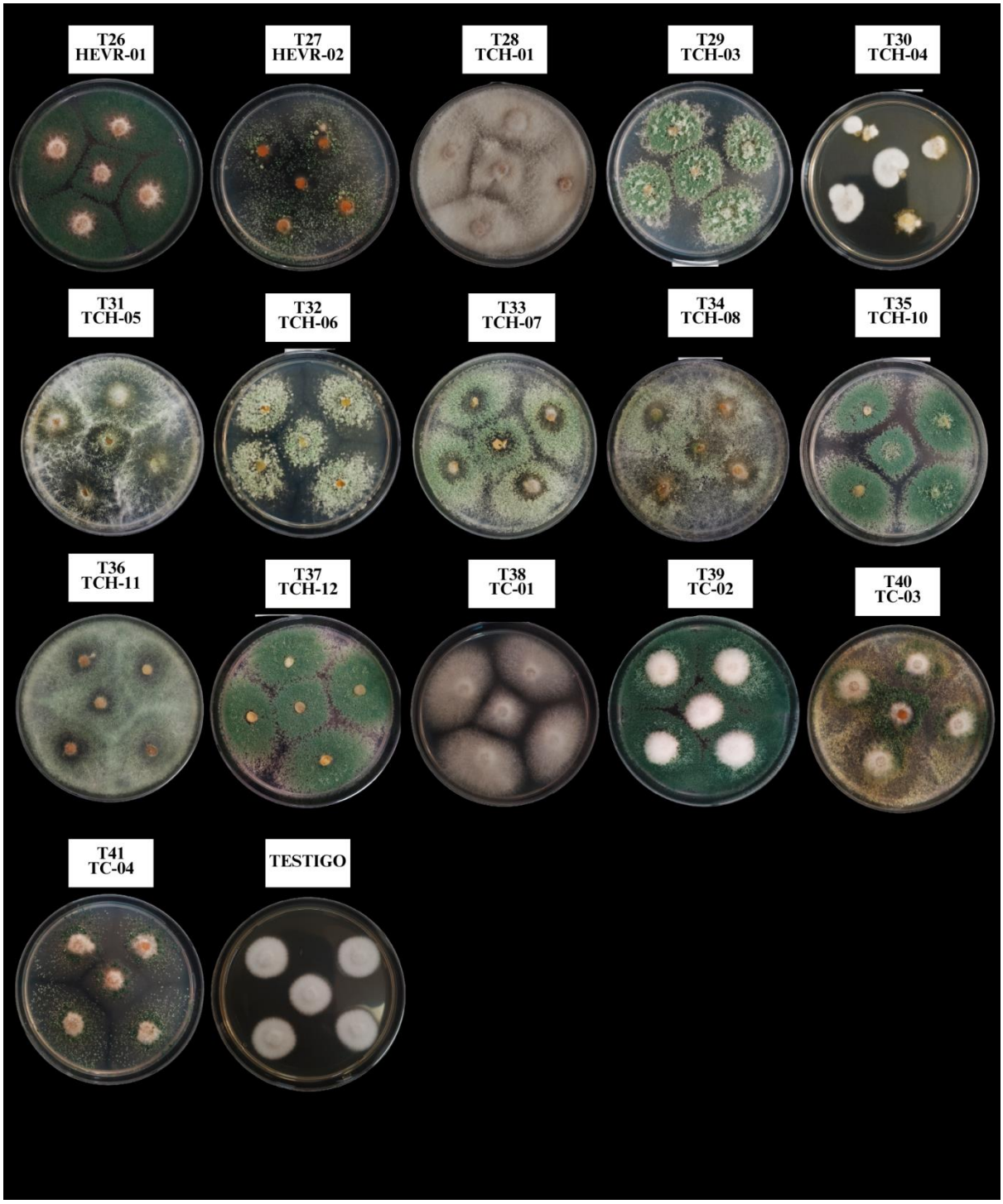
T31	*Trichoderma afroharzianum.*	0.00	B
T30	*Trichoderma parareesei.*	0.00	B

Nota. Elaboración propia (2024).

Figura 21.

Colonización de Dactylonectria sp. *por Cepas de Hongos Endófitos*





Nota. Elaboración propia (2024).

4.1.1.3. Inhibición Micelial de *Dactylonectria* sp., por Metabolitos Secundarios de Hongos Endófitos. El análisis de varianza (ANOVA) realizado para evaluar el efecto de los metabolitos secundarios de cepas de hongos endófitos sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Dactylonectria* sp. mostró un valor F = 291.07 y un p-valor < 0.05, lo que indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Esto sugiere que existen diferencias en la inhibición micelial del patógeno según los metabolitos secundarios de los hongos endófitos. El modelo explica el 99.3% de la variabilidad total en la inhibición micelial, destacando la importancia de las cepas como factor determinante.

Tabla 10.

Análisis de varianza de la inhibición de crecimiento micelial de Dactylonectria sp. *por metabolitos secundarios de hongos endófitos*

F. V	SC	GL	MC	Fe	p-Valor
Tratamientos	59148.1	40	1478.7	291.07	0
Error	416.6	82	5.08		
Total	59564.6	122			

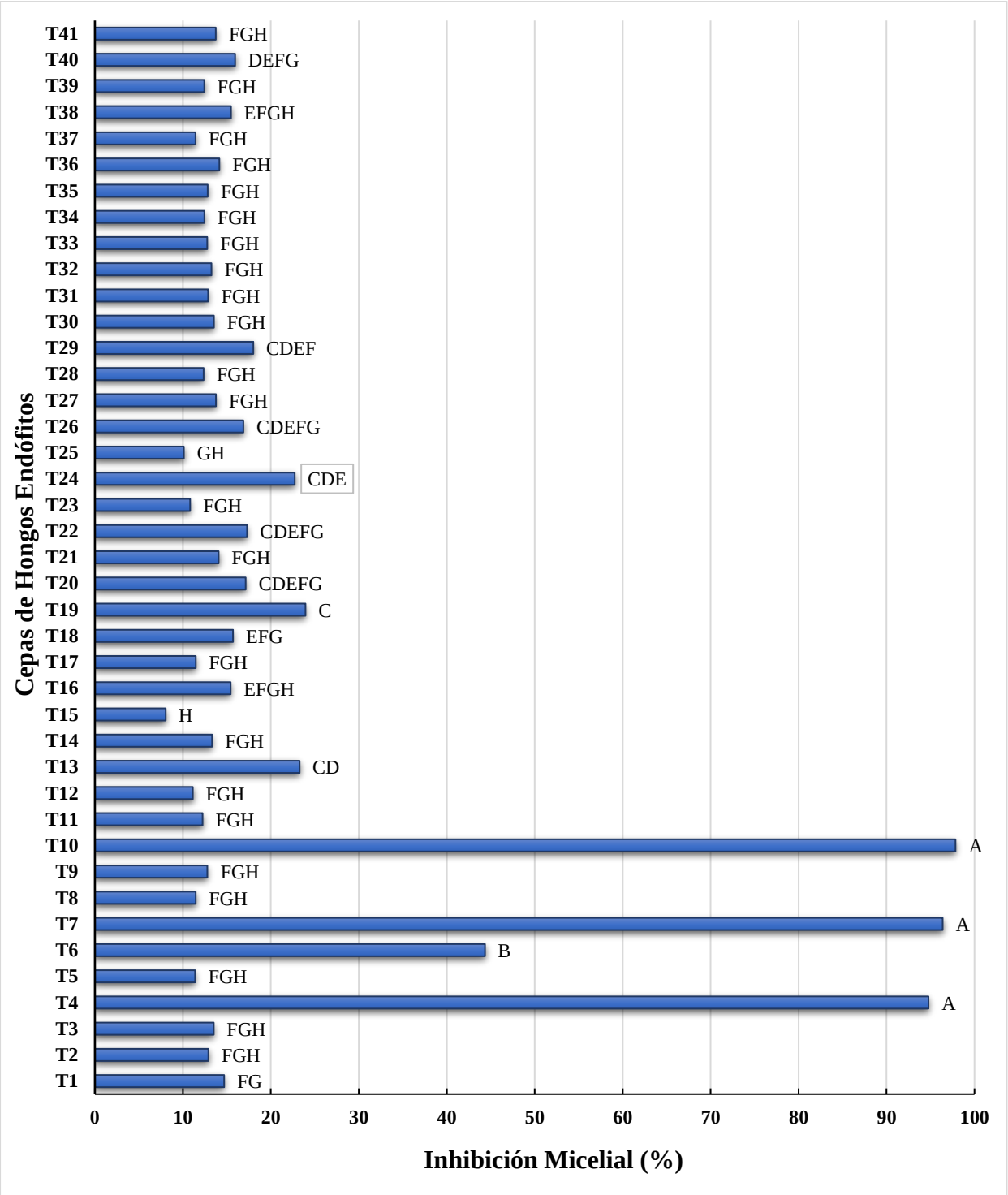
CV: 10.76 R^2: 0.99

Nota. Elaboración propia (2024).

La Figura 22 muestra gráficamente la comparación de medias sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Dactylonectria* sp. por los metabolitos secundarios de hongos endófitos. También se presenta la categorización de medias mediante letras, indicando que los grupos que no comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí. Entre las cepas que produjeron metabolitos con mayor capacidad inhibidora se encuentra la cepa de *Cladosporium halotolerans* (T10), con un 97.84% de inhibición. Asimismo, las cepas de *Aspergillus niger* (T7) y (T4) mostraron inhibiciones de 96.38% y 94.77%, respectivamente. Por otro lado, la cepa con el menor efecto inhibidor fue de *Trichoderma asperellum* (T15), con una inhibición de solo 8.05% en el crecimiento micelial de *Dactylonectria sp.*

Figura 22.

Comparación de medias inhibición de crecimiento micelial de Dactylonectria sp. *por metabolitos secundarios de cepas de hongos endófitos*

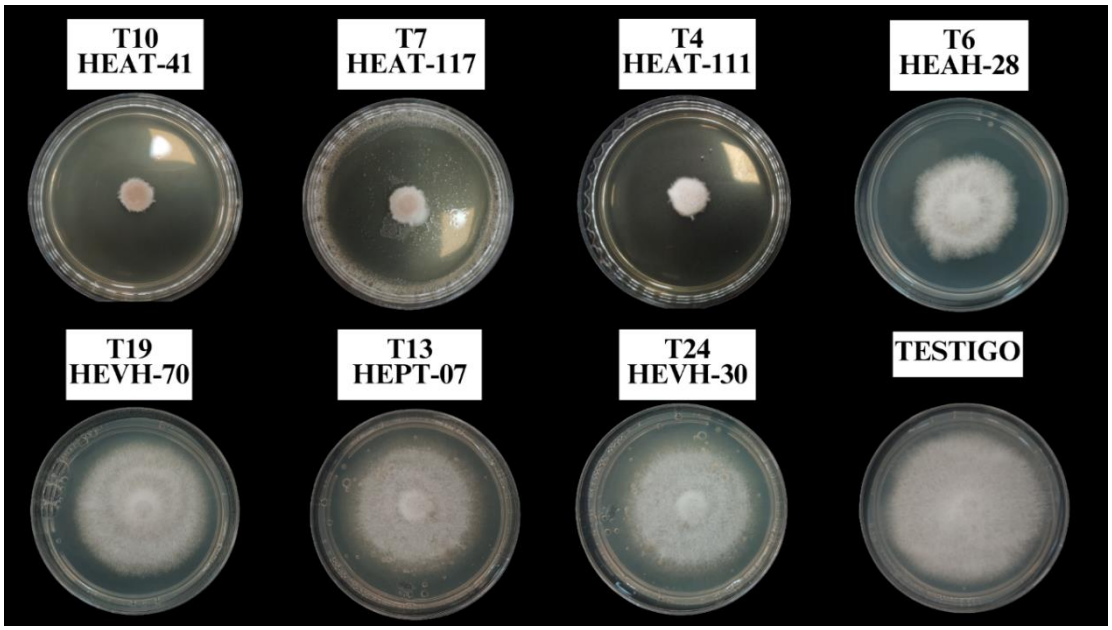


Nota. Elaboración propia (2024).

En la figura 23 se puede apreciar como los metabolitos secundarios de los hongos endófitos tuvieron las características de inhibir el crecimiento micelial del disco del patógeno *Dactylonectria* sp.

Figura 23.

Efecto de metabolitos de hongos endófitos hacia Dactylonectria sp.



Nota. Las evaluaciones se realizaron una vez que el testigo llenó la placa. Elaboración propia (2024).

4.1.2 Control de Pie Negro (Dactylonectria sp.*) de la Vid (Vitis* sp.*) por Hongos Endófitos.*

4.1.2.1. Contenido Relativo de Agua (CRA). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) sobre los datos del contenido relativo de agua en las raíces de plantas de vid (*Vitis* sp.), con el objetivo de evaluar el efecto de cepas de hongos endófitos en el control de *Dactylonectria* sp., causante del pie negro. El ensayo se llevó a cabo en condiciones in vivo en un invernadero. Los resultados obtenidos mostraron un valor F = 7.16 y un p-valor < 0.05, lo que indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Estos resultados sugieren que las cepas de hongos endófitos no presentan un comportamiento uniforme, evidenciando que ejercen diferentes efectos sobre las plantas en el control de la enfermedad del pie negro. Con un error experimental del 31%, se observa una variabilidad notable, pero dentro de lo aceptable para estudios con organismos vivos. A pesar de este margen, los resultados son confiables, ya que los tratamientos con Trichoderma muestran un efecto significativo.

Tabla 11.

Análisis de varianza para evaluar el efecto de cepas de hongos endófitos en el contenido relativo de agua en raíces de plantas inoculadas con Dactylonectria sp.

F. V	SC	GL	MC	Fe	p-Valor
Tratamientos	3183	15	212.2	7.16	0
Error	1422	48	29.64		
Total	4605	63			

CV: 6.67 R^2: 0.69

Nota. Elaboración propia (2024).

En la Tabla 12 y la Figura 24 se muestra la comparación de medias de los 14 tratamientos y 2 testigos (uno inoculado con el patógeno y otro sin inoculación). Según los datos, 6 cepas de hongos endófitos superan el valor de contenido relativo de agua en raíces (CRA) del testigo 2 (planta sana), mostrando un CRA elevado. Estas cepas son: TCH-07 (T13) *Trichoderma inhamatum*, TCH-06 (T12) *Trichoderma asperelloides*, TCH-10 (T14) *Trichoderma parareesei*, HEAT-117 (T3) *Aspergillus niger*, HEPT-04 (T6) *Trichoderma asperellum* y HEVR-02 (T10) *Trichoderma asperellum*, con valores de CRA que varían entre 85.1 % y 91.22 %.

Por otro lado, el testigo 1 (planta inoculada solo con el patógeno) presentó el menor porcentaje de CRA en las raíces, con un 61.86 %, indicando que la planta está en un estado de estrés debido a la infección biótica.

Tabla 12.

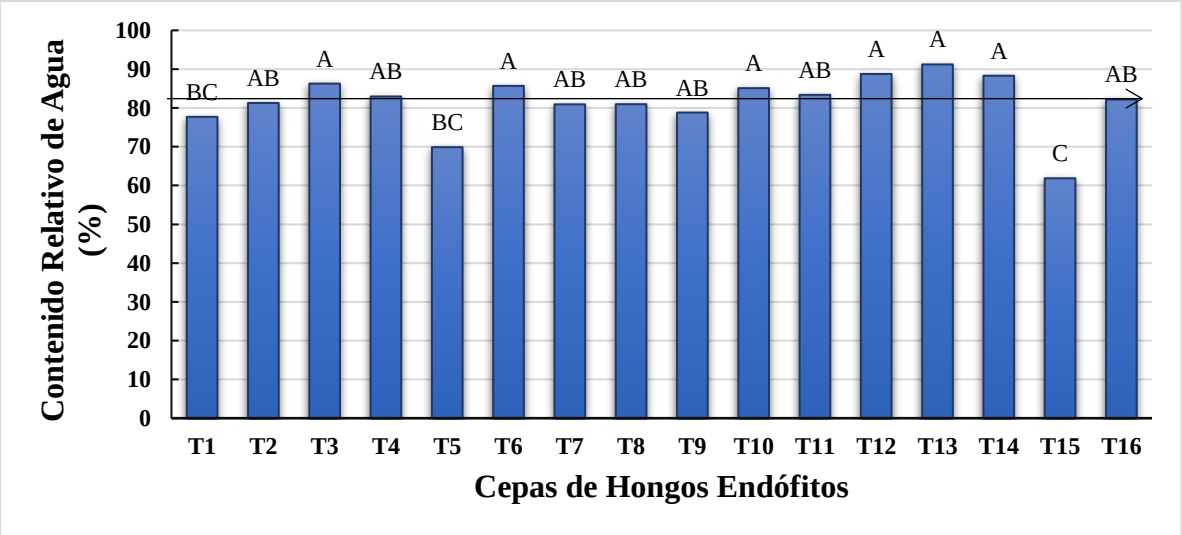
Comparación de medias y categorización de los tratamientos en función del contenido relativo de agua en raíces (CRA)

Tratamiento	Código	Cepa	Media	
T13	TCH - 07	*Trichoderma inhamatum.*	91.22	A
T12	TCH - 06	*Trichoderma asperelloides.*	88.76	A
T14	TCH - 10	*Trichoderma parareesei.*	88.31	A
T3	HEAT - 117	*Aspergillus niger.*	86.27	A
T6	HEPT - 04	*Trichoderma asperellum.*	85.69	A
T10	HEVR - 02	*Trichoderma asperellum*	85.1	A
T11	TCH - 03	*Trichoderma afroharzianum.*	83.38	AB
T4	HEAT - 41	*Cladosporium halotolerans.*	82.95	AB
T16	Testigo (Planta sin inoculación alguna)		82.17	AB
T2	HEAH - 28	*Ulocladium* sp.	81.28	AB
T8	HEVH - 02	*Penicillium steckii.*	80.96	AB
T7	HEVH - 13	*Nigrospora* sp.	80.92	AB
T9	HEVH - 30	*Trichoderma* sp.	78.81	AB
T1	HEAH - 93	*Trichoderma asperellum.*	77.7	AB
T5	HEPT - 07	*Trichoderma* sp.	69.88	BC
T15	Testigo (Planta inoculado solo con el patógeno)		61.86	C

Nota. T15: Testigo inoculado únicamente con el patógeno; T16: Testigo de planta sana. Elaboración propia (2024).

Figura 24.

Comparación de medias de contenido relativo de agua en raíces de vid entre los tratamientos y testigos



Nota. **T15**: Testigo inoculado únicamente con el patógeno; **T16**: Testigo de planta sana. Elaboración propia (2024).

4.1.3. Efecto de los hongos endófitos en el crecimiento vegetativo de vid (Vitis sp.)

4.1.3.1. Tamaño de Brote. Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) con el fin de determinar el efecto de las cepas de hongos endófitos sobre el crecimiento vegetativo de la vid (*Vitis* sp.). Los resultados mostraron un valor F de 7.03 y un p-valor inferior a 0.05, lo que indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Esto sugiere que las cepas de hongos endófitos no tienen un comportamiento homogéneo, ya que algunas promueven un mayor crecimiento en los brotes de la vid que otras. El modelo explicó el 68.62% de la variabilidad total en el crecimiento de los brotes, destacando la relevancia de las cepas como un factor determinante.

Tabla 13.

Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el tamaño de brote de la vid (Vitis sp.*)*

F. V	SC	GL	MC	Fe	p-Valor
Tratamientos	482.6	14	34.469	7.03	0
Error	220.7	45	4.905		
Total	703.3	59			

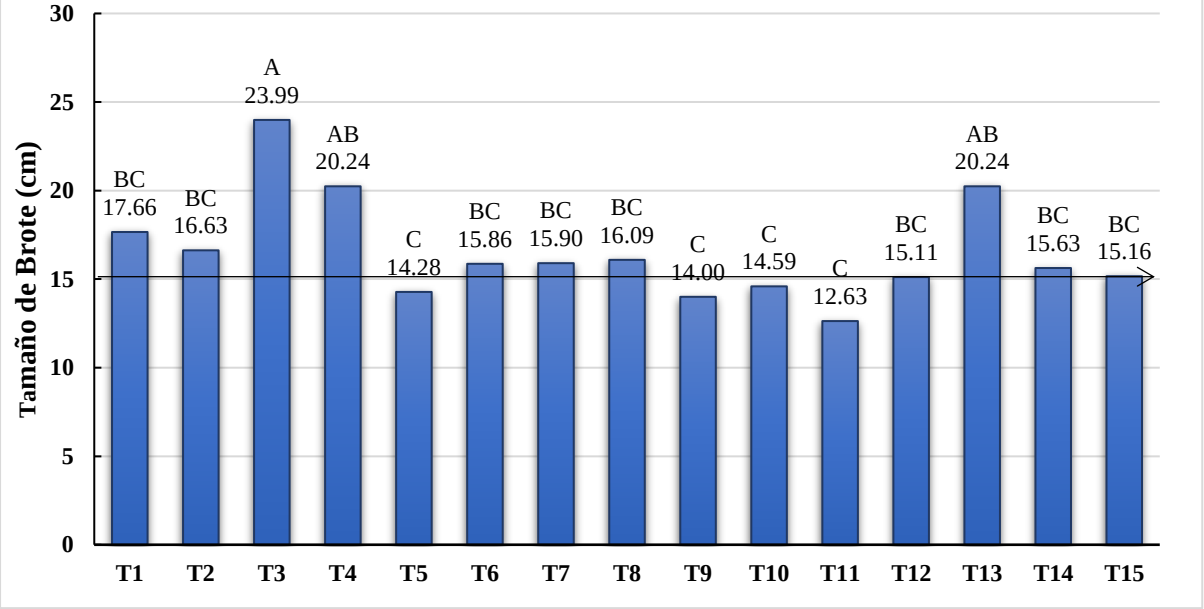
CV: 13.40 R^2:0.69

Nota. Elaboración propia (2024).

En la Figura 25 se presenta la comparación de medias del efecto de las cepas de hongos endófitos sobre el crecimiento de los brotes de la vid (*Vitis* sp.). La cepa de *Aspergillus niger* (T3) mostró el mayor crecimiento de brotes, alcanzando un tamaño promedio de 23.99 cm, superando a las demás cepas. Le siguieron otras cepas como de *Cladosporium halotolerans* (T4) y *Trichoderma inhamatum* (T13), que presentaron un crecimiento promedio de 20.24 cm. En contraste, la cepa *Trichoderma afroharzianum* (T11) mostró el menor efecto sobre el crecimiento, con un tamaño promedio de brote de 12.63 cm, incluso inferior al promedio del testigo, que fue de 15.16 cm.

Figura 25.

Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el crecimiento de brote de la vid (Vitis sp.*)*



Nota. **T15**: Testigo de planta no inoculada con hongo endófito. Elaboración propia (2024).

4.1.3.2. Diámetro de Brote. El análisis de varianza (ANOVA) del efecto de los hongos endófitos en el diámetro de los brotes de la vid (*Vitis* sp.) mostró un valor F de 9.1 y un p-valor menor a 0.05, lo que indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Estos resultados sugieren que las cepas de hongos endófitos no tienen el mismo impacto en el diámetro de los brotes. Además, el modelo explicó el 74 % de la variabilidad de los datos, lo que resalta la importancia de las cepas como factor determinante en el diámetro de los brotes.

Tabla 14.

Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el diámetro de brote de la vid (Vitis sp.*)*

F. V	SC	GL	MC	Fe	p-Valor
Tratamientos	4.86	14	0.35	9.1	0.0001
Error	1.72	45	0.04		
Total	6.57	59			

CV: 5.35 R^2: 0.74

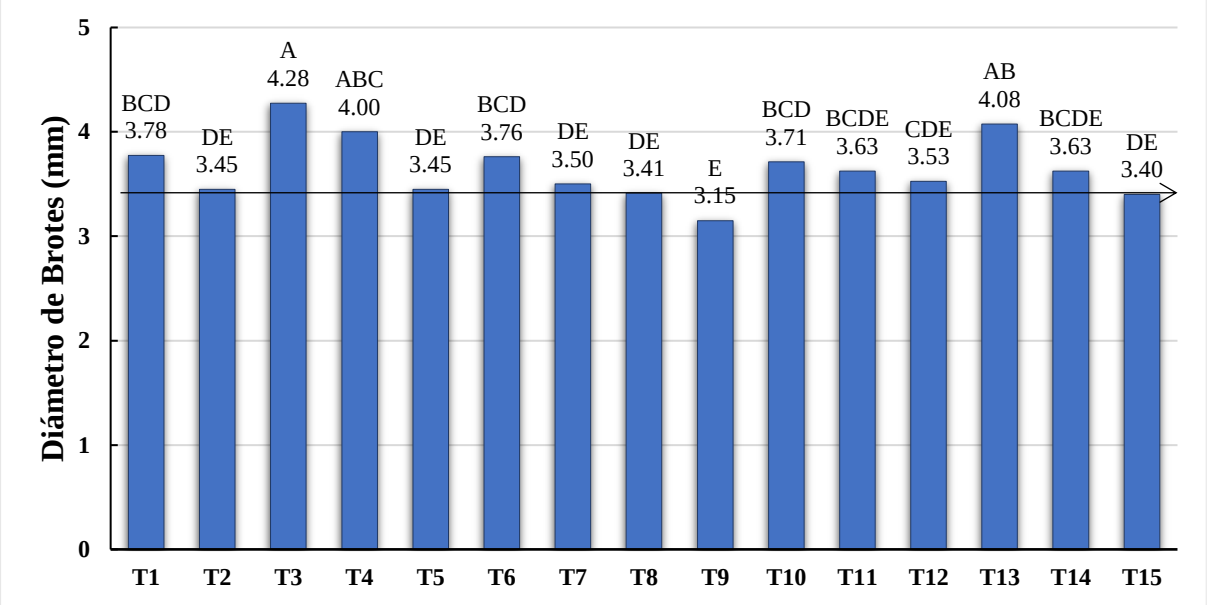
Nota. Elaboración propia (2024).

En la Figura 26 se presenta la comparación de medias sobre el efecto de las cepas de

hongos endófitos en el diámetro de los brotes de la vid (*Vitis* sp.). La cepa de *Aspergillus niger* (T3) presentó el mayor diámetro promedio de los brotes, con 4.28 mm, superando a las demás cepas. Le siguieron otras cepas como *Trichoderma inhamatum* (T13) y Cladosporium *halotolerans* (T4), que mostraron diámetros promedio de 4.08 mm y 4.00 mm, respectivamente. Por otro lado, la cepa *Trichoderma* sp (T9) presentó el menor diámetro promedio de brotes, con 3.13 mm, un valor incluso inferior al promedio del testigo, que fue de 3.40 mm. Este resultado sugiere que algunas cepas tienen un impacto más significativo que otras en el desarrollo de los brotes de la vid.

Figura 26.

Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el diámetro de brote de la vid (Vitis sp.*)*



Nota: **T15**: Testigo de planta no inoculada con hongo endófito. Elaboración propia (2024).

4.1.3.3. Cantidad de Hojas. Para esta variable, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia de 0.05. El valor de p obtenido (0.0321) es menor que 0.05, lo que lleva a rechazar la hipótesis nula. Por lo tanto, se concluye que existen diferencias significativas, lo cual queda reflejado en la Tabla 15.

En la comparación de medias, los resultados muestran que las cepas *Trichoderma inhamatum* (T13) y *Cladosporium halotolerans* (T4) presentaron los mayores promedios en cuanto a la cantidad de hojas. En cambio, la cepa *Trichoderma asperellum* (T10) tuvo el menor

promedio, con 6.38 hojas, incluso por menor que el testigo, que registró una media de 6.88 hojas.

Tabla 15.

Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en cantidad de hojas de la vid (Vitis sp.*)*

Tratamiento	Código	Cepa	Media	
T4	HEAT - 41	*Cladosporium halotolerans.*	8.25	A
T13	TCH - 07	*Trichoderma inhamatum.*	8.25	A
T2	HEAH - 28	*Ulocladium sp.*	8	AB
T3	HEAT - 117	*Aspergillus niger.*	8	AB
T1	HEAH - 93	*Trichoderma asperellum.*	7.5	ABC
T14	TCH - 10	*Trichoderma parareesei.*	7.38	ABC
T6	HEPT - 04	*Trichoderma asperellum.*	7.38	ABC
T8	HEVH - 02	*Penicillium steckii.*	7.38	ABC
T12	TCH - 06	*Trichoderma asperelloides.*	7.25	ABC
T7	HEVH - 13	*Nigrospora sp.*	7.13	ABC
T5	HEPT - 07	*Trichoderma sp.*	7.13	ABC
T15	Testigo		6.88	BC
T9	HEVH - 30	*Trichoderma sp.*	6.63	C
T11	TCH - 03	*Trichoderma afroharzianum.*	6.63	C
T10	HEVR - 02	*Trichoderma asperellum*	6.38	C

Nota. Elaboración propia (2024).

4.1.3.4. Tamaño de Raíz. El análisis de varianza (ANOVA) del efecto de los hongos endófitos en el tamaño de raíz de la vid (*Vitis* sp.) mostró un valor F de 7.84 y un p-valor menor a 0.05, lo que indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Estos resultados sugieren que las cepas de hongos endófitos no tienen el mismo impacto en el tamaño de raíz. Además, el modelo explicó el 70.92 % de la variabilidad de los datos, lo que resalta la importancia de las cepas como factor determinante en el tamaño de la raíz.

Tabla 16.

Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el tamaño de raíz de la vid (Vitis sp.*)*

F. V	SC	GL	MC	Fe	p-Valor
Tratamientos	107.92	14	7.7086	7.84	0
Error	44.24	45	0.9832		
Total	152.16	59			

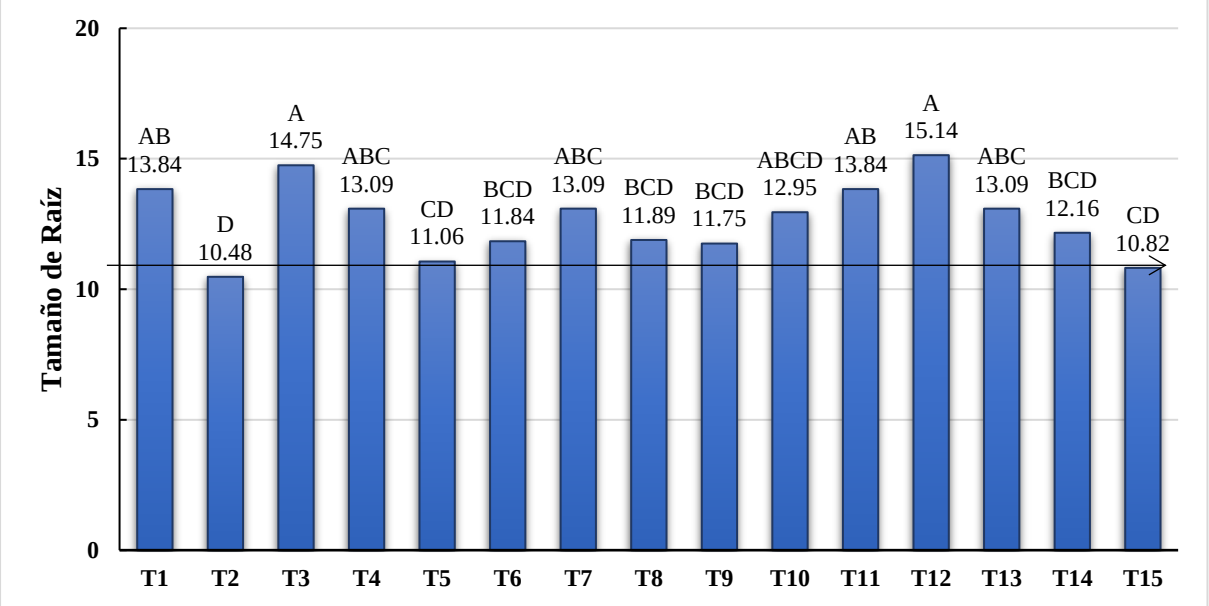
CV: 7.84 R^2:0.71

Nota. Elaboración propia (2024).

En la Figura 27 se muestra el efecto de los hongos endófitos en el tamaño radicular de la vid (*Vitis* sp.). Los mejores resultados fueron observados en las cepas *Trichoderma asperelloides* (T12) y *Aspergillus niger* (T3), con tamaños radiculares de 15.14 cm y 14.75 cm, respectivamente. Otras cepas también mostraron buenos resultados, aunque *Ulocladium* sp (T2) tuvo el menor tamaño, con solo 10.48 cm, incluso por debajo del testigo, que registró 10.82 cm.

Figura 27.

Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el tamaño de raíz de la vid (Vitis sp.*)*



Nota. **T15**: Testigo de planta no inoculada con hongo endófito. Elaboración propia (2024).

4.1.3.5. Peso de Biomasa Aérea Fresca. En la tabla 17 el análisis de varianza (ANOVA) del efecto de hongos endófitos en el peso de la biomasa aérea fresca de vid (*Vitis* sp.) mostró un valor F de 9.25 y un p-valor menor a 0.05, lo que indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Además, el modelo explicó el 74.21 % de la variabilidad de los datos, lo que resalta la importancia de las cepas como factor determinante en el peso de biomasa aérea fresca.

Tabla 17.

Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el peso de biomasa aérea fresca de la vid (Vitis sp.*)*

F. V	SC	GL	MC	Fe	p-Valor
Tratamientos	61.83	14	4.4165	9.25	0
Error	21.48	45	0.4774		
Total	83.31	59			

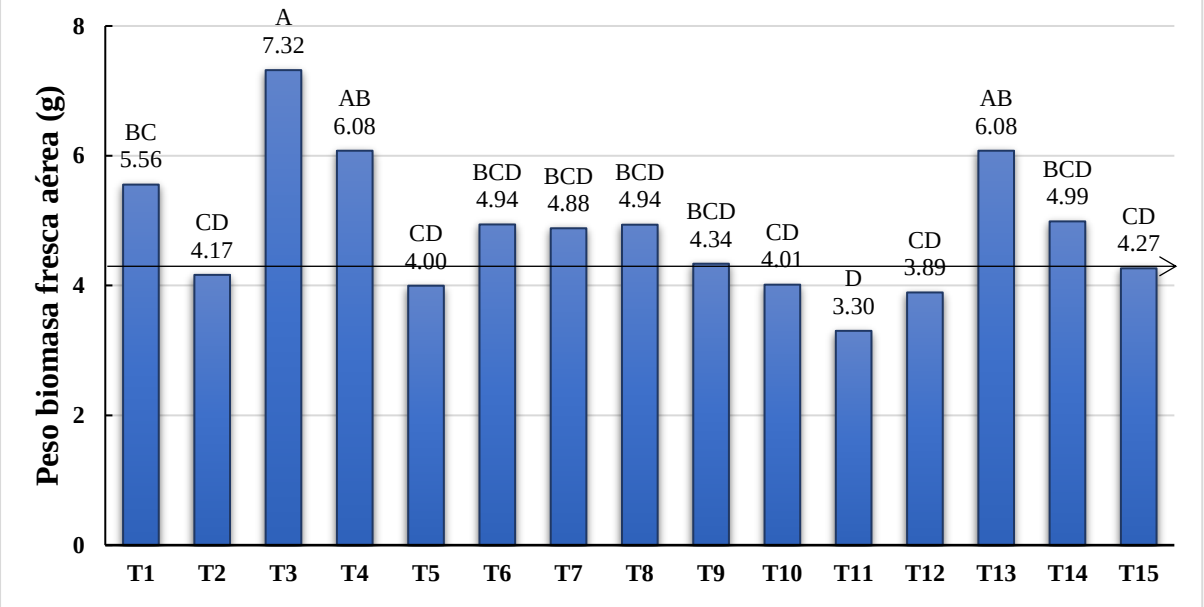
CV:14.24 R^2:0.74

Nota. Elaboración propia (2024).

En la Figura 28 se muestra la comparación de medias del peso de biomasa aérea en plantas tratadas con diferentes cepas de hongos endófitos. La cepa *Aspergillus niger* (T3) obtuvo el mayor peso, con 7.32 g de biomasa aérea fresca. Le siguieron las cepas *Trichoderma inhamatum* (T13) y *Cladosporium halotolerans* (T4), con 6.08 g cada una. Por otro lado, la cepa *Trichoderma afroharzianum* (T11) presentó el menor peso, con solo 3.30

Figura 28.

Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el peso de biomasa aérea fresco de la vid (Vitis sp.*)*



Nota. **T15**: Testigo de planta no inoculada con hongo endófito. Elaboración propia (2024).

4.1.3.6. Peso de Biomasa Aérea Seca. En la tabla 18 el análisis de varianza (ANOVA) del efecto de hongos endófitos en el peso de la biomasa aérea seca de vid (*Vitis* sp.) mostró un valor F de 10.78 y un p-valor menor a 0.05, lo que indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Además, el modelo explicó el 77.03 % de la variabilidad de los datos, lo que resalta la importancia de las cepas como factor determinante en el peso de biomasa aérea fresca.

Tabla 18.

Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el peso de biomasa aérea seca de la vid (Vitis sp.*)*

F. V	SC	GL	MC	Fe	p-Valor
Tratamientos	9.341	14	0.6672	10.78	0
Error	2.786	45	0.0619		
Total	12.126	59			

CV: 15.12 R^2:0.77

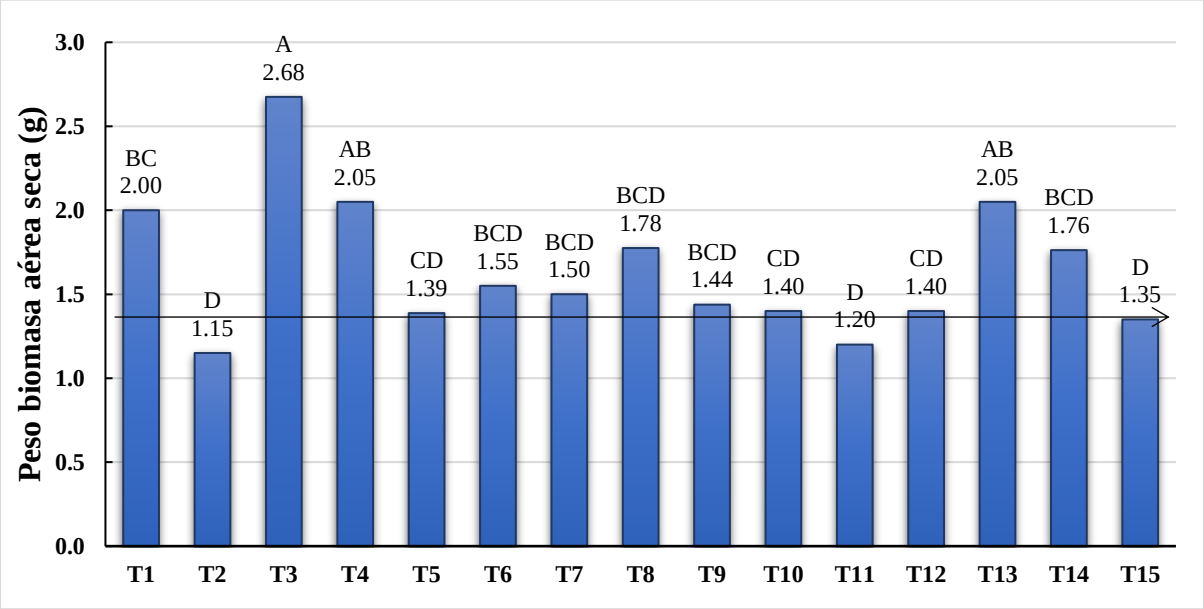
Nota. Elaboración propia (2024).

En la Figura 29 se muestra la comparación de medias del peso de biomasa aérea seca en plantas tratadas con diferentes cepas de hongos endófitos. La cepa *Aspergillus niger* (T3)

obtuvo el mayor peso, con 2.68 g de biomasa aérea seca. Le siguieron las cepas *Trichoderma inhamatum* (T13) y *Cladosporium halotolerans* (T4), con 2.05 g cada una. Por otro lado, la cepa *Ulocladium* sp (T2) presentó el menor peso, con solo 1.15.

Figura 29.

Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el peso de biomasa aérea seca de la vid (Vitis sp.*)*



Nota. **T15**: Testigo de planta no inoculada con hongo endófito. Elaboración propia (2024).

4.1.3.7. Peso de Biomasa Radicular Fresca. En la tabla 19 el análisis de varianza (ANOVA) del efecto de hongos endófitos en el peso de la biomasa radicular fresca de vid (*Vitis* sp.) mostró un valor F de 11.13 y un p-valor menor a 0.05, lo que indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Además, el modelo explicó el 77.59 % de la variabilidad de los datos, lo que resalta la importancia de las cepas como factor determinante en el peso de biomasa radicular fresca.

Tabla 19.

Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el peso de biomasa radicular fresca de la vid (Vitis sp.*)*

F. V	SC	GL	MC	Fe	p-Valor
Tratamientos	181.66	14	12.975	11.13	0
Error	52.48	45	1.166		
Total	234.13	59			

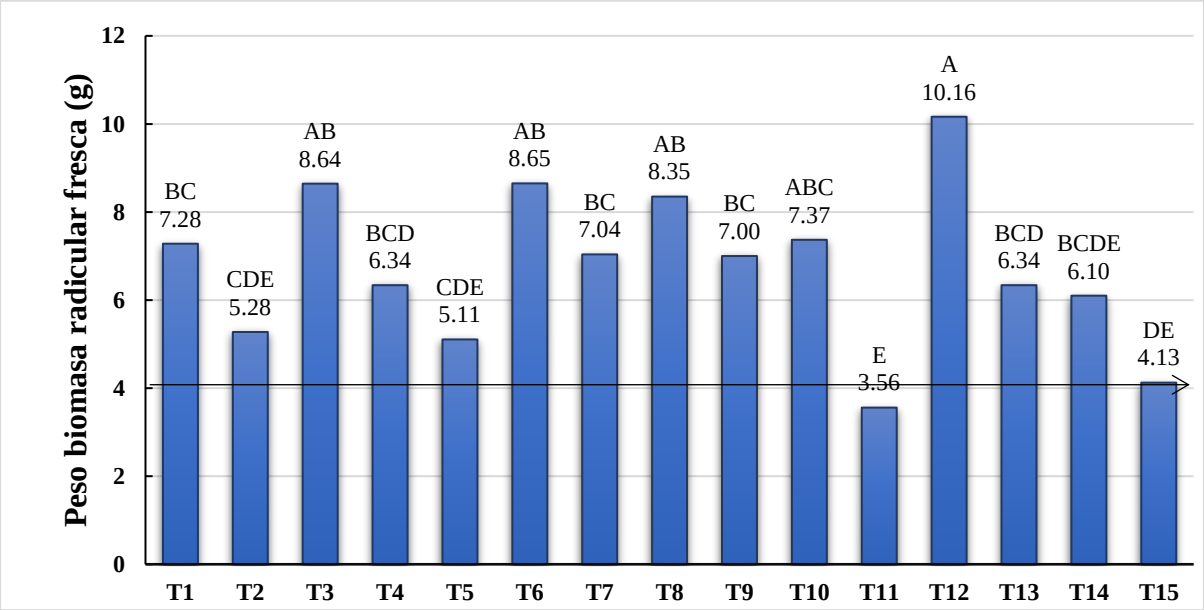
CV: 15.94 R^2: 0.78

Nota. Elaboración propia (2024).

En la Figura 30 se muestra la comparación de medias del peso de biomasa radicular en plantas tratadas con diferentes cepas de hongos endófitos. La cepa *Trichoderma asperelloides* (T12) obtuvo el mayor peso, con 10.16 g de biomasa radicular fresca. Le siguieron las cepas *Trichoderma asperellum* (T6) y *Aspergillus niger* (T3) con 8.65 g cada una. Por otro lado, la cepa *Trichoderma afroharzianum* (T11) presentó el menor peso, con solo 3.30.

Figura 30.

Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el peso de biomasa radicular fresca de la vid (Vitis sp.*)*



Nota. **T15**: Testigo de planta no inoculada con hongo endófito. Elaboración propia (2024).

4.1.3.8. Peso de biomasa radicular seca. En la tabla 20 el análisis de varianza (ANOVA) del efecto de hongos endófitos en el peso de la biomasa radicular seca de vid (*Vitis* sp.) mostró un valor F de 25.44 y un p-valor menor a 0.05, lo que indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Además, el modelo explicó el 88.78 % de la variabilidad de los datos, lo que resalta la importancia de las cepas como factor determinante en el peso de biomasa radicular seca.

Tabla 20.

Análisis de varianza para evaluar el efecto de las cepas de hongos endófitos en el peso de biomasa radicular seca de la vid (Vitis sp.)

F. V	SC	GL	MC	Fe	p-Valor
Tratamientos	19.087	14	1.36336	25.44	0
Error	2.411	45	0.05358		
Total	21.498	59			

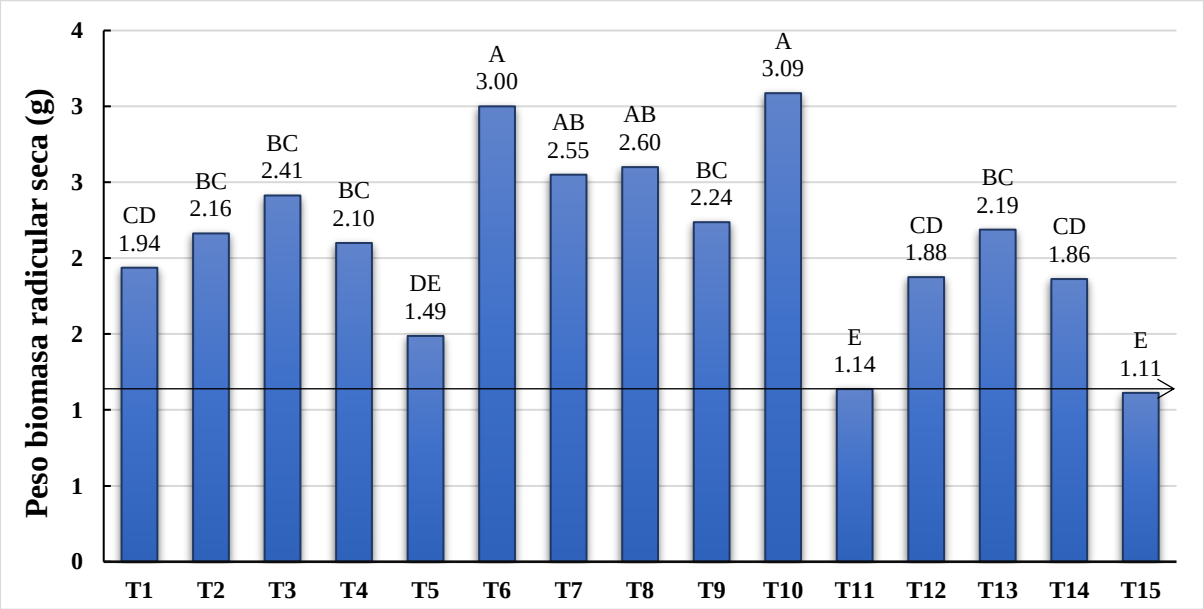
CV: 10.94 R^2: 0.89

Nota. Elaboración propia (2024)

En la Figura 31 se muestra la comparación de medias del peso de biomasa radicular seca en plantas tratadas con diferentes cepas de hongos endófitos. La cepa *Trichoderma asperellum* (T10) y *Trichoderma asperellum* (T6) obtuvieron el mayor peso, con 3.09 y 3 g de biomasa radicular seca. Por otro lado, el testigo (T15) presentó el menor peso, con solo 1.11.

Figura 31.

Comparación de medias del efecto de hongos endófitos en el peso de biomasa radicular seca de la vid (Vitis sp.*)*



Nota. **T15**: Testigo de planta no inoculada con hongo endófito. Elaboración propia (2024).

4.2 Discusión

Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran el potencial de los hongos endófitos en diferentes variables evaluadas tanto a nivel de laboratorio y vivero, los endófitos del género *Trichoderma* destacaron en los ensayos de antibiosis mediante el método de cultivo dual. Entre ellos, la cepa *Trichoderma asperelloides* mostró el mejor desempeño al inhibir significativamente el crecimiento y colonizar a *Dactylonectria sp*. Resultados similares han sido reportados por Rodríguez y Wang (2020) evaluaron la inhibición de *Fusarium oxysporum* mediante uso de cepas nativas de *Trichoderma*, destacando que la especie *T asperelloides* inhibió un 67% del crecimiento micelial. Este efecto se atribuye a la notable plasticidad de la especie, su rápida velocidad de crecimiento y desarrollo, así como a su capacidad de micoparasitismo, que le permite adherirse, enrollar y penetrar a patógenos. Además, produce enzimas extracelulares como quitinasas y celulasas, las cuales degradan la pared celular de diversos patógenos (Infante et al., 2009). Otros resultados similares tuvo Pincay et al. (2021) también observaron resultados similares, donde cepas de hongos endófitos del género *Trichoderma* inhibieron entre un 73.7 y 75.1 % el crecimiento de *Botrytis cinerea*, mediante cultivos duales. Además, Kovács et al. (2021) destacaron la eficacia de una cepa endófita de *Trichoderma* aislada de vid contra patógenos de madera, alcanzando una inhibición de 100% para *Diplodia seriata* y *Eutypa lata*, y del 95.19% para *Neofusicoccum parvum*. En cuanto a la colonización de *Dactylonectria sp*, solo algunas cepas de los hongos endófitos mostraron cierto porcentaje. La cepa de *T asperelloides* destacó con un 86.67 % de colonización. De manera similar, Leon et al. (2022) reportaron un 100 % de colonización al emplear cepas endófitas de *Trichoderma* en la colonización de *Botrytis cinerea*.

En cuanto a los metabolitos secundarios, los producidos por *Cladosporium halotolerans* y *Aspergillus niger* demostraron una notable capacidad inhibitoria frente a *Dactylonectria* sp. Silva et al. (2021) reportaron que los metabolitos secundarios de *Cladosporium sp.* inhibieron el crecimiento de *Neofusicoccum parvum* y *Diplodia seriata* en un 34.26 % y 42.46 %, respectivamente. Estudios adicionales, como los de Wang et al. (2013), analizaron la actividad antifúngica de los metabolitos secundarios de *Cladosporium cladosporioides*. Los resultados mostraron que la cladosporina extraída inhibió significativamente el crecimiento de diversos patógenos, con porcentajes del 92.7 % para *Colletotrichum acutatum*, 90.1 % para *Colletotrichum fragariae*, 95.6 % para *Colletotrichum gloeosporioides* y 79.9 % para *Phomopsis vitivola*. Asimismo, la isocladosporina también mostró efectos inhibitorios, con valores de 50.4 %, 60.2 % y 83 % frente a *Colletotrichum*

fragariae, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Phomopsis vitivola*, respectivamente. Por otro lado, *Aspergillus niger* ha sido ampliamente estudiado por su actividad antifúngica. Gangaraj et al. (2024) evaluaron los metabolitos secundarios de este hongo contra *Fusarium oxysporum* en guayaba, demostrando que estos compuestos lograron inhibir hasta un 86.33 % el crecimiento del patógeno. Resultados similares fueron reportados por Abdulameer et al. (2017), quienes observaron que los metabolitos secundarios extraídos de *Aspergillus niger* lograron inhibir el 100 % del crecimiento de *Pyricularia oryzae*. Adicionalmente, Ngo et al. (2021) destacaron la capacidad antifúngica de diversos compuestos producidos por *Aspergillus*, incluyendo la esferopsidina, la formosusina, la variotina y la asperlina, todos ellos efectivos en el control de diversas enfermedades en plantas.

En cuanto a la variable de contenido relativo de agua (CRA) para evaluar el control de la enfermedad de pie negro en plantas de vid, las cepas *Trichoderma inhamatum* y *T. asperelloides* mostraron los mayores porcentajes de CRA. Esto sugiere que las plantas tratadas con estas cepas presentaron menores signos de estrés, lo que podría interpretarse como un indicador de una menor infección por parte del patógeno. Por lo tanto, estas cepas podrían considerarse como los controles más efectivos en este contexto. Resultados similares fueron reportados por Mahmood *et al*. (2024) quienes encontraron que las plantas de algodón inoculadas con *Trichoderma* y *Fusarium* mostraron porcentajes de CRA más altos en comparación con plantas de algodón sanas y aquellas infectadas únicamente con *Fusarium*. Estos hallazgos refuerzan la hipótesis de que las cepas de *Trichoderma* pueden reducir, en cierta medida, la infección de los patógenos en las plantas, evitando que estas entren en un estado de estrés biótico y estimulando sus mecanismos de defensa.

En cuanto a la promoción del crecimiento de las plantas de vid mediante el uso de hongos endófitos, las cepas *Aspergillus niger*, *Trichoderma inhamatum*, *Cladosporium halotolerans*, *Trichoderma asperelloides* y *Trichoderma asperellum* destacaron por sus resultados favorables en diferentes parámetros evaluados.

Investigaciones previas respaldan los resultados obtenidos. Mathur *et al*. (2024) demostraron que una cepa endófita de *Aspergillus niger* mejoró significativamente el desarrollo de raíces y brotes en *Vigna radiata*, *Vigna mungo* y *Vigna aconitifolia*. Estos efectos se atribuyen a la interacción positiva entre la planta huésped y el endófito, así como a la producción de metabolitos secundarios como compuestos orgánicos volátiles (COV), ácido benzoico y otros compuestos fenólicos. Además, se ha comprobado que *A. niger* solubiliza

fosfatos, haciéndolos asimilables por las plantas, y produce fitohormonas como ácido indolacético (IAA) y ácido giberélico (GA), esenciales para la elongación celular (Márquez et al., 2022).

Por otro lado, Jiang et al. (2021) evaluaron el efecto de los COV producidos por *Cladosporium halotolerans* en la germinación y crecimiento de diferentes hortalizas, observando incrementos significativos en el peso fresco de raíces (hasta 11.25 veces), hojas (3.75 veces) y contenido de clorofila (3.99 veces) en plántulas de *Nicotiana benthamiana*. Estos resultados resaltan el impacto de metabolitos como el 2-metil-butanal y el 3-metil-butanal en la promoción del crecimiento vegetal (PGP).

El género *Trichoderma* ha sido ampliamente estudiado por su capacidad como promotor de crecimiento vegetal (PGP). Phoka et al. (2020) parte de su investigación evaluaron los efectos de *Trichoderma asperelloides* en plantas de *Arabidopsis thaliana* y confirmaron su capacidad para mejorar diversos parámetros, como el tamaño de las raíces, el peso fresco y el contenido de clorofila. Además, al analizar los compuestos orgánicos volátiles (COV) emitidos, identificaron que la cepa *T. asperelloides* PSU-P1 genera COV responsables no solo de la actividad antifúngica, sino también de estimular el crecimiento vegetal y activar respuestas defensivas en *A. thaliana*. Por otro lado Tseng et al. (2020) realizaron ensayos en invernadero con plantas de *A. thaliana* inoculadas con *Trichoderma*. Aunque no observaron diferencias significativas en la germinación, a las cuatro semanas las plantas tratadas eran el doble de grandes en comparación con el control, demostrando un efecto significativo como promotor de crecimiento en las etapas iniciales. Sin embargo, con el paso del tiempo, estas diferencias se redujeron y no se evidenciaron mejoras significativas en el rendimiento final. Esto sugiere que el impacto de *Trichoderma* es más evidente en las primeras etapas de desarrollo. En un estudio de invernadero Rodríguez y Vargas (2022) analizaron el efecto de distintas especies de *Trichoderma* en el crecimiento del tomate. La cepa *T. asperelloides* fue la más destacada, logrando los mejores resultados en número de hojas (116), longitud de raíz (90.1 cm), altura de planta (175.9 cm) y biomasa seca total (204.5 g). Le siguió *T. asperellum*, que también mostró resultados significativos en comparación con otras cepas y el control.

Estos estudios resaltan que cada cepa de Trichoderma posee características únicas que deben ser evaluadas detalladamente para determinar su potencial en aplicaciones agrícolas. Algunas cepas pueden ser más efectivas en el control de patógenos, mientras que otras pueden promover el crecimiento vegetal o mejorar la salud del suelo. La investigación continua es crucial para

identificar las cepas más adecuadas, no solo en términos de control biológico, sino también por su capacidad para mejorar la biodiversidad microbiana en el suelo y fortalecer las relaciones simbióticas con las plantas. Este enfoque permitirá establecer su viabilidad como alternativas sostenibles y específicas para el manejo de cultivos, maximizando sus beneficios y minimizando los riesgos potenciales para otros organismos beneficiosos.

V. Conclusiones

- Las especies *T. asperelloides* (TCH-06), *T. parareesei* (TCH-10) y *T. afroharzianum* (TCH-03) demostraron una eficaz capacidad antagónica contra *Dactylonectria* sp., inhibiendo el crecimiento micelial y colonizando al patógeno mediante enfrentamientos directos. Además, los metabolitos secundarios de *Cladosporium halotolerans (*HEAT-41) y *Aspergillus niger* (HEAT-117) presentaron una notable capacidad para inhibir el desarrollo del patógeno, lo que confirma su potencial como herramientas útiles en el control biológico de *Dactylonectria* sp..
- La aplicación de *Trichoderma inhamatum* (TCH-07) y *Trichoderma asperelloides* (TCH-06) redujo significativamente la infección por *Dactylonectria* sp. (pie negro) en las raíces de las plantas de vid. Este control contribuyó a mejorar el contenido relativo de agua en las raíces, ayudando a mantener la salud y vigor de las plantas en condiciones de vivero.
- En cuanto al crecimiento vegetativo de la vid, *Aspergillus niger* (HEAT-117), un hongo endófito, favoreció el desarrollo de las plantas, incrementando el tamaño de los brotes, el diámetro del tallo y la biomasa aérea fresca y seca. Por otro lado, los endófitos *T. inhamatum* (TCH-10) y *C. halotolerans* (HEAT-41*)* promovieron un mayor número de hojas, mientras que *T. asperelloides* (TCH-06) estimuló un mayor crecimiento radicular, con un aumento en el peso de la biomasa radicular fresca. *T. asperellum* (HEVR-02) mostró los mejores resultados en cuanto al peso de la biomasa radicular seca.

VI. Recomendaciones

Con base en las condiciones en las que se desarrolló la investigación, se proponen las siguientes recomendaciones:

- Realizar la caracterización bioquímica de los hongos endófitos con mejores resultados, para identificar los compuestos responsables de la inhibición de *Dactylonectria* sp., y evaluar su aplicabilidad en programas de control biológico.
- Se sugiere realizar estudios adicionales sobre la dosis óptima y la frecuencia de aplicación de *Trichoderma inhamatum* y *Trichoderma asperelloides* para maximizar la protección de las raíces y mejorar el contenido relativo de agua en diferentes condiciones ambientales, asimismo considerar más parámetros de evaluación.
- Es necesario evaluar los efectos a largo plazo de las cepas *Trichoderma inhamatum*, *Trichoderma asperelloides*, *Cladosporium halotolerans* y *Aspergillus niger* sobre el rendimiento y la salud general de las plantas de vid. Esto incluye analizar cómo estas cepas pueden mejorar el crecimiento, la resistencia a enfermedades y la adaptación a condiciones de estrés ambiental.
- Se debe investigar la producción de compuestos orgánicos volátiles (COV), especialmente aquellos generados por *Cladosporium halotolerans* y *Aspergillus niger*, que podrían promover el crecimiento vegetal, contribuyendo a un manejo más eficiente y sostenible de los cultivos.
- Evaluar los posibles riesgos derivados de la liberación de micotoxinas de los hongos endófitos identificados, que podrían comprometer la calidad y seguridad de los cultivos de vid. Esta investigación permitirá desarrollar estrategias agrícolas que maximicen los beneficios de las cepas sin poner en peligro la salud de las plantas ni la seguridad del medio ambiente.

VII. Referencias Bibliográficas

Abdulameer Idan, A., Sijam, K., Kadir, J., Sulaiman Rashid, T., Kakakhan Awla, H., & Alsultan, W. (2017). (PDF) Biological Control of Pyricularia oryzae Using Antifungal Compounds Produced by *Aspergillus niger*. *ResearchGate*. https://doi.org/10.4236/ajps.2017.810166

Abello, J. F., y Kelemu, S. (2007). Hongos endófitos: Ventajas adaptativas que habitan en el interior de las plantas. *Revista Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, *7*(2), 55-57. https://doi.org/10.21930/rcta.vol7_num2_art:70.

Agrios, G. (2005). *Fitopatología de G. N. Agrios* (Vol. 31). http://biblioteca.utsem-morelos.edu.mx/files/asp/biologia/FITOPATOLOGIA%20-%20George%20N-Agrios.pdf

Agustí-Brisach, C., Gramaje, D., Garcia-Jimenez, J., & Armengol, J. (2013). Detection of black-foot and Petri disease pathogens in soils of grapevine nurseries and vineyards using bait plants. *Plant and Soil*, *364*, 5-13. https://doi.org/10.1007/s11104-012-1333-1

Alaniz Ferro, S. M. (2008). *Caracterización y control de Cylindrocarpon spp.agente causal del pie negro de la vid* [Tesis doctoral, Universidad Politécnica de València]. https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/2422

Álvarez Bernaola, L. A. (2013, octubre 30). *Hongos de Madera en el Cultivo de la Vid*. Vivero Los Viñedos SAC - Issuu. https://issuu.com/vivero-los-vinedos/docs/ponencia_alvarez

Anuario FAO. (2020, agosto 29). *Higos y uvas – academia extremeña de gastronomía*. https://aexgastronomia.es/2020/08/29/higos-y-uvas/

Aragón, S. M., y Beltrán-Acosta, C. (2019). Endophytic fungi in biological control of phytopathogens and insect pests. *Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (agrosavia)*, *2*, 856.

Arévalo, E., Cayotopa, J., Olivera, D., Gárate, M., Trigoso, E., Costa, B., & León, B. (2017). Optimización de sustratos para la producción de conidios de *Trichoderma harzianum* por fermentación sólida en la Región de san Martin Perú. *Revista Investigaciones Altoandinas*, *19*(2), 135-144.

Armendáriz Guillén, B. (2013). *Hongos Endófitos Productores de Metabolitos Secundarios con Potencial Fitotóxico y Antifúngico* [Tesis de título de Química Farmacéutica Bióloga, Universidad Nacional Autónoma de México]. http://132.248.9.195/ptd2013/abril/0692243/0692243.pdf

Bailey, B. A., Bae, H., Strem, M. D., Crozier, J., Thomas, S. E., Samuels, G. J., Vinyard, B. T., & Holmes, K. A. (2008). Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic Trichoderma isolates with biological control potential in Theobroma cacao. *Biological Control*, *46*(1), 24-35. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.003

Barnett, H. L., y Hunter, B. B. (1972). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Company.

Cabral, A., y Crous. (2012, septiembre 21). *Dactylonectria novozelandica (ILYONO)*. EPPO Global Database. https://gd.eppo.int/taxon/ILYONO

Cuya, E. (2013). *Propagación e Instalación del cultivo de la vid*. Agrobanco. https://www.agrobanco.com.pe/data/uploads/ctecnica/040-b-vid.pdf

FLUCTUANTE. (2024, abril 21). Exportaciones de uva de mesa peruana cierre de campaña 2023-24. *Fluctuante*. https://fluctuante.lat/agroexportaciones peruanas/2024/04/21/ exportaciones-de-uva-de-mesa-peruana-cierre-de-campana-2023-24/

Frago. (2021, octubre 6). Metabolitos Secundarios de Hongos Benéficos: Protegen y Activan tus cultivos orgánicos. *El blog de Fagro. Artículos y noticias sobre agricultura.* https://blogdefagro.com/2021/10/06/metabolitos-secundarios-de-hongos-beneficos-protegen-y-activan-tus-cultivos-organicos-descubre-como/

Gangaraj, R., Kundu, A., Prakash, G., Das, A., Nagaraja, A., & Kamil, D. (2024). Profiling of bioactive secondary metabolites from *Aspergillus niger* against a guava wilt pathogen, *Fusarium oxysporum f. sp.* Psidii. *Archives of Microbiology*, *206*(12), 473. https://doi.org/10.1007/s00203-024-04199-7

Gonzáles Jiménez, Álvaro. (2019, junio 13). *Enfermedades de la Vid*. https://www.fertibox.net/single-post/enfermedades-en-los-vi%C3%B1edos

González, L., & González-Vilar, M. (2001). Determination of Relative Water Content. En M. J. Reigosa Roger (Ed.), *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques* (pp. 207-212). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/0-306-48057-3_14

Guzmán Carro, H., Compant, S., Gorfer, M., Cardoza, R., Schmoll, M., Gutíerrez, S., & Casquero, P. (2020). Colonization of Vitis vinifera L. by the Endophyte Trichoderma sp. Strain T154: Biocontrol Activity Against *Phaeoacremonium minimum*. *Fronteras en la ciencia de las plantas, 11*. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.01170/full

Halleen, F., Crous, R. W., & Petrin, O. (2003). Fungi associated with healthy grapevine cuttings in nurseries, with special reference to pathogens involved in the decline of young vines. *Australasian Plant Pathology*, *32*(1), 47-52. https://doi.org/10.1071/AP02062

Halleen, F., Fourie, P. H., & Crous, P. W. (2006). A review of black foot disease of grapevine. *Fitopatol Mediterráneo*, *45*, 55-67. https://www.researchgate.net/publication/40111026_A_review_of_black_foot_disease_of_grapevine

Hernández Lauzardo, A. N., Bautista-Baños, S., Velázquez-del Valle, M. G., & Hernández-Rodríguez, A. (2007). Uso de Microorganismos Antagonistas en el Control de Enfermedades Postcosecha en Frutos. *Revista mexicana de fitopatología*, *25*(1), 66-74. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0185-

33092007000100009&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, *24*(1), 14-21. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1010-27522009000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Ivaldi, T. (2022, agosto 23). Diseño experimental: Definición y ejemplos. *Tesis y Másters Colombia*. https://tesisymasters.com.co/diseno-experimental/

Jiang, L., Lee, M. H., Kim, C. Y., Kim, S. W., Kim, P. I., Min, S. R., & Lee, J. (2021). Plant Growth Promotion by Two Volatile Organic Compounds Emitted From the Fungus *Cladosporium halotolerans* NGPF1. *Frontiers in Plant Science*, *12*. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.794349

Kovács, C., Csótó, A., Pál, K., Nagy, A., Fekete, E., Karaffa, L., Kubicek, C. P., & Sándor, E. (2021). The Biocontrol Potential of Endophytic Trichoderma Fungi Isolated from Hungarian Grapevines. Part I. Isolation, Identification and In Vitro Studies. *Pathogens*, *10*(12), 1612. https://doi.org/10.3390/pathogens10121612

Latz, M. A. C., Jensen, B., Collinge, D. B., & Jørgensen, H. J. L. (2018). Endophytic fungi as biocontrol agents: Elucidating mechanisms in disease suppression. *Plant Ecology & Diversity*, *11*(5-6), 555-567. https://doi.org/10.1080/17550874.2018.1534146

León Carrasco, J. C. (2024, julio 3). *Áreas sembradas de uva de mesa en Perú alcanzaron las 22.343 hectáreas en la campaña 2023/2024, mostrando un leve aumento de 0.8%*. Agraria.pe Agencia Agraria de Noticias. https://agraria.pe/noticias/areas-sembradas-de-uva-de-mesa-en-peru-alcanzaron-las-22-343-36288

Leon Tacca, B., Yactayo Yataco, R. J., Astete Farfán, A., Mattos Calderón, L., & Arestegui Cantoral, J. C. (2022). Antibiosis y micoparasitismo de hongos endófitos sobre el agente causal del moho gris del arándano (*Botrytis cinerea*). *Bioagro*, *34*(3), 209-222.

Lyndad. (16 de noviembre de 2018). *Taxonomía vegetal: Uva. Taxonomía vegetal.* http://danyenede.blogspot.com/2018/11/uva.html

Lombard, L., van der Merwe, N., Groenewald, J. Z., & Crous, P. (2015). Generic concepts in Nectriaceae. *Studies in Mycology*, *80*. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.12.002

Mahmood, T., Adnan, M., Moosa, A., Mahmood, M., Rehman Khan, A. ur, Riaz, M., Qammar, S., Qayyum, A., Muhammad Qammar, G., Shoaib Shoukit, M., Saqib Bilal, M., Luqman, M., & Afzal. (2024). Mproved physiological responses and stress tolerance in cotton against fusarium wilt with *Trichoderma harzianum* treatment. *Plant Protection*, *8*(2), 217-228. https://doi.org/10.33804/pp.008.02.4894

Marquez Mundim, G. de S., Mascarenhas Maciel, G., & Mendes, G. de O. (2022). Aspergillus niger as a Biological Input for Improving Vegetable Seedling Production. *Microorganisms*, *10*(4), 674. https://doi.org/10.3390/microorganisms10040674

Martínez, F. (1991). *Biología de la vid: Fundamentos biológicos de la viticultura*. Mundi-Prensa.

Mathur, P., Agrawal, P., Ghosh, U., Sharma, C., Bhatnagar, P., & Chaturvedi, P. (2024). Growth promotion ability of endophytic *Aspergillus niger* on different species of Vigna. *Vegetos*, *37*(1), 192-201. https://doi.org/10.1007/s42535-023-00570-z

Menéndez, A. B. (1996). *Micoparasitismo de Trichoderma spp. sobre el patógeno vegetal de suelo Sclerotinia sclerotiorum: Pruebas preliminares sobre el biocontrol de esta enfermedad* [Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Buenos Aires]. https://repositoriosdigitales.mincyt.gob.ar/vufind/Record/BDUBAFCEN_6efa18addd653e81cf6906caf2012908

MIDAGRI. (2018). *Requerimientos Agroclimáticos del cultivo de vid*. https://www.midagri.gob.pe/portal/informacion-agroclimatica/fichas-tecnicas-2018?download=14055:ficha-tecnica-cultivo-de-vid

Morales Pizarro, A., Javier Alva, J., Álvarez Bernaola, L., Mayta Obos, R., Aguilar Anccota, R., Peña Castillo, R., & Chanduvi García, R. (2022). Aislamiento, Identificación Y Evaluación In Vitro De Aislados Nativos De Bacillus, Trichoderma Y Streptomyces Con Potencial Para El Biocontrol De Los Hongos De La Madera De La Vid. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, *25*. https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/download/4206/1846

Muñoz Guerrero, J. (2021). *Hongos Endófitos de Lima Tahití (citrus citrus x latifolia) y su Utilidad en el Biocontrol de Colletotrichum acutatum Causante de Antracnosis* [Tesis de Maestría, Universidad de Santander]. https://repositorio.udes.edu.co/entities/publication/f1a0a605-b5e7-4f72-a6c9-e10d8e478efc

Nakasone, K. K., Peterson, S. W., & Jong, S.-C. (2004). Preservation And Distribution Of Fungal Cultures. En *Biodiversity of Fungi* (Elsevier Academic Press, pp. 37-47). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-012509551-8/50006-4

Ngo, M. T., Van Nguyen, M., Han, J. W., Kim, B., Kim, Y. K., Park, M. S., Kim, H., & Choi, G. J. (2021). Biocontrol Potential of Aspergillus Species Producing Antimicrobial Metabolites. *Frontiers in Microbiology*, *12*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.804333

Ortiz, M. (2024, agosto 28). *Perú exportaría 78,7 millones de cajas de uva de mesa en la campaña 2024/2025*. Redagrícola. https://redagricola.com/peru-exportaria-787-millones-de-cajas-de-uva-de-mesa-en-la-campana-2024-2025/

Peteira Delgado, B., Arévalo Ortega, J., Ynfante Martínez, D., & Martínez Coca, B. (2021). Los hongos endófitos y sus aplicaciones potenciales en la agricultura. *Revista de Protección Vegetal*, 36(3). http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article /vie w/1167

Phoka, N., Suwannarach, N., Lumyong, S., Ito, S., Matsui, K., Arikit, S., & Sunpapao, A. (2020). Role of Volatiles from the Endophytic Fungus *Trichoderma asperelloides* PSU-P1 in Biocontrol Potential and in Promoting the Plant Growth of Arabidopsis thaliana. *Journal of Fungi*, *6*(4), 341. https://doi.org/10.3390/jof6040341

Picornell Buendía, M. R., & Melero Martínez, J. M. (2012). Historia del cultivo de la vid y el vino; su expresión en la Biblia. *Ensayos: Revista de la Facultad de Educación de Albacete*, 27, 217-246.

Pincay Verdezoto, A. K., Noboa, M., Viera, W., Herrera, K., León, A., & Jackson, T. (2021). Evaluación in vitro del potencial antagonista de Trichoderma sp. Y hongos endófitos de mora (Rubus glaucusBenth) para el control de *Botrytis cinerea. Journal of Science and Research: Revista Ciencia e Investigación*, *6*(1), 109-124.

RAE. (s. f.). *Portainjerto | Diccionario de la lengua española*. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. https://dle.rae.es/portainjerto

Redondo Fernández, V. (2019). *Enfermedades de madera de viña: Identificación, patogenicidad y control biológico de los hongos causantes del decaimiento por Botryosphaeria* [Tesis de Doctorado, Universidad de Vigo y A coruña]. http://www.investigo.biblioteca.uvigo.es/xmlui/handle/11093/1231

Redondo Fernández, V. (2021, febrero 5). *Enfermedades de madera de la vid en Albariño. Identificación, Patogenicidad y Control Biológico de los hongos causantes del Decaimiento por Botryosphaeria*. https://www.infowine.com/intranet/libretti/0/19424-2021-VanesaRedondo-Enfermedades_madera_arES.pdf

Rego, C., Farropas, L., Nascimento, T., Cabral, A., & Oliveira, H. (2006). Black foot of grapevine: Sensitivity of *Cylindrocarpon destructans* to fungicides. *Phytopathologia Mediterranea*, *45*, S93-S100.

Rodríguez-García, D., & Vargas-Rojas, J. (2022). Efecto de la inoculación con Trichoderma sobre el crecimiento vegetativo del tomate (*Solanum lycopersicum*). *Agronomía Costarricense*, *46*(2), 47-60. https://doi.org/10.15517/rac.v46i2.52045

Rodríguez-García, D., & Wang-Wong, A. (2020). Efectividad a nivel in vitro de Trichoderma spp. Nativos e importados contra *Fusarium oxysporum**. *Agronomía Costarricense*, *44*(2), 109-125.

Roldán, L. (2021, enero 20). *ANTIBIOSIS: definición y ejemplos—Resumen*. ecologiaverde.com. https://www.ecologiaverde.com/antibiosis-definicion-y-ejemplos-2281.html

Sánchez Fernández, R. E., Sánchez Ortiz, B. L., Sandoval Espinosa, Y. K. M., Ulloa Benítez, Á., Armendáriz Guillén, B., García Méndez, M. C., & Macías Rubalcava, M. L. (2013). Hongos endófitos: Fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, *16*(2), 132-146.

Silla. (2019, noviembre). *Enfermedades Fúngicas de la madera en viña*. Generalitat Valenciana.https://agroambient.gva.es/documents/163214705/163899384/Hongos+de+madera+en+vi%C3%B1a.pdf/a3048e2e-f432-4873-9c36-02800c531dcc

Silva-Valderrama, I., Toapanta, D., Miccono, M. de los A., Lolas, M., Díaz, G. A., Cantu, D., & Castro, A. (2021). Biocontrol Potential of Grapevine Endophytic and Rhizospheric Fungi Against Trunk Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 614620. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.614620

Suárez Cancino, A., y Varas Chun, M. (2022). *Efecto in vitro de Trichoderma viride, T. atroviride, T. harzianum y T. asperellum sobre la germinación y el crecimiento de Cylindrocarpon sp.* [Tesis para optar por el Título de Biólogo - Microbiólogo, Universidad Nacional de Trujillo]. https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/19732

Tseng, Y.-H., Rouina, H., Groten, K., Rajani, P., Furch, A. C. U., Reichelt, M., Baldwin, I. T., Nataraja, K. N., Uma Shaanker, R., & Oelmüller, R. (2020). An Endophytic Trichoderma Strain Promotes Growth of Its Hosts and Defends Against Pathogen Attack. *Frontiers in Plant Science*, *11*. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.573670

Uitzil Colli, M. O. U. (2019). Hongos endófitos: Habitantes ocultos e inherentes a las plantas. *Revista de Biología Tropical*, Blog-Blog.

Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Hückelhoven, R., Neumann, C., von Wettstein, D., Franken, P., & Kogel, K.-H. (2005). The endophytic fungus Piriformospora indica reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102*(38), 13386-13391. https://doi.org/10.1073/pnas.0504423102

Wang, X., Radwan, M. M., Taráwneh, A. H., Gao, J., Wedge, D. E., Rosa, L. H., Cutler, H. G., & Cutler, S. J. (2013). Antifungal Activity Against Plant Pathogens of Metabolites from the Endophytic Fungus *Cladosporium cladosporioides*. *Journal of agricultural and food chemistry*, *61*(19), 4551-4555. https://doi.org/10.1021/jf400212y

Yactayo Yataco, R. J. (2021). *Capacidad antagónica de cepas de hongos endófitos hacia Botrytis cinerea, patógeno de arándano (Vaccinium corymbosum L.) In vitro, Cañete 2020* [Tesis Título Profesional, Universidad Nacional de Cañete]. https://repositorio.undc.edu.pe/items/e5f3d12d-cfdd-455f-aca3-338625f37025

ANEXOS

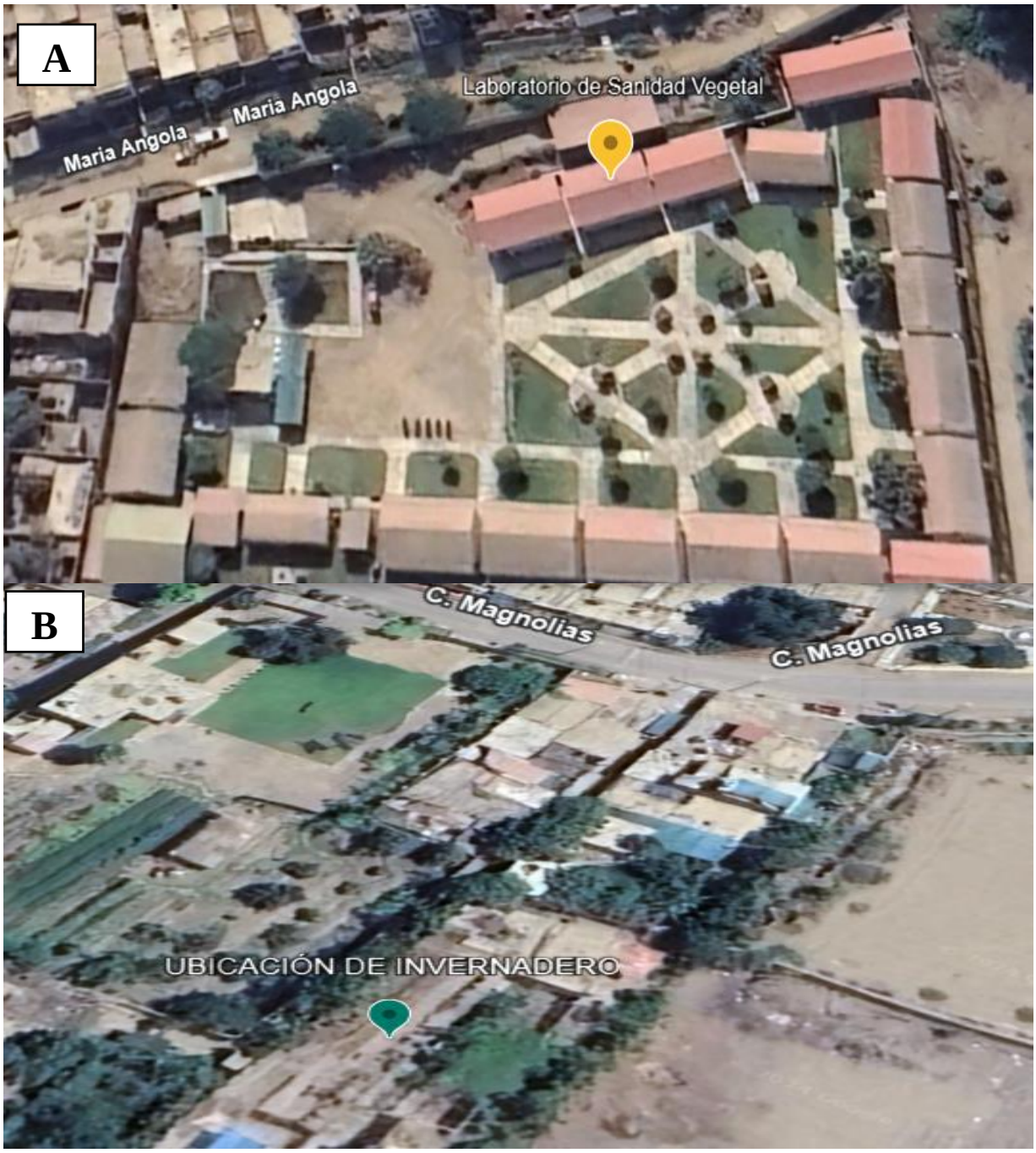
Anexo 1. Matriz de consistencia

Título: "Cepas de hongos endófitos para el control del "Pie Negro" ocasionado por *Dactylonectria sp* y crecimiento vegetal de la vid a nivel de vivero"

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	ÍNDICE	MÉTODOS
Problema General ¿Cuál es la capacidad de biocontrol de cepas de hongos endófitos para el pie negro de la vid *(Dactylonectria sp)* en Cañete,2023? **Problema Específico** ¿Cuál es la capacidad antagónica de hongos endófitos para el control In vitro de *Dactylonectria sp.?* ¿Cuál es el efecto de hongos endófitos antagónicos para el control del pie negro de la vid (*Dactylonectria sp)* a nivel de vivero? ¿Cuál es el efecto de hongos endófitos antagónicos en el crecimiento vegetativo de la vid a nivel de vivero?	**Objetivo General** Determinar la capacidad de biocontrol de cepas de hongos endófitos para el pie negro de la vid *(Dactylonectria sp)* en Cañete,2023 **Objetivo Específico** Evaluar la capacidad antagónica de hongos endófitos para el control de *Dactylonectria sp in vitro.* Evaluar el efecto de hongos endófitos antagónicos para control del pie negro de la vid (*Dactylonectria sp)* a nivel de vivero. Evaluar el efecto de cepas de hongos endófitos antagónicos en el crecimiento vegetativo de la vid a nivel de vivero.	**Hipótesis General** Las cepas de hongos endófitos tienen capacidad de biocontrol para el pie negro de la vid *(Dactylonectria sp)* en Cañete,2023. **Hipótesis Específico** Las cepas hongos endófitos tienen capacidad antagónica para el control In vitro de *Dactylonectria sp.* Las cepas hongos endófitos tienen efecto en el control del pie negro de la vid (*Dactylonectria sp)* a nivel de vivero. Las cepas de hongos endófitos antagónicos tienen efecto en el crecimiento vegetativo de la vid a nivel de vivero.	**Variable Independiente** Cepas de Hongos endófitos **Variable Dependiente** Control de *Dactylonectria* por HE. control de la enfermedad de pie negro de la vid Crecimiento Vegetativo	Colonias de hongos endófitos. Metabolitos secundarios de hongos endófitos. Suspensión de esporas de hongos endófitos. Colonización de hongos endófitos. Inhibición de crecimiento micelial. Contenido Relativo de Agua (CRA) Biomasa radicular Biomasa aérea Tamaño de raíz Tamaño de brote Diámetro de brote Numero de Hojas	Discos de 5 mm de diámetro 50% $1x10^6$ conidios/mL % % % g g cm cm mm Unidad	**Tipo de Investigación** El tipo de investigación es aplicada, según el nivel es explicativo, por los medios utilizados experimental de enfoque cuantitativo y en relación con el tiempo Longitudinal. **Método y Diseño de Investigación** El diseño de la investigación es de tipo experimental, se ejecutará bajo un diseño completamente al azar (DCA). Para el primer objetivo se usarán 42 tratamientos y de ellos los tratamientos destacados se usarán en el segundo y tercer objetivo. **Muestra y Población** La población de hongos endófitos es infinita, la cantidad de muestra dependerá de los tratamientos en donde se evaluará el efecto de HE y *Dactylonectria*.

Nota: Elaboración propia (2023)

Anexo 2. Ubicación del proyecto de investigación



Nota: (A) Laboratorio de la Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional de Cañete donde se realizaron los ensayos in vitro, (B) ubicación donde se instaló el invernadero para los ensayos in vivo.

Anexo 3. Datos de ensayos in vitro de control de *Dactylonectria sp*. por cepas de hongos endófitos

Tratamiento	Repetición	Cultivos duales		Metabolitos secundarios
		Inhibición de crecimiento (%)	Colonización (%)	Inhibición de crecimiento (%)
T1	R1	62.04	60	15.09
T1	R2	63.13	20	14.92
T1	R3	62.72	20	14.07
T2	R1	42.50	0	11.62
T2	R2	51.21	0	13.08
T2	R3	45.87	0	14
T3	R1	59.84	0	14.58
T3	R2	63.54	0	12.67
T3	R3	61.08	0	13.28
T4	R1	36.96	0	96.94
T4	R2	42.03	0	94.93
T4	R3	38.19	0	92.45
T5	R1	25.45	0	11.01
T5	R2	31.75	0	10.84
T5	R3	26.82	0	12.33
T6	R1	61.08	0	46.2
T6	R2	69.71	0	41.88
T6	R3	52.44	0	44.98
T7	R1	38.05	0	93.3
T7	R2	43.12	0	95.85
T7	R3	41.75	0	100
T8	R1	39.70	0	14.14
T8	R2	40.38	0	9.27
T8	R3	48.50	0	10.97
T9	R1	38.88	0	16.52
T9	R2	41.07	0	9.99
T9	R3	40.11	0	11.82
T10	R1	29.01	0	96.67
T10	R2	34.35	0	96.84
T10	R3	32.57	0	100
T11	R1	81.36	0	14.07
T11	R2	78.48	0	12.23
T11	R3	73.41	0	10.43
T12	R1	33.94	0	9.85
T12	R2	29.83	0	12.64

T12	R3	38.40	0	10.9
T13	R1	68.34	40	24.51
T13	R2	61.63	60	22.4
T13	R3	65.19	60	22.91
T14	R1	76.56	40	15.19
T14	R2	79.58	80	9.82
T14	R3	78.76	80	14.95
T15	R1	57.24	0	6.69
T15	R2	62.31	0	7.61
T15	R3	58.61	0	9.85
T16	R1	40.38	0	16.79
T16	R2	37.09	0	15.43
T16	R3	38.33	0	14.07
T17	R1	52.03	0	11.04
T17	R2	55.73	0	14.24
T17	R3	54.23	0	9.14
T18	R1	28.87	0	13.45
T18	R2	31.06	0	19.3
T18	R3	32.57	0	14.34
T19	R1	46.28	0	20.32
T19	R2	45.04	0	30.29
T19	R3	42.17	0	21.21
T20	R1	63.96	0	21.11
T20	R2	52.03	0	17.98
T20	R3	57.93	0	12.33
T21	R1	41.62	0	14.03
T21	R2	39.01	0	15.12
T21	R3	42.71	0	13.05
T22	R1	29.01	0	16.18
T22	R2	30.79	0	14.2
T22	R3	28.46	0	21.51
T23	R1	33.39	0	9.58
T23	R2	25.99	0	11.35
T23	R3	21.88	0	11.55
T24	R1	63.27	0	22.64
T24	R2	69.03	0	21.96
T24	R3	62.17	0	23.55
T25	R1	74.51	0	10.53
T25	R2	77.80	0	9.14
T25	R3	78.89	0	10.67
T26	R1	63.68	0	17.5
T26	R2	54.60	0	14.58

T26	R3	69.30	0	18.56
T27	R1	62.45	60	14.24
T27	R2	60.80	40	13.93
T27	R3	64.92	40	13.11
T28	R1	80.68	0	9.99
T28	R2	71.77	0	11.89
T28	R3	79.17	0	15.19
T29	R1	79.03	60	16.65
T29	R2	80.68	80	18.56
T29	R3	77.39	80	18.83
T30	R1	73.41	0	9.71
T30	R2	73.28	0	17.13
T30	R3	73.28	0	13.76
T31	R1	75.61	0	11.31
T31	R2	74.78	0	14.2
T31	R3	76.56	0	13.11
T32	R1	80.13	80	12.26
T32	R2	75.61	80	12.13
T32	R3	84.24	100	15.36
T33	R1	76.98	40	11.18
T33	R2	78.35	60	10.9
T33	R3	71.77	20	16.24
T34	R1	80.68	40	12.37
T34	R2	79.03	20	11.69
T34	R3	73.41	20	13.28
T35	R1	79.85	60	13.59
T35	R2	74.78	60	11.99
T35	R3	82.87	80	12.88
T36	R1	69.30	40	13.8
T36	R2	71.90	20	14
T36	R3	68.34	40	14.65
T37	R1	72.86	20	9.71
T37	R2	77.52	40	12.23
T37	R3	76.02	20	12.37
T38	R1	37.78	0	12.88
T38	R2	45.32	0	18.52
T38	R3	42.30	0	15.02
T39	R1	35.18	0	14.24
T39	R2	40.52	0	12.13
T39	R3	35.31	0	10.94
T40	R1	50.80	0	16.11
T40	R2	62.72	0	15.33

T40	R3	60.39	0	16.38
T41	R1	60.39	0	12.6
T41	R2	69.30	0	13.63
T41	R3	62.31	0	14.99
TESTIGO	R1	71.8	0	24.45
TESTIGO	R2	74.2	0	24.66
TESTIGO	R3	72.9	0	24.41

Anexo 4. Datos de ensayo de control de pie negro de la vida por hongos endófitos

Tratamiento	Repetición	Planta	Peso biomasa radicular fresca	Peso biomasa radicular turgencia	Peso biomasa radicular seca	Contenido relativo de agua
T1	R1	p1	9.6	11.7	4.0	72.7
T1	R1	p2	6.4	7.7	2.6	74.5
T1	R2	p1	2.1	2.4	0.7	82.4
T1	R2	p2	4.8	5.3	2.3	83.3
T1	R3	p1	5.7	7.0	2.3	72.3
T1	R4	p1	6.4	7.3	2.3	82.0
T2	R1	p1	8.3	8.9	2.9	90.0
T2	R1	p2	3.1	4.8	1.4	50.0
T2	R2	p1	3.0	3.4	1.1	82.6
T2	R2	p2	3.9	4.0	1.2	96.4
T2	R3	p1	6.8	7.8	2.6	80.8
T2	R4	p1	4.0	4.5	1.2	84.8
T3	R1	p1	12.2	12.5	4.8	96.1
T3	R1	p2	5.8	6.7	1.9	81.3
T3	R2	p1	2.7	3.2	1.1	76.2
T3	R2	p2	7.7	7.9	2.9	96.0
T3	R3	p1	1.5	1.8	0.5	76.9
T3	R3	p2	3.4	3.7	1.1	88.5
T3	R4	p1	1.6	1.8	0.5	84.6
T3	R4	p2	4.5	4.8	1.6	90.6
T4	R1	p1	8.5	10.8	3.2	69.7
T4	R1	p2	4.6	5.3	1.7	80.6
T4	R2	p1	8.0	8.4	3.2	92.3
T4	R2	p2	3.0	3.4	1.1	82.6
T4	R3	p1	5.5	6.3	2.0	81.4
T4	R3	p2	7.2	7.9	2.7	86.5
T4	R4	p1	8.2	9.0	2.8	87.1
T4	R4	p2	4.1	4.6	1.6	83.3
T5	R1	p1	10.3	12.3	3.9	76.2
T5	R1	p2	6.1	7.2	2.4	77.1
T5	R2	p1	5.0	6.7	1.9	64.6
T5	R3	p1	2.7	4.0	1.0	56.7
T5	R3	p2	6.9	8.2	2.8	75.9
T5	R4	p1	6.6	8.0	3.0	72.0
T5	R4	p2	5.7	7.1	2.1	72.0
T6	R1	p1	2.7	3.2	0.9	78.3

T6	R1	p2	8.5	9.2	2.6	89.4
T6	R2	p1	9.5	10.1	3.2	91.3
T6	R2	p2	5.0	5.9	1.7	78.6
T6	R3	p1	7.9	9.0	2.6	82.8
T6	R4	p1	9.8	10.4	3.6	91.2
T7	R1	p1	3.8	4.8	1.5	69.7
T7	R1	p2	8.0	9.3	2.9	79.7
T7	R2	p1	9.7	11.1	3.5	81.6
T7	R2	p2	9.2	9.5	3.3	95.2
T7	R3	p1	8.1	8.5	3.2	92.5
T7	R3	p2	3.7	4.8	1.7	64.5
T7	R4	p1	7.5	8.5	2.9	82.1
T8	R1	p1	9.8	10.7	4.3	85.9
T8	R1	p2	3.1	3.8	1.2	73.1
T8	R2	p1	7.3	8.5	2.8	78.9
T8	R2	p2	7.7	8.5	2.8	86.0
T8	R3	p1	13.4	15.0	5.6	83.0
T8	R3	p2	7.0	7.9	2.4	83.6
T8	R4	p1	5.3	6.2	2.0	78.6
T9	R1	p1	7.6	9.8	0.5	76.3
T9	R1	p2	1.3	1.6	0.2	78.6
T9	R2	p1	10.3	11.6	3.8	83.3
T9	R3	p1	2.6	3.3	0.8	72.0
T9	R3	p2	14.9	16.9	6.2	81.3
T9	R4	p1	3.3	3.9	1.2	77.8
T10	R1	p1	6.1	6.7	2.4	86.0
T10	R1	p2	4.3	4.6	1.3	90.9
T10	R2	p1	7.1	7.8	2.6	86.5
T10	R2	p2	2.3	2.7	0.8	78.9
T10	R3	p1	1.9	2.2	0.6	81.3
T10	R3	p2	5.9	6.4	2.6	86.8
T10	R4	p1	5.4	6.4	2.0	77.3
T10	R4	p2	6.6	6.9	2.6	93.0
T11	R1	p1	4.5	5.4	1.6	76.3
T11	R2	p1	8.5	8.7	1.9	97.1
T11	R3	p1	8.4	11.2	4.0	61.1
T11	R3	p2	4.8	5.4	1.6	84.2
T11	R4	p1	8.1	8.8	3.2	87.5
T12	R1	p1	5.5	6.0	1.8	88.1
T12	R1	p2	5.7	6.3	2.1	85.7
T12	R2	p1	4.0	4.2	1.5	92.6
T12	R3	p1	2.5	2.9	0.9	80.0

T12	R3	p2	8.4	8.9	3.3	91.1
T12	R4	p1	7.6	8.1	3.1	90.0
T13	R1	p1	12.3	13.3	4.6	88.5
T13	R1	p2	5.5	5.7	2.0	94.6
T13	R2	p1	11.3	11.8	4.4	93.2
T13	R2	p2	6.8	7.1	2.6	93.3
T13	R3	p1	7.2	8.0	2.6	85.2
T13	R3	p2	7.5	8.2	2.5	87.7
T13	R4	p1	11.5	12.0	4.2	93.6
T14	R1	p1	7.7	8.5	2.5	86.7
T14	R1	p2	4.5	4.8	1.4	91.2
T14	R2	p1	3.7	4.0	1.5	88.0
T14	R2	p2	4.2	4.7	1.2	85.7
T14	R3	p1	1.6	1.8	0.8	80.0
T14	R3	p2	1.9	2.1	0.6	86.7
T14	R4	p1	4.6	4.8	1.4	94.1
T15	R1	p1	4.4	6.2	1.9	58.1
T15	R2	p1	8.2	10.6	3.9	64.2
T15	R2	p2	7.6	9.9	2.9	67.1
T15	R3	p1	9.0	11.2	3.8	70.3
T15	R3	p2	1.3	2.5	0.5	40.0
T15	R4	p1	5.7	7.4	2.0	68.5
T16	R1	p1	7.2	7.7	2.2	90.9
T16	R1	p2	3.3	4.0	0.9	77.4
T16	R2	p1	4.2	5.3	1.1	73.8
T16	R2	p2	1.5	1.8	0.6	75.0
T16	R3	p1	5.0	5.4	1.7	89.2
T16	R3	p2	5.3	5.8	1.5	88.4
T16	R4	p1	6.2	6.5	1.3	94.2
T16	R4	p2	2.0	2.6	0.7	68.4

Anexo 5. Datos del efecto de hongos endófitos como promotor de crecimiento en plantas de vid (*Vitis sp*)

Tratamientos	Repetición	Cantidad de hojas	Calibre de brote	Tamaño de brote	Peso de biomasa aérea fresca	Peso de biomasa aérea seca	Tamaño de raíz	Peso de biomasa radicular fresca	Peso de biomasa radicular seca
T1	R1	7.00	3.80	15.30	5.17	1.80	13.40	6.90	2.10
T1	R2	8.00	3.55	15.35	5.24	1.95	15.15	8.70	1.95
T1	R3	7.00	3.55	19.60	5.63	2.05	11.50	4.45	1.65
T1	R4	8.00	4.20	20.40	6.19	2.20	15.30	9.05	2.05
T2	R1	8.00	3.70	16.85	4.59	1.10	10.45	4.90	1.90
T2	R2	8.50	3.80	18.75	5.31	1.55	11.60	6.30	2.45
T2	R3	8.00	3.05	15.55	3.46	1.10	10.00	5.45	2.15
T2	R4	7.50	3.25	15.35	3.31	0.85	9.85	4.45	2.15
T3	R1	8.50	4.05	26.45	7.59	2.90	15.00	9.90	2.85
T3	R2	8.00	4.25	23.55	7.57	2.95	15.50	9.45	2.45
T3	R3	8.00	4.45	24.00	7.40	2.40	13.50	6.55	2.10
T3	R4	7.50	4.35	21.95	6.73	2.45	15.00	8.68	2.25
T4	R1	8.00	4.05	23.70	5.42	1.75	13.50	7.90	2.50
T4	R2	10.00	4.10	22.00	7.07	2.50	14.10	5.60	1.90
T4	R3	7.00	3.75	15.75	5.15	1.75	11.95	5.45	1.90
T4	R4	8.00	4.10	19.50	6.67	2.20	12.80	6.40	2.10
T5	R1	7.00	3.60	15.60	4.41	1.20	10.85	4.95	1.50
T5	R2	7.50	3.40	13.60	3.91	1.60	10.30	4.99	1.50
T5	R3	7.00	3.30	13.65	3.70	1.35	11.70	4.93	1.35
T5	R4	7.00	3.50	14.25	3.97	1.40	11.40	5.56	1.60
T6	R1	8.00	3.70	14.95	4.55	1.40	11.55	8.40	3.05
T6	R2	7.50	3.65	14.00	3.89	1.20	10.95	8.10	2.95
T6	R3	7.00	3.90	17.50	6.17	2.10	12.25	10.30	3.40
T6	R4	7.00	3.80	17.00	5.17	1.50	12.60	7.80	2.60
T7	R1	8.50	3.50	18.00	5.24	1.60	13.80	7.75	2.30
T7	R2	7.00	3.20	12.00	4.24	1.40	11.80	6.00	2.35
T7	R3	6.00	3.70	16.85	5.22	1.60	13.05	6.20	2.50
T7	R4	7.00	3.60	16.75	4.84	1.40	13.70	8.20	3.05
T8	R1	6.50	3.35	16.00	5.53	2.00	12.45	8.85	2.65
T8	R2	8.00	3.40	17.50	5.91	2.00	11.35	7.70	2.50
T8	R3	8.00	3.40	16.55	4.57	1.60	11.95	8.65	2.65
T8	R4	7.00	3.50	14.30	3.74	1.50	11.80	8.20	2.60
T9	R1	5.50	3.25	15.60	4.54	1.45	11.80	6.35	2.20

T9	R2	6.00	3.00	10.20	3.35	1.00	13.50	8.30	2.55
T9	R3	8.00	3.25	16.00	4.66	1.65	11.00	6.25	1.85
T9	R4	7.00	3.10	14.20	4.81	1.65	10.70	7.10	2.35
T10	R1	7.00	3.40	13.25	3.92	1.35	11.40	7.15	2.90
T10	R2	7.00	3.90	18.00	4.34	1.50	12.85	7.50	3.20
T10	R3	6.00	3.90	13.50	3.88	1.40	13.60	7.30	3.40
T10	R4	5.50	3.65	13.60	3.92	1.35	13.95	8.80	2.85
T11	R1	7.00	3.80	13.05	3.34	1.20	13.50	4.14	1.20
T11	R2	6.50	3.65	10.70	3.14	1.15	14.15	3.70	1.25
T11	R3	7.00	3.50	10.20	3.36	1.30	13.60	3.60	1.10
T11	R4	6.00	3.55	16.55	3.37	1.15	14.10	2.80	1.00
T12	R1	8.00	3.70	16.30	4.42	1.40	15.50	10.60	1.90
T12	R2	7.00	3.70	15.00	3.57	1.45	14.45	8.20	1.75
T12	R3	7.00	3.30	15.45	4.01	1.45	13.60	9.75	1.75
T12	R4	7.00	3.40	13.70	3.58	1.30	17.00	12.10	2.10
T13	R1	8.00	4.20	23.70	5.42	1.75	13.50	6.70	2.45
T13	R2	10.00	4.10	22.00	7.07	2.50	14.10	5.60	1.90
T13	R3	7.00	3.80	15.75	5.15	1.75	11.95	6.65	2.30
T13	R4	8.00	4.20	19.50	6.67	2.20	12.80	6.40	2.10
T14	R1	7.00	3.45	15.25	4.72	1.70	11.65	4.70	1.85
T14	R2	8.00	3.70	16.40	5.48	1.90	12.40	6.10	1.70
T14	R3	7.50	3.75	15.55	4.56	1.55	11.30	6.20	1.80
T14	R4	7.00	3.60	15.30	5.20	1.90	13.30	7.40	2.10
T15	R1	7.50	3.60	16.60	5.77	1.70	10.70	3.80	1.10
T15	R2	6.00	3.20	13.75	3.46	1.10	11.95	4.80	1.20
T15	R3	7.50	3.40	16.00	3.79	1.30	10.22	3.85	1.10
T15	R4	6.50	3.40	14.30	4.05	1.30	10.40	4.05	1.05

Anexo 6. Registro de temperatura y humedad relativa del invernadero donde se desarrolló el OE2 y OE3

Dia/Mes/Año	Semana	Temperatura (ºC)			Humedad (%)		
		Mañana (6am)	Medio día (12 pm)	Tarde (6pm)	Mañana (6am)	Medio día (12 pm)	Tarde (6pm)
19/03/2024	1	20.4	29.0	22.0	82.0	62.0	66.0
20/03/2024	1	21.0	28.6	22.1	85.0	64.0	71.0
21/03/2024	1	20.0	31.0	23.0	87.0	54.0	70.0
22/03/2024	1	18.9	27.0	19.8	90.0	58.0	62.0
23/03/2024	1	19.6	27.6	20.1	85.0	59.0	63.0
24/03/2024	1	19.0	28.0	20.0	78.0	58.0	64.0
25/03/2024	2	20.0	31.2	23.2	84.0	51.0	58.0
26/03/2024	2	19.0	29.0	23.4	85.0	61.0	68.0
27/03/2024	2	20.0	29.6	23.8	82.0	59.0	70.0
28/03/2024	2	20.5	30.4	24.0	87.0	54.0	57.0
29/03/2024	2	21.0	32.0	22.1	81.0	51.0	65.0
30/03/2024	2	20.3	28.0	20.0	84.0	61.0	73.0
31/03/2024	2	20.0	26.5	22.0	85.0	58.0	71.0
01/04/2024	3	20.8	27.2	19.8	82.0	56.0	84.0
02/04/2024	3	20.5	24.0	21.5	87.0	63.0	75.0
03/04/2024	3	19.0	30.0	22.3	91.0	42.0	69.0
04/04/2024	3	20.0	26.0	22.0	84.0	51.0	74.0
05/04/2024	3	20.0	29.3	21.4	87.0	56.0	65.0
06/04/2024	3	18.3	26.0	22.4	90.0	49.0	74.0
07/04/2024	3	20.4	25.8	19.4	91.0	61.0	81.0
08/04/2024	4	18.6	26.7	20.2	94.0	56.0	71.0
09/04/2024	4	20.3	33.1	19.6	89.0	50.0	70.0
10/04/2024	4	23.1	30.4	22.0	88.0	58.0	67.0
11/04/2024	4	20.5	29.3	19.0	90.0	60.0	77.0
12/04/2024	4	19.8	30.0	23.0	87.0	58.0	72.0
13/04/2024	4	22.7	28.0	22.5	85.0	61.0	72.0
14/04/2024	4	22.0	33.0	22.0	84.0	55.0	70.0
15/04/2024	5	22.3	33.6	22.6	84.0	35.0	71.0
16/04/2024	5	21.4	26.8	22.4	87.0	62.0	69.0
17/04/2024	5	24.0	32.4	23.0	85.0	48.0	59.0
18/04/2024	5	20.2	30.3	21.7	87.0	54.0	63.0
19/04/2024	5	19.8	26.0	20.0	90.0	67.0	68.0
20/04/2024	5	20.0	29.1	22.8	91.0	53.0	72.0
21/04/2024	5	21.0	28.0	22.3	90.0	54.0	74.0
22/04/2024	6	21.6	27.0	23.2	87.0	49.0	67.0
23/04/2024	6	22.0	28.4	22.8	88.0	54.0	69.0
24/04/2024	6	20.8	30.7	22.7	88.0	47.0	67.0
25/04/2024	6	20.1	25.0	21.3	89.0	67.0	76.0
26/04/2024	6	22.8	29.4	24.5	95.0	38.0	58.0

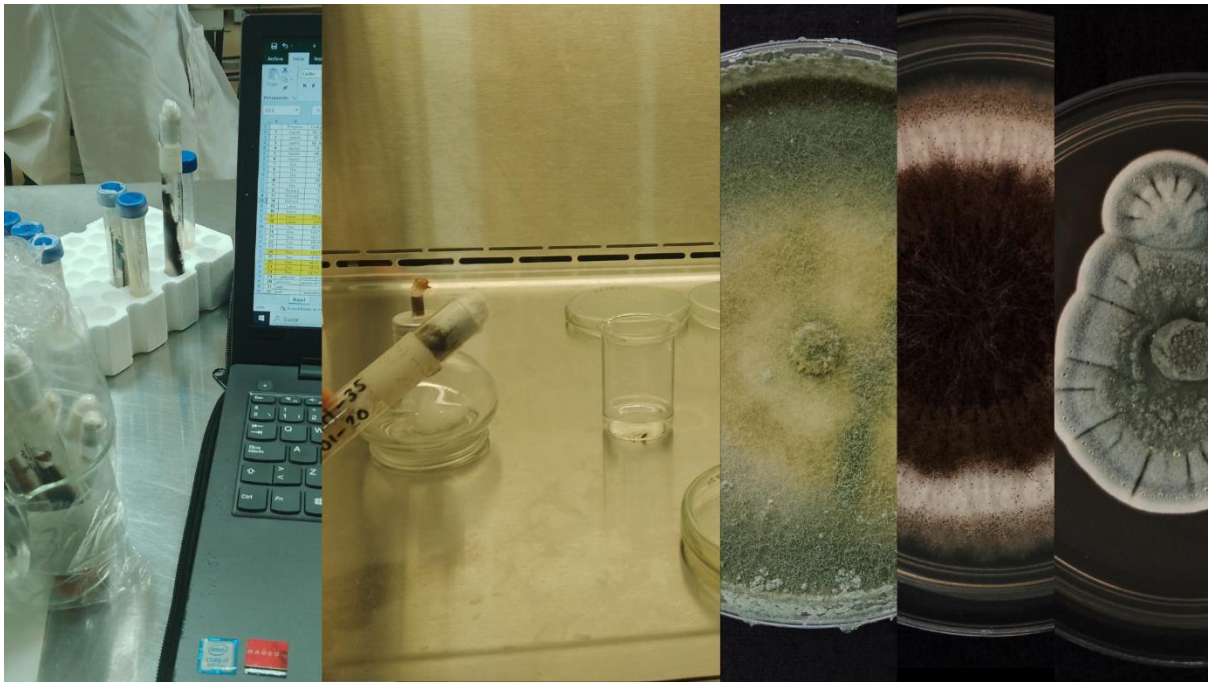
27/04/2024	6	24.3	27.1	24.0	80.0	56.0	63.0
28/04/2024	6	24.1	30.5	21.5	72.0	39.0	74.0
29/04/2024	7	19.9	26.4	23.2	56.0	50.0	64.0
30/04/2024	7	22.5	25.3	22.8	88.0	51.0	69.0
01/05/2024	7	20.1	30.8	22.9	79.0	48.0	71.0
02/05/2024	7	19.5	27.2	21.2	92.0	55.0	69.0
03/05/2024	7	20.1	24.8	23.0	92.0	65.0	70.0
04/05/2024	7	21.2	25.7	21.4	91.0	57.0	67.0
05/05/2024	7	20.6	26.0	22.0	90.0	62.0	72.0
06/05/2024	8	18.0	24.5	20.1	96.0	56.0	76.0
07/05/2024	8	18.6	27.4	21.3	94.0	48.0	73.0
08/05/2024	8	21.5	29.3	19.9	78.0	39.0	77.0
09/05/2024	8	19.3	26.8	20.4	89.0	47.0	75.0
10/05/2024	8	17.3	28.2	21.7	95.0	42.0	69.0
11/05/2024	8	17.8	27.6	21.4	94.0	50.0	71.0
12/05/2024	8	18.2	26.4	20.9	91.0	52.0	69.0
13/05/2024	9	17.8	25.8	21.4	95.0	53.0	68.0
14/05/2024	9	18.1	26.1	19.7	94.0	55.0	70.0
15/05/2024	9	18.2	25.8	21.5	91.0	46.0	65.0
16/05/2024	9	18.0	26.1	19.7	94.0	54.0	73.0
17/05/2024	9	17.1	25.8	20.1	97.0	63.0	74.0
18/05/2024	9	17.3	24.9	20.5	97.0	64.0	72.0
19/05/2024	9	17.1	22.8	20.1	95.0	63.0	72.0
20/05/2024	10	18.2	18.0	20.4	92.0	90.0	72.0
21/05/2024	10	16.6	18.5	17.6	98.0	90.0	87.0
22/05/2024	10	16.6	18.2	20,3	94.0	90.0	69.0
23/05/2024	10	17.1	18.4	19.0	93.0	91.0	72.0
24/05/2024	10	17.4	19.0	19.1	94.0	90.0	75.0
25/05/2024	10	16.1	26.0	18.1	97.0	50.0	77.0
26/05/2024	10	16.0	24.0	18.0	96.0	53.0	79.0
27/05/2024	11	16.6	19.7	18.0	91.0	64.0	79.0
28/05/2024	11	16.3	18.2	18.0	93.0	81.0	76.0
29/05/2024	11	16.3	18.6	18.3	96.0	73.0	76.0
30/05/2024	11	16.0	18.2	17.1	95.0	80.0	83.0
31/05/2024	11	15.8	18.4	18.1	95.0	78.0	76.0
01/06/2024	11	15.5	20.9	18.0	95.0	64.0	76.0
02/06/2024	11	15.5	18.0	16.8	94.0	73.0	81.0
03/06/2024	12	16.0	25.2	17.9	86.0	42.0	71.0
04/06/2024	12	13.1	19.1	18.2	92.0	74.0	73.0
05/06/2024	12	15.5	19.7	17.7	93.0	67.0	76.0
06/06/2024	12	15.3	23.5	20.9	94.0	54.0	62.0
07/06/2024	12	15.8	19.6	17.3	95.0	71.0	76.0
08/06/2024	12	16.5	20.1	19.1	91.0	79.0	75.0
09/06/2024	12	16.8	20.0	18.0	96.0	75.0	81.0
10/06/2024	13	16.3	17.6	18.7	97.0	94.0	81.0
11/06/2024	13	16.1	19.2	21.0	96.0	78.0	86.0

12/06/2024	13	16.3	24.4	18.4	95.0	57.0	82.0
13/06/2024	13	16.5	22.3	18.3	98.0	93.0	87.0
14/06/2024	13	16.8	20.7	18.6	93.0	75.0	73.0
15/06/2024	13	15.0	20.0	18.2	97.0	75.0	84.0
16/06/2024	13	15.2	21.0	16.1	96.0	65.0	84.0
17/06/2024	14	16.3	22.5	18.0	91.0	52.0	75.0
18/06/2024	14	16.1	17.8	17.7	94.0	91.0	82.0
19/06/2024	14	16.0	20.1	16.4	94.0	76.0	87.0
20/06/2024	14	16.3	19.3	18.0	91.0	85.0	76.0
21/06/2024	14	16.1	21.4	20.0	91.0	83.0	68.0
22/06/2024	14	16.1	20.1	18.0	96.0	85.0	79.0
23/06/2024	14	16.3	20.0	19.0	93.0	85.0	79.0
24/06/2024	15	15.5	19.4	16.9	97.0	90.0	87.0
25/06/2024	15	15.9	21.5	18.9	94.0	69.0	72.0
26/06/2024	15	15.3	18.7	17.6	96.0	81.0	81.0
27/06/2024	15	14.7	20.1	17.4	98.0	78.0	82.0
28/06/2024	15	14.8	20.0	16.4	98.0	78.0	91.0
29/06/2024	15	15.1	17.9	16.9	99.0	85.0	86.0
30/06/2024	15	15.2	18.9	17.0	91.0	73.0	84.0
01/07/2024	16	15.4	18.5	20.3	98.0	73.0	88.0
02/07/2024	16	15.4	17.7	16.4	98.0	82.0	86.0
03/07/2024	16	15.2	17.2	15.7	98.0	87.0	91.0
04/07/2024	16	15.7	24.8	18.6	99.0	49.0	74.0
05/07/2024	16	16.5	19.0	16.9	96.0	75.0	93.0
06/07/2024	16	16.5	17.4	19.7	96.0	85.0	72.0
07/07/2024	16	17.2	21.0	18.0	96.0	62.0	77.0
08/07/2024	17	16.9	21.1	17.3	93.0	71.0	79.0
09/07/2024	17	15.6	18.0	18.5	97.0	85.0	79.0
10/07/2024	17	15.5	17.6	18.4	98.0	73.0	73.0
11/07/2024	17	16.0	24.8	21.3	88.0	44.0	91.0
12/07/2024	17	15.3	24.5	20.2	90.0	50.0	60.0
13/07/2024	17	15.7	24.5	20.9	89.0	49.0	58.0
14/07/2024	17	16.3	19.3	19.9	88.0	68.0	62.0
15/07/2024	18	15.8	18.5	21.2	91.0	68.0	59.0
16/07/2024	18	17.5	18.3	17.0	90.0	71.0	71.0

Anexo 7. Prueba de patogenicidad



Anexo 8. Selección y reactivación de cepas de hongos endófitos.



Anexo 9. Metabolitos secundarios de hongos endófitos



Anexo 10. Evaluación de ensayos



Anexo 11. Cepas de hongos endófitos en sustrato de arroz



Anexo 12. Inicio de desarrollo de plantas de vid, luego de 7 días después de inoculación de hongos endófitos



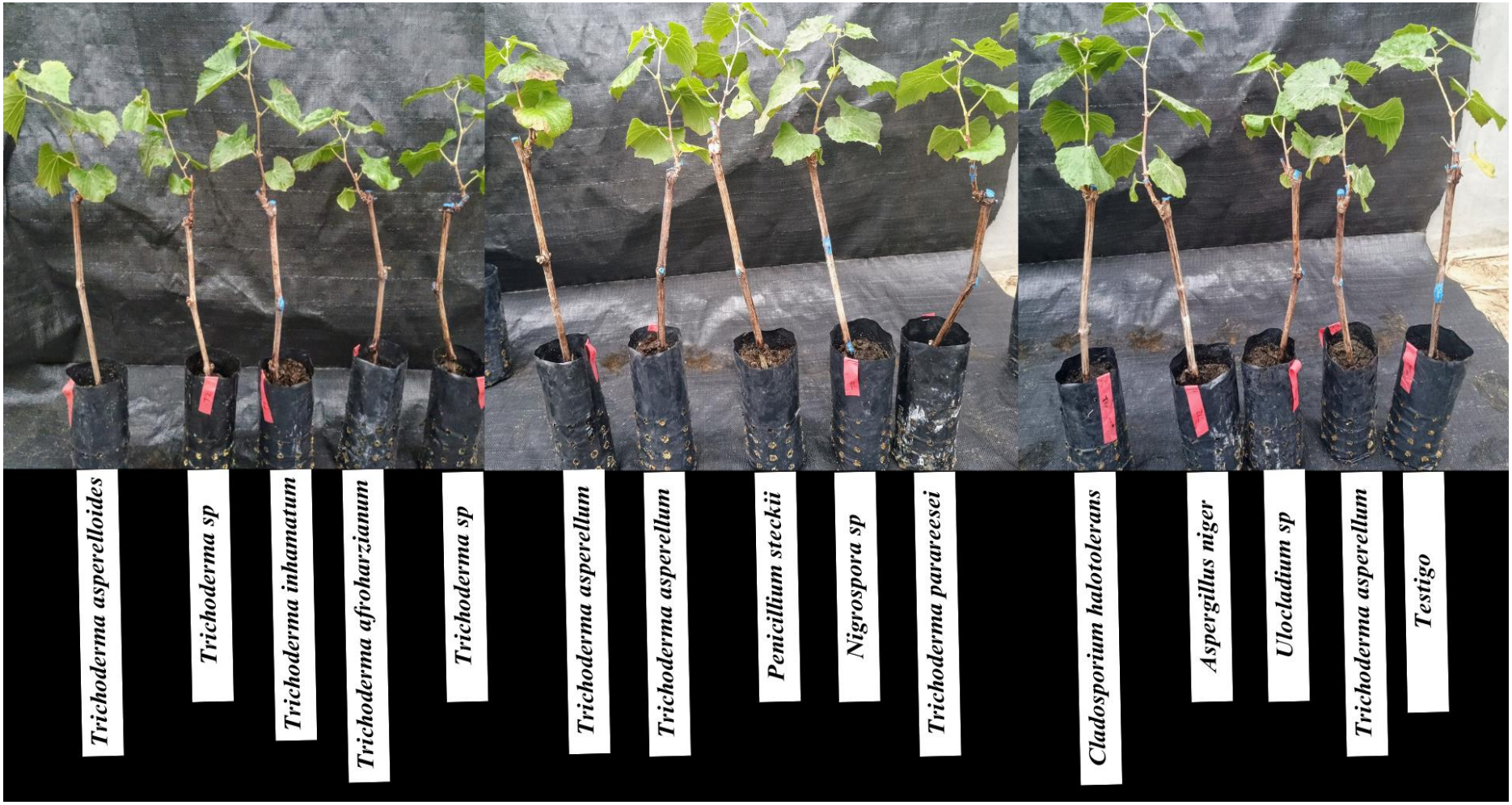
Anexo 13. Desarrollo de plantas de vid, luego de 31 días después de la inoculación de hongos endófitos



Anexo 14. Plantas de vid, luego de 2 meses de la inoculación de *Dactylonectria sp*.



Anexo 15. Desarrollo de plantas de vid con hongos endófitos

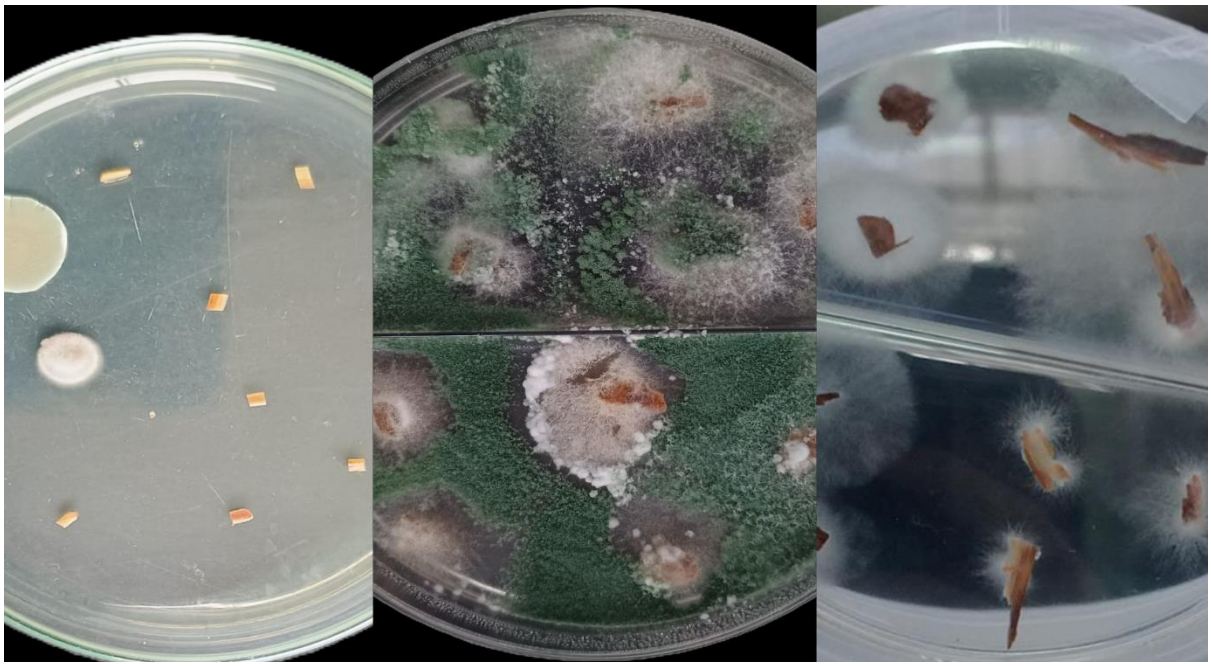


Anexo 16. Evaluación de CRA y parámetros de promotor de crecimiento



Anexo 17. Siembra de fragmento de cuello de tallo de plantas de vid.

Testigo sano HE - Patógeno Testigo con Patógeno



Anexo 18. Prueba de similitud

