UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAÑETE

FACULTAD CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

“Capacidad antagónica de cepas endófitas *Trichoderma spp*. frente a *Lasiodiplodia theobromae* in vitro, asociada a muerte regresiva en Palto (*Persea americana*).”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR:

Espinoza Huayhua, Renzo José

ASESORA: Dra. León Ttacca, Betsabé

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

San Vicente de Cañete, 2025, Perú

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAÑETE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

"Capacidad antagónica de cepas endófitas *Trichoderma spp*. frente a *Lasiodiplodia theobromae* in vitro, asociada a muerte regresiva del palto (*Persea americana*)."

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR:

Espinoza Huayhua, Renzo José

APROBADA POR:

FIRMA DIGITAL
Firmado digitalmente por: ALVAREZ BERNAOLA LUIS ARMANDO FIR 21538312 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 30/05/2025 18:35:47-0500

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

REPÚBLICA DEL PERÚ Firma Digital
Firmado digitalmente por: ÑIQUE ALVAREZ MANUEL ALFREDO FIR 23013382 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 28/05/2025 15:15:22-0500

.....
Dr. Ñique Álvarez, Manuel Alfredo
Secretario

REPÚBLICA DEL PERÚ Firma Digital
Firmado digitalmente por: COAQUIRA INCACARI Roberto FAU 20491363402 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 04/06/2025 20:00:15-0500

.....
Ph.D Coaquira Incacari, Roberto
Vocal

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

FIRMA DIGITAL
Firmado digitalmente por: LEON TTACCA BETSABE FIR 41288646 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 22/05/2025 09:40:04-0500

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 Laboratorio de Agricultura de Precisión y Gestión de Datos del Pabellón de Usos Múltiples, siendo las 11:00 horas, del día 21 de abril del 2025, se reunió el Jurado Evaluador y el asesor, designados por DECRETO N.º 027-2024-UI/FCA/UNDC.

Presidente : Dr. Luis Armando Álvarez Bernaola
Secretario : Dr. Manuel Alfredo Ñique Álvarez
Vocal : Ph.D. Roberto Coaquira Incacari
Asesora : Dra. Betsabé León Ttacca

Para el acto de sustentación de la tesis titulada: "Capacidad antagónica de cepas endófitas *Trichoderma spp.* frente a *Lasiodiplodia theobromae* in vitro, asociada a muerte regresiva en Palto (*Persea americana*)", presentado por el Bachiller Renzo José Espinoza Huayhua, 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				18		18
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	18

(*) 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: ..18.. (..Dieciocho.....)

- Aprobado, con nota Regular (...), Bueno (...), Muy Bueno (X), 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..12:06..Horas se dio por terminado el acto de sustentación.

Dr. Manuel Alfredo Ñique Álvarez **Secretario**	Dr. Luis Armando Álvarez Bernaola **Presidente**	PhD. Roberto Coaquira Incacari **Vocal**	Dra. Betsabé León Ttacca **Asesora**

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°001-2025

CONSTANCIA DE VERIFICACIÓN DE SIMILITUD

Yo, **Betsabé León Ttacca**, Directora (e) de la Unidad de Investigación del informe titulado: **"Capacidad antagónica de cepas endófitas de *Trichoderma spp.* frente a *Lasiodiplodia theobromae* in vitro, asociada a muerte regresiva del palto (*Persea americana*)",** cuyo autor es Renzo José Espinoza Huayhua, identificado con DNI N° 70299730, declaro que la evaluación realizada por el programa informático, ha constatado un **porcentaje de similitud del 9%**, 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, 12 marzo del 2025

Se adjunta:

- Resumen del reporte automatizado de similitudes
- Recibo Digital

VALIDADO POR:

FIRMA DIGITAL

Firmado digitalmente por: LEON TTACCA BETSABE FIR 41288648 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 14/03/2025 10:28:20-0500

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, por ser mi guía, fortaleza y esperanza en cada paso de este camino. Gracias por brindarme la sabiduría y la paciencia necesarias para llegar hasta aquí. En tus manos confío este logro, sabiendo que, sin tu amor y misericordia, nada de esto habría sido posible.

A mis padres, por su amor incondicional, apoyo y sacrificio a lo largo de mi vida. Sin su confianza y dedicación, este logro no habría sido posible. A mi familia, por ser mi constante fuente de motivación y por su presencia en cada paso de este camino.

A mi querido abuelo, que en paz descanse. Esta tesis es un homenaje a tu amor, sabiduría y enseñanzas. Gracias por haberme mostrado el verdadero significado del esfuerzo, la dedicación y la perseverancia. Siempre vivirás en mi corazón.

A mis amigos, por su comprensión, paciencia y por siempre estar ahí cuando más los necesitaba. A todos los que de alguna manera han sido parte de este proceso, mi agradecimiento eterno.

Este trabajo es un reflejo de su apoyo, y lo dedico a ustedes con todo mi corazón.

AGRADECIMIENTO

Quiero dedicar unas palabras de profundo agradecimiento a todas las personas que han sido claves en el desarrollo de este trabajo.

A mi asesora, la Dra. Betsabé León Ttacca, por su invaluable apoyo y guía. Gracias por su paciencia, conocimientos y por ayudarme a dar forma a esta investigación con su experiencia.

A mi familia, por su constante amor y respaldo. A mis padres, quienes siempre han sido mi principal fuente de inspiración, y a mis hermanos, por su apoyo incondicional durante todo este proceso. Sin su ánimo y confianza, este logro no hubiera sido posible.

A mis amigos, por su compañía y por ser mi refugio en los momentos difíciles. Gracias por sus palabras de aliento y por estar siempre a mi lado.

A la empresa Vivero los Viñedos por brindarme las herramientas y el ambiente necesario para desarrollar este proyecto. Aprecio profundamente la oportunidad de haber crecido en un entorno tan enriquecedor.

A todas las personas que, con sus gestos, consejos o pequeñas acciones, contribuyeron al éxito de este trabajo, les estoy eternamente agradecido.

Y a ti, querido abuelo, que, aunque ya no estás físicamente conmigo, sigues siendo una fuente de inspiración. Este logro también es tuyo.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA ..... **iii**
AGRADECIMIENTO ..... **vii**
ÍNDICE DE TABLAS ..... **xi**
ÍNDICE DE FIGURAS ..... **xii**
ÍNDICE DE ANEXOS ..... **xiv**
Capítulo I. Introducción **1**
Capítulo II. Marco teórico **3**
2.1 Antecedentes 3
2.1.1 Antecedentes internacionales 3
2.1.2 Antecedentes nacionales 4
2.2 Bases Teóricas 5
2.2.1 Origen del palto (*Persea americana*) 5
2.2.2 Taxonomía del palto 5
2.2.3 Cultivo de palto en Perú y Chincha 5
2.2.4 Importancia del cultivo de palto en Perú 6
2.2.5 Principales enfermedades en *P. americana* 6
2.2.6 Muerte Regresiva del palto 7
2.2.7 Agente causal 7
2.2.8 Síntomas y signos 7
2.2.9 Biología de *Lasiodiplodia* sp. 8
2.2.10 Ciclo de la enfermedad 9
2.2.11 Incidencia de *Lasiodiplodia theobromae* 9
2.2.12 Severidad de *Lasiodiplodia theobromae* 10
2.2.13 Control de enfermedades 10
2.2.14 Control biológico de *Lasiodiplodia* sp. 10
2.2.15 Hongos endófitos 11
2.2.16 Cepas endófitas de *Trichoderma* spp. 11
2.2.17 Generalidades del género *Trichoderma* 12
2.2.18 Mecanismos de acción de *Trichoderma* 13
2.2.18.1 Competencia 13

2.2.18.2 Micoparasitismo 14
2.2.18.3 Antibiosis 14
2.2.19 Cepas comerciales de *Trichoderma* 14
2.2.20 Trichoderma endófitos 15
2.2.21 Diversidad de *Trichoderma* endófito 15
2.2.22 Efecto antagónico de *T. yunnanense* frente a diferentes patógenos 15
2.2.23 Capacidad antagónica de *Trichoderma asperellum.* frente a *L. theobromae* S-P0715
Capítulo III. Materiales y Métodos 17
3.1. Definición de variables 17
3.1.1. Variable independiente 17
3.1.2. Variable dependiente 17
3.2. Operacionalización de variables 18
3.3. Tipo y diseño de investigación 18
3.3.2. Tipo de investigación 18
3.3.3. Diseño de investigación 18
3.4.1. Coordenadas 21
3.4.2. Ubicación Política del Experimento 21
3.5. Población y muestra 21
3.5.1. Población 21
3.5.2. Muestra 21
3.6. Procedimiento de la investigación 21
3.6.1. Aislamiento de *Lasiodiplodia theobromae* asociado a la muerte regresiva en el cultivo de palto 21
3.6.2. Identificación molecular de *Lasiodiplodia theobromae* asociada a la muerte regresiva en el cultivo de palto 22
3.6.3. Aislamiento de cepas comerciales de *Trichoderma* spp. 24
3.6.4. Reactivación de cepas endófitas de *Trichoderma* sp. 25
3.6.5. Pruebas de antagonismo de cepas endófitas y comerciales de *Trichoderma* sp. frente a *Lasiodiplodia theobromae* a nivel in vitro 31
3.6.6. Extracción de metabolitos secundarios de cepas endófitas y comerciales de Trichoderma sp. frente a *Lasiodiplodia theobromae* a nivel in vitro. 32
3.7. Parámetros de evaluación 33

3.7.1. Competencia 33
3.7.2. Micoparasitismo 34
3.7.3. Antagonismo por antibiosis 35
3.7.4. Plan de tratamiento de datos 37
Capítulo IV. Resultados y discusiones 38
4.1. Antagonismo por competencia 38
4.2. Antagonismo por micoparasitismo 43
4.3. Antagonismo por antibiosis 48
Capítulo V. Conclusiones 54
Capítulo VI. Recomendaciones 55
Capítulo VII. Referencias bibliográficas 56
ANEXOS 64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 5

Clasificación taxonómica de Persea americana 5

Tabla 2 18

Operacionalización de variables 18

Tabla 3 19

Fórmula de análisis de varianza 19

Tabla 4 20

Tratamientos empleados para los ensayos de antagonismo 20

Tabla 5 24

Características generales de productos comerciales 24

Tabla 6 27

Procedencia de especies de Trichoderma spp. usadas en la investigación. 27

Tabla 7 34

Escala para evaluar el grado de micoparasitismo según Ezziyyani et al. *(2004)* 34

Tabla 8 37

Resultados de las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas para las variables analizadas 37

Tabla 9 38

Análisis de varianza de la variable antagonismo por competencia 38

Tabla 10 40

Prueba de comparación de medias de la variable antagonismo por competencia de cepas de Trichoderma frente a Lasiodiplodia theobromae 40

Tabla 11 44

Kruskall – wallis para la variable porcentaje de micoparasitismo 44

Tabla 12 49

Kruskall – wallis para la variable de metabolitos secundarios 49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 ... 8

Estructura de crecimiento de Lasiodiplodia theobromae en medio de cultivo PDA ... 8

Figura 2 ... 9

Ciclo biológico de Lasiodiplodia theobromae ... 9

Figura 3 ... 13

Esquema de mecanismos de acción de Trichoderma sp. ... 13

Figura 4 ... 22

Aislamiento de Lasiodiplodia theobromae en el cultivo palto ... 22

Figura 5 ... 23

Resultados de electroforesis en gel de agarosa de Lasiodiplodia theobromae ... 23

Figura 6 ... 25

Aislamiento de cepas comerciales de Trichoderma sp. ... 25

Figura 7 ... 26

Reactivación de cepas endófitas de Trichoderma brindadas por la empresa Vivero los viñedos S.A.C. ... 26

Figura 8 ... 29

Cultivos axénicos de cepas de Trichoderma spp. a los 7 días de reactivación. ... 29

Figura 9 ... 31

Prueba de antagonismo de Trichoderma sp. frente a Lasiodiplodia theobromae ... 31

Figura 10 ... 33

Extracción de metabolitos secundarios de cepas de Trichoderma endófito y comercial. ... 33

Figura 11 ... 35

Reaislamiento de la zona de enfrentamiento de cultivos duales de cepas endófitas de Trichoderma sp. ftente a Lasiodiplodia theobromae. ... 35

Figura 12 ... 36

Antibiosis de metabolitos secundarios de cepas de endófitos de Trichoderma sp. hacia Lasiodiplodia theobromae. ... 36

Figura 13 ... 41

Enfrentamiento dual de cepas endófitas y comerciales de Trichoderma spp. frente a Lasiodiplodia Theobromae ... 41

Figura 14 ... 46

Reaislamiento de zona de enfrentamiento de cultivos duales de Trichoderma sp. frente a Lasiodiplodia theobromae en medios de cultivo PDA. 46

Figura 15..... 51

Antibiosis de Lasiodiplodia theobromae en medio de cultivo PDA + metabolitos secundarios de Trichoderma spp. 51

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia 64

Anexo 2. Datos de competencia entre *Trichoderma* sp y *Lasiodiplodia theobromae* 65

Anexo 3. Datos de micoparasitismo entre *Trichoderma* sp y *Lasiodiplodia theobromae* 66

Anexo 4. Datos de antibiosis de *Trichoderma* sp. frente a *Lasiodiplodia theobromae* 68

Anexo 5. Prueba de similitud 70

Resumen

Lasiodiplodia theobromae es un patógeno muy importante en varias especies frutales principalmente en el cultivo de palto, causando pérdidas en la producción. A causa de ello los agricultores son dependientes del uso de productos químicos, los cuales generan contaminación al ambiente y problemas de salud en el ser humano. El objetivo fue evaluar la capacidad antagónica in vitro de cepas endófitas de *Trichoderma* spp. frente a *Lasiodiplodia theobromae* asociada a la muerte regresiva del palto (*Persea americana*). Se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA) con 20 tratamientos + 1 testigo y 3 repeticiones, las variables evaluadas fueron: competencia, micoparasitismo y antibiosis frente a *Lasiodiplodia theobromae*. Los resultados mostraron que las cepas TC20 y TC12 (*Trichoderma* sp.) con valores 86.66% y 86.18% presentaron la mayor tasa de inhibición micelial, seguido de la TC4 (*Trichoderma asperellum)* con 79.81%; para la variable micoparasitismo, la TC12 y TC20 (*Trichoderma* sp), TC17 (*Trichoderma harzianum*), TC4 (*Trichoderma asperellum*), TC6 (*Trichoderma vermificola*) y TC7 (*Trichoderma harzianum*) mostraron un 100% de micoparatismo en comparación a las otras cepas en estudio. Finalmente, para la variable antibiosis las cepas TC12 y TC18 (*Trichoderma* sp.) con 77.8% y 74.1% presentaron un mayor porcentaje de antibiosis frente a *Lasiodiplodia theobromae* seguido de TC20 (*Trichoderma* sp) con 66.7%. En conclusión, las cepas endófitas extraídas de tejidos vegetales tuvieron buenos resultados en cuanto a competencia por espacio y nutrientes, micoparasitismo y antibiosis frente a *Lasiodiplodia theobromae* por lo que se recomienda realizar más estudios acerca de los componentes que presentan las cepas endófitas de *Trichoderma*.

Palabras clave: Antibiosis, competencia, control biológico, hongos fitopatógenos, micoparasitismo.

Abstract

Lasiodiplodia theobromae is a significant pathogen in various fruit species, particularly avocado in cultivation, causing production losses. As a result, farmers rely heavily on chemical products, which lead to environmental contamination and health issues in humans. The objective of this study was to evaluate the in vitro antagonistic capacity of endophytic *Trichoderma* spp. strains against *Lasiodiplodia theobromae* associated with avocado (*Persea americana*) dieback. A Completely Randomized Design (CRD) was used, with 20 treatments + 1 control and 3 replications. The evaluated variables were antibiosis, mycoparasitism, and competition against *Lasiodiplodia theobromae*. The results showed that strains TC20 and TC12 (*Trichoderma* sp.) had the highest mycelial inhibition rates, with values of 86.66% and 86.18%, respectively, followed by TC4 (*Trichoderma asperellum*) with 79.81%. For the mycoparasitism variable, strains TC12 and TC20 (*Trichoderma* sp.), TC17 (*Trichoderma harzianum*), TC4 (*Trichoderma asperellum*), TC6 (*Trichoderma vermificola*), and TC7 (*Trichoderma harzianum*) exhibited 100% mycoparasitism compared to the other strains in the study. Finally, for the antibiosis variable, strains TC12 and TC18 (*Trichoderma* sp.) showed the highest antibiosis percentages against *Lasiodiplodia theobromae*, with 77.8% and 74.1%, respectively, followed by TC20 (*Trichoderma* sp.) with 66.7%. In conclusion, the endophytic strains extracted from plant tissues showed promising results in terms of competition for space and nutrients, mycoparasitism, and antibiosis against *Lasiodiplodia theobromae*. Therefore, further studies are recommended to analyze the components present in endophytic *Trichoderma* strains.

Key words: Antibiosis, competition, biological control, phytopathogenic fungi, mycoparasitism, microbiology.

.

Capítulo I

Introducción

La agroindustria peruana ha crecido significativamente, destacando al cultivo de palto en los mercados internacionales debido a su sabor y beneficios que brinda para la salud, este producto se exporta en diversas formas, como fruta fresca, pulpa, congelado y aceite (Flores & Espinoza, 2023). Por otro lado, la importancia del cultivo de palto también radica debido a que en la costa peruana se siembra en una mayor área principalmente en las regiones de la Libertad, Ica y Lima generando trabajos directos e indirectos para la población (Ibarra, 2022). En estos últimos años el MIDAGRI informó que la exportación de palta superó las 36 mil toneladas en primer bimestre de 2024, consolidando a Perú como el segundo mayor exportador de palta al registrar un crecimiento de 79,2% en volumen, en comparación al mismo periodo de 2023 (MIDAGRI, 2024). Sin embargo, este cultivo al igual que otros presentan problemas fitosanitarios causados por diferentes patógenos. (Agraria, 2023) mencionó que *Lasiodiplodia theobromae* es la enfermedad más importante y común del palto en el Perú, este patógeno prospera en temperaturas elevadas entre 25 y 30°C como las que actualmente afectan la región norte del país, también mencionó que no existe la erradicación para este hongo y la única medida que puede erradicar es renovando, es decir, sacando la rama afectada y que este puede emitir una nueva producción de brotes.

Todo ello ha generado problemas en diversas regiones productoras de palto en el Perú, por lo que muchos agricultores optan por la aplicación de productos químicos de manera preventiva, no obstante, el empleo de estos pesticidas está acondicionado por el límite máximo de residuos y los periodos de carencia. Además, es importante destacar que el patógeno desarrolla resistencia a estos químicos y son pocos los fungicidas que inducen resistencia en el hongo al actuar sobre mecanismos específicos (Chaupin, 2018).

Ante esta situación problemática, durante estos últimos años se viene estudiando el impacto de diversos microorganismos benéficos que actúan contra los patógenos debido a los mecanismos de acción que presentan como: Micoparasitismo, producción de antibióticos, competencia por espacio y nutrientes, resistencia a factores bióticos y abióticos, producción de fitohormonas, entre otros. Dentro de estos microorganismos benéficos se encuentra el género *Trichoderma*, que actualmente es el microorganismo más estudiado, debido a los beneficios que

presenta en cuanto a la protección de cultivo vegetal frente al ataque de diversos patógenos como hongos, insectos y nematodos, también genera una estructura de barrera física induciendo resistencia a la planta (Yao et al., 2023).

Por consiguiente, el trabajo de investigación tuvo los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar la capacidad antagónica in vitro de cepas endófitas de *Trichoderma* spp. frente a *Lasiodiplodia theobromae* asociada a la "muerte regresiva" en palto (*Persea americana*).

Objetivos específicos

Determinar el efecto antagónico por competencia de cepas endófitas de *Trichoderma* spp. en el comportamiento in vitro de *Lasiodiplodia theobromae*. asociada a muerte regresiva en Palto (*Persea americana*).

Determinar el efecto antagónico por micoparasitismo de cepas endófitas de *Trichoderma* spp. en el comportamiento in vitro de *Lasiodiplodia theobromae*. asociada a muerte regresiva en Palto (*Persea americana*).

Determinar el efecto antagónico por antibiosis de cepas endófitas de *Trichoderma* spp. en el comportamiento in vitro de *Lasiodiplodia theobromae*. asociada a muerte regresiva en Palto (*Persea americana*).

Capítulo II

Marco teórico

1.1 Antecedentes

1.1.1 Antecedentes internacionales

Andrade et al. (2020) evaluaron la capacidad antagónica de 10 cepas endófitas de *Trichoderma* spp. contra el patógeno *P. cinnamomi*, los cuales fueron probadas a nivel invitro e invernadero. Las cepas de *Trichoderma* se aislaron de raíces de *Persea americana* y *Cinnamomun verum*, obteniendo cepas puras en un medio de cultivo agar papa dextrosa. Lograron identificar diez cepas como *T. asperellum* (T-AS1, T-AS2, T-AS6 y T-AS7), *T. harzianum* (T-H3, T-H4, y T-H5), *T. hamatum* (T-A12), *T. koningiopsis* (T-K8 y T-K11) y *P. cinnamomi* (CPO-PCU). En sus resultados a nivel in vitro obtuvieron un valor del 78.32% de inhibición micelial del patógeno, mientras que, en invernadero la incidencia de la enfermedad en plántulas disminuyó un 50% en presencia de *Trichoderma* spp. por lo cual, concluyeron que, *T. asperellum* y *T. harzianum* contribuyeron al control del patógeno *P. cinnamomi* tanto a nivel in vitro, como en invernadero.

Polanco et al. (2020) aislaron cepas de microorganismos presentes en el suelo y evaluó la capacidad antagónica a nivel invitro frente a hongos fitopatógenos en cítrico (*Lasiodiplodia theobromae* y *Fomitopsis meliae*). De los aislamientos realizados, evaluaron el crecimiento micelial de las cepas, donde 15 de ellas mostraron una capacidad antagónica eficiente con un 39.91% de inhibición. Las cepas pertenecientes al grupo de actinomicetos M4 R y M1-101, y el hongo M104 (*Penicillium citrinum*) presentaron una inhibición al 84, 91 y 85% frente al patógeno *Lasiodiplodia theobromae* y 83, 91 y 91% contra *Fomitopsis meliae*. Finalmente concluyeron que los microorganismos antagonistas fueron capaces de ayudar al control de los patógenos con un porcentaje mayor al 84%.

Pincay et al. (2021) determinaron la capacidad antagónica de cuatro hongos frente a *B. Cinerea*, en la cual aislaron dos microrganismos antagónicos en el cultivo de mora (*Clonostachys* sp. y *Alternaria* sp.) y se utilizaron dos aislados de microorganismos biológicos como *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma* sp. Para su evaluación de antagonismo y porcentaje de crecimiento micelial realizaron cultivos duales. Donde mostraron que las cepas de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento en 75.1% y 73.7% de *B. cinerea*, mientras que, el aislado de *Clonostachys* sp. y *Alternaria* sp. no presentaron un control eficiente frente al patógeno en

estudio. Concluyeron que *T. asperellum* y *Trichoderma* sp presentaron resultados positivos para el control del patógeno.

Rodríguez y Wang (2020) evaluaron la efectividad de cepas nativas e importadas de *Trichoderma* spp. frente al patógeno *Fusarium* spp. a nivel de laboratorio. Para su investigación emplearon productos comerciales de *Trichoderma* spp. con cepas nativas (THM-03 y THM-04) e importadas (THU-01 obtenidas de Estados Unidos y THC-02 de Colombia). El patógeno en estudio fueron aislados de plantas enfermas de tomate. Los resultados mostraron que los valores promedios de los radios de crecimiento del antagonista fueron 26.5, 39.3, 41.2 y 21.1 mm para las cepas de THU-1, THC-02, THM-03 y THM-04, respectivamente y 42.75 mm para los testigos. En cuanto a la variable de micoparasitismo, las mejores cepas con una invasión completa hacia el patógeno fueron: THC-02, THM-03 y THM-04. Concluyeron que, se encontraron diferencias en la capacidad antagonistas de especies de *Trichoderma* sp. y que mostraron ser agresivas en el enfrentamiento contra el patógeno, sin embargo, esto es independiente de su procedencia.

1.1.2 Antecedentes nacionales

Chaupin (2018) evaluó la incidencia e identificó el agente causal de la muerte regresiva en el palto y realizó su control in vitro en el laboratorio, donde se aisló y se identificó a *Alternaria alternata, Colletotrichum* y *Lasiodiplodia theobromae*, con la finalidad de dar a conocer si uno de los patógenos aislados era el causante de la *enfermedad y se identificó que el agente causal de la muerte regresiva en el palto es Lasiodiplodia theobromae*, ya que el hongo mostro un buen desarrollo en medio PDA, su crecimiento micelial fue rápido, y colonizó la placa en sólo cinco días a una temperatura de ± 25°C. El mejor tratamiento fue *Bacillus subtilis*, seguido por sulfato de cobre, Benomil, *Trichoderma harzianum, Trichoderma viride* y por último Phyton (Sulfato de cobre).

Navarrete y Tello (2018) evaluaron el efecto antagónico in vitro de especies nativas de *Trichoderma* sp. y *Pseudomonas* sp. frente a *Lasiodiplodia* sp. Para aislar los microorganismos se colocaron trampas con sustrato de arroz en diferentes cultivos y diferentes puntos de suelos. Las cepas que aislaron fue *Trichoderma* sp. y *Pseudomonas* sp. las cuales fueron enfrentadas de forma individual por el método de enfrentamiento por cultivos duales frente al patógeno *Lasiodiplodia* sp. Sus resultados mostraron que la cepa T1 (*Trichoderma* sp.) fue derivada de suelo de cultivo cuya parcela no tomó método químico anteriores meses, asimismo pudo

proporcionar un superior desarrollo a esta cepa para practicar un mayor control frente al Fitopatógeno. Los resultados obtenidos de la cepa T1 se asimila a lo obtenido por Navarrete y Tello quienes lograron un crecimiento radial de *Lasiodiplodia theobromae* de 4,58 cm bajo acción antagónica de la cepa *Trichoderma* spp., mostrando así resultado antagónico.

1.2 Bases Teóricas

1.2.1 Origen del palto (Persea americana)

Téliz (2000) señala que el cultivo de palto es originario del continente americano, siendo los países de México, Guatemala y algunos países de Sudamérica las que domesticaron este árbol frutal donde le pusieron el nombre de aguacate.

1.2.2 Taxonomía del palto

Férnandez (2021) da a conocer la taxonomía del palto, tal como se indica a continuación:

Tabla 1

Clasificación taxonómica de Persea americana

Reino	Plantae
División	Angiosperma
Orden	Laurales
Familia	Lauraceae
Género	Persea
Especie	*americana*
Nombre científico	*Persea americana*
Nombre común	palto

Nota. Extraído de Férnandez (2021).

1.2.3 Cultivo de palto en Perú y Chincha

Durante los últimos años el cultivo de palto en el Perú es considerado como uno de los principales productores y exportadores de palta en el mundo. La Asociación de Productores de Palta Hass del Perú (ProHass), indican que la superficie sembrada en el año 2022 superó las 60 091 hectáreas, lo cual significa un incremento de 6757 hectárea anualmente (Agraria, 2022). Así mismo (MIDAGRI, 2022) menciona que, la región de Lima es el segundo productor de palto, en el año 2021 obtuvo 124 189 toneladas con un promedio de 17.6 t/ha.

Estos datos sin duda nos ayudan a conocer por qué los estudios en el cultivo de palto en esta zona resultan importantes y necesarios, sobre todo, otra de las características que podemos mencionar es que dentro de Ica encontraremos a la provincia de Chincha que se menciona que presenta 93 lugares certificados para producir palto.

1.2.4 Importancia del cultivo de palto en Perú

Flores y Espinoza (2023) indican que el cultivo de palto en el año 2023 cosechó 779 mil toneladas de palta y logró exportar 526 mil toneladas, regiones como La Libertad, Lambayeque, Ayacucho y Huancavelica, entre otros son regiones importantes en producción de palto.

Los principales países exportadores de palta peruana son los países bajos, Estados Unidos, España, Chile y el Reino Unido. Dentro estos países Estados Unidos de América incrementó su demanda que ha sido evaluado en el periodo 2026-2021, por lo que creció un 206% y Chile creció un 455% entre el periodo 2016-2022 (Promperú, 2022).

1.2.5 Principales enfermedades en P. americana

Según León y Mattos (2016) el cultivo de palto al igual que todos los cultivos en el mundo presenta diversas enfermedades que pueden ser causadas por hongos, virus o bacterias, pero el grupo que ataca más al cultivo de *P. americana* son los hongos como: *Penicillium*, *Fusarium* y *Lasiodiplodia*. (p.428)

León y Mattos (2016) menciona que: “las pudriciones de frutos causadas por los hongos fitopatógenos: *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Dothiorella* sp., *Phoma* sp., *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria* sp. y *Fusarium* sp. son uno de los principales problemas en pre y post-cosecha”.

Las principales enfermedades del palto en la etapa de floración y cuajado de frutos es *Botrytis cinerea*, seguido de *Cladosporium* sp, los cuales causan daños a los botones florales del palto. Otras de las enfermedades que se consideran también es *Lasiodiplodia theobromae* y *Phytophthora cinnamomi*. Sin embargo, en la costa peruana la enfermedad considerada más importante viene a ser *Lasiodiplodia theobromae* Apaza et al. (2015).

1.2.6 Muerte regresiva del palto

Lasiodiplodia theobromae es conocida como muerte descendente o regresiva del palto, es uno de los patógenos más relevantes que afectan este cultivo. La enfermedad se manifiesta con la necrosis progresiva desde la parte apical de la planta, lo que interfiere en su desarrollo normal. Este fitopatógeno puede infectar al palto en cualquier etapa fenológica, sin importar su edad. En viveros de producción de plantones, los síntomas suelen aparecer después del proceso de injertación, especialmente cuando la manipulación del material vegetal no es adecuada. En estos casos, el injerto puede ser infectado por el hongo, provocando una necrosis gradual que con el tiempo lleva a la muerte regresiva de la planta (Chavarry, 2021).

La muerte descendente en campo definitivo se puede notar, principalmente en las hojas apicales, mediante la necrosis, se menciona que, cuando una planta adulta es atacada por *Lasiodiplodia theobromae* su control es difícil y por ello se opta por la eliminación total de la planta, lo cual genera pérdidas económicas para los agricultores. Además, se le conoce a este patógeno como una enfermedad que ataca durante la post cosecha, en donde ataca a los frutos con síntomas tales como, manchas marrones, textura acuosos y finalmente causan la pudrición (Chavarry, 2021).

1.2.7 Agente causal

Lasiodiplodia sp. es un hongo fitopatógeno que causa enfermedades en diversos cultivos frutículas, como palto, cítricos, mango y vid, los cuales son altamente susceptibles a su ataque. Al igual que otros hongos, requiere condiciones ambientales favorables para su propagación e infección en las plantas. Factores como el exceso de humedad en el suelo, la ausencia de cicatrizantes en los injertos tras el corte, prácticas culturales inadecuadas y la falta de desinfección de los materiales utilizados favorecen el desarrollo de la enfermedad. *Lasiodiplodia theobromae* puede afectar a la planta en cualquier estado fenológico y, en casos de infecciones severas, causa la destrucción total del tejido vegetal, provocando la denominada muerte descendente (Moreira et al., 2012).

1.2.8 Síntomas y signos

Dentro de los síntomas más conocidos causados por el hongo *Lasiodiplodia theobromae* se encuentran, necrosamiento a nivel de injerto, presencia de chancros con exudados blanquecinos, en la cual varia respecto a la edad del cultivo. Cuando se realizan cortes transversales para observar los signos causado por el fitopatógeno se observa en el injerto o tallo

evaluado necrosis en forma de "V", que va aumentando cuando se evalúa de forma más profunda, este necrosamiento puede afectar muchas veces al cilindro central del cultivo de palto. Otro de los síntomas que se mencionan es la necrosis en las hojas lo cual genera la defoliación del árbol, por último, se evidencia como síntoma principal la pudrición de los frutos que empiezan desde el pedúnculo que incluso logra comprometer la parte interna del fruto (Moreira, 2021).

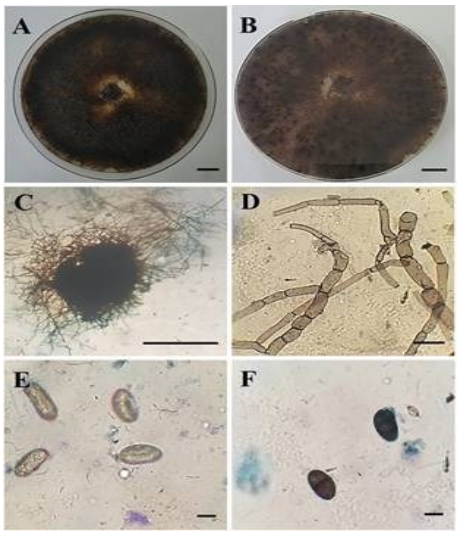
1.2.9 Biología de Lasiodiplodia sp.

Lasiodiplodia presenta picnidios y estriaciones en conidios maduros, lo cual la diferencia de los otros géneros relacionados. Presenta ascocarpo de color café oscuro a negro, asca bitunicada con 8 esporas, sus ascosporas con biseriadas y aseptadas, dentro del hospedero su conidiomata es estomático y cuando empieza a salir del hospedero se torna de color café oscuro con una longitud de 5mm de ancho. Sus conidióforos son simples, septados y sus conidios son sub ovoides con bordes redondeados y cuando maduran presentan un septo que da la apariencia estriada (Picos et al., 2015).

Las colonias que presenta *Lasiodiplodia theobromae* en medios de cultivo, tienen una estructura de hifas que al inicio de su crecimiento son de color blanquesino, con micelio aéreo, a medida que transcurre el tiempo los micelios se tornan de color gris a negro y llegan a formar picnidios al culminar su desarrollo (Moreira, 2021).

Figura 1

Estructura de crecimiento de Lasiodiplodia theobromae en medio de cultivo PDA



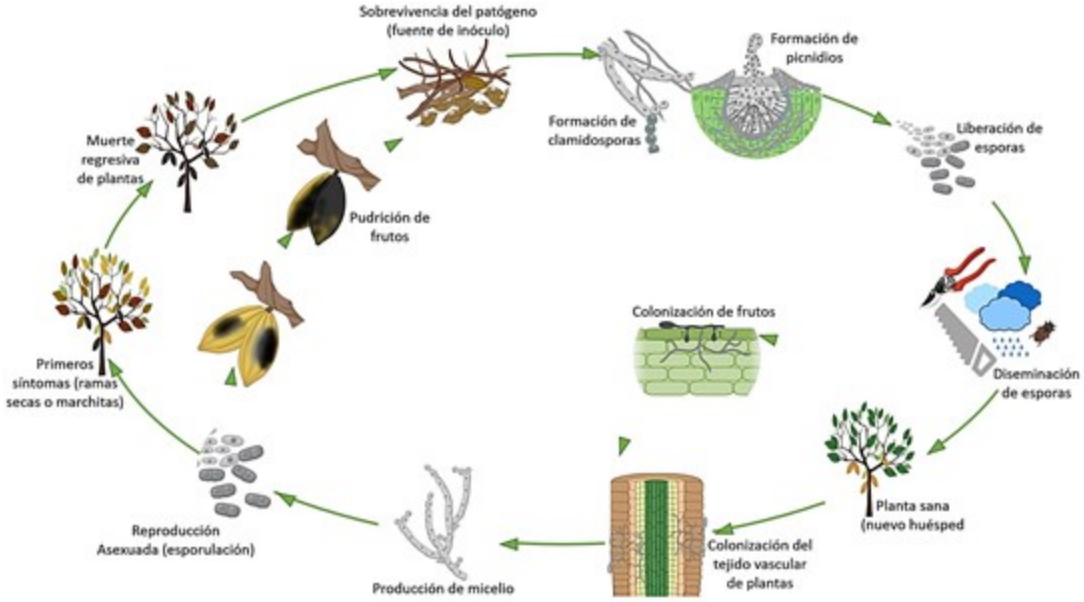
Nota. A-B, Crecimiento del patógeno en placas de Petri con PDA. C, Formación de picnidios. D, Hifas septadas de color marrón oscuro. E, Conidias hialinas unicelulares inmaduras. F, Conidias maduras (septadas y oscuras con estrías longitudinales) (Moreira et al., 2021).

1.2.10 Ciclo de la enfermedad

Lasiodiplodia theobramae presenta dentro de sus estructuras a los picnidios, o clamidosporas que son estructuras de resistencia generado por dicho patógeno. Los picnidios pueden permanecer en el suelo hasta que se presenten las condiciones ideales para su esporulación. Los picnidios son propagados mediante factores climáticos como, viento, lluvias, exceso de humedad o de forma mecánica, tales como transporte de materiales o herramientas infectadas e incluso mediante insectos que pertenecen a la familia Miridae. Luego de que son trasmitidos, infectan a la planta y provocan síntomas propios del patógeno, necrosamiento en frutos, hojas, entre otros (Moreira et al., 2021).

Figura 2

Ciclo biológico de Lasiodiplodia theobromae



Nota. Ciclo de infección de *Lasiodiplodia theobromae* en plantas (Moreira et al., 2021)

1.2.11 Incidencia de Lasiodiplodia theobromae

Para poder evaluar el daño que causa el *Lasiodiplodia theobromae* en el cultivo de *P. americana* var. Hass debemos de evaluar una de las características importantes de cualquier enfermedad, hablamos aquí de la incidencia. Ivancovich et al. (1998) nos explica que acá se va a evaluar en resumen la ausencia y presencia de la enfermedad, pero que los niveles no van a ser considerados, la evaluación se puede dar en los distintas partes de la planta, como las flores, hojas, frutos, entre otros.

1.2.12 Severidad de Lasiodiplodia theobromae

La severidad es el porcentaje de la superficie del órgano enfermo, ya sea de hojas, tallos, raíces o frutos afectado por la enfermedad y puede variar entre 0 y 100%. Por tanto, la severidad te da una relación más precisa de la enfermedad con los problemas o daños que están ocurre en el cultivo (Ivancovich et al., 1998).

1.2.13 Control de enfermedades

Una alternativa es el manejo químico, utilizando productos como Hipoclorito de Calcio, productos a base de Carboxin + Captan, fungicidas de oxicloruro de cobre, Tiabendazol, entre otros. Sin embargo, la aplicación debe ser con mucho cuidado ya que se podrían generar patógenos resistentes a estos fungicidas (Tamayo, 2007).

Si hablamos de control de enfermedades se nos vienen a la idea diferentes métodos de control, ya que como sabemos en la agricultura esto va a depender mucho del cultivo y de la enfermedad en sí que se desea controlar. Según Villa et al. (2014) "el control de las enfermedades fúngicas ha dependido, en gran medida, de los tratamientos con agroquímicos".

1.2.14 Control biológico de Lasiodiplodia sp.

El control biológico se refiere al uso de microorganismos antagonistas que presentan la capacidad de atacar a los patógenos del cultivo, evitando así las enfermedades que generan pérdidas económicas a los agricultores Existe un grupo importante que tiene efectos antagónicos con otros microorganismos y esta se puede aprovechar como un control biológico. Según Obregón (2009) "los principales microorganismos utilizados son: *Trichoderma, Clonastachys, Lecanicillium, Metarhizium, Beauveria bassiana,* hongos *nematófagos Paecilomyces* y *Pochoni, lasbacterias Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluoerescens*" (p.31).

El uso de productos biológicos tiene un efecto positivo en el control de los ataques y daños generados por los fitopatógenos, los mecanismos de acción que presentan los antagonistas son: competencia, micoparasitismo y antibiosis, lo cuales evitan el desarrollo del patógeno en la planta (Duarte, 2012).

Además, el control biológico surge como una alternativa de solución a los problemas generados por la producción rutinaria a través de los años, ya que los diferentes microorganismos usados en este método actúan de forma amigable con el medio ambiente (Aguado et al., 2012).

1.2.15 Hongos endófitos

Los hongos endófitos son microorganismos que viven dentro de la planta, conforman una interacción plan-hongo caracterizada como asintomática, donde comparten espacio, y la planta le provee alimento, hospedaje y protección al hongo. De la misma manera, los hongos le brindan a la planta protección frente a condiciones adversas como resistencia al estrés abiótico como sequía, estrés oxidativo, suelos ácidos, suelos salinos y protección frente a algunas plagas (Uitzil, C., 2019).

Dentro de los beneficios estudiados que brindan los hongos benéficos es la producción de metabolitos secundarios, los cuales tienen importancia en la inhibición de patógenos, como hongos, bacterias e insectos. Por otro lado, su importancia también radica en la producción de fitohormonas como giberelinas, el cual estimula al desarrollo de la planta hospedera y le brinda resistencia a la sequía (Uitzil, C., 2019).

Los hongos endófitos fúngicos fueron descubiertos por Anton de Bary en el año 1866, el cual define como un organismo que se encuentra ubicado dentro de los tejidos de las plantas vivas. Menciona que estos hongos no parásitos son endófitos que se desarrollan en simbiosis con las plantas que logran colonizar. Al ingresar un microorganismo dentro del tejido vegetal huésped, su reacción depende de la naturaleza del invasor (Terhonen et al., 2019).

1.2.16 Cepas endófitas de Trichoderma spp.

La capacidad de los microrganismos para ser endófitos se da cuando estos permanecen dentro del tejido vegetal lo cual puede ser perjudicial o beneficioso para la planta. En el caso de los hongos del género *Trichoderma*, hablamos de una interacción benéfica ya que, dentro de la agricultura moderna se usa como un agente de control biológico ya que mejora la respuesta frente al estrés biótico o abiótico del cultivo, siendo estos resultados favorables para la planta. (Fontana et al., 2021)

Las cepas endófitas de *Trichoderma* sp. representa una alternativa mucho más efectiva, debido a la capacidad que presentan de poder permanecer dentro de la planta, generando resistencia en el cultivo frente a patógenos. Dentro de los microrganismos estudiados como endófitos resaltan las especies del género *Trichoderma*, ya que, al ser una especie cosmopolita, han logrado adquirir la capacidad de colonizar el sustrato y en muchas ocasiones se convierten en cepas endófitas, las cuales van a generar una relación simbiótica con la planta (Pedrero et al., 2021).

Actualmente se reconoce a *Trichoderma* como un agente de biocontrol efectivo contra patógenos potenciales de los diferentes cultivos en el país. Sin embargo, el efecto de diferentes cepas de *Trichoderma*, sobre todo de uso comercial, no son desarrollados en las zonas en donde se aplica, por ello su eficacia puede verse afectada (Harman et al*.,* 2010). Debido a esto y para potenciar las cualidades antagonistas y bioestimulantes de este microrganismo se recomienda el uso de cepas nativas y endófitas, que, al estar adaptadas a las condiciones propias de la región de origen, van a presentar un mejor potencial para el sector agrícola. (Altieri, 1999)

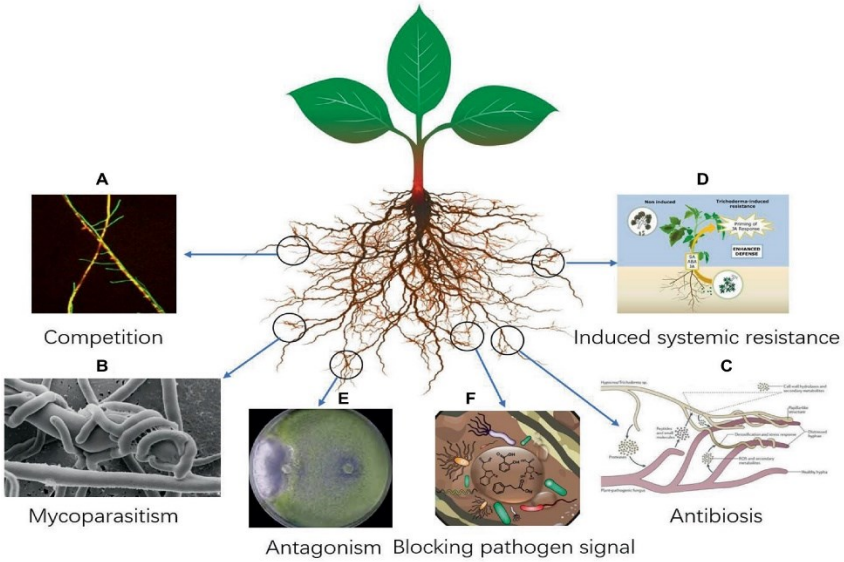
1.2.17 Generalidades del género Trichoderma

Las especies de *Trichoderma* son caracterizados por ser hongos saprófitos, estos sobreviven en suelos con abundante cantidad de materia orgánica, ya que son capaces de descomponerlas y en condiciones favorables, pueden ser anaerobios facultativos. Las especies de *Trichoderma* se encuentran presentes en todas las latitudes, desde las zonas polares hasta la ecuatorial. Así mismo, mencionan que el género *Trichoderma* es un excelente modelo para ser estudiado debido a su fácil aislamiento y cultivo, posee un rápido desarrollo en varios sustratos y por su condición de controlador biológico de una amplia gama de fitopatógenos (Cortés et al., 2023).

Estos resultan significativos para el control biológico de los fitopatógenos. En ese sentido, las especies del género *Trichoderma* se destacan entre las más manejadas para el biocontrol de patógenos fúngicos de la superficie. Presentan diferentes mecanismos de acción que permiten el control de los fitopatógenos. Entre ellos se encuentran: competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, desactivación de enzimas del patógeno, resistencia inducida, etc. Mientras mayor sea la posibilidad de que un aislamiento de *Trichoderma* presente varios modos de acción; más eficiente y duradero será el control sobre el patógeno, aspectos que no poseen los productos químicos (Cortés et al., 2023).

Figura 3

Esquema de mecanismos de acción de Trichoderma sp.



Nota: Diagrama esquemático de mecanismos de acción de *Trichoderma* sp. (Martínez et al*.,* 2013)

1.2.18 Mecanismos de acción de Trichoderma

El hongo benéfico *Trichoderma* presenta tres principales mecanismos de acción (competencia, micoparasitismo, inducción de resistencia, enzimas líticas y antibiosis) (Chiriboga et al., 2015).

1.2.18.1 Competencia

Uno de los mecanismos de acción de *Trichoderma* es la competencia por nutrientes y espacio dentro de su nicho ecológico se realiza en la superficie de la hoja, además de ello es el principal mecanismo que está involucrado en el control de hongos fitopatógenos. (Cortés et al*.,* 2023)

Trichoderma es un hongo saprófito que tiene un crecimiento micelial rápido y se adapta fácilmente al medio ambiente. Además, puede invadir el espacio de los patógenos en la raíz de la planta, obstaculizando y protegiendo de esta manera a la planta. También puede absorber rápidamente los nutrientes esenciales para el crecimiento de los hongos patógenos, lo que resulta en una deficiencia de nutrientes e inhibe el crecimiento y la reproducción de los hongos patógenos (Guo et al., 2019).

1.2.18.2 Micoparasitismo

El micoparasitismo se define como una simbiosis antagónica entre organismos, en el que generalmente están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas y celulasas. En el transcurso del micoparasitismo, *Trichoderma* crece quimiotrópicamente hacia el hospedante, en el cual se adhieren sus hifas, se enrollan y penetran hasta ocasionarles daños. (Cortés et al., 2023)

Las especies de *Trichoderma* durante el proceso de mico parasitismo se mueven hacia el hospedante, se adhieren a las hifas del mismo, se enrollan en ellas frecuentemente y las penetran en ocasiones. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en los estados tardíos del proceso parasítico, que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno (Cortés et al., 2023).

1.2.18.3 Antibiosis

Este mecanismo de acción se basa en la segregación por parte de *Trichoderma* de metabolitos capaces de reducir parcial o totalmente la actividad de hongos fitopatógenos, dentro de ello se encuentran los compuestos volátiles y no volátiles, que va a ser muy variado respecto a la estructura y función. También, se les consideran como "antibióticos" debido a que, estos metabolitos secundarios producidos por *Trichoderma* impiden el crecimiento de otros microrganismos (Martínez et al., 2013).

La antibiosis es un mecanismo de acción donde *Trichoderma* es capaz de producir metabolitos secundarios, los cuales impiden el desarrollo del patógeno. Dentro de estos metabolitos se incluyen peptaiboles, piridonas, viridiofunginas, pironas, koninginininas, esteroides, furanosteroides, epipolitiodioxopiperazinas, butenólidos, azafilonas, antraquinonas, lactonas, tricotecenos, isocianuros, policéticos y péptidos, los cuales influyen de manera negativa a *Fusarium* (Dutta et al*.,* 2023).

1.2.19 Cepas comerciales de Trichoderma

El género de hongo *Trichoderma* actualmente presenta un potencial en el sector agrícola, es por ello que su estudio para la producción y distribución a escala industrial se ha convertido en el principal objetivo de muchas empresas del sector agro. Actualmente se conocen muchas especies de *Trichoderma*, sin embargo, resaltan entre ellas especies como *T. harzianum*, *T. virens*, *T. atroviride* y *T. asperellum* (Harman et al., 2004).

1.2.20 Trichoderma endófitos

Samolski et al. (2012) dieron conocer que: "La mayoría de las especies de *Trichoderma* investigadas colonizan la supercie de la raíz o viven como endófitos dentro de los tejidos de la raíz. Tseng et al. (2020), en sus resultados de investigación menciona que, las hifas de *Trichoderma* llegan a colonizar la superficie de la raíz y se encuentran en los pelos radiculares de *Arabidopsis thaliana*, por lo que recomiendan que es posible realizar la aplicación del endófito como un agente de biocontrol y para el desarrollo de hongos benéficos más efectivos.

1.2.21 Diversidad de Trichoderma endófito

Existe una gran diversidad de *Trichoderma* endófito, la mayoría de las especies han sido aisladas de diferentes tipos de suelo, tejido vegetal muerto y también se han aislado de tejidos vegetales vivos de una amplia variedad de plantas. En los últimos años se han realizado estudios acerca de especies de *Trichoderma* se han asilado cada vez más como endófitos tanto de plantas herbáceas como leñosas, los cuales mostraron una especialización del hábitat (Nascimento et al., 2023).

León et al. (2022) indicaron que la aplicación de *Trichoderma* endófito en plantas cultivadas requiere una inoculación artificial de la planta, se puede lograr de diferentes maneras, realizando el recubrimiento de semillas, aplicando directamente al suelo, pulverizando a nivel foliar y realizando la inmersión de plántulas.

1.2.22 Efecto antagónico de T. yunnanense frente a diferentes patógenos

En sus resultados de investigación menciona que *Trichoderma yunnanense* puede tener un papel muy importante actuando como barreras físicas, brindando defensa a las plantas, otra ventaja que presenta es en la actividad de promoción del crecimiento de las plantas (Kumari & Sharfuddin, 2024).

1.2.23 Capacidad antagónica de Trichoderma asperellum. frente a L. theobromae S-P07

En la identificación de cepas de *Trichoderma* sp. que antagonizaron fuertemente las cepas L.theobromae S-P06 y L. thebromae S-P07. Los resultados mostraron que las cepas T-SP19 y T-SP32 fuertemente antagónicas contra el hongo fitopatógeno *Lasiodiplodia theobromae* S-P06 y S-P07 como *Trichoderma* asperellum T-SP19 y T-SP32, con un 100% de similitud, y sus números de acceso como OR461566 y OR461567, respectivamente. Concluyó que las dos cepas de

Trichoderma asperellum son capaces de antagonizar en una gran escala a las cepas de *Lasiodiplodia theobromae* con un EA superiores al 84% (Khuong et al., 2023).

Win et al. (2021) mencionan en su investigación titulada: "Una cepa recipen aislada de *Trichoderma asperellum* de un suelo supresor de enfermedades es un posible agente de biocontrol para suprimir los hongos fitopatógenos transmitidos por el suelo, *Fusarium*", sus resultados indican que *Trichoderma* asperelluma expresa efectos antipatógenos basados en diferentes mecanismos de acción, el cual incluye, la competencia, antibiosis y micoparasitismo, indicando que pueden utilizarse como agente de biocontrol biológicos para el control de enfermedades causadas por un amplio espectro de hongos patógenos del género *Fusarium*.

Capítulo III

Materiales y Métodos

3.1. Definición de variables

3.1.1. Variable independiente

El principal factor de estudio en el presente trabajo de investigación fueron las cepas endófitas de *Trichoderma*, las cuales fueron aisladas durante un estudio previo, las cuales fueron obtenidas de tejidos vegetales de los cultivos de palto (*Persea americana*) y vid (*Vitis vinífera*). Mientras que las cepas comerciales fueron aisladas durante el desarrollo del estudio. Todas las cepas fueron cultivadas a partir de cultivos puros y reactivadas en medios de cultivo específicos para el crecimiento de hongos.

3.1.2. Variable dependiente

VD1: Competencia

Esta variable evaluó como *Trichoderma* tiene la capacidad de competir por espacio y nutrientes con microrganismos fitopatógenos. Y como puede absorber rápidamente los nutrientes esenciales para el crecimiento de los hongos patógenos, resultando en una deficiencia de nutrientes e inhibiendo el crecimiento y la reproducción de los hongos patógenos.

VD2: Micoparasitismo

Esta variable evaluó el mecanismo de acción antagónica de un organismo, en donde un hongo parasita a otro, penetrando su pared celular y adhiriéndose a sus estructuras.

VD3: Antibiosis

Esta variable evaluó la segregación por parte de *Trichoderma* de producir metabolitos secundarios que son capaces de causar efectos negativos frente a fitopatogenos, y determinar el porcentaje de inhibición micelial del patógeno *Lasiodiplodia theobromae*.

3.2. Operacionalización de variables

Tabla 2

Operacionalización de variables

Variables	Indicadores	Índice
Variable independiente Cepas de *Trichoderma* spp.	Cepas endófitas y comerciales	Cultivos jóvenes de cepas comerciales y autóctonas
Variable dependiente Antibiosis	Inhibición micelial	Porcentaje (%)
Micoparasitismo	Colonización micelial	Porcentaje (%)
Competencia	Crecimiento micelial	Porcentaje (%)

Nota. Elaboración propia (2025)

3.3. Tipo y diseño de investigación

3.3.2. Tipo de investigación

Ivaldi (2022) indica que la investigación fue aplicada, ya que se buscó evaluar la capacidad antagónica de cepas endófitas *Trichoderma* spp. frente a *Lasiodiplodia theobromae* asociada a la muerte regresiva de palto. Además, de acuerdo al alcance también fue descriptivo debido a que, describe la capacidad antagónica in vitro de cepas endófitas y comerciales de *Trichoderma* spp de *Lasiodiplodia theobromae* asociada a la muerte regresiva de palto.

3.3.3. Diseño de investigación

Se empleó el Diseño Completamente al Azar (DCA), en donde se tuvo 21 tratamientos y 3 repeticiones, de las cuales 18 tratamientos se trataron de cultivos duales entre cepas endófitas y 2 cepas comerciales de *Trichoderma* + 1 testigo (*Lasiodiplodia theobromae)* y 1 tratamiento que representó al testigo (patógeno).

$$\mathbf{Xij = \mu + \tau i + \varepsilon ij}$$

Donde:

Xij = Observación cualesquiera dentro del experimento

μ = Media poblacional

τi = Efecto aleatorio del i-ésimo tratamiento

εij = Error experimental

I = 1, 2, ..., t; tratamientos

j = 1, 2, ..., r; repeticiones

Tabla 3

Fórmula de análisis de varianza

F de V	G.L	S.C	C.M	F.c	Sig
Tratamientos	t-1	$\frac{\sum x^2 i}{r} - TC$	$\frac{S.C.trat}{G.L.trat}$	$\frac{C.M.}{C.M.e}$	
Error	$\Sigma(ni - 1)$	S.C total – S.C. tratamientos	$\frac{S.C.error}{G.L.error}$		
TOTAL	$\Sigma ni - 1$	$\Sigma Xij^2 - TC$			

Nota: r: repeticiones, t: tratamientos, SC: Suma de cuadrados, CM: Cuadrado medio, GL: grado de libertad, F.c: F calculada. (Osorio, P. s.f)

$$s = \sqrt{C.M.Error} \qquad \bar{x} = \frac{\bar{x}}{T \cdot R} \qquad C.V = \frac{S}{\bar{x}\,100}$$

Tabla 4

Tratamientos empleados para los ensayos de antagonismo

Tratamientos	**Descripción**
T1	Cepa endófita 1 (TC1) + *Lasiodiplodia theobromae*
T2	Cepa endófita 2 (TC2) + *Lasiodiplodia theobromae*
T3	Cepa endófita 3 (TC3) + *Lasiodiplodia theobromae*
T4	Cepa endófita 4 (TC4) + *Lasiodiplodia theobromae*
T5	Cepa endófita 5 (TC5) + *Lasiodiplodia theobromae*
T6	Cepa endófita 6 (TC6) + *Lasiodiplodia theobromae*
T7	Cepa endófita 7 (TC7) + *Lasiodiplodia theobromae*
T8	Cepa endófita 8 (TC8) + *Lasiodiplodia theobromae*
T9	Cepa endófita 9 (TC9) + *Lasiodiplodia theobromae*
T10	Cepa endófita 10 (TC10) + *Lasiodiplodia theobromae*
T11	Cepa endófita 11 (TC11) + *Lasiodiplodia theobromae*
T12	Cepa endófita 12 TC12 + *Lasiodiplodia theobromae*
T13	Cepa endófita 13 (TC13) + *Lasiodiplodia theobromae*
T14	Cepa endófita 14 (TC14) + *Lasiodiplodia theobromae*
T15	Cepa endófita 15 (TC15) + *Lasiodiplodia theobromae*
T16	Cepa Comercial 1 (TC16) + *Lasiodiplodia theobromae*
T17	Cepa Comercial 2 (TC17) + *Lasiodiplodia theobromae*
T18	Cepa endófita 16 (TC18) + *Lasiodiplodia theobromae*
T19	Cepa endófita 17 (TC19) + *Lasiodiplodia theobromae*
T20	Cepa endófita 18 (TC20) + *Lasiodiplodia theobromae*
T21	Testigo *(Lasiodiplodia theobromae)*

Nota. Elaboración: Propia (2025)

3.4. Ubicación y Descripción Geográfica

El trabajo de investigación se ejecutó en laboratorio de investigación y desarrollo de la empresa Vivero los Viñedos SAC, ubicado en las siguientes coordenadas.

3.4.1. Coordenadas

Longitud: 76°09’42’’

Latitud: 13°27’32’’

Altitud: 33 m s. n. m.

3.4.2. Ubicación Política del Experimento

Departamento: Ica

Provincia: Chincha

Distrito: Chincha baja

3.5. Población y muestra

3.5.1. Población

Cepas endófitas de *Trichoderma* sp. obtenidas a partir de tejido vegetal (yemas, sarmientos, raíz, cuello y tallo) de palto y vid. Las cepas comerciales (TrichoVit Plus WG y MICRO-TCH) obtenidas de productos comerciales.

3.5.2. Muestra

Se empleó un muestreo de tipo no probabilístico en donde se usaron para antagonismo por competencia 63 placas, para antagonismo por micoparasitismo 42 placas y para antagonismo por antibiosis 76 placas.

3.6. Procedimiento de la investigación

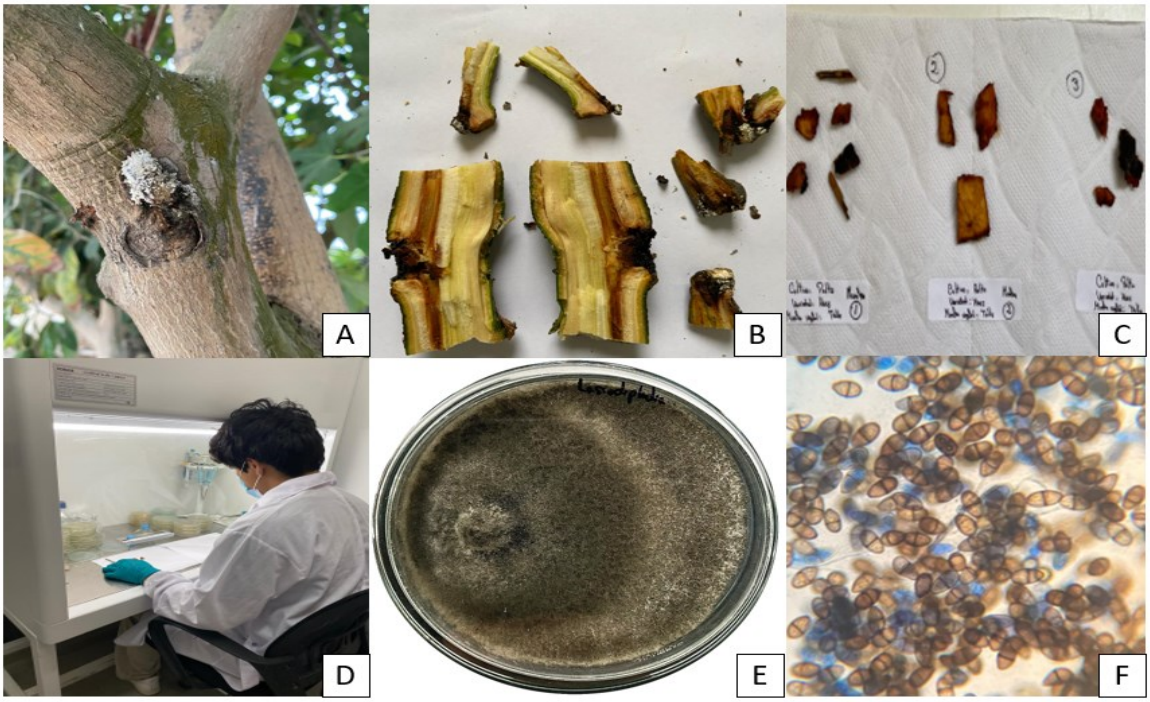
3.6.1. Aislamiento de Lasiodiplodia theobromae asociado a la muerte regresiva en el cultivo de palto

Se tomaron muestras enfermas de tejido vegetal (tallo), con sintomatología de *Lasiodiplodia theobromae* asociada a la muerte regresiva en el cultivo de palto (*Persea americana* var. Hass. Las muestras se colectaron de plantas madres de Vivero los Viñedos ubicadas en Chincha Baja, luego se procedió a llevar las muestras al laboratorio de investigación y desarrollo de Vivero los Viñedos S.A.C, en donde las muestras pasaron por un proceso de desinfección y posterior a ello se realizó la siembra en un medio de cultivo de extracto de malta (MEA), la cual se dejó incubar de siete a diez días aproximadamente a una temperatura de 25C°. Seguidamente se hizo la evaluación al medio de cultivo para luego aislar el patógeno libre de contaminación por

otros hongos saprófitos, una vez obtenido el patógeno puro se realizó la identificación a través de un diagnóstico molecular.

Figura 4

Aislamiento de Lasiodiplodia theobromae en el cultivo palto



Nota. **A:** Sintomatología de *Lasiodiplodia theobromae* en plantas madre de palto; **B:** Desinfección de tejido vegetal para siembra en medio de cultivo PDA; **C:** Muestra de tejido vegetal infectado con *Lasiodiplodia theobromae* para siembra; **D:** Siembra de tejido vegetal en cabina de flujo laminar. **E:** Colonia de *Lasiodiplodia theobromae.* F: Vista microscopia de conidias de *Lasiodiplodia theobromae* a 40x. Elaboración propia (2025)

3.6.2. Identificación molecular de Lasiodiplodia theobromae asociada a la muerte regresiva en el cultivo de palto

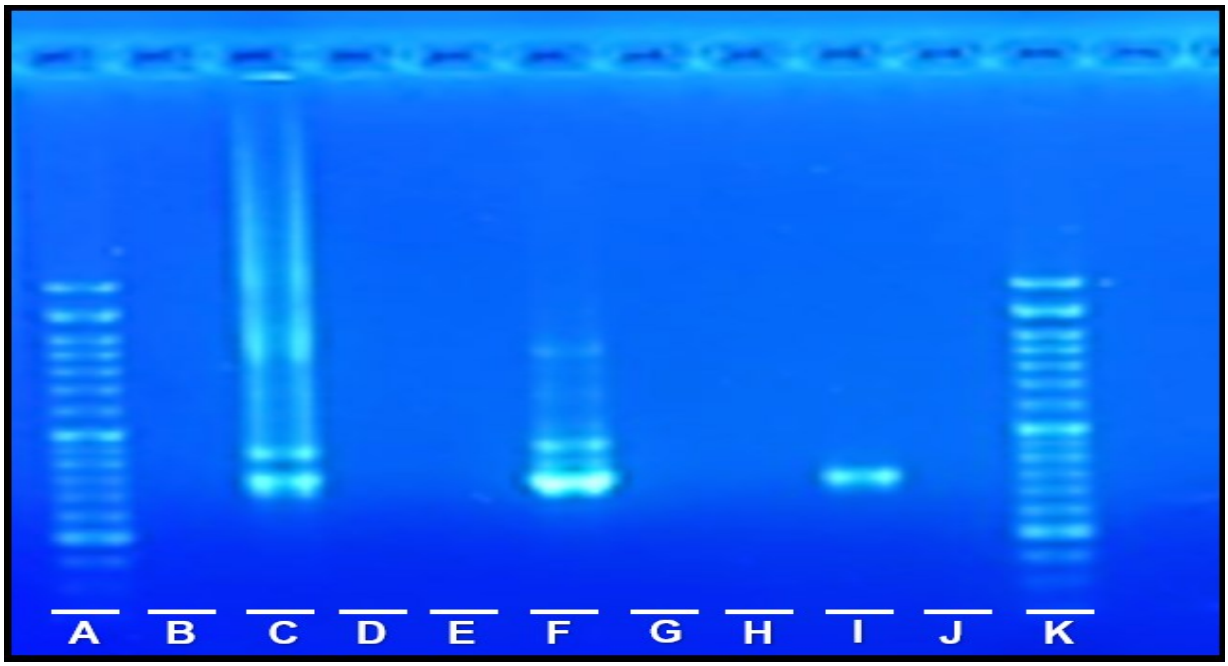
La cepa de *Botryosphaeria* sp. (*Lasiodiplodia theobromae*) obtenida de material vegetal de palto con sintomatología de muerte regresiva se evaluó como *Lasiodiplodia theobromae* mediante PCR anidada (nested PCR) según la metodología propuesta por Xu et.al., (2016). A partir de un cultivo del aislamiento del patógeno, se multiplicó en placas Petri con Medio Agar Papa Dextrosa (PDA) para el desarrollo del micelio con tres días de edad, luego de ello, se tomó fragmentos del micelio, estos se colocaron en tubos eppendorf para la extracción de ADN genómico.

La extracción se realizó con el kit comercial Nucleospin RNA Plant (Macherey-Nagel), donde se excluyó la digestión de ADN para obtener ADN genómico y realizar el análisis de PCR.

La amplificación de los genes de ADNr pertenecientes a la región ITS (ITS1, 5.8S, ITS2) se realizó con el uso de los cebadores ITS1/ITS4 bajo condiciones de PCR estandarizadas. A partir del producto aislado se realizó la comprobación de identidad de *Lasiodiplodia theobromae* mediante la amplificación de genes específicos con el par de cebadores Lt347-F/Lt347-R que amplifican un producto de 347 pb, lo cual se comprobó mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%.

Figura 5

Resultados de electroforesis en gel de agarosa de Lasiodiplodia theobromae



Nota. **A**: Ladder 50pb, **B**: Control negativo ITS2/ITS4 + primers *Lasiodioplodia,* **C***:* PCR primers ITS2/ITS4 + muestra de *Lasiodiplodia* **D***:* PCR primers ITS2/ITS4 + primers de *Lasiodiplodia theobromae*, + muestra de *Trichoderma sp.* (TC20), E: Control negativo ITS4/ITS6, F: Primers ITS4/ITS6 + primers *Lasiodiplodia* + muestra *Lasiodiplodia theobromae*, G: Primers ITS/ITS6 + primers *Lasiodiplodia* + muestra de *Trichoderma* sp. (TC20), H: Control negativo primers *Lasiodiplodia* directo, I: Primers *Lasiodiplodia* directo + muestra de *Lasiodiplodia*, J: Primers lasio directo + muestra de *Trichoderma sp*. (TC20), K: Ladder 50 pb. Elaboración propia (2024)

3.6.3. Aislamiento de cepas comerciales de Trichoderma spp.

Para obtener las dos cepas de *Trichoderma* provenientes de productos comerciales (tabla 5), la extracción de cepas comerciales se realizó mediante la metodología de Sandoval y Stefanova (2000), con el empleo de diluciones seriadas. Se utilizó 1ml del Micro-TCH, y se diluyó en 9ml de agua destilada estéril para obtener una solución madre (10^{-1}), de la cual se realizaron cuatro diluciones seriadas sucesivas hasta el valor 10^{-4}. Se repitió el mismo procedimiento con Tricho Vit Plus, con la diferencia de que, para el producto en polvo se tomó 1g y se diluyó en 10ml de agua destilada estéril.

Se tomó un volumen de 100 µl de las diluciones 10^{-1} y 10^{-4} para la siembra en placas de Petri que contenían medio de cultivo de agar papa dextrosa (PDA) Para cada dilución y cada producto comercial, se realizaron tres repeticiones.

Las placas se incubaron a 25 ± 1 °C durante siete días, realizando observaciones cada dos días. Aquellas placas que presentaron colonias con características similares a *Trichoderma* sp. fueron seleccionadas para el aislamiento. Al finalizar el proceso, se obtuvieron 2 cepas aisladas, una de cada producto comercial (Figura 6).

Tabla 5

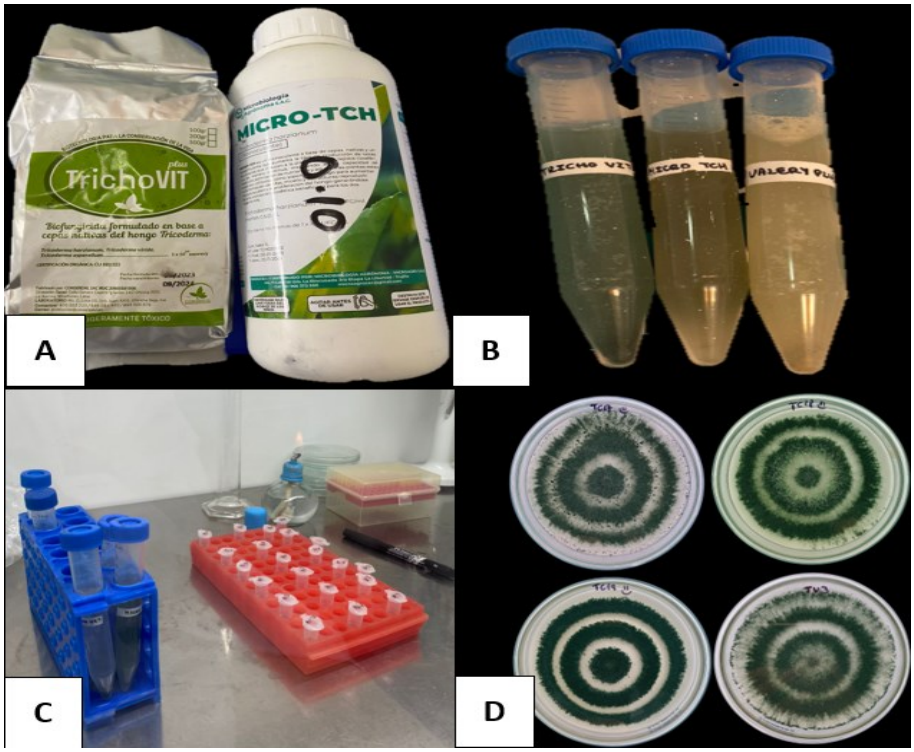
Características generales de productos comerciales

Descripción	Producto comercial 1	Producto comercial 2
Empresa	MICROAGRO PERU S.A.C	FARMAGRO
Nombre comercial	MICRO-TCH	TrichoVit Plus WG
Ingrediente activo	*Trichoderma harzianum*	*Trichoderma harzianum + T. viride + T.asperellum*
Presentación	Líquido x 1L, 5L,10L	Bolsas x 100, 200, 500 g.

Nota. Elaboración: Propia (2024)

Figura 6

Aislamiento de cepas comerciales de Trichoderma sp.



Nota: **A:** Productos comerciales de *Trichoderma* sp; **B:** Preparación de soluciones para aislamiento de *Trichoderma*; **C:** Diluciones seriadas para siembra en PDA; **D:** Crecimiento de cepas comerciales de *Trichoderma* en medios de cultivo PDA. Elaboración propia (2025).

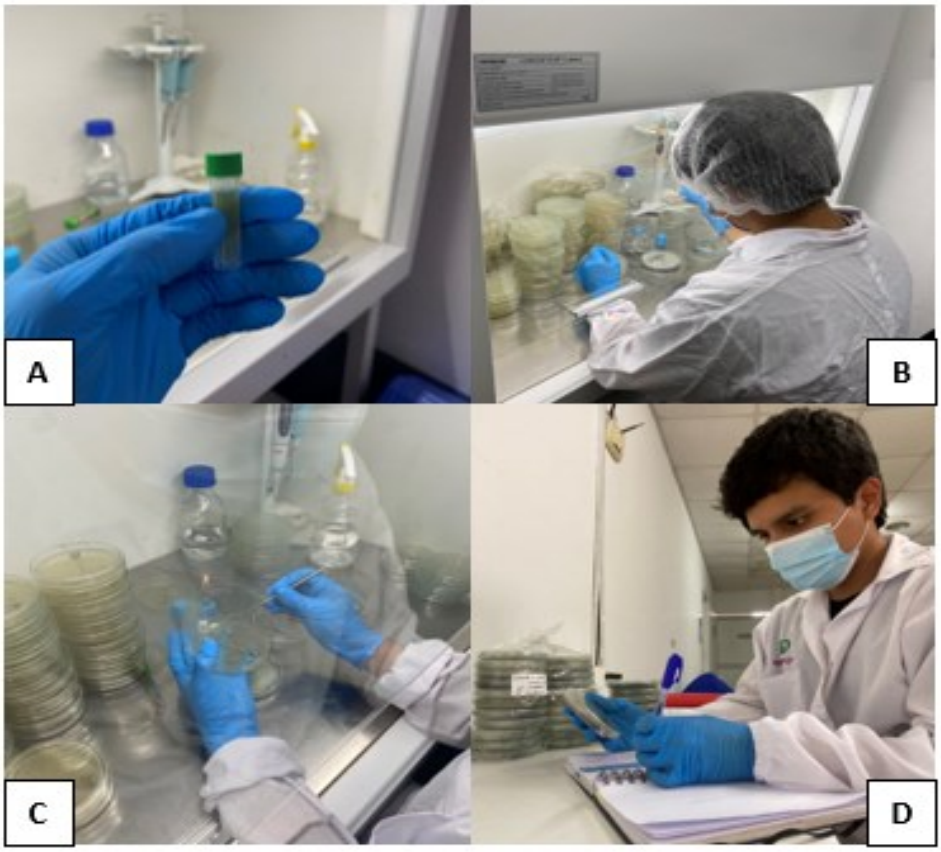
3.6.4. Reactivación de cepas endófitas de Trichoderma sp.

Las cepas nativas fueron brindadas por el laboratorio de investigación y desarrollo de la empresa agroindustrial Vivero los viñedos S.A.C (tabla 6). Estos hongos endófitos fueron aislados de plantas madre de vid y palto y se mantienen conservados en tubos criogénicos con glicerol al 20% a una temperatura de -24°C. Para la reactivación de 18 cepas endófitas del género *Trichoderma* se extrajo 10ul de la solución que contenía esporas del hongo, luego sembró en placas de Petri con medio PDA y se incubó a 25°C por siete días (Figura 7). Luego de 7 días se evaluaron

las cepas reactivadas para confirmar su pureza, las cuales fueron usadas para las posteriores evaluaciones, finalmente se realizó un registro de todas las cepas en estudio (Figura 8).

Figura 7

Reactivación de cepas endófitas de Trichoderma brindadas por la empresa Vivero los viñedos S.A.C.



Nota: **A**: Preservación de cepas endófitas en glicerol al 20%. **B y C:** Reactivación y siembra de cepas de *Trichoderma*; **D:** Evaluación de reactivación de cepas endófitas. Elaboración propia (2025).

Tabla 6

Procedencia de especies de Trichoderma spp. usadas en la investigación.

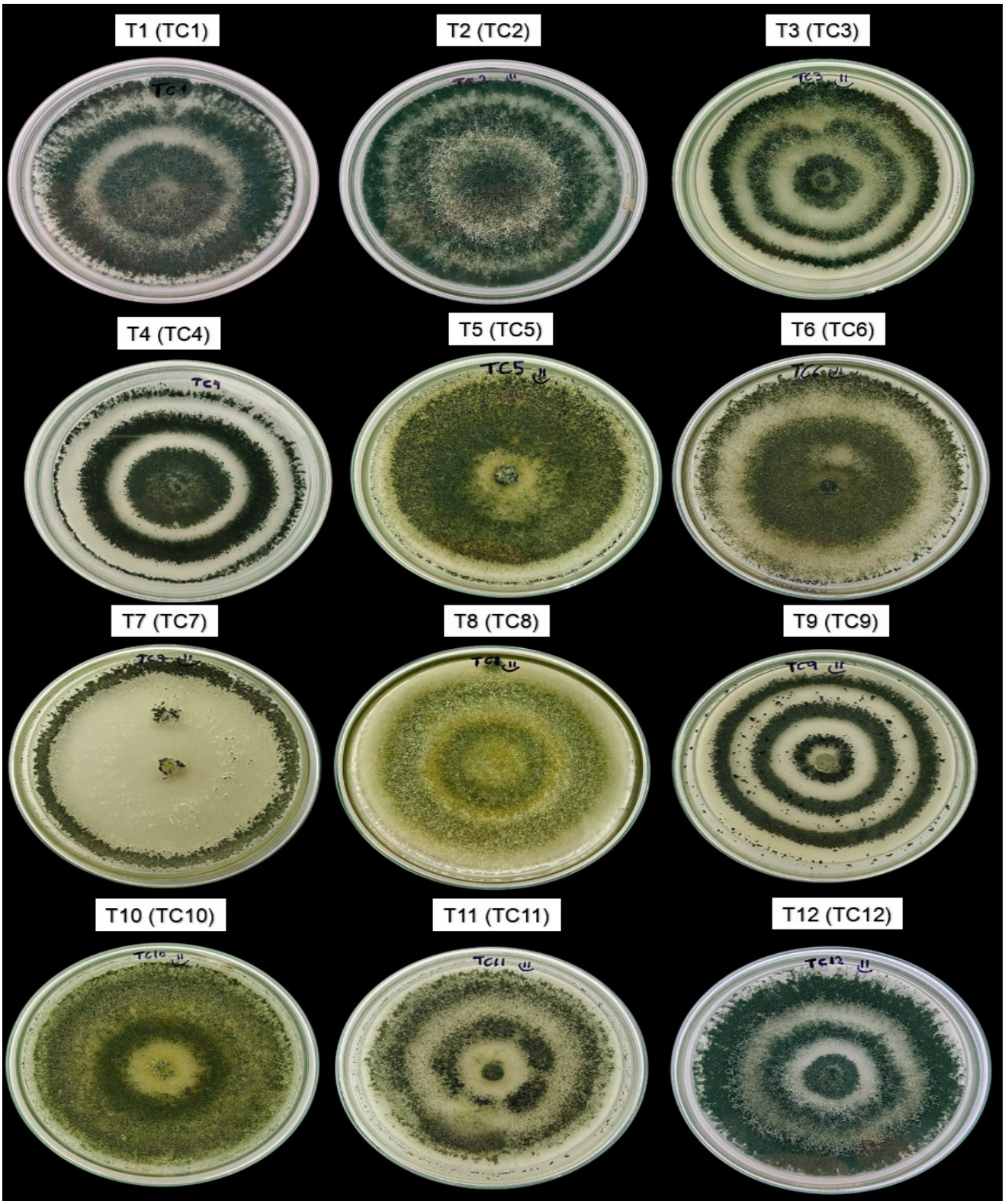
N°	Cepa	Cultivo	Órgano	Lugar de origen (distrito, provincia y región)	Especie de la cepa
1	TC1	Vid	Raíz	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma yunnanense*
2	TC2	Vid	Sarmiento	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma yunnanense*
3	TC3	Vid	Sarmiento	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma yunnanense*
4	TC4	Vid	Sarmiento	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichodermas asperellum*
5	TC5	Vid	Raíz	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma vermificola*
6	TC6	Vid	Raíz	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma vermificola*
7	TC7	Vid	Raíz	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma Harzianum*
8	TCp8	Palto	Cuello/Tallo	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma vermificola*
9	TC9	Vid	Tallo	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma* sp.
10	TC10	Vid	Raíz	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma* sp.
11	TC11	Palto	Yema	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma* sp.
12	TC12	Palto	Yema	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma* sp.
13	TC13	Palto	Yema	Cañete, Lima	*Trichoderma* sp.
14	TC14	Palto	Yema	Cañete, Lima	*Trichoderma* sp.
15	TC15	Palto	Yema	Cañete, Lima	*Trichoderma* sp.

16	TC16	Tricho vit plus PG	Comercial	Ecuador	*Trichoderma harzianum* + *T. viride* + *T.asperellum*
17	TC17	Micro-TCH	Comercial	Ica	*Trichoderma harzianum*
18	TC18	Vid	Sarmiento	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma* sp.
19	TC19	Vid	Sarmiento	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma* sp.
20	TC20	Vid	Sarmiento	Chincha Baja, Chincha, Ica	*Trichoderma* sp.

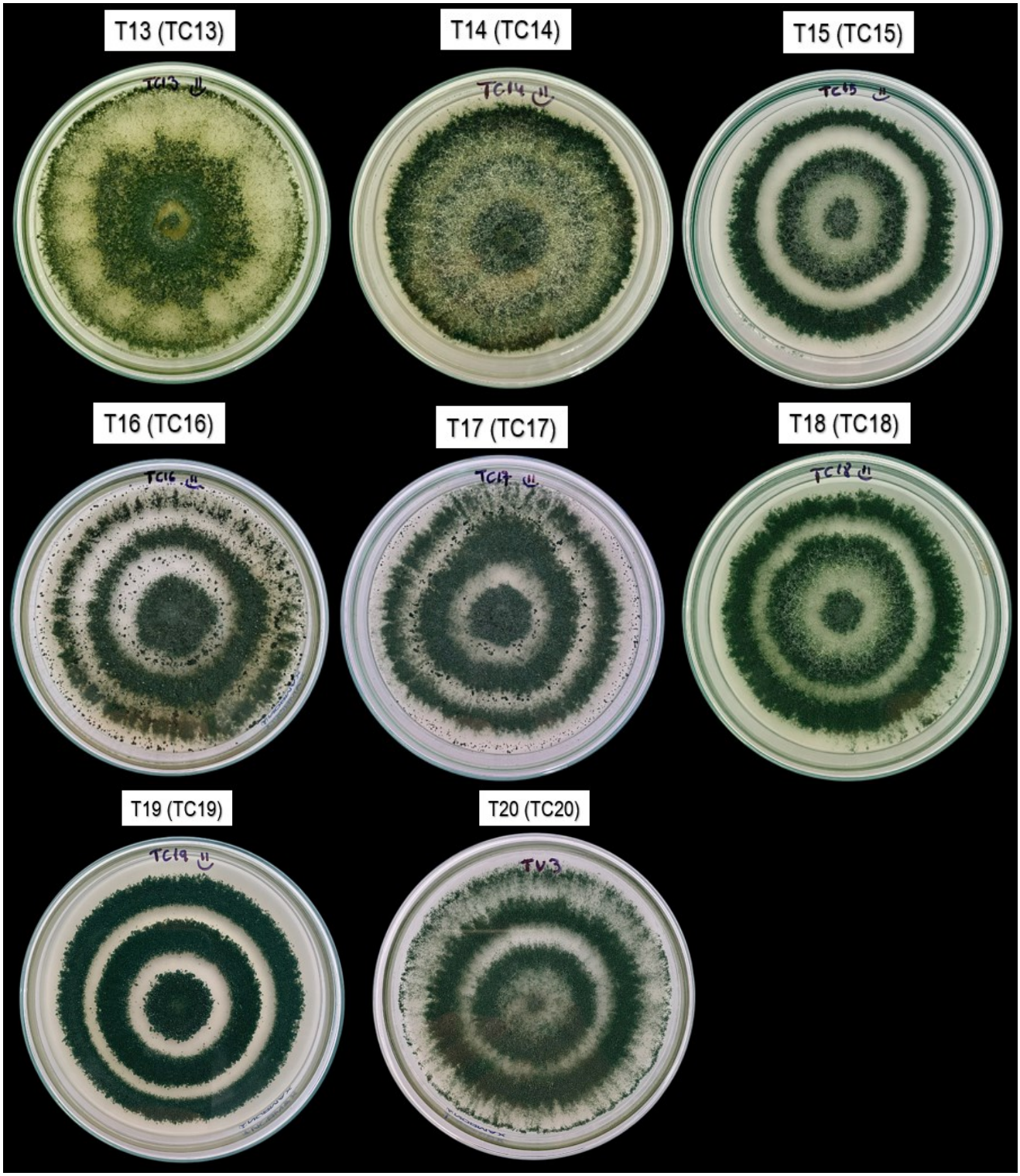
Nota: Trichoderma spp utilizadas en la investigación. Elaboración propia (2025).

Figura 8

Cultivos axénicos de cepas de Trichoderma spp. a los 7 días de reactivación.



Nota: Cepas endófitas reactivadas de *Trichoderma* spp. Elaboración propia (2025)



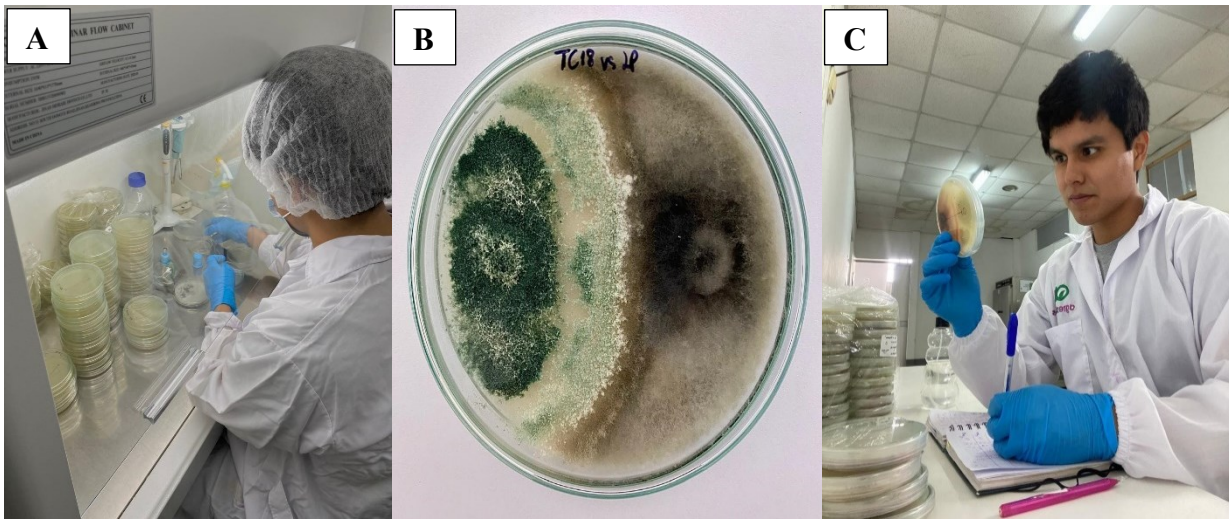
Nota: Cepas endófitas reactivadas. Elaboración propia (2025)

3.6.5. Pruebas de antagonismo de cepas endófitas y comerciales de Trichoderma sp. frente a Lasiodiplodia theobromae a nivel in vitro.

Se evaluó la capacidad antagónica de cepas endófitas y comerciales frente al fitopatógeno *Lasiodiplodia theobromae* mediante cultivos duales en placas de Petri de 90 x 15 mm con medio papa dextrosa agar (PDA). Se colocaron discos de 5 mm de diámetro de cada hongo en lados opuestos de las placas; mientras que, en el tratamiento testigo, solo se sembró el patógeno de manera individual. Las placas se incubaron a 25°C durante siete días, tiempo necesario para que el patógeno del testigo cubriera completamente la placa. Durante este periodo, se registraron diariamente las mediciones del crecimiento de la colonia del patógeno, desde el disco inicial de micelio hasta el punto de detención de su desarrollo (Figura 9). Posteriormente, las placas se mantuvieron en incubación hasta alcanzar los 14 días, con el fin de evaluar la capacidad de colonización de las cepas de *Trichoderma* sp. sobre el patógeno. En este proceso, se midió la inhibición del crecimiento micelial (competencia) y la capacidad de micoparasitismo de las cepas de *Trichoderma* sp. sobre *Lasiodiplodia theobromae* Los datos obtenidos se registraron en una base de datos en Excel.

Figura 9

Prueba de antagonismo de Trichoderma sp. frente a Lasiodiplodia theobromae



Nota: A, Siembra de cultivos duales en cabina de flujo laminar; B, Enfrentamiento de *Trichoderma sp.* vs *Lasiodiplodia Theobromae* a los siete días de inoculación; C, Evaluación de antagonismo de cepas de *Trichoderma sp*. frente al patógeno en estudio. Elaboración propia (2025)

3.6.6. Extracción de metabolitos secundarios de cepas endófitas y comerciales de Trichoderma sp. *frente a Lasiodiplodia theobromae a nivel in vitro.*

Se realizó la reactivación de las 20 cepas de *Trichoderma* sp. (18 endófitas + 2 cepas comerciales), para la inoculación en medio de sustrato sólido arroz (SSA) se siguió la metodología usada por Kong et al. (2018) en donde después de cultivarlas en medio PDA en una placa de Petri durante una semana, fue inoculada en medio sólido de arroz

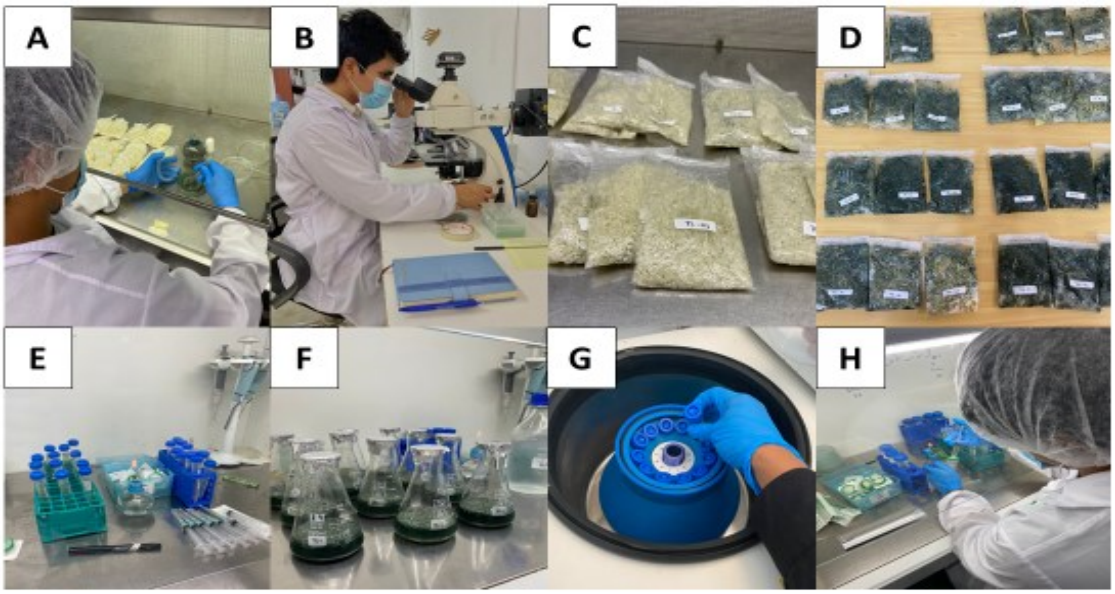
Para la preparación del medio en sustrato sólido (arroz), se utilizó 100g de arroz, con 25ml de agua destilada en bolsas de polipropileno 5x8, en los cuales se inocularon las 20 cepas de *Trichoderma* sp. (18 cepas endófitas + 2 cepas comerciales) y un testigo, en la cual no se realizó la inoculación, cada cepa contó con tres bolsas de 100g, considerados como tres repeticiones.

Para la obtención de metabolitos secundarios (MS) se siguió la metodología propuesta por (Puño et al., 2011, modificado). Luego de la inoculación, se colocaron las bolsas inoculadas durante 3 días en oscuridad y posterior a ello, se hizo observaciones diarias al sustrato y luego de 14 días se tomaron las muestras de los tratamientos respectivos en donde se realizó el lavado de esporas en matraces de 100ml con 10g de cada cepa inoculada en el sustrato. Posterior a ello, se obtuvo 100ml de extracto por cada cepa, de las cuales se tomaron las muestras respectivas y fueron colocados en tubos Falcon de 50ml. Después, se obtuvo el sobrenadante, para ello se centrifugó el extracto por 10 minutos a 3500 r.p.m., la cual fue filtrado con filtro de 0,2um con ayuda de una jeringa y se colocaron en un nuevo tubo para posteriormente ser colocados en baño maría a 90°C durante una hora (Figura 10).

A continuación, se preparó una mezcla de PDA (agar 1.2x) con el líquido de metabolitos en una proporción 1:1, la cual se vertió en placas Petri, en donde, 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 1.2x + arroz solo lavado sin inocular) cubrió toda la placa.

Figura 10

Extracción de metabolitos secundarios de cepas de Trichoderma endófito y comercial.



Nota. **A**, Preparación de sustrato para crecimiento de *Trichoderma*; **B,** Observación microscópica de estructura de *Trichoderma* y conteo de esporas; **C**, Inoculación de cepas de *Trichoderma* endófito y comercial; **D**, Crecimiento y esporulación de *Trichoderma* en medio SSA; **E-F**, Caldo de metabolitos secundarios de *Trichoderma*; **G,** Centrifugación de metabolitos secundarios y **H**, Filtración de caldo de metabolitos secundarios.

3.7. Parámetros de evaluación

3.7.1. Competencia

La acción por competencia se evaluó durante los enfrentamientos por cultivos duales de cepas endófitas y comerciales de *Trichoderma* spp frente al fitopatógeno *Lasiodiplodia theobromae* de la cual se tomaron las medidas cada 24horas. Para realizar el cálculo se utilizó el porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC), utilizando la fórmula descrita por Skidmore y Dickinson (1976):

$$PIC = [(C1-C2)/C1] \times 100$$

Dónde:

C1: Crecimiento radial del testigo (fitopatógeno sin antagonista)

C2: Crecimiento radial del fitopatógeno en los tratamientos en cultivo dual.

Esta prueba se realizó para todas las cepas endófitas y comerciales de *Trichoderma sp.* con potencial antagónico, a los 7 y 12 días posteriores a la inoculación como indica el protocolo propuesto por Skidmore y Dickinson (1976).

3.7.2. Micoparasitismo

Se utilizó el método de enfrentamiento dual para la evaluación por micoparasitismo, la cual fue medida mediante la escala propuesta por Ezziyyani et al. (2004):

Tabla 7

Escala para evaluar el grado de micoparasitismo según Ezziyyani et al. *(2004)*

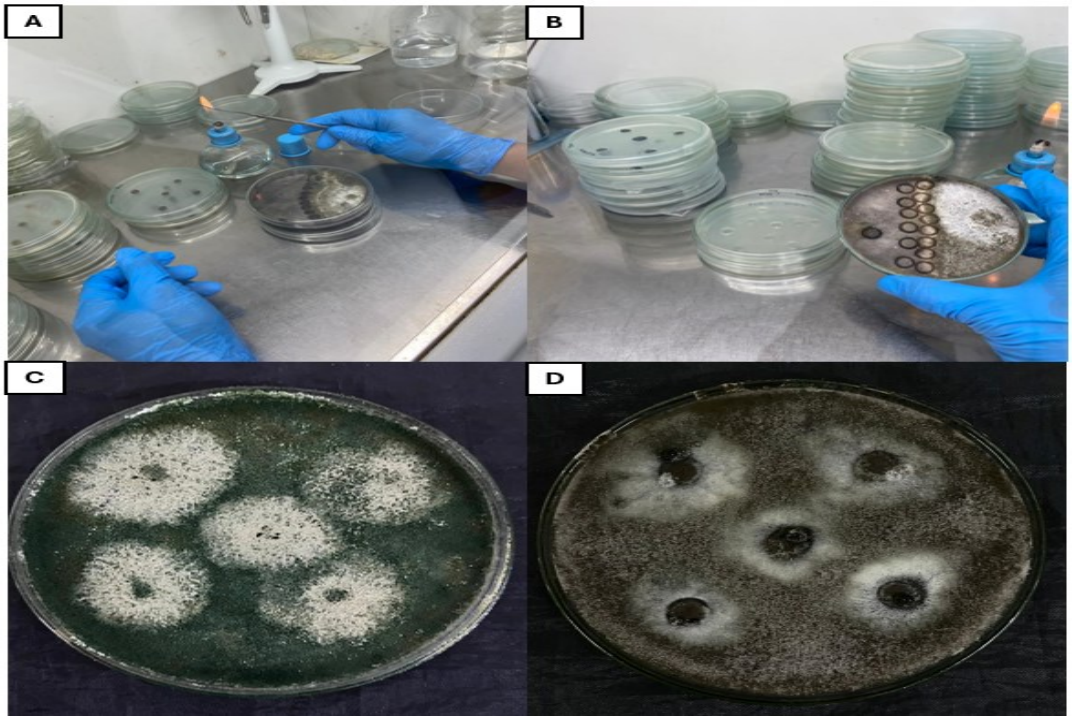
Grado	Capacidad antagónica
0	Ninguna invasión de la superficie de la colonia del hongo patógeno
1	Invasión de 1/4 de la superficie de la colonia del hongo patógeno
2	Invasión de 1/2 de la superficie de la colonia del hongo patógeno
3	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno, no esporulación sobre ella
4	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno con esporulación sobre ella

Nota: Tabla referencial para evaluación de micoparasitismo. Ezziyyani et al. (2004).

Luego de realizar las mediciones para determinar el grado de micoparasitismo, siguiendo la metodología propuesta por Bailey et al. (2008) se procedió a incubar las placas hasta los 20 días para evaluar la colonización de las cepas endófitas y comerciales de *Trichoderma* sobre el patógeno. Se realizó el reaislamiento de la zona de enfrentamiento, las cuales se transfirieron en dos placas de Petri (5 discos por placa) conteniendo medio de PDA, luego se incubó por cinco días a 25°C, donde la evaluación se realizó a partir de las 48 horas y se registró el crecimiento de *Trichoderma* sp en cada disco como positivo (+) y negativo (-) en discos sin crecimiento micelial (Figura 11).

Figura 11

Reaislamiento de la zona de enfrentamiento de cultivos duales de cepas endófitas de Trichoderma sp. frente a Lasiodiplodia theobromae.



Nota. **A** y **B,** Re aislamiento de la zona de enfrentamiento para evaluación de micoparasitismo; **C**, Crecimiento de *Trichoderma sp*., crecimiento positivo (+); **D**, Crecimiento de *Lasiodiplodia theobromae*., crecimiento negativo. Elaboración propia (2025).

3.7.3. Antagonismo por antibiosis

Se midieron los cuatro radios de crecimiento del patógeno para calcular el porcentaje de inhibición micelial empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Inhibición de crecimiento micelial (\%)} = ((C-T)/C*100)$$

Siendo C el crecimiento del patógeno en el testigo y T crecimiento micelial del patógeno en los tratamientos.

Para la obtención de metabolitos secundarios se utilizó la metodología que se basó en el uso de cultivos líquidos (caldos, entre otros); sin embargo, los hongos filamentosos suelen adaptarse mejor a ambientes sólidos. (Shakeri & Foster, 2007; Viniegra González, 2014). Es por

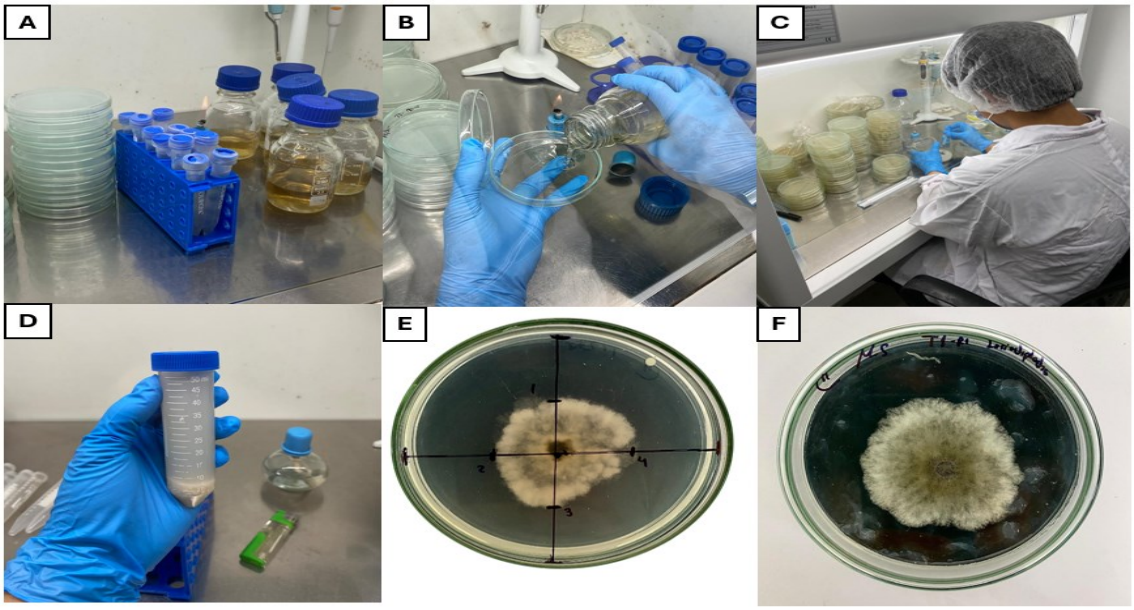
ello qué, para la evaluación de antibiosis y durante la obtención de metabolitos se usó un sustrato sólido, en la cual:

Se evaluó la antibiosis mediante la extracción de metabolitos secundarios de 20 cepas de *Trichoderma* sp. (18 endófitas + 2 comerciales), según la metodología usada por Arestegui (2022) (modificado):

La extracción obtenida de metabolitos secundarios fue mezclada con el medio PDA y transferido a placas Petri de 60 x 16mm, esto se hizo sucesivamente con todos los tratamientos, incluyendo el testigo (medio sólido de arroz sin inoculación de *Trichoderma* sp.). Posteriormente, se inoculó con un disco de 5mm de medio de cultivo del patógeno (*Lasiodiplodia theobromae*) a las placas con medio envenenado de metabolitos, se incubó a 25°C. La evaluación del efecto de antibiosis se realizó al tercer día cuando el testigo haya completado su crecimiento micelial en toda la placa, finalmente se trazó cuatro radios para evaluar el porcentaje de inhibición micelial de *Lasiodiplodia theobromae*. los datos fueron tomados con ayuda de un vernier digital y registradas en las planillas de evaluación y posteriormente se procesaron en una base de datos (Figura 12).

Figura 12

Antibiosis de metabolitos secundarios de cepas de endófitos de Trichoderma sp. hacia Lasiodiplodia theobromae.



Nota. **A,** Medio de cultivo PDA y metabolitos secundarios de *Trichoderma sp*.; **B**, plaqueo de medio de cultivo + metabolitos secundarios de *Trichoderma sp*.; **C**, Inoculación de patógeno en

medio de cultivo envenenado; **D**, Extracción de arroz sin inoculación de *Trichoderma sp*.; **E**, Radios para evaluar el porcentaje de inhibición micelial el patógeno; **F**, Crecimiento del patógeno *Lasiodiplodia theobromae* en medio de cultivo con metabolitos secundarios. Elaboración propia (2025).

3.7.4. Plan de tratamiento de datos

Para la siguiente investigación se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con 20 tratamientos con 3 repeticiones. Se tomaron datos de las siguientes características antagónicas de las cepas endófitas de *Trichoderma* sp.

- Competencia: Mediante el % de inhibición micelial.
- Micoparasistimo: Mediante el % de colonización.
- Antibiosis: Inhibición del crecimiento micelial.

Estos datos fueron verificados con la prueba de Kolmogorov-Smirnov que sirve para determinar el cumplimiento de normalidad. Luego de las evaluaciones se colocarán los datos en una base de datos creada en Excel, que posteriormente serán analizadas utilizando el software estadístico R studio, versión 4.4.1. Posteriormente las bases de datos se recolectaron y se evaluaron de acuerdo al Análisis de Varianza que es conforme del diseño estadístico experimental, donde los tratamientos se compararon con la prueba Tukey al nivel $\alpha = 0,05$, para lo cual se utilizar los paquetes estadísticos (Software), sistematizada en hojas de cálculo (Excel 2019).

Tabla 8

Resultados de las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas para las variables analizadas

Variables de medida	**Supuestos (p valor)**	
	Normalidad	**Homogeneidad de varianzas**
Antagonismo por competencia	0.129	0.831
Antagonismo por micoparasitismo	Kruskall Wallis	Kruskall Wallis
Antagonismo por antibiosis	Kruskall Wallis	Kruskall Wallis

Nota. Elaboración propia (2025)

Capítulo IV

Resultados y discusiones

4.1. Antagonismo por competencia

En la tabla 9 se observa el análisis de varianza (ANVA) de la variable antagonismo por competencia, donde se observa que, existe una diferencia estadística altamente significativa para los tratamientos de las cepas de *Trichoderma sp.* sobre el fitopatógeno *Lasiodiplodia theobromae*. El coeficiente de variabilidad es de 1.94 %, resultando un valor bajo, por lo que, el diseño experimental empleado fue adecuado para el control de variaciones existentes.

Tabla 9

Análisis de varianza de la variable antagonismo por competencia

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor	Sig
Tratamiento	19	9092.87	478.57	329.16	<0.0001	**
Error	38	55.25	1.45			
Total	59	91.53				

Nota: Elaboración propia (2025) CV = 1.94 %

La tabla 10 muestra los resultados de la comparación de medias según Tukey para la variable antagonismo por competencia, donde las cepas TC20 y TC12 (*Trichoderma* sp,) son los tratamientos que presentaron un mayor porcentaje de crecimiento de *Trichoderma* con (86.66%) y (86.19%) respectivamente, seguido de la cepa TC4 (*Trichoderma asperellum*) con 79.81% en comparación a *Lasiodiplodia theobromae.* Sin embargo, la cepa TC5 (*Trichoderma vermificola)* y la cepa TC10 (*Trichoderma* sp,) presentaron valores bajos con 46.18 % y 43.33 % respectivamente. Así mismo, en la (figura 14) se observa que, de las 20 cepas en estudio, 16 cepas superaron el crecimiento micelial de *Lasiodiplodia theobromae,* mientras que 4 cepas no lograron un crecimiento micelial que supere el 50% de infestación al patógeno (TC16, TC11, TC5, TC10). Los resultados concuerdan con Navarrete y Tello (2018), donde muestran que las cepas aisladas de *Trichoderma* presentaron un efecto antagónico por competencia frente al hongo fitopatógeno

Khuong et al. (2023) demostraron que las cepas de *Trichoderma* T-SP19 y T-SP32 alcanzaron una actividad antagónica del 86.2% y 85.4%, respectivamente, evidenciando su eficacia en la exclusión competitiva de *Lasiodiplodia theobromae*. Estos hallazgos resaltan el potencial de *Trichoderm*a como un agente de control biológico eficaz, principalmente a través de la competencia por espacio y nutrientes, lo que podría ser clave en estrategias sostenibles para el manejo de enfermedades en cultivos como el palto.

Los resultados sugieren que la aplicación de *Trichoderma* tiene un efecto positivo en la supresión de *L. theobromae*, atribuido a su rápido crecimiento micelial y su capacidad de adaptación a distintos medios de cultivo. Además, *Trichoderma* puede absorber rápidamente los nutrientes esenciales para el desarrollo de los patógenos, limitando así su proliferación. Finalmente, este hongo antagonista no solo compite eficazmente por los recursos, sino que también puede invadir y degradar las estructuras del fitopatógeno, reforzando su rol en el control biológico (Guo et al., 2019).

Tabla 10

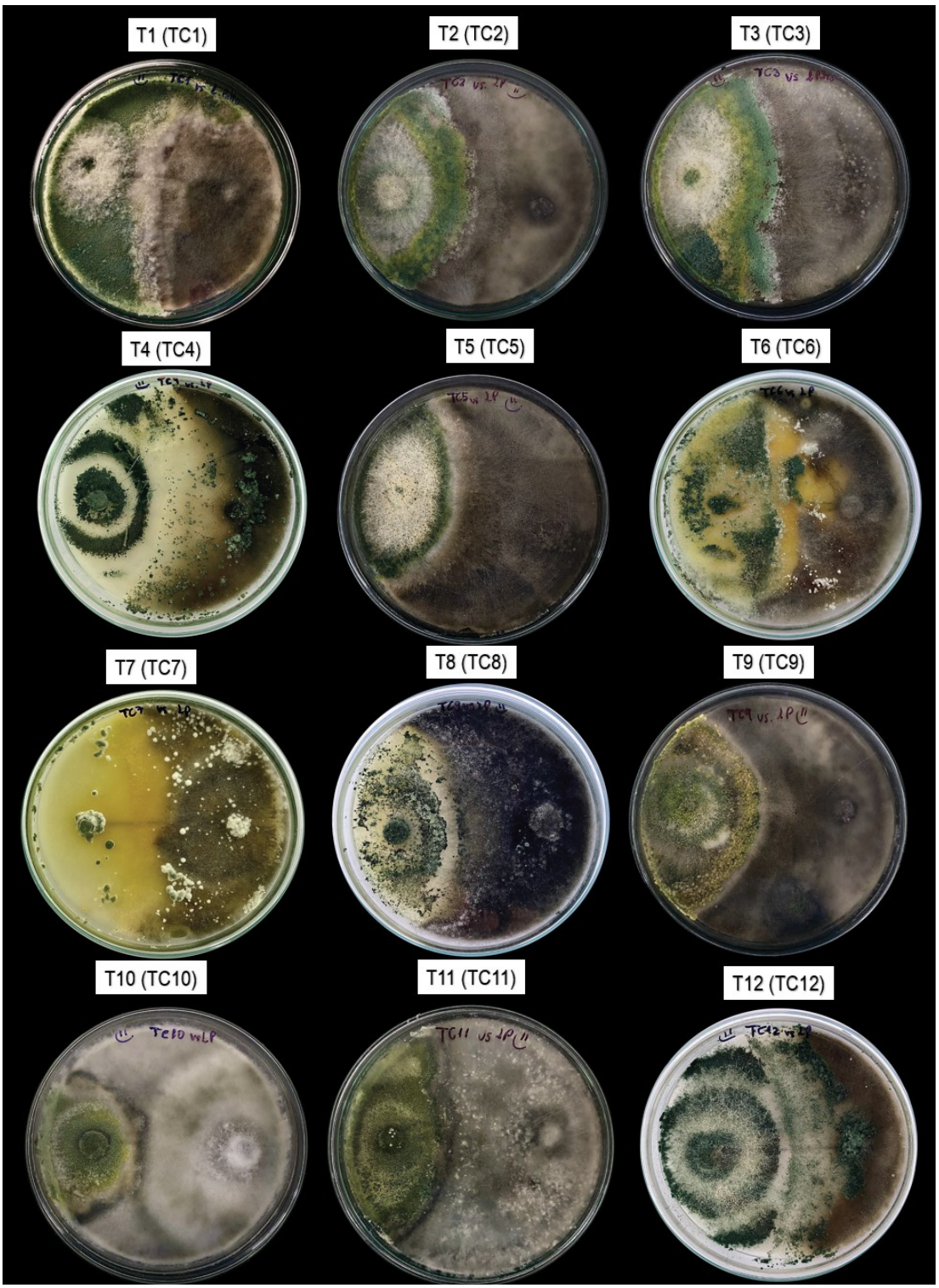
Prueba de comparación de medias de la variable antagonismo por competencia de cepas de Trichoderma frente a Lasiodiplodia theobromae

Orden	Tratamientos	Datos	Significancia
1	TC20	86.66333	a
2	TC12	86.18667	a
3	TC4	79.81000	b
4	TC17	74.52333	c
5	TC3	72.86000	c
6	TC19	71.28667	c
7	TC18	70.95333	c
8	TC6	65.71333	d
9	TC14	64.52333	de
10	TC7	62.85667	de
11	TC15	61.43000	ef
12	TC2	60.95333	ef
13	TC13	58.57000	fg
14	TC8	56.42667	gh
15	TC1	55.71333	gh
16	TC9	54.28667	h
17	TC16	50.00000	i
18	TC11	47.28667	i
19	TC5	46.18667	ij
20	TC10	43.33667	j

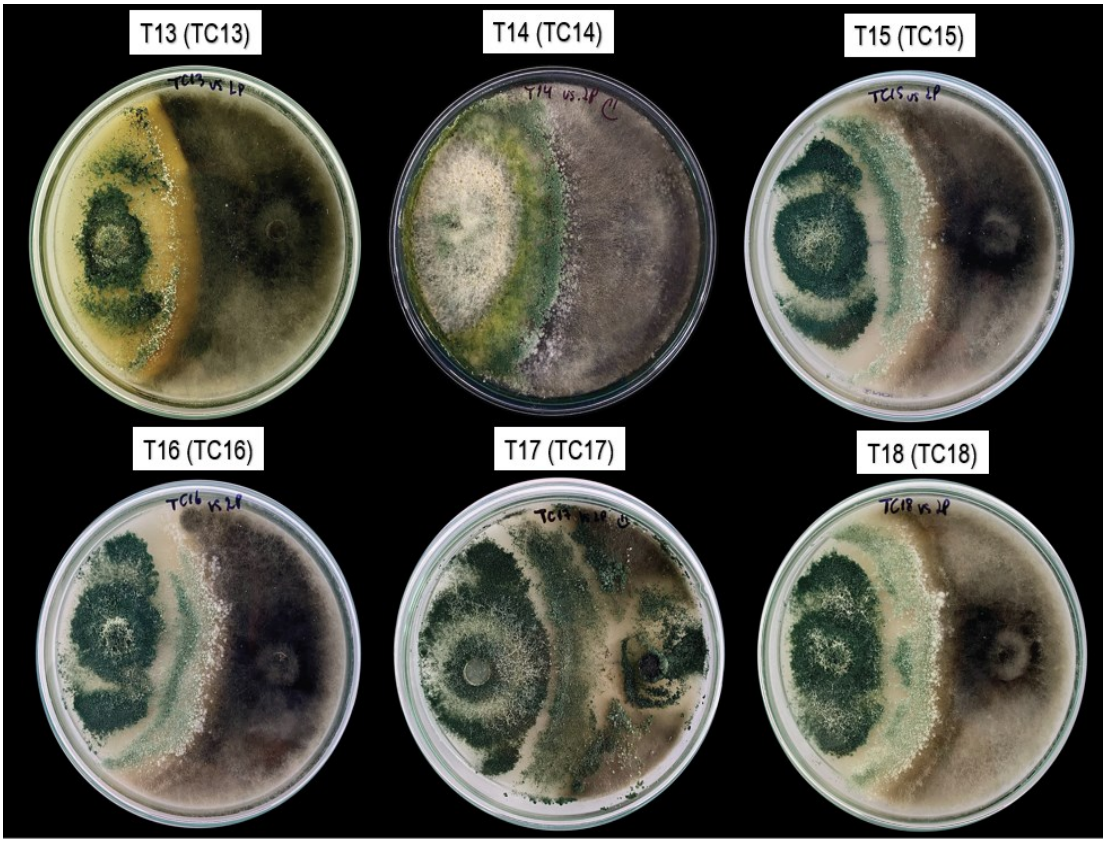
Nota. Elaboración propia (2025)

Figura 13

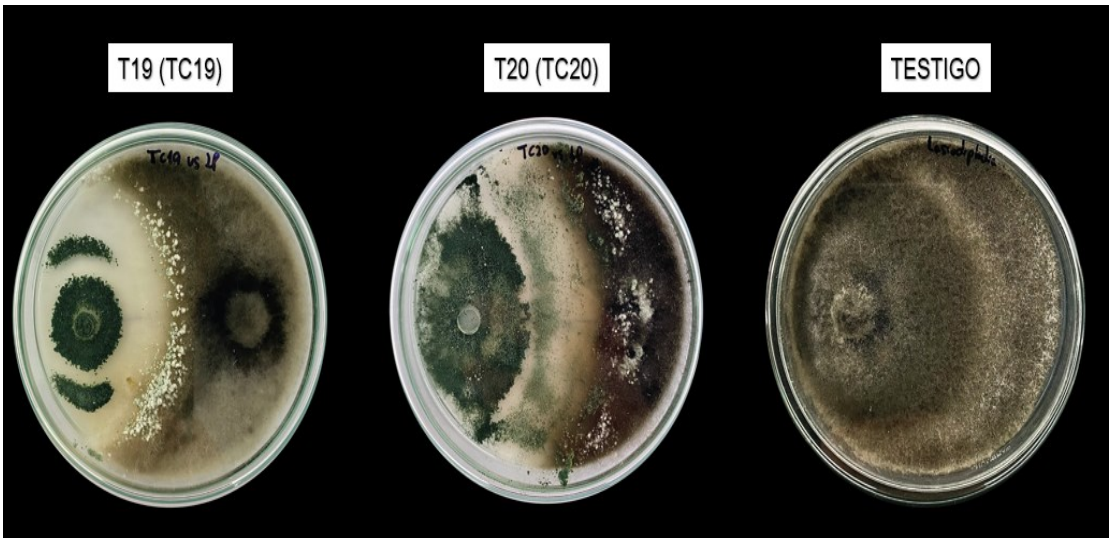
Enfrentamiento dual de cepas endófitas y comerciales de Trichoderma spp. frente a Lasiodiplodia Theobromae



Nota. Elaboración propia (2025).



Nota. Elaboración propia (2025).



Nota. Elaboración propia (2025).

4.2. Antagonismo por micoparasitismo

En la tabla 11, correspondiente a la prueba de Kruskall-Wallis para la variable porcentaje de micoparasitismo, se observa que los tratamientos TC12 y TC20 (*Trichoderma* sp.), TC17 (*Trichoderma harzianum*), TC4 (*Trichoderma asperellum*), TC6 (*Trichoderma vermificola*) y TC7 (*Trichoderma harzianum*) presentan valores iguales de micoparasitismo con un valor de 100%. Esto indica que no existen diferencias estadísticas entre estos tratamientos, lo que sugiere una eficacia uniforme en la inhibición del crecimiento de *Lasiodiploddia theobromae.* Por otro lado, los tratamientos TC2, TC8 y TC18 muestran valores intermedios de micoparasitismo, sin diferencias significativas entre ellos, mientras que los tratamientos TC1, TC10, TC11, TC13, TC14, TC15, TC16, TC19, TC3, TC5 y TC9 presentan el menor porcentaje de micoparasitismo (0%), agrupándose en una misma categoría estadística. Estos resultados destacan la capacidad de *Trichoderma* spp. para inhibir el desarrollo del patógeno mediante la producción de enzimas hidrolíticas como las glucanasas, las cuales desempeñan un papel clave en el proceso de micoparasitismo (Balasubramanian et al., 2012).

Tabla 11

Kruskall – wallis para la variable porcentaje de micoparasitismo

O.m	Tratamiento	Promedio	Grado de micoparasitismo	Sig	H	p
1	TC12	100	4	a	47.55	<0.0001
2	TC17	100	4	a		
3	TC20	100	4	a		
4	TC4	100	4	a		
5	TC6	100	4	a		
6	TC7	100	4	a		
7	TC2	86.7	2	ab		
8	TC8	80	2	ab		
9	TC18	53.3	2	ab		
10	TC1	0	0	b		
11	TC10	0	0	b		
12	TC11	0	2	b		
13	TC13	0	0	b		
14	TC14	0	1	b		
15	TC15	0	2	b		
16	TC16	0	1	b		
17	TC19	0	2	b		
18	TC3	0	1	b		
19	TC5	0	0	b		

20	TC9	0	0	b

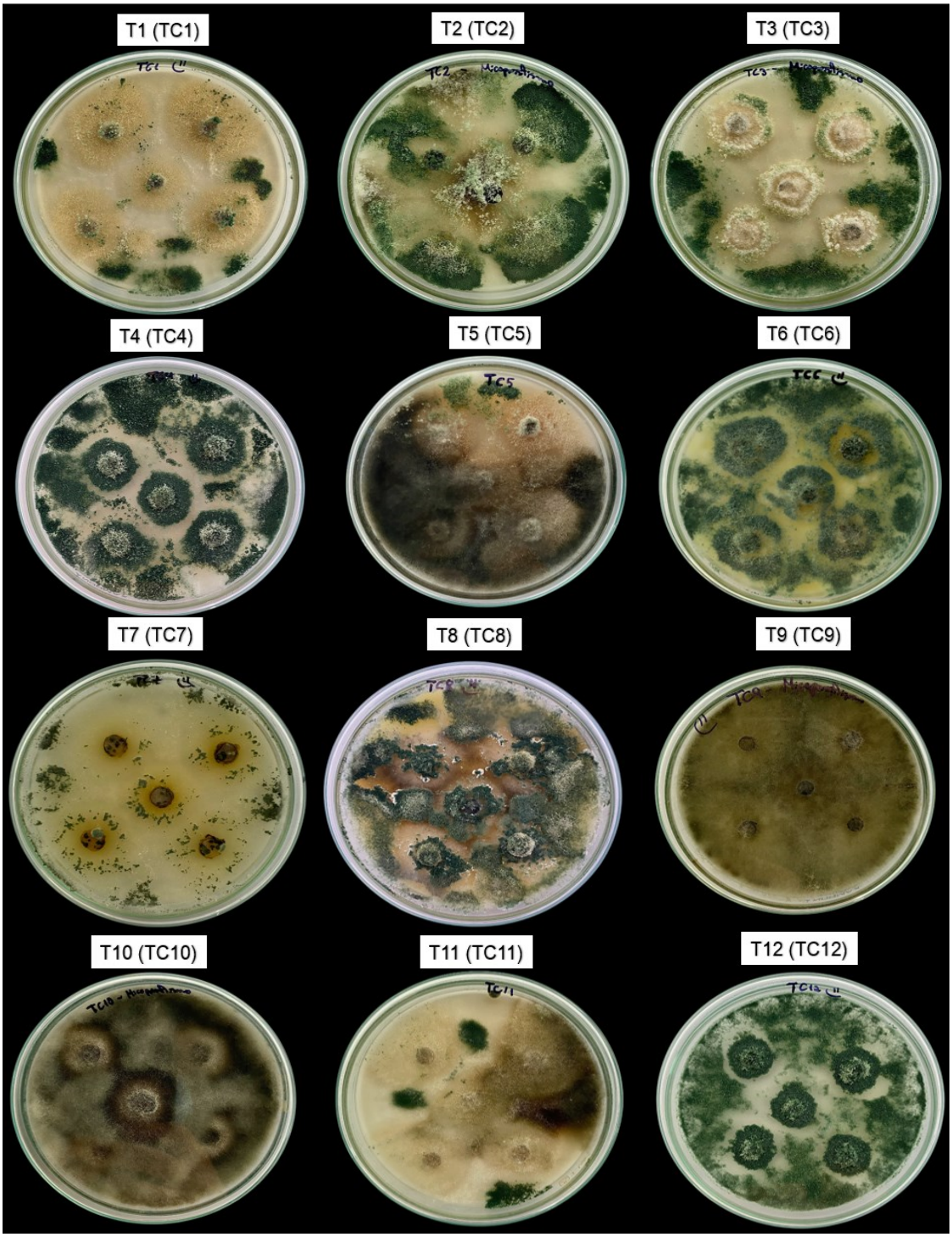
Nota. Elaboración propia (2025).

Bell et al. (1982), mencionaron que *Trichoderma* colonizó el 100 % de la superficie del medio y creció sobre el fitopatógeno, además indican que *Trichoderma* coloniza dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo y limita el crecimiento del fitopatógeno. Por otro lado, el tratamiento TC2 (*Trichoderma yunnanense*) con valor 86.7 %, TC8 (*Trichoderma vermificola*) con valor de 80% y TC18 (*Trichoderma vermificola*) con valor 53.3% también presentan valores positivos en cuanto al porcentaje de micoparasitismo. En la investigación de Yao et al. (2023) mencionan que *Trichoderma* spp invaden directamente el micelio, provocando que las células patógenas se expandan, se deformen, se acorten, se redondeen, encojan el protoplasma y rompan la pared celular. Estos resultados de investigación muestran que el estudio de las cepas de *Trichoderma* endófita frente al patógeno *Lasiodiplodia theobromae* tienen efectos positivos en el control de esta enfermedad, debido a que puede micoparasitar hasta un 100% del patógeno.

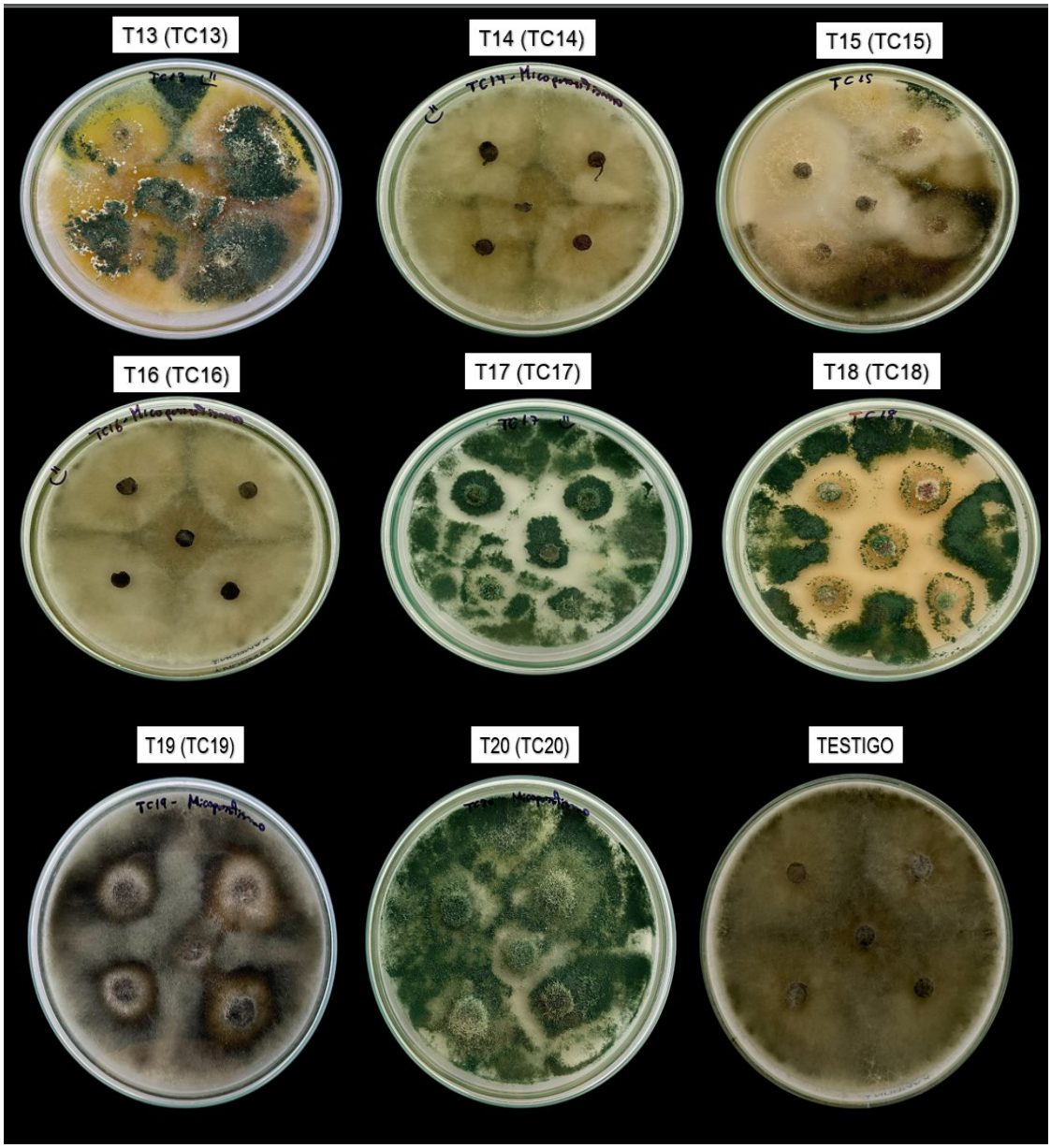
El TC1, TC10, TC11, TC13, TC14, TC15, TC16, TC19, TC3, TC5 y TC9 no muestran diferencias significativas entre ellos, debido a que presentan valores bajos con 0 % de micoparasitismo (Figura 14).

Figura 14

Reaislamiento de zona de enfrentamiento de cultivos duales de Trichoderma sp. frente a Lasiodiplodia theobromae en medios de cultivo PDA.



Nota. Elaboración propia (2025).



Nota. Elaboración propia (2025).

4.3.Antagonismo por antibiosis

En la Tabla 12, correspondiente a la prueba de Kruskal-Wallis para la variable de metabolitos secundarios, se observa que los tratamientos TC12, TC18 y TC20 (*Trichoderma* sp.) con 77.8%, 74.1% y 66.7% presentan los valores más altos en la cantidad de metabolitos secundarios liberados en el sustrato de arroz. A estos les siguen TC17 (*Trichoderma harzianum*) con 55.6%, TC19 y TC15 (*Trichoderma* sp.) con 55.6% y 44.4%, los cuales también mostraron niveles considerables en la producción de estos compuestos. Estos resultados indican que la producción de metabolitos secundarios por *Trichoderma* juega un papel clave en el control de *Lasiodiplodia theobromae*, ya que estos compuestos tienen la capacidad de degradar la pared celular del patógeno, afectando su desarrollo y viabilidad. Nawrocka et al. (2018) señalan que *Trichoderma* es capaz de generar metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, como tricomicina, gelatinomicina, clorotricomicina y diversos péptidos antibacterianos, los cuales no solo actúan contra fitopatógenos, sino que también promueven el crecimiento vegetal y pueden servir como base para el desarrollo de antibióticos agrícolas. Asimismo, Thambugala et al. (2020) demostraron que algunas cepas de *Trichoderma* spp. producen metabolitos secundarios volátiles con capacidad inhibitoria sobre el crecimiento de colonias fúngicas, alcanzando niveles de inhibición de hasta un 80%. Estos hallazgos refuerzan el potencial de *Trichoderma* como un agente de biocontrol eficaz mediante la producción de compuestos bioactivos, lo que lo convierte en una herramienta importante para el manejo sostenible de enfermedades en cultivos agrícolas.

Tabla 12

Kruskall – wallis para la variable de metabolitos secundarios

O.m	Tratamiento	Promedio		H	p
1	TC12	77.8	a	56.15	<0.0001
2	TC18	74.1	a		
3	TC20	66.7	a		
4	TC17	55.6	ab		
5	TC19	55.6	ab		
6	TC15	44.4	ab		
7	TC16	42.2	ab		
8	TC1	37.0	abc		
9	TC2	29.6	abcd		
10	TC3	25.2	abcd		
11	TC8	20	abcd		
12	TC5	12.6	bcd		
13	TC14	11.1	bcd		
14	TC4	11.1	bcd		
15	TC6	3.7	cd		
16	TC7	2.2	cd		
17	TC10	0	d		
18	TC11	0	d		
19	TC13	0	d		
20	TC9	0	d		

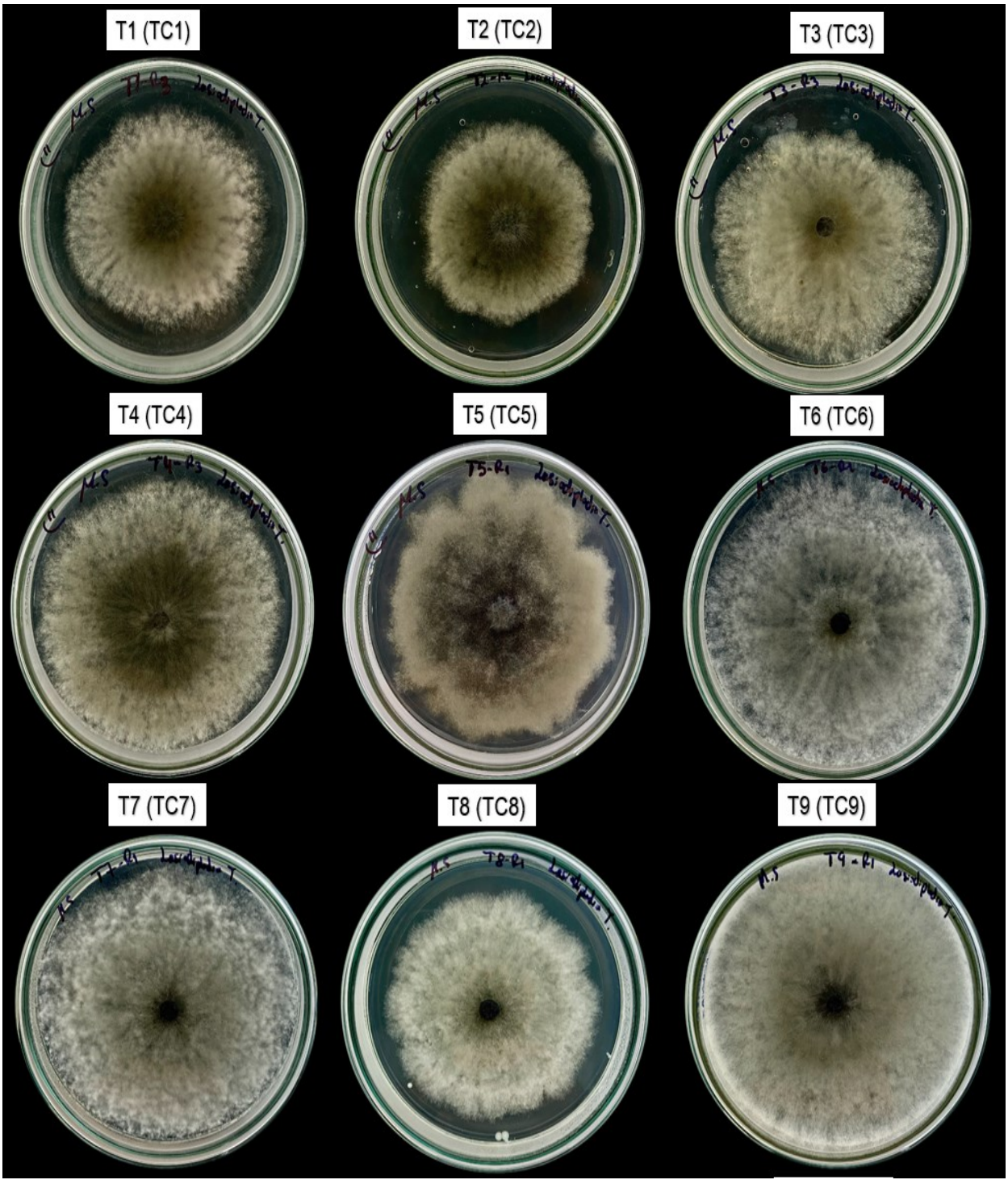
Nota. Elaboración propia (2025)

Kappel et al. (2020) identificaron que el género *Trichoderma* produce metabolitos secundarios en donde están incluidos: tricomicina, gliotoxina, viridina, péptido antibacteriano, β-1, 3-glucanasa, polipéptidos, policetonas, butirolactonas, ácido sesquiterpénico heptadecarboxilico, terpenos y otras sustancias como hidrocarburos, alcoholes, furanos, aldehídos, alcanos, olefinas, ésteres, compuestos aromáticos, compuestos heterocíclicos y varios terpenoides. Estos componentes han demostrado causar efectos perjudiciales sobre diversos fitopatógenos. Estos hallazgos se relacionan con la investigación, debido a que en la cepa TC12 (*Trichoderma* sp) que es una cepa endófita de *Trichoderma* aislada a partir de las yemas de palto presentaron un 77.8 % de inhibición micelial, lo que indica su alto potencial para el control de Lasiodiplodia theobromae y sugiere la viabilidad de futuras investigaciones sobre su aplicación en el manejo de enfermedades en cultivos agrícolas. Por otro lado, Pocurull et al. (2020) señalaron que *Trichoderma* produce metabolitos secundarios que inducen respuestas de defensa de las plantas y promueven el crecimiento de las plantas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en la investigación, ya que algunas cepas endófitas como TC12, TC18, TC20, TC17 y TC19 presentan valores altos en cuantos al porcentaje de inhibición micelial y micoparasitismo, lo que refuerza su potencial como agentes de biocontrol.

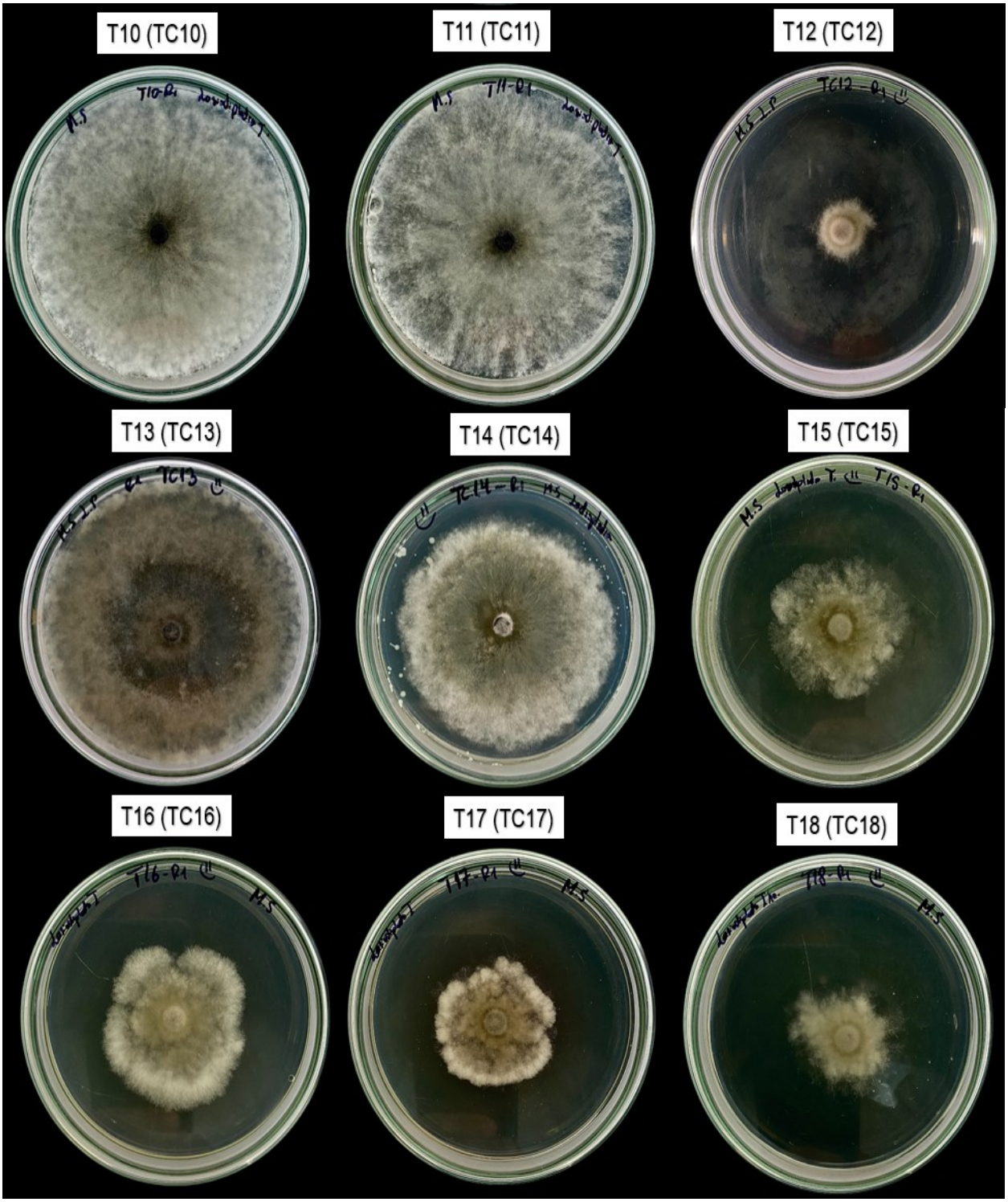
Así mismo, estos tratamientos se diferencian estadísticamente de TC10, TC11, TC13 y TC9 (*Trichoderma* sp.) presentaron 0% de contenido de metabolitos secundarios en sustrato de arroz, resultando ser cepas que tienen poca eficiencia para el control de *Lasiodiplodia theobromae* (Figura 15).

Figura 15

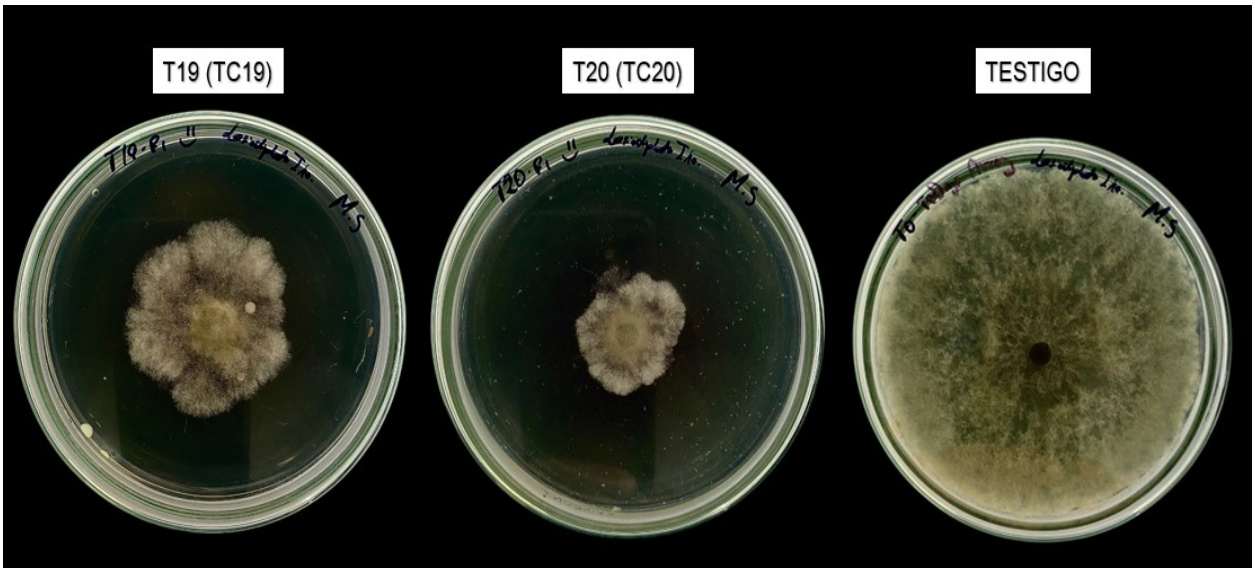
Antibiosis de Lasiodiplodia theobromae en medio de cultivo PDA + metabolitos secundarios de Trichoderma spp



Nota: Elaboración propia (2025)



Nota: Elaboración propia (2025)



Nota. Elaboración propia (2025)

V. Conclusiones

Las cepas endófitas TC20 y TC12 (*Trichoderma* sp.) obtuvieron el mejor resultado en cuanto a la capacidad antagónica por competencia de espacio y nutrientes contra *Lasiodiplodia theobromae* alcanzando el mayor crecimiento micelial con 86.66% y 86.19% respectivamente.

En la evaluación de micoparasitismo las cepas TC12 y TC20 (*Trichoderma* sp.), TC17 (*Trichoderma harzianum*), TC4 (*Trichoderma asperellum*), TC6 (*Trichoderma vermificola*) y TC7 (*Trichoderma harzianum*) lograron un 100% de micoparasitismo frente al patógeno en estudio *Lasiodiplodia theobromae* causante de la muerte regresiva en palto.

En la variable de evaluación de antagonismo por antibiosis frente a *Lasiodiplodia theobromae*, las cepas endófitas TC12 y TC18 (*Trichoderma* sp.) obtuvieron los mejores resultados con 77.8% y 74% respectivamente de inhibición micelial frente al patógeno, debido a que los metabolitos extraídos a partir de las cepas endófitas obstaculizaron el desarrollo micelial de *Lasiodiplodia theobromae*.

VI. Recomendaciones

En base al estudio realizado, se recomienda que:

- Se debe realizar más estudios de cepas endófitas de *Trichoderma* existentes en las plantas, ya que muchos de ellos presentan efectos significativos para el control de enfermedades importantes como hongos, bacterias y algunas plagas fitopatógenas.
- Realizar el estudio de la composición y caracterización de los metabolitos secundarios, para comprender el mecanismo de acción y optimizar su aplicación y producción como agentes de control biológico.
- Realizar la caracterización molecular de las cepas endófitas de *Trichoderma* sp, para determinar la especie y poder escalar la producción de estos como alternativas de control biológico para el control de plagas y enfermedades.
- Se sugiere realizar más investigaciones de la compatibilidad de los metabolitos secundarios extraídos a partir de cepas endófitas de *Trichoderma* con otras estrategias de manejo como es el uso de bioestimulantes y otros productos que se utilizan en la agricultura.

VII. Referencias bibliográficas

Agencia agraria de noticias (2022). ProHass: *Exportaciones peruanas de palta Hass alcanzarían las 515 mil toneladas en la campaña 2022.* Recuperado de: https://agraria.pe/noticias/prohass-exportaciones-peruanas-de-palta-hassalcanzarian-las-28243

Agraria (2023, 29 de septiembre). *Lasiodiplodia theobromae se ha vuelto más agresiva en las plantaciones de palto en Perú y el mundo.* https://agraria.pe/noticias/la-lasiodiplodia-se-ha-vuelto-mas-agresiva-en-las-plantacion-34321.

Aguado Santacruz, G. A. (Ed.), Rascón Cruz, Q., Luna Bulbarela, A., Moreno Gómez, B., Luna Martínez, F., Flores Balderas, M. C., Mendoza Herrera, A., Cruz Hernández, M. A., González Prieto, J. M., Reséndiz Arvizu, V. H., Aguirre Medina, J. F., Durán Prado, A., Peña del Rio, M. Á., & Grageda Cabrera, O. (2012). *Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura* (1.ª ed.). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP): Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). https://www.researchgate.net/publication/311424135_Introduccion_al_Uso_y_Manejo_de_los_Biofertilizantes_en_la_Agricultura.

Altieri, M. A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *74*(1-3), 19-31. https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00028-6
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167880999000286

Andrade-Hoyos, P., Silva-Rojas, H. V., & Romero-Arenas, O. (2020). Endophytic *Trichoderma* Species Isolated from *Persea americana* and *Cinnamomum verum* Roots Reduce Symptoms Caused by *Phytophthora cinnamomi* in Avocado. *Plants*, *9*(9), 1220. https://doi.org/10.3390/plants9091220

Apaza, W., Villavicencio, Y., Moreno, R. y Huallanca, C. 2015. *Comportamiento de los cinco patrones de palto más utilizados en la Irrigación de Chavimochic a la pudrición radicular ocasionada por Phytophthora cinnamomi.* VIII Congreso mundial de la palta, Lima - Perú. Libro de Resúmenes, p. 38. https://repositorio.lamolina.edu.pe/items/35f354ac-a68c-4f7d-88f6-edc6dd144599

Arestegui, Y. (2023). *Cepas nativas de Trichoderma para el control del moho gris (Botrytis cinerea Pers.) de arándano (Vaccinium corymbosum L.)* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Cañete]. https://gestion-repo.undc.edu.pe/items/e9199f48-76db-44ea-9e51-56cb5784ec65

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.

Balasubramanian, V., D. Vashisht, J. Cletus and N. Sakthivel (2012). Plant β-1,3-glucanases: their biological functions and transgenic expression against phytopathogenic fungi. *Biotech. Lett*. 34(11): 1983-1990. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22850791/

Bancayán, L., & Delgado, J. (2016). *Estudio de Pre—Factibilidad para la producción Palta Hass (Persea americana Mill) en la Región Lambayeque con fines de exportación* [Tesis Licenciatura, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]. https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/867

Bell, D. K., Wells, H. D., and Markham C.R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72: 379-382. https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1982Abstracts/Phyto72_379.htm

Chaupín, M. (2018). *Incidencia, etiología y control in vitro de la muerte regresiva en el palto (Persea americana Mill.) en Luricocha, Huanta* [Tesis para optar grado de ingeniero agrónomo]. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú. http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/UNSCH/3085/1/.

Chavarry, H. (2021). *Caracterización morfologíca y patogénica de Lasiodiplodia theobromae en Vacinium corymbosum L. Trujillo, La Libertad* [Tesis de grado, Universidad Nacional de Trujillo]. https://dspace.unitru.edu.pe/server/api/core/bitstreams/473962d7-9a1c-4d8c-afe8-254bb50f8a62/content

Chiriboga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). *Trichoderma* spp. para el control biológico de enfermedades. *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Paraguay*. https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/igo/

Cortés-Hernández, F. D. C., Alvarado-Castillo, G., & Sánchez-Viveros, G. (2023). *Trichoderma* spp., una alternativa para la agricultura sostenible: una revisión. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 25(2), 73-87. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752023000200073

Duarte Cueva, F., (2012). El control biológico como estrategia para apoyar las exportaciones agrícolas no tradicionales en Perú: un análisis empírico. *Contabilidad y Negocios*, 7(14), 81-100. https://www.redalyc.org/pdf/2816/281624914006.pdf

Dutta, P., Mahanta, M., Singh, S. B., Thakuria, D., Deb, L., Kumari, A., Upamanya, G. K., Boruah, S., Dey, U., Mishra, A. K., Vanlaltani, L., VijayReddy, D., Heisnam, P., & Pandey, A. K. (2023). Molecular interaction between plants and *Trichoderma* species against soil-borne plant pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1145715. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1145715

Fernández, A. (2021). *Instalación de palto (Persea americana Mill) CV. Hass en la irrigación Olmos – Lambayeque.* [Tesis para optar el grado de ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional Agraria La Molina]. https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNAL_444a67b6ae9f389e7137d00ddf694b6c

Flores-Izquierdo, M. A., & Espinoza-Villanueva, L. E. (2023). Situación actual y perspectivas de la producción de palta (*Persea americana*) peruana en el contexto del comercio internacional. *Ingeniería Industrial*, (45), 157-173. https://revistas.ulima.edu.pe/index.php/Ingenieria_industrial/article/view/6316

Fontana, D. C., De Paula, S., Torres, A. G., De Souza, V. H. M., Pascholati, S. F., Schmidt, D., & Neto, D. D. (2021). Endophytic fungi: biological control and induced resistance to phytopathogens and abiotic stresses. *Pathogens* 8;10 (5) :570. doi: 10.3390/pathogens10050570

Guo, Y., Ghirardo, A., Weber, B., Schnitzler, JP, Benz, JP y Rosenkranz, M. (2019). *Trichoderma* species differ in their volatile profiles and in antagonism toward ectomycorrhiza *Laccaria bicolor*. Front. *Microbiol.* 10:891. doi: 10.3389/fmicb.2019.00891

Harman, G. E., Obregón, M. A., Samuels, G. J., & Lorito, M. (2010). Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developing and the developed World. *Plant Disease*, *94*(8), 928-939. https://doi.org/10.1094/PDIS-94-8-0928

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

Kappel, L., Kosa, N., & Gruber, S. (2022). The multilateral efficacy of chitosan and *Trichoderma* on sugar beet. Journal of Fungi, 8(2), 137. https://www.mdpi.com/2309-608X/8/2/137

Khuong, N. Q., Nhien, D. B., Thu, L. T. M., Trong, N. D., Hiep, P. C., Thuan, V. M., ... & Xuan, D. T. (2023). Using *Trichoderma asperellum* to antagonize *Lasiodiplodia theobromae* causing stem-end rot disease on Pomelo (*Citrus maxima*). *Journal of Fungi*, 9(10), 981. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10607552/

Koche, M. D., Gade, R. M., & Deshmukh, A. G. (2013). Antifungal Activity of Secondary Metabolites Produced by *Pseudomonas fluorescens*. *The Bioscan*, *8*(2), 723-726. https://thebioscan.com/index.php/pub/article/view/369?articlesBySimilarityPage=8

Kong, Z., Jing, R., Wu, Y., Guo, Y., Geng, Y., Ji, J., Qin, L., & Zheng, C. (2018). Trichodermadiones A and B from the solid culture of *Trichoderma atroviride* S361, an endophytic fungus in *Cephalotaxus fortunei*. *Fitoterapia*, *127*, 362-366. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29626624/

Kumari y Sharfuddin (2024). Biocontrol potential of *Trichoderma yunnanense* against phytopathogenic fungi and growth promotion activity after mass multiplication using agro-waste products. *Agricultural and Biological Research*. 4 (3). https://www.abrinternationaljournal.org/articles/biocontrol-potential-of-trichoderma-yunnanense-against-phytopathogenic-fungi-and-growth-promotion-activity-after-mass-multiplicati-102396.html

Leon Ttacca, B. & Mattos Calderón, L. (2021). Control de hongos fitopatógenos asociados a semillas de palto *Persea americana* Mill. (Lauraceae) In Vitro. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(3), 2690-2701. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i3.483

Leon Ttacca, B., Ortiz Calcina, N., Pauro Flores, L., Borja Loza, R., Mendoza Coari, P. P., & Palao Iturregui, L. A. (2022). Inoculation methods of native strains of *Trichoderma* sp. and their effect on the growth and yield of quinoa. *Revista de la Facultad de Agronomía* (Vol. 39, No. 4). Universidad del Zulia. https://repositorio.inia.gob.pe/items/901af96d-011f-4a99-bd94-d61739f1af94

Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, *28*(1), 1-11. http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf

Martínez-Medina, A., Fernández, I., Sánchez-Guzmán, M. J., Jung, S. C., Pascual, J. A., & Pozo, M. J. (2013). Deciphering the hormonal signalling network behind the systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* in tomato. *Frontiers in Plant Science*, 4, 206. https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2013.00206/full

Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego - MIDAGRI. (2022). *Anuario estadístico de producción agrícola 2021. Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias* (SIEA). Dirección general de seguimiento y evaluación de políticas. https://siea.midagri.gob.pe/portal/publicacion/boletines-anuales/4-agricola

Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego del Perú. (2024, 7 de marzo). *Exportación de palta superó las 36 mil toneladas en primer bimestre de 2024*. Plataforma digital única del Estado Peruano. https://www.gob.pe/institucion/agromercado/noticias/930071-midagri-exportacion-de-palta-supero-las-36-mil-toneladas-en-primer-bimestre-de-2024

Moreira-Morrillo, A. A., Cedeño-Moreira, Á. V., Canchignia-Martínez, F., & Garcés-Fiallos, F.R. (2021). *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl [(syn.) Botryodiplodia theobroma Pat] in the cocoa crop: Symptoms, biological cycle, and strategies management. *Scientia Agropecuaria*, *12*(4), 653-662. https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/4110

Muñoz, J. L., & Rodríguez, A. (2014). Ácaros asociados al cultivo del aguacate (Persea americana Mill) en la Costa Central de Perú. *Agronomía Costarricense*, *38*(1), 215-221. https://doi.org/10.15517/rac.v38i1.15206

Nascimento Brito, V., Lana Alves, J., Sírio Araújo, K., de Souza Leite, T., Borges de Queiroz, C., Liparini Pereira, O., & de Queiroz, M. V. (2023). Endophytic *Trichoderma* species from rubber trees native to the Brazilian Amazon, including four new species. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1095199. https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2023.1095199/full

Navarrete, R., & Tello, X. (2018). *Efecto antagónico in vitro de Trichoderma sp. Y Pseudomonas* sp. *Frente a Lasiodiplodia* sp*., Ica, Agosto 2017—Enero 2018* [Tesis de grado, Universidad

Nacional San Luis Gonzaga]. https://repositorio.unsch.edu.pe/items/464ce861-a213-4a06-a079-7fff340f5be8

Nawrocka, J., Gromek, A., & Małolepsza, U. (2019). Nitric oxide as a beneficial signaling molecule in *Trichoderma atroviride* TRS25-induced systemic defense responses of cucumber plants against *Rhizoctonia solani*. *Frontiers in Plant Science*, 10, 421. https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2019.00421/full

Obregón, M. (2006). Aplicación de microorganismos antagonistas para la protección de enfermedades en los cultivos: La experiencia de Costa Rica. *Fitosanidad*, *10*(2), 160-161.

Paredes-Escalante, J., Carrillo-Fasio, J. A., García-Estrada, R., Allende-Mollar, R., Sañudo Barajas, J., & Valdez-Torres, J. B. (2009). Microorganismos antagonistas para el control del complejo de hongos causantes de la rabia del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en el Estado de Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, *27*(1). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092009000100004

Picos-Muñoz, P. A., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Sañudo, A., & Allende-Mollar, R. (2015). *Lasiodiplodia theobromae* en cultivos agrícolas de México: taxonomía, hospedantes, diversidad y control. *Revista Mexicana de Fitopatología*, *33*(1), 54-74. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000100054

Pincay, A., 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 glaucus* Benth) para el control de *Botrytis cinerea*. *Zenodo*, *6*(1), 109-124. https://revistas.utb.edu.ec/index.php/sr/article/view/895

Polanco-Florián, L. G., Alvarado-Gómez, O. G., Olivares-Sáenz, E., González-Garza, R., & Pérez-González, O. (2020). Control biológico de *Lasiodiplodia theobromae* y *Fomitopsis meliae* causantes de la muerte regresiva de los cítricos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *11*(5), 1069-1081. https://doi.org/10.29312/remexca.v11i5.2272

Puño, R., Terrazas, E., Alvares, T., Giménez, A., Mendoza, L., Smeltekop, H., & Loza, M. G. (2011). Evaluación de la capacidad biocontroladora de metabólicos de *Trichoderma inhamatum* Bol12 QD sobre cepas nativas de *Phytophthora infestans* in vitro. *Journal of*

the Selva Andina Research Society, *2*(1), 26-33. https://doi.org/10.36610/j.jsars.2011.020100026

Rodríguez García, D., & Wang Wong, A. (2020). Efectividad a nivel in vitro de *Trichoderma* spp. Nativos e importados contra *Fusarium oxysporum*. *Agronomía Costarricense*. https://www.redalyc.org/journal/436/43666322006/html/

Shakeri, J., & Foster, H. (2007). Proteolytic activity and antibiotic production by Trichoderma harzianum in relation to pathogenicity to insects. Enzyme and Microbial Technology, 40(4), 961-968. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.07.041

Tamayo, P. J. 2007. Enfermedades del aguacate. *Politécnica* 4:51-70. https://revistas.elpoli.edu.co/index.php/pol/article/view/62

Teliz, D. (2000). *El aguacate y su manejo integrado*. 2da edición. México D.F.. Ediciones Mundiprensa. https://proain.com/products/el-aguacate-y-su-manejo-integrado-7105?srsltid=AfmBOopVFnwXn9o9TVbDJ9bhv6tv7HCI3dkajFQSpNihxkytFS34oYBA

Terhonen, E., Blumenstein, K., Kovalchuk, A., & Asiegbu, F. O. (2019). Forest tree microbiomes and associated fungal endophytes: Functional roles and impact on forest health. *Forests*, *10*(1), 42. https://www.mdpi.com/1999-4907/10/1/42

Thambugala, K. M., Daranagama, D. A., Phillips, A. J., Kannangara, S. D., & Promputtha, I. (2020). Fungi vs. fungi in biocontrol: An overview of fungal antagonists applied against fungal plant pathogens. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *10*, 604923. https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2020.604923/full

Tseng, Y., Rouina, H., Groten, K., Rajani, P., Furch, A., Reichelt, M., Baldwin, I., Nataraja, K., Uma Shaanker, R., and Oelmüller, R. (2020) An Endophytic *Trichoderma* strain promotes growth of its hosts and defends against pathogen attack. Plant Sci. 11:573670. doi: 10.3389/fpls.2020.573670

Uitzil, C. (2019). Hongos endófitos: habitantes ocultos e inherentes a las plantas. *Revista de Biología Tropical*, Blog-Blog. https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/38552/39352

Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H. A., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J. M., & Martínez-Escudero, E. (2014). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. Y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, *64*(2),

Win, T. T., Bo, B., Malec, P., Khan, S., & Fu, P. (2021). Newly isolated strain of *Trichoderma asperellum* from disease suppressive soil is a potential bio-control agent to suppress *Fusarium* soil borne fungal phytopathogens. *Journal of Plant Pathology*, *103*, 549-561. https://link.springer.com/article/10.1007/s42161-021-00780-x

Yao, X., Guo, H., Zhang, K., Zhao, M., Ruan, J., & Chen, J. (2023). *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in microbiology*, 14, 1160551. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10189891/

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

<table>
<tr><th colspan="6">Título
Capacidad antagónica in vitro de cepas endófitas de Trichoderma sp. frente a Lasiodiplodia sp. asociada a muerte regresiva en Palto (Persea americana)</th></tr>
<tr><th>Formulación del problema</th><th>Objetivos</th><th>Hipótesis</th><th>Variables</th><th>Indicadores</th><th>Diseño de la investigación</th></tr>
<tr><td>Problema general</td><td>Objetivo general</td><td>Hipótesis general</td><td rowspan="5">Variable independiente:
Cepas de Trichoderma sp.

Variable dependiente:
Antibiosis
Micoparasitismo
Competencia</td><td rowspan="5">Cepas endófitas de Trichoderma sp.

Inhibición micelial.
Grado de colonización.
Colonización micelial.
Crecimiento micelial</td><td rowspan="5">Diseño
Diseño completo al azar (DCA). Se aplicarán 18 tratamientos con 3 repeticiones.

Población
Cepas endófitos de Trichoderma sp. brindadas por Vivero los Viñedos y
Muestra
54 placas duales (enfrentamientos duales entre cepas endófitas y comerciales frente al patógeno).</td></tr>
<tr><td>¿Cuál es la capacidad antagónica in vitro de cepas endófitas de Trichoderma sp. frente a Lasiodiplodia sp. asociada a muerte regresiva en Palto?</td><td>Evaluar la capacidad antagónica in vitro cepas endófitas de Trichoderma spp. frente a Lasiodiplodia sp. asociada a muerte regresiva en Palto (Persea americana). .</td><td>Existen resultados significativos del antagonismo in vitro de cepas endófitas de Trichoderma sp. provenientes del cultivo de palto frente a Lasiodiplodia sp asociada a muerte regresiva en palto (Persea americana).</td></tr>
<tr><td>Problemas específicos</td><td>Objetivos específicos</td><td>Hipótesis específicas</td></tr>
<tr><td>¿Cuál es el efecto antagónico por competencia de cepas endófitas de Trichoderma sp. en el comportamiento in vitro de Lasiodiplodia sp. asociada a muerte regresiva en Palto (Persea americana)?</td><td>Determinar el efecto antagónico por competencia de cepas endófitas de Trichoderma sp. en el comportamiento in vitro de Lasiodiplodia sp. asociada a muerte regresiva en Palto (Persea americana).</td><td>Existen diferencias significativas en el efecto antagónico por competencia entre las cepas endófitas de Trichoderma sp. en el comportamiento in vitro de Lasiodiplodia sp. asociada a muerte regresiva en Palto (Persea americana).</td></tr>
<tr><td>¿Cuál es el efecto antagónico por micoparasitismo de cepas endófitas de Trichoderma sp. en el comportamiento in vitro de Lasiodiplodia sp. asociada a muerte regresiva en Palto (Persea americana)?</td><td>Determinar el efecto antagónico por micoparasitismo de cepas endófitas de Trichoderma sp. en el comportamiento in vitro de Lasiodiplodia sp. asociada a muerte regresiva en Palto (Persea americana).</td><td>El efecto antagónico por micoparasitismo in vitro de cepas endófitas es mayor en las provenientes del cultivo de palto de Trichoderma sp. frente a Lasiodiplodia sp. asociada a muerte regresiva en Palto (Persea americana).</td></tr>
<tr><td>¿Cuál es el efecto antagónico por antibiosis de cepas endófitas de Trichoderma sp. en el comportamiento in vitro de Lasiodiplodia sp. asociada a muerte regresiva en Palto (Persea americana)?</td><td>Determinar el efecto antagónico por antibiosis de cepas endófitas de Trichoderma sp. en el comportamiento in vitro de Lasiodiplodia sp. asociada a muerte regresiva en Palto (Persea americana).</td><td>La cepa endófita identificada como Trichoderma yunnanense. presenta un mayor efecto antagónico por antibiosis respecto a las otras cepas frente a Lasiodiplodia sp. asociada a muerte regresiva en Palto (Persea americana).</td></tr>
</table>

Fuente: Propia (2024).

Anexo 2. Datos de competencia entre *Trichoderma* sp y *Lasiodiplodia theobromae*

TRAT	REP	COMPETENCIA
TC1	R1	57.14
TC2	R1	61.43
TC3	R1	71.43
TC4	R1	78.57
TC5	R1	45.71
TC6	R1	67.14
TC7	R1	62.86
TC8	R1	57.14
TC9	R1	54.29
TC10	R1	42.86
TC11	R1	47.14
TC12	R1	87.14
TC13	R1	60.00
TC14	R1	62.86
TC15	R1	61.43
TC16	R1	50.00
TC17	R1	74.29
TC18	R1	71.43
TC19	R1	71.43
TC20	R1	88.57
TC1	R2	55.71
TC2	R2	62.86
TC3	R2	74.29
TC4	R2	80.86
TC5	R2	47.14
TC6	R2	65.71
TC7	R2	62.14
TC8	R2	55.71
TC9	R2	55.71
TC10	R2	42.86
TC11	R2	47.86
TC12	R2	85.71
TC13	R2	58.57
TC14	R2	65.00
TC15	R2	62.86
TC16	R2	51.43
TC17	R2	73.57
TC18	R2	70.00
TC19	R2	71.29
TC20	R2	85.71

TC1	R3	54.29
TC2	R3	58.57
TC3	R3	72.86
TC4	R3	80.00
TC5	R3	45.71
TC6	R3	64.29
TC7	R3	63.57
TC8	R3	56.43
TC9	R3	52.86
TC10	R3	44.29
TC11	R3	46.86
TC12	R3	85.71
TC13	R3	57.14
TC14	R3	65.71
TC15	R3	60.00
TC16	R3	48.57
TC17	R3	75.71
TC18	R3	71.43
TC19	R3	71.14
TC20	R3	85.71

Anexo 3. Datos de micoparasitismo entre *Trichoderma* sp y *Lasiodiplodia theobromae*

TRAT	REP	MICOPARASITISMO
TC1	R1	0.00
TC2	R1	90.00
TC3	R1	0.00
TC4	R1	100.00
TC5	R1	0.00
TC6	R1	100.00
TC7	R1	100.00
TC8	R1	90.00
TC9	R1	0.00
TC10	R1	0.00
TC11	R1	0.00
TC12	R1	100.00
TC13	R1	0.00
TC14	R1	0.00
TC15	R1	0.00
TC16	R1	0.00
TC17	R1	100.00

TC18	R1	50.00
TC19	R1	0.00
TC20	R1	100.00
TC1	R2	0.00
TC2	R2	80.00
TC3	R2	0.00
TC4	R2	100.00
TC5	R2	0.00
TC6	R2	100.00
TC7	R2	100.00
TC8	R2	70.00
TC9	R2	0.00
TC10	R2	0.00
TC11	R2	0.00
TC12	R2	100.00
TC13	R2	0.00
TC14	R2	0.00
TC15	R2	0.00
TC16	R2	0.00
TC17	R2	100.00
TC18	R2	60.00
TC19	R2	0.00
TC20	R2	100.00
TC1	R3	0.00
TC2	R3	90.00
TC3	R3	0.00
TC4	R3	100.00
TC5	R3	0.00
TC6	R3	100.00
TC7	R3	100.00
TC8	R3	80.00
TC9	R3	0.00
TC10	R3	0.00
TC11	R3	0.00
TC12	R3	100.00
TC13	R3	0.00
TC14	R3	0.00

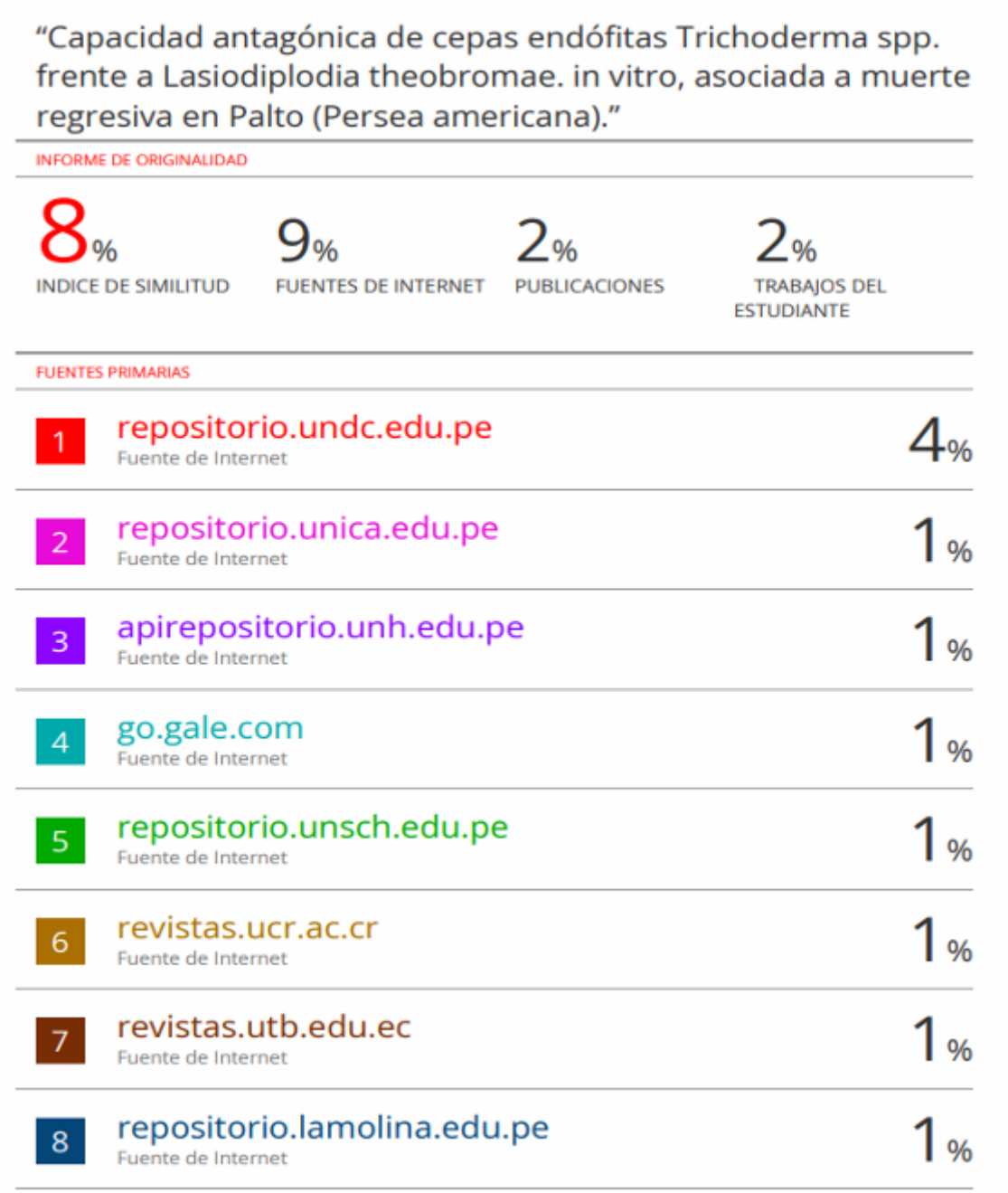
TC15	R3	0.00
TC16	R3	0.00
TC17	R3	100.00
TC18	R3	50.00
TC19	R3	0.00
TC20	R3	100.00

Anexo 4. Datos de antibiosis de *Trichoderma* sp. frente a *Lasiodiplodia theobromae*

TRATAMIENTOS	REPETICIONES	ANTIBIOSIS
TC1	R1	44.44
TC2	R1	33.33
TC3	R1	15.56
TC4	R1	11.11
TC5	R1	11.11
TC6	R1	0.00
TC7	R1	0.00
TC8	R1	15.56
TC9	R1	0.00
TC10	R1	0.00
TC11	R1	0.00
TC12	R1	77.78
TC13	R1	0.00
TC14	R1	11.11
TC15	R1	33.33
TC16	R1	37.78
TC17	R1	55.56
TC18	R1	77.78
TC19	R1	55.56
TC20	R1	66.67
TC1	R2	33.33
TC2	R2	22.22
TC3	R2	37.78
TC4	R2	11.11
TC5	R2	11.11
TC6	R2	0.00
TC7	R2	0.00
TC8	R2	22.22
TC9	R2	0.00
TC10	R2	0.00
TC11	R2	0.00
TC12	R2	77.78
TC13	R2	0.00
TC14	R2	11.11

TC15	R2	55.56
TC16	R2	44.44
TC17	R2	55.56
TC18	R2	66.67
TC19	R2	55.56
TC20	R2	66.67
TC1	R3	33.33
TC2	R3	33.33
TC3	R3	22.22
TC4	R3	11.11
TC5	R3	15.56
TC6	R3	11.11
TC7	R3	6.67
TC8	R3	22.22
TC9	R3	0.00
TC10	R3	0.00
TC11	R3	0.00
TC12	R3	77.78
TC13	R3	0.00
TC14	R3	11.11
TC15	R3	44.44
TC16	R3	44.44
TC17	R3	55.56
TC18	R3	77.78
TC19	R3	55.56
TC20	R3	66.67

Anexo 5. Prueba de similitud



"Capacidad antagónica de cepas endófitas Trichoderma spp. frente a Lasiodiplodia theobromae. in vitro, asociada a muerte regresiva en Palto (Persea americana)."

INFORME DE ORIGINALIDAD

8%	9%	2%	2%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.undc.edu.pe Fuente de Internet	4%
2	repositorio.unica.edu.pe Fuente de Internet	1%
3	apirepositorio.unh.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	go.gale.com Fuente de Internet	1%
5	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	revistas.ucr.ac.cr Fuente de Internet	1%
7	revistas.utb.edu.ec Fuente de Internet	1%
8	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	1%