

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
ESCUELA DE POSGRADO
PROGRAMA DE DOCTORADO
DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGIA Y MEDIO
AMBIENTE



TESIS

**BIOCONTROL DEL MILDIU (*Peronospora variabilis* Gäum.) DE LA
QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) CON CEPAS DE *Trichoderma* sp.
CON CAPACIDAD ENDOFITICA.**

PRESENTADA POR:

BETSABE LEON TTACCA

PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:

DOCTORIS SCIENTIAE EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE

PUNO, PERÚ

2016

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
ESCUELA DE POSGRADO
PROGRAMA DE DOCTORADO
DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGIA Y MEDIO AMBIENTE

TESIS

**BIOCONTROL DEL MILDIU (*Peronospora variabilis* Gäum.) DE LA QUINUA
(*Chenopodium quinoa* Willd.) CON CEPAS DE *Trichoderma* sp. CON
CAPACIDAD ENDOFITICA.**

PRESENTADA POR:

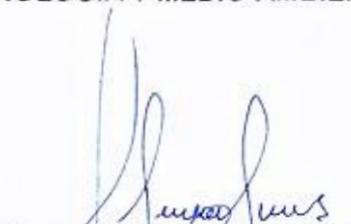
BETSABE LEON TTACCA

PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:

DOCTORIS SCIENTIAE EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE

APROBADA POR EL SIGUIENTE JURADO:

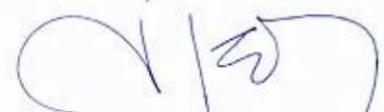
PRESIDENTE


.....
Ph. D. ÁNGEL MAURICIO MUJICA SANCHEZ

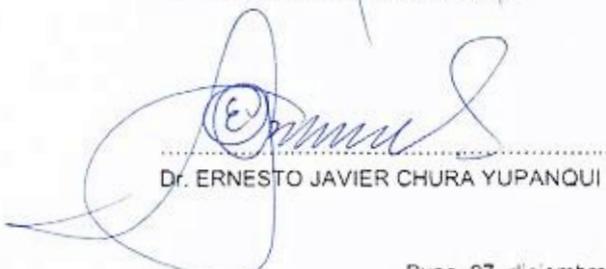
PRIMER MIEMBRO


.....
Dr. NICANOR MIGUEL BRAVO CHOQUE

SEGUNDO MIEMBRO


.....
Dr. ÁNGEL CANALES GUTIERREZ

TERCER MIEMBRO


.....
Dr. ERNESTO JAVIER CHURA YUPANQUI

Puno, 27 diciembre del 2016

ÁREA: Ciencia, tecnología y medio ambiente

TEMA: Biocontrol de plagas

LÍNEA: Evaluación tecnológica y del medio ambiente

DEDICATORIA

A **DIOS**, quien ha estado siempre a mi lado, por ser mi fortaleza, mi guía y por qué me permitió culminar con éxito esta hermosa etapa de mi vida.

Al mis preciosos hijos **Rodrigo** y **Camila**, los tesoros más grandes que Dios me regaló y son el motivo de mí existir, quienes fueron mi motor y motivo para terminar esta TESIS y por ellos seguiré creciendo como profesional. ¡Gracias, mis bebitos!

Al amor de mi vida, mi esposo **Yuri**, quien me brindó su amor, cariño, paciencia, comprensión, motivación, estímulo y su apoyo constante, con quien puedo contar siempre. ¡Gracias Mi yu!

A mis queridos padres **Alfonso** y **Josefina** por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, por el apoyo que me brindaron en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante para salir adelante y crecer cada día como persona y profesional. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ernesto Javier Chura Yupanqui, por la dirección de este trabajo y orientación que me brindó en el desarrollo de esta tesis.

A mis jurados Ph. D. Ángel Mauricio Mujica Sánchez, Dr. Nicanor Miguel Bravo Choque y Dr. Ángel Canales Gutiérrez por sus sugerencias en el desarrollo de esta tesis.

Al Dr. Felix Alonso Astete Maldonado por su gran apoyo, confianza y aprendizaje que me brindó en el desarrollo de esta tesis.

Al Centro de Investigación y Producción Camacani y laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNA por su colaboración y apoyo en la ejecución del desarrollo de este trabajo.

A Nora, Norma, Keavi y Marie por el apoyo en todas las fases de la ejecución de este trabajo.

A todas aquellas personas que de una u otra forma hicieron posible la realización de este trabajo, con sus altos y bajos y que no necesito nombrar porque tanto ellas como yo sabemos que desde los más profundo de mi corazón les agradezco el haberme brindado todo el apoyo, colaboración, ánimo y sobre todo cariño y amistad.

INDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
INDICE GENERAL	iii
INDICE DE TABLAS	vi
INDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I**PROBLEMÁTICA DE LA INVESTIGACIÓN**

1.1	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.2	OBJETIVOS	5

CAPÍTULO II**MARCO TEÓRICO**

2.1	MILDIU DE LA QUINUA	6
	2.1.1 Agente causal	6
	2.1.2 Distribución geográfica	6
	2.1.3 Rango de hospedantes	7
	2.1.4 Síntomas y signos	7
	2.1.5 Biología del patógeno	9
	2.1.6 Ciclo de la enfermedad	11
	2.1.7 Epidemiología	12
	2.1.8 Significancia	13
	2.1.9 Manejo integrado de la enfermedad	14
	Control cultural	14
	Control químico	15
	Control biológico	18

	Control genético	19
2.2	HONGOS ENDÓFITOS EN EL BIOCONTROL DE LAS ENFERMEDADES DE PLANTAS.	19
	2.2.1 Definición de hongos endófitos	19
	2.2.2 Diversidad y distribución	20
	2.2.3 Colonización de los hongos endófitos	21
	2.2.4 Transmisión y adquisición de los endófitos	21
	2.2.5 Mecanismos de los hongos endófitos en la protección de la planta contra los patógenos	22
2.3	<i>TRICHODERMA</i> SPP.	24

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1	Ámbito de estudio	27
3.2	Descripción de métodos por objetivos específicos	27
	3.2.1 Capacidad endófitica de cepas de <i>Trichoderma</i> sp en plantas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	27
	Reactivación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp.	27
	Incremento de inóculo de <i>Trichoderma</i> sp.	28
	Producción de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. en sustrato arroz	29
	Uniformización de inóculo	30
	Obtención y desinfestación de semillas de quinua	31
	Colonización endofítica de <i>Trichoderma</i> sp.	31
	Determinación de la colonización de <i>Trichoderma</i> sp en plántulas de quinua.	34
	Diseño y análisis estadístico	35
	3.2.2 Capacidad de biocontrol de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófitos hacia <i>Peronospora variabilis</i> Gäum. patógeno de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	36
	Características del campo experimental	36
	Preparación del terreno experimental	36
	Fertilización	37

Tratamientos	37
Aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp.	38
Labores culturales	40
Evaluación de la severidad del mildiu de la quinua	41
Evaluación de características morfológicas de plantas de quinua tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> sp.	43
Condiciones meteorológicas	44
Diseño y análisis estadístico	47

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Capacidad endófitas de cepas de <i>Trichoderma</i> sp en plantas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	48
4.2	Capacidad de biocontrol de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endofitos hacia <i>Peronospora variabilis</i> Gäum. patógeno de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	59
4.2.1	Medición de la enfermedad (Severidad y AUDPC)	59
4.2.2	Características morfológicas de plantas de quinua tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> sp.	68
4.2.3	Estudios de correlación	73
	CONCLUSIONES	77
	RECOMENDACIONES	78
	BIBLIOGRAFIA	80
	ANEXOS	87

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
1 Código y procedencia de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. para la realización de la investigación propuesta en el laboratorio de Fitopatología y CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016.	28
2 Número de tratamientos empleados para el control del mildiu (<i>Peronospora variabilis</i> Gäum.) de la quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) var. Salcedo INIA bajo condiciones de campo en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016.	37
3 Momentos de aplicación de <i>Trichoderma</i> sp. para el control del mildiu (<i>Peronospora variabilis</i> Gäum.) de la quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) var. Salcedo INIA en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.	38
4 Número de aplicaciones foliares de <i>Trichoderma</i> sp. para el control del mildiu según las fases fenológicas de la quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) var. Salcedo INIA en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.	39
5 Número de evaluaciones de severidad del mildiu (<i>Peronospora variabilis</i> Gäum.) de la quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) var. Salcedo INIA en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016.	42
6 Promedios multianuales de precipitación anual (mm/mes) durante los años 2004 -2016 registrado en la estación meteorológica Rincón de la Cruz – Acora.	46
7 Índice y porcentaje de colonización endófitica de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. en plantas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) var. Salcedo INIA en dos métodos de inoculación a los 30 y 60 días de evaluación, desarrollado en el laboratorio de Fitopatología de la UNA, 2016.	50
8 Efecto de los métodos de inoculación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp en el porcentaje de colonización endofítica en cinco tejidos de plantas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) var. Salcedo INIA a los 30 y 60 días de evaluación, realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015.	54
9 Porcentaje de severidad (%) y área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) del mildiu (<i>Peronospora variabilis</i> Gäum.) de la quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> sp. en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016.	60

- 10 Características morfológicas de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp. en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016. 70
- 11 Correlaciones de Pearson entre variables de AUDPC del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) y colonización endófitica de cepas de *Trichoderma* sp. en plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA con variables morfológicas cuantitativas de la quinua, evaluadas en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016. 74

ANEXOS

- 12 Evaluación de colonización de cepas de *Trichoderma* sp en tejidos de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) a los 30 y 60 días después de la siembra mediante dos métodos de inoculación, desarrollado en el laboratorio de Fitopatología de la UNA, 2016.
- 13 Evaluación de la severidad (%) del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en hojas de plantas de quinua variedad Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016
- 14 Evaluación de características morfológicas de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.
- 15 Análisis de varianza del índice de colonización endofítica de cepas de *Trichoderma* sp en plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA en el laboratorio de Fitopatología de la UNA, 2016.
- 16 Análisis de varianza del porcentaje de colonización endofítica de cepas de *Trichoderma* sp en plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA en el laboratorio de Fitopatología de la UNA, 2016.
- 17 Análisis de varianza del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016
- 18 Análisis de varianza de la altura de planta (cm) de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016

- 19 Análisis de varianza de la altura de panoja (cm) de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016
- 20 Análisis de varianza del diámetro de panoja (cm) de plantas de quinua var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016
- 21 Análisis de varianza del peso seco de la biomasa (g) de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016
- 22 Análisis de varianza del peso de semilla (g/planta) de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016
- 23 Análisis de varianza del rendimiento (kg/ha) de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
1 Sintomatología del mildiu (<i>Peronospora variabilis</i> Gäum.) de la quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.). A. Mancha foliares en el haz de las hojas (síntomas), B. Esporulación de <i>P. variabilis</i> en el envés de las hojas (signo) y C. Defoliación de plantas de quinua (Saravia <i>et al.</i> , 2014).	9
2 <i>Peronospora variabilis</i> Gäum. en <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. . A, B. Conidióforos o esporangioforo, C. haustorio, D, E. ramas, F, G, H. conidios o esporangios. (Choi <i>et al.</i> , 2010).	10
3 Ciclo del mildiu (<i>Peronospora variabilis</i> Gäum.) de la quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) (Saravia <i>et al.</i> , 2014).	12
4 Esquema de Estrategia del control químico del mildiu (<i>Peronospora variabilis</i> Gäum.) para una producción convencional de la quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) (Saravia <i>et al.</i> , 2014).	18
5 Cepas de <i>Trichoderma</i> sp. endófito de cinco días de edad en medio extracto malta agar	29
6 Producción de cepas de <i>Trichoderma</i> sp en sustrato arroz. A. Cultivo de <i>Trichoderma</i> sp en medio papa sacarosa agar, realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. B. Incubación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp en sustrato arroz.	30
7 Uniformización de inóculo de cepas de <i>Trichoderma</i> sp., realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015 A. Pesado de un gramo de arroz colonizado con <i>Trichoderma</i> sp. B. Diluciones seriadas para el conteo de conidias C. Suspensión de conidias de cepas de <i>Trichoderma</i> sp a una concentración de 1×10^7 ufc.cc ⁻¹ .	30
8 Desinfestación de semillas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.), realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. A y B Pesado de 60 g arroz para cada tratamiento C. Insumos utilizados para la desinfestación de semillas. D. Desinfestación de semillas en hipoclorito de sodio al 2 % durante 3 min. E. Enjuague con agua destilada estéril. F. Secado de semillas desinfestadas sobre papel toalla.	31
9 Peletización de semillas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) con <i>Trichoderma</i> sp (Método 1), realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. A. Semillas desinfestadas B. Suspensión de conidias de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. C. Inoculación de <i>Trichoderma</i> sp en semillas desinfestadas. D. Aplicación de melaza a semillas inoculadas con <i>Trichoderma</i> sp. E y F. Semillas peletizadas con esporas de <i>Trichoderma</i> sp.	32
10 Infestación del sustrato con <i>Trichoderma</i> sp (Método 2), realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. A. Aplicación de	33

suspensión de *Trichoderma* sp vía drench. B. Siembra de semillas desinfestadas en sustrato infestado con *Trichoderma* sp. C. Vasos cubiertos con bolsas de polipropileno. D. Incubación de plantas de quinua bajo luz artificial. E. Plantas de quinua de 30 días de edad y E. Plantas de quinua de 60 días de edad para el reislamiento de *Trichoderma* sp.

- | | | |
|-----------|---|----|
| 11 | Reislamiento de <i>Trichoderma</i> sp de plántulas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.), realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. A. Separación del suelo de las raíces. B Obtención de segmentos de tejidos. C. Desinfestación de segmentos de tejidos en Hipoclorito de sodio al 2 % durante 3 min. D. Secado de segmentos desinfestados sobre papel toalla. E. Siembra de segmentos de tejidos en placas petri conteniendo medio medio corn meal dextrosa agar (CMDA). F. Evaluación de la colonización de <i>Trichoderma</i> sp en segmentos de tejidos de quinua.. G. Evaluación de la colonización de <i>Trichoderma</i> sp en segmentos de tejidos de quinua. | 35 |
| 12 | Aplicación de cepas de <i>Trichoderma</i> sp. en el cultivo de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) en el CIP Camacani de la UNA durante la campaña agrícola 2015-2016. A y B. Incorporación de sustrato de arroz colonizado con <i>Trichoderma</i> sp al estiércol de ovino para el abonamiento a nivel de surcos. C. Siembra de semillas peletizadas con <i>Trichoderma</i> sp. D. Preparación de suspensión de esporas. E. Aplicación foliar de <i>Trichoderma</i> sp en la fase fenológica de ramificación, F. Panojamiento, G. Floración y H. Grano lechoso. | 40 |
| 13 | Escala de evaluación para evaluar severidad del mildiu de la quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) en campo (Porcentaje de área afectada por mildiu en hojas de quinua)(Solveig Danielsen y Ames de Icochea, 2000) | 43 |
| 14 | Registro de temperaturas máximas y mínimas, y precipitación total (mm) durante los meses de octubre 2015 a abril 2016 (Fuente: SENAMHI de la estación meteorológica Rincón de la Cruz – Acora). | 46 |
| 15 | Porcentaje de colonización de cepas de <i>Trichoderma</i> sp en dos métodos de inoculación y fechas de evaluación, realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. A. Peletización de semillas (Método 1) B. Infestación del sustrato (Método 2). | 52 |
| 16 | Porcentaje de incremento de colonización de cepas de <i>Trichoderma</i> sp en plantas de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) a los 60 días de evaluación en dos métodos de inoculación, realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015 | 52 |
| 17 | Porcentaje de colonización endofítica de cepas de <i>Trichoderma</i> sp en segmentos de cinco tejidos de plantas de quinua | 55 |

(*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA a los 30 y 60 días de evaluación, realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. A. Peletización de semillas (Método 1) B. Infestación del sustrato (Método 2).

- 18** Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA durante la campaña agrícola 2015-2016. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) 60
- 19** Curvas del progreso de la enfermedad del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con 10 cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA durante la campaña agrícola 2015-2016. 62

ANEXOS

- 20** Distribución de tratamientos, surcos, bloques según diseño experimental de bloque completo al azar en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016.

RESUMEN

El mildiu ocasionado por el pseudohongo *Peronospora variabilis* Gäum., es la enfermedad más importante que afecta a la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el altiplano peruano, causando una reducción en su rendimiento de hasta 99%. Con la finalidad de evaluar el efecto de 10 cepas nativas de *Trichoderma* sp con capacidad endofítica en el biocontrol del mildiu de la quinua var. Salcedo INIA, se peletizaron semillas e infestaron el sustrato con esporas de cepas de *Trichoderma* aisladas de quinua (T1, T2, T3, T4 y T5) y cacao (T6, T7, T8, T9 y T10) en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional del Altiplano en Puno (UNA) - Perú para determinar el índice y porcentaje de colonización endofítica en plantas de quinua. a los 30 y 60 días de evaluación. Asimismo, en el Centro de Investigación y Producción Camacani de la UNA se sembraron semillas peletizadas con esporas de *Trichoderma* (1×10^6 ufc. semilla⁻¹) y se realizaron aplicaciones foliares (1×10^7 ufc.ml⁻¹) durante la ramificación, panojamiento, floración y grano lechoso. Se determinó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) con cuatro evaluaciones de severidad. Todas las cepas lograron colonizar diferentes partes de la planta considerándose así endófitos de quinua. El mayor porcentaje de colonización (34.24 %) se dio con la infestación del sustrato, siendo la cepa T10 (60%) quien logro la mayor colonización seguido de T3 (56.67%) y T2 (43.33%) a los 60 días de evaluación Los tratamientos que recibieron aplicaciones con las cepas T1, T3 y T2 fueron los menos afectados con el mildiu, siendo los valores de AUDPC de 615.7, 706.8 y 759 respectivamente y presentaron los valores más altos en las características morfológicas de la planta en comparación al testigo T11 (AUDPC = 1670.5). Además, se observó una alta correlación negativa entre los parámetros AUDPC y características morfológicas de la planta y métodos de colonización endofítica. El uso de estos microorganismos representa una alternativa sostenible para el control de enfermedades, en el marco de una producción orgánica como lo demandan los mercados internacionales.

Palabras clave: Control, endófitos, mildiu, pseudohongo, quinua, *Trichoderma*.

ABSTRACT

The downy mildew caused by the pseudohongo *Peronospora variabilis* Gäum., is the most important disease that affects to the quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) in the Peruvian highlands, causing a reduction on the yield of until 99%. With the purpose to evaluate the effect of 10 native strains of *Trichoderma* sp with endophytic capacity in the biocontrol of the downy mildew of the quinoa var. Salcedo INIA, the seeds were pelleted and the substrate was infested with spores of *Trichoderma* strains isolated from quinoa (T1, T2, T3, T4 and T5) and cocoa (T6, T7, T8, T9 and T10) in the Laboratory of Phytopathology of the national university of the altiplano (UNA) in Puno - Peru to determine the index and percentage of endophytic colonization in quinoa plants at 30 and 60 days of evaluation. Also, in the center of research and production Camacani of the UNA, the seeds pelleted with spores of *Trichoderma* sp. (1×10^6 ufc. seed⁻¹) were sown and was made foliar applications (1×10^7 ufc.ml⁻¹) during branching, panicle, flowering and milky grain. Four severity assessments were performed to determine the area under the disease progress curve (AUDPC). All the strains were able to colonize different parts of the plant thus considering quinoa endophytes. The highest percentage of colonization (34.24%) occurred with substrate infestation, being the T10 strain (60%) achieving the highest colonization followed by T3 (56.67%) and T2 (43.33%) at 60 days of evaluation. The treatments that received applications with strains T1, T3 and T2 were the least affected with downy mildew, being the values of AUDPC of 615.7, 706.8 and 759 respectively and presented the highest values in the morphological characteristics of the plant in comparison to the witness T11 (AUDPC = 1670.5). In addition, it was observed a high negative correlation between the parameters AUDPC and morphological characteristics of the plant and methods endophytic colonization. The use of these microorganisms represents a sustainable alternative for the control of diseases, in the framework of a organic production as demanded by the international markets.

Keywords: Control, downy mildew, endophytes, fungus, quinoa, *Trichoderma*

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el 80% de la producción nacional de grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) se concentra en la Región Puno que es su centro de origen, y se encuentra la mayor biodiversidad biológica, superficie sembrada y cosechada de este cultivo. Sin embargo, la oferta actual es considerada menor, debido a que se cultiva en pequeñas áreas, y por tanto su producción es estacionaria, los rendimientos aún son considerados bajos (Dirección general de competitividad agraria, 2014), debido a los riesgos climáticos y biológicos.

La quinua está infectada por una variedad de patógenos, que causan varias enfermedades como mohos, chupaderas, tizón, mosaico, etc.; siendo, el mildiu la enfermedad más severa de la quinua causado por *Peronospora variabilis*, ocasionando la reducción del rendimiento de 33 a 58%, (Danielsen y Ames, 2000; Danielsen *et al.* , 2003; Zurita-Silva *et al.* , 2014), incluso en los cultivares más resistentes y hasta un 99% en los cultivares susceptibles (Danielsen y Munk, 2004; Kumar *et al.* , 2006), debido a las limitadas estrategias de control de enfermedades dentro de una producción orgánica en la Región Puno.

Siendo una alternativa de control el biológico, con el uso de cepas de *Trichoderma* sp con capacidad endofítica, estos endófitos son capaces de colonizar los tejidos de las plantas sin causar síntomas visibles e inducir la producción de compuestos relacionados con la defensa y algunos genes implicados en respuestas de defensa de las plantas a factores bióticos y abióticos (Bae *et al.* , 2009; Bailey *et al.* , 2008; De Souza *et al.* , 2008; Hanson y Howell, 2004). Además, son conocidos por ser más seguros, biodegradables

y amigables con el medio ambiente, parecen ser mejores alternativas frente a los fungicidas sintéticos (Toghueo *et al.*, 2016).

Entre los principales endófitos utilizados como agentes de control biológico, son especies del género *Trichoderma* sp, considerados antagonistas naturales de fitopatógenos y son ampliamente utilizados en la agricultura, poseen un gran potencial de biocontrol a plagas y enfermedades, y pueden contribuir al mejoramiento general de las plantas (Guédez *et al.*, 2009; Harman, 2006; Toghueo *et al.*, 2016)

Asimismo, este antagonista induce resistencia sistémica o localizada, el aumento de crecimiento y la absorción de nutrientes de la planta, desactivación de enzimas del patógeno, entre otros; siendo el micoparasitismo, antibiosis y competencia por espacio y nutrientes los principales mecanismos de acción de este hongo. Mientras mayor sea la probabilidad de que una cepa de *Trichoderma* sp, manifieste varios modos de acción; más eficiente y duradero será el control sobre el patógeno, aspectos que no poseen los fungicidas químicos (Infante *et al.*, 2009; Mukherjee *et al.*, 2012).

El uso de estos microorganismos representará una alternativa racional y sostenible, ya que al establecerse en la planta mejorará el control de sus plagas y enfermedades, dando lugar a la reducción del uso de productos químicos para el control de estos, generando consecuentemente un impacto positivo al reducir la contaminación en los componentes ambientales (agua, suelo, aire y población) responsables de desencadenar efectos negativos en el ambiente.

CAPÍTULO I

PROBLEMÁTICA DE INVESTIGACIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años el cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el Perú ha alcanzado una demanda competitiva mundial. Siendo sus principales mercados Europa y Norteamérica, en donde prefieren quinua orgánica o ecológica (producida con prácticas agroecológicas y libres de productos de la industria agroquímica) y este tipo de quinua está constituyéndose como líder a nivel internacional. Además, el 60 % de la producción nacional de este grano se dirige hacia el mercado externo y el 80% de la producción nacional se concentra en la Región Puno, en donde se encuentra la mayor biodiversidad, superficie sembrada y cosechada (Dirección general de competitividad agraria, 2014).

Sin embargo, los rendimientos aún son considerados bajos (< 1100 kg/ha), por la presencia de enfermedades fungosas, siendo “mildiu” (*Peronospora variabilis* Gäum..) una de las principales enfermedades, que en daños severos pueden ocasionar pérdidas de rendimiento en cultivares susceptibles hasta en 99% sin el uso de estrategias de manejo integrado de enfermedades (MIE) (Danielsen y

Munk, 2004; Kumar *et al* ., 2006), comparado con los rendimientos de la Región Arequipa donde superan los 2834 kg/ha (Dirección general de competitividad agraria, 2014), debido a que toman medidas excesivas de control químico de enfermedades dejando residuos tóxicos en el producto y suelo, siendo desfavorable para el mercado externo y el consumo.

Asimismo, en este cultivo existe un alto potencial no explorado y estudiado como el de su micobiota endófito, que hacen que exista escasos microorganismos para ser usados para el control biológico de las enfermedades, lo cual conlleva entre otros factores a las limitadas estrategias de control de enfermedades fungosas de la quinua en la Región Puno, motivo por el cual, la presente investigación buscó desarrollar una alternativa más para el control de enfermedades en el marco de una producción orgánica como lo demandan los mercados internacionales. Para lo cual se plantea las siguientes interrogantes:

Pregunta general:

¿ Que efecto tendrán las cepas de *Trichoderma* sp con capacidad endofítica en el biocontrol del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum..) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.)?

Preguntas específicas:

¿Cómo será la capacidad endofítica de cepas de *Trichoderma* sp en plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.)?

¿En qué medida las cepas de *Trichoderma* sp endofitos controlarán al mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum..) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en condiciones de campo?

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 GENERAL

- Determinar el efecto de cepas de *Trichoderma* sp. con capacidad endofítica en el biocontrol del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum..) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.)

1.2.2 ESPECÍFICOS

- Determinar la capacidad endófitica de cepas de *Trichoderma* sp. en plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.)
- Determinar la capacidad de biocontrol de cepas de *Trichoderma* sp. endofitos hacia el mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum..) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en campo.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 MILDIU DE LA QUINUA

2.1.1 Agente causal

Peronospora variabilis Gäum. es el agente causal del mildiu de la quinua, la enfermedad más importante de la quinua a nivel mundial, anteriormente denominado como *Peronospora farinosa* f. sp. *chenopodii* (Fr.) Fr. y mediante técnicas moleculares utilizando las regiones intergenicas del ADNr se reclasifico esta especie (Choi *et al.* , 2010; Choi *et al.* , 2008). Asimismo, es un parasitó obligado (biotrófico) del grupo de los Oomycetos, que pertenece al orden Peronosporales y familia Peronosporacea (Danielsen y Ames, 2000), siendo el patógeno más importante de la quinua que causa severa perdida del cultivo y es endémica en casi todas las regiones productoras de quinua del mundo (Gandarillas *et al.* , 2015).

2.1.2 Distribución geográfica

El mildiu fue reportado por primera vez en Perú en 1947, posteriormente en varios países de los continentes de Sud América (Argentina, Bolivia, Chile, Colombia, Ecuador y Perú), Centro américa (México), Norte América (Canadá y

Estados Unidos), Europa (Portugal, Francia, Holanda, Inglaterra, Suecia, Italia y Dinamarca), Asia (India y República de Corea) y Africa (Kenia) (Alandia *et al* ., 1979; Aragón y Gutiérrez, 1992; Choi *et al* ., 2014; Danielsen y Ames, 2000; Testen *et al* ., 2011).

2.1.3 Rango de hospedantes

En investigaciones reciente por Choi *et al* . (2010), determinaron que *Peronospora variabilis* Gäum. es patógeno de al menos dos especies *Chenopodium quinoa* y *C. álbum*.

2.1.4 Síntomas y signos

La sintomatología del mildiu, es influenciada por el genotipo de la planta, genotipo del patógeno, condiciones del medio ambiente y estados de desarrollo de la planta, afecta principalmente al follaje de la planta reduciendo el área fotosintética, siendo los síntomas iniciales pequeñas manchas cloróticas que aparecen en la cara superior de las hojas, cuya coloración varía de acuerdo al color de la planta (clorótica o amarilla, rosada, rojiza, anaranjada o parda), conforme la enfermedad progresa estas manchas crecen y se fusionan para formar manchas cloróticas grandes e irregulares (Figura 1A), posteriormente la hoja se torna clorótica y se necrosa, finalmente se defolian (Figura 1C) (Alandia *et al* ., 1979; Danielsen y Ames, 2000; Danielsen *et al* ., 2003; Danielsen y Munk, 2004; Saravia *et al* ., 2014).

Si la infección es temprana en cultivares altamente susceptibles y las condiciones climáticas son favorables para el desarrollo de la enfermedad puede afectar a todas las hojas y causar una defoliación del 100%, como consecuencia se detiene el crecimiento de la planta y maduración prematura; sin embargo, en algunos cultivares con resistencia mediana, la defoliación es

un mecanismo de defensa de la planta, lo cual reduce la diseminación del patógeno a las hojas nuevas (Danielsen y Ames, 2000). Además, cuando la enfermedad se presenta al inicio de formación de panoja, se atrofia el desarrollo de la misma y afecta el llenado y tamaño de grano, y si la infección se da al final de la floración puede ser confundida con la senescencia natural y no se presentan pérdidas de importancia (Saravia *et al.* , 2014)

También se puede observar los síntomas en tallos y ramas en forma de manchas menos pronunciadas que en las hojas, y cuando el ataque es intenso puede afectar a la inflorescencia y granos (Alandia *et al.* , 1979).

Con respecto al signo, es la esporulación del patógeno en envés de las hojas como micelio y esporangios (Figura 1B) que se observa como masa algodonosa de color grisáceo. Por otra parte, la abundancia de la esporulación está relacionada al grado de resistencia de las variedades, siendo una abundante esporulación en variedades susceptibles y en variedades resistentes puede presentarse o no. Asimismo, se puede observar las oosporas en la superficie de las semillas cosechadas que tienen una coloración ligeramente oscura (Danielsen *et al.* , 2004).

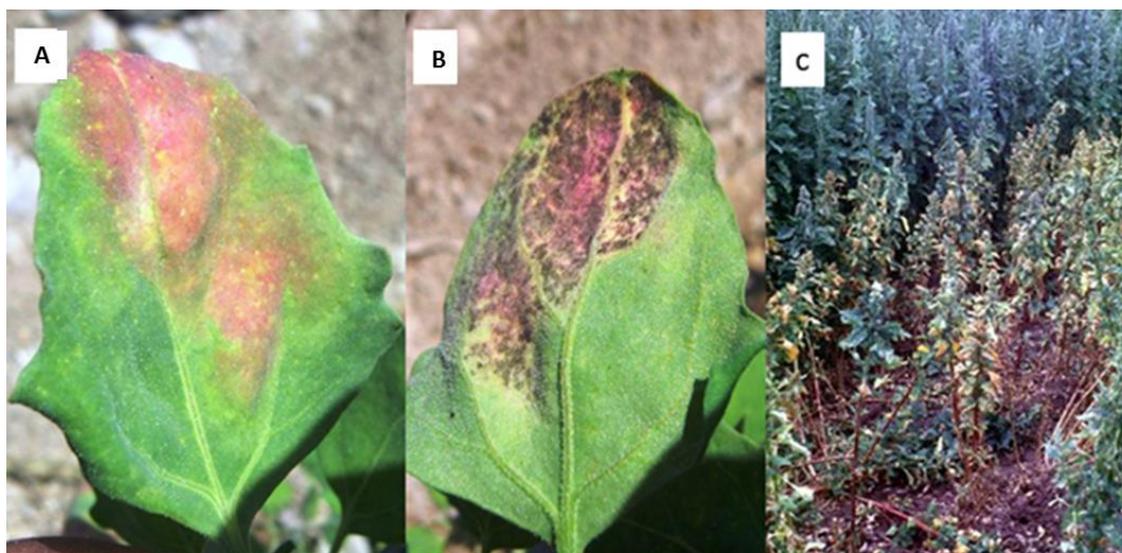


Figura 1 . Sintomatología del mildiu de la quinua. A. Mancha foliares en el haz de las hojas (síntomas), B. Esporulación de *Peronospora variabilis* Gäum. en el envés de las hojas (signo) y C. Defoliación de plantas de quinua. (Saravia *et al.* , 2014)

2.1.5 Biología del patógeno

Peronospora variabilis Gäum. presenta estructuras vegetativas (hifas y esporangioforos), y de reproducción asexual (esporangios) y sexual (oosporas). Las hifas son cenocíticas (sin septa) y multinucleadas, se desarrollan en los espacios intercelulares de las hojas y forman haustorios (órgano de absorción), a menudo ramificados dentro de las células (Figura 2C). Forman esporangioforos en la cara inferior de las hojas, son arborescentes, dicotómicos, ligeramente curvados (Figura 2A, 2B, 2D y 2E), en los que se insertan los esporangios. Los esporangios (esporas o conidios) son de color castaño claro translucido, violaceos, deciduos, generalmente elipsoidales a ovales, con una papila apical translúcida (Figura 2F, 2G Y 2H), pared ligeramente rugosa, protoplasma granuloso y germinan directamente (Choi *et al.* , 2010; Danielsen y Ames, 2000).

Las oosporas (estructura sexual de sobrevivencia) son fuente de inóculo primario, se encuentran en las semillas, suelo y rastrojo de campañas anteriores. *Peronospora variabilis* Gäum., es un organismo heterotalico, por lo

tanto para que se forme la oospora requiere la presencia de dos tipos de apareamiento, P1 y P2 (talos genéticamente distintos pero sexualmente compatibles), para que se forme el oogonio (gametangio femenino) y anteridio (gametangio masculino), y se encuentran generalmente en forma abundante en los tejidos necróticos de la hoja. Para que se de la fecundación, el oogonio crece a través del anteridio, permitiendo la fertilización y convirtiéndose en una oospora de pared gruesa, ondulada e hialina y conforme va madurando cambia de color marrón dorado (Danielsen y Ames, 2000; Danielsen *et al.* , 2004).

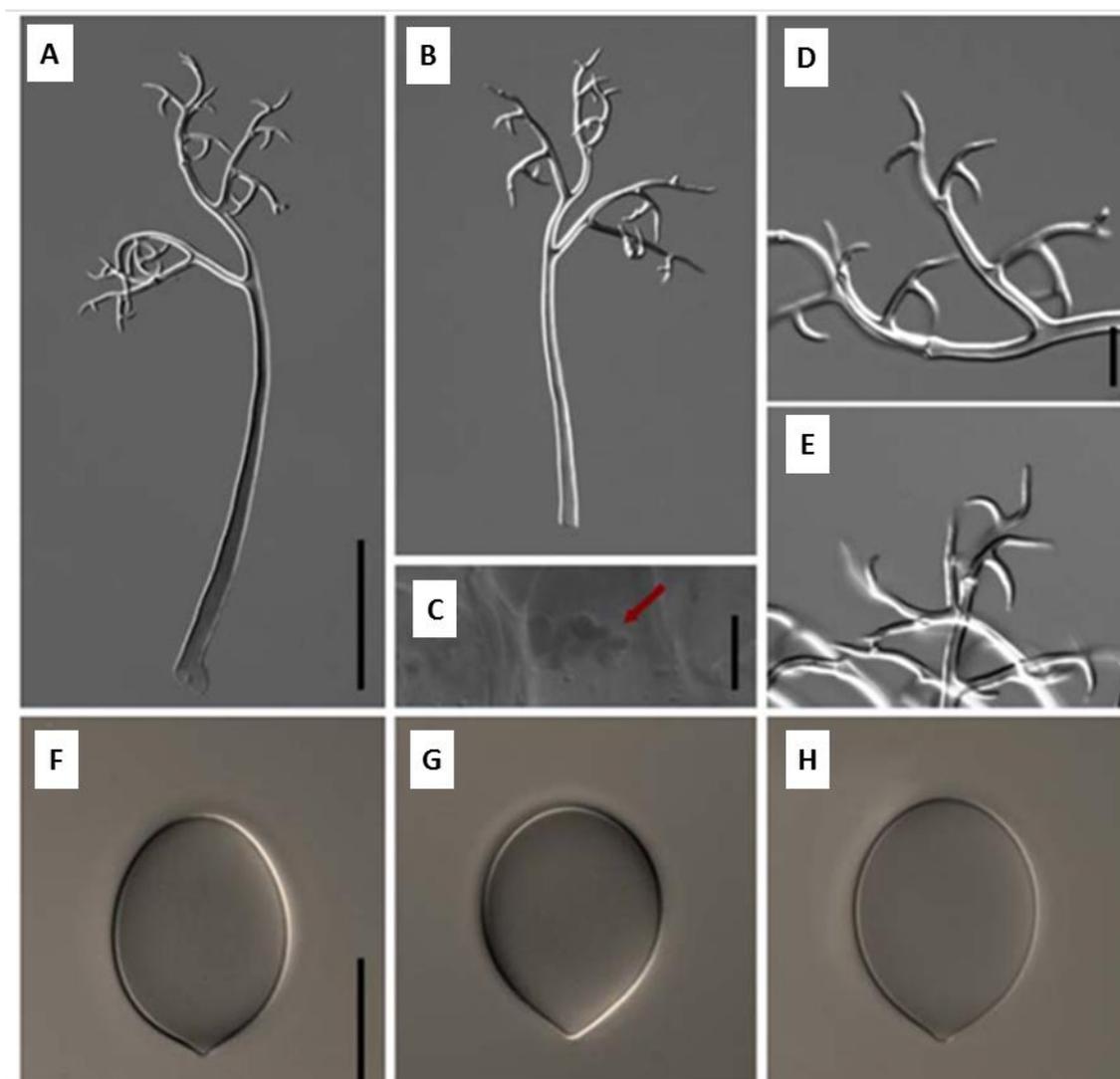


Figura 2. *Peronospora variabilis* en *Chenopodium quinoa*. A, B. Conidióforos o esporangioforo, C. haustorio, D, E. ramas, F, G, H. conidios o esporangios. La barra de escala es 100 μ m para a, b, 10 μ m para c, y 20 μ m para D-H (Choi *et al.* , 2010)

2.1.6 Ciclo de la enfermedad

En una reproducción asexual, la inoculación se da cuando un esporangio (propágulo) cae sobre una hoja, germina directamente formando un tubo germinativo, siempre que haya humedad relativa alta en el aire ($> 80\%$), posteriormente forman un apresorio provisto de una hifa infectiva que perfora la epidermis para su penetración (Agrios, 2004), la infección se da a los cinco días después de la penetración, en donde el patógeno se está alimentando de las células y coloniza los espacios intercelulares del mesofilo, es en donde se observa los primeros síntomas (decoloración del tejido), provocando infecciones locales a nivel de las hojas (Saravia *et al.*, 2014).

El patógeno se va desarrollando vegetativamente dentro del hospedante, luego se inicia la reproducción con la producción de esporangioforos en la superficie inferior de las hojas a través de los estomas y cuando alcanzan su desarrollo máximo se forman los esporangios (inóculo secundario), son estructuras capaces de generar infecciones secundarias y provocar varias generaciones del patógeno (enfermedad policíclica) durante el desarrollo del cultivo (Choi *et al.*, 2010; Danielsen y Ames, 2000).

Finalmente, las manchas comienzan a necrosarse y como *Peronospora variabilis* Gäum. es un biótrofo, no puede alimentarse de células muertas y el hospedante ya no puede proporcionar al patógeno los nutrientes que necesita para seguir desarrollándose, es en donde desaparece las estructuras vegetativas del patógeno y ocurre la reproducción sexual, para asegurar su perpetuidad. En donde se forman los anteridios y oogonios para que se realice la fecundación y formar las oosporas, estructuras de conservación que tienen la capacidad de mantenerse vivas en la semilla y suelo por mucho tiempo en

ausencia del su hospedante (Figura 3). Estas oosporas sirven como inóculo primario que provocaran las infecciones primarias en la siguiente campaña agrícola (Danielsen y Ames, 2000; Danielsen *et al.*, 2004).

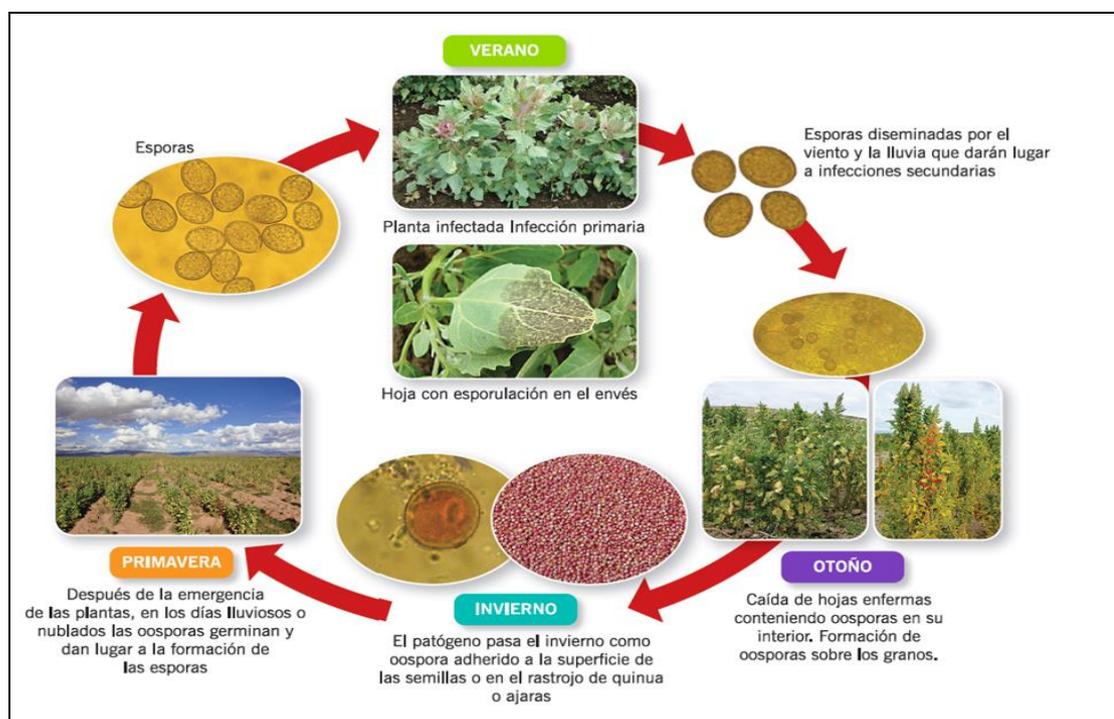


Figura 3. Ciclo del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) (Saravia *et al.*, 2014)

2.1.7 Epidemiología

Para que se presente la enfermedad, implica el conocimiento de tres componentes: el patógeno virulento, hospedante susceptible y condiciones del medio ambiente favorables para el patógeno o detrimentos para la planta (Agrios, 2004).

El mildiu de la quinua se ve influenciada por temperaturas frescas (máximo alrededor de 23 °C) y humedad relativa alta (por encima 90%), factores determinantes para el crecimiento del patógeno y la diseminación de la enfermedad en el campo y dentro de una región (Kumar *et al.*, 2006).

Estos factores son esenciales para la germinación de las esporas, reproducción y diseminación, además, la presencia de rocío al amanecer y la persistencia de éste hasta altas horas de la mañana favorecen el desarrollo de la enfermedad; por el contrario, en años con poca precipitación, la enfermedad no se presenta o no causa mayor daño, debido a que las esporas se deshidratan y la esporulación desaparece (Saravia *et al.*, 2014).

El patógeno se puede diseminar principalmente por el viento y lluvia, lavado o salpicadura; como la enfermedad puede ser transmitida por semilla, entonces el patógeno puede diseminarse a grandes distancias (Danielsen *et al.*, 2004).

La enfermedad puede iniciarse desde que la planta está pequeña, por la presencia del inóculo primario (oosporas) que está presente en el suelo o en la semilla infectada, dando inicio a una infección primaria que sirve en el campo como foco de infección, y la enfermedad se generaliza durante el periodo de cultivo por medio de la producción de inóculo secundario (esporangios) que se desplazan por acción del viento y caen en plantas sanas o en hojas sanas de la misma planta provocando una infección secundaria. Asimismo, una importante fuente de inóculo en la Región Andina son las quinuas silvestres que en mayor o menor grado son susceptibles a la enfermedad (Danielsen y Ames, 2000; Danielsen *et al.*, 2003; Saravia *et al.*, 2014).

2.1.8 Significancia

El mildiu ha sido reconocida como un principal factor limitante en la quinua en el Perú y a nivel mundial, causando reducciones de rendimiento de hasta un 99% en los cultivares susceptibles bajo condiciones de alta enfermedad causando defoliación completa, maduración prematura e incluso en cultivares resistentes hasta un 33% de reducción de rendimiento, lo que indica la

destruictividad de esta enfermedad.(Danielsen *et al .*, 1999; Danielsen y Munk, 2004; Kumar *et al .*, 2006).

2.1.9 Manejo integrado de la enfermedad

La implementación del manejo integrado del mildiu de la quinua, está en función a la zona y tipo de producción. En este sentido, Saravia *et al .* (2014) propone prácticas de manejo para una producción convencional y orgánica dentro del manejo de esta enfermedad como el control cultural, químico, genético y biológico.

Control cultural

Involucra las prácticas culturales que se realizan desde la preparación del terreno hasta la cosecha. Como la quinua es el único cultivo hospedero de *Peronospora variabilis* Gäum. (Choi *et al .*, 2010), se aconseja realizar rotaciones de cultivos que serán muy efectivas para disminuir la fuente de inóculo; del mismo modo, buena preparación del terreno, incorporación de abono orgánico y fertilizantes(Alandia *et al .*, 1979). Para la siembra, se debe de usar semillas de calidad, libre de oosporas, la distancia entre surcos no deberá ser menor a 0.50 m y entre plantas 0.15 m, para lo cual se realizará el raleo de plantas (práctica que es recomendada para evitar la competencia entre plantas) cuando las plantas alcancen 0.20 m de altura .Además, tomar en cuenta el drenaje apropiado y la orientación de surcos respecto del viento y pendiente del suelo, así como el método de siembra (Saravia *et al .*, 2014).

Como *P. variabilis* tiene la capacidad de adaptarse, diseminarse y reproducirse, las prácticas culturales por sí solas son insuficientes para controlar el mildiu en la quinua (Danielsen *et al .*, 2003)

Control químico

En base a las investigaciones realizadas por PROINPA, en diferentes zonas productoras de quinua en Bolivia y Perú se ha desarrollado estrategias de control químico del mildiu para una producción convencional con aplicaciones de fungicidas de contacto y sistémico que permiten un control eficiente de la enfermedad (Figura 4). (Danielsen y Munk, 2004; Fernández-Northcote *et al.*, 1999; Gabriel *et al.*, 2012; Navia *et al.*, 2001; Saravia *et al.*, 2014; Siñani Apaza, 1997). Entre los productos evaluados, Ridomil mostró la mayor eficiencia de control y la mejor época de aplicación fue cuando existe un 30% de severidad del patógeno. Esta alternativa tecnológica es la que actualmente se aplica en parcelas comerciales de los Altiplanos Centro y Norte, se basa en aplicaciones de fungicidas de contacto y sistémico con la adición de un adherente en forma preventiva (aplicaciones antes de que se presente la enfermedad) o curativa, en cinco momentos críticos del desarrollo fenológico del cultivo (semillas, fase cotiledonal a la ramificación, panojamiento, floración y grano lechoso) y en función al ciclo y epidemiología de la enfermedad (Figura 4).(Gandarillas *et al.*, 2015; Saravia *et al.*, 2014).

- Tratamiento a la semilla

Como se sabe que las oosporas se conservan en las semillas y se diseminan adheridas a ellas a grandes distancias (Testen y Backman, 2016; Testen *et al.*, 2013). Para una producción convencional, se recomienda desinfectarlas con mezclas de tres fungicidas de ingredientes activos: Carbendazim, Thiram y Carbofuram; Fipronil mas Thiophanatemethyl y Pyraclostrobin y otros (Fernández-Northcote *et al.*, 1999; Navia *et al.*, 2001). Igualmente, se recomienda peletizar las semillas con microorganismos antagónicos como

Trichoderma sp sp., *Bacillus subtilis* u otros, que no solo competirán con *Peronospora variabilis* Gäum. sino con los demás patógenos que se encuentren en la superficie de la semillas y a su vez promoverán un mejor desarrollo de la planta.(Testen, 2012).

- **Primera aplicación foliar**

En una zona de clima muy propicio para el desarrollo del mildiu, se recomienda que las aplicaciones comiencen con un fungicida sistémico (Fenilamidas) a partir de la fase cotiledonal hasta la fase de ramificación. Para variedades resistentes, la primera aplicación se realiza al inicio de la enfermedad (primeros síntomas)(Gandarillas *et al* ., 2015; Saravia *et al* ., 2014). En cambio, en cultivares susceptibles es muy importante que la primera aplicación de fungicida se realice en forma preventiva, antes de que aparezcan los primeros síntomas del mildiu y continuar con la aplicación de un fungicida de contacto cuando se observe que la enfermedad continúa su avance, es decir que el patógeno esté esporulando y/o se observe que la sintomatología esté progresando(Navia *et al* ., 2001).

- **Segunda aplicación foliar**

Cuando se observa que la enfermedad continúa su avance, se debe de continuar con la aplicación de un fungicida de contacto (Ditiocarbamatos) al inicio del panojamiento (Gandarillas *et al* ., 2015; Navia *et al* ., 2001; Saravia *et al* ., 2014).

- **Tercera aplicación foliar**

Si se observa que la enfermedad sigue avanzando continuar con la aplicación en forma alternada (sistémico-contacto-sistémico-contacto, etc), utilizar un fungicida sistémico al inicio de la floración. La frecuencia entre aplicación y

aplicación será dada por el grado de avance de la enfermedad. Asimismo, no se debe de utilizar fungicidas sistémicos en más de tres oportunidades, durante la campaña. Si la enfermedad no apareciera hasta el inicio de la floración, empezar las aplicaciones con un fungicida de contacto y continuar aplicando sólo fungicidas de contacto, la última aplicación no debe realizarse con un fungicida sistémico.(Fernández-Northcote *et al .*, 1999; Navia *et al .*, 2001)

- **Cuarta aplicación foliar**

Esta aplicación se realiza a la formación de grano lechoso, pero dependerá del vigor de la planta (Saravia *et al .*, 2014). Las aplicaciones de fungicidas se deben realizar usando las dosis recomendadas comercialmente, con una boquilla apropiada que produzca gotas finas y rociando bien la planta, especialmente la cara inferior de las hojas (envés) en el caso de los fungicidas de contacto y se debe evitar que el producto escurra al suelo a fin de ahorrar en el costo de aplicación y evitar la contaminación del medio ambiente (Fernández-Northcote *et al .*, 1999; Navia *et al .*, 2001).

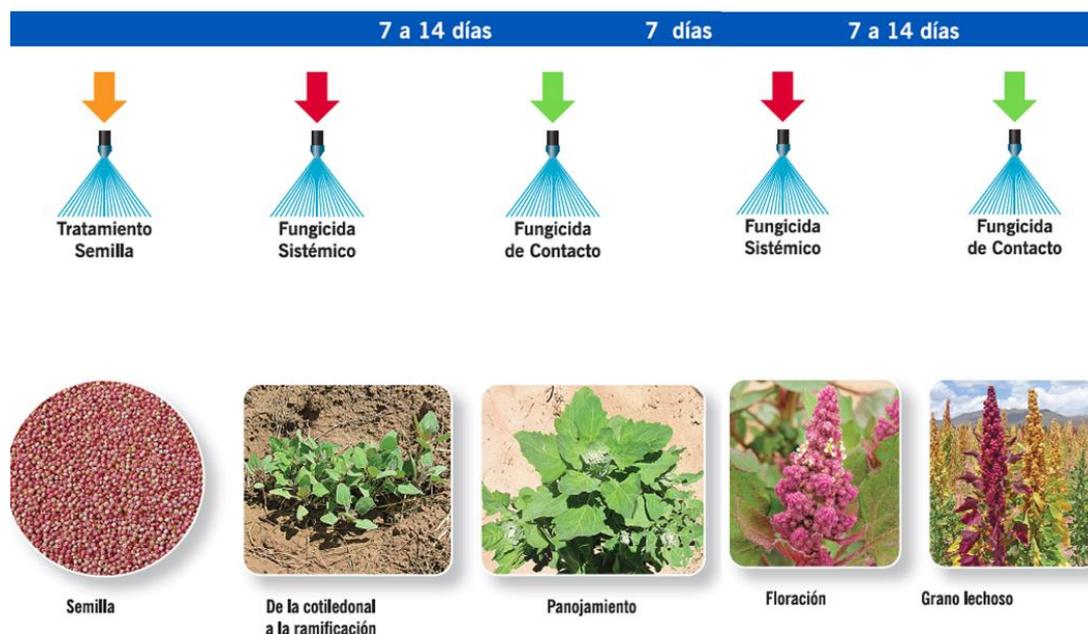


Figura 4. Esquema de Estrategia del control químico del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) para una producción convencional de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) (Saravia *et al.* , 2014)

Control biológico

Dentro de un manejo integrado de una enfermedad, se recomienda el uso de microorganismos antagonistas como *Trichoderma*, *Bacillus subtilis* u otros, desde la elaboración de abonos orgánicos, aplicaciones a la siembra (en semillas o juntos al abono orgánico) y aplicaciones foliares durante el desarrollo del cultivo (al igual que el control químico) (Saravia *et al.* , 2014; Anna L Testen, 2012). También, se puede utilizar metabolitos de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp., los cuales pueden ser asperjados al follaje de manera preventiva, tiene un efecto directo sobre las esporas que se encuentren sobre la superficie de las hojas actuando como un fungicida de contacto y como promotores de crecimiento de las plantas (Bailey *et al.* , 2008; Crozier *et al.* , 2015; Testen, 2012; Toghueo *et al.* , 2016)

Control genético

El uso de variedades resistentes a la enfermedad es una de las alternativas más eficaces para el manejo del mildiu. Además, una variedad resistente requiere menos o ninguna aplicación de fungicidas, reduce el costo de producción y es más fácil integrarla con otros componentes del manejo del cultivo. (Danielsen *et al.*, 2003)

Actualmente, se cuenta con variedades con diferentes tipos de resistencia (susceptibles, parcialmente resistentes, hipersensibles y resistencia combinada) y el nivel de resistencia al mildiu puede estar gobernada por genes mayores (resistencia vertical), por genes menores (resistencia horizontal) y por la combinación de genes mayores y menores que dan lugar a una resistencia parcial o duradera, estos genes se encuentran en variedades tardías de quinua y en otras especies de Chenopodiaceas (Gandarillas *et al.*, 2015; Saravia *et al.*, 2014)

2.2 HONGOS ENDÓFITOS EN EL BIOCONTROL DE LAS ENFERMEDADES DE PLANTAS.

2.2.1 Definición de los hongos endófitos

Los hongos endófitos son organismos simbiotes, viven en asociación con plantas en la mayor parte o en todo su ciclo de vida, y se encuentran dentro de los tejidos, en los espacios intercelulares y algunas veces, intracelularmente en hojas, tallos y flores, absorbiendo nutrientes de la planta sin producir síntomas de enfermedad (Carroll, 1988).

Son un grupo de organismos asociados a los diversos tejidos y órganos de algunas plantas acuáticas y terrestres, cuyas infecciones son poco visibles y el tejido infectado del huésped se encuentra asintomática. Además, los hongos

endófitos viven en los espacios intercelulares y dentro de la célula del huésped planta sin causar daño aparente. (Stone *et al.* , 2000)

2.2.2. Diversidad y distribución

Todas las plantas de la tierra pueden ser hospederos de al menos un hongo endófito e inclusive los endófitos han sido aislados de plantas acuáticas y se encontraron antes del año 2000 un promedio de 50 especies de endófitos por especie de planta (Stone *et al.* , 2000), además la edad de la planta tiene un efecto sobre la diversidad de endófitos, así como el tiempo de exposición del incremento del inóculo de endófitos (Arnold *et al.* , 2003).

Los géneros que se encuentran en las hojas y ramas son: *Colletotrichum*, *Botryosphaeria*, *Xylaria* y *Phomopsis*, mientras que los endófitos dominantes de troncos son géneros como *Clonostachys* y *Trichoderma* conocidos como hongos del suelo (Mejía *et al.* , 2008).

En la zona altiplánica Bolivia, se aislaron un total de 104 aislados de bacterias y hongos endófitos (55 son de raíz, 8 de tallo y 41 de hoja) de 11 plantas de *Chenopodium quinoa* (Claros, Angulo, Gutierrez, y Ortuño, 2010). Sin embargo, se han estudiado estos hongos en taxones vegetales tropicales en palmas, orquídeas y otras epífitas como *Sapotaceae*, *Fabaceae*, *Casuarinaceae*, *Ochnaceae*, *Olacaceae*, *Asteraceae*, *Anacardiaceae*, *Meliaceae*, *Rubiaceae*, *Magnoliaceae* y *Sterculiaceae* (Gamboa-Gaitán, 2006).

En Perú se han realizado estudios sobre la composición de comunidades de hongos endófitos de cacao nativo en cuencas del alto amazonas, en donde aislaron hongos presentes de tejidos de los tallos y hojas, lograron identificar diecisiete géneros, siendo *Trichoderma* y *Clonostachys* los de importancia para

el biocontrol de enfermedades (Arévalo *et al.* , 2010; Leon *et al.* , 2010; Márquez *et al.* , 2010).

2.2.3 Colonización de los hongos endófitos

Muchos de los endófitos infectan partes de la planta en forma localizada, siendo restringido a un área pequeña del tejido tales como raíces, hojas o ramas, mientras que existen especies de endófitos sistémicos que pueden infectar a varias de estas secciones y son aislados a partir de múltiples fragmentos de la misma planta (Bacon y Hinton, 1996; Bailey *et al.* , 2008; Bailey *et al.* , 2006; Stone *et al.* , 2000). Del mismo modo, Arnold *et al.* (2003) señalan que la diversidad de endófitos varía de acuerdo a la edad de la planta y tiempo de exposición del incremento del inóculo de endófitos en donde partes viejas de la planta puede albergar más endófitos que los más jóvenes.

Endófitos de especies de *Trichoderma* spp fueron aislados de troncos y mazorcas de especies de *Theobroma*, siete cepas se utilizaron para la colonización endófitica en plántulas de cacao. Todos las cepas estudiadas fueron capaces de colonizar las plántulas, tres cepas fueron los más eficientes a través de los métodos de inoculación y la mayoría de las cepas fueron capaces de establecer una relación endofítica con el cacao; asimismo, *T. hamatum* DIS 219b en plántulas de cacao indujo tolerancia al estrés hídrico por sequía. (Arévalo *et al.* , 2010; Bailey *et al.* , 2008; Bailey *et al.* , 2006)

2.2.4 Transmisión y adquisición de los endófitos

Los endófitos pueden infectar a las plantas por medio de la transmisión horizontal, cuando su inóculo se transporta a otra planta, o vertical cuando infectan a la semilla progenie de una planta infectada; siendo la transmisión

horizontal el principal mecanismo de dispersión entre las especies de endófitos (Carroll, 1988), algunos estudios han demostrado que las semillas y las plántulas están prácticamente libres de endófitos, y la incidencia de hongos endófitos se incrementa a medida que las hojas o las semillas crecen. Por consiguiente, semillas producidas por una planta infectada por estos microorganismos darán lugar a plantas infectadas asintomáticas (Arnold *et al.*, 2003; Schardl *et al.*, 2004).

2.2.5 Mecanismos de los hongos endófitos en la protección de la planta contra los patógenos.

Existen muchas investigaciones que se centran en el estudio de endófitos como agentes de control biológico de patógenos e insectos y aplicados con éxito para la protección de las plantas. Los mecanismos potenciales de los hongos endófitos: la inhibición de patógenos de plantas por efecto directo, indirecto y ecológicos, producción de antibióticos por hongos endófitos, siendo algunos antifúngicos y antibacterianos que inhiben el crecimiento de los patógenos de plantas, secreción de enzimas líticas, que pueden hidrolizar una amplia variedad de compuestos polímeros, incluyendo la quitina, proteína, celulosa, hemicelulosa y el ADN, inducción y mejora de la resistencia en la planta a factores bióticos y abióticos, estimulación de los metabolitos secundarios de las plantas, promoción del crecimiento vegetal inducido por hongos endófitos, que evita una gran variedad de estrés biótico y abiótico (Gao *et al.*, 2010; Gunatilaka, 2006; Kuldau y Bacon, 2008)

Algunas especies de estos hongos, inducen mecanismos de defensa en plantas infectadas por estos endófitos, y cuando son atacadas las plantas por

sus patógenos hay una respuesta de defensa con muerte celular localizada (Dingle y Mcgee, 2003; Waller *et al.* , 2005).

Existen reportes sobre el control de patógenos de importancia en la agricultura por medio de hongos endófitos, siendo el estudio más impactante en especies tropicales, donde se detectó un antagonismo entre hongos endófitos naturales y agentes patógenos del cacao, una mezcla de seis especies de hongos endófitos aislados de árboles de cacao (*Theobroma cacao* L.) fueron utilizados para inocular hojas de plántulas libres de endófitos de esta especie vegetal, la severidad de la enfermedad de una hoja causada por *Phytophthora*. sp fue significativamente reducida en hojas inoculadas con endófitos (Arnold *et al.* , 2003). De la misma forma, en tejidos de cacao sanos se aislaron hongos endófitos para seleccionar *in vitro* el antagonismo contra los principales patógenos del cacao. De las morfoespecies de endófitos evaluados, el 40% (21/52), el 65% (28/43) y el 27% (4/15) mostraron en el antagonismo *in vitro* contra *Moniliophthora roreri* (monilia), *Phytophthora palmivora* (rot pod negro) y *Moniliophthora perniciososa* (escoba de bruja) respectivamente, y un aislamiento de *Trichoderma* sp resultó ser parásito de *M. roreri* (Mejía *et al.* , 2008).

Diecisiete géneros de hongos endófitos fueron aislados de cacao y se determinaron su efecto antagónico (antibiosis y micoparasitismo) hacia los principales patógenos de cacao (*Moniliophthora roreri*, *Moniliophthora perniciososa* y *Phytophthora palmivora*), siendo los aislamientos As-E-5, Pen-E-11 y Cl-E-50 los que presentaron mejor inhibición micelial para los tres patógenos, trabajos similares se realizaron con 31 cepas de *Trichoderma* spp endófito hacia los mismos patógenos de cacao, en donde se encontró que diez

cepas inhibieron significativamente el crecimiento micelial de los patógenos (Arévalo *et al.* , 2010; Leon *et al.* , 2010; Márquez *et al.* , 2010).

2.3 TRICHODERMA SPP.

Los hongos del género *Trichoderma* se han conocido desde al menos la década de 1920 por su capacidad para actuar como agentes de control biológico contra patógenos de las plantas. Son de rápido crecimiento, habituales de suelos forestales, agrícolas y pastizales, se han aislado en todos los continentes, muestra preferencia por los suelos ácidos y ricos en materia orgánica, siendo el hierro un elemento esencial para su correcto desarrollo. (Harman, 2006; Mukherjee *et al.* , 2012)

Asimismo, puede crecer dentro de un amplio rango de temperaturas y son capaces de sobrevivir cuando las condiciones ambientales no son favorables, pueden modificar la rizosfera, presentan la capacidad de transportar rápidamente la glucosa lo que les da una ventaja en la competencia de nutrientes y pueden promover el crecimiento de las plantas y mejorar mecanismos de defensa (Benítez *et al.* , 2010).

Ciertas especies de *Trichoderma* spp (*T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T.hamatum*, *T. gamsii*, *T. viride* o *T. virens*) son considerados antagonistas naturales de fitopatógenos y son ampliamente utilizados en la agricultura, muestra una amplia gama de hospedantes y dentro de ellos están los hongos fitopatógenos de importancia, además, se destacan entre las más utilizadas para el biocontrol de patógenos fúngicos del suelo (Carrero-Carrón *et al.* , 2016; Crozier *et al.* , 2015; Chaves *et al.* , 2016; Guédez *et al.* , 2009; Hanada *et al.* , 2008; Harman, 2006)

Los mecanismos de acción de *Trichoderma* spp. como agente de biocontrol y en interacción con la planta son varios: (i) una especial habilidad para parasitar hongos fitopatógenos, debido a la producción de enzimas hidrolíticas de la pared celular: glucanasas, quitinasas y proteasas (ii) la competencia por espacio y nutrientes, especialmente en la rizosfera; (iii) la capacidad de promover el desarrollo de planta y raíces, así como, aumentar la captación de nutrientes y la eficacia fertilizante en la planta, y la resistencia a estreses ambientales, (iv) la estimulación de las defensas de la planta frente a patógenos, y (v) la producción de antibióticos. (Bailey *et al.*, 2008; Bailey *et al.*, 2006; Harman, 2006; Samuels, 1996)

Sin embargo, los avances recientes demuestran que los efectos de *Trichoderma* spp en las plantas, inducen resistencia sistémica o localizada, el aumento de crecimiento de la planta y la absorción de nutrientes, desactivación de enzimas del patógeno, entre otros, siendo la inducción de la defensa de la planta y el micoparasitismo el principal mecanismo de acción de este hongo. Mientras mayor sea la probabilidad de que un aislamiento de *Trichoderma* manifieste varios modos de acción; más eficiente y duradero será el control sobre el patógeno, aspectos que no poseen los plaguicidas químicos (Infante *et al.*, 2009; Mukherjee *et al.*, 2012).

Algunas especies del género *Trichoderma* spp son capaces de colonizar raíces de las plantas e inducir el crecimiento y la resistencia a las enfermedades; sin embargo, en investigaciones recientes han identificado cepas de muchas de especies de *Trichoderma* spp que son endófitos sobre los tejidos de plantas sanas. Igualmente, se ha observado que algunas especies del endófito *Trichoderma* son capaces de inducir la producción de compuestos relacionados

con la defensa y algunos genes implicados en respuestas de defensa de las plantas al estrés abiótico (Bae *et al.* , 2009; Bailey *et al.* , 2008; Cummings *et al.* , 2016; De Souza *et al.* , 2008; Toghueo *et al.* , 2016)

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 **Ámbito de estudio**

La investigación se realizó en el laboratorio de fitopatología de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica de la Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional del Altiplano Puno (UNA) y en una parcela experimental ubicada en el Centro de investigación y producción (CIP) Camacani de la UNA, ubicado en el distrito de Platería, provincia y departamento de Puno. a una altitud de 3850 msnm, latitud (sur) 15°14'36", longitud (oeste) 72°28'30", durante los meses de Junio del 2015 a Junio del 2016.

3.2 **Descripción de métodos por objetivos específicos**

3.2.1 **Capacidad endófitica de cepas de *Trichoderma* sp en plantas de *Chenopodium quinoa* Willd.**

- **Reactivación de cepas de *Trichoderma* sp**

Las cepas de *Trichoderma* sp que se utilizaron para este primer ensayo fueron proporcionadas por el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNA, estas fueron aisladas de hojas, tallos y rizósfera de plantas de quinua de tres meses de edad y genotipos nativos de cacao en placas Petri

conteniendo medio Papa Dextrosa Agar (PDA), y actualmente se encuentran conservados en una solución glicerina al 20% a -5°C (Tabla1).

Tabla 1 Código y procedencia de cepas de *Trichoderma* sp. para la realización de la investigación propuesta en el laboratorio de Fitopatología y CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016..

CODIGO CEPA	TIPO	ESPECIE	PROCEDENCIA
T1	Nativa	<i>Trichoderma</i> sp.	Tallo de Quinua, Puno
T2	Nativa	<i>Trichoderma</i> sp	Tallo de Quinua, Puno
T3	Nativa	<i>Trichoderma</i> sp	Tallo de Quinua, Puno
T4	Nativa	<i>Trichoderma</i> sp	Rizósfera de Quinua, Puno
T5	Nativa	<i>Trichoderma</i> sp	Rizósfera de Quinua, Puno
T6	Comercial	<i>Trichoderma viride</i>	Cacao ,Cusco
T7	Nativa	<i>Trichoderma</i> sp.	Tallo de cacao, San Gabán
T8	Nativa	<i>Trichoderma</i> sp.	Tallo de cacao, San Gabán
T9	Nativa	<i>Trichoderma</i> sp.	Tallo de cacao, San Gabán
T10	Nativa	<i>Trichoderma</i> sp.	Tallo de cacao, San Gabán

- Incremento de inóculo de cepas de *Trichoderma* sp

Las cepas de *Trichoderma* sp fueron activadas en placas petri conteniendo medio Extracto de Malta Agar (EMA), estas fueron incubadas a 25°C durante cinco días, luego se procedió a realizar repiques de cada cepa en medio EMA, y fueron incubadas a 25°C bajo luz artificial durante una semana (Figura 5), con la finalidad de inducir la producción de estructuras de reproducción para luego propagar en sustrato de arroz.

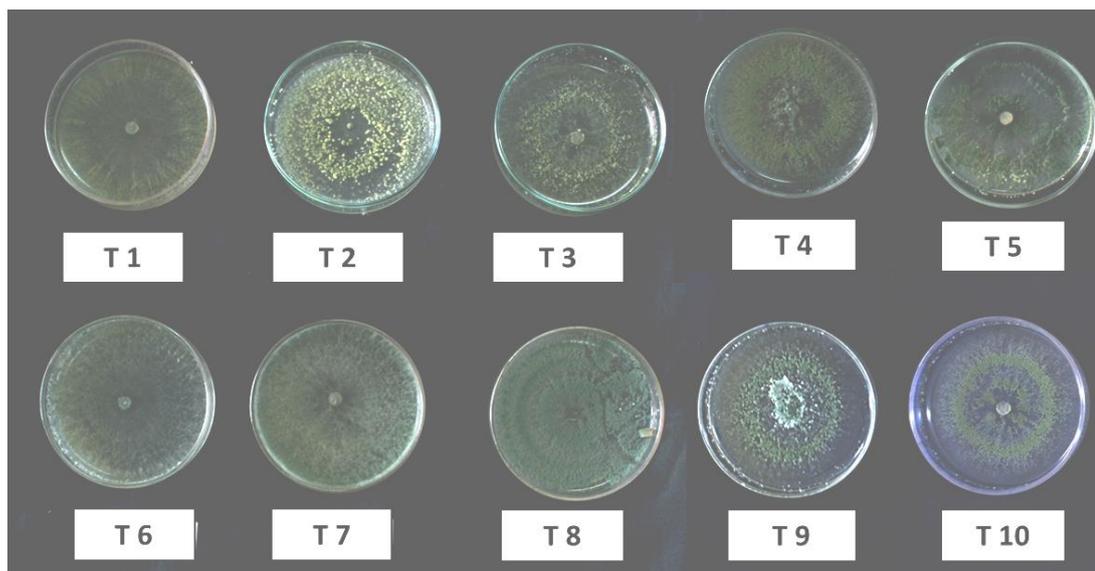


Figura 5. Cepas de *Trichoderma* sp. endófito de cinco días de edad en medio extracto malta agar.

- Producción de cepas de *Trichoderma* sp en sustrato arroz

A partir de cultivos jóvenes se procedió a realizar repiques de cada cepa en medio PSA (Papa Sacarosa Agar) y fueron incubados a 25°C bajo luz artificial durante una semana, con la finalidad de inducir la producción de estructuras de reproducción, para luego infestar el sustrato de arroz.

Previo a la infestación, se preparó bolsas de polipropileno de 6x12 pulgadas conteniendo 400g del sustrato, en donde se adicionó carbonato de calcio al 0,45% en 120ml de agua destilada estéril (ADE) por cada bolsa, con la finalidad de estimular la esporulación de las conidias; luego se esterilizó a 120 °C, a 15 lbs de presión durante 20 minutos; finalmente, se introdujo en el sustrato medio de cultivo PSA colonizado con *Trichoderma* sp de la mitad de una placa petri y se dejó incubando bajo luz durante 15 días a temperatura ambiente 17 °C (Figura 6).



Figura 6. Producción de cepas de *Trichoderma* sp en sustrato arroz, realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. A. Cultivo de *Trichoderma* sp en medio papa sacarosa agar. B. Incubación de cepas de *Trichoderma* sp en sustrato arroz.

- Uniformización de inóculo.

A partir de un gramo de sustrato arroz colonizado con *Trichoderma* sp se obtuvo una suspensión de conidias en 9ml de ADE, luego se realizó diluciones seriadas para el conteo de conidias y obtener una concentración de conidias de 1×10^7 ufc.cc⁻¹ (Figura 7).

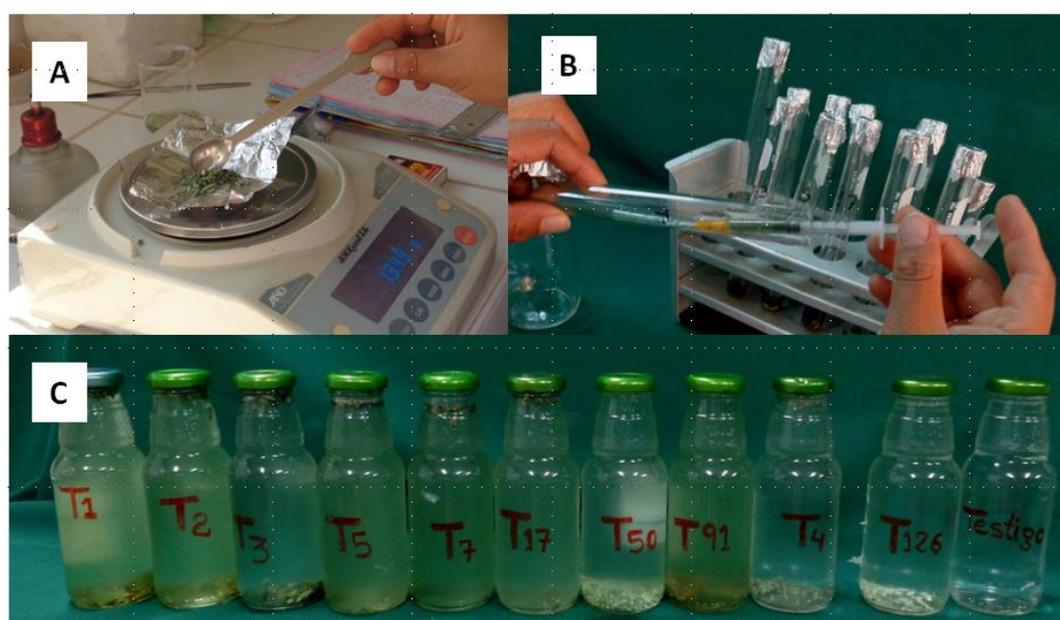


Figura 7. Uniformización de inóculo de cepas de *Trichoderma* sp., realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015 A. Pesado de un gramo de arroz colonizado con *Trichoderma* sp. B. Diluciones seriadas para el conteo de conidias C. Suspensión de conidias de cepas de *Trichoderma* sp a una concentración de 1×10^7 ufc.cc⁻¹.

- Obtención y desinfestación de semillas

Se utilizó semillas de polinización abierta de la variedad salcedo INIA de la campaña agrícola 2014-2015, que fueron proporcionadas por el CIP Camacani. Estas semillas fueron desinfestadas con hipoclorito de sodio al 2 % por cinco minutos y alcohol de 70 ° por tres minutos, enjuagadas con agua destilada estéril (ADE) tres veces, finalmente fueron colocadas sobre papel toalla para su secado (Figura 8) y posterior peletización con cepas de *Trichoderma* sp.

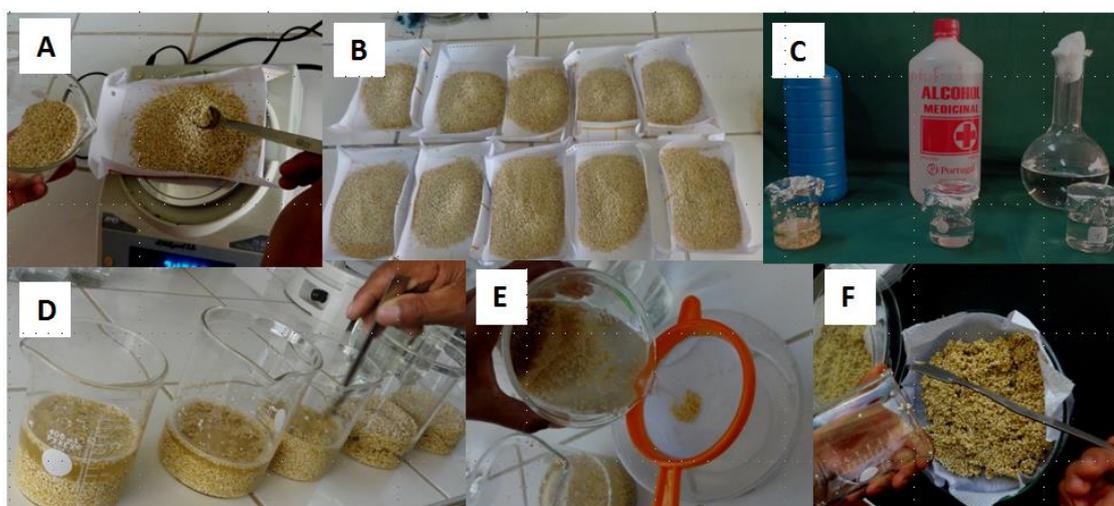


Figura 8. Desinfestación de semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.), realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. A y B Pesado de 60 g arroz para cada tratamiento C. Insumos utilizados para la desinfestacion de semillas. D. Desinfestación de semillas en hipoclorito de sodio al 2 % durante 3 min. E. Enjuague con agua destilada esteril. F. Secado de semillas desinfestadas sobre papel toalla.

- Colonización endofítica de *Trichoderma* sp. en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.)

Para la colonización de plantas de quinua se emplearon 10 cepas de *Trichoderma* sp, se realizaron aplicaciones de las cepas mediante dos métodos de inoculación:

Método 1: Peletización de semillas con conidias de *Trichoderma* sp

Consistió en cubrir las semillas desinfectadas con conidias de *Trichoderma* sp (1×10^6 ufc. semilla⁻¹), para 1 g de semillas se aplicó 1.5 ml de suspensión de conidias (2×10^8 ufc.cc⁻¹) y 0.5 ml de melaza esterilizada, la mezcla se realizó en viales de 2 ml, para el caso del testigo se realizó la mezcla de ADE y melaza, luego fueron transferidas a placas petri para su secado por 24 horas (Figura 9). Transcurrido el tiempo, se realizó la siembra de tres semillas peletizadas por cada maceta conteniendo 200g de sustrato estéril a capacidad de campo a una concentración de 2:1:1 (Suelo agrícola, compost y arena), luego fueron cubiertos con bolsa plástica de polipropileno durante 10 días para evitar la contaminación por microorganismos. Se dejó en incubación en el laboratorio de Fitopatología bajo luz artificial a una temperatura de 12 °C, humedad relativa de 40% por un periodo de 60 días.

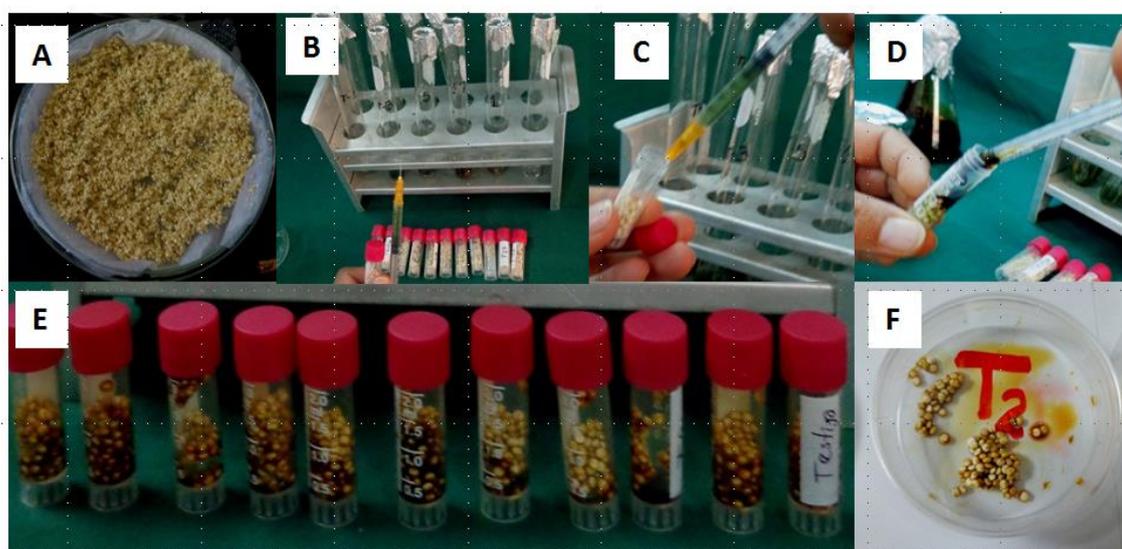


Figura 9. Peletización de semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) con *Trichoderma* sp (Método 1), realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. A. Semillas desinfectadas B. Suspensión de conidias de cepas de *Trichoderma* sp. C. Inoculación de *Trichoderma* sp en semillas desinfectadas. D. Aplicación de melaza a semillas inoculadas con *Trichoderma* sp. E y F. Semillas peletizadas con esporas de *Trichoderma* sp.

Método 2: Infestación del sustrato suelo con conidias de *Trichoderma sp* vía drench

Previamente cada maceta fue llenado con 200g de sustrato estéril a una concentración de 2:1:1 (Suelo agrícola, compost y arena), luego se realizó la aplicación de *Trichoderma sp* (1×10^7 ufc.g suelo⁻¹) al suelo mediante el método vía drench con 30 ml de suspensión de conidias. Posteriormente, se sembraron tres semillas desinfestadas por cada maceta, luego fueron cubiertos con bolsa plástica de polipropileno durante 10 días para evitar la contaminación por microorganismos. Se dejó en incubación en el en el laboratorio de Fitopatología bajo luz artificial a una temperatura de 12 °C, Humedad Relativa de 40% por un periodo de 60 días (Figura10).



Figura 10. Infestación del sustrato con *Trichoderma sp* (Método 2), realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. A. Aplicación de suspensión de *Trichoderma sp* vía drench. B. Siembra de semillas desinfestadas en sustrato infestado con *Trichoderma sp*. C. Vasos cubiertos con bolsas de polipropileno. D. Incubación de plantas de quinua bajo luz artificial. E. Plantas de quinua de 30 días de edad y E. Plantas de quinua de 60 días de edad para el reaislamiento de *Trichoderma sp*.

- **Determinación de la colonización de *Trichoderma* sp en plántulas de quinua.**

Se realizó el re-aislamiento de *Trichoderma* sp de plántulas de quinua colonizadas con las cepas de *Trichoderma* sp a los 30 y 60 días de edad según la metodología descrita por Bailey *et al.* (2008). Previamente las plántulas fueron retiradas de las macetas, estas fueron lavadas con agua potable para retirar el sustrato suelo de las raíces. Se sacrificaron tres plántulas por cada cepa de *Trichoderma* sp endófito. De cada plántula se obtuvieron dos secciones (1 cm de tejido) de raíz principal media (RPM), punta de raíz (PR), Hipocotilo (Hp), Epicotilo (Ep) y hojas (H), estas secciones fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% por 5 min, seguido de cuatro lavados en ADE hasta quitar residuos de hipoclorito de sodio, posteriormente se colocó sobre papel toalla para su secado.

Para realizar la siembra de estas secciones, se procedió a obtener segmentos de tejidos más pequeños de 3mm de largo aproximadamente y se sembraron en placas Petri conteniendo medio Corn meal dextrosa agar (CMDA). Estas placas fueron incubadas a 25 °C por cinco días, y se registró como positivo (1) o negativo (0) para la colonización de *Trichoderma* sp (Figura 11 y Tabla 12).

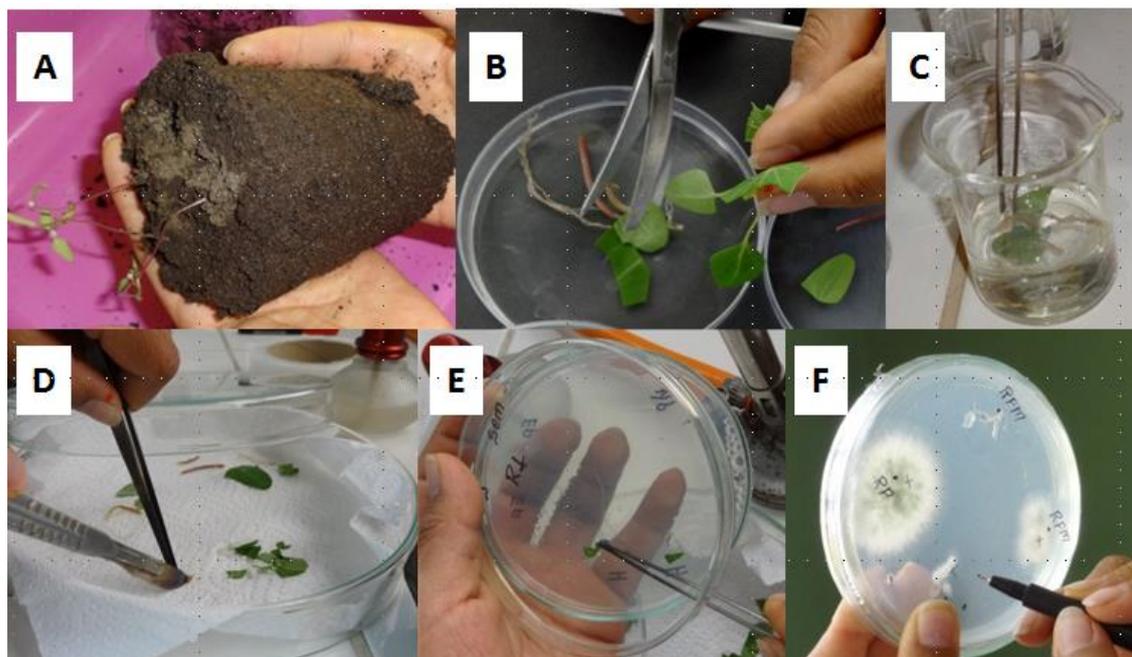


Figura 11. Reislamiento de *Trichoderma* sp de plántulas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.), realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. A. Separación del suelo de las raíces. B. Obtención de segmentos de tejidos. C. Desinfestación de segmentos de tejidos en Hipoclorito de sodio al 2 % durante 3 min. D. Secado de segmentos desinfestados sobre papel toalla. E. Siembra de segmentos de tejidos en placas petri conteniendo medio medio corn meal dextrosa agar (CMDA). F. Evaluación de la colonización de *Trichoderma* sp en segmentos de tejidos de quinua.

- Diseño y análisis estadístico

Para este ensayo se empleó el diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial (2x2x10) con tres repeticiones, dos métodos de inoculación (peletización de semilla e infestación del suelo), dos fechas de evaluación (30 y 60 días) y 10 cepas de *Trichoderma* sp. Los datos expresados en porcentaje fueron transformados angularmente (arco seno \sqrt{X}), con dicha transformación se confirió la normalidad y homogeneidad de varianzas como lo recomendado por Montgomery (2008) y en consecuencia estos fueron procesados en un software estadístico *InfoStat*, versión 2008 (Di Rienzo *et al.*, 2008). Se utilizó la prueba estadística de Fisher a través del análisis de varianza (ANDEVA) para determinar diferencias significativas entre métodos de inoculación, fechas de

evaluación y cepas de *Trichoderma* endófito para el índice y porcentaje de colonización. Del mismo modo, para identificar las diferencias de medias se aplicó la prueba de contraste de Tukey, con un nivel de significancia de 0.05%. Para comprobar el nivel de ajuste del modelo lineal utilizado a los datos obtenidos se tomara en cuenta el valor de R^2 cercano a 1.

3.2.2 Capacidad de biocontrol de cepas de *Trichoderma* sp. endofitos hacia *Peronospora variabilis* Gaüm patogeno de *Chenopodium quinoa* Willd.

Para este objetivo se empleó los dos métodos de inoculación con las diez cepas de *Trichoderma* sp, se evaluó el efecto de control del patógeno bajo inóculo natural de *Peronospora variabilis* en plantas de quinua var. Salcedo INIA, el experimento fue conducido en una parcela experimental del CIP Camacani, durante la campaña agrícola 2015 (octubre) – 2016 (mayo).

- Características del campo experimental

Las dimensiones y características del campo experimental fueron las siguientes: 11 parcelas por bloque, 3 bloques, 3 repeticiones (parcelas) por tratamiento, 2.4 m el ancho de parcela, 1.2 m de distancia entre parcelas, 5 surcos por parcela con un distanciamiento de 0,60 m entre surcos, 5m de longitud de surcos y el área efectiva del experimento de 889.2 m² (Figura 20)

- Preparación del terreno experimental

La preparación del terreno se llevó a cabo el 5 de octubre del 2015, se roturó el suelo con el arado, luego se pasó el arado semi profundo para mullir el suelo,

un día antes de la siembra se niveló y surcó el terreno con la ayuda de un tractor, el día de la siembra se demarco los bloques y parcelas con yeso.

- Fertilización

Durante la preparación del terreno se incorporaron los rastrojos del cultivo anterior que fue papa. Adicionalmente, el día de la siembra se aplicó en los surcos estiércol de ovino infestado con cepas de *Trichoderma sp*

- Tratamientos

El total de tratamientos empleados para el control del mildiu de la quinua bajo condiciones de campo fueron 11, los 10 primeros tratamientos corresponden a la aplicación de cepas de *Trichoderma sp* y el ultimo tratamiento (T11) corresponde al testigo, en donde no se aplicó ningún control (Tabla 2).

Tabla 2. Número de tratamientos empleados para el control del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA bajo condiciones de campo en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016.

TRATAMIENTOS	TIPO CEPA	ESPECIE	PROCEDENCIA
T1	nativa	<i>Trichoderma sp.</i>	tallo de Quinua, Puno
T2	nativa	<i>Trichoderma sp</i>	tallo de Quinua, Puno
T3	nativa	<i>Trichoderma sp</i>	tallo de Quinua, Puno
T4	nativa	<i>Trichoderma sp</i>	rizósfera de Quinua, Puno
T5	nativa	<i>Trichoderma sp</i>	rizósfera de Quinua, Puno
T6	comercial	<i>Trichoderma viride</i>	cacao, Cusco
T7	nativa	<i>Trichoderma sp</i>	tallo de cacao, San Gabán
T8	nativa	<i>Trichoderma sp</i>	tallo de cacao, San Gabán
T9	nativa	<i>Trichoderma sp</i>	tallo de cacao, San Gabán
T10	nativa	<i>Trichoderma sp</i>	tallo de cacao, San Gabán
T11	testigo		

- Aplicación de cepas de *Trichoderma sp*

Previamente en el laboratorio de fitopatología de la FCA –UNA, se propagaron las cepas de *Trichoderma sp* endófito en sustrato arroz siguiendo la misma metodología mencionada en el primer objetivo. La primera aplicación se realizó el día de la siembra en semillas y abono, las siguientes aplicaciones durante el desarrollo fenológico a nivel foliar (Tabla 3), a continuación se detalla cada uno de estos momentos de aplicación:

Tabla 3. Momentos de aplicación de *Trichoderma sp.* para el control del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016

Momento aplicación	Lugar de aplicación	Nro aplicaciones	Dosis
Fertilización	Abono	1	1×10^7 ufc. g de estiércol ⁻¹
Siembra	Semillas	1	1×10^6 ufc. semilla ⁻¹
Desarrollo fenológico	Foliar	5	1×10^7 ufc.cc ⁻¹

Ufc: unidades formadoras de colonia

a. Aplicación junto con el abono orgánico

Antes del abonamiento, se incorporó sustrato arroz (300 g. tratamiento⁻¹) en el estiércol de ovino descompuesto a una concentración de 1×10^7 ufc. g de estiércol⁻¹, se hizo una mezcla con la finalidad de distribuir las esporas de *Trichoderma sp* en el abono (Figura 12 A), luego se aplicó en los surcos abono infestado con cepas de *Trichoderma sp* a razón de 4 kg por parcela (Figura 12 B).

b. Aplicación a semillas

La siembra se llevó a cabo el 31 de octubre del 2015, se realizó en forma manual y a chorro continuo con semillas peletizadas con esporas de *Trichoderma sp* a una concentración de 1×10^6 ufc. semilla⁻¹ (Figura 12 C), cuya

metodología de peletización fue descrita en el primer objetivo. La densidad fue de 10 kg/ha para todos los tratamientos.

c. Aplicación foliar

Se realizaron cinco aplicaciones foliares de suspensión de esporas de las cepas de *Trichoderma* sp en cuatro momentos críticos del desarrollo fenológico del cultivo (Tabla 4): durante la ramificación (Figura 12 E), panojamiento (Figura 12 F), floración (Figura 12 G) y grano lechoso (Figura 12 H)

Tabla 4. Número de aplicaciones foliares de *Trichoderma* sp. para el control del mildiu según las fases fenológicas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.

Aplicación foliar	Fase fenológica	DDS	Dosis
Primera	Ramificación	50	1 x 10 ⁷ ufc/cc
Segunda	Panojamiento	70	1 x 10 ⁷ ufc/cc
Tercera	Floración	100	1 x 10 ⁷ ufc/cc
Cuarta	Grano lechoso	115	1 x 10 ⁷ ufc/cc
Quinta	Grano lechoso	130	1 x 10 ⁷ ufc/cc

ufc: unidades formadoras de colonia

Para las aplicaciones foliares de *Trichoderma* sp, previamente se realizó la uniformización de conidias a partir de cultivos jóvenes desarrolladas en sustrato de arroz. Se preparó una suspensión de conidias de cada cepa para realizar aplicaciones foliares a una concentración de 1 x 10⁷ ufc/cc (Figura 12 E). Las aplicaciones se realizaron con una mochila fumigadora marca Jacto de 20 litros en horas de la mañana entre las 8 a 10 h.; por cada parcela se fumigo dos litros de la solución (Figura 12 E, F, G y H).



Figura 12. Aplicación de cepas de *Trichoderma* sp. en el cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el CIP Camacani de la UNA durante la campaña agrícola 2015-2016. A y B. Incorporación de sustrato de arroz colonizado con *Trichoderma* sp al estiércol de ovino para el abonamiento a nivel de surcos. C. Siembra de semillas peletizadas con *Trichoderma* sp. D. Preparación de suspensión de esporas. E. Aplicación foliar de *Trichoderma* sp en la fase fenológica de ramificación, F. Panojamiento, G. Floración y H. Grano lechoso.

- Labores culturales

Desahíje

Se llevó a cabo cuando las plantas estaban en las fases de desarrollo vegetativo, panojamiento e inicios del desarrollo de la inflorescencia, se dejó aproximadamente 10 cm de distancia entre planta y planta. Se realizó en todos los surcos de cada parcela experimental.

Control de malezas

Se realizaron dos deshiebos de forma manual, simultáneamente con el desahíje, la primera se realizó en la fase fenológica de panojamiento y la segunda fue a inicios del desarrollo de la inflorescencia.

Aporque

Se realizó un solo aporque el día que se realizó el segundo deshierbo. Esta labor permitió dar mayor fijación a las plantas y controlar las malezas ubicadas entre los surcos.

Cosecha

La cosecha se realizó a los 160 días después de la siembra, de acuerdo a la madurez fisiológica. Se seleccionaron 10 plantas al azar de los tres surcos centrales de cada parcela, estas fueron cortadas al ras del suelo, para luego colocarlas en sobres de papel y ser llevadas al laboratorio de fitopatología para su secado bajo sombra a temperatura ambiente durante dos meses, posteriormente fueron pesadas para determinar la biomasa seca. Se realizó la trilla en forma manual por cada planta. Finalmente, se procedió a limpiar los granos para ser guardados dentro de bolsas de papel kraff, debidamente etiquetadas. Sin embargo, el resto de plantas se segaron y dejaron en el campo durante 30 días, para que sequen completamente. Una vez secas, se llevó a cabo la trilla.

- Evaluación de la severidad del mildiu (*Peronospora variabilis* Gaüm.) de la quinua.

Se realizaron cuatro evaluaciones de severidad de la enfermedad durante la campaña agrícola, la primera evaluación se realizó a los 30 días después de la segunda aplicación de *Trichoderma* sp (100 días después de la siembra) debido a que la enfermedad se presentó muy tarde aproximadamente a los 90 días después de la siembra, la segunda evaluación a los 15 días después de la tercera aplicación, la tercera evaluación a los 15 días después de la cuarta

aplicación y la cuarta evaluación a los 10 días después de la última aplicación de *Trichoderma* sp (Tabla 5).

Tabla 5. Número de evaluaciones de severidad del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016.

Evaluación	Fase fenológica	Días después de la siembra
Primera	Floración	100
Segunda	Floración	115
Tercera	Grano lechoso	130
Cuarta	Grano lechoso	140

Para cada evaluación, se escogió al azar 10 plantas de los tres surcos céntricos por parcela y de cada planta se escogió 3 hojas al azar, una de cada tercio (superior, medio e inferior) en donde se evaluaron el porcentaje de área afectada de cada hoja usando una escala en base al porcentaje de área afectada por la enfermedad (Figura 13). El promedio de las 3 lecturas equivale al valor de la severidad de cada planta. Para describir el desarrollo de la enfermedad a lo largo de la época del cultivo e identificar diferencias entre tratamientos se calculó el valor del área bajo la curva de progreso de la enfermedad, descrito originalmente en inglés como 'area under disease progress curve' (AUDPC), en base a mediciones de severidad (Tabla13). La fórmula general para el cálculo del AUDPC es:

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} (y_i + y_{i+1})/2 \times (t_{i+1} - t_i)$$

Donde n es el número de evaluaciones, y es la severidad y t es el número de días después de la siembra en que se hace la evaluación.

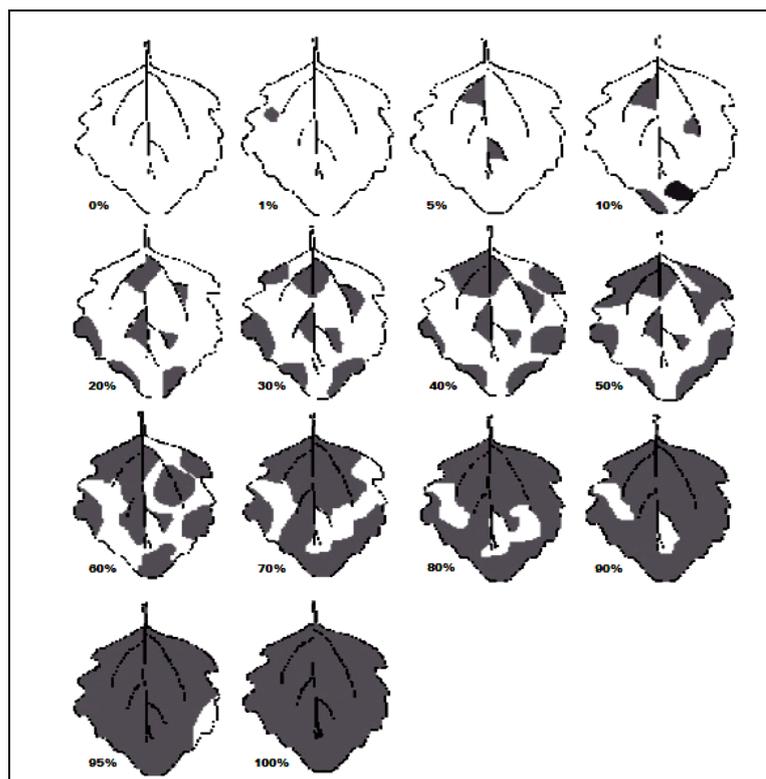


Figura 13. Escala de evaluación para evaluar severidad del mildiu de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en campo (Porcentaje de área afectada por mildiu en hojas de quinua) (Danielsen y Ames, 2000)

- **Evaluación de características morfológicas de plantas de quinua tratadas con cepas de *Trichoderma* sp.**

El día de la cosecha (160 días después de la siembra) se escogió al azar 10 plantas de los tres surcos céntricos por parcela para evaluar *In situ* altura de planta (AP), longitud de panoja (LPN) y diámetro de panoja (DPN), posteriormente estas plantas se procedió a cortar al ras del suelo, luego fueron colocadas en sobres de papel manila para ser llevadas al laboratorio de fitopatología para su secado bajo sombra a temperatura ambiente durante dos meses y se determinó el peso seco de la biomasa (PSB), peso de semilla (PSEM) y rendimiento (RDT) (Tabla 14).

- Condiciones meteorológicas

Durante el desarrollo del trabajo de investigación en campo, se registró las temperaturas máximas y mínimas, y precipitación total (mm) durante octubre 2015 a abril 2016. Los datos fueron proporcionados por la Dirección Zonal 13 del SENAMHI de la estación meteorológica Rincón de la Cruz – Acora (Figura 14).

Comparando las precipitaciones promedios anuales de 10 años (2004-2014) registrada en la Tabla 6, Octubre fue un mes de características normales con déficit de lluvias, los días con mayor precipitación se centraron entre los días del 19 al 30. Las temperaturas máximas oscilaron entre los 13 y 20°C en promedio y temperaturas mínimas entre -2 y 6 °C.

De igual manera, noviembre fue de características normales a con déficit de lluvias, los días con mayor precipitación generalizada se centraron entre los días del 8 al 15. Las temperaturas máximas oscilaron entre los 13 y 21°C en promedio y temperaturas mínimas entre 0 y 8 °C.

Sin embargo, diciembre fue de características deficitarias de precipitación, se presentó déficit fuerte de lluvia alcanzando 46.62 mm a comparación con los promedios de hace diez años, se registró 132 mm en el mes. El día 25 se registró la mayor precipitación de fuerte intensidad; sin embargo, el resto de días no se presentaron lluvias considerables. Las temperaturas máximas oscilaron entre los 14 y 19°C en promedio y temperaturas mínimas entre 1 y 7 °C.

De igual manera, enero fue de características deficitarias de precipitación, se presentó déficit fuerte de lluvia en la mayor parte del mes alcanzando un total de 74.50 mm a comparación con los promedios de hace diez años, se registró

176 mm en el mes. Los días con mayor precipitación generalizada se centraron en los días 11, 8 y 31, hubo algunos días con precipitaciones mínimas. Las temperaturas máximas oscilaron entre los 14 y 20°C en promedio y temperaturas mínimas entre 4 y 8 °C.

Febrero fue un mes muy húmedo, es decir con precipitaciones durante todo el mes, se registraron precipitaciones ininterrumpidas por más de 12 días, los que se presentaron a partir del 15 en adelante, entre los días 21 al 23 se intensificaron las precipitaciones. Las temperaturas máximas oscilaron entre los 13 y 18°C en promedio y temperaturas mínimas entre 5 y 8 °C.

Marzo fue un mes de características secas, es decir con precipitaciones de 26.80 mm por debajo de su promedio normal de diez años (131.01), se registraron precipitaciones esporádicas solo entre los días 9, 10 y 13, el resto de días no se registró precipitación. Las temperaturas máximas oscilaron entre los 14 y 20°C en promedio y temperaturas mínimas entre 0 y 7 °C.

Abril fue un mes de características húmedas, es decir con precipitaciones por encima de su promedio normal, se registraron precipitaciones esporádicas solo entre los días 5 y 8, y 16 y 19 de abril, el resto de días no se registró precipitación. Las temperaturas máximas oscilaron entre los 11 y 18°C en promedio y temperaturas mínimas entre -1 y 7 °C.

.

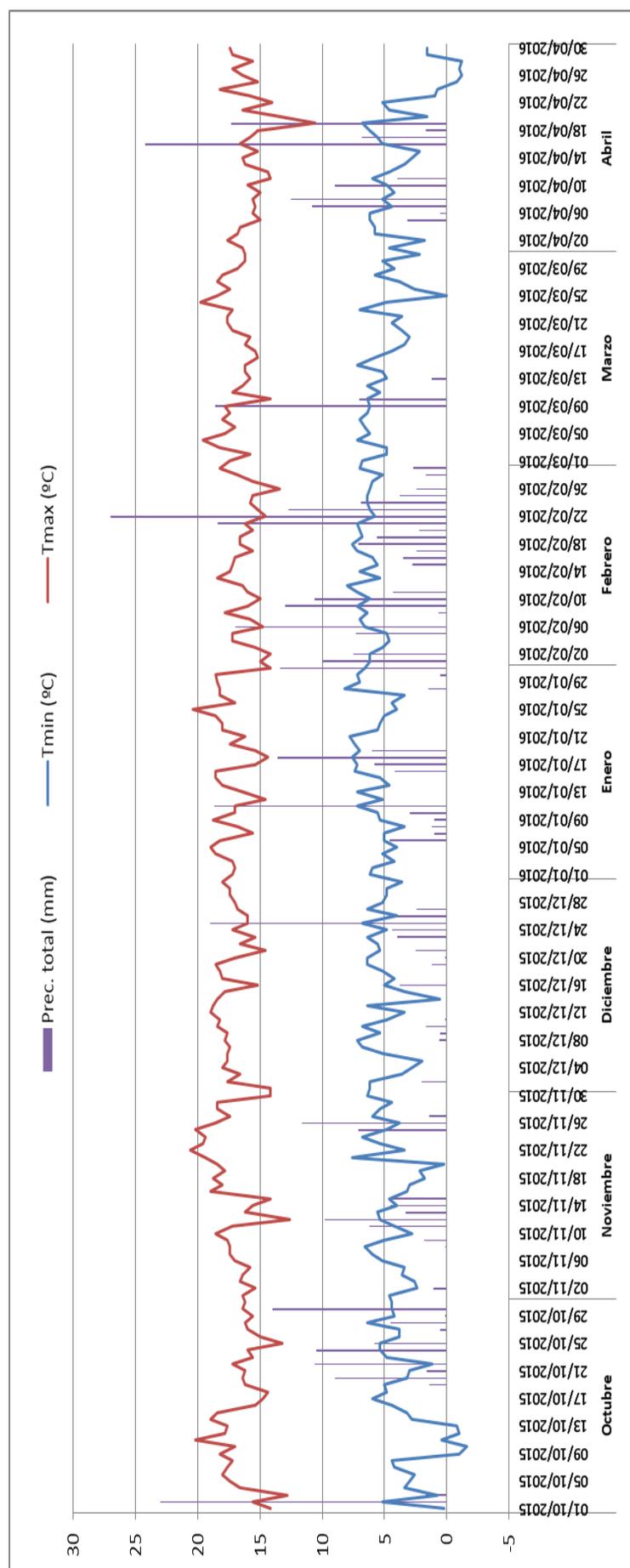


Figura 14. Registro de temperaturas máximas y mínimas, y precipitación total (mm) durante los meses de octubre 2015 a abril 2016 (Fuente: SENAMHI de la estación meteorológica Rincón de la Cruz – Acora).

Tabla 6. Promedios multianuales de precipitación anual (mm/mes) durante los años 2004 -2016 registrado en la estación meteorológica Rincón de la Cruz – Acora

Años	enero	febrero	marzo	abril	mayo	junio	julio	agosto	septiembre	octubre	noviembre	diciembre
2004-2014	176.70	180.63	131.01	59.45	9.95	2.39	6.29	12.50	28.54	61.36	43.64	132.33
2015	148.00	180.00	196.00	133.30	5.00	0.00	2.80	13.90	29.50	82.70	51.30	46.62
2016	74.50	169.60	26.80	90.00								

Fuente: SENAMHI - Estación meteorológica Rincón de la Cruz – Acora, números en negritas: campaña agrícola 2015-2016.

- Diseño y análisis estadístico

El experimento en campo se condujo bajo un diseño de Bloque completamente al azar con tres repeticiones, las unidades experimentales de cada tratamiento fueron distribuidas al azar (Figura 20). Los datos de AUDPC fueron transformados a raíz cuadrada, con dicha transformación se confirió la normalidad y homogeneidad de varianzas como lo recomendado por Montgomery (2008) y en consecuencia estos fueron procesados en un software estadístico *InfoStat, versión 2008* (Di Rienzo *et al.*, 2008), se utilizó la prueba estadística de Fisher a través del análisis de varianza (ANDEVA) para determinar diferencias entre cepas de *Trichoderma* endófito para el AUDPC y variables morfológicas cuantitativas. Del mismo modo, se aplicó la prueba de contraste de Tukey para identificar las diferencias de medias entre las cepas con un nivel de significancia de 0.05%. Para comprobar el nivel de ajuste del modelo lineal utilizado a los datos obtenidos se tomara en cuenta el valor de R^2 cercano a 1. Asimismo, se determinó la relación que existe entre los parámetros evaluados *in vitro* y campo con un análisis de regresión múltiple.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Capacidad endófitica de cepas de *Trichoderma* sp en plantas de *Chenopodium quinoa* Willd.

Los análisis de varianza (ANDEVA) del índice y colonización endofítica de cepas de *Trichoderma* sp en plantas de quinua variedad salcedo INIA que se muestran en las Tablas 15 y 16, indican que los efectos de los factores Métodos de inoculación (M), Fecha de evaluación (F) y Cepas de *Trichoderma* sp (C) son significativos ($p \leq 0,05$). Del mismo modo, las interacciones de segundo orden e interacciones de tercer orden entre los factores mencionados son significativas. Además, el análisis mostró un coeficiente de variación (CV) de 23.82 % y un R^2 de 0.94 para el índice de colonización, y CV de 13.72 % y un R^2 de 0.96 para el porcentaje de colonización, indicando que el diseño experimental utilizado fue el apropiado para el control de las variaciones existentes.

Los efectos de dos métodos de inoculación de cepas de *Trichoderma* sp en el índice y porcentaje de colonización endofítica en plantas de quinua var. Salcedo INIA a los 30 y 60 días de evaluación se observa en la Tabla 7, en

donde el método 2 (infestación del sustrato con cepas de *Trichoderma* sp) presento el mayor índice (1.04) y porcentaje de colonización endofítica (20.76 %) a diferencia del método 1 (semillas peletizadas con cepas de *Trichoderma* sp) que presento el menor índice (0.64) y porcentaje de colonización (12.73 %). Por otro lado, se observa que a los 30 días de evaluación la colonización fue menor en ambos métodos de inoculación, siendo el método 1 con mayor colonización (8.48 %) a diferencia del método 2 (7.27%); sin embargo, a los 60 días fue mayor la colonización, siendo el método 2 con mayor colonización (34.24 %) a diferencia del método 1 (16.97%).

Usando el método 1, a los 30 días después de la siembra, seis de las 10 cepas evaluadas lograron colonizar plántulas de quinua con valores que fluctúan entre 0.5 a 1.17 de índice y de 10.00 a 23.33 de porcentaje de colonización endofítica. Por el contrario, a los 60 días de evaluación todas las cepas colonizaron las plántulas de quinua con valores comprendidos entre 0.5 -1.67 de IC y 10.00 – 33.33 de porcentaje de colonización endofítica, siendo la cepa T2 quien logro el mayor índice y porcentaje de colonización (33.33%) seguido de las cepas T1 y T3, mientras que las cepas T6, T8 y T9 presentaron los menores valores de colonización en plantas de quinua.

A su vez, usando el método 2, a los 30 días después de la siembra seis de las 10 cepas evaluadas lograron colonizar plántulas de quinua con valores comprendidos entre 0.5 -1.00 y 10.00 – 20.00 de índice y porcentaje de colonización endofítica respectivamente.

Tabla 7. Efecto de métodos de inoculación de cepas de *Trichoderma* sp en el índice y porcentaje de colonización endofítica en plantas de quinua var. Salcedo INIA a los 30 y 60 días de evaluación, desarrollado en el laboratorio de Fitopatología de la UNA, 2016.

Cepas de <i>Trichoderma</i> sp.	Método 1						Método 2					
	30 dds		60 dds		30 dds		60 dds		30 dds		60 dds	
	IC	Colonización (%)	IC	Colonización (%)	IC	Colonización (%)	IC	Colonización (%)	IC	Colonización (%)	IC	Colonización (%)
T1	1.17 a	23.33 a	1.5 ab	30 ab	1 a	20 a	2 bcd	40 bcd				
T2	1 ab	20 ab	1.67 a	33.33 a	0.5 b	10 b	2.17 abc	43.33 abc				
T3	0.5 c	10 c	1.33 ab	26.67 ab	0 c	0 c	2.83 ab	56.67 ab				
T4	0 d	0 d	0.67 c	13.33 cd	0.67 ab	13.33 ab	1.67 cde	33.33 cd				
T5	0.83 abc	16.67 abc	1 bc	20 bc	0 c	0 c	1.83 cd	36.67 cd				
T6	0 d	0 d	0.5 cd	10 d	0.5 b	10 b	1.17 de	23.33 de				
T7	0.67 bc	13.33 bc	0.67 c	13.33 cd	0 c	0 c	1.67 cde	33.33 cd				
T8	0 d	0 d	0.5 cd	10 d	0 c	0 c	0.83 ef	16.67 e				
T9	0 d	0 d	0.5 cd	10 d	0.67 ab	13.33 ab	1.67 cde	33.33 cd				
T10	0.5 c	10 c	1 bc	20 bc	0.67 ab	13.33 ab	3 a	60 a				
Testigo	0 d	0 d	0 d	0 e	0 c	0 c	0 f	0 f				
Promedio IC	0.42 c		0.85 b		0.36 c		1.71 a					
Promedio Colonización (%)		8.48 c		16.97 b		7.27 c		34.24 a				
Promedio IC			0.64b				1.04 a					
Promedio Colonización (%)			12.73 b				20.76 a					

Método 1: Peletización de semillas **Método 2:** Infestación del sustrato. IC: Índice de colonización. dds: días después de la siembra. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

En cambio, a los 60 días todas las cepas colonizaron las plantas de quinua con valores comprendidos entre 0.83 -3.0 y 16.67 – 60.00 de índice y porcentaje de colonización endofítica respectivamente. Siendo la cepa T10 quien logro la mayor colonización seguido de T3 y T2, mientras que la cepa T8 presento la menor colonización en plantas de quinua de 60 días de edad.

Además, en la Figura 15, se muestra gráficamente los efectos simples de la interacción métodos – fechas de evaluación – cepas de *Trichoderma* sp, en donde para su análisis se ha separado métodos de inoculación y fechas de evaluación por cada método, observándose interacciones significativas entre cepas y fechas de evaluación, en cada método de evaluación. Donde se puede observar claramente que la colonización de todas las cepas de *Trichoderma* a los 30 días de evaluación fue menor, incrementándose a los 60 días. Este incremento no fue igual, vario según las cepas y métodos de inoculación, siendo el mayor incremento en el método 2 con valores comprendidos entre 20 -56.67% de incremento de colonización a diferencia del método 1 con valores entre 0-16.67% (Figura 16).

Asimismo en la figura 16, se observa que en método 1 los mayores incrementos de porcentaje de colonización se dio en con las cepas T3 (16.67%), T2 (13.33%) y T4 (13.33%) en comparación de las cepas T1 (6.67%) y T5 (3.33%) que presentaron un ligero incremento; sin embargo con la cepa T7 no hubo incremento colonización de *Trichoderma* en los tejidos. Para el método 2, todas las cepas incrementaron la colonización a los 60 días, siendo las cepas T3 (56.67%), T10 (46.67%) y T5 (36.67%) los que incrementaron en mayor porcentaje la colonización.

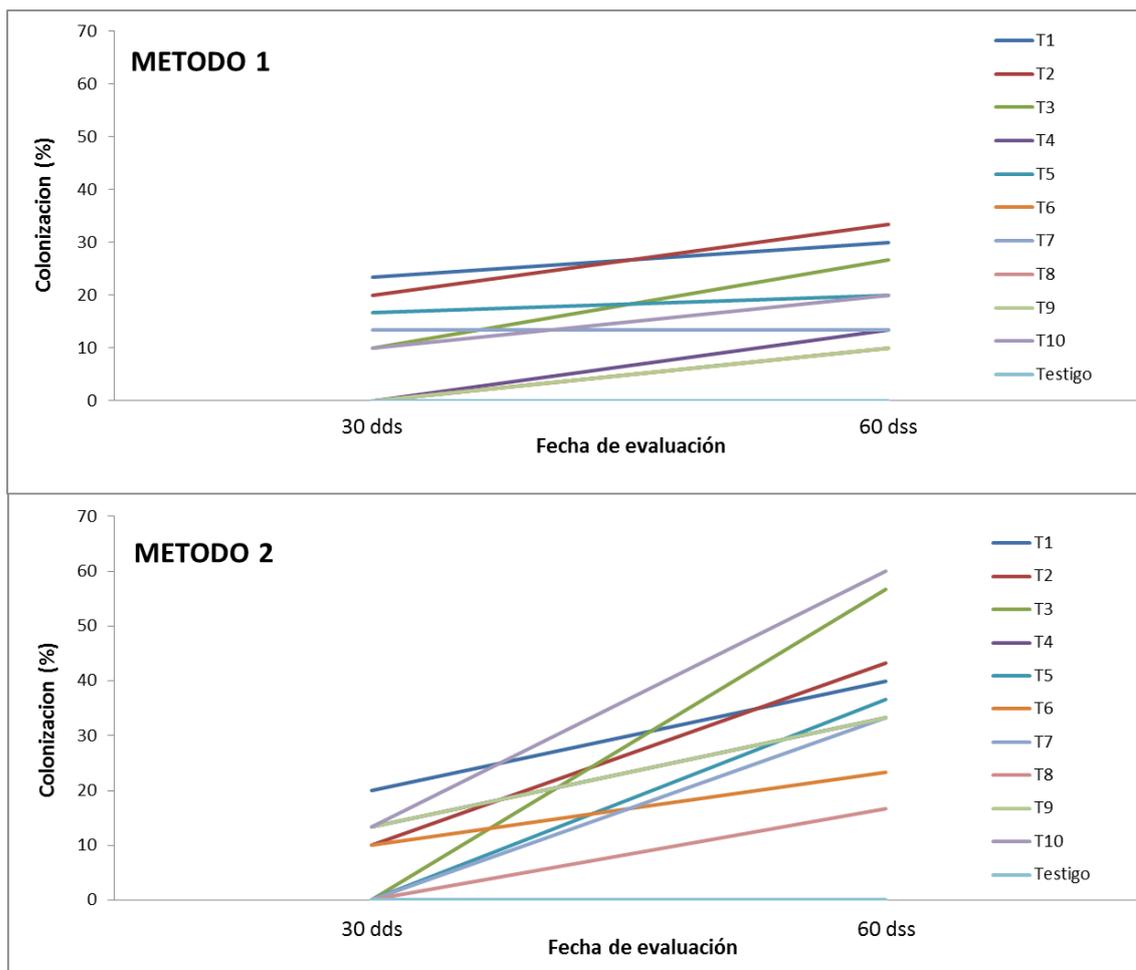


Figura 15. Porcentaje de colonización de cepas de *Trichoderma* sp en dos métodos de inoculación y fechas de evaluación, realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. Método 1: Peletización de semillas Método 2: Infestación del sustrato.

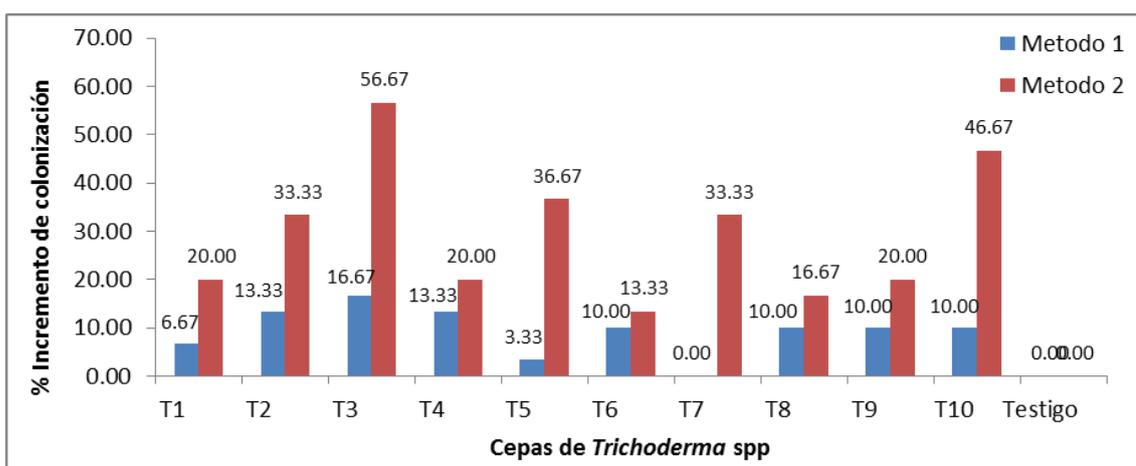


Figura 16. Porcentaje de incremento de colonización de cepas de *Trichoderma* sp en plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) a los 60 días de evaluación en dos métodos de inoculación, realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. Método 1: Peletización de semillas Método 2: Infestación del sustrato.

Considerando que el mayor índice de colonización de cepas de *Trichoderma* sp es 5, significa que 30 de 30 segmentos de tejidos pertenecientes a 5 tejidos (6 de raíz principal media (RPM) ,6 de punta de raíz (PR) , 6 de hipocotilo (HP), 6 de epicotilo (EP) y 6 de hojas(H)) fueron colonizados por cada una de las cepas utilizadas. En este estudio se llegó a un IC de 3 con 60 % de colonización en la cepa T10 a los 60 días de evaluación con el Método 2.

La mayor colonización de cepas de *Trichoderma* sp en los segmentos de tejidos se dio en plantas de 60 días de edad en ambos métodos de inoculación. Con respecto al método 1, el tejido RPM fue el mayor colonizado por las cepas de *Trichoderma* sp con 33.33 % de colonización seguido por los tejidos HP (24.24 %) y PR (12.12%) a diferencia de los tejidos de H (6.06 %) y Ep (9.09 %) se observó menor colonización; mientras que, en el método 2 se observa que todos los segmentos fueron colonizados en mayor porcentaje, siendo Hp con la mayor colonización de 45.45%, seguido de RPM y Ep con 33.33 % , PR con 31.82 % y H con 27.27% a los 60 días de evaluación. (Tabla 8 y Figura 17).

Del mismo modo, se puede apreciar en la Tabla 8 el porcentaje de colonización endofítica de cepas de *Trichoderma* sp en tejidos de plantas de quinua varía según las fechas de evaluación, los métodos de inoculación y tipos de tejidos. A los 60 días de evaluación, nueve cepas de *Trichoderma* lograron la mayor colonización ($\geq 50\%$) en los tejidos de plantas de quinua que fueron inoculadas con el método 2 a diferencia del método 1, en donde tres cepas lograron la mayor colonización. Sin embargo, a los 30 días de evaluación en el método 1 dos cepas lograron la mayor colonización a diferencia del método 2 ninguna cepa consiguieron mayor del 50 % de colonización.

Tabla 8. Porcentaje de colonización endofítica de cepas de *Trichoderma* sp en cinco tejidos de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA según dos métodos de inoculación a los 30 y 60 días de evaluación, realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015.

Días de evaluación	CEPAS DE <i>Trichoderma</i>	METODO 1										METODO 2										
		PR	RPM	Hp	Ep	H	Promedio	PR	RPM	Hp	Ep	H	Promedio	PR	RPM	Hp	Ep	H	Promedio			
30	T1	83.33	33.33	0.00	0.00	0.00	23.33	a	33.33	50.00	0.00	16.67	0.00	20.00	a	33.33	50.00	0.00	16.67	0.00	20.00	a
	T2	16.67	33.33	33.33	16.67	0.00	20.00	ab	16.67	33.33	0.00	0.00	0.00	10.00	b	16.67	33.33	0.00	0.00	0.00	10.00	b
	T3	16.67	16.67	16.67	0.00	0.00	10.00	c	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	c	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	c
	T4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	d	16.67	33.33	16.67	0.00	0.00	13.33	ab	16.67	33.33	16.67	0.00	0.00	13.33	ab
	T5	0.00	83.33	0.00	0.00	0.00	16.67	abc	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	c	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	c
	T6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	d	16.67	33.33	0.00	0.00	0.00	0.00	b	16.67	33.33	0.00	0.00	0.00	10.00	b
	T7	0.00	50.00	16.67	0.00	0.00	13.33	bc	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	c	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	c
	T8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	d	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	c	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	c
	T9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	d	0.00	50.00	16.67	0.00	0.00	0.00	ab	0.00	50.00	16.67	0.00	0.00	13.33	ab
	T10	16.67	16.67	0.00	0.00	0.00	6.67	c	33.33	16.67	16.67	0.00	0.00	13.33	ab	33.33	16.67	16.67	0.00	0.00	13.33	ab
	Testigo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	d	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	c	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	c
Promedio	12.12	21.21	6.06	1.52	0.00	8.18		10.61	19.70	4.55	1.52	0.00	7.27		10.61	19.70	4.55	1.52	0.00	7.27		
60	T1	16.67	66.67	33.33	33.33	0.00	30.00	ab	16.67	33.33	83.33	50.00	16.67	40.00	bcd	16.67	33.33	83.33	50.00	16.67	40.00	bcd
	T2	16.67	100.00	0.00	16.67	33.33	33.33	a	16.67	16.67	83.33	83.33	16.67	43.33	abc	16.67	16.67	83.33	83.33	16.67	43.33	abc
	T3	33.33	0.00	66.67	16.67	16.67	26.67	ab	33.33	66.67	66.67	66.67	50.00	56.67	ab	33.33	66.67	66.67	66.67	50.00	56.67	ab
	T4	0.00	33.33	16.67	0.00	16.67	13.33	cd	0.00	16.67	33.33	50.00	66.67	33.33	cd	0.00	16.67	33.33	50.00	66.67	33.33	cd
	T5	0.00	33.33	50.00	16.67	0.00	20.00	bc	33.33	66.67	66.67	0.00	16.67	36.67	cd	33.33	66.67	66.67	0.00	16.67	36.67	cd
	T6	16.67	33.33	0.00	0.00	0.00	10.00	d	33.33	33.33	50.00	0.00	0.00	23.33	de	33.33	50.00	0.00	0.00	0.00	23.33	de
	T7	16.67	16.67	16.67	16.67	0.00	13.33	cd	16.67	0.00	33.33	50.00	66.67	33.33	cd	16.67	0.00	33.33	50.00	66.67	33.33	cd
	T8	0.00	50.00	0.00	0.00	0.00	10.00	d	66.67	0.00	0.00	0.00	16.67	16.67	e	66.67	0.00	0.00	0.00	16.67	16.67	e
	T9	0.00	16.67	33.33	0.00	0.00	10.00	d	100.00	50.00	16.67	0.00	0.00	33.33	cd	100.00	50.00	16.67	0.00	0.00	33.33	cd
	T10	33.33	16.67	50.00	0.00	0.00	20.00	bc	33.33	83.33	66.67	66.67	50.00	60.00	a	33.33	83.33	66.67	66.67	50.00	60.00	a
	Testigo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	e	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	f	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	f
Promedio	12.12	33.33	24.24	9.09	6.06	16.97		31.82	33.33	45.45	33.33	27.27	34.24		31.82	33.33	45.45	33.33	27.27	34.24		

Datos promedio de porcentaje de colonización. Método 1: Peletización de semillas Método 2: Infestación del sustrato PR: Punta de la raíz. RPM: Raíz principal media. Hp: Hipocotilo. Ep: Epicotilo. H: Hojas. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

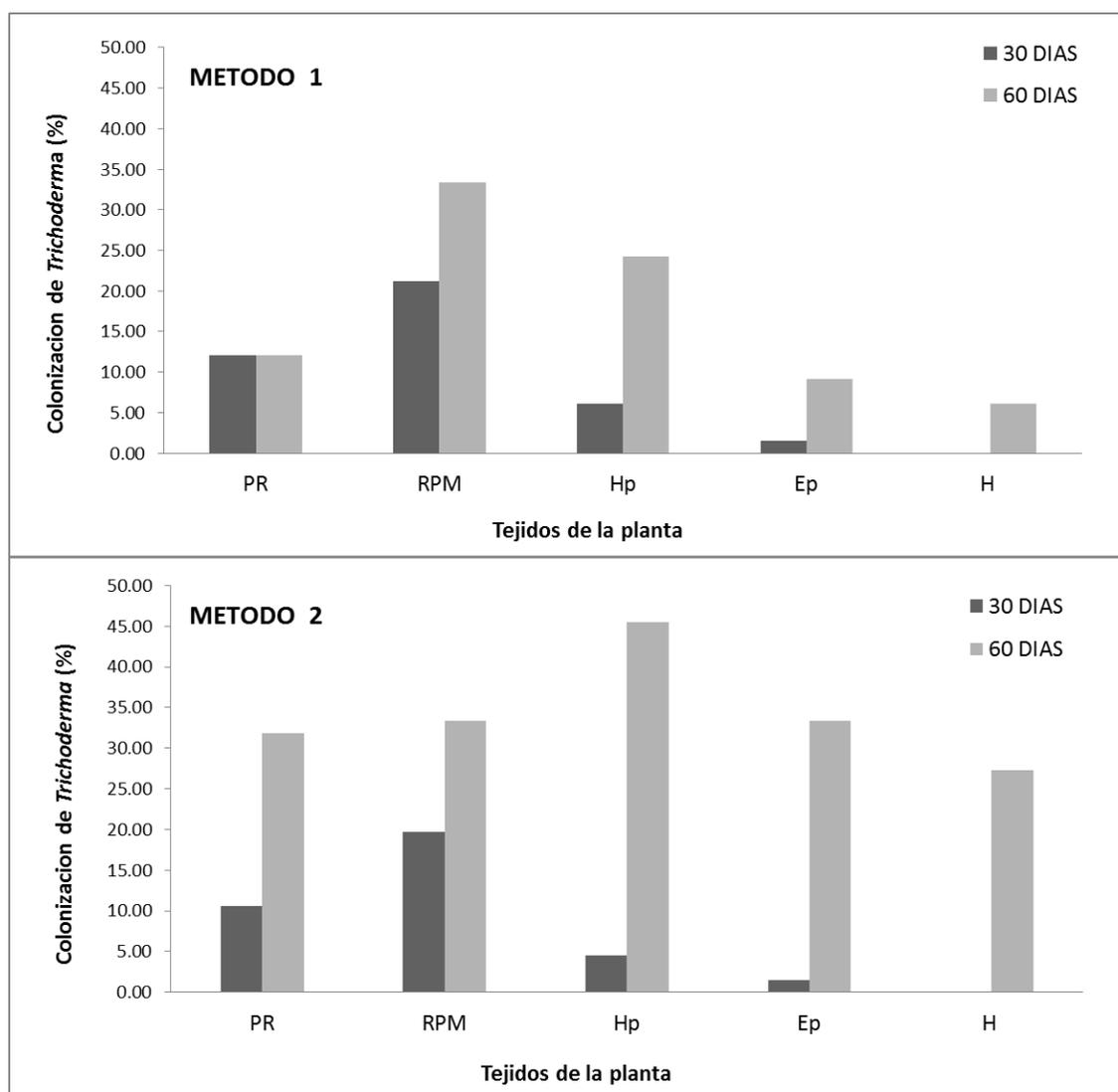


Figura 17. Porcentaje de colonización endofítica de cepas de *Trichoderma* sp en segmentos de cinco tejidos de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA a los 30 y 60 días de evaluación, realizado en laboratorio de fitopatología de la UNA, 2015. Método 1: Peletización de semillas Método 2: Infestación del sustrato. PR: Punta de la raíz. RPM: Raíz principal media. Hp: Hipocotilo. Ep: Epicotilo. H: Hojas.

Además en la Tabla 8, se observa que las cepas T1, T2, T3 Y T10 fueron los que colonizaron todos los tejidos de la planta y a su vez presentaron la mayor colonización de toda la planta mediante el método 2 a los 60 días de evaluación a comparación con el método 1 ninguna cepa logro la colonización en todos los tejidos en ambas fecha de evaluación. Esta mayor colonización de las cepas mencionadas se debió por la alta colonización que se registró en

los tejidos de RPM y HP en ambos métodos de inoculación. Asimismo, estas cepas fueron los mejores colonizadores en ambos métodos de inoculación a los 60 días de evaluación, estos resultados concuerda con Bailey *et al.* (2008), donde encontraron de 10 cepas de hongos endófitos, cuatro cepas DIS 110a (*T. harzianum*), DIS 219b (*T. hamatum*), DIS 219f (*T. harzianum*) y TA (*T. asperellum*) fueron los que colonizaron mayor de 50 % los tejidos de cacao en todos los métodos de inoculación.

De acuerdo a los resultados, todas las cepas de *Trichoderma* fueron reaisladas de segmentos de tejidos pantas de quinua, lo cual indica que son hongos endófitos de quinua, debido a lo mencionado por Carroll (1988) que estos microorganismos viven en asociación con las plantas dentro de sus tejidos en los espacios intercelulares e intracelulares, absorbiendo nutrientes de ella en forma asintomática. De manera semejante, Stone *et al.* (2000) mencionan que los hongos endófitos viven en los espacios intercelulares y dentro de la célula del huésped planta sin causar daño aparente. Igualmente, concuerda con lo reportado por Arnold *et al.* (2003), mencionan que las plantas colonizadas por *Trichoderma* sp crecieron asintomáticamente. Como tal, las cepas de *Trichoderma* sp han mostrado interés en el campo de la fitopatología y se consideran como agentes de control biológico que tienen ventajas específicas sobre los fungicidas sintéticos, incluyendo menos efectos ambientales, eficacia contra patógenos resistentes a fungicidas y menor probabilidad de desarrollo de resistencia (Gao *et al.* , 2010; Toghueo *et al.* , 2016).

De igual modo, en otros estudios se aislaron hongos endófitos de plántulas de *Theobroma gileri* previamente inoculadas, corroborado así la capacidad endofítica (Evans *et al.* , 2003) . Lo mismo sucedió en plántulas de cacao que

fueron inoculadas con especies de *Trichoderma* sp endófito y todos las cepas fueron capaces de colonizar partes aéreas de la plántulas (Arévalo *et al.* , 2010; Bailey *et al.* , 2008; Bailey *et al.* , 2006)

En ambos métodos se observa que el índice y porcentaje de colonización fue menor a los 30 días de evaluación incrementándose a los 60 días de evaluación. Estos resultados estuvieron de acuerdo con los hallazgos de Arnold *et al.* (2003), donde indican que partes viejas de la planta puede albergar más endófitos que los más jóvenes, la edad de la planta y el tiempo de exposición del incremento del inóculo tienen un efecto sobre la diversidad y número de endófitos en sus tejidos. Además la incidencia de hongos endófitos se incrementa a medida que las hojas o las semillas crecen (Gallery *et al.*, 2007).

Además, Bailey *et al.* (2008) señalan que un índice de colonización mayor a cero indica que la cepa estuvo viviendo dentro del tejido de la planta y es un endófito, lo cual indicaría que todas cepas estudiadas son endófitos de quinua, estos índices se logró con el método 2. Estas cepas de *Trichoderma* sp estudiadas lograron colonizar diferentes partes de la planta ya que fueron recuperadas de diferentes fragmentos de la misma planta, lo cual indica que infectaron sistémicamente los espacios intercelulares de las raíces, tallos y hojas de la quinua, considerándose así endófitos sistémicos, como lo mencionan Stone *et al.* (2000).

En otros estudios, varias especies de endófitos fueron recuperados de diferentes fragmentos de la planta (raíces, hojas o ramas), mientras que otros pueden infectar a varias de estas secciones (Bacon y Hinton, 1996; Bailey *et al.* , 2006; Carroll, 1988; De Souza *et al.* , 2008), lo que sucedió con las cepas

estudiadas que colonizaron diferentes tejidos de plantas de quinua a los 30 y 60 días de evaluación.

Con respecto a los bajos de valores de índice y porcentaje de colonización de las cepas de *Trichoderma* que se dio en este estudio, probablemente se deba al clima frío que se presenta en la Región Puno con la media anual de temperatura máxima y mínima de 14.4°C y 2.7°C respectivamente; mientras que sucede lo contrario en climas cálidos, la colonización de hongos endófitos es alta (Arévalo *et al.*, 2010). En un contexto geoclimático, Arnold and Lutzoni (2007), señalan que grupos de endófitos parecen ser más ricos en los países tropicales que en zonas templadas o frías del mundo. Además, la procedencia de las cepas estudiadas son de diferentes lugares, distintos al lugar de estudio, que podría haber sido otra de las causas de la baja colonización en quinua, lo cual concuerda con reportado por Collado *et al.* (1999), mencionan que los taxones aislados de la misma especie hospedadora tienden a cambiar de un lugar a otro.

Del mismo modo, los métodos de inoculación empleados en el presente estudio pueden influenciar la colonización de las cepas de *Trichoderma*, lo cual concuerda con lo reportado por Bailey *et al.* (2008), donde muestran que la colonización de hongos endófitos en plántulas de cacao puede ser influenciado por los métodos de inoculación, siendo el comportamiento de algunos hongos diferente en cada método; a su vez, mencionan que la colonización de cacao por cepas de *Trichoderma* depende del tiempo y la oportunidad.

4.2 Capacidad de biocontrol de cepas de *Trichoderma* sp. endofitos hacia *Peronospora variabilis* patógeno de *Chenopodium quinoa* Willd.

4.2.1 Medición de la enfermedad (Severidad y AUDPC)

El análisis de varianza (ANDEVA) del Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) del mildiu de la quinua (*Peronospora variabilis* Gäum.) tratadas con 10 cepas de *Trichoderma* sp (Tabla 17), mostró una alta significancia al 5 % de probabilidad ($Pr < 0.05$) para tratamientos (cepas) con un C.V. de 9.77% y un R^2 de 0.73, indicando que los resultados obtenidos en el experimento son confiables y el diseño experimental utilizado fue el apropiado para el control de las variaciones existentes.

La comparación de medias mediante la prueba de contraste Tukey al 5% de probabilidad, mostró diferencias significativas entre los tratamientos. Los valores de AUDPC fueron significativamente menores en los todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* sp que el testigo (T11), siendo el más afectado con el valor más alto de AUDPC (1670.5). Asimismo, los tratamientos con aplicaciones de *Trichoderma* sp T6 y T8 fueron los que presentaron los valores altos de AUDPC con 1198.7 y 1168.9 respectivamente; sin embargo, el tratamiento menos afectado fue el T1 seguido de los tratamientos T3 y T2 con valores menores de AUDPC de 615.7, 706.8 y 759 respectivamente (Tabla 9 y Figura 18).

Tabla 9. Porcentaje de severidad (%) y área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp. en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.

Tratamientos	Severidad (%)				AUDPC
	100 dds	115 dds	130 dds	140 dds	
T1	3.13	9.73	13.30	15.87	615.70 d
T2	2.11	10.12	19.78	20.68	759.04 cd
T3	3.49	10.07	16.71	18.24	706.76 d
T4	4.83	16.23	21.51	28.84	1021.34 bcd
T5	6.78	13.08	20.50	26.39	943.63 bcd
T6	10.68	20.44	23.41	20.60	1198.72 b
T7	8.97	14.37	19.69	25.18	984.68 bcd
T8	9.97	12.52	29.76	29.04	1168.87 bc
T9	5.88	17.87	18.86	31.47	1039.36 bcd
T10	3.06	13.97	18.01	21.30	833.41 bcd
T11	15.06	25.70	37.00	25.04	1670.53 a

dds: días después de la siembra.

AUDPC: Área bajo la curva del progreso de la enfermedad

Severidad: Porcentaje del área de la hoja infectada (%)

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

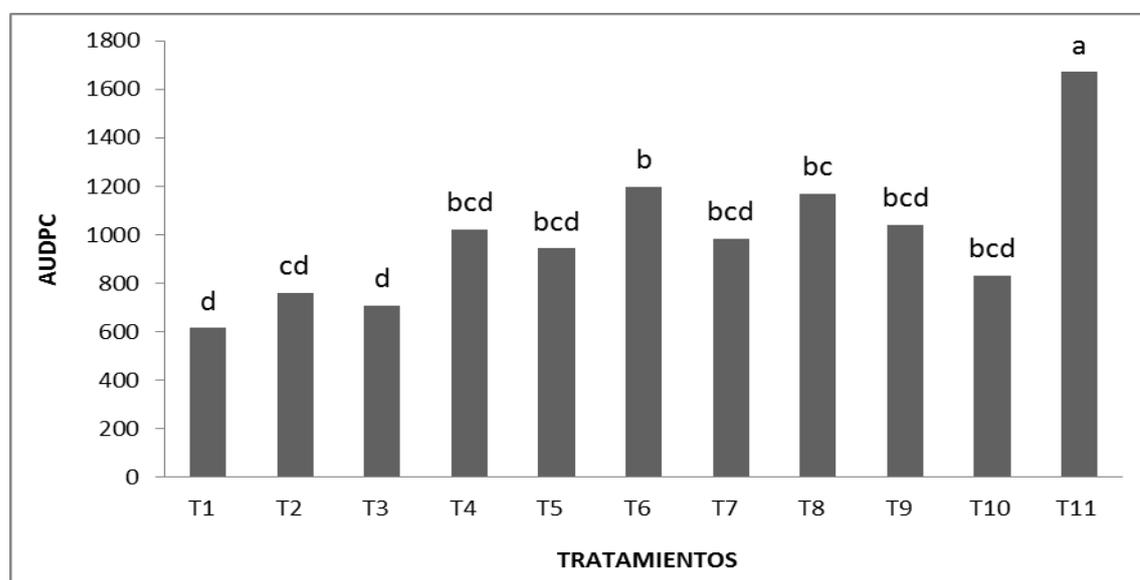


Figura 18. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp. en el CIP Camacani de la UNA durante la campaña agrícola 2015-2016. Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

También, los valores de severidad del mildiu de la quinua de todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* fueron inferiores al testigo hasta los 130 días después de la siembra (tercera evaluación), mientras que en la última evaluación hubo tratamientos que superaron al testigo (Figura 19).

La primera evaluación se realizó a los 100 días después de la siembra (dds) debido a que el periodo de infección de *P. varibillis* inicio tarde aproximadamente a los 90 dds, en donde se observó los primeros síntomas de la enfermedad con valores de severidad desde 2.11% hasta 15.06 % (testigo). Dentro de los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* sp, el tratamiento T2 presento el valor más bajo de severidad (2.11%) en comparación al tratamiento T6 que presento 10.68% de severidad.

En la segunda evaluación (117 dds) el porcentaje de severidad incremento en todos los tratamientos con valores desde 9.73% a 25.70% (Testigo), siendo el tratamiento T1 quien presento el valor más bajo de severidad (9.73%) en comparación al tratamiento T6 (20.44%) que presento el valor más alto de los tratamientos que recibieron el control.

En la tercera evaluación (133 dds) se observó un mayor incremento de severidad para todos los tratamientos con valores de severidad desde 13.30 % hasta 37.00 % (testigo). De los tratamiento que recibieron el control, T1 presento el valor más bajo (13.30%) en comparación al tratamiento que T8 (29.76%) con el valor más alto de severidad.

.

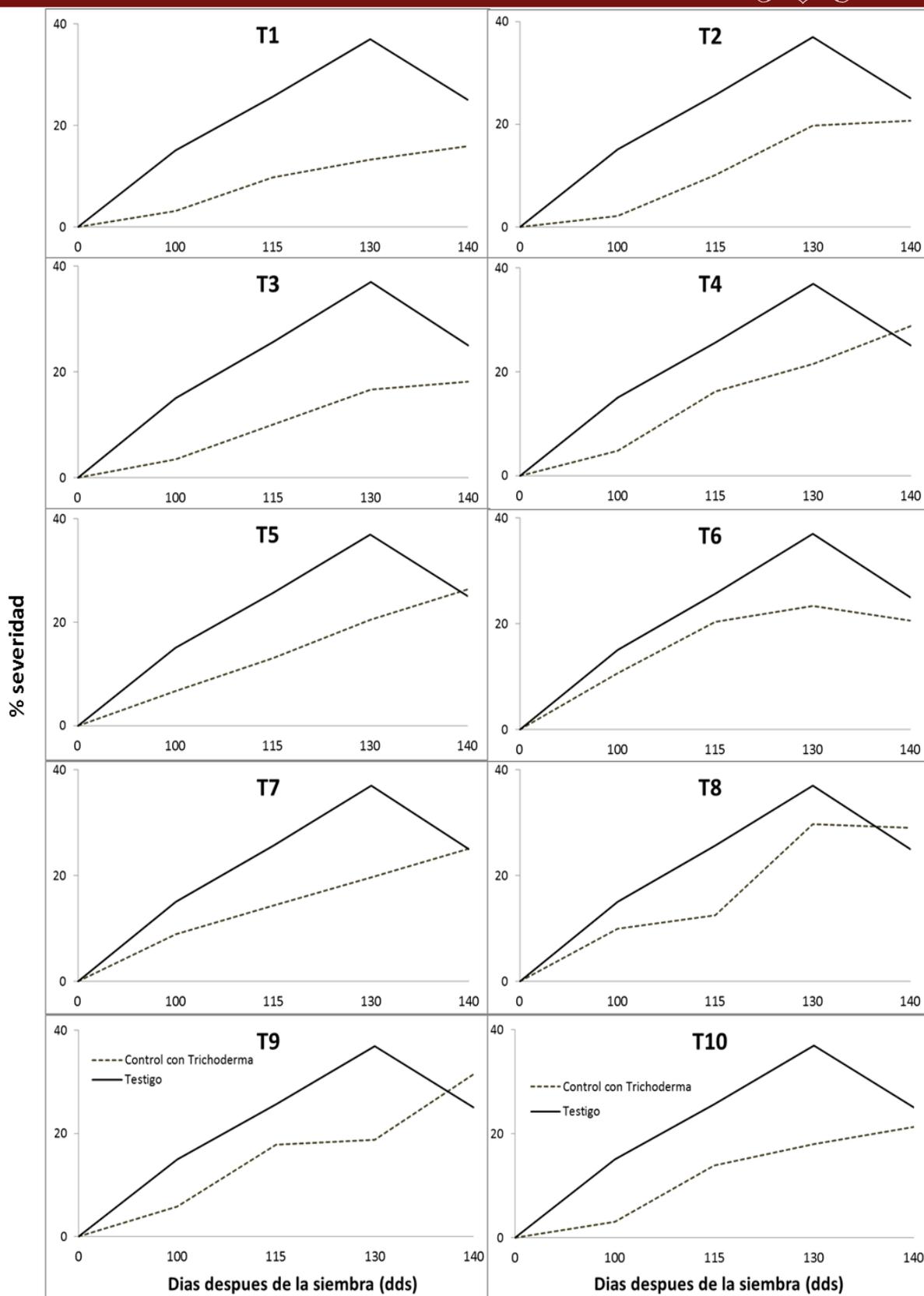


Figura 19. Curvas del progreso de la enfermedad del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con 10 cepas de *Trichoderma* sp. en el CIP Camacani de la UNA durante la campaña agrícola 2015-2016.

En la última evaluación, a los 144 dds, en ocho tratamientos siguió incrementando la severidad, por el contrario en los tratamientos T11 (testigo), T6 y T8 que redujeron los valores de severidad. Se infiere que las plantas más afectadas por la enfermedad, el patógeno ocasionó defoliación y es posible que estas hojas no fueron seleccionadas para la evaluación que probablemente presentarían 100 % de severidad y de modo que presentaron bajos valores de severidad. Igualmente, en todos los tratamientos hubo un ligero incremento de severidad por que las condiciones medioambientales no eran favorables para el desarrollo de la enfermedad en el mes de marzo, debido a que fue un mes de características secas, es decir con precipitaciones de 26.80 mm por debajo de su promedio normal de diez años (131.01mm).

Estas características deficitarias de precipitación en el mes de marzo no fueron favorables para el desarrollo de la enfermedad debido a que las esporas se deshidratan y la esporulación desaparece (Saravia *et al.*, 2014); puesto que, Kumar *et al.* (2006) mencionan que los factores determinantes para que el crecimiento del patógeno y desarrollo de la enfermedad son temperaturas frescas (23 °C) y humedad relativa (mayor 90 %) lo cual no se presentó en el mes de marzo e hizo que la severidad sea menor y en algunos tratamientos que recibieron el control se detuvo la enfermedad con ligeros incrementos. Por el contrario, los incrementos de severidad desde la primera evaluación hasta la tercera evaluación, se registró en el mes de febrero e inicios del mes de marzo, se debió a que las condiciones ambientales fueron favorables para el desarrollo de la enfermedad, en donde se registró precipitaciones durante todo el mes e hizo que la enfermedad se disemine y se desarrolle el patógeno.

Los tratamientos que fueron aplicados con las cepas T1, T2 y T3, resultaron ser los menos afectados con la enfermedad, presentaron un lento aumento y posterior disminución de la severidad en el tiempo, puede deberse a la expansión más rápida de las hojas que al desarrollo de síntomas (Danielsen *et al.* , 2004). Además, se observó en estos tratamientos plantas bien desarrolladas con buen follaje, probablemente las cepas de *Trichoderma* actuaron como promotores de crecimiento (Infante *et al.* , 2009; Martínez *et al.* , 2013). Igualmente estos resultados concuerdan con Plata *et al.* (2013), quienes reportaron dos grupos de *Trichoderma*, un grupo de cuatro cepas de *Trichoderma* inhibieron el desarrollo del mildiu y promovieron el desarrollo de las plantas de quinua, y un segundo grupo solo controlaron la enfermedad en mayor proporción.

Desde el punto de vista del control biológico, se demostró que todas las cepas de *Trichoderma* sp aisladas de quinua resultaron ser endófitos, capaces de reducir la severidad del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.). No existen reportes sobre el control del mildiu en quinua con el uso de hongos endófitos; sin embargo existen estudios para el control de otros patógenos de importancia en la agricultura, siendo el estudio más impactante en especies tropicales, en *Theobroma cacao* L., la inoculación con endofitos redujo significativamente la necrosis foliar y la mortalidad causada por *Phytophthora palmivora* (Arnold *et al.* , 2003). Igualmente, se encontraron hongos endófitos mostrando antagonismo *In vitro* mediante pruebas de antibiosis y micoparasitismo contra *Moniliophthora roreri* (moniliasis), *Phytophthora palmivora* (pudrición parda) y *Moniliophthora perniciosa* (escoba de bruja), inhibieron significativamente el crecimiento micelial de los patógenos (Leon *et al.* , 2010; Mejía *et al.* , 2008).

Estudios similares han demostrado que especies de *Trichoderma* spp endófitos eran capaces de reducir significativamente la severidad y la incidencia de la pudrición de raíz del frijol (*F. solani*) (Toghueo *et al.* , 2016). Larran *et al.* (2016) reportaron que la mayoría de los endófitos probados redujeron significativamente en comparación con el control a los 11 a 15 días después de la inoculación.

Por lo tanto, la reducción de la severidad podría atribuirse a un efecto directo del endófito sobre la propagación de *Peronospora variabilis* Gäum. y varios mecanismos podrían ser responsable de esa reducción. Se ha reportado de que los agentes de control biológico pueden producir sustancias que atacan directamente a los patógenos o que inducen la resistencia sistémica, lo que a su vez reduce la incidencia de patógenos en el huésped de la planta (Gao *et al.* , 2010).

El efecto directo de las cepas de *Trichoderma* spp sobre el patógeno se debió a las aplicaciones foliares que se realizaron a razón de 1×10^7 ufc. ml⁻¹ que fue adecuada sobre el control de la enfermedad reduciendo la severidad. Es posible que estas cepas proliferaron y supervivieron en las plantas durante un período prolongado después de la aplicación, principalmente en tejidos que suelen ser propensos a infección por el patógeno objetivo, lo cual concuerda con los hallazgos de otros investigadores que aplicaron la cepa endófito *Trichoderma martiale* ALF 247 para el control de *Phytophthora palmivora* en concentraciones que oscilaban entre 1×10^4 y 5×10^7 conidios por mililitro, la severidad de la enfermedad disminuyó proporcionalmente y han demostrado que la cepa es un endofito que coloniza toda la planta después de la aplicación (Hanada *et al.* , 2009).

Igualmente las aplicaciones que se realizaron en cuatro momentos críticos del desarrollo fenológico del cultivo (durante la ramificación, panojamiento, floración y grano lechoso) fue ideal para mantener las poblaciones de *Trichoderma* sp sobre la superficie de la planta, colonice y ejerza sus mecanismos de acción sobre el patógeno. Es probable que estos endófitos parasitaron las hifas del patógeno por diversos medios como enrollamiento, penetración a las hifas de los agentes patógenos y secretaron enzimas para descomponer la pared celular del patógeno conforme a lo reportado por Harman (2006). Así por ejemplo, *Trichoderma* sp son capaces de parasitar las hifas del patógeno de las plantas *Rhizoctonia solani* y muchas de estas observaciones están relacionadas con control biológico (Grosch *et al.* , 2006). De manera semejante, Macagnan *et al.* (2008) señalan que cuando los endófitos colonizan la superficie de la planta, ellos producen enzimas para hidrolizar paredes celulares de la planta. Como resultado, estas enzimas también tienen la función de suprimir directamente las actividades del patógeno de la planta y tienen la capacidad de degradar las paredes de la célula de los hongos y Oomycetes.

A su vez, las aplicaciones que se realizaron a nivel de semilla tuvo un efecto positivo en el control del inóculo primario de *Peronospora variabilis* Gäum., debido a que en la superficie de las semillas se encuentran las oosporas, estructuras de reproducción sexual, que es fuente de inóculo para dar inicio a la enfermedad (Danielsen y Ames, 2000; Danielsen *et al.* , 2003; Danielsen *et al.* , 2004) y al peletizar las semillas con las cepas de *Trichoderma* sp es probable que estos endófitos tuvieron efecto directo sobre el patógeno utilizando uno o varios mecanismos de acción para reducir las poblaciones de

oosporas y se pueden observar plantas sanas hasta los 90 días después de la siembra a diferencia del control en donde no se aplicó estos hongos en la superficie de las semillas. Ya que, existen reportes en donde indican los efectos beneficiosos que tienen algunas especies de *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma pseudokoningii*, en la reducción de la incidencia de patógenos fúngicos transmitidos por semillas (Mukhtar, 2008). Además, otros estudios han confirmado la mejora de la germinación de las semillas, así como el aumento de la frecuencia de plantas sanas y el aumento del rendimiento con aplicaciones de *T. harzianum* y *T. viride* (Toghueo *et al.*, 2016)

Por consiguiente, las estrategias utilizadas por los hongos endófitos, agentes de biocontrol son a menudo los resultados de interacciones directas o indirectas con el patógeno. Siendo, el micoparasitismo, la secreción de metabolitos secundarios tóxicos, la competencia por los nutrientes y el espacio interacciones directas. Por otro lado, la resistencia inducida en las plantas huésped y la promoción del crecimiento de la planta son interacciones indirectas (Gao *et al.*, 2010). Es así que, para controlar a *Peronospora variabilis* Gäum., las cepas de *Trichoderma* sp pueden usar una o varias de estas estrategias. Considerando que algunas especies de estos hongos, inducen mecanismos de defensa en plantas infectadas por estos endófitos, y cuando son atacadas las plantas por sus patógenos hay una respuesta de defensa con muerte celular localizada (Dingle y Mcgee, 2003; Waller *et al.*, 2005).

La eficacia de *Trichoderma* sp como agente de control biológico depende de los patógenos a los que se enfrentan. Pero en términos generales, puede

considerarse un buen candidato para ser utilizado como agente de control biológico debido a su alta capacidad y velocidad de reproducción; son capaces de sobrevivir cuando las condiciones ambientales no son favorables, pueden modificar la rizosfera, presentan la capacidad de transportar rápidamente la glucosa lo que les da una ventaja en la competencia de nutrientes y pueden promover el crecimiento de las plantas y mejorar mecanismos de defensa (Benítez *et al.* , 2010).

Los resultados obtenidos en este estudio son muy prometedores, sugieren la incorporación de cepas de *Trichoderma* sp endófitos dentro del Manejo integrado de enfermedades y la producción de quinua podría beneficiarse enormemente. Además, apoyan al potencial que tienen estas cepas, considerados endofitos de plantas y agentes de control biológico (ACB), son ampliamente utilizados en la agricultura como biofungicidas, tienen la habilidad de proteger al hospedante de las enfermedades y estrés abiótico, tienen ventajas específicas sobre los fungicidas sintéticos, incluyendo menos efectos ambientales, eficacia contra patógenos resistentes a fungicidas y menor probabilidad de desarrollo de resistencia (Arnold *et al.* , 2003; Bae *et al.* , 2009; Bailey *et al.* , 2008; Chaves *et al.* , 2016; Chen *et al.* , 2016; Hanada *et al.* , 2009; Mejía *et al.* , 2008; Mukherjee *et al.* , 2012; Plata y Callizaya, 2013; Reyes, 2012; Rinu *et al.*, 2014; Toghueo *et al.* , 2016).

4.2.2 Características morfológicas de plantas de quinua tratadas con cepas de *Trichoderma* sp.

Los análisis de varianza (ANDEVA) para las características morfológicas altura de planta (AP), longitud de panoja (AP), diámetro de panoja (DPN), peso seco de biomasa (PSB), peso de semilla (PSEM) y rendimiento (RDT) de plantas de

quinua var. salcedo INIA tratadas con 10 cepas de *Trichoderma* sp, mostraron significancia al 5% de probabilidad ($Pr < 0.05$) para los tratamientos. Además, los análisis mostraron coeficiente de variación (CV) relativamente bajos de 9.06% (APL), 10.05 % (APN), 14.04% (DPN), 28.40 % (PSB), 12.67% (PSEM) y 13.51% (RDT); y valores de R^2 de 0.72 (APL), 0.88 (LPN), 0.75 (DPN), 0.68 (PSB), 0.91 (PSEM) y 0.89 (RDT). Estos valores indican que los resultados de los parámetros evaluados son confiables y el diseño experimental utilizado fue apropiado para controlar la variación existente y además los valores de R^2 indican que el ajuste del modelo lineal usado es bueno. (Tablas 18, 19, 20, 21, 22 y 23).

La comparación de medias mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad, mostró diferencias significativas entre los tratamientos en todas las características morfológicas estudiadas (Tabla 10). Los valores de altura de planta, fueron significativamente mayores en los todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* sp con valores comprendidos entre 78.89 cm a 104.25 cm, a diferencia del testigo (T11) que presento el valor más bajo con 71.55 cm, siendo los tratamientos T1, T2 y T3 los que tuvieron mayor efecto en el crecimiento de la planta con valores de 99.01 cm, 101.52 cm y 104.25 cm.

En cuanto a los valores de altura de panoja, fueron significativamente mayores en los todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* sp con valores comprendidos entre 22.70 cm a 37.55 cm a diferencia del testigo (T11) que presento el valor más bajo con 21.48 cm. Mientras que el tratamiento T7 el que tuvo mayor efecto en la APN con 37.55 cm, seguido de T10 con 35.32 cm. Sin embargo, en el parámetro de diámetro de panoja (DPN), síes de

Tabla 10. Características morfológicas de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp. en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016

Tratamientos	Altura de planta (cm) ^b	Longitud de panoja (cm) ^b	Diámetro de panoja (cm) ^b	Peso seco de biomasa (g/planta)	Peso de semillas (g/planta)	Rendimiento (Kg/ha)
T1	99.01 a	30.52 abcd	8.41 a	42.7 ab	14.25 abc	3127.3 a
T2	101.52 a	24.8 cd	6.77 ab	43.44 a	19.44 ab	2866.57 ab
T3	104.25 a	31.16 abcd	6.73 ab	39.97 ab	15.45 abc	3029.12 a
T4	85.32 ab	29.51 abcd	4.5 b	24.78 ab	12.04 abc	2119.4 ab
T5	87.94 ab	30.26 abcd	5.92 ab	32.65 ab	11.61 abc	2422.12 ab
T6	78.89 ab	22.7 cd	5.09 b	20.75 ab	8.46 c	1540.28 ab
T7	87.2 ab	37.55 a	5.09 b	25.75 ab	13.24 abc	2062.36 ab
T8	82.24 ab	27.16 bcd	5.34 b	21.29 ab	7.27 c	1445.34 ab
T9	88.39 ab	32.98 abc	5.68 ab	25.23 ab	9.9 bc	1834.03 ab
T10	92.76 ab	35.32 ab	6.48 ab	39.32 ab	19.98 a	3032.54 a
T11	71.55 b	21.48 d	4.43 b	16.41 b	9.34 c	1141.27 b

^a T1 al T10 cepas de *Trichoderma* sp aisladas de quinua, T11 testigo

^b Datos obtenidos a los 161 días después de la siembra.

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* sp fueron significativamente mayores con valores comprendidos entre 5.68 cm a 8.41 cm a diferencia del testigo (T11) que presento el valor más bajo con 4.43 cm, siendo el tratamiento T1 el que tuvo mayor efecto en la DPN con 8.41 cm a comparación de los tratamientos T4, T6, T7 y T8 que no tuvieron diferencias significativas con el testigo.

Sin embargo, los valores de peso seco de biomasa, fueron significativamente mayores en los todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* sp con valores comprendidos entre 20.75 g a 43.44 cm a diferencia del testigo (T11) que presento el valor más bajo con 16.41 g, siendo el tratamiento T2 con mayor efecto en el PSB. Similar comportamiento se observó en el parámetro rendimiento (RDT), en donde todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* sp fueron significativamente mayores al testigo ($1141.27 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) con valores comprendidos entre $1445.34 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ a $3127.3 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, siendo los tratamientos T1 ($3127.3 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), T3 ($3029.12 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) y T10 ($3032.54 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) con mayor rendimiento.

Mientras que, para el parámetro peso de semillas ($\text{g}\cdot\text{planta}^{-1}$) ocho de los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* sp fueron significativamente mayores al testigo ($9.34 \text{ g}\cdot\text{planta}^{-1}$) con valores comprendidos entre $9.9 \text{ g}\cdot\text{planta}^{-1}$ a $19.98 \text{ g}\cdot\text{planta}^{-1}$, siendo el tratamiento T10 con mayor efecto en el PSEM a comparación de los tratamientos T6 y T8 que no tuvieron diferencias significativas con el testigo.

Existen escasas investigación sobre el uso de *Trichoderma* endofito en quinua; sin embargo, en un trabajo de investigación realizado en invernadero, utilizaron 30 cepas de *Trichoderma* para el control del mildiu de la quinua, encontraron

seis cepas que inhibieron la enfermedad y a su vez mejoraron el crecimiento de las plantas (Plata *et al.* , 2013) lo cual concuerda con los resultados de esta investigación. Puesto que los efectos de cepas de *Trichoderma* sp sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas tienen implicaciones económicas importantes, así como mejorar el vigor de las plantas para superar las tensiones bióticas y / o abióticas (Toghueo *et al.* , 2016). Por lo tanto, el uso de estas cepas en la mejora y protección del crecimiento de las plantas es de importancia en el sistema de agricultura sostenible, ya que los fertilizantes químicos y los pesticidas no son económicos a largo plazo debido a su costo y a la contaminación ambiental.

La promoción del crecimiento de las plantas se observa a menudo en respuesta a la colonización de *Trichoderma* sp (Harman, 2006; Rinu *et al.* , 2014). Es probable que las cepas de *Trichoderma* endofito cree condiciones de crecimiento más favorables que conduzcan a un mejor crecimiento de la planta.(Toghueo *et al.* , 2016) Los resultados estuvieron de acuerdo con los hallazgos de otros investigadores que sugirieron que además de su capacidad de biocontrol, algunas especies de *Trichoderma* spp son capaces de promover el crecimiento de las plantas (Hoyos-Carvajal *et al.* , 2009). De igual modo, muchos estudios demostraron que plantas infectadas con endófitos obtienen promoción del crecimiento, la resistencia a la estrés por sequía y la tolerancia a la condiciones inadecuadas del suelo (Malinowski *et al.*, 2004). Así por ejemplo, semillas tratadas con la cepa T22 de *T. harzianum*, respondieron positivamente y hubo un aumento de rendimiento(Harman, 2006).

Lu *et al.* (2000) señalan que la mejora del crecimiento de la planta puede estar influenciada por compuestos como fitohormonas producidas por hongos

endófitos como el ácido indolacético (IAA) y sus análogos. Además, la producción de algunos ácidos orgánicos tales como los ácidos glucónico cítrico y / o fumárico (Vinale *et al.*, 2008) reduce el pH del suelo, dando como resultado la solubilización de fosfatos. (Toghueo *et al.*, 2016).

4.2.3 Estudios de correlación

En la Tabla 11 se observa las correlaciones de Pearson entre variables de área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) y colonización endófitica (Col) de cepas de *Trichoderma* sp. en plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA con variables morfológicas cuantitativas de la quinua: altura de planta (AP), longitud de panoja (LPN), diámetro de panoja (DPN), peso seco de biomasa (PSB), peso de semillas (PSEM) y rendimiento (RDT). Se han considerado para el análisis solamente las correlaciones altas >0.50 y que estas sean significativas y aquellas cercanas a 1 indica una correlación muy alta con una fuerte dependencia lineal positiva o negativa entre las dos variables. La variable AP tuvo la correlación más alta y positiva con PSB ($r = 0.90$) seguido con DPN ($r=0.79$), PSEM ($r=0.76$), RDT ($r=0.75$), Col M1 60d ($r=0.69$), Col. M2 60d ($r=0.62$), LPN($r=0.55$) y Col. M1 30d ($r=0.53$), y correlación negativa con AUDPC ($r=-0.68$); sin embargo, con la variable Col. M2 30d ($r=0.21$) no hubo correlación.

La variable APN tuvo correlación positiva con PSEM ($r = 0.50$) y Col. M2 60d ($r= 0.50$) a diferencia de las demás variables no hubo correlación significativa;

Tabla 11. Correlaciones de Pearson entre variables de AUDPC del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) y colonización endófitica de cepas de *Trichoderma* sp. en plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA con variables morfológicas cuantitativas de la quinua, evaluadas en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016

	APL	LPN	DPN	PSBIO	PSEM	RDT	AUDPC	Col. M1 30d	Col. M1 60d	Col. M2 30d	Col. M2 60d
APL	1.00										
APN	0.55 **	1.00									
DPN	0.79 **	0.41	1.00								
PSBIO	0.90 **	0.49 **	0.89 **	1.00							
PSEM	0.76 **	0.50 **	0.70 **	0.86 **	1.00						
RDT	0.75 **	0.47 **	0.81 **	0.87 **	0.84 **	1.00					
AUDPC	-0.68 **	-0.44 *	-0.58 **	-0.61 **	-0.46 **	-0.61 **	1.00				
Col. M1 30d	0.53 **	0.25 ns	0.64 **	0.65 **	0.53 **	0.62 **	-0.62 **	1.00			
Col. M1 60d	0.69 **	0.17 ns	0.65 **	0.71 **	0.60 **	0.72 **	-0.78 **	0.76 **	1.00		
Col. M2 30d	0.21 ns	0.04 ns	0.35 ns	0.25 ns	0.21 ns	0.24 ns	-0.36 ns	0.16 ns	0.29 ns	1.00	
Col. M2 60d	0.62 **	0.50 **	0.50 **	0.61 **	0.60 **	0.66 **	-0.79 **	0.49 **	0.69 **	0.31 ns	1.00

altura de planta (AP), altura de panoja (APN), diámetro de panoja (DPN), peso seco de biomasa (PSB), peso seco de semilla (PSEM), rendimiento (RDT), Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC), Colonización (Col), Pelitización de semillas(M1), Infestación del sustrato (M2)** Altamente significativo * Significativo ns No significativo

mientras que la variable DPN presento una alta correlación positiva con PSB ($r=0.89$) seguido con RDT ($r=0.81$), PSEM ($r=0.70$), Col M1 60d ($r=0.65$), Col. M1 30d ($r=0.64$) y Col. M2 60d ($r= 0.50$), y correlación negativa con AUDPC ($r=-0.58$).

La variable PSB presento una alta correlación positiva con RDT ($r=0.87$), seguido de PSEM ($r=0.86$), Col M1 60d ($r=0.71$), Col. M1 30d ($r=0.65$) y Col. M2 60d ($r= 0.61$), y correlación negativa con AUDPC ($r=-0.61$).

Asimismo, la variable PSEM presento una alta correlación positiva con RDT ($r=0.84$), seguido de Col M1 60d ($r=0.60$), Col. M2 60d ($r= 0.60$) y Col. M1 30d ($r=0.53$),y no hubo correlación con AUDPC ($r=-0.46$) y Col M2 30d ($r=0.21$).

Mientras que la variable RDT hubo correlación positiva con Col M1 60d ($r=0.72$), Col. M2 60d ($r= 0.66$) y Col. M1 30d ($r=0.60$), y correlación negativa con AUDPC ($r=-0.62$) y no hubo correlación con Col M2 30d ($r=0.24$)

Por otra parte, existió una alta y negativa correlación entre AUDPC y con Col. M2 60d ($r=- 0.79$) seguido con Col M1 60d ($r=- 0.78$), y Col. M1 30d ($r=-0.62$) a excepción con Col M2 30d ($r=-0.36$). Sin embargo, la variable Col. M1 30d únicamente presento una alta correlación positiva con Col M1 60d ($r= 0.76$); también, Col M1 60d con Col. M2 60d ($r= 0.69$).

En los tratamientos evaluados, las plantas con mayor altura poseen mayor peso en biomasa, panojas grandes y de mayor diámetro, peso de semillas por planta, rendimiento y mayor resistencia al mildiu al mildiu y del mismo modo, las plantas de menor altura tuvieron menor peso en biomasa, panojas pequeñas y de menor diámetro, peso de semillas por planta, menor rendimiento y mayor susceptibilidad al mildiu

Por otra parte, fue notorio observar que la variable AUDPC de mildiu se correlacionó negativamente con todas las variables morfológicas y rendimiento, esto indicaría que hay una relación inversamente proporcional entre la resistencia al mildiu y las variables mencionadas. Esto significa que las plantas tratadas con cepas de *Trichoderma* sp adquirieron cierta resistencia a mildiu y fueron plantas de mayor crecimiento y rendimiento. Por otra parte, los tratamientos que resultaron ser susceptibles serían aquellas con menor crecimiento y rendimiento. Estos efectos positivos en las plantas son características propias de las cepas de *Trichoderma* sp hacia la planta.

Resultados similares fueron reportados por Danielsen *et al* . (1999), encontraron correlación negativa fuertemente significativa entre AUDPC y rendimiento de ocho cultivares, significa que bajo estas condiciones AUDPC explica la mayor parte de la variación del rendimiento; igualmente, Gabriel *et al* . (2012) reportaron una correlación negativa entre AUDPC y altura de planta.

CONCLUSIONES

- Se logró la mayor colonización endofítica (34.24%) de cepas de *Trichoderma* en quinua con el método de infestación del sustrato a diferencia del método peletización de semillas con 16.97%; siendo las cepas T10 (60%), T3 (56.67%) y T2 (43.33%) con mayor colonización mientras que la cepa T8 (33.33%) presentó la menor colonización en plantas de quinua a los 60 días de evaluación.
- Los valores de AUDPC fueron significativamente menores en todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* sp que el testigo T11 (AUDPC = 1670.5), siendo los tratamientos T1, T3 y T2 menos afectados con valores de AUDPC de 615.7, 706.8 y 759 respectivamente en comparación a los tratamientos T6 (AUDPC = 1198.7) y T8 (AUDPC = 1168.9) que fueron los que presentaron los valores altos de AUDPC.
- Similar tendencia ocurrió en las características morfológicas de la planta, los tratamientos T1, T2, T3, y T10 presentaron los valores más altos en altura de planta (99.01, 101.52, 104.25 y 92.76 cm), diámetro de panoja (8.41, 6.77, 6.73 y 6.48 cm), peso seco de biomasa (42.7, 43.44, 39.97 y 39.32 g. planta⁻¹), peso de semilla (14.25, 19.44, 15.45 y 19.98 g. planta⁻¹) y rendimiento

(3127.30, 2866.57, 3029.12 y 3032.54 kg. ha⁻¹ respectivamente) en comparación al Testigo (T11) con 71.55 cm, 21.48 cm, 16.42 g. planta⁻¹, 9.34 g. planta⁻¹ y 1141.27 kg. ha⁻¹ respectivamente.

- Asimismo, se observó una alta correlación negativa entre los parámetros AUDPC y características morfológicas de la planta y colonización endofítica que significa el efecto positivo del biocontrol del mildiu con *Trichoderma* sp.

RECOMENDACIONES

- Evaluar la colonización endofítica de las cepas de *Trichoderma* endofito T1, T2, T3 y T10 en plantas mayores a 60 días de edad desarrolladas bajo condiciones controladas y en campo.
- Para el biocontrol de mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua realizar aplicaciones de las cepas de *Trichoderma* endofito T1, T2, T3 y T10 a nivel de semillas y abono al momento de la siembra, y cuatro aplicaciones a nivel foliar durante la ramificación, panojamiento, floración y grano lechoso.
- Probar diferentes dosis e interacciones de *Trichoderma* endofito con las cepas T1, T2, T3 y T10 en diferentes zonas agroecológicas de la Región Puno, con el fin de obtener un control más eficaz del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua.
- Realizar estudios sobre la composición genética de la población de *Peronospora variabilis* en cuanto a la presencia de razas en diferentes zonas agroecológicas de la Región Puno.

- BIBLIOGRAFIA

- Agrios, G. N. (2004). Plant pathology (Fourth ed.): Elsevier Academic Press.454p.
- Alandia, S., Otazü, V., y Salas, B. (1979). Enfermedades de la Quinua. In M. Tapia, H. Gandarillas, S. Alandia, A. Cardozo y A. Mujica (Eds.), *Quinua y Kañiwa: Cultivos Andinos* (Stella de Feferbaum ed., pp. 228). Bogota, Colombia: Centro Internacional De Investigaciones Para El Desarrollo (CIID)
- Aragón, L., y Gutiérrez, W. (1992). El mildiu en cuatro especies de *Chenopodium*. *Fitopatología*, 27(2), 104-109.
- Arévalo, E., Canto, M., Leon, B., Meinhardt, L., y Cayotopa, J. (2010). Colonización de plántulas de *Theobroma cacao* por aislamientos de *Trichoderma* endófitos con potencial de control biológico. Paper presented at the XXI Congreso Peruano de Fitopatología., Tarapoto, Perú.
- Arnold, A. E., y Lutzoni, F. (2007). Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology*, 88(3), 541-549.
- Arnold, A. E., Mejía, L. C., Kyllö, D., Rojas, E. I., Maynard, Z., Robbins, N., y Herre, E. A. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(26), 15649-15654.
- Bacon, C. W., y Hinton, D. M. (1996). Symptomless endophytic colonization of maize by *Fusarium moniliforme*. *Canadian Journal of Botany*, 74(8), 1195-1202. doi: 10.1139/b96-144
- Bae, H., Sicher, R. C., Kim, M. S., Kim, S.-H., Strem, M. D., Melnick, R. L., y Bailey, B. A. (2009). The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. *Journal of Experimental Botany*, 60(11), 3279-3295. doi: 10.1093/jxb/erp165
- Bailey, B. A., Bae, H., Strem, M. D., Crozier, J., Thomas, S. E., Samuels, G. J., . . . 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. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.003>
- Bailey, B. A., Bae, H., Strem, M. D., Roberts, D. P., Thomas, S. E., Crozier, J., . . . Holmes, K. A. (2006). Fungal and plant gene expression during the colonization of cacao seedlings by endophytic isolates of four *Trichoderma* species. *Planta*, 224(6), 1449-1464. doi: 10.1007/s00425-006-0314-0

- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., y Codón, A. C. (2010). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International microbiology*, 7(4), 249-260.
- Carrero-Carrón, I., Trapero-Casas, J. L., Olivares-García, C., Monte, E., Hermosa, R., y Jiménez-Díaz, R. M. (2016). *Trichoderma asperellum* is effective for biocontrol of *Verticillium wilt* in olive caused by the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae*. *Crop Protection*, 88, 45-52. doi: 10.1016/j.cropro.2016.05.009
- Carroll, G. (1988). Fungal Endophytes In Stems And Leaves - From Latent Pathogen To Mutualistic Symbiont. *Ecology*, 69(1), 2-9. doi: 10.2307/1943154
- Claros, M., Angulo, V., Gutierrez, C., y Ortuño, N. (2010). Primeros reportes de aislamiento de bacterias y hongos endofitos en el cultivo de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en Bolivia. Paper presented at the III Congreso Mundial de la quinua, Oruro, Bolivia.
- Collado, J., Platas, G., González, I., y Peláez, F. (1999). Geographical and seasonal influences on the distribution of fungal endophytes in *Quercus ilex*. *New Phytologist*, 144(3), 525-532.
- Crozier, J., Arroyo, C., Morales, H., Melnick, R. L., Strem, M. D., Vinyard, B. T., Bailey, B. A. (2015). The influence of formulation on *Trichoderma* biological activity and frosty pod rot management in *Theobroma cacao*. *Plant Pathology*, 64(6), 1385-1395. doi: 10.1111/ppa.12383
- Cummings, N. J., Ambrose, A., Braithwaite, M., Bissett, J., Roslan, H. A., Abdullah, J., Hill, R. A. (2016). Diversity of root-endophytic *Trichoderma* from Malaysian Borneo. *Mycological Progress*, 15(5). doi: 10.1007/s11557-016-1192-x
- Chaves, N. P., Staver, C., y Dita, M. A. (2016) Potential of *Trichoderma asperellum* for biocontrol of *Fusarium wilt* in banana. Vol. 1114. *Acta Horticulturae* (pp. 261-265): International Society for Horticultural Science.
- Chen, J. L., Sun, S. Z., Miao, C. P., Wu, K., Chen, Y. W., Xu, L. H., Zhao, L. X. (2016). Endophytic *Trichoderma gamsii* YIM PH30019: A promising biocontrol agent with hyperosmolar, mycoparasitism, and antagonistic activities of induced volatile organic compounds on root-rot pathogenic fungi of *Panax notoginseng*. *Journal of Ginseng Research*, 40(4), 315-324. doi: 10.1016/j.jgr.2015.09.006
- Choi, Y.-J., Danielsen, S., Lübeck, M., Hong, S.-B., Delhey, R., y Shin, H.-D. (2010). Morphological and Molecular Characterization of the Causal Agent of Downy Mildew on Quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Mycopathologia*, 169(5), 403-412. doi: 10.1007/s11046-010-9272-y
- Choi, Y. J., Choi, I. Y., Kim, J. S., y Shin, H. D. (2014). First report of quinoa downy mildew caused by *Peronospora variabilis* in Republic of Korea. *Plant Disease*, 98(7), 1003. doi: 10.1094/PDIS-12-13-1209-PDN

- Choi, Y. J., Danielsen, S., Lübeck, M., Hong, S., Delhey, R., y Shin, H. D. (2010). Morphological and Molecular Characterization of the Causal Agent of Downy Mildew on Quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Mycopathologia*, 169(5), 403-412. doi: 10.1007/s11046-010-9272-y
- Choi, Y. J., Denchev, C. M., y Shin, H. D. (2008). Morphological and molecular analyses support the existence of host-specific *Peronospora* species infecting *Chenopodium*. *Mycopathologia*, 165(3), 155-164. doi: 10.1007/s11046-007-9087-7
- Danielsen, S., y Ames, T. (2000). El mildiu (*Peronospora farinosa*) de la quinua (*Chenopodium quinoa*) en la zona andina. (Vol. I). LIMA-PERU: Centro Internacional de la Papa (CIP).
- Danielsen, S., Bonifacio, A., y Ames, T. (2003). Diseases of quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Food Reviews International*, 19(1-2), 43-59. doi: 10.1081/FRI-120018867
- Danielsen, S., Jacobsen, S., Echeagaray, J., y Ames, T. (1999). Impact of downy mildew on the yield of quinoa. *CIP program report, 2000*, 397-401.
- Danielsen, S., Mercado, V. H., Ames, T., y Munk, L. (2004). Seed transmission of downy mildew (*Peronospora farinosa* f.sp. *chenopodii*) in quinoa and effect of relative humidity on seedling infection. *Seed Science and Technology*, 32(1), 91-98.
- Danielsen, S., y Munk, L. (2004). Evaluation of disease assessment methods in quinoa for their ability to predict yield loss caused by downy mildew. *Crop Protection*, 23(3), 219-228. doi: 10.1016/j.cropro.2003.08.010
- De Souza, J. T., Bailey, B. A., Pomella, A. W. V., Erbe, E. F., Murphy, C. A., Bae, H., y Hebbar, P. K. (2008). Colonization of cacao seedlings by *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of the witches' broom pathogen, and its influence on plant growth and resistance. *Biological Control*, 46(1), 36-45. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.010>
- Dingle, J., y Mcgee, P. A. (2003). Some endophytic fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in wheat. *Mycological Research*, 107(03), 310-316. doi: doi:10.1017/S0953756203007512
- Dirección general de competitividad agraria, M. I. N. A. G. (2014). QUINUA J. A. Muro Ventura (Ed.) *Principales Aspectos de la Cadena agroproductiva de la Quinoa* (pp. 28). Retrieved from http://agroaldia.minag.gob.pe/biblioteca/download/pdf/agroeconomia/agroeconomia_quinoa.pdf.
- Evans, H. C., Holmes, K. A., y Thomas, S. E. (2003). Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. *Mycological Progress*, 2(2), 149-160.

- Fernández-Northcote, E. N., Navia, O., y Gandarillas, A. (1999). Bases de las estrategias de control químico del tizón tardío de la papa desarrolladas por PROINPA en Bolivia. *Revista Latinoamericana de la papa*, 11(1).
- Gabriel, J., Luna, N., Vargas, A., Magne, J., Angulo, A., La Torre, J., y Bonifacio, A. (2012). Quinoa de valle (*Chenopodium quinoa* Willd.): fuente valiosa de resistencia genética al mildiu (*Peronospora farinosa* Willd.). *Journal of the Selva Andina Research Society*, 3(2), 27-44.
- Gallery, R. E., Dalling, J. W., y Arnold, A. E. (2007). Diversity, host affinity, and distribution of seed-infecting fungi: a case study with cecropia. *Ecology*, 88(3), 582-588.
- Gamboa-Gaitán, M. A. (2006). Hongos endófitos tropicales: conocimiento actual y perspectivas. *Acta Biológica Colombiana*, 11, 3-20.
- Gandarillas, A., Saravia, R., Plata, G., Quispe, R., y Ortiz-Romero, R. (2015). principle quinoa pests and diseases. *State Of The Art Report On Quinoa*, 192.
- Gao, F.-k., Dai, C.-C., y Liu, X.-Z. (2010). Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 4(13), 1346-1351.
- Grosch, R., Scherwinski, K., Lottmann, J., y Berg, G. (2006). Fungal antagonists of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*: selection, control efficacy and influence on the indigenous microbial community. *Mycological Research*, 110(12), 1464-1474.
- Guédez, C., Cañizález, L., Castillo, C., y Olivar, R. (2009). Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* sobre algunos hongos patógenos postcosecha de la fresa (*Fragaria* sp). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29, 34-38.
- Gunatilaka, A. A. L. (2006). Natural Products from Plant-associated Microorganisms: Distribution, Structural Diversity, Bioactivity, and Implications of Their Occurrence(). *Journal of Natural Products*, 69(3), 509-526. doi: 10.1021/np058128n
- Hanada, R. E., de Jorge Souza, T., Pomella, A. W. V., Hebbar, K. P., Pereira, J. O., Ismaiel, A., y Samuels, G. J. (2008). *Trichoderma martiale* sp. nov., a new endophyte from sapwood of *Theobroma cacao* with a potential for biological control. *Mycological Research*, 112(11), 1335-1343. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycres.2008.06.022>
- Hanada, R. E., Pomella, A. W. V., Soberanis, W., Loguercio, L. L., y Pereira, J. O. (2009). Biocontrol potential of *Trichoderma martiale* against the black-pod disease (*Phytophthora palmivora*) of cacao. *Biological Control*, 50(2), 143-149. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.04.005>
- Hanson, L. E., y Howell, C. R. (2004). Elicitors of Plant Defense Responses from Biocontrol Strains of *Trichoderma viren*. *Phytopathology*, 94(2), 171-176. doi: 10.1094/PHYTO.2004.94.2.171

- Harman, G. E. (2006). Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* sp. *Phytopathology*, 96(2), 190-194. doi: 10.1094/PHYTO-96-0190
- Hoyos-Carvajal, L., Orduz, S., y Bissett, J. (2009). Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological Control*, 51(3), 409-416.
- Infante, D., Martínez, B., González, N., y Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24, 14-21.
- Kuldau, G., y Bacon, C. (2008). Clavicipitaceous endophytes: Their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses. *Biological Control*, 46(1), 57-71. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.023>
- Kumar, A., Bhargava, A., Shukla, S., Singh, H. B., y Ohri, D. (2006). Screening of exotic *Chenopodium quinoa* accessions for downy mildew resistance under mid-eastern conditions of India. *Crop Protection*, 25(8), 879-889. doi: 10.1016/j.cropro.2005.11.012
- Larran, S., Simón, M. R., Moreno, M. V., Siurana, M. P. S., y Perelló, A. (2016). Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease. *Biological Control*, 92, 17-23. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.09.002>
- Leon, B., Rojas, M., Rodriguez, G., Arévalo, E., y Márquez, K. (2010). Antibiosis y micoparasitismo a los principales patógenos de cacao (*Theobroma cacao*) por hongos endófitos. Paper presented at the XXI Congreso Peruano de Fitopatología., Tarapoto, Perú.
- Lu, H., Zou, W. X., Meng, J. C., Hu, J., y Tan, R. X. (2000). New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Plant science*, 151(1), 67-73.
- Macagnan, D., Romeiro, R. d. S., y Pomella, A. W. (2008). Production of lytic enzymes and siderophores, and inhibition of germination of basidiospores of *Moniliophthora* (ex *Crinipellis*) *perniciosa* by phylloplane actinomycetes. *Biological Control*, 47(3), 309-314.
- Malinowski, D., Zuo, H., Belesky, D., y Alloush, G. (2004). Evidence for copper binding by extracellular root exudates of tall fescue but not perennial ryegrass infected with *Neotyphodium* spp. endophytes. *Plant and Soil*, 267(1-2), 1-12.
- Márquez, D. K., Arévalo, E., León, B., Cayotopa, J., Olivera, D., y Samuels, J. G. (2010, Setiembre, 2010). Composición de comunidades de hongos endófitos de cacao nativo en cuencas del alto amazonas del Perú. Paper presented at the XXI Congreso Peruano de Fitopatología., Tarapoto, Perú.
- Martínez, B., Infante, D., y Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28, 1-11.

- Mejía, L. C., Rojas, E. I., Maynard, Z., Bael, S. V., Arnold, A. E., Hebbar, P., Herre, E. A. (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control*, 46(1), 4-14. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.012>
- Montgomery, D. C. (2008). *Design and analysis of experiments* (7th ed.): John Wiley y Sons.
- Mukherjee, M., Mukherjee, P., Horwitz, B., Zachow, C., Berg, G., y Zeilinger, S. (2012). *Trichoderma*–Plant–Pathogen Interactions: Advances in Genetics of Biological Control. *Indian Journal of Microbiology*, 52(4), 522-529. doi: 10.1007/s12088-012-0308-5
- Mukhtar, I. (2008). Influence of *Trichoderma* species on seed germination in okra. *Mycopath*, 6(1y2), 47-50.
- Navia, O., Gandarillas, A., y Fernández-Northcote, E. N. (2001). Estrategias de integración de resistencia y control químico del tizón de la papa (*Phytophthora infestans*): Validación con Instituciones. *Revista Latinoamericana de la papa*, 12, 152-168.
- Plata, G., y Callizaya, J. J. (2013). Control biológico del mildiu de la quinua utilizando diferentes aislamientos de *Trichoderma* sp. Paper presented at the Congreso Científico de la Quinua.
- Plata, G., Callizaya, J. J., y Forestal, M. (2013). Control biológico del mildiu de la quinua utilizando diferentes aislamientos de *Trichoderma* sp. Paper presented at the Congreso Científico de la Quinua. La Paz (Bolivia). 14-15 Jun. 2013.
- Reyes Duque, Y. (2012). Aislamientos de *Trichoderma* spp. promisorios para el control biológico del tizón de la vaina (*Rhizoctonia solani* Kühn) EN ARROZ. *Revista de Protección Vegetal*, 27, 68-68.
- Rinu, K., Sati, P., y Pandey, A. (2014). *Trichoderma gamsii* (NFCCI 2177): A newly isolated endophytic, psychrotolerant, plant growth promoting, and antagonistic fungal strain. *Journal of Basic Microbiology*, 54(5), 408-417. doi: 10.1002/jobm.201200579
- Samuels, G. J. (1996). *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. *Mycological Research*, 100(8), 923-935. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0953-7562\(96\)80043-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0953-7562(96)80043-8)
- Saravia, R., Plata, G., y Gandarillas, A. (2014). Plagas y enfermedades del cultivo de quinua. Cochabamba, BO.: Fundacion PROINPA.
- Schardl, C. L., Leuchtman, A., y Spiering, M. J. (2004). Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 315-340.
- Siñani Apaza, E. (1997). Evaluación de la eficiencia de fungicidas en el control de Mildiu (*Peronospora farinosa* Fr.) de la quinua en el Altiplano Central y Norte. UMSA, La Paz.

- Stone, J. K., Bacon, C. W., y White, J. (2000). An overview of endophytic microbes: endophytism defined. *Microbial endophytes*, 3, 29-33.
- Testen, A. L. (2012). Microbial Approaches to Support Andean Quinoa Production. The Pennsylvania State University.
- Testen, A. L., y Backman, P. A. (2016). Atahualpa's Revenge: The Spread of Quinoa Downy Mildew.
- Testen, A. L., del Mar Jiménez-Gasco, M., Ochoa, J. B., y Backman, P. A. (2013). Molecular Detection of *Peronospora variabilis* in Quinoa Seed and Phylogeny of the Quinoa Downy Mildew Pathogen in South America and the United States. *Phytopathology*, 104(4), 379-386. doi: 10.1094/PHTO-07-13-0198-R
- Testen, A. L., McKemy, J. M., y Backman, P. A. (2011). First Report of Quinoa Downy Mildew Caused by *Peronospora variabilis* in the United States. *Plant Disease*, 96(1), 146-146. doi: 10.1094/PDIS-09-11-0728
- Toghueo, R. M. K., Eke, P., Zabalgoceazcoa, Í., de Aldana, B. R. V., Nana, L. W., y Boyom, F. F. (2016). Biocontrol and growth enhancement potential of two endophytic *Trichoderma* spp. from *Terminalia catappa* against the causative agent of Common Bean Root Rot (*Fusarium solani*). *Biological Control*, 96, 8-20. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.01.008>
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., y Lorito, M. (2008). Trichoderma-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1-10.
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Kogel, K. H. (2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(38), 13386-13391. doi: 10.1073/pnas.0504423102
- Zurita-Silva, A., Fuentes, F., Zamora, P., Jacobsen, S., y Schwember, A. (2014). Breeding quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): potential and perspectives. *Molecular Breeding*, 34(1), 13-30.



ANEXOS

Tabla 12. Evaluación de colonización de cepas de *Trichoderma* sp. en tejidos de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) a los 30 y 60 días después de la siembra mediante dos métodos de inoculación, desarrollado en el laboratorio de Fitopatología de la UNA, 2016.

Método de colonización	Cepa	Repetición	Sección	30 dds							60 dds						
				PR	RPM	Hp	Ep	H	IC	%Col	PR	RPM	Hp	Ep	H	IC	%Col
METODO 1	T1	1	1	1	0	0	0	0	1	20.00	0	1	0	1	0	2	40.00
METODO 1	T1	1	2	1	0	0	0	0	1	20.00	1	0	0	0	0	1	20.00
METODO 1	T1	2	1	1	0	0	0	0	1	20.00	0	0	1	0	0	1	20.00
METODO 1	T1	2	2	1	1	0	0	0	2	40.00	0	1	1	0	0	2	40.00
METODO 1	T1	3	1	0	1	0	0	0	1	20.00	0	1	0	0	0	1	20.00
METODO 1	T1	3	2	1	0	0	0	0	1	20.00	0	1	0	1	0	2	40.00
METODO 1	T2	1	1	1	0	0	0	0	1	20.00	0	1	0	0	1	2	40.00
METODO 1	T2	1	2	0	1	0	0	0	1	20.00	0	1	0	0	1	2	40.00
METODO 1	T2	2	1	0	1	0	0	0	1	20.00	1	1	0	0	0	2	40.00
METODO 1	T2	2	2	0	0	1	0	0	1	20.00	0	1	0	0	0	1	20.00
METODO 1	T2	3	1	0	0	1	0	0	1	20.00	0	1	0	0	0	1	20.00
METODO 1	T2	3	2	0	0	0	1	0	1	20.00	0	1	0	1	0	2	40.00
METODO 1	T3	1	1	0	0	0	0	0	0	0.00	1	0	1	0	0	2	40.00
METODO 1	T3	1	2	0	1	0	0	0	1	20.00	0	0	0	0	1	1	20.00
METODO 1	T3	2	1	0	0	1	0	0	1	20.00	1	0	1	0	0	2	40.00
METODO 1	T3	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T3	3	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	0	0	1	20.00
METODO 1	T3	3	2	1	0	0	0	0	1	20.00	0	0	1	1	0	2	40.00
METODO 1	T4	1	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	1	1	20.00
METODO 1	T4	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T4	2	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	1	0	0	2	40.00
METODO 1	T4	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T4	3	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	0	0	0	1	20.00
METODO 1	T4	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T5	1	1	0	1	0	0	0	1	20.00	0	0	1	0	0	1	20.00
METODO 1	T5	1	2	0	1	0	0	0	1	20.00	0	0	0	1	0	1	20.00
METODO 1	T5	2	1	0	1	0	0	0	1	20.00	0	1	1	0	0	2	40.00
METODO 1	T5	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T5	3	1	0	1	0	0	0	1	20.00	0	1	1	0	0	2	40.00
METODO 1	T5	3	2	0	1	0	0	0	1	20.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T6	1	1	0	0	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	1	20.00
METODO 1	T6	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T6	2	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	0	0	0	1	20.00
METODO 1	T6	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T6	3	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	0	0	0	1	20.00



METODO 1	T6	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T7	1	1	0	1	0	0	0	1	20.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T7	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	1	0	20.00
METODO 1	T7	2	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	1	0	0	40.00
METODO 1	T7	2	2	0	1	0	0	0	1	20.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T7	3	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T7	3	2	0	1	1	0	0	2	40.00	1	0	0	0	0	20.00
METODO 1	T8	1	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	0	0	0	20.00
METODO 1	T8	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T8	2	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	0	0	0	20.00
METODO 1	T8	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T8	3	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	0	0	0	20.00
METODO 1	T8	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T9	1	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T9	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	0	0	20.00
METODO 1	T9	2	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T9	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	0	0	20.00
METODO 1	T9	3	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T9	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	0	0	0	20.00
METODO 1	T10	1	1	0	1	0	0	0	1	20.00	0	1	1	0	0	40.00
METODO 1	T10	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T10	2	1	0	1	0	0	0	1	20.00	1	0	0	0	0	20.00
METODO 1	T10	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	0	0	20.00
METODO 1	T10	3	1	1	0	0	0	0	1	20.00	1	0	1	0	0	40.00
METODO 1	T10	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T11	1	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T11	1	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T11	2	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T11	2	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T11	3	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 1	T11	3	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
METODO 2	T1	1	1	0	1	0	1	0	2	40.00	0	0	1	1	0	40.00
METODO 2	T1	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	1	0	0	40.00
METODO 2	T1	2	1	1	1	0	0	0	2	40.00	0	0	1	0	1	40.00
METODO 2	T1	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	1	0	40.00
METODO 2	T1	3	1	1	1	0	0	0	2	40.00	0	1	1	1	0	60.00
METODO 2	T1	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	20.00
METODO 2	T2	1	1	0	1	0	0	0	1	20.00	0	0	1	1	0	40.00
METODO 2	T2	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	1	0	40.00
METODO 2	T2	2	1	1	0	0	0	0	1	20.00	0	0	1	0	0	20.00
METODO 2	T2	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	1	1	60.00
METODO 2	T2	3	1	0	1	0	0	0	1	20.00	0	1	1	1	0	60.00
METODO 2	T2	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	1	0	0	1	0	40.00
METODO 2	T3	1	1	0	0	0	0	0	0	0.00	1	1	1	1	1	100.00



METODO 2	T3	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	
METODO 2	T3	2	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	1	1	3	60.00
METODO 2	T3	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	1	1	1	4	80.00
METODO 2	T3	3	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	0	0	0	1	20.00
METODO 2	T3	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	1	1	1	1	0	4	80.00
METODO 2	T4	1	1	0	1	0	0	0	1	20.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 2	T4	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	1	1	3	60.00
METODO 2	T4	2	1	1	0	0	0	0	1	20.00	0	0	0	1	1	2	40.00
METODO 2	T4	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	0	0	1	2	40.00
METODO 2	T4	3	1	0	1	1	0	0	2	40.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 2	T4	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	1	1	3	60.00
METODO 2	T5	1	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	0	1	2	40.00
METODO 2	T5	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	0	0	1	20.00
METODO 2	T5	2	1	0	0	0	0	0	0	0.00	1	1	0	0	0	2	40.00
METODO 2	T5	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	1	0	0	2	40.00
METODO 2	T5	3	1	0	0	0	0	0	0	0.00	1	1	0	0	0	2	40.00
METODO 2	T5	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	1	0	0	2	40.00
METODO 2	T6	1	1	0	1	0	0	0	1	20.00	0	0	1	0	0	1	20.00
METODO 2	T6	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	1	20.00
METODO 2	T6	2	1	1	0	0	0	0	1	20.00	0	0	1	0	0	1	20.00
METODO 2	T6	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	0	0	0	1	20.00
METODO 2	T6	3	1	0	1	0	0	0	1	20.00	0	0	1	0	0	1	20.00
METODO 2	T6	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	1	1	0	0	0	2	40.00
METODO 2	T7	1	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	1	1	2	40.00
METODO 2	T7	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	0	1	2	40.00
METODO 2	T7	2	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	1	1	20.00
METODO 2	T7	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	1	0	0	1	0	2	40.00
METODO 2	T7	3	1	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	1	1	1	3	60.00
METODO 2	T7	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 2	T8	1	1	0	0	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	1	2	40.00
METODO 2	T8	1	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 2	T8	2	1	0	0	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	1	20.00
METODO 2	T8	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	1	20.00
METODO 2	T8	3	1	0	0	0	0	0	0	0.00	1	0	0	0	0	1	20.00
METODO 2	T8	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 2	T9	1	1	0	0	0	0	0	0	0.00	1	1	0	0	0	2	40.00
METODO 2	T9	1	2	0	1	0	0	0	1	20.00	1	0	0	0	0	1	20.00
METODO 2	T9	2	1	0	1	1	0	0	2	40.00	1	1	0	0	0	2	40.00
METODO 2	T9	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	1	0	1	0	0	2	40.00
METODO 2	T9	3	1	0	1	0	0	0	1	20.00	1	0	0	0	0	1	20.00
METODO 2	T9	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	1	1	0	0	0	2	40.00
METODO 2	T10	1	1	0	0	0	0	0	0	0.00	1	1	1	1	1	5	100.00
METODO 2	T10	1	2	1	0	0	0	0	1	20.00	0	1	0	0	0	1	20.00
METODO 2	T10	2	1	0	1	1	0	0	2	40.00	1	1	1	1	0	4	80.00



METODO 2	T10	2	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	0	0	1	2	40.00
METODO 2	T10	3	1	1	0	0	0	0	1	20.00	0	0	1	1	0	2	40.00
METODO 2	T10	3	2	0	0	0	0	0	0	0.00	0	1	1	1	1	4	80.00
METODO 2	T11	1	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 2	T11	1	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 2	T11	2	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 2	T11	2	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 2	T11	3	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00
METODO 2	T11	3	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0.00

Metodo1: Peletización de semillas M2: Infestación del suelo

PR: Punta de la raíz. RPM: Raíz principal media. Hp: Hipocotilo. Ep: Epicotilo. H: Hojas.

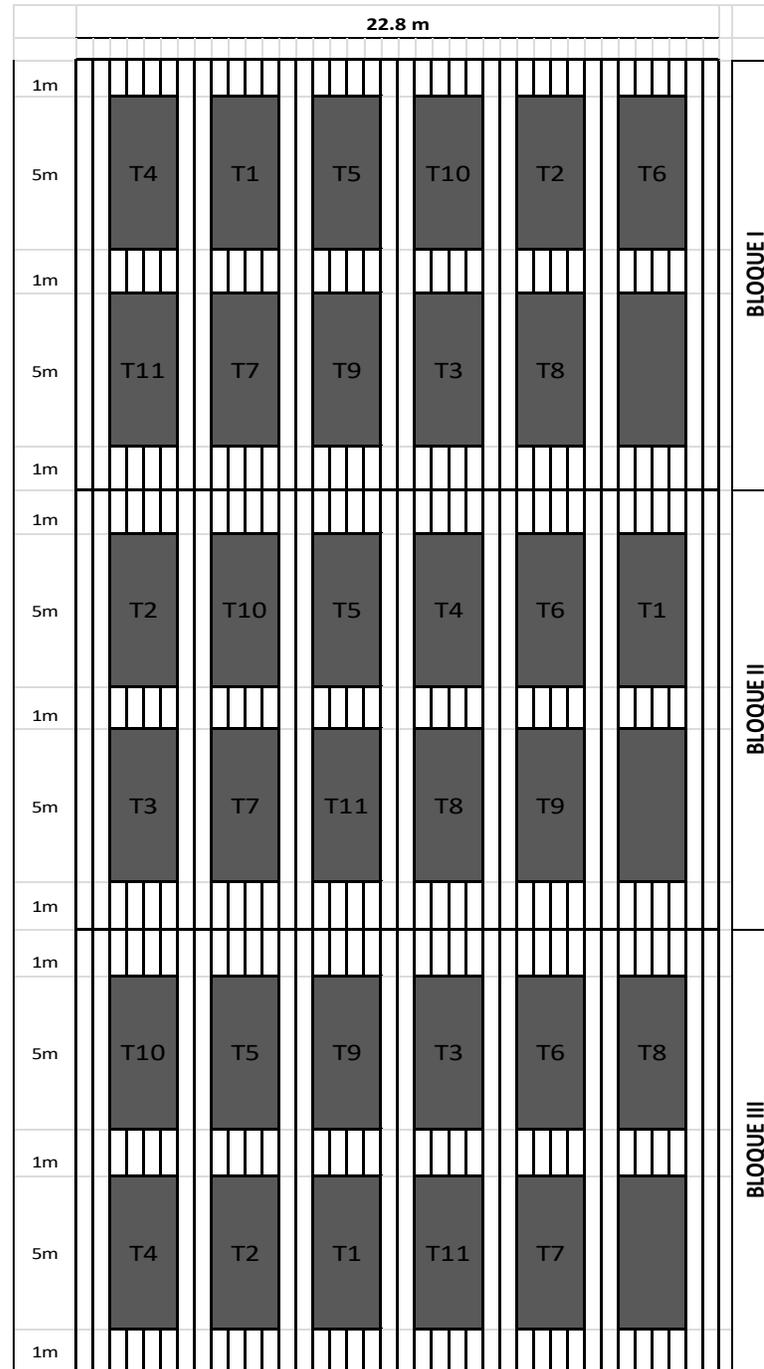
(1) colonización positiva de *Trichoderma* (0) No colonizo *Trichoderma*

IT: Índice de colonización

%col: Porcentaje de colonización

dds: días después de la siembra

Figura 20: Distribución de tratamientos, surcos, bloques según diseño experimental de bloque completo al azar en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016.



Número de surcos por parcela: 5
 Distancia entre surcos: 0,60 m
 Longitud de surcos: 5 m
 Ancho de parcela: 2.4 m
 Distancia entre parcelas: 1.2 m
 Área efectiva del experimento: 889.2 m²

Tabla 13. Evaluación de la severidad (%) del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) en hojas de plantas de quinua variedad Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp. en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.

BLOQUE	TRATAMIENTO	PLANTA	Primera (100 dds)			Segunda (115 dds)			Tercera (130 dds)			Cuarta (140 dds)			AUDPC	AUDPC (Datos transformados)				
			Hojas			Hojas			Hojas			Hojas								
			1	2	3	Prom	1	2	3	Prom	1	2	3	Prom			1	2	3	Prom
BI	T1	1	0	5	0	1.67	10	20	0	10.00	20	20	0	13.33	20	20	0	13.33	586.67	24.22
BI	T1	2	0	0	0	0.00	10	0	0	3.33	20	20	0	13.33	5	20	0	8.33	377.50	19.43
BI	T1	3	0	0	1	0.33	10	20	0	10.00	0	0	0	0.00	1	20	0	7.00	278.50	16.69
BI	T1	4	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	10	30	5	15.00	5	20	0	8.33	330.83	18.19
BI	T1	5	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	10	20	30	20.00	30	0	0	10.00	435.00	20.86
BI	T1	6	0	0	0	0.00	10	0	0	3.33	1	1	30	10.67	10	0	0	3.33	299.33	17.30
BI	T1	7	0	0	0	0.00	5	20	0	8.33	1	30	0	10.33	70	5	0	25.00	529.67	23.01
BI	T1	8	5	0	0	1.67	30	0	0	10.00	30	5	0	11.67	50	0	0	16.67	573.33	23.94
BI	T1	9	0	0	30	10.00	0	0	0	0.00	30	0	0	10.00	10	20	0	10.00	395.00	19.87
BI	T1	10	0	20	0	6.67	0	0	10	3.33	10	0	0	3.33	0	30	0	10.00	296.67	17.22
BII	T1	1	0	10	0	3.33	40	10	0	16.67	20	30	0	16.67	40	40	5	28.33	914.17	30.24
BII	T1	2	0	0	0	0.00	10	0	0	3.33	20	30	10	20.00	20	30	30	26.67	605.00	24.60
BII	T1	3	0	20	1	7.00	10	10	0	6.67	5	0	40	15.00	1	5	0	2.00	557.67	23.61
BII	T1	4	10	0	0	3.33	5	30	5	13.33	10	40	5	18.33	20	30	10	20.00	821.67	28.66
BII	T1	5	0	0	0	0.00	5	10	0	5.00	30	30	20	26.67	20	20	0	13.33	697.50	26.41
BII	T1	6	0	0	0	0.00	20	20	0	13.33	1	1	20	7.33	20	5	0	8.33	498.50	22.33
BII	T1	7	5	0	0	1.67	10	30	5	15.00	40	20	0	20.00	50	10	0	20.00	867.50	29.45
BII	T1	8	5	0	0	1.67	30	0	0	10.00	20	5	0	8.33	40	30	5	25.00	555.83	23.58
BII	T1	9	20	20	20	20.00	5	20	0	8.33	20	0	0	6.67	30	40	0	23.33	750.83	27.40
BII	T1	10	0	0	0	0.00	5	10	30	15.00	10	5	0	5.00	10	5	0	5.00	475.00	21.79
BIII	T1	1	0	0	0	0.00	40	0	0	13.33	5	1	80	28.67	50	50	10	36.67	1059.67	32.55
BIII	T1	2	0	0	0	0.00	1	0	0	0.33	10	40	20	23.33	30	30	50	36.67	652.83	25.55
BIII	T1	3	0	10	0	3.33	10	0	0	3.33	5	40	0	15.00	1	10	0	3.67	433.50	20.82

BIII	T1	4	20	0	0	6.67	10	60	0	23.33	5	40	0	15.00	20	30	20	23.33	1061.67	32.58
BIII	T1	5	0	0	0	0.00	10	0	0	3.33	50	30	10	30.00	10	30	0	13.33	721.67	26.86
BIII	T1	6	0	0	0	0.00	20	40	0	20.00	1	0	0	0.33	30	5	0	11.67	540.50	23.25
BIII	T1	7	0	0	0	0.00	60	5	10	25.00	70	5	0	25.00	30	10	0	13.33	1135.83	33.70
BIII	T1	8	20	0	0	6.67	20	40	0	20.00	10	0	0	3.33	30	5	10	15.00	715.83	26.76
BIII	T1	9	30	30	0	20.00	5	40	0	15.00	0	0	0	0.00	40	50	0	30.00	817.50	28.59
BIII	T1	10	0	0	0	0.00	20	20	0	13.33	10	10	0	6.67	20	5	0	8.33	485.83	22.04
BI	T2	1	40	0	0	13.33	40	0	0	13.33	10	20	0	10.00	5	10	0	5.00	730.83	27.03
BI	T2	2	0	0	0	0.00	20	10	0	10.00	5	20	30	18.33	30	10	20	20.00	693.33	26.33
BI	T2	3	0	0	5	1.67	20	20	30	23.33	10	20	0	10.00	40	40	40	40.00	983.33	31.36
BI	T2	4	0	0	20	6.67	5	10	10	8.33	30	50	0	26.67	10	30	60	33.33	985.83	31.40
BI	T2	5	0	0	0	0.00	40	0	0	13.33	5	20	30	18.33	20	10	0	10.00	716.67	26.77
BI	T2	6	0	0	0	0.00	5	5	5	5.00	30	20	20	25.00	30	30	20	26.67	739.17	27.19
BI	T2	7	5	0	5	3.33	20	0	0	6.67	5	30	20	18.33	30	20	20	23.33	683.33	26.14
BI	T2	8	0	0	5	1.67	50	0	0	16.67	20	0	50	23.33	80	20	20	40.00	1080.00	32.86
BI	T2	9	0	0	0	0.00	20	10	0	10.00	30	10	20	20.00	40	30	20	30.00	780.00	27.93
BI	T2	10	0	0	0	0.00	5	40	20	21.67	30	20	0	16.67	30	70	50	50.00	1100.83	33.18
BIII	T2	1	20	0	0	6.67	10	0	0	3.33	40	0	30	23.33	40	0	0	13.33	695.00	26.36
BIII	T2	2	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	5	40	0	15.00	50	60	0	36.67	486.67	22.06
BIII	T2	3	0	0	0	0.00	10	0	0	3.33	5	60	20	28.33	40	5	30	25.00	754.17	27.46
BIII	T2	4	0	20	0	6.67	20	0	0	6.67	20	40	0	20.00	5	0	0	1.67	645.83	25.41
BIII	T2	5	0	0	0	0.00	30	0	0	10.00	30	10	0	13.33	0	0	0	0.00	488.33	22.10
BIII	T2	6	0	0	0	0.00	5	20	0	8.33	20	30	0	16.67	0	0	0	0.00	512.50	22.64
BIII	T2	7	0	0	0	0.00	10	0	0	3.33	30	40	0	23.33	20	0	0	6.67	558.33	23.63
BIII	T2	8	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	5	10	50	21.67	1	0	0	0.33	413.50	20.33
BIII	T2	9	0	0	0	0.00	80	0	0	26.67	5	10	10	8.33	0	0	0	0.00	785.00	28.02
BIII	T2	10	0	0	0	0.00	20	0	0	6.67	20	20	30	23.33	50	50	40	46.67	856.67	29.27
BIII	T2	1	30	0	0	10.00	30	0	0	10.00	30	30	20	26.67	30	5	0	11.67	955.83	30.92
BIII	T2	2	0	0	0	0.00	10	5	0	5.00	5	20	20	15.00	40	40	10	30.00	567.50	23.82
BIII	T2	3	0	0	5	1.67	20	10	20	16.67	10	40	10	20.00	40	30	40	36.67	998.33	31.60
BIII	T2	4	0	10	10	6.67	20	5	5	10.00	0	50	20	23.33	10	20	30	20.00	888.33	29.80
BIII	T2	5	0	0	0	0.00	20	0	0	6.67	50	5	0	18.33	10	5	0	5.00	532.50	23.08
BIII	T2	6	0	0	0	0.00	5	20	5	10.00	20	20	10	16.67	20	20	10	16.67	643.33	25.36

BIII	T2	7	5	0	5	3.33	20	0	0	6.67	20	40	10	23.33	30	10	10	16.67	741.67	27.23
BIII	T2	8	0	0	5	1.67	30	0	0	10.00	20	20	50	30.00	50	10	10	23.33	958.33	30.96
BIII	T2	9	0	0	0	0.00	50	5	0	18.33	20	10	20	16.67	20	20	10	16.67	839.17	28.97
BIII	T2	10	0	0	0	0.00	30	1	10	13.67	30	20	20	23.33	40	60	5	35.00	957.00	30.94
BI	T3	1	0	0	0	0.00	5	10	30	15.00	1	1	50	17.33	30	20	0	16.67	773.50	27.81
BI	T3	2	5	0	1	2.00	5	0	0	1.67	10	40	30	26.67	10	20	0	10.00	630.83	25.12
BI	T3	3	1	0	0	0.33	20	0	0	6.67	20	1	1	7.33	30	30	0	20.00	411.00	20.27
BI	T3	4	20	5	0	8.33	20	30	10	20.00	30	5	0	11.67	5	20	20	15.00	899.17	29.99
BI	T3	5	0	0	0	0.00	20	5	0	8.33	20	5	0	8.33	30	0	0	10.00	409.17	20.23
BI	T3	6	0	0	0	0.00	10	10	0	6.67	5	10	20	11.67	5	70	0	25.00	515.83	22.71
BI	T3	9	20	5	10	11.67	30	10	0	13.33	5	20	20	15.00	50	0	40	30.00	938.33	30.63
BI	T3	8	0	0	1	0.33	20	10	0	10.00	1	50	40	30.33	10	40	20	23.33	944.67	30.74
BI	T3	9	0	0	0	0.00	50	0	0	16.67	20	30	0	16.67	5	0	0	1.67	717.50	26.79
BI	T3	10	20	0	5	8.33	30	0	0	10.00	5	5	10	6.67	10	70	30	36.67	688.33	26.24
BIII	T3	1	0	2.5	5	2.50	5	15	20	13.33	5	1	20	8.67	30	10	0	13.33	588.83	24.27
BIII	T3	2	1	0	20	7.00	10	1	20	10.33	1	30	40	23.67	5	10	0	5.00	825.00	28.72
BIII	T3	3	0	5	20	8.33	10	0	0	3.33	10	1	1	4.00	50	20	40	36.67	481.00	21.93
BIII	T3	4	10	1	1	4.00	15	15	5	11.67	20	40	0	20.00	5	20	20	15.00	796.67	28.23
BIII	T3	5	0	0	0	0.00	10	20	5	11.67	10	50	0	20.00	30	0	0	10.00	709.17	26.63
BIII	T3	6	0	0	2.5	0.83	5	20	1	8.67	30	20	10	20.00	20	40	0	20.00	706.17	26.57
BIII	T3	7	10	1	5	5.33	20	5	0	8.33	10	25	10	15.00	20	30	40	30.00	725.83	26.94
BIII	T3	8	0	0	1	0.33	10	10	10	10.00	0	40	30	23.33	40	30	10	26.67	830.00	28.81
BIII	T3	9	10	0	0	3.33	30	5	5	13.33	40	20	5	21.67	5	1	20	8.67	822.67	28.68
BIII	T3	10	20	0	1	7.00	30	15	0	15.00	5	10	5	6.67	5	50	10	21.67	703.33	26.52
BIII	T3	1	0	5	10	5.00	5	20	0	8.33	10	1	0	3.67	40	5	0	15.00	423.00	20.57
BIII	T3	2	0	0	5	1.67	0	1	30	10.33	1	20	50	23.67	1	5	0	2.00	728.50	26.99
BIII	T3	3	0	10	10	6.67	0	0	0	0.00	5	0	0	1.67	80	1	70	50.33	408.50	20.21
BIII	T3	4	0	0	20	6.67	10	0	0	3.33	1	80	0	27.00	1	10	20	10.33	748.17	27.35
BIII	T3	5	0	0	0	0.00	5	30	10	15.00	1	60	0	20.33	30	0	0	10.00	793.83	28.18
BIII	T3	6	0	0	5	1.67	1	30	1	10.67	50	20	0	23.33	30	10	0	13.33	792.33	28.15
BIII	T3	7	0	0	0	0.00	1	0	0	0.33	80	30	0	36.67	1	5	30	12.00	770.50	27.76
BIII	T3	8	0	0	0	0.00	5	5	20	10.00	50	5	10	21.67	80	20	0	33.33	830.00	28.81
BIII	T3	9	20	0	0	6.67	10	10	10	10.00	50	1	10	20.33	1	5	50	18.67	824.00	28.71

BIII	T3	10	20	0	0	6.67	30	30	0	20.00	5	20	0	8.33	1	20	0	7.00	766.83	27.69
BI	T4	1	20	0	0	6.67	20	20	0	13.33	30	20	5	18.33	40	5	20	21.67	880.83	29.68
BI	T4	2	0	0	0	0.00	30	30	0	20.00	10	30	10	16.67	40	40	5	28.33	942.50	30.70
BI	T4	3	0	0	0	0.00	10	5	40	18.33	20	20	5	15.00	50	30	0	26.67	862.50	29.37
BI	T4	4	0	0	0	0.00	30	1	0	10.33	40	40	0	26.67	40	5	20	21.67	868.67	29.47
BI	T4	5	30	10	0	13.33	10	0	0	3.33	40	10	0	16.67	30	60	30	40.00	815.00	28.55
BI	T4	6	20	0	0	6.67	30	20	0	16.67	0	30	10	13.33	50	10	10	23.33	873.33	29.55
BI	T4	7	0	10	0	3.33	30	30	0	20.00	30	10	0	13.33	10	30	20	20.00	883.33	29.72
BI	T4	8	20	0	0	6.67	5	0	20	8.33	40	20	10	23.33	40	40	0	26.67	885.83	29.76
BI	T4	9	20	0	0	6.67	20	10	10	13.33	40	5	0	15.00	50	20	0	23.33	826.67	28.75
BI	T4	10	20	10	0	10.00	5	30	0	11.67	30	20	0	16.67	40	0	40	26.67	887.50	29.79
BII	T4	1	0	0	30	10.00	20	0	20	13.33	40	30	10	26.67	70	10	40	40.00	1190.00	34.50
BII	T4	2	0	0	0	0.00	40	50	0	30.00	20	20	20	20.00	30	50	0	26.67	1231.67	35.10
BII	T4	3	30	0	0	10.00	20	20	30	23.33	5	5	40	16.67	70	0	0	23.33	1143.33	33.81
BII	T4	4	0	0	0	0.00	40	0	0	13.33	70	50	0	40.00	50	5	30	28.33	1229.17	35.06
BII	T4	5	0	0	20	6.67	0	30	0	10.00	70	20	0	30.00	40	90	50	60.00	1235.00	35.14
BII	T4	6	0	0	20	6.67	40	0	0	13.33	30	50	20	33.33	30	20	20	23.33	1175.00	34.28
BII	T4	7	0	0	0	0.00	50	40	10	33.33	20	20	0	13.33	5	30	40	25.00	1174.17	34.27
BII	T4	8	0	0	0	0.00	5	30	30	21.67	10	30	40	26.67	60	50	0	36.67	1217.50	34.89
BII	T4	9	0	0	0	0.00	40	20	20	26.67	60	5	0	21.67	80	0	0	26.67	1185.00	34.42
BII	T4	10	0	0	20	6.67	0	0	0	0.00	40	50	30	40.00	50	50	80	60.00	1190.00	34.50
BIII	T4	1	10	0	20	10.00	20	10	10	13.33	30	20	10	20.00	50	10	30	30.00	1008.33	31.75
BIII	T4	2	0	0	0	0.00	40	10	0	16.67	40	20	10	23.33	40	40	5	28.33	990.83	31.48
BIII	T4	3	20	0	0	6.67	20	10	30	20.00	20	10	30	20.00	20	10	30	20.00	1060.00	32.56
BIII	T4	4	0	0	0	0.00	20	50	0	23.33	40	1	0	13.67	40	1	20	20.33	919.83	30.33
BIII	T4	5	20	5	10	11.67	5	20	0	8.33	50	20	0	23.33	30	20	40	30.00	979.17	31.29
BIII	T4	6	10	0	10	6.67	40	10	0	16.67	40	20	0	20.00	40	10	10	20.00	981.67	31.33
BIII	T4	7	0	5	0	1.67	40	10	5	18.33	20	40	0	20.00	10	40	30	26.67	982.50	31.34
BIII	T4	8	10	0	0	3.33	5	20	30	18.33	20	20	30	23.33	50	20	30	33.33	1107.50	33.28
BIII	T4	9	10	0	0	3.33	30	10	15	18.33	50	10	0	20.00	60	10	0	23.33	989.17	31.45
BIII	T4	10	10	5	10	8.33	30	10	0	13.33	5	40	10	18.33	5	10	60	25.00	924.17	30.40
BI	T5	1	5	0	5	3.33	30	30	10	23.33	5	50	0	18.33	50	50	40	46.67	1203.33	34.69
BI	T5	2	0	0	30	10.00	30	40	5	25.00	10	40	5	18.33	5	50	0	18.33	1186.67	34.45

BI	T5	3	20	5	0	8.33	30	0	0	10.00	10	20	0	10.00	80	30	30	46.67	806.67	28.40
BI	T5	4	0	0	0	0.00	20	0	0	6.67	10	20	70	33.33	10	1	50	20.33	901.83	30.03
BI	T5	5	0	5	20	8.33	80	30	40	50.00	30	30	10	23.33	50	20	50	40.00	1963.33	44.31
BI	T5	6	0	0	0	0.00	40	0	0	13.33	30	20	0	16.67	30	5	30	21.67	749.17	27.37
BI	T5	7	0	0	40	13.33	20	0	0	6.67	20	40	0	20.00	70	50	0	40.00	956.67	30.93
BI	T5	8	30	20	0	16.67	20	0	0	6.67	20	5	20	15.00	1	50	0	17.00	785.17	28.02
BI	T5	9	0	0	0	0.00	5	40	50	31.67	30	30	20	26.67	80	20	50	50.00	1525.83	39.06
BI	T5	10	10	40	0	16.67	10	0	0	3.33	50	50	30	43.33	40	20	0	20.00	1261.67	35.52
BI	T5	1	0	0	0	0.00	20	0	0	6.67	0	30	40	23.33	1	0	70	23.67	730.17	27.02
BI	T5	2	0	0	0	0.00	30	0	0	10.00	5	60	0	21.67	20	40	0	20.00	756.67	27.51
BI	T5	3	0	0	0	0.00	1	0	0	0.33	30	20	5	18.33	30	30	5	21.67	475.33	21.80
BI	T5	4	20	0	10	10.00	1	50	0	17.00	20	0	50	23.33	5	0	70	25.00	1130.33	33.62
BI	T5	5	30	0	0	10.00	20	0	0	6.67	30	5	80	38.33	50	70	0	40.00	1255.00	35.43
BI	T5	6	0	30	0	10.00	10	0	0	3.33	20	10	20	16.67	1	30	0	10.33	601.83	24.53
BI	T5	7	20	20	10	16.67	10	0	0	3.33	30	5	0	11.67	20	30	20	23.33	678.33	26.04
BI	T5	8	0	10	0	3.33	10	0	0	3.33	10	10	10	10.00	10	50	30	30.00	483.33	21.98
BI	T5	9	0	0	0	0.00	30	50	0	26.67	5	20	0	8.33	0	0	0	0.00	785.00	28.02
BI	T5	10	0	10	0	3.33	20	0	0	6.67	50	5	0	18.33	1	30	0	10.33	611.83	24.74
BI	T5	1	5	0	5	3.33	20	20	5	15.00	10	20	60	30.00	30	30	50	36.67	1174.17	34.27
BI	T5	2	0	0	10	3.33	30	20	5	18.33	10	30	5	15.00	10	40	0	16.67	857.50	29.28
BI	T5	3	10	5	0	5.00	20	0	0	6.67	20	20	5	15.00	50	30	20	33.33	700.00	26.46
BI	T5	4	10	0	5	5.00	10	20	0	10.00	20	10	5	11.67	10	5	60	25.00	669.17	25.87
BI	T5	5	20	20	0	13.33	30	20	5	18.33	10	5	50	21.67	50	40	5	31.67	1216.67	34.88
BI	T5	6	0	15	0	5.00	30	0	0	10.00	30	20	10	20.00	20	20	20	20.00	800.00	28.28
BI	T5	7	10	10	30	16.67	20	0	0	6.67	30	30	0	20.00	50	40	10	33.33	970.00	31.14
BI	T5	8	20	15	0	11.67	20	0	0	6.67	20	10	20	16.67	10	50	20	26.67	795.00	28.20
BI	T5	9	0	0	0	0.00	20	50	30	33.33	20	20	10	16.67	40	10	30	26.67	1246.67	35.31
BI	T5	10	5	25	0	10.00	20	0	0	6.67	50	30	20	33.33	20	30	0	16.67	1031.67	32.12
BI	T6	1	30	0	0	10.00	60	0	0	20.00	20	20	30	23.33	50	5	5	20.00	1173.33	34.25
BI	T6	2	20	20	0	13.33	10	50	0	20.00	30	20	10	20.00	50	50	0	33.33	1233.33	35.12
BI	T6	3	30	10	0	13.33	1	20	20	13.67	90	0	0	30.00	80	0	0	26.67	1237.83	35.18
BI	T6	4	0	0	10	3.33	5	50	5	20.00	20	10	60	30.00	20	20	0	13.33	1163.33	34.11
BI	T6	5	30	0	0	10.00	50	10	0	20.00	20	10	30	20.00	50	5	5	20.00	1110.00	33.32

BI	T6	6	30	0	0	10.00	5	40	0	15.00	5	40	0	30	25.00	40	5	30	25.00	1115.00	33.39
BI	T6	7	20	30	0	16.67	5	50	0	18.33	20	30	0	30	26.67	30	30	0	20.00	1297.50	36.02
BI	T6	8	0	0	30	10.00	5	30	0	11.67	20	40	0	30	30.00	30	10	20	20.00	1104.17	33.23
BI	T6	9	0	20	1	7.00	60	0	0	20.00	1	80	0	0	27.00	0	5	60	21.67	1207.17	34.74
BI	T6	10	0	0	0	0.00	80	0	0	26.67	5	20	0	50	25.00	50	0	0	16.67	1193.33	34.54
BII	T6	1	0	0	5	1.67	30	20	50	33.33	5	70	0	0	25.00	1	0	0	0.33	1285.17	35.85
BII	T6	2	0	0	20	6.67	10	30	30	23.33	5	50	0	0	18.33	5	60	50	38.33	1207.50	34.75
BII	T6	3	0	0	20	6.67	30	40	0	23.33	40	0	20	20.00	0	70	30	33.33	1211.67	34.81	
BII	T6	4	0	0	30	10.00	40	20	0	20.00	20	20	20	20	20.00	40	1	70	37.00	1203.50	34.69
BII	T6	5	0	10	30	13.33	20	20	20	20.00	40	30	0	0	23.33	20	50	0	23.33	1241.67	35.24
BII	T6	6	0	0	0	0.00	30	20	20	23.33	30	40	30	0	33.33	0	0	0	0.00	1181.67	34.38
BII	T6	7	0	0	40	13.33	30	0	20	16.67	50	5	30	28.33	30	30	30	30.00	1295.00	35.99	
BII	T6	8	0	0	10	3.33	30	0	10	13.33	40	70	0	0	36.67	30	20	30	26.67	1206.67	34.74
BII	T6	9	0	0	30	10.00	60	0	0	20.00	10	60	5	10	25.00	1	5	10	5.33	1124.33	33.53
BII	T6	10	30	0	0	10.00	10	0	20	10.00	20	70	30	0	40.00	40	0	0	13.33	1218.33	34.90
BIII	T6	1	30	20	0	16.67	10	5	50	21.67	5	30	0	0	11.67	10	50	80	46.67	1237.50	35.18
BIII	T6	2	30	20	0	16.67	1	40	1	14.00	50	20	0	0	23.33	5	5	40	16.67	1114.00	33.38
BIII	T6	3	20	0	0	6.67	90	0	10	33.33	1	20	0	0	7.00	20	40	60	40.00	1236.33	35.16
BIII	T6	4	5	0	0	1.67	10	50	5	21.67	30	20	30	0	26.67	30	30	0	20.00	1150.83	33.92
BIII	T6	5	60	40	0	33.33	20	50	0	23.33	20	10	0	0	10.00	20	0	0	6.67	1275.00	35.71
BIII	T6	6	0	20	5	8.33	40	5	30	25.00	20	50	0	0	23.33	1	40	0	13.67	1231.00	35.09
BIII	T6	7	0	5	50	18.33	1	5	60	22.00	20	20	0	0	13.33	20	20	0	13.33	1118.67	33.45
BIII	T6	8	20	0	0	6.67	0	0	90	30.00	30	20	0	0	16.67	10	10	30	16.67	1213.33	34.83
BIII	T6	9	60	20	0	26.67	20	20	0	13.33	40	20	0	0	20.00	20	0	0	6.67	1130.00	33.62
BIII	T6	10	20	0	30	16.67	1	20	40	20.33	50	20	0	0	23.33	0	40	0	13.33	1244.50	35.28
BI	T7	1	5	20	0	8.33	1	10	0	3.67	5	20	60	0	28.33	20	20	0	13.33	822.83	28.69
BI	T7	2	0	20	10	10.00	1	5	5	3.67	40	10	30	0	26.67	10	40	0	16.67	834.50	28.89
BI	T7	3	50	0	0	16.67	20	0	0	6.67	10	40	60	0	36.67	30	0	0	10.00	1158.33	34.03
BI	T7	4	10	20	10	13.33	10	0	0	3.33	10	30	30	0	23.33	20	10	80	36.67	923.33	30.39
BI	T7	5	0	0	0	0.00	10	20	0	10.00	30	80	20	0	43.33	0	0	0	0.00	1058.33	32.53
BI	T7	6	0	5	0	1.67	30	30	0	20.00	5	20	30	0	18.33	80	80	0	53.33	1136.67	33.71
BI	T7	7	20	0	0	6.67	30	0	0	10.00	20	20	0	0	13.33	20	0	0	6.67	625.00	25.00
BI	T7	8	20	5	10	11.67	50	20	0	23.33	30	30	0	0	20.00	30	60	0	30.00	1268.33	35.61

BI	T7	9	0	0	0	0.00	10	0	0	3.33	50	30	0	26.67	20	10	0	10.00	640.00	25.30
BI	T7	10	0	0	0	0.00	5	0	0	1.67	5	30	60	31.67	0	0	0	0.00	640.83	25.31
BII	T7	1	20	0	1	7.00	5	20	30	18.33	20	20	30	23.33	40	50	10	33.33	1162.50	34.10
BII	T7	2	0	10	20	10.00	10	5	5	6.67	30	5	20	18.33	30	50	10	30.00	820.00	28.64
BII	T7	3	30	0	0	10.00	20	5	10	11.67	30	30	30	30.00	20	5	10	11.67	1058.33	32.53
BII	T7	4	20	10	5	11.67	10	10	10	10.00	20	20	20	20.00	40	20	40	33.33	973.33	31.20
BII	T7	5	0	0	10	3.33	20	20	0	13.33	20	50	10	26.67	10	30	5	15.00	952.50	30.86
BII	T7	6	20	30	0	16.67	50	0	20	23.33	5	10	20	11.67	50	50	20	40.00	1240.00	35.21
BII	T7	7	10	10	5	8.33	5	20	20	15.00	20	10	0	10.00	20	40	0	20.00	777.50	27.88
BII	T7	8	20	10	5	11.67	60	5	20	28.33	30	0	40	23.33	40	10	20	23.33	1412.50	37.58
BII	T7	9	0	0	5	1.67	20	5	5	10.00	50	20	5	25.00	20	30	50	33.33	918.33	30.30
BII	T7	10	10	20	10	13.33	30	5	0	11.67	20	20	30	23.33	30	20	10	20.00	1027.50	32.05
BIII	T7	1	20	30	0	16.67	5	30	50	28.33	20	20	0	13.33	5	70	20	31.67	1343.33	36.65
BIII	T7	2	0	0	50	16.67	10	0	0	3.33	5	0	0	1.67	60	50	20	43.33	598.33	24.46
BIII	T7	3	0	0	0	0.00	10	10	20	13.33	50	5	0	18.33	30	5	20	18.33	762.50	27.61
BIII	T7	4	20	0	0	6.67	1	20	20	13.67	20	5	0	8.33	50	30	0	26.67	726.17	26.95
BIII	T7	5	0	30	0	10.00	30	10	0	13.33	10	20	0	10.00	20	50	5	25.00	790.83	28.12
BIII	T7	6	1	50	0	17.00	60	5	30	31.67	5	0	0	1.67	1	20	30	17.00	1124.33	33.53
BIII	T7	7	20	20	10	16.67	10	30	30	23.33	1	0	0	0.33	20	80	0	33.33	988.00	31.43
BIII	T7	8	0	0	0	0.00	30	40	30	33.33	20	20	40	26.67	50	30	40	40.00	1510.00	38.86
BIII	T7	9	0	0	0	0.00	30	10	10	16.67	40	1	10	17.00	10	50	90	50.00	989.67	31.46
BIII	T7	5	20	30	20	23.33	50	10	0	20.00	20	20	0	13.33	50	30	20	33.33	1256.67	35.45
BI	T8	1	20	5	1	8.67	30	20	0	16.67	10	20	30	20.00	60	50	50	53.33	1195.00	34.57
BI	T8	2	0	0	20	6.67	0	10	0	3.33	50	50	20	40.00	1	20	50	23.67	1068.50	32.69
BI	T8	3	30	5	5	13.33	5	20	0	8.33	50	40	0	30.00	20	30	0	16.67	1057.50	32.52
BI	T8	4	10	0	10	6.67	20	20	0	13.33	50	20	20	30.00	40	0	20	20.00	1093.33	33.07
BI	T8	5	10	0	5	5.00	20	20	0	13.33	5	50	30	28.33	5	30	60	31.67	1100.83	33.18
BI	T8	6	1	5	10	5.33	40	0	0	13.33	30	40	20	30.00	50	0	0	16.67	1055.00	32.48
BI	T8	7	0	0	20	6.67	10	30	0	13.33	10	20	30	20.00	90	30	0	40.00	1013.33	31.83
BI	T8	8	5	0	0	1.67	40	0	30	23.33	50	30	1	27.00	60	20	0	26.67	1233.00	35.11
BI	T8	9	10	5	0	5.00	40	0	10	16.67	5	50	30	28.33	5	50	10	21.67	1124.17	33.53
BI	T8	10	20	10	0	10.00	10	5	20	11.67	20	10	40	23.33	60	5	20	28.33	1023.33	31.99
BII	T8	1	0	0	0	0.00	40	40	0	26.67	50	50	0	33.33	70	1	5	25.33	1399.33	37.41

BII	T8	2	0	0	0	0	0.00	50	0	0	16.67	5	5	80	30.00	30	80	50	53.33	1255.00	35.43
BII	T8	3	0	20	20	13.33	30	30	0	0	10.00	70	40	0	36.67	20	50	0	23.33	1260.00	35.50
BII	T8	4	30	20	20	23.33	20	20	0	0	6.67	10	30	60	33.33	20	50	0	23.33	1268.33	35.61
BII	T8	5	0	0	0	0.00	50	50	0	0	16.67	5	5	80	30.00	30	80	50	53.33	1255.00	35.43
BII	T8	6	0	0	20	6.67	30	30	0	0	10.00	70	30	20	40.00	20	50	0	23.33	1223.33	34.98
BII	T8	7	30	10	0	13.33	30	30	0	0	10.00	90	20	0	36.67	80	0	0	26.67	1278.33	35.75
BII	T8	8	0	0	0	0.00	50	50	0	0	16.67	40	60	0	33.33	5	30	50	28.33	1180.83	34.36
BII	T8	9	0	30	0	10.00	20	20	0	0	13.33	50	10	0	20.00	40	80	30	50.00	1118.33	33.44
BII	T8	10	0	10	0	3.33	5	60	0	0	21.67	70	20	0	30.00	50	1	10	20.33	1241.00	35.23
BIII	T8	1	50	20	30	33.33	5	0	0	0	1.67	30	20	30	26.67	10	30	0	13.33	1119.17	33.45
BIII	T8	2	0	0	30	10.00	20	1	10	10	10.33	30	80	0	36.67	0	60	50	36.67	1291.17	35.93
BIII	T8	3	30	5	0	11.67	5	5	10	6.67	30	50	50	50	43.33	50	0	0	16.67	1246.67	35.31
BIII	T8	4	50	0	0	16.67	20	0	10	10.00	100	0	0	0	33.33	30	20	0	16.67	1210.00	34.79
BIII	T8	5	0	10	5	5.00	5	20	0	0	8.33	50	50	0	33.33	5	50	50	35.00	1096.67	33.12
BIII	T8	6	0	30	10	13.33	5	50	0	0	18.33	60	5	0	21.67	1	10	50	20.33	1154.33	33.98
BIII	T8	7	70	20	0	30.00	20	1	5	8.67	1	30	30	30	20.33	10	50	0	20.00	1150.00	33.91
BIII	T8	8	30	20	5	18.33	5	40	0	15.00	30	5	5	5	13.33	80	20	20	40.00	1100.83	33.18
BIII	T8	9	0	5	30	11.67	10	10	20	13.33	1	0	0	70	23.67	70	30	0	33.33	1121.33	33.49
BIII	T8	10	0	0	30	10.00	5	0	0	1.67	100	20	20	0	40.00	10	10	80	33.33	1132.50	33.65
BI	T9	1	50	5	0	18.33	30	5	30	21.67	20	20	20	40	26.67	30	50	50	43.33	1529.17	39.10
BI	T9	2	0	1	20	7.00	20	10	50	26.67	5	10	0	0	5.00	10	40	20	23.33	955.00	30.90
BI	T9	3	30	0	0	10.00	10	10	10	10.00	20	20	20	0	13.33	40	70	10	40.00	858.33	29.30
BI	T9	4	0	0	20	6.67	5	30	0	11.67	60	0	0	90	50.00	5	10	0	5.00	1351.67	36.77
BI	T9	5	50	1	5	18.67	60	10	30	33.33	5	1	50	50	18.67	20	50	30	33.33	1601.33	40.02
BI	T9	6	5	0	0	1.67	20	20	10	16.67	5	20	60	60	28.33	20	30	20	23.33	1083.33	32.91
BI	T9	7	20	0	0	6.67	1	5	20	8.67	30	5	30	30	21.67	80	10	20	36.67	917.00	30.28
BI	T9	8	5	5	0	3.33	20	0	0	6.67	20	50	20	20	30.00	40	20	40	33.33	960.00	30.98
BI	T9	9	10	0	0	3.33	0	0	0	0.00	50	30	30	30	36.67	20	30	20	23.33	875.00	29.58
BI	T9	10	0	0	0	0.00	10	30	30	23.33	10	10	10	20	13.33	20	20	40	26.67	948.33	30.80
BII	T9	1	0	0	30	10.00	0	80	5	28.33	5	30	10	10	15.00	50	20	0	23.33	1229.17	35.06
BII	T9	2	0	0	50	16.67	5	0	0	1.67	50	50	50	0	33.33	1	70	80	50.33	1199.33	34.63
BII	T9	3	0	0	0	0.00	70	10	0	26.67	10	10	0	0	6.67	10	70	30	36.67	955.00	30.90
BII	T9	4	0	0	0	0.00	30	30	10	23.33	30	0	0	0	10.00	40	1	0	13.67	813.50	28.52

BII	T9	5	0	0	10	3.33	40	0	0	13.33	5	0	0	1.67	5	90	80	58.33	715.83	26.76
BII	T9	6	0	0	10	3.33	20	40	40	33.33	20	10	0	10.00	50	30	60	46.67	1280.00	35.78
BII	T9	7	0	0	10	3.33	5	20	0	8.33	10	20	0	10.00	30	70	0	33.33	619.17	24.88
BII	T9	8	0	0	0	0.00	5	50	0	18.33	70	0	0	23.33	30	50	30	36.67	1075.83	32.80
BII	T9	9	0	0	0	0.00	1	50	0	17.00	10	5	0	5.00	50	0	0	16.67	586.17	24.21
BII	T9	10	0	0	0	0.00	30	20	0	16.67	30	0	0	10.00	10	30	0	13.33	655.00	25.59
BIII	T9	1	30	5	0	11.67	30	0	40	23.33	20	30	5	18.33	40	40	30	36.67	1273.33	35.68
BIII	T9	2	0	1	40	13.67	20	5	30	18.33	30	30	0	20.00	10	60	50	40.00	1235.83	35.15
BIII	T9	3	20	0	0	6.67	40	10	5	18.33	20	20	0	13.33	30	70	20	40.00	1004.17	31.69
BIII	T9	4	0	0	10	3.33	20	30	5	18.33	50	20	50	40.00	30	10	0	13.33	1314.17	36.25
BIII	T9	5	30	1	5	12.00	40	20	20	26.67	5	1	30	12.00	20	70	20	36.67	1236.33	35.16
BIII	T9	6	5	0	5	3.33	20	30	30	26.67	20	20	30	23.33	40	30	40	36.67	1321.67	36.35
BIII	T9	7	10	0	5	5.00	5	20	10	11.67	20	20	20	20.00	60	40	10	36.67	930.83	30.51
BIII	T9	8	5	5	0	3.33	20	30	0	16.67	50	5	10	21.67	40	40	40	40.00	1073.33	32.76
BIII	T9	9	5	0	10	5.00	1	30	0	10.33	10	20	20	16.67	40	20	10	23.33	762.83	27.62
BIII	T9	10	0	0	0	0.00	20	20	20	20.00	20	5	10	11.67	20	30	20	23.33	820.00	28.64
BI	T10	1	0	0	0	0.00	10	0	0	3.33	1	30	0	10.33	5	20	50	25.00	412.17	20.30
BI	T10	2	0	0	0	0.00	0	20	20	13.33	30	10	30	23.33	10	0	0	3.33	775.00	27.84
BI	T10	3	10	0	0	3.33	20	0	0	6.67	5	5	0	3.33	30	0	0	10.00	325.00	18.03
BI	T10	4	0	0	0	0.00	10	0	0	3.33	10	20	60	30.00	5	0	80	28.33	804.17	28.36
BI	T10	5	0	0	0	0.00	30	0	0	10.00	5	5	0	3.33	5	30	20	18.33	399.17	19.98
BI	T10	6	0	0	0	0.00	30	5	10	15.00	5	20	0	8.33	5	10	0	5.00	538.33	23.20
BI	T10	7	20	0	0	6.67	30	5	20	18.33	20	0	0	6.67	80	10	0	30.00	822.50	28.68
BI	T10	8	0	0	0	0.00	5	20	0	8.33	10	0	0	3.33	20	50	0	23.33	387.50	19.69
BI	T10	9	0	0	0	0.00	30	0	0	10.00	30	20	0	16.67	40	0	0	13.33	625.00	25.00
BI	T10	10	20	0	0	6.67	0	40	20	20.00	10	0	0	3.33	50	10	5	21.67	752.50	27.43
BII	T10	1	0	20	0	6.67	30	20	5	18.33	30	0	80	36.67	5	0	0	1.67	1236.67	35.17
BII	T10	2	0	20	0	6.67	30	0	0	10.00	5	5	70	26.67	20	0	0	6.67	878.33	29.64
BII	T10	3	0	40	0	13.33	40	0	0	13.33	20	20	20	20.00	60	0	0	20.00	1003.33	31.68
BII	T10	4	0	0	0	0.00	40	0	0	13.33	20	60	60	46.67	50	5	5	20.00	1310.00	36.19
BII	T10	5	0	0	0	0.00	50	30	1	27.00	30	60	20	36.67	20	0	0	6.67	1367.83	36.98
BII	T10	6	50	0	0	16.67	80	0	0	26.67	20	5	0	8.33	30	95	50	58.33	1355.83	36.82
BII	T10	7	0	0	0	0.00	20	10	50	26.67	30	10	5	15.00	1	20	20	13.67	986.83	31.41

BII	T10	8	0	0	0	0.00	40	0	0	13.33	20	0	0	6.67	80	10	20	36.67	641.67	25.33
BII	T10	9	0	0	0	0.00	20	0	0	6.67	5	30	20	18.33	30	70	30	43.33	743.33	27.26
BII	T10	10	0	0	0	0.00	10	0	0	3.33	30	50	0	26.67	1	30	30	20.33	696.83	26.40
BIII	T10	1	0	10	0	3.33	20	10	5	11.67	20	30	40	30.00	5	10	30	15.00	976.67	31.25
BIII	T10	2	0	10	0	3.33	30	10	10	16.67	20	10	50	26.67	20	0	0	6.67	985.00	31.38
BIII	T10	3	5	20	0	8.33	30	0	0	10.00	20	20	10	16.67	50	0	0	16.67	768.33	27.72
BIII	T10	4	0	0	0	0.00	30	0	0	10.00	20	0	60	26.67	30	30	50	36.67	943.33	30.71
BIII	T10	5	0	0	0	0.00	30	20	1	17.00	20	40	10	23.33	20	20	10	16.67	934.50	30.57
BIII	T10	6	5	0	0	1.67	40	5	5	16.67	20	20	0	13.33	20	60	30	36.67	871.67	29.52
BIII	T10	7	10	0	0	3.33	30	10	40	26.67	30	5	5	13.33	50	20	10	26.67	1076.67	32.81
BIII	T10	8	20	5	0	8.33	30	20	0	16.67	20	0	0	6.67	50	5	10	21.67	762.50	27.61
BIII	T10	9	0	0	0	0.00	30	0	0	10.00	20	20	10	16.67	40	40	20	33.33	735.00	27.11
BIII	T10	10	10	0	0	3.33	20	20	10	16.67	20	30	0	16.67	30	20	20	23.33	886.67	29.78
BI	T11	1	0	5	50	18.33	20	20	5	15.00	60	10	50	40.00	50	50	0	33.33	1570.83	39.63
BI	T11	2	10	0	20	10.00	20	70	20	36.67	30	40	50	40.00	40	20	40	33.33	1955.00	44.22
BI	T11	3	30	20	30	26.67	80	1	0	27.00	50	20	30	33.33	50	20	1	23.67	1798.00	42.40
BI	T11	4	0	20	30	16.67	30	30	5	21.67	70	10	50	43.33	50	40	20	36.67	1784.17	42.24
BI	T11	5	0	10	20	10.00	20	40	60	40.00	20	50	30	33.33	20	20	50	30.00	1888.33	43.45
BI	T11	6	0	5	0	1.67	40	30	30	33.33	10	70	30	36.67	50	30	40	40.00	1725.00	41.53
BI	T11	7	0	30	20	16.67	30	0	60	30.00	20	40	40	33.33	20	20	50	30.00	1753.33	41.87
BI	T11	8	40	20	0	20.00	40	30	5	25.00	50	10	60	40.00	30	0	0	10.00	1702.50	41.26
BI	T11	9	40	30	20	30.00	20	10	40	23.33	80	5	20	35.00	10	20	0	10.00	1718.33	41.45
BI	T11	10	0	0	40	13.33	10	10	40	20.00	40	30	70	46.67	40	20	0	20.00	1666.67	40.82
BII	T11	1	0	10	50	20.00	20	10	5	11.67	100	0	30	43.33	80	50	0	43.33	1635.83	40.45
BII	T11	2	0	0	30	10.00	20	90	20	43.33	20	30	40	30.00	60	1	70	43.67	1978.50	44.48
BII	T11	3	0	30	40	23.33	95	0	0	31.67	80	10	10	33.33	40	30	1	23.67	1857.67	43.10
BII	T11	4	0	10	50	20.00	5	40	5	16.67	100	0	30	43.33	80	50	0	43.33	1753.33	41.87
BII	T11	5	0	20	30	16.67	0	30	70	33.33	20	40	50	36.67	20	30	5	18.33	1830.83	42.79
BII	T11	6	0	0	0	0.00	50	40	30	40.00	0	100	10	36.67	30	50	80	53.33	1930.00	43.93
BII	T11	7	0	20	30	16.67	30	0	70	33.33	20	40	50	36.67	20	30	5	18.33	1830.83	42.79
BII	T11	8	0	5	0	1.67	40	20	0	20.00	80	0	100	60.00	20	0	0	6.67	1671.67	40.89
BII	T11	9	50	50	30	43.33	5	5	50	20.00	100	0	0	33.33	1	5	0	2.00	1764.33	42.00
BII	T11	10	0	0	50	16.67	5	10	50	21.67	20	20	100	46.67	60	0	0	20.00	1755.83	41.90

BIII	T11	1	0	0	50	16.67	10	30	1	13.67	20	20	70	36.67	10	40	0	16.67	1359.50	36.87
BIII	T11	2	20	0	0	6.67	10	50	10	23.33	40	40	60	46.67	5	20	10	11.67	1599.17	39.99
BIII	T11	3	50	0	10	20.00	60	1	0	20.33	10	20	40	23.33	60	0	0	20.00	1331.17	36.49
BIII	T11	4	0	20	5	8.33	40	20	5	21.67	40	20	60	40.00	20	20	40	26.67	1540.83	39.25
BIII	T11	5	0	0	0	0.00	40	40	40	40.00	10	60	10	26.67	10	5	80	31.67	1620.83	40.26
BIII	T11	6	0	10	0	3.33	30	20	20	23.33	20	40	50	36.67	70	5	0	25.00	1432.50	37.85
BIII	T11	7	0	40	0	13.33	30	0	40	23.33	10	40	30	26.67	20	10	80	36.67	1456.67	38.17
BIII	T11	8	80	20	0	33.33	30	40	5	25.00	20	20	10	16.67	30	0	0	10.00	1459.17	38.20
BIII	T11	9	20	10	5	11.67	20	10	30	20.00	60	5	30	31.67	10	30	0	13.33	1320.00	36.33
BIII	T11	10	0	0	20	6.67	10	10	30	16.67	60	30	40	43.33	20	40	0	20.00	1425.00	37.75

dds: días después de la siembra.

Prom: Datos promedio de severidad de tres hojas.

AUDPC: Área bajo la curva del progreso de la enfermedad.

Tabla 14. Evaluación de características morfológicas de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* spp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 - 2016

BLOQUE	TRATAMIENTO	PLANTA	Altura planta (cm)	Altura de panoja (cm)	Diámetro de Panoja (cm)	Peso seco bioma (g/planta)	Peso semillas (g/planta)	Rendimiento (Kg/ha)
BI	T1	1	94.50	28.50	7.50	34.73	10.50	2275.22
BI	T1	2	91.60	27.50	8.00	34.68	10.84	2347.80
BI	T1	3	94.00	31.00	8.00	36.61	16.52	3579.33
BI	T1	4	90.40	29.00	9.70	37.81	13.22	2863.47
BI	T1	5	89.40	30.00	7.40	38.01	9.91	2147.60
BI	T1	6	99.00	26.60	6.00	36.56	10.84	2348.67
BI	T1	7	93.00	25.40	6.50	30.72	10.18	2205.02
BI	T1	8	102.00	29.50	8.00	38.49	13.30	2881.23
BI	T1	9	100.50	28.00	8.50	39.80	17.70	3834.13
BI	T1	10	100.40	30.00	9.50	36.27	17.81	3857.75
BII	T1	1	98.25	31.00	7.75	39.15	13.69	3079.69
BII	T1	2	100.30	30.25	8.25	40.23	12.49	2810.36
BII	T1	3	98.75	30.50	8.50	41.46	17.37	3908.59
BII	T1	4	93.95	31.25	9.50	44.83	14.17	3187.46
BII	T1	5	95.20	30.50	8.20	43.96	12.41	2792.03
BII	T1	6	99.00	28.55	7.25	43.40	13.03	2932.76
BII	T1	7	96.75	27.85	7.85	40.65	12.16	2736.23
BII	T1	8	101.20	31.50	8.68	46.65	13.72	3087.34
BII	T1	9	104.40	32.35	9.00	45.92	15.92	3582.11
BII	T1	10	102.28	31.43	9.13	40.79	17.55	3948.19
BIII	T1	1	102.00	33.50	8.00	43.56	16.87	3656.03
BIII	T1	2	109.00	33.00	8.50	45.77	14.15	3064.75
BIII	T1	3	103.50	30.00	9.00	46.30	18.22	3948.32
BIII	T1	4	97.50	33.50	9.30	51.85	15.12	3275.35
BIII	T1	5	101.00	31.00	9.00	49.92	14.91	3229.63
BIII	T1	6	99.00	30.50	8.50	50.23	15.23	3299.62
BIII	T1	7	100.50	30.30	9.20	50.58	14.15	3064.75
BIII	T1	8	100.40	33.50	9.35	54.81	14.15	3064.75
BIII	T1	9	108.30	36.70	9.50	52.03	14.15	3064.75
BIII	T1	10	104.15	32.85	8.75	45.30	17.29	3746.17
BI	T2	1	100.00	23.00	8.00	53.57	19.44	2672.31
BI	T2	2	98.00	25.00	6.00	35.41	17.91	2462.49
BI	T2	3	82.70	20.00	4.80	18.14	18.73	2575.24
BI	T2	4	107.00	20.20	7.50	62.18	17.79	2445.44
BI	T2	5	89.00	24.00	4.50	54.94	21.35	2935.76
BI	T2	6	72.00	24.00	5.00	1.72	18.99	2611.26
BI	T2	7	81.00	20.00	7.50	3.35	19.06	2621.30
BI	T2	8	110.00	24.00	9.00	53.34	20.00	2750.41
BI	T2	9	107.00	23.00	6.50	50.83	21.49	2955.29
BI	T2	10	100.00	21.00	5.00	32.21	17.37	2388.51
BII	T2	1	105.00	24.00	7.25	48.08	22.85	4265.15
BII	T2	2	115.00	24.00	7.00	82.09	19.58	3655.31
BII	T2	3	90.35	21.50	6.40	25.48	18.38	3431.77
BII	T2	4	100.00	27.60	7.50	49.90	20.93	3907.21
BII	T2	5	104.50	26.00	6.50	64.80	18.14	3386.23

BII	T2	6	73.00	22.00	5.00	8.97	18.30	3415.16
BII	T2	7	84.00	22.00	6.75	13.47	19.17	3577.84
BII	T2	8	112.00	28.15	9.00	65.70	17.92	3345.16
BII	T2	9	98.85	29.00	6.25	50.24	21.29	3974.69
BII	T2	10	132.50	23.75	6.00	25.65	17.88	3337.69
BIII	T2	1	110.00	25.00	6.50	42.59	19.26	2279.46
BIII	T2	2	132.00	23.00	8.00	128.76	16.26	1923.51
BIII	T2	3	98.00	23.00	8.00	32.83	18.04	2134.73
BIII	T2	4	93.00	35.00	7.50	37.63	20.08	2375.90
BIII	T2	5	120.00	28.00	8.50	74.66	20.93	2476.72
BIII	T2	6	74.00	20.00	5.00	16.22	21.60	2556.00
BIII	T2	7	87.00	24.00	6.00	23.59	19.27	2280.28
BIII	T2	8	114.00	32.30	9.00	78.06	21.84	2584.16
BIII	T2	9	90.70	35.00	6.00	49.66	20.09	2377.67
BIII	T2	10	165.00	26.50	7.00	19.08	19.39	2294.48
BI	T3	1	133.50	35.50	7.30	51.41	16.81	2662.06
BI	T3	2	124.30	32.50	7.60	53.96	21.93	3471.46
BI	T3	3	126.46	33.00	7.00	49.66	22.22	3518.80
BI	T3	4	132.25	32.75	7.00	46.35	20.50	3245.52
BI	T3	5	128.63	33.18	7.00	46.04	18.77	2972.23
BI	T3	6	119.50	36.00	7.00	52.63	20.25	3206.73
BI	T3	7	125.00	33.60	6.00	44.33	16.29	2579.25
BI	T3	8	117.10	29.00	7.00	46.65	15.12	2394.63
BI	T3	9	104.00	30.00	7.60	45.35	16.36	2590.49
BI	T3	10	109.20	31.00	6.00	49.98	16.26	2574.03
BII	T3	1	91.00	30.20	7.20	37.09	15.28	3323.40
BII	T3	2	93.50	33.70	6.00	37.21	15.03	3267.94
BII	T3	3	101.00	33.50	8.50	40.62	14.50	3153.97
BII	T3	4	100.00	23.90	8.75	39.33	14.76	3210.95
BII	T3	5	99.00	29.30	8.00	37.05	13.03	2832.94
BII	T3	6	94.00	26.65	8.65	38.66	14.85	3228.79
BII	T3	7	89.00	34.00	8.30	40.28	16.67	3624.64
BII	T3	8	86.50	24.00	6.20	39.75	13.85	3011.29
BII	T3	9	89.50	24.30	5.40	38.72	14.67	3189.64
BII	T3	10	100.00	34.60	5.30	38.22	13.35	2903.41
BIII	T3	1	102.00	32.70	5.30	34.10	12.31	2770.65
BIII	T3	2	103.00	35.00	6.50	31.37	15.00	3375.45
BIII	T3	3	89.65	30.50	5.75	32.02	14.47	3255.19
BIII	T3	4	90.83	30.25	6.03	32.64	13.93	3134.93
BIII	T3	5	92.00	30.00	6.30	34.26	14.27	3211.20
BIII	T3	6	103.50	29.70	6.50	33.29	12.54	2820.60
BIII	T3	7	97.75	29.35	6.25	32.00	12.92	2907.45
BIII	T3	8	92.00	29.00	6.00	31.32	11.83	2660.85
BIII	T3	9	103.00	35.00	6.00	32.71	12.13	2729.70
BIII	T3	10	90.20	32.50	5.50	32.07	13.54	3045.38
BI	T4	1	82.60	27.75	4.25	24.85	10.36	1915.95
BI	T4	2	85.80	28.93	4.30	22.59	14.33	2651.42
BI	T4	3	89.00	30.10	4.35	23.33	12.06	2231.66
BI	T4	4	86.05	29.80	4.90	22.37	14.53	2687.68
BI	T4	5	83.05	29.50	4.95	25.41	12.99	2402.50
BI	T4	6	89.50	29.00	4.40	21.49	11.56	2138.60
BI	T4	7	86.28	29.75	4.45	23.33	12.28	2271.66
BI	T4	8	80.50	27.30	4.70	25.43	14.79	2735.87
BI	T4	9	84.00	30.10	4.50	21.68	10.98	2031.58
BI	T4	10	89.48	26.98	4.70	24.51	10.21	1888.25
BII	T4	1	98.20	27.50	4.50	25.38	13.71	2685.66
BII	T4	2	94.50	34.00	4.40	27.59	13.46	2634.94
BII	T4	3	90.00	34.00	4.80	26.03	14.87	2912.43

BII	T4	4	95.40	34.50	5.00	25.09	13.82	2706.61
BII	T4	5	85.00	26.00	4.90	27.75	16.35	3201.09
BII	T4	6	85.00	28.00	4.00	28.31	13.76	2693.88
BII	T4	7	85.00	28.00	4.00	28.51	13.06	2558.17
BII	T4	8	89.00	29.50	5.20	28.11	14.58	2854.47
BII	T4	9	96.10	34.40	4.80	24.28	14.46	2831.16
BII	T4	10	87.00	28.00	5.20	28.10	13.66	2675.08
BIII	T4	1	77.00	28.00	4.00	23.33	11.00	1484.87
BIII	T4	2	78.00	33.50	3.80	22.08	8.21	1108.22
BIII	T4	3	88.00	26.20	3.90	22.63	9.25	1249.29
BIII	T4	4	86.70	27.10	4.80	25.44	8.21	1108.22
BIII	T4	5	81.10	33.00	4.00	25.08	9.25	1249.29
BIII	T4	6	84.00	30.00	4.80	24.66	9.36	1264.14
BIII	T4	7	87.55	31.50	4.90	23.15	9.31	1256.72
BIII	T4	8	72.00	26.10	4.20	22.75	10.00	1350.14
BIII	T4	9	71.90	28.80	4.20	24.08	10.51	1418.31
BIII	T4	10	71.95	27.95	4.20	25.91	10.25	1384.22
BI	T5	1	100.00	39.00	9.00	66.88	20.31	4044.88
BI	T5	2	112.00	38.00	9.50	56.61	19.64	3910.84
BI	T5	3	118.50	41.00	8.50	65.16	20.98	4178.92
BI	T5	4	107.00	37.50	7.50	53.66	17.67	3518.68
BI	T5	5	102.00	35.00	7.50	59.09	19.22	3828.38
BI	T5	6	102.00	33.00	9.00	64.89	25.32	5043.70
BI	T5	7	102.50	36.00	8.75	66.78	22.14	4409.35
BI	T5	8	103.00	39.00	7.50	53.66	18.95	3775.01
BI	T5	9	107.00	36.00	7.00	53.23	19.03	3790.54
BI	T5	10	102.00	36.00	8.50	52.61	18.56	3696.33
BII	T5	1	81.00	29.50	6.00	25.94	11.65	2620.35
BII	T5	2	96.00	27.00	5.00	23.04	6.21	1397.03
BII	T5	3	90.00	27.35	5.00	24.34	6.41	1442.03
BII	T5	4	84.00	27.70	5.00	25.23	8.47	1905.98
BII	T5	5	85.00	29.00	6.50	24.90	8.48	1908.23
BII	T5	6	86.00	28.00	5.50	27.76	10.80	2430.45
BII	T5	7	87.50	29.50	5.50	26.56	10.07	2265.41
BII	T5	8	89.00	31.00	6.00	25.36	9.34	2100.38
BII	T5	9	82.00	27.00	5.00	24.78	10.52	2365.88
BII	T5	10	87.00	26.50	4.50	25.53	9.84	2214.45
BIII	T5	1	71.00	25.00	4.50	14.46	7.20	1560.87
BIII	T5	2	76.70	24.50	4.30	12.45	4.96	1074.02
BIII	T5	3	68.50	21.00	4.00	12.77	4.68	1013.57
BIII	T5	4	66.00	20.50	4.50	11.00	4.68	1013.35
BIII	T5	5	80.00	33.00	4.60	13.10	6.00	1300.87
BIII	T5	6	80.00	36.00	4.50	14.58	5.84	1265.77
BIII	T5	7	67.00	24.00	3.50	13.23	4.99	1080.08
BIII	T5	8	69.00	23.50	4.00	13.10	5.37	1162.42
BIII	T5	9	68.00	23.75	3.25	14.58	5.84	1265.77
BIII	T5	10	68.50	23.63	3.80	14.23	4.99	1080.08
BI	T6	1	69.00	18.00	3.00	13.55	5.58	1379.81
BI	T6	2	70.50	19.00	4.50	14.31	4.07	1007.08
BI	T6	3	74.50	17.00	3.00	16.16	5.48	1356.80
BI	T6	4	69.00	17.00	3.20	15.87	4.96	1226.36
BI	T6	5	68.70	20.50	3.00	13.82	4.14	1025.39
BI	T6	6	72.10	20.50	4.50	14.03	4.74	1173.89
BI	T6	7	72.00	17.00	3.50	14.03	3.92	969.21
BI	T6	8	72.00	18.00	4.30	14.91	5.74	1421.39
BI	T6	9	77.00	20.00	4.00	14.79	5.47	1354.82
BI	T6	10	72.20	20.00	4.10	15.68	5.79	1432.53
BII	T6	1	79.00	28.00	5.70	26.41	13.42	2270.89

BII	T6	2	86.00	31.00	7.00	27.59	14.34	2425.17
BII	T6	3	90.00	24.00	7.20	27.99	13.12	2219.30
BII	T6	4	91.00	26.00	7.00	28.34	12.12	2049.62
BII	T6	5	79.00	27.60	7.40	27.69	12.63	2135.73
BII	T6	6	90.00	25.00	5.00	22.41	9.86	1668.32
BII	T6	7	82.00	26.30	7.20	27.55	11.24	1902.03
BII	T6	8	87.00	30.00	6.00	27.39	11.59	1960.98
BII	T6	9	84.00	21.00	5.00	28.55	10.13	1714.34
BII	T6	10	85.50	25.50	5.50	27.97	10.86	1837.66
BIII	T6	1	75.50	22.00	5.35	18.48	9.50	1535.75
BIII	T6	2	78.25	22.00	5.75	19.45	9.20	1487.74
BIII	T6	3	84.25	22.50	5.10	20.08	9.30	1503.58
BIII	T6	4	76.00	21.50	5.10	18.11	8.54	1379.91
BIII	T6	5	71.35	24.05	5.20	20.26	8.38	1355.41
BIII	T6	6	80.05	22.75	5.25	21.72	7.30	1180.57
BIII	T6	7	82.00	21.65	5.35	22.29	7.58	1225.39
BIII	T6	8	82.50	24.00	5.15	22.15	8.67	1401.25
BIII	T6	9	80.50	24.50	4.50	19.67	7.80	1261.65
BIII	T6	10	85.85	24.75	5.80	21.33	8.33	1345.96
BI	T7	1	99.00	39.00	5.00	27.01	14.31	1717.56
BI	T7	2	103.00	46.50	6.00	30.32	14.28	1713.54
BI	T7	3	107.00	44.00	6.00	28.00	14.25	1709.52
BI	T7	4	100.00	44.00	6.00	30.33	17.09	2051.04
BI	T7	5	95.00	45.00	5.00	31.00	15.66	1878.96
BI	T7	6	85.00	46.00	5.00	29.62	15.17	1820.22
BI	T7	7	87.00	39.50	5.50	25.25	14.68	1761.48
BI	T7	8	98.00	41.00	6.00	29.10	14.92	1789.92
BI	T7	9	102.75	40.75	6.00	31.51	14.66	1758.96
BI	T7	10	107.50	40.50	6.00	33.92	14.40	1728.00
BII	T7	1	81.00	31.50	4.28	23.72	14.01	2778.25
BII	T7	2	79.00	39.50	5.00	23.95	10.37	2056.32
BII	T7	3	70.00	33.00	4.90	21.02	10.52	2086.17
BII	T7	4	76.50	32.50	4.80	20.09	10.67	2116.02
BII	T7	5	74.75	28.75	4.40	23.77	11.00	2182.06
BII	T7	6	73.00	31.00	4.00	20.46	11.34	2248.11
BII	T7	7	82.50	34.00	4.00	20.03	12.24	2426.61
BII	T7	8	76.50	29.00	4.00	21.04	10.13	2008.13
BII	T7	9	71.50	33.00	5.00	21.90	12.84	2546.01
BII	T7	10	75.00	32.50	5.00	22.97	12.23	2425.42
BIII	T7	1	90.00	35.25	4.64	25.36	14.16	2253.88
BIII	T7	2	91.00	43.00	5.50	27.14	12.32	1961.53
BIII	T7	3	88.50	38.50	5.45	24.51	12.38	1970.84
BIII	T7	4	88.25	38.25	5.40	25.21	13.88	2209.31
BIII	T7	5	84.88	36.88	4.70	27.39	13.33	2121.69
BIII	T7	6	79.00	38.50	4.50	25.04	13.25	2109.24
BIII	T7	7	84.75	36.75	4.75	22.64	13.46	2141.91
BIII	T7	8	87.25	35.00	5.00	25.07	12.52	1992.85
BIII	T7	9	87.13	36.88	5.50	26.70	13.75	2188.14
BIII	T7	10	91.25	36.50	5.50	28.44	13.31	2119.22
BI	T8	1	86.00	26.00	7.00	22.11	10.63	2400.83
BI	T8	2	80.50	24.50	5.63	24.73	9.14	2063.16
BI	T8	3	75.00	23.00	4.25	22.35	4.64	1047.98
BI	T8	4	85.00	21.00	6.00	23.15	5.46	1233.73
BI	T8	5	81.00	25.00	3.50	22.41	6.20	1399.04
BI	T8	6	80.00	16.00	3.50	23.11	9.15	2066.15
BI	T8	7	80.00	30.00	5.00	21.59	6.13	1384.81
BI	T8	8	75.00	33.00	8.00	24.12	10.52	2375.32
BI	T8	9	75.00	34.00	6.50	23.99	10.08	2275.50

BI	T8	10	80.00	31.00	6.00	20.46	9.58	2163.65
BII	T8	1	90.00	28.00	5.50	20.94	9.09	1976.10
BII	T8	2	90.75	29.75	5.81	22.02	7.96	1732.36
BII	T8	3	80.00	25.00	4.88	22.09	4.01	872.66
BII	T8	4	76.50	22.50	5.00	21.03	5.59	1214.96
BII	T8	5	81.00	24.00	4.25	20.46	5.41	1176.46
BII	T8	6	79.10	20.50	4.50	19.36	6.63	1442.68
BII	T8	7	77.50	28.50	4.75	18.11	6.10	1326.97
BII	T8	8	84.00	31.00	6.75	22.94	8.31	1807.64
BII	T8	9	88.00	32.00	5.50	23.05	9.13	1986.21
BII	T8	10	87.50	31.00	6.50	22.55	10.68	2322.22
BIII	T8	1	89.00	30.00	4.00	19.77	5.54	789.45
BIII	T8	2	89.00	30.00	6.00	19.31	6.79	968.15
BIII	T8	3	80.00	27.00	5.50	21.83	6.38	909.72
BIII	T8	4	68.00	27.00	4.00	19.91	6.71	956.03
BIII	T8	5	81.00	27.00	5.00	18.51	5.62	801.28
BIII	T8	6	88.20	28.00	5.50	21.62	7.12	1014.17
BIII	T8	7	85.00	27.00	4.50	19.64	6.07	864.98
BIII	T8	8	84.00	29.00	5.50	17.77	6.10	869.82
BIII	T8	9	86.00	25.00	4.50	18.11	6.19	881.79
BIII	T8	10	85.00	29.00	7.00	21.64	7.27	1036.40
BI	T9	1	88.75	33.00	5.00	23.99	8.98	1653.17
BI	T9	2	92.50	34.50	5.50	22.81	9.25	1704.28
BI	T9	3	90.00	33.50	5.50	24.90	10.42	1918.19
BI	T9	4	85.75	34.50	5.50	23.02	10.72	1974.91
BI	T9	5	88.50	36.75	5.50	25.95	10.11	1861.00
BI	T9	6	84.50	32.50	5.50	26.46	8.95	1648.29
BI	T9	7	89.25	34.00	6.00	26.22	10.68	1966.26
BI	T9	8	88.63	32.00	6.25	27.07	9.15	1685.95
BI	T9	9	86.75	30.00	6.00	25.14	10.06	1852.67
BI	T9	10	89.25	29.00	6.00	26.72	10.63	1958.34
BII	T9	1	90.50	30.00	4.00	20.79	6.88	1214.58
BII	T9	2	97.00	34.00	5.00	21.33	7.39	1305.74
BII	T9	3	94.00	35.00	5.00	23.05	7.32	1292.32
BII	T9	4	90.50	30.00	4.00	20.79	8.57	1514.21
BII	T9	5	97.00	34.00	5.00	22.33	6.57	1161.05
BII	T9	6	94.00	35.00	5.00	23.05	6.50	1148.33
BII	T9	7	90.00	36.00	6.00	20.82	8.19	1446.72
BII	T9	8	93.50	33.00	6.00	23.77	7.01	1239.14
BII	T9	9	92.50	30.00	6.00	21.19	9.69	1712.52
BII	T9	10	91.50	27.00	6.00	25.60	7.37	1302.56
BIII	T9	1	87.00	36.00	6.00	27.19	11.08	2123.28
BIII	T9	2	88.00	35.00	6.00	24.30	11.12	2130.76
BIII	T9	3	86.00	32.00	6.00	26.74	13.52	2590.57
BIII	T9	4	81.00	39.00	7.00	25.25	12.88	2467.90
BIII	T9	5	80.00	39.50	6.00	29.56	13.64	2613.95
BIII	T9	6	75.00	30.00	6.00	29.88	11.40	2185.00
BIII	T9	7	88.50	32.00	6.00	31.62	13.16	2523.10
BIII	T9	8	83.75	31.00	6.50	30.36	11.30	2164.88
BIII	T9	9	81.00	30.00	6.00	29.10	10.43	1998.32
BIII	T9	10	87.00	31.00	6.00	27.84	13.89	2663.02
BI	T10	1	100.00	40.00	7.00	50.58	19.36	3033.07
BI	T10	2	98.00	41.00	7.50	47.10	20.11	3151.12
BI	T10	3	101.00	45.00	8.00	45.63	20.87	3269.16
BI	T10	4	104.50	39.00	7.00	47.01	19.84	3108.42
BI	T10	5	102.50	41.00	8.00	44.36	24.69	3867.94
BI	T10	6	98.00	36.00	6.00	48.06	20.43	3200.54
BI	T10	7	98.00	39.00	7.00	47.97	18.61	2915.57

BI	T10	8	102.50	48.00	7.00	48.56	24.29	3805.59
BI	T10	9	108.50	44.00	7.00	46.00	21.47	3363.01
BI	T10	10	98.00	40.00	6.00	45.35	22.87	3582.65
BII	T10	1	91.50	29.00	6.00	36.02	19.23	3013.33
BII	T10	2	98.00	29.00	7.00	34.30	21.59	3382.43
BII	T10	3	92.00	32.00	8.00	39.90	20.19	3162.32
BII	T10	4	92.50	35.00	7.00	38.03	19.21	3008.94
BII	T10	5	80.00	32.00	6.00	34.02	20.67	3238.30
BII	T10	6	97.50	30.00	8.00	38.29	22.08	3459.20
BII	T10	7	90.00	29.00	6.00	35.86	23.64	3703.60
BII	T10	8	97.50	34.00	7.00	36.86	19.16	3001.58
BII	T10	9	92.00	33.00	7.00	34.60	23.35	3657.54
BII	T10	10	90.00	28.00	6.00	35.13	21.90	3431.17
BIII	T10	1	90.50	34.00	6.00	31.98	18.51	2591.26
BIII	T10	2	77.00	35.00	5.00	32.83	15.95	2233.42
BIII	T10	3	92.00	31.00	7.00	35.38	18.89	2644.46
BIII	T10	4	79.00	31.00	7.00	35.28	15.11	2115.12
BIII	T10	5	86.75	34.50	6.50	35.21	18.20	2547.72
BIII	T10	6	94.50	38.00	6.00	35.15	16.29	2280.32
BIII	T10	7	92.00	33.00	5.00	33.66	19.65	2751.42
BIII	T10	8	80.00	29.00	4.50	34.75	13.50	1890.00
BIII	T10	9	73.00	35.00	4.00	35.83	17.35	2428.58
BIII	T10	10	86.00	35.00	5.00	35.76	22.42	3138.38
BI	T11	1	81.00	24.00	7.00	23.81	17.22	1936.91
BI	T11	2	65.00	23.50	5.00	23.00	13.30	1496.59
BI	T11	3	82.00	25.50	6.00	25.00	16.43	1848.15
BI	T11	4	81.00	24.00	7.00	23.81	14.67	1650.71
BI	T11	5	74.00	28.00	4.00	20.00	15.23	1712.93
BI	T11	6	72.00	25.00	5.00	19.04	14.46	1626.75
BI	T11	7	97.00	25.00	5.00	20.04	17.66	1986.53
BI	T11	8	82.00	27.00	4.00	20.00	17.12	1926.34
BI	T11	9	92.00	30.00	6.00	24.91	13.68	1538.44
BI	T11	10	65.00	28.00	7.00	20.04	12.19	1370.93
BII	T11	1	43.00	13.50	3.00	8.65	5.35	1020.77
BII	T11	2	43.00	13.50	3.00	8.65	4.89	933.75
BII	T11	3	55.00	18.00	3.00	8.94	1.97	376.32
BII	T11	4	61.00	16.00	3.00	8.48	2.46	468.88
BII	T11	5	76.00	20.50	4.00	9.82	3.99	761.04
BII	T11	6	73.00	21.00	3.00	11.93	4.92	938.52
BII	T11	7	72.00	18.00	3.50	10.87	2.55	486.63
BII	T11	8	68.00	15.00	4.00	9.73	5.32	1015.62
BII	T11	9	61.00	18.00	3.00	8.54	1.99	380.33
BII	T11	10	58.00	12.00	3.00	9.47	1.35	257.63
BIII	T11	1	64.00	19.50	4.25	16.53	11.28	1269.34
BIII	T11	2	64.00	21.75	3.50	19.04	9.10	1023.53
BIII	T11	3	73.50	24.25	5.25	17.93	9.20	1035.00
BIII	T11	4	80.50	25.00	5.00	18.87	8.57	963.56
BIII	T11	5	75.00	21.75	4.00	17.51	9.61	1080.79
BIII	T11	6	85.50	25.50	3.50	17.49	9.69	1090.01
BIII	T11	7	84.50	20.50	3.75	15.95	10.10	1136.70
BIII	T11	8	70.00	19.00	5.00	18.21	11.22	1262.53
BIII	T11	9	76.50	24.00	5.50	16.70	7.83	881.33
BIII	T11	10	72.00	17.50	4.50	19.28	6.77	761.40

Tabla 15. Análisis de varianza del índice de colonización endofítica de cepas de *Trichoderma* sp. en plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA en el laboratorio de Fitopatología de la UNA, 2016.

F.V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Modelo	43	147.63	3.43	39.41	<0.0001
Métodos de inoculación	1	12.12	12.12	139.13	<0.0001
Fecha de evaluación	1	47.28	47.28	542.70	<0.0001
Cepas de <i>Trichoderma</i>	10	44.80	4.48	51.42	<0.0001
Métodos*Fecha	1	16.03	16.03	184.00	<0.0001
Métodos*Cepas	10	9.05	0.90	10.38	<0.0001
Fecha*Cepas	10	12.80	1.28	14.70	<0.0001
Métodos*Fecha*Cepas	10	5.55	0.56	6.37	<0.0001
Error	88	7.67	0.09		
Total	131	155.30			

CV: 23.82 R² : 0.94

Tabla 16. Análisis de varianza del porcentaje de colonización endofítica de cepas de *Trichoderma* sp. en plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) var. Salcedo INIA en el laboratorio de Fitopatología de la UNA, 2016.

F.V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Modelo	43	27896.60	648.76	84.30	<0.0001
Métodos de inoculación	1	903.33	903.33	117.38	<0.0001
Fecha de evaluación	1	8918.21	8918.21	1158.84	<0.0001
Cepas de <i>Trichoderma</i>	10	10359.78	1035.98	134.62	<0.0001
Métodos*Fecha	1	1257.57	1257.57	163.41	<0.0001
Métodos*Cepas	10	2475.47	247.55	32.17	<0.0001
Fecha*Cepas	10	1756.29	175.63	22.82	<0.0001
Métodos*Fecha*Cepas	10	2225.96	222.60	28.92	<0.0001
Error	88	677.23	7.70		
Total	131	28573.83			

CV: 13.72 R² : 0.96

Tabla 17. Análisis de varianza del Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) del mildiu (*Peronospora variabilis* Gaüm.) de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* spp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.

F.V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Modelo	32	7466.38	233.32	25.38	<0.0001
BLOQUE	2	72.84	36.42	3.96	0.02
TRAT	10	6186.02	618.6	10.25	<0.0001
BLOQUE*TRAT	20	1207.53	60.38	6.57	<0.0001
Error	297	2730	9.19		
Total	329	10196.38			

CV: 9.77 R²: 0.73

Tabla 18. Análisis de varianza de la altura de planta (cm) de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.

F.V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Modelo	32	48628.39	1519.64	23.39	<0.0001
BLOQUE	2	2547.77	1273.89	19.61	<0.0001
TRAT	10	29225.1	2922.51	3.47	0.0086
BLOQUE*TRAT	20	16855.51	842.78	12.97	<0.0001
Error	297	19293.03	64.96		
Total	329	67921.42			

CV: 9.05 R²: 0.72

Tabla 19. Análisis de varianza de la altura de panoja (cm) de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.

F.V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Modelo	32	10429.7	325.93	37.33	<0.0001
BLOQUE	2	355.85	177.92	20.38	<0.0001
TRAT	10	7594.29	759.43	6.13	0.0003
BLOQUE*TRAT	20	2479.56	123.98	14.2	<0.0001
Error	297	2593.03	8.73		
Total	329	13022.73			

CV: 10.05 R²: 0.80

Tabla 20. Análisis de varianza del diámetro de panoja (cm) de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.

F.V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Modelo	32	609.13	19.04	28.13	<0.0001
BLOQUE	2	12.51	6.25	9.24	0.0001
TRAT	10	415.71	41.57	4.60	0.0018
BLOQUE*TRAT	20	180.92	9.05	13.37	<0.0001
Error	297	201.01	0.68		
Total	329	810.15			

CV: 14.04 R²: 0.75

Tabla 21. Análisis de varianza del peso seco de la biomasa (g) de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.

F.V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Modelo	32	45949.69	1435.93	19.51	<0.0001
BLOQUE	2	1523.8	761.9	10.35	<0.0001
TRAT	10	28467.31	2846.73	3.57	0.0075
BLOQUE*TRAT	20	15958.57	797.93	10.84	<0.0001
Error	297	21857.45	73.59		
Total	329	67807.14			

CV: 28.39 R²: 0.67

Tabla 22. Análisis de varianza del peso de semilla (g./planta) de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.

F.V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Modelo	32	7956.78	248.65	94.36	<0.0001
BLOQUE	2	391.42	195.71	74.27	<0.0001
TRAT	10	5304.78	530.48	4.69	0.0016
BLOQUE*TRAT	20	2260.58	113.03	42.89	<0.0001
Error	297	782.64	2.64		
Total	329	8739.42			

CV: 12.67 R²: 0.91

Tabla 23. Análisis de varianza del rendimiento (kg/ha) de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) var. Salcedo INIA tratadas con cepas de *Trichoderma* sp en el CIP Camacani de la UNA, durante la campaña agrícola 2015 – 2016.

F.V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Modelo	32	239766803	7492712.6	81.96	<0.0001
BLOQUE	2	14458465.03	7229232.5	79.08	<0.0001
TRAT	10	150092038.6	15009204	3.99	0.0041
BLOQUE*TRAT	20	75216299.39	3760815	41.14	<0.0001
Error	297	27151513.38	91419.24		
Total	329	266918316.4			

CV: 13.51 R² : 0.89