



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JUJUY
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
Carrera: INGENIERÍA AGRONÓMICA**



Título

**“Situación sanitaria del cultivo de
quinua en zonas productoras de Jujuy-
Aislamiento de cepas nativas de
Trichoderma spp.: una alternativa para
el manejo de enfermedades fúngicas”**

Pasantía con Trabajo Final (Resol. CAFCA 239/2013)

Alumna: Nancy Fabiana Sivila- LU: A03365

Director: Ing. Agr. M. Sc. Susana Edit Álvarez

Co-Director: Ing. Agr. M. Sc. Mario Cesar Bonillo

**Jujuy - Argentina
Año 2016**

Índice General

| | Páginas |
|--|-----------|
| Resumen | 4 |
| Introducción | 6 |
| Objetivos Generales | 10 |
| Objetivos Específicos | 10 |
| Materiales y Métodos | 11 |
| Primera Etapa | |
| Caracterización del Sistema Productivo de “Quinua” | 11 |
| Recolección de muestras de suelo | 12 |
| Segunda Etapa | |
| Procesamiento de las muestras | 12 |
| Aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp. | 12 |
| Identificación a nivel de Género | 13 |
| Conservación de las cepas aisladas | 13 |
| Tasa de crecimiento (TC) | 13 |
| Concentración de conidios (conidios/ml) | 14 |
| Determinación del poder de antagónico | 14 |
| Diseño y Análisis estadístico | 17 |
| Resultados y Discusión | 18 |
| Primera Etapa | |
| Caracterización del sistema productivo de “Quinua” | 18 |
| Recolección de muestras de suelo | 23 |
| Segunda Etapa | |
| Aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp. | 24 |
| Tasa de Crecimiento (TC) | 25 |
| Concentración de conidios (conidios/ml) | 27 |
| Determinación del Poder Antagónico | 29 |
| Conclusión | 48 |
| Referencias | 50 |
| Anexos | |
| Anexo 1: Visita a productores de la Región de Puna y Quebrada de Humahuaca de la Provincia de Jujuy | 55 |
| Anexo 2: Encuestas realizadas a productores de la Región de Puna y Quebrada de Humahuaca de la Provincia de Jujuy | 59 |
| Anexo 3: Mapa de puntos de muestreos en las regiones de Puna y | 66 |

| | |
|--|-----------|
| Quebrada de la Provincia de Jujuy | |
| Anexo 4: Procedimiento seguido para la recolección y almacenamiento de muestras de suelo | 68 |
| Anexo 5: Procedimiento para el Aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp. | 69 |
| Anexo 6: Algunas de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp. aisladas de muestras de suelo a 72 hs (3 días) de incubación | 72 |
| Anexo 7: Montaje en lactofenol del hongo aislado, para la observación de las características microscópicas del género <i>Trichoderma</i> spp. | 73 |
| Anexo 8: Procedimiento para conservación de cepas de <i>Trichoderma</i> spp. | 74 |
| Anexo 9: Procedimiento para la determinación de la concentración de conidios (conidios/ml) | 75 |
| Anexo 10: Ensayo de Cultivos Duales (CD) | 77 |
| Anexo 11: Ensayo de Metabolitos Volátiles (MV) | 78 |
| Anexo 12: Ensayos de Metabolitos Difusibles al Medio (MDM) | 79 |

Resumen

En la Provincia de Jujuy, el cultivo de la quinua (*Chenopodium quinua* Willd) es estratégico en las regiones de la Puna y Quebrada de Humahuaca por su valor alimenticio, resistencia a la sequía y a las bajas temperaturas, sin embargo como cualquier planta, está expuesta al ataque de una serie de enfermedades, siendo la más importante el mildiu, causado por el oomycete *Peronospora farinosa* F. sp. *Chenopodii*. Con el fin de controlar esta enfermedad, los agricultores han utilizado tradicionalmente fungicidas químicos los cuales son costosos, requieren múltiples aplicaciones, afectan a la salud de los agricultores y el medioambiente, una de las alternativas para reducir los efectos negativos es la utilización de agentes de control biológico, dentro de los cuales se encuentran las especies del género *Trichoderma*. Esta investigación tuvo como objetivos: **1)** Caracterizar el sistema productivo “quinua” de un grupo de productores de la Provincia de Jujuy, para lo cual se empleó el método de las encuestas, **2)** Aislar cepas nativas de *Trichoderma* spp. a partir de muestras de suelo colectadas en distintos puntos de la Región de Puna y Quebrada, mediante el método de diluciones seriadas, **3)** Determinar la Tasa de crecimiento (TC) y Concentración de conidios (conidios/ml) de 18 cepas nativas de *Trichoderma* spp. **4)** Evaluar *in vitro* el poder antagónico de éstas cepas frente a tres hongos fitopatógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* mediante el método del Cultivo Dual (CD) observando al séptimo día; la Actividad antagónica, Competencia por espacio midiendo el radio de crecimiento del antagonista (RCA) y radio de crecimiento del patógeno (RCP) y Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) y **5)** Determinar Metabolitos Volátiles (MV) mediante el ensayo de placas superpuestas y Metabolitos Difusibles al Medio (MDM) mediante el método del papel celofán, de las cepas T1-4, T11-1, T15-3, T16-6 y T19-1 frente a *Fusarium* spp., en ambos ensayos se determinó el PICR al séptimo día de evaluación. Para todos los ensayos se realizaron 3 réplicas por tratamiento.

Del análisis descriptivo de las encuestas se obtuvo que los productores destinan pequeñas superficies al cultivo de quinua en función de la disponibilidad de agua y de la mano de obra familiar, complementando en la región Puna con otros cultivos andinos como papa y haba; y en la región de Quebrada con hortalizas de hoja, variedades de maíces, entre otros. Con respecto al origen de las semillas, no se

habla de variedades, sino de poblaciones que los productores diferencian por el color del grano en blancas, moradas, mezclas, etc. Los quinueros actualmente están organizados en dos Mesas, la de Puna y la de Quebrada, que se reúne mensualmente con el apoyo técnico de instituciones públicas como el INTA, la Secretaria de Agricultura Familiar, la Facultad de Ciencias Agrarias entre otros.

De 14 muestras procesadas, se lograron aislar 30 cepas de *Trichoderma* spp.

De 18 cepas evaluadas, 7 obtuvieron las mayores TC a las 72 hs de incubación (T1-2, T19-2, T8-2, T8-3, T1-4, T11-1 y T12-1) con 13-20 mm/día, sin embargo todas las cepas lograron cubrir el 100% de la superficie de las cajas de petri a los 7 días de incubación. La cepa T12-1 presentó la más alta concentración de conidios ($5,72E+08$) significativamente diferente a las demás, las cepas restantes presentaron valores entre $1E+08$ y $5E+08$ conidios/ml, excepto la cepa T2-1 ($6,18E+07$ conidios/ml).

En CD 8 cepas (T1-4, T1-2, T8-2, T8-3, T15-3, T16-6, T19-1 y T19-2) presentaron frente a los tres hongos fitopatógenos; buena actividad antagónica, competencia por espacio con RCP estadísticamente diferentes con respecto a sus testigos (juntamente con T12-1) y PICR > 40% (excepto T8-3, que no inhibe a *Sclerotium*). Mientras que 9 cepas (T5-4, T11-1, T12-1, T2-1, T4-1, T7-4, T9-1, T14-1 y T16-2) presentaron diferencias significativas en cuanto a la actividad antagónica frente a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani*, las 6 primeras cepas presentaron además competencia por espacio (no así, T9-1 con competencia solo frente a *Fusarium*, T14-1 frente a *Sclerotium* y *Rhizoctonia* y T16-2 solo frente a *Rhizoctonia*) y solo las 3 primeras cepas inhibieron en más del 40% a ambos patógenos. La cepa T7-1 presenta buena actividad antagónica y competencia por espacio sólo frente a *Fusarium* spp.

En ensayos de MV, la cepa T1-4 presentó diferencias significativas, inhibiendo el crecimiento del patógeno en más del 40%.

En ensayos de MDM la cepa de mayor PICR fue T16-6 (40,78%), le siguieron T19-1, T15-3 y T1-4, no existiendo diferencias significativas entre ellas.

La acción antagonista de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. aisladas en suelos de la región de Puna y Quebrada de Humahuaca, resultarían ventajosas para poder ser empleadas en aplicaciones a campo para el control de hongos fitopatógenos.

Introducción

La quinua (*Chenopodium quinua* Willd) de la familia *Chenopodiaceae*, no pertenece a la familia de las gramíneas en las que se ubican los cereales tradicionales, pero debido a su alto contenido de almidón, sus usos se corresponden con los de los cereales, de allí que muchos lo denominan pseudocereal (Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, 2008, p.1).

Su importancia radica en que es considerada como el alimento más completo para la nutrición humana basada en proteínas de la mejor calidad en el reino vegetal, ácidos grasos como omega 3, 6 y 9 en forma equilibrada, vitaminas y minerales; en medicina, se le atribuyen propiedades cicatrizantes, desinflamantes, analgésicas y desinfectantes (Mujica y Jacobsen, 2006, p.450); se adapta muy bien a diferentes condiciones ambientales y por ello se puede cultivar desde el nivel del mar hasta los 4000 m de altura (Carrasco, Cortez, Rafael, Quispe Villalpando y Ramos, 2007, p.245); además presenta una amplia variabilidad genética y bajos costos de producción, por todo lo anterior la FAO en el año 2011, declara que la quinua constituye un cultivo estratégico para contribuir a la seguridad y soberanía alimentaria global (Rivas, 2013, p.1).

Actualmente se cultiva en Bolivia (46%), Perú (42%), EUA (6%), Ecuador (3%) y en algunas zonas de Colombia, Chile y Argentina (0,5%) (Carrasco y otros, 2007, p.245). El Noroeste Argentino se constituye como la zona tradicional de cultivo de quinua, la producción se localiza en la Quebrada de Humahuaca y alrededores, con rendimientos aproximados de 2.000 kg/ha y de variedad desconocida por el productor, en la provincia de Jujuy como en otras zonas andinas, el cultivo de quinua se realiza con el propósito del autoconsumo de la familia campesina, siendo incipiente la producción de tipo comercial (Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, 2008, p.2).

La planta de quinua como cualquier otra especie vegetal y de acuerdo al ambiente donde se cultive, está expuesta al ataque de una serie de enfermedades que pueden afectar hojas, tallos y raíces, algunas de ellas son la *Mancha foliar* causada por *Ascochita tyalospora*, *Podredumbre marrón del tallo* causada por *Phoma exigua*, *Mancha bacteriana* causada por *Pseudomonas* y *Podredumbres de raíces* causada por varios géneros de hongos de suelo (Ortiz y Zanabria, 1997). Sin embargo la enfermedad más importante de la quinua es el mildiu, causado por el oomycete

Peronospora farinosa F. sp. *Chenopodii*, afecta el cultivo de la quinua en lugares donde hay alta humedad relativa y temperaturas entre 12 a 22°C, puede causar grandes pérdidas (Gabriel, Luna, Vargas, Magne, Angulo, La Torre y Bonifacio, 2013, p.18), de hasta el 58% en variedades parcialmente resistentes y pérdidas del 100% en ecotipos susceptibles (Bonifacio, Alcon y Vargas, 2013, p.228). Con el fin de controlar a la enfermedad, los agricultores han utilizado tradicionalmente fungicidas químicos, los cuales son costosos, requieren múltiples aplicaciones, afectan a la salud de los agricultores, el medioambiente y además pueden ser superados por razas resistentes, ya que el patógeno es sexualmente recombinante (Gabriel y otros, 2013, p.19).

El control Biológico mediante organismos antagónicos representa una alternativa no química para la protección de los cultivos contra hongos fitopatógenos. En este sentido las especies del género *Trichoderma* se han estudiado como agentes de control de enfermedades de plantas causadas por hongos, tanto de los que invaden la raíz (Wells y otros, 1972, citado por Michel-Aceves y otros, 2001, p.155), como la parte aérea y en postcosecha (Papavizas, 1985, citado por Michel-Aceves y otros, 2001, p.155), enfermedades causadas por especies de *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Phytophthora*, *Pythium* y *Fusarium* entre otros, han sido controlados efectivamente (Nelson, 1991, citado por Michel-Aceves y otros, 2001, p.155). Este hongo ejerce su control por medio de mecanismos de acción; competencia por nutrientes, producción de metabolitos antifúngicos, enzimas hidrolíticas y micoparasitismo, además de producir sustancias promotoras del crecimiento vegetal (Stefanova, 1996, citado por Suárez Meza, Fernández Barbosa, Valero, Gámez Carrillo, Páez Redondo, 2008, p.36). Mientras más modos de acción estén presentes en un aislamiento, mayor será la eficacia del mismo en el control del fitopatógeno y por ende, menor el daño que puede causarle al cultivo, éstos atributos, juntamente con la capacidad de multiplicarse abundantemente, se encuentran entre los de mayor importancia para su selección como agentes de control biológico (Danay Infante, Martínez, Noyma González y Yusimy Reyes, 2009, p.14, 21). Además *Trichoderma* representa una alternativa en esquemas de manejo integrado de enfermedades, ya que es compatible con la aplicación de plaguicidas (Stefanova, 1997, citado por Michel-Aceves y otros, 2001, p.155).

Para que los agentes de control biológico tengan éxito, se deben considerar muchos factores como las condiciones climáticas y el hábitat, los cuales deben ser

adecuados para su crecimiento y para que invadan o afecten a los fitopatógenos que se desee controlar (Andrews, 1992, citado por Michel-Aceves y otros, 2001, p.155), por tal motivo las especies nativas tienen mayor potencial, siendo importante detectar su presencia en los lugares donde se pretenda utilizarlos (Roiger y otros, 1991 citado por Michel-Aceves y otros, 2001, p.155). Así también se debe tener presente que las bondades como agente de control dependen más de las cepas de *Trichoderma*, que de la especie, pues estas pueden presentar diferencias en sus modos de acción, aun perteneciendo a una misma especie, esto refuerza la necesidad de efectuar una correcta selección de los aislamientos respecto a sus dianas y ambientes, para obtener resultados consistentes en condiciones de campo (Martínez, Danay Infante y Yusimy Reyes, 2013, p.1).

Para el control del mildiu la Fundación PROINPA (Promoción e Investigación de Productos Andinos) aisló de diferentes zonas de Bolivia microorganismos y formularon el producto Tricobal que es un conjugado de cepas nativas de *Trichoderma harzianum*, *T. koningiopsis*, *Bacillus subtilis* y *B. amyloliquefaciens*, una contribución fue el hecho de encontrar cultivares resistentes que tuvieron igual comportamiento frente al mildiu, cuando fueron tratados con tricobal y con el control químico, que se reflejó en el rendimiento (Gabriel y otros, 2013, p.20). A nivel de invernadero se evaluaron 30 aislamientos de *Trichoderma* sp., para el control del mildiu, encontrando tres cepas que inhibieron el avance de la enfermedad y seis cepas que controlaron la enfermedad y promovieron el desarrollo de las plantas, los autores recomiendan que para reducir la severidad de la enfermedad se deben realizar aplicaciones preventivas y de esta manera suprimir el inóculo inicial (Plata y Calizaya, 2013, p.462).

Frente al contexto regional actual de promoción del cultivo de quinua en la Puna y Quebrada Jujeña, el presente trabajo tuvo como objetivo Caracterizar el Sistema Productivo “Quinua” en estas regiones, realizar el aislamiento de cepas nativas *Trichoderma* spp. y conocer mediante pruebas *in vitro* su potencial como agentes de control biológico primeramente sobre los fitopatógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani*, los resultados obtenidos constituirían un avance, ya que las cepas más promisorias podrían ser evaluadas *in vivo*, en invernadero y/o a campo, para el control del mildiu, de esta manera se podría desarrollar una nueva biotecnología para la producción de quinua de forma orgánica, ecológica y sustentable y que esté a disponibilidad de los agricultores familiares.

Hipótesis

Existe una diversidad de cepas de *Trichoderma* spp., en suelos de Quebrada y Puna de Jujuy; con potencialidad para su uso en el control biológico de enfermedades en el cultivo de Quinua.

Objetivos Generales

- ✓ Caracterizar el Sistema Productivo de Quinua de un grupo de productores de Puna y Quebrada de Humahuaca de la Provincia de Jujuy.
- ✓ Obtener aislamientos de cepas nativas de *Trichoderma* spp. presentes en suelos cultivados habitualmente con quinua o donde el productor manifiesta la intención de realizar el cultivo.
- ✓ Realizar evaluaciones *in vitro* del poder antagónico frente a los hongos fitopatógenos: *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani*.

Objetivos Específicos

- ✓ Lograr destreza en la búsqueda, selección y organización de información obtenida de fuentes diversas.
- ✓ Recolectar muestras de suelo en lotes de productores de quinua y/o AF que inician su experiencia en el cultivo de quinua.
- ✓ Fortalecer las destrezas en técnicas microbiológicas de rutina, tales como; utilización de microscopio óptico y del accesorio para fotografía, cámara de flujo laminar, esterilización por calor seco y húmedo (uso de autoclave), preparación de medios de cultivo, aislamientos y cultivo de hongos.
- ✓ Adquirir destrezas particulares y específicas para la selección de cepas locales de *Trichodermas* spp.
- ✓ Ampliar la colección de cepas de organismos antagonistas del Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNJu) a fin de que las mismas puedan estar disponibles para la realización de futuras experiencias, como por ejemplo: Identificación de los aislamientos empleando técnicas moleculares y ensayos a nivel de invernadero y/o a campo.

Materiales y Métodos

La presente investigación se llevó a cabo en dos etapas: la primera a campo y la segunda en laboratorio.

Primera Etapa

➤ **Caracterización del Sistema Productivo de Quinua;** A fin de poder caracterizar los sistemas productivos de quinua en la provincia de Jujuy, se realizaron encuestas a 18 productores; 13 pertenecientes a la región de Puna quienes realizan actualmente este cultivo y 5 pertenecientes a la región de la Quebrada de Humahuaca los cuales tienen la intención de producir quinua (Anexo 1). El formato de la encuesta fue el siguiente;

Encuesta a productores de Quinua

1. **Nombre del productor:**
2. **Edad:**
3. **Nivel de escolarización:** Primario Secundario Terciario Universitario
4. **Composición familiar:**
5. **Comunidad a la que pertenece:**
6. **Acerca de la tierra**
 - a) ¿Usted es propietario, arrendatario o aparcerero?
 - b) ¿Qué superficie total posee?
 - c) ¿Actividad que realiza?
 - d) ¿Cuánta superficie presenta sembrada con quinua?
7. **Acerca de las variedades de quinua**
 - a) ¿Qué variedades de quinua sembró el último año?-Origen de la semilla.
 - b) ¿Cuál es la época de siembra y cosecha?
 - c) ¿Cuál es la producción obtenida?
 - d) ¿Cuál es el destino de la producción? ¿A quién vende?
8. **Acerca de los problemas de producción**
 - a) En la producción de quinua ¿Cuáles son los problemas que más lo afectan?
 - b) ¿Cuáles son las plagas y enfermedades frecuentes en sus parcelas?
 - c) ¿Realiza el control de las mismas?
 - d) ¿Utiliza productos químicos? ¿Cuáles?
9. **Otros**
 - a) ¿Utiliza mano de obra familiar o contratada?
 - b) ¿Se asocia con otros productores para la compra de insumos, para efectuar la venta o para otras actividades?
 - c) ¿Recibe asesoramiento de profesionales?

Nota: Productores de la Quebrada de Humahuaca no responden puntos 7 y 8

➤ **Recolección de muestras de suelo:** Se realizó en parcelas cultivadas con quinua o en donde se estaba por sembrar quinua. Para la recolección de muestras de suelo el procedimiento fue el siguiente: con una pala previamente desinfectada se extrajo una muestra de suelo de aproximadamente 1kg correspondiente a los primeros 20 cm de profundidad y se colocaron en bolsas de polietileno, las muestras fueron rotuladas y trasladadas en conservadoras hasta el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNJu-FCA) para su posterior procesamiento (Anexo 4).

Segunda Etapa

La segunda etapa se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias y consistió en el aislamiento de cepas nativas de *Trichoderma* spp. a partir de las muestras recolectadas y posterior selección a través de la evaluación de la capacidad antagónica frente a los hongos fitopatógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani*.

➤ **Procesamiento de las muestras** (Anexo 4): Los terrones grandes presentes en las muestras de suelo, fueron desagregados finamente con las manos, las bolsas quedaron abiertas dentro de una cámara con extractor de aire a fin de que pierdan humedad, una vez secas fueron colocadas en bolsas de papel para su almacenamiento y a disposición de ensayos futuros.

➤ **Aislamiento de *Trichoderma* spp.** (Anexo 5): El aislamiento de las cepas antagónicas se realizó sobre 14 muestras de suelo denominadas M1, M2, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M11, M12, M14, M15, M16 y M19 (Cuadro 1). De cada muestra se tomaron 4 submuestras de 10 gr, cada una fue añadida a 100 ml de agua destilada estéril, se agitó durante 30 min y se dejó decantar por 10 min, de éstas se obtuvieron soluciones madres, a partir de las cuales se realizaron diluciones seriadas 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} . Se sembraron por triplicado, sobre placas de petri con medio de cultivo APG al 2% (agar papa glucosado), alícuotas de 100 μ l (0,1 ml) de la solución madre y de las diluciones obtenidas. Las cajas se incubaron a 25°C, 12

hs continuas en luz, seguido de 12 hs de oscuridad por 7-10 días, con monitoreo constante. Por cada muestra se sembraron 16 cajas de petri. Durante las observaciones se detectaron las colonias de color verde o amarillo verdoso, de crecimiento rápido y abundante esporulación, característico de *Trichoderma* spp. De las colonias con dichas características se tomó parte del crecimiento del hongo y se sembró en APG al 2% y se llevaron a incubación por 7 días.

Cuadro 1: Muestras de suelo empleadas para el aislamiento de *Trichoderma* spp.

| Región | Muestra | Parcelero | Comunidad |
|----------|------------------|------------------------------|--|
| PUNA | 1 | Jacinto Torres | Comunidad Aborigen Hornadita de la Cordillera (Dpto. Yavi) |
| | 15 | Rufino Fidencio Torres | |
| | 2 | Liliana Bautista | Chujchuara (Dpto. Yavi.) |
| | 12 (parte alta) | Francisco Cruz | Comunidad Aborigen Vera Cruz (Dpto. Cochino) |
| | 14 (parte media) | | |
| | 4 | | |
| | 6 | Salvador y Lorenzo Cruz | |
| | 5 | Héctor Chaile | El Angosto (Dpto. Santa Catalina) |
| | 9 | Teófilo Vargas | |
| | 7 | Darío Tito | Chalguamayoc (Dpto. Yavi) |
| | 8 | Jesús Tito | |
| 11 | Oscar Castillo | La Quiaca Vieja (Dpto. Yavi) | |
| QUEBRADA | 16 | Jorge Vilca | Comunidad Aborigen de Punta Corral (Dpto. Tumbaya) |
| | 19 | Eloy Tactaca | Paraje Coctaca (Dpto. Humahuaca) |

➤ **Identificación a nivel de Género (Anexo 7):** De cada una de las cepas aisladas se realizaron preparados, para lo cual se colocó una gota de lactofenol sobre un portaobjetos y con la ayuda de un asa se puso un fino raspado de la colonia sobre la gota de lactofenol, luego se cubrió con un cubreobjetos. Se observó al microscopio características que permiten la identificación de *Trichoderma* a nivel de género tales como; hifas con pocos septos, conidióforos erectos con ramificaciones a lado y lado de las hifas, ramificaciones en forma de botella (fiálides) y conidias pequeñas globosas híalinas (Barnett, 1995, citado por Márquez, Martínez y Franco, 2002, p.83).

➤ **Conservación de las cepas aisladas (Anexo 8):** Las cepas aisladas fueron repicadas en tubos inclinados con medio de APG al 2%, se dejaron incubar (25 °C 12 hs oscuridad/ 12 hs luz) en estufa hasta su esporulación (7-8 días aproximadamente), posteriormente se mantuvieron a temperaturas bajas entre 4-7°C para su conservación.

➤ **Tasa de crecimiento (TC):** Discos de APG al 2% de 4x4 mm de colonias puras de cada cepa, fueron sembradas en el centro de cajas petri, las cuales se incubaron hasta cubrir completamente la superficie de la caja (7-8 días aproximadamente a 25 °C, 12 hs oscuridad/ 12 hs luz). Diariamente se midió el diámetro con ayuda de una regla graduada. La tasa de crecimiento fue calculada con la siguiente fórmula; $TC = (\text{Crecimiento final} - \text{Crecimiento inicial}) / \text{tiempo de incubación}$ (Guigón-López y otros, 2010, p.90). También se determinó el porcentaje de área ocupada (PAO) en cultivos de 72 hs, conociendo el área total de la caja de petri que es de $56,74\text{cm}^2$, lo cual equivale al 100% (González Salgado, Puertas Arias, Fonseca Flores, Suárez Soto y Blaya Gómez, 1999, p.167).

➤ **Concentración de conidios (conidios/ml)** (Anexo 9): Con una espátula se sustrajeron los propágulos de la superficie del medio de cultivo de colonias de 7 días de crecimiento y se añadieron a un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril constituyendo la solución madre, la cual se agitó por 1 min en un vortex, de ésta se tomó 1 ml y se colocó en otro tubo con 9 ml de agua destilada estéril obteniendo una dilución 10^{-1} y se agitó 1 min. La dilución 10^{-1} fue utilizada para el conteo de esporas en cámara de Neubauer. Dado que los propágulos son pequeños, para el conteo se tuvo en cuenta el cuadrado principal (CP) central de la cámara, el cual está dividido en 25 cuadrados secundarios (CS). Para obtener el número de conidios en 1 ml, se contó el número de conidios de los cuatro cuadrados secundarios (CS) esquinados y el central y se aplicó la siguiente fórmula; $\text{Suma } 5 \text{ CS} \times 50000 \times \text{factor de dilución}$. Al utilizar la dilución 10^{-1} el factor de dilución es 10 (French y Hebert, 1980).

➤ **Determinación del poder de antagónico**

Para la determinación del poder antagónico se realizaron tres ensayos (Cultivos Duales, Metabolitos volátiles y Metabolitos difusibles al medio), para los cuales se requirieron de las cepas nativas de *Trichoderma* aisladas previamente y de cepas fitopatógenas *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* las que fueron aisladas a partir de plantas con sintomatología típica en cada caso y conservadas en el laboratorio de Fitopatología a 4°C.

1) Ensayos de Cultivos duales (CD) (Anexo 10)

Las cepas aisladas de *Trichoderma* spp. (T1-2, T1-4, T2-1, T4-1, T5-4, T7-1, T7-4, T8-2, T8-3, T9-1, T11-1, T12-1, T14-1, T15-3, T16-2, T16-6, T19-1 y T19-2) fueron enfrentadas a tres hongos fitopatógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani*. Se colocó en uno de los extremos de la caja de petri con medio APG 2% una sección de 4x4 mm del cultivo puro de 7 días del antagonista y en el extremo opuesto una sección de 4x4 mm de cultivo puro de 7 días del patógeno, a 6 cm aproximadamente entre ellos. Para los testigos, en el centro de cajas de petri se sembraron secciones de 4x4 mm de colonias del antagonista y de los patógenos. Los tratamientos y testigos se llevaron a incubación en estufa (25°C, 12 hs de oscuridad/12 hs luz) durante 7 días. Las mediciones del crecimiento radial de los hongos se realizaron cada 24 hs. Para cada tratamiento y testigos se realizaron tres replicas. Dado el elevado número de cepas y disponibilidad del material necesario, los ensayos se llevaron a cabo en 4 tandas (Cuadro 2), empleándose en todos los casos, el mismo medio de cultivo, condiciones de incubación y evaluación.

Cuadro 2: Cepas de *Trichoderma* spp. empleadas en ensayos de CD.

| | Tandas | | | |
|--------------|---------|---------|---------|---------|
| | Tanda 1 | Tanda 2 | Tanda 3 | Tanda 4 |
| Tratamientos | T 15-3 | T 1-2 | T 2-1 | T 1-4 |
| | T 16-2 | T 4-1 | T 8-2 | T 5-4 |
| | T 16-6 | T 19-1 | T 8-3 | T 7-1 |
| | | T 19-2 | T 14-1 | T 7-4 |
| | | | | T 9-1 |
| | | | | T 11-1 |
| | | | | T 12-1 |
| | | | | |

La capacidad antagónica de las distintas cepas de *Trichoderma* spp. se comprobó mediante:

Actividad antagónica: Se realizó en base a la escala de clases de Antagonismo (Bell y otros, 1982, citado por Centro de Educación y Tecnología-CET, 2004, p.12) (Cuadro 3).

Cuadro 3: Escala de clases de Antagonismo (Bell y otros, 1982, citado por CET, 2004, p.12).

| Clase de Antagonismo | Características |
|----------------------|--|
| CLASE 1 | <i>Trichoderma</i> spp. crece completamente sobre la colonia del patógeno y cubre la superficie del medio de cultivo. |
| CLASE 2 | <i>Trichoderma</i> spp. crece al menos sobre las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo. |
| CLASE 3 | <i>Trichoderma</i> spp. y el patógeno cubren aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo. |
| CLASE 4 | El patógeno crece al menos en las dos terceras partes del medio de cultivo limitando el crecimiento de <i>Trichoderma</i> spp. |
| CLASE 5 | El patógeno crece sobre la colonia de <i>Trichoderma</i> spp. ocupando toda la superficie del medio de cultivo. |

Competencia por espacio: Utilizando una regla graduada se midieron los radios de crecimiento de los patógenos (RCP) y de los antagonistas (RCA) en cultivo dual, junto a sus respectivos testigos (Fernández Barbosa y Suárez Meza, 2009, p.4745).

Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR): Se empleó la siguiente fórmula $PICR = (R1 - R2)/R1 \times 100$, donde R1 es el radio mayor o radio del patógeno testigo, R2 es el radio menor o radio del patógeno en enfrentamiento con el antagonista (Ezziyani y otros, 2004, citado por Fernández Barbosa y Suárez Meza, 2009, p.4745).

Las cepas con un PICR mayor al 60% frente a *Fusarium* spp. (T1-4, T11-1, T15-3, T16-6 y T19-1) se emplearon para la determinación de MV y MDM.

2) Ensayos de Metabolitos Volátiles (MV) (Anexo 11)

Para cada repetición se utilizaron 2 cajas de petri con medio APG 2%, se sembró en el centro de una de las cajas una sección de 4x4mm del hongo fitopatógeno y en el centro de la otra caja se sembró una sección del hongo antagonista (ambos provenientes de cultivos puros de 7 días), luego se substituyeron las tapas de las cajas por un disco de papel celofán estéril y se unieron ambas cajas con cinta adhesiva. Paralelamente se sembró en otra caja una sección del fitopatógeno, el

cual correspondió al testigo. Las cajas así acondicionadas se colocaron en estufa a 25°C, 12 hs oscuridad/12 hs luz durante 7 días. Se realizaron tres replicas para cada tratamiento y el testigo. A los 7 días de incubación se midió el crecimiento radial del hongo fitopatógeno testigo y del fitopatógeno en enfrentamiento al antagonista, con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) con la fórmula utilizada por Ezziyyani y otros (2004), citado por Fernández Barbosa y Suárez Meza (2009, p.4745).

3) Ensayos de Metabolitos Difusibles al Medio (MDM) (Anexo12)

Sobre la superficie del medio de cultivo con APG 2% contenida en una caja de petri, se colocó un disco de papel celofán estéril y en el centro de la misma se transfirió una sección de 4x4 mm de un cultivo puro de *Trichoderma* spp. de 7 días de edad y se acondicionó la caja en estufa (25°C, 12 hs de oscuridad/12 hs de luz) durante 48 hs. Pasado el tiempo de incubación se retiró el papel celofán con la colonia de adherida a él, en ese momento se sembró en el centro de la placa “limpia” de estructuras del antagonista, una sección de 4x4mm del hongo fitopatógeno. Paralelamente se sembró en otra caja de petri con APG 2% una sección del fitopatógeno testigo. Las cajas se llevaron a estufa durante 7 días (25°C, 12 hs de oscuridad/12 hs de luz). Se realizaron tres replicas para cada tratamiento y el testigo. Al finalizar el ensayo se calculó el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) con la fórmula utilizada por Ezziyyani y otros (2004), citado por Fernández Barbosa y Suárez Meza (2009, p.4745).

Diseño y Análisis estadístico: Para la determinación de conidios/ml se efectuaron 18 tratamientos con tres repeticiones. En ensayos de CD, la determinación de Competencia por espacio y PICR, se concretaron en 4 tandas; Tanda 1 compuesta por triplicados de 15 tratamientos (9 de cultivos duales, 3 testigos antagonistas, 3 testigos patógenos); Tanda 2 y 3 compuestas por triplicados de 19 tratamientos (12 de CD, 4 testigos antagonistas y 3 testigos patógenos); Tanda 4 con triplicados de 31 tratamientos (21 de CD, 7 testigos antagonistas, 3 testigos patógenos). Para los ensayos de MV y MDM se evaluaron por triplicado 5 tratamientos. Se realizó un DCA y para identificar las diferencias significativas se usó la prueba de comparación de

Tukey con un $\alpha=0,05$ con el programa estadístico InfoStat versión 2015 (Di Rienzo, Casanoves, Balzarini, González, Tablada y Robledo, 2015).

Resultados y Discusión

Primera Etapa

➤ Caracterización del sistema productivo de “Quinua” en la Provincia de Jujuy

Se encuestaron a 13 productores de la región de la Puna de la Provincia de Jujuy (7 del Dpto. Yavi, 4 del Dpto. Cochinoca y 2 correspondientes al Dpto. de Santa Catalina) y 5 productores de la Quebrada de Humahuaca (1 del Dpto. de Tilcara, 1 del Dpto. de Tumbaya y 3 del Dpto. de Humahuaca). Algunos datos no fueron proporcionados como por ejemplo la edad (aunque se estima que tienen entre 30-65 años o más aproximadamente) o el Nivel de escolarización. Sin embargo se pudo conseguir la siguiente información;

- El 38% de los productores encuestados de la Puna son propietarios de las tierras, contando con título de la misma, y el 61% restante no especifica el régimen de tenencia. De los productores de la Quebrada el 50% es ocupante de tierras fiscales y otro 50% es propietario.

El Censo Nacional Agropecuario 2008, registró la existencia de 5.037 explotaciones agropecuarias (EAP) en la región Quebrada y Puna, que representa el 57,7% del total de explotaciones en Jujuy, de las cuales la mayor parte corresponde a la tipología de pequeños productores familiares. El 40% de las explotaciones corresponde a la Quebrada y el 60% a la región de la Puna. En la región de la Puna existen 2421 explotaciones sin límites definidos y en la región de la Quebrada 815, estas explotaciones se caracterizan por tener límites imprecisos o carecer de ellos, en esta categoría existen diferentes modalidades de tenencia: campos comuneros, comunidades indígenas, parques nacionales, otras tierras fiscales y privadas. En cuanto a EAP con límites definidos, la Puna presenta 587 y la Quebrada 1214. Entre los productores de quinua de la Puna, la forma principal de tenencia de la tierra es comunitaria (más del 70%). La Quebrada registra 2 perfiles; 1- Quebrada central, con minifundios de propiedad individual, con título en la mayoría de los casos y 2-Quebradas laterales, donde la propiedad es comunitaria, en proceso de

obtención de título comunitario (Roisinblit, Golsberg, Schimpf, Figlioli, Chauque, Sardina, Rivero, Chavez, Quiroga, Álvarez y Hamity, 2015, p.3).

- Entre los productores de la Puna, cuatro declararon la superficie que disponen; ½ ha Liliana Bautista de Chujchuara (Dpto. Yavi), ½ ha Héctor Chaile de El Angosto (Dpto. Santa Catalina), 6 has Oscar Castillo de La Quiaca Vieja (Dpto. Yavi) y 500 has Gustavo Cruz del Paraje Santuario (Dpto. Cochino). En la Quebrada dos productores presentan ½ ha, un productor 0,75 ha y otro 1 ha.

De acuerdo al INDEC (2001) gran parte de los habitantes de la Puna pueden caracterizarse como pequeños productores campesinos semiproletarios de tradición indígena (Golsberg, Orcasitas, Chauque, y Daza, 2010, p.5). En la Quebrada en cuanto a la distribución de explotaciones con límites definidos el 78% de las explotaciones tiene menos de 5 hectáreas (3% de la superficie), el 3% de las explotaciones tienen escalas de entre 200 y 2500 has (40% de la superficie), el 19% de las EAP tienen escalas entre 5 y 200 has (11% de la superficie) (Roisinblit y otros, 2015, p.4).

- En la región de la Puna se dedican a la ganadería (cría de ovejas y llamas) y a la producción de hortalizas y cultivos andinos: Los productores del Dpto. de Yavi, cultivan haba, arveja, papa y quinua, tres de ellos también producen zanahoria, cebolla y ajo; Los del Dpto. de Cochino se dedican a la producción de quinua, papa y alfalfa; Los de Santa Catalina producen haba, zapallo, cebolla, papa, maíz y quinua. En la Quebrada, todos los productores se dedican principalmente a cultivar hortalizas (remolacha, zapallitos, haba, arveja, papa), también distintas variedades de maíces y además tienen la intención de sembrar quinua en los próximos años.

La población de Quebrada-Puna se dedica a la ganadería de altura, producción hortícola y de cultivos andinos, dentro de estos últimos se encuentra la quinua que durante la campaña 2013-2014 se produjo en 195 establecimientos (58 has.). El 80% de la quinua se produce en la Puna (con un promedio de 3833m² por establecimiento) y el 20% en la Quebrada de Humahuaca (con casi 1500m² por establecimiento). Los productores se distribuyen: 75 en la Quebrada y 120 en la Puna (principalmente en el Departamento de Yavi, Santa Catalina, Susques y

Cochinoca, en Rinconada no se registraron datos del cultivo en la campaña 2013-2014) (Roisinblit y otros, 2015).

Los habitantes de la Puna iniciaron, hace al menos mil años, un sistema alimentario basado en la explotación agropastoril en archipiélagos y vegas de altura, con cereales (principalmente quinua y kiwicha), papa y llamas (Roisinblit y otros, 2015).

La Quebrada posee el 81% de la superficie implantada, especializándose en el cultivo de hortalizas (61%) y en menor medida, forrajeras (21%), cereales para grano (8%) y frutales (7%). Se desarrollan en menor escala otras actividades, como la floricultura y la cría de ovinos y caprinos (Roisinblit y otros, 2015).

- Todos los productores de la Puna encuestados, producen quinua en alguna medida, iniciando la siembra a partir del 15 de noviembre. El 85% de los productores desconocen la población utilizada y el 15% restante declara que la población usada es la blanca y morada (mezcla).
- En la Puna, el 69% destina la producción (hortalizas y cultivos andinos) exclusivamente al autoconsumo, el 15% no especifica el destino, uno declara que su producción la destina al autoconsumo y venta, y otro para autoconsumo y la alfalfa la destina al ganado. Por otra parte los productores de la Quebrada destinan lo producido (hortalizas) al autoconsumo, trueque, feria campesina y mercado local.

En Golsberg y otros (2010) mencionan que el cultivo de la quinua fue perdiendo importancia, en forma paulatina, en las provincias andinas del Noroeste Argentino desde la llegada de los españoles, no obstante algunas familias han conservado este grano en muy pequeña escala, destinado principalmente al autoconsumo y aquellos que comercializan la quinua lo hacen de forma informal, y se vende muchas veces sin desamargar, disminuyendo su calidad comercial, además por contar con una escasa infraestructura y una pobre logística, muy pocos productores logran acceder a otros mercados (Roisinblit y otros, 2015).

- En referencia al control de plagas y enfermedades tanto en la región de Puna como Quebrada, los productores no utilizan productos químicos, sino que se inclinan más por el uso de productos biológicos tales como: *Trichoderma* y *Bauveria*, éstos son proporcionados por los técnicos que usualmente los visitan, también suelen preparar supermagro y compost, la gran mayoría

realiza el abonado con guano local de oveja y llama, en algunos casos con guano de chivo. En la Quebrada un solo productor asume que es muy dependiente de los agroquímicos, pero se encuentra en una etapa de transición, probando la utilización de productos biológicos.

En la Puna, el auto-aprovisionamiento de bioinsumos para el cultivo de quinua resulta un fenómeno cada vez más frecuente, se destaca la producción de bioles, tales como el supermagro, que tiene como base en su preparación guano de llama u oveja, azúcar, leche y agua, adicionando en algunos casos azufre o plantas locales como molle seco, tola, etc., estos preparados son utilizados como bioestimulantes y/o repelentes de insectos, representando una alternativa agroecológica frente a procesos de transición desde sistemas de producción convencional (Geronazzo, Rivera, Catacata y Álvarez, 2015, p.3).

- En Puna y Quebrada emplean la mano de obra familiar, en las actividades que demandan los cultivos.

En el cultivo de la quinua, el proceso de siembra, cultivo, cosecha y poscosecha se realiza manualmente ya que la oferta de maquinarias para este cultivo en Argentina es nula para las distintas etapas, limitando su desarrollo y expansión como alternativa productiva (Golsberg y otros, 2010, p.7).

- Los productores de Puna y Quebrada, actualmente están organizados en dos Mesas, la de Puna y la de Quebrada, que se reúne mensualmente con el apoyo técnico de instituciones públicas como el INTA, la Secretaria de Agricultura Familiar, la Facultad de Ciencias Agrarias entre otros.

Una parte significativa de las unidades productivas familiares de Puna y Quebrada están asociadas en organizaciones como la Red Puna, la Asociación de Productores de la Puna y Quebrada, la Cooperativa Agropecuaria Artesanal Unión Quebrada y Valles (CAUQueVA) y la Cooperativa Agroganadera La Intermedia Ltda., UPPAJS (Unión de pequeños productores aborígenes de Jujuy y Salta) entre otras (Roisinblit y otros, 2015, p.3).

- En la Puna, 2 productores de la Comunidad Hornaditas de la Cordillera producen en su mayoría a secano (cuando es posible captan el agua de una vertiente); 6 cuentan con sistema de riego por goteo (uno de la comunidad de

Chujchuara, 2 de la comunidad Chalgumayoc, 1 de La Quiaca Vieja, 2 del Paraje El Santuario); 3 de los productores realiza riego por surco (1 de la Comunidad de El Cóndor, 2 de la Comunidad de Vera Cruz).

La mayor parte de los productores del Complejo Quinua está vinculada a la cuenca del río Grande, cuyo cauce principal recorre la Quebrada de Humahuaca, y resulta ser el colector de una gran cuenca de 8.366 km². Esta cuenca tiene un marcado carácter torrencial, y un desarrollo altitudinal muy importante, que varía entre los 5.856 msnm en las nacientes del río Grande, cerca de 430 msnm, en la desembocadura sobre el río Lavayén (Roisinblit y otros, 2015, p.8).

En Yavi aproximadamente el 25% de la superficie que posee el productor es irrigada el resto, es a secano. La fuente de agua para riego, de los 86 productores de Yavi, 30 lo hacen con agua de los ríos, 36 productores captan el agua de vertientes y 20 productores no tienen acceso al agua (Roisinblit y otros, 2015, p.9).

En la Quebrada Humahuaca, en las zonas altas y quebradas transversales a la ruta 9, los productores utilizan como fuentes de agua principalmente las vertientes y el Río Grande. En la zona baja, adyacente a ruta 9, el 90% de los productores usan el agua del Río y el 10% de vertientes. En Tumbaya, el 95% de los productores utiliza agua de vertientes. Según la información disponible, es difícil determinar el porcentaje de producción a secano y bajo riego, ya que la mayoría de los productores hacen llegar agua hasta donde pueden, y el resto lo hacen por secano, combinando los sistemas riego – secano (Roisinblit y otros, 2015, p.9).

En la Puna, los productores carecen de acceso a las variedades mejor adaptadas para cada región o piso ecológico, o para diversos usos y desconocen los requerimientos específicos del manejo del cultivo. En general, el productor conoce las labores culturales, pero carece de información sobre el manejo de plagas o enfermedades que pueden afectar su cultivo. En cuanto a la cosecha, el grano buscado se presenta junto a otros miles, dentro de una o varias panojas, según la variedad, no todas las panojas maduran al mismo tiempo, lo que dificulta la toma de decisión sobre el momento indicado de cosecha, para resolver este problema, muchos productores realizan cosechas parciales. En Jujuy la mayoría del procesamiento de la quinua es artesanal y de baja escala (Roisinblit y otros, 2015, p.9).

➤ **Recolección de muestras de suelo:** Se lograron recolectar un total de 22 muestras de suelo, 16 correspondientes a la región de la Puna y 6 correspondientes a la región de la Quebrada de Humahuaca (Anexo 3). A continuación se presenta un cuadro en el cual se expone la procedencia de las muestras (Cuadro 4).

Cuadro 4: Sitios de muestreo en parcelas agrícolas de la Región de Puna y Quebrada.

| Región | Comunidad | Parcelero | Muestra | Georeferencia |
|---|--|------------------------------|--|--|
| PUNA | Comunidad Aborigen Hornaditas de la Cordillera (a 74 km de la Quiaca-Dpto. Yavi) | Jacinto Torres | 1 | -S 22° 29' 42,35" -O 65° 22' 45,30" -3945 msnm |
| | | Rufino Fidencio Torres | 15 | -S 22° 29' 42,90" -O 65° 22' 51,06" -3934 msnm |
| | Chujchuara (a 20 km de la Quiaca-Dpto. Yavi) | Liliana Bautista | 2 | -S 22° 10' 23,45" -O 65° 43' 33,47" |
| | Comunidad Aborigen Vera Cruz (a 90 km desde la Quiaca-Dpto. Cochínoca) | Francisco Cruz | 12 (parte alta) | -S 22° 34' 38,76" |
| | | | 14 (parte media) | -W 65° 23' 24,63" |
| | | | 3 (parte baja) | -4035 msnm |
| | | Salvador Cruz y Lorenzo Cruz | 4 | -S 22° 34' 27,21" -O 65° 23' 25,53" |
| | | | 6 | -4009 msnm |
| | El Angosto (a 60 km de la Quiaca-Dpto. Santa Catalina) | Héctor Chaile | 5 | -S 21° 52' 37,21" -O 65° 35' 38,78" -3581 msnm |
| | | Teófilo Vargas | 9 | -S 21° 52' 37,59" -O 66° 11' 18,14" -3581 msnm |
| | Chalguamayoc (Dpto. Yavi) | Darío Tito | 7 | -S 22° 14,767' -O 65° 21,907' -3713 msnm |
| | | Jesús Tito | 8 | -S 22° 14,534' -O 65° 22,362' -3695 msnm |
| | La Quiaca Vieja (a 5 km de la Quiaca- Dpto. Yavi) | Oscar Castillo | 11 | - S 22° 8' 6,95" -O 65° 35' 38,78" |
| | Paraje Santuario (8-10 Km al Norte de la ciudad de Abra Pampa- Dpto. Cochínoca) | Santiago Tolaba | 13 | -S 22° 37 48 -O 65° 42 00 -3507 msnm |
| Gustavo Cruz | | 22 | -S 22° 39 02 -O 65° 42 05 -3507 msnm | |
| Comunidad Aborigen de El Cóndor (a 65 Km desde la Quiaca- Dpto. Yavi) | Nemecio Vargas | 18 | -S 22° 23,466' -O 65° 25,659' -3774 msnm | |
| QUEBRADA | Comunidad Aborigen de Villa El Perchel (Dpto. Tilcara) | Héctor Romero | 10 (c/urea) | -S 23°34'00" |
| | | | 21 (c/ abono org.) | -O 65°22'00" -2465 msnm |
| | Comunidad Aborigen de Punta Corral (Dpto. Tumbaya) | Jorge Vilca | 16 | -S 23°51'10" -O 65°27'58" -2099 msnm |
| | Paraje Coctaca (Dpto. Humahuaca) | Donato | 17 | -S 23°08'53" -O 65°17'08" -320 msnm |
| | | Eloy Tactaca | 19 | -S 23°08'53" -O 65°17'08" -320 msnm |
| | | Pantaleón Tactaca | 20 | -S 23°08'53" -O 65°17'08" -320 msnm |

Segunda Etapa

➤ Aislamiento de *Trichoderma* spp.

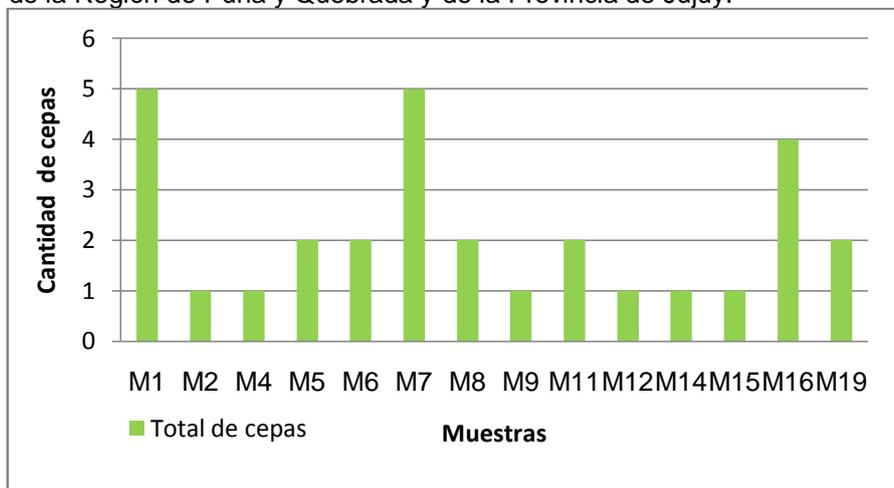
De las 14 muestras de suelo procesadas se aislaron 30 cepas de *Trichoderma* spp., las cuales se identificaron de acuerdo a sus características macroscópicas, coincidente a lo observado por Aguilar y otros (2012), la mayoría de los aislamientos presentaban colonias de bordes regulares, de crecimiento rápido, entre 7-9 cm de diámetro después de 72-96 horas de incubación a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, las colonias presentaron inicialmente un color blanco, tornándose verdosas posteriormente, hasta finalmente adoptar un color de verde azulado claro a verde más oscuro. Las cepas también se reconocieron por sus características microscópicas; hifas con pocos septos, conidióforos erectos con ramificaciones a lado y lado de las hifas, estas ramificaciones presentaban forma de botella (fiálides), conidios pequeños globosos hiálinos (Barnett, 1995, citado por Márquez y otros, 2002, p.84).

La mayor proporción de las cepas aisladas procedieron de las muestras M1 y M7 pertenecientes a la región de la Puna y M16 perteneciente a la región de la Quebrada de Humahuaca (Cuadro 5, Gráfico 1), sin embargo en todas las muestras se aisló al menos una cepa, estos resultados corroboran que este género de hongos es cosmopolita y un habitante natural de los suelos (Jensen y Wolffhechel, 1995, citado por Michel-Aceves y otros, 2001, p.157) y que las especies de *Trichoderma* son los microorganismos que con más frecuencia se aíslan en los suelos agrícolas (Hernández Martínez y Montoya, 2012, p.3). También se puede afirmar lo expresado por Wardle y otros (1993) citado por Danay Infante y otros (2009, p.16) en cuanto a que la presencia de forma natural de *Trichoderma* en diferentes suelos (agrícolas, forestales, en barbechos), se considera una evidencia de la plasticidad ecológica de este hongo y de su habilidad como excelente competidor por espacio y recursos nutricionales.

Cuadro 5: Cepas de *Trichoderma* spp. aisladas de 14 muestras de suelo de la Región de Puna y Quebrada de la Provincia de Jujuy.

| Muestras | M1 | M2 | M4 | M5 | M6 | M7 | M8 |
|-----------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Cepas aisladas | T1-1 | T2-1 | T4-1 | T5-1 | T6-1 | T7-1 | T8-2 |
| | T1-2 | | | T5-4 | T6-2 | T7-2 | T8-3 |
| | T1-3 | | | | | T7-3 | |
| | T1-4 | | | | | T7-4 | |
| | T1-5 | | | | | T7-6 | |
| Total de cepas | 5 | 1 | 1 | 2 | 2 | 5 | 2 |
| Muestras | M9 | M11 | M12 | M14 | M15 | M16 | M 19 |
| Cepas aisladas | T9-1 | T11-1 | T12-1 | T14-1 | T15-3 | T16-1 | T19-1 |
| | | T11-2 | | | | T16-2 | T19-2 |
| | | | | | | T16-3 | |
| | | | | | | T16-6 | |
| | | | | | | | |
| Total de cepas | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 4 | 2 |

Gráfico 1: Cepas de *Trichoderma* spp. aisladas de 14 muestras de suelo de la Región de Puna y Quebrada y de la Provincia de Jujuy.



➤ **Tasa de Crecimiento (TC)**

La tasa de crecimiento es una herramienta fisiológica útil para predecir la habilidad de biocontrol de las cepas de *Trichoderma* (Uzunovic y Webber, 1998, citado por Guigón-López y otros, 2010, p.93) por lo que es utilizada como una primera referencia al caracterizar cepas nuevas de este antagonista (Hermosa y otros, 2000, citado por Guigón-López y otros, 2010, p.93).

En el Cuadro 6 puede observarse que a las 72 hs de incubación, las cepas T1-2, T19-2, T8-2, T8-3, T1-4, T11-1 y T12-1 llegan a cubrir el 100% de la superficie de la placa de Petri y presentan las mayores tasas de crecimiento (TC) de 13-20 mm/día, éstos resultados son de importancia si se tiene en cuenta que la velocidad de crecimiento es un carácter ventajoso en la disputa por colonizar el área, compitiendo

por espacio y nutrientes, ésta es una manera de ejercer biocontrol, al reducir o detener completamente el desarrollo del micelio (Guédez, Cañizalez, Castillo, y Olivar, 2012, p.47). Resultados similares obtuvieron Guigón-López y otros (2010), donde las cepas más sobresalientes fueron las pertenecientes a *T. asperellum* con TC de 12-17 mm/día cubriendo completamente la superficie del PDA en las cajas Petri.

Mientras que las cepas T15-3, T16-6, T19-1, T5-4 y T7-4 cubren entre el 50-75% con TC de 6-10 mm/día, a las 72 hs de incubación.

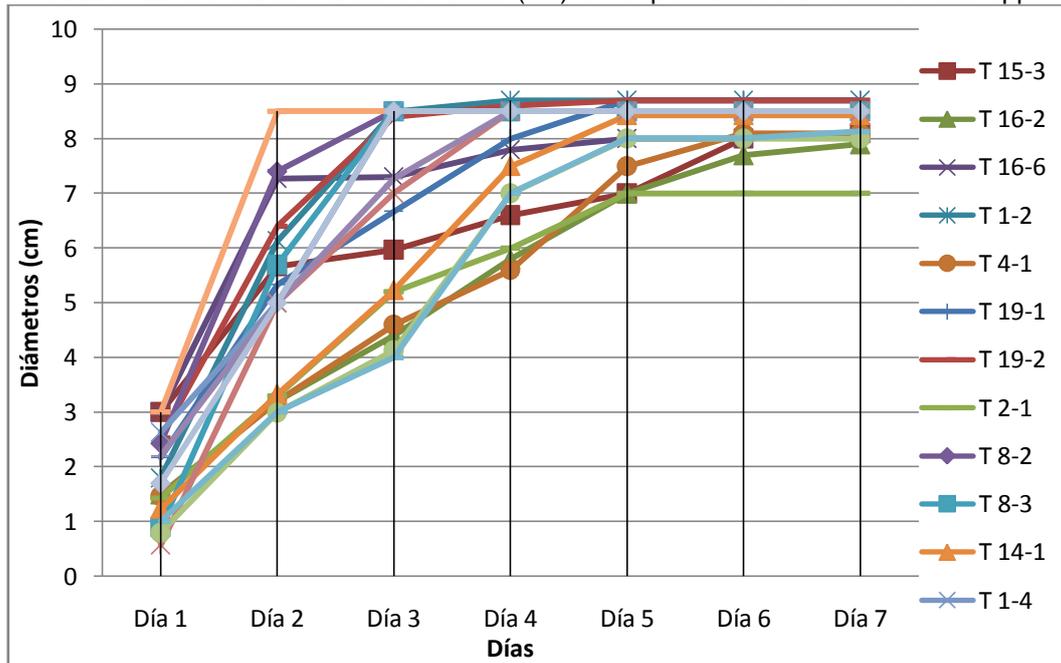
Cuadro 6: Crecimiento diametral diario (cm), Porcentaje de área ocupada (%) a 72 de incubación y Tasa de crecimiento (mm/día) de cepas nativas de *Trichoderma* spp.

| Cepas | Crecimiento diametral diario (cm) | | | | | | | PAO a 72 hs de incubación (%) | TC (mm/día) |
|--------|-----------------------------------|-------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------------------------------|-------------|
| | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 | Día 6 | Día 7 | | |
| T 15-3 | 3,00 | 5,67 | 5,97 | 6,60 | 7,00 | 8,00 | 8,10 | 49,33 | 6,33 |
| T 16-2 | 1,50 | 3,20 | 4,40 | 5,80 | 7,00 | 7,70 | 7,90 | 26,80 | 5,36 |
| T 16-6 | 3,00 | 7,27 | 7,30 | 7,80 | 8,00 | 8,00 | 8,10 | 73,76 | 7,60 |
| T 1-2 | 1,80 | 6,13 | 8,50 | 8,70 | 8,70 | 8,70 | 8,70 | 100,01 | 13,50 |
| T 4-1 | 1,47 | 3,20 | 4,60 | 5,60 | 7,50 | 8,10 | 8,10 | 29,29 | 6,42 |
| T 19-1 | 2,17 | 5,33 | 6,67 | 8,00 | 8,70 | 8,70 | 8,70 | 61,58 | 9,50 |
| T 19-2 | 2,53 | 6,40 | 8,40 | 8,60 | 8,70 | 8,70 | 8,70 | 97,67 | 13,33 |
| T 2-1 | 1,43 | 3,30 | 5,20 | 6,00 | 7,00 | 7,00 | 7,00 | 37,43 | 4,71 |
| T 8-2 | 2,43 | 7,40 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 100,01 | 13,50 |
| T 8-3 | 0,90 | 5,70 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 100,01 | 13,50 |
| T 14-1 | 1,23 | 3,33 | 5,23 | 7,50 | 8,43 | 8,43 | 8,43 | 37,86 | 8,88 |
| T 1-4 | 2,63 | 5,00 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 100,01 | 13,50 |
| T 5-4 | 0,57 | 5,00 | 7,00 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 67,83 | 10,13 |
| T 7-1 | 0,80 | 3,00 | 4,13 | 7,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 23,61 | 7,60 |
| T 7-4 | 2,20 | 5,00 | 7,27 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 73,16 | 10,13 |
| T 9-1 | 1,00 | 3,00 | 4,00 | 7,00 | 8,00 | 8,00 | 8,13 | 22,15 | 7,60 |
| T 11-1 | 3,00 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 100,01 | 20,25 |
| T 12-1 | 1,70 | 5,00 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 8,50 | 100,01 | 13,50 |

| | |
|---------------------|--|
| PAO=100% | |
| PAO entre el 50-75% | |

No obstante como se ve en el gráfico 2, todas las cepas de *Trichoderma* alcanzan a cubrir la superficie de las cajas en un término de 7 días de incubación, lo cual coincide con lo expuesto por Páez (2006) citado por Aguilar y otros (2012), que plantea que *Trichoderma* generalmente posee un rápido crecimiento y desarrollo y alcanza 7-9 cm de diámetro después de 72-96 horas de incubación a una temperatura de 25 ± 1°C.

Gráfico 2: Crecimiento diametral diario (cm) de cepas nativas de *Trichoderma* spp.



➤ Concentración de conidios (ufc/ml)

El hongo *Trichoderma* sp. produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y esporas (conidias) (Papavizas, 1985, citado por Agamez Ramos, Zapata Navarro, Oviedo Zumaqué y Barrera Violeth, 2008, p.24), éstas últimas son las más viables de los propágulos empleados para la formulación artesanal o presentaciones comerciales, en programas de biocontrol (Elad y otros, 1993, citado por Agamez Ramos y otros, 2008, p.24). Estos cuerpos especializados se caracterizan por poseer una gruesa pared exterior, constituida por tres capas (endospora, epispora y perispora) que protegen el interior de la espora (protoplasto). Esta gruesa pared se diferencia de la pared celular de las células vegetativas del hongo (hifas y clamidosporas), las cuales son mucho más delgadas y no está formada por capas constitutivas como las esporas. La ventaja para la espora de poseer una pared celular gruesa es aislarla del medio-ambiente y permitir que sobreviva a condiciones adversas, manteniéndola en dormancia hasta que las condiciones sean propicias para la germinación. En consecuencia, las conidias son verdaderas semillas que utiliza el hongo para colonizar nuevos sustratos y, en el caso de *Trichoderma* sp., es la principal forma de producción comercial (Agamez Ramos y otros, 2008, p.24). Por lo expuesto anteriormente surge la necesidad de conocer la producción de conidios por mililitro, cuando las cepas son cultivadas en medio de PDA, con lo cual

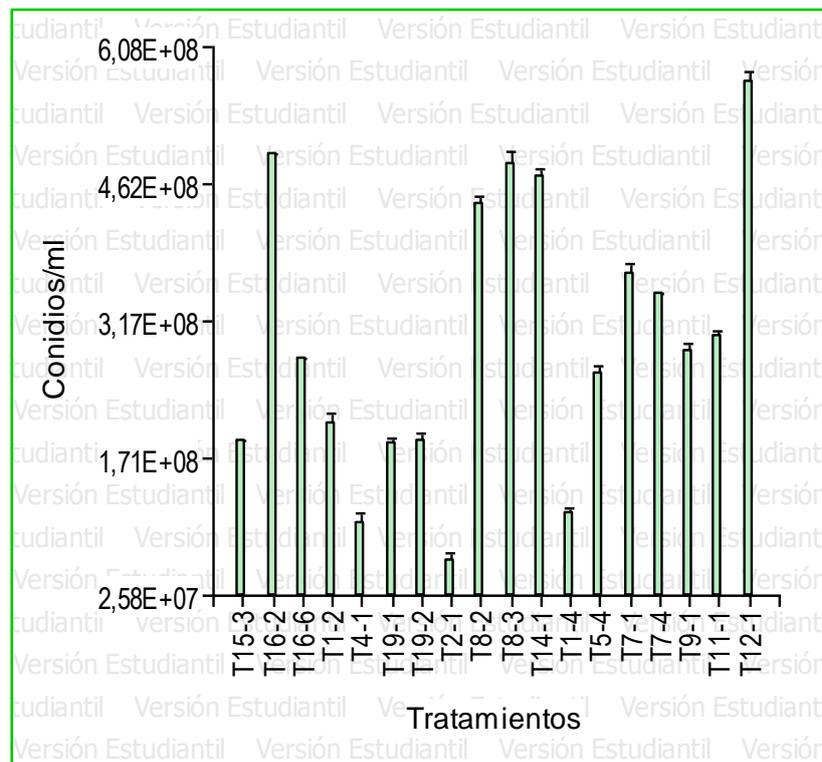
podríamos inferir su concentración en otros medios o sustratos como: arroz, avena, trigo, etc. En este ensayo se obtuvo que la cepa T12-1 presenta la más alta concentración de conidios ($5,72E+08$) y es significativamente diferente a las demás, sin embargo las cepas restantes presentan valores entre $1E+08$ y $5E+08$ conidios/ml, excepto la cepa T2-1 que presenta $6,18E+07$ conidios/ml (Cuadro 7, Gráfico 3). Estos resultados serían satisfactorios ya que se han evaluado diferentes concentraciones de *Trichoderma* sp. contra *F. oxysporum*, obteniendo que concentraciones de $1E+06$ conidios/ml resultan efectivas a nivel de campo (González y otros, 2005, citado por Fernández Barbosa y Suárez Meza, 2009, p.4744). Por otra parte, al evaluar la eficacia técnica de *Trichoderma* spp. sobre el patógeno *Rhizoctonia*, aplicando una concentración de $1E+07$ conidios/ml quince días antes de la siembra de arroz, se encontró una efectividad superior al 80% (Yusimy Reyes, Martínez B. y Danay Infante, 2008). También se tiene como referencia que en Cuba se produce artesanalmente *Trichoderma* en presentación líquida con una concentración de $2-3E+08$ conidios /ml (Orietta Fernández y Larrea Vega, 2001, p.99).

Cuadro 7: Concentración de conidios/ml de cepas nativas de *Trichoderma* spp. a 7 días de incubación.

| Cepas | Conidios/ml | |
|-------|-------------|----|
| T15-3 | 1,89E+08 | C |
| T16-2 | 4,93E+08 | G |
| T16-6 | 2,75E+08 | D |
| T1-2 | 2,08E+08 | C |
| T4-1 | 1,02E+08 | AB |
| T19-1 | 1,86E+08 | C |
| T19-2 | 1,89E+08 | C |
| T2-1 | 6,18E+07 | A |
| T8-2 | 4,40E+08 | F |
| T8-3 | 4,83E+08 | FG |
| T14-1 | 4,71E+08 | FG |
| T1-4 | 1,13E+08 | B |
| T5-4 | 2,61E+08 | D |
| T7-1 | 3,67E+08 | E |
| T7-4 | 3,46E+08 | E |
| T9-1 | 2,86E+08 | D |
| T11-1 | 3,00E+08 | D |
| T12-1 | 5,72E+08 | H |

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

Gráfico 3: Concentración de conidios/ml de cepas nativas de *Trichoderma* spp. a 7 días de incubación.



➤ Determinación del Poder Antagónico

1) Ensayos de Cultivos Duales (CD)

Actividad antagónica

Al enfrentar *Trichoderma* con *Fusarium* spp. la mejor cepa con actividad antagónica fue T16-6 con clase 1 de antagonismo, le siguieron las cepas T15-3, T1-2, T19-1, T19-2, T8-2, T8-3, T1-4, T5-4, T7-4, T11-1 y T12-1 de clase 2 y las cepas restantes presentaron clase 3 (Cuadro 8).

En CD con *Sclerotium* spp., las cepas T15-3, T1-2, T19-2, T8-2 y T1-4 presentaron clase 2 y T16-6, T19-1 y T8-3 clase 3, mientras que las demás resultaron desfavorables con clases 4 y 5 (Cuadro 8).

En enfrentamientos con *Rhizoctonia* spp., todas las cepas resultaron favorables con clases de antagonismo 1, 2 y 3 excepto la cepa T7-1 de clase 4 (Cuadro 8).

Del cuadro 8 y Gráfico 4 se puede apreciar que las cepas T15-3, T16-6, T1-2, T19-1, T19-2, T8-2, T8-3 y T1-4 presentan buena actividad antagónica frente a los tres fitopatógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani*. Las cepas T16-2, T4-1, T2-1, T14-1, T5-4, T7-4, T9-1, T11-1 y T12-1 sólo frente a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani*, mientras que la cepa T7-1 sólo frente a *Fusarium* spp. Estos resultados dan la posibilidad de establecer una estrategia de biocontrol de uso diferenciado de las especies de *Trichoderma* frente a los diferentes patógenos.

Resultados similares fueron obtenidos por Aguilar y otros (2012), al enfrentar a *Fusarium* y *Sclerotium rolfsii* con cepas de *Trichoderma* spp. las cuales a las 72 hs de incubación crecieron más de la tercera parte de la superficie de la placa, lo que los sitúa en la clase 2 de la escala de antagonismo, mostraron además, micoparasitismo al crecer y esporular abundantemente sobre este hongo patógeno, mientras que para el caso de *Rhizoctonia* los aislamientos de *Trichoderma* manifestaron una menor acción como competidores por el sustrato.

En ensayos realizados por Correa, Mello, Ávila, Braúna, Pádua y Gomes (2007), al evaluar 20 cepas de *Trichoderma* spp. provenientes de áreas agrícolas de la región de Brasilia (Brasil) frente a *Sclerotium rolfsii* a 120 hs de incubación obtuvo cinco cepas de clase 1, seis de clase 2, una de clase 3, tres de clase 4, y cinco de clase 5.

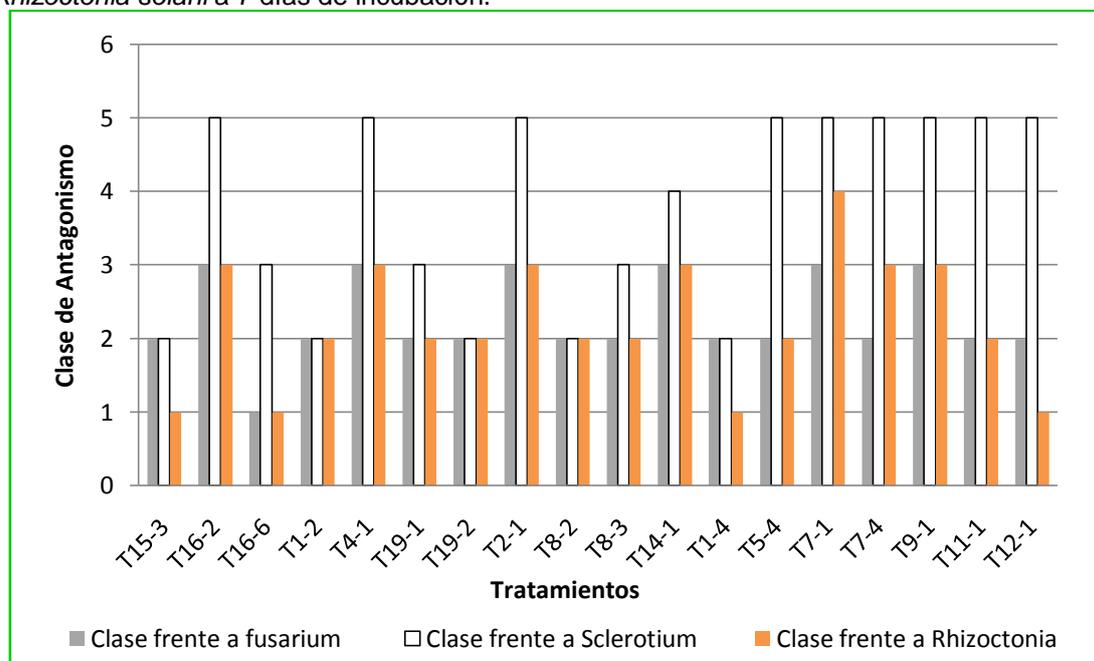
Cuadro 8: Clases de antagonismo de 18 tratamientos correspondientes a cultivos duales de distintas cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a los patógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* a 7 días de incubación. Tandas 1, 2,3 y4.

| Tandas | T vs. <i>Fusarium</i> spp. | | T vs <i>Sclerotium</i> spp. | | T vs. <i>Rhizoctonia solani</i> | |
|--------|----------------------------|----------|-----------------------------|----------|---------------------------------|----------|
| | Trat. | Clase | Trat. | Clase | Trat. | Clase |
| 1 | T15-3/F | 2 c/ H.I | T15-3/ScI | 2 c/ H.I | T15-3/Rz | 1 A s/P |
| | T16-2/F | 3 c/ H.I | T16-2/ScI | 5 P s/A | T16-2/Rz | 3 A s/P |
| | T16-6/F | 1 A s/P | T16-6/ScI | 3 c/ H.I | T16-6/Rz | 1 A s/P |
| 2 | T1-2/F | 2 c/ H.I | T1-2/ScI | 2 c/ H.I | T1-2/Rz | 2 c/ H.I |
| | T4-1/F | 3 c/ H.I | T4-1/ScI | 5 P s/A | T4-1/Rz | 3 c/ H.I |
| | T19-1/F | 2 c/ H.I | T19-1/ScI | 3 c/ H.I | T19-1/Rz | 2 c/ H.I |
| | T19-2/F | 2 c/ H.I | T19-2/ScI | 2 c/ H.I | T19-2/Rz | 2 c/ H.I |
| 3 | T2-1/F | 3 c/ H.I | T2-1/ScI | 5 P s/A | T2-1/Rz | 3 c/ H.I |
| | T8-2/F | 2 c/ H.I | T8-2/ScI | 2 P s/A | T8-2/Rz | 2 A s/P |
| | T8-3/F | 2 c/ H.I | T8-3/ScI | 3 P s/A | T8-3/Rz | 2 A s/P |
| | T14-1/F | 3 c/ H.I | T14-1/ScI | 4 P s/A | T14-1/Rz | 3 c/ H.I |
| 4 | T1-4/F | 2 A s/P | T1-4/ScI | 2 c/ H.I | T1-4/Rz | 1 A s/P |
| | T5-4/F | 2 c/ H.I | T5-4/ScI | 5 P s/A | T5-4/Rz | 2 c/ H.I |
| | T7-1/F | 3 c/ H.I | T7-1/ScI | 5 P s/A | T7-1/Rz | 4 P s/A |
| | T7-4/F | 2 c/ H.I | T7-4/ScI | 5 P s/A | T7-4/Rz | 3 c/ H.I |
| | T9-1/F | 3 c/ H.I | T9-1/ScI | 5 P s/A | T9-1/Rz | 3 P s/A |
| | T11-1/F | 2 c/ H.I | T11-1/ScI | 5 P s/A | T11-1/Rz | 2 c/ H.I |
| | T12-1/F | 2 c/ H.I | T12-1/ScI | 5 P s/A | T12-1/Rz | 1 A s/P |

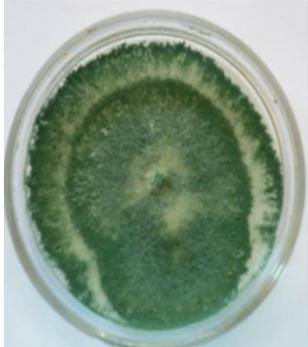
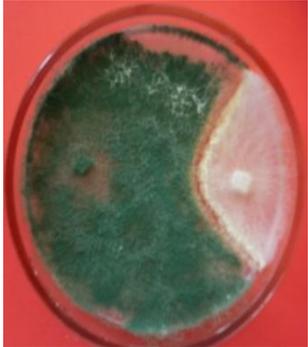
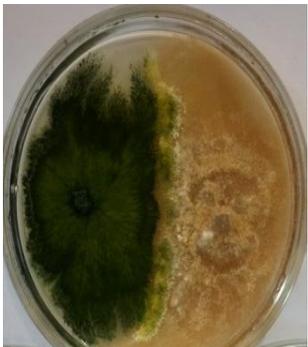
T= *Trichoderma* F= *Fusarium* ScI= *Sclerotium* Rz= *Rhizoctonia*
 c/ H.I= con halo de inhibición
 A s/P= crecimiento del antagonista sobre el patógeno
 P s/A= crecimiento del patógeno sobre el antagonista

| | |
|---------|--|
| Clase 1 | |
| Clase 2 | |
| Clase 3 | |

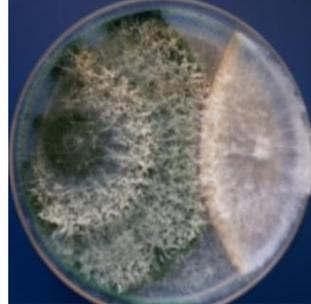
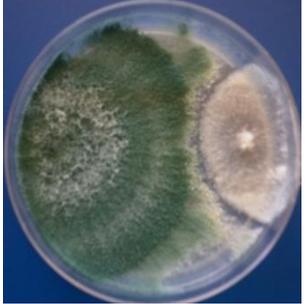
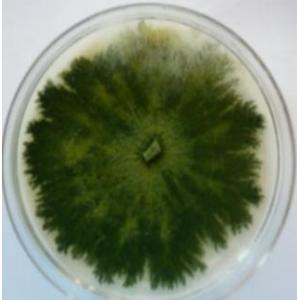
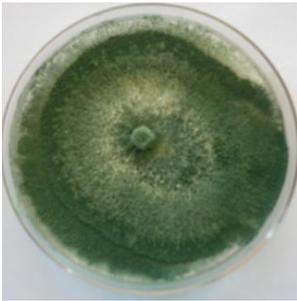
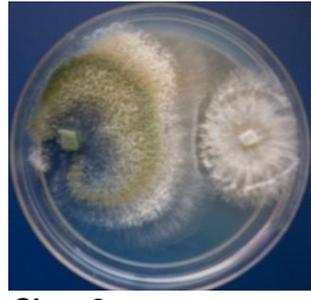
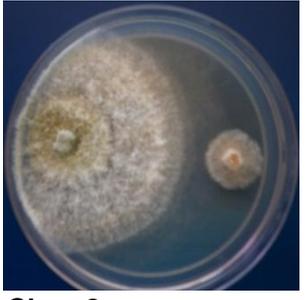
Gráfico 4: Clases de antagonismo de 18 tratamientos correspondientes a cultivos duales de distintas cepas de *Trichoderma* spp. frente a los patógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* a 7 días de incubación.



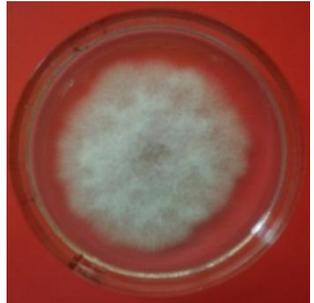
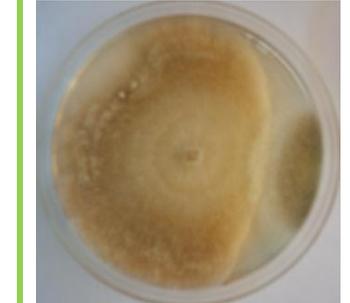
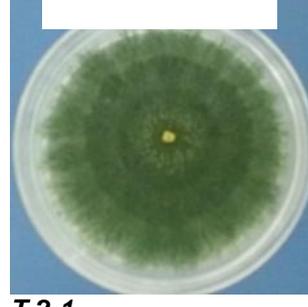
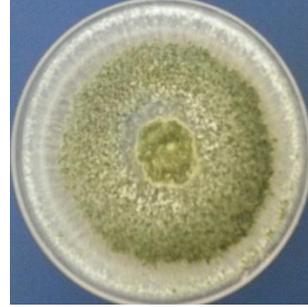
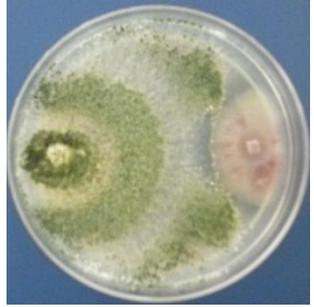
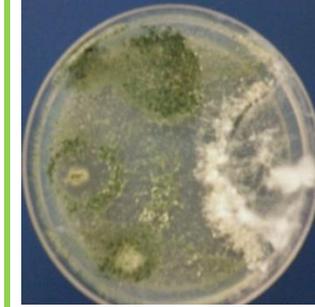
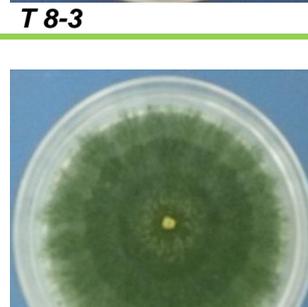
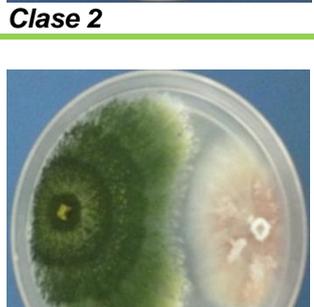
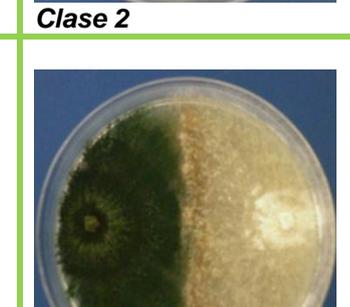
Cuadro 9: CD de cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a los patógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* a 7 días de incubación y Clase de Antagonismo. Tanda 1.

| Testigos Patógenos Testigos Antagonistas | <i>Fusarium</i> spp. | <i>Sclerotium</i> spp. | <i>Rhizoctonia solani</i> |
|---|--|---|--|
|  <p>T 15-3</p> |  <p>Clase 2</p> |  <p>Clase 2</p> |  <p>Clase 1</p> |
|  <p>T 16-2</p> |  <p>Clase 3</p> |  <p>Clase 5</p> |  <p>Clase 3</p> |
|  <p>T 16-6</p> |  <p>Clase 1</p> |  <p>Clase 3</p> |  <p>Clase 1</p> |

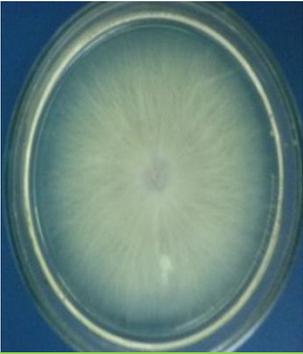
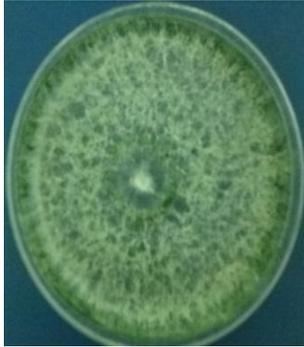
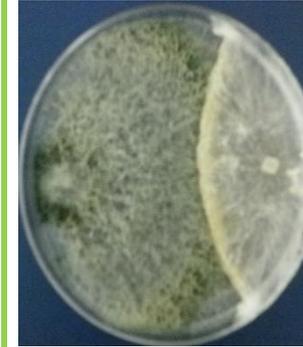
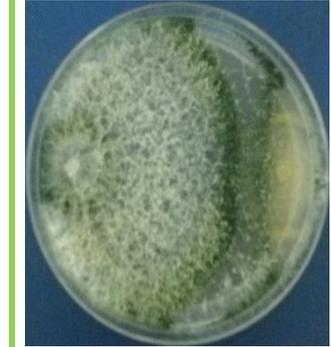
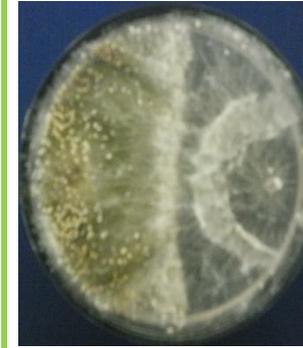
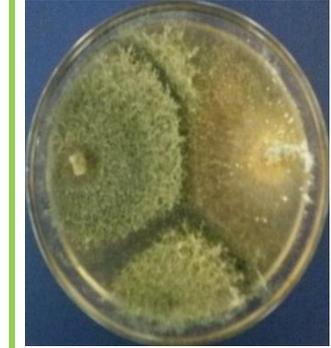
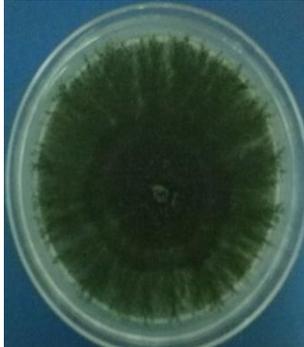
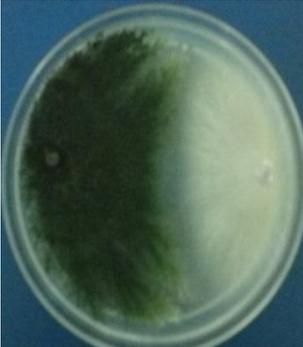
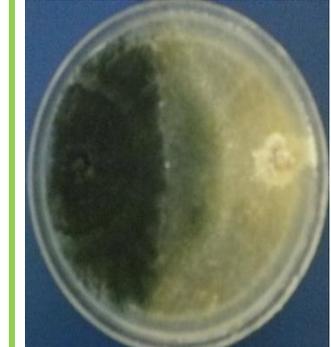
Cuadro 10: CD de cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a los patógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* a 7 días de incubación y Clase de Antagonismo. Tanda 2.

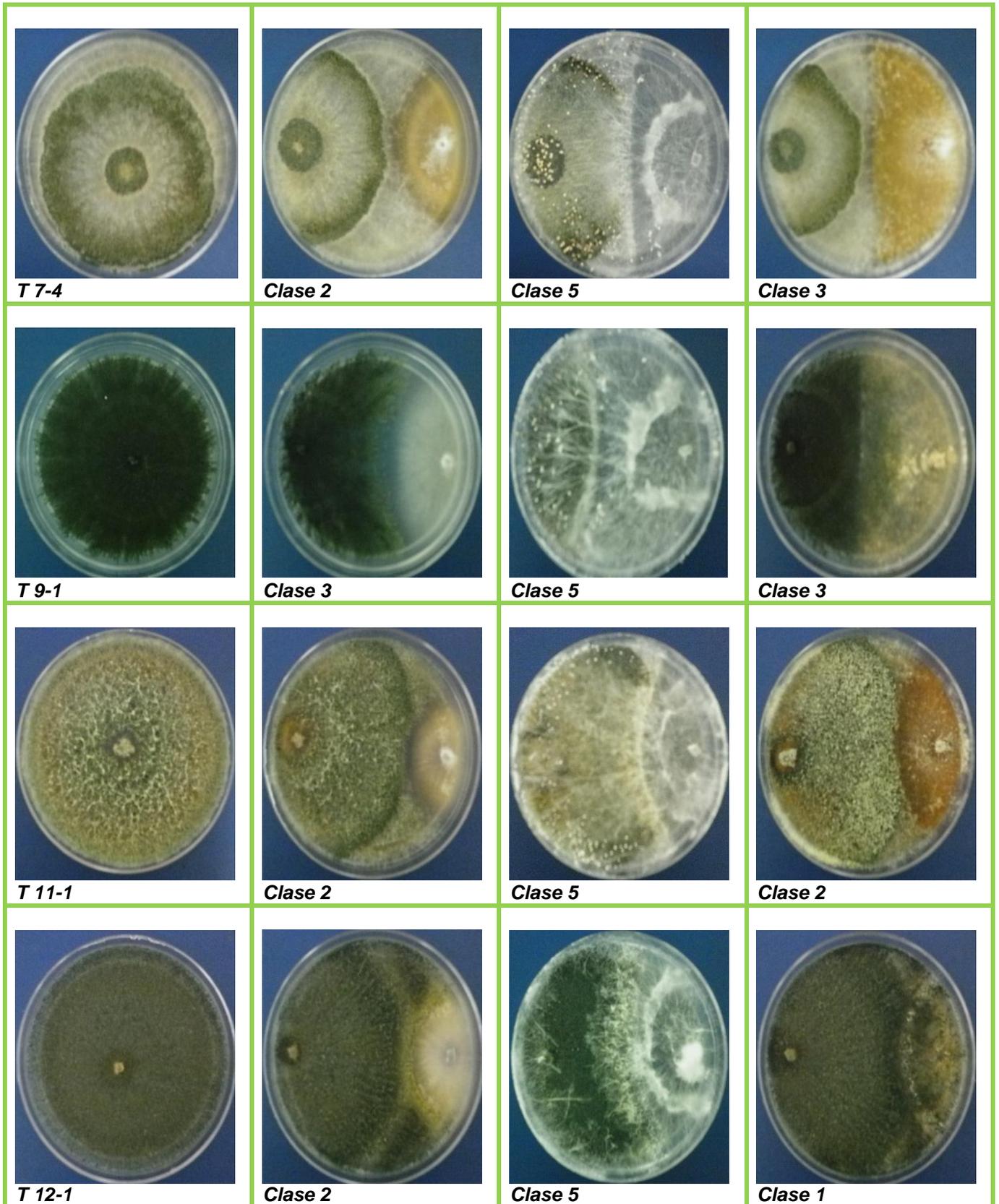
| <p>Testigos Patógenos</p> <p>Testigos Antagonistas</p> | <i>Fusarium</i> spp. | <i>Sclerotium</i> spp. | <i>Rhizoctonia solani</i> |
|---|--|---|--|
|  <p>T 1-2</p> |  <p>Clase 2</p> |  <p>Clase 2</p> |  <p>Clase 2</p> |
|  <p>T 4-1</p> |  <p>Clase 3</p> |  <p>Clase 5</p> |  <p>Clase 3</p> |
|  <p>T 19-1</p> |  <p>Clase 2</p> |  <p>Clase 3</p> |  <p>Clase 2</p> |
|  <p>T 19-2</p> |  <p>Clase 2</p> |  <p>Clase 2</p> |  <p>Clase 2</p> |

Cuadro 11: CD de cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a los patógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* a 7 días de incubación y Clase de Antagonismo. Tanda 3.

| Testigos Patógenos Testigos Antagonistas | <i>Fusarium</i> spp.  | <i>Sclerotium</i> spp.  | <i>Rhizoctonia solani</i>  |
|---|---|--|--|
|  T 2-1 |  Clase 3 |  Clase 5 |  Clase 3 |
|  T 8-2 |  Clase 2 |  Clase 2 |  Clase 2 |
|  T 8-3 |  Clase 2 |  Clase 3 |  Clase 2 |
|  T 14-1 |  Clase 3 |  Clase 4 |  Clase 3 |

Cuadro 12: CD de cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a los patógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* a 7 días de incubación y Clase de Antagonismo. Tanda 4.

| Testigos Patógenos Testigos Antagonistas | <i>Fusarium</i> spp.  | <i>Sclerotium</i> spp.  | <i>Rhizoctonia solani</i>  |
|--|---|--|--|
|  <p>T 1-4</p> |  <p>Clase 2</p> |  <p>Clase 2</p> |  <p>Clase 1</p> |
|  <p>T 5-4</p> |  <p>Clase 2</p> |  <p>Clase 5</p> |  <p>Clase 2</p> |
|  <p>T 7-1</p> |  <p>Clase 3</p> |  <p>Clase 5</p> |  <p>Clase 4</p> |



Como se aprecia en las imágenes de los cuadros anteriores 9, 10, 11 y 12, en algunos tratamientos se observó esporulación sobre el patógeno lo cual indica una posible actividad micoparasítica, y/o como consecuencia de su mayor tasa de crecimiento micelial con relación a la del patógeno y por lo tanto a su mayor capacidad de colonización del sustrato. En otros tratamientos se observó una zona clara (posible halo de inhibición) alrededor del patógeno por la producción de alguna sustancia antifúngica (Márquez y otros, 2002, p.84).

Asimismo, Suarez Meza y otros (2008, p.39), hallaron cinco cepas en donde hubo invasión total de la superficie de la colonia de *Fusarium solani* y esporulación sobre ella y observaron entrelazamientos de hifas, lo cual se debió probablemente a que *Trichoderma* sp. tiene la capacidad de conducir sus hifas hacia las de otros hongos, enrollándose en ellas. Lo que ocurre en reacción mediada por lecitinas que van degradando la pared celular del hospedero y por la secreción de exoenzimas hidrolíticas, dicho proceso limita el crecimiento y la actividad del hongo patógeno. Por lo antes mencionado sería recomendable confirmar si el micoparasitismo está presente como mecanismo de acción en las cepas en las que se observa un sobrecrecimiento del antagonista.

Competencia por espacio

La competencia se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), siempre y cuando la utilización de este por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás (Danay Infante y otros, 2009, p.16).

En el Cuadro 13 al hacer la comparación del radio de crecimiento de los antagonistas (RCA) con el de los patógenos (RCP) a los 7 días de incubación de cada cultivo dual, se determinó la competencia por espacio, donde se encontró que las cepas de *Trichoderma* nativos se desarrollaron a una velocidad superior a la de *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani*. Éstos resultados concuerdan con los obtenidos por Fernández Barbosa y Suárez Meza (2009), donde en cultivos duales de *Trichoderma harzianum* frente a *Fusarium oxysporum*, los RCA fueron superiores a los RCP por lo cual concluyeron que con los aislamientos nativos *Trichoderma* es probable llegar a un eficaz control de *Fusarium* de forma preventiva a nivel de campo, aplicando el antagonista antes y en el momento de la siembra de plantas,

estimulando la colonización de la rizosfera por la rapidez de crecimiento del hongo, impidiendo el desarrollo y la llegada del patógeno a la planta, siendo favorable cuando el antagonista se encuentra adaptado a las condiciones ambientales del medio (Bernal y otros, 2000, citado por Fernández Barbosa y Suárez Meza, 2009, p.4746), los mismos autores concluyeron en otro ensayo que probablemente, *T. harzianum* pudo tener una tasa de incorporación de nutrientes, tasa de metabolismo y un crecimiento superior a *F. solani*, utilizando distintos mecanismos como secreción de enzimas hidrolíticas, entre ellas celulasas, quitinasas, glucanasas, xylasas y muchas veces las proteasas, las cuales pueden estar implicadas en los mecanismos de biocontrol, permitiéndole al antagonista aprovechar mejor los nutrientes del medio y privar al patógeno de utilizar los recursos (Michel, 2001, citado por Suárez Meza y otros, 2008, p.38).

Las mejores cepas en cuanto a competencia por espacio frente a los tres patógenos *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani*, con RCP estadísticamente diferentes con respecto a sus testigos fueron; T15-3, T16-6, T1-2, T19-1, T19-2, T8-2, T8-3, T1-4 y T12-1. Las cepas T4-1, T2-1, T5-4, T7-4 y T11-1 presentan diferencias significativas en CD frente a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani*. Las cepas T7-1 y T9-1 sólo frente a *Fusarium* spp., T16-2 sólo frente a *Rhizoctonia solani* y la cepa T14-1 frente a *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* (Cuadro 13).

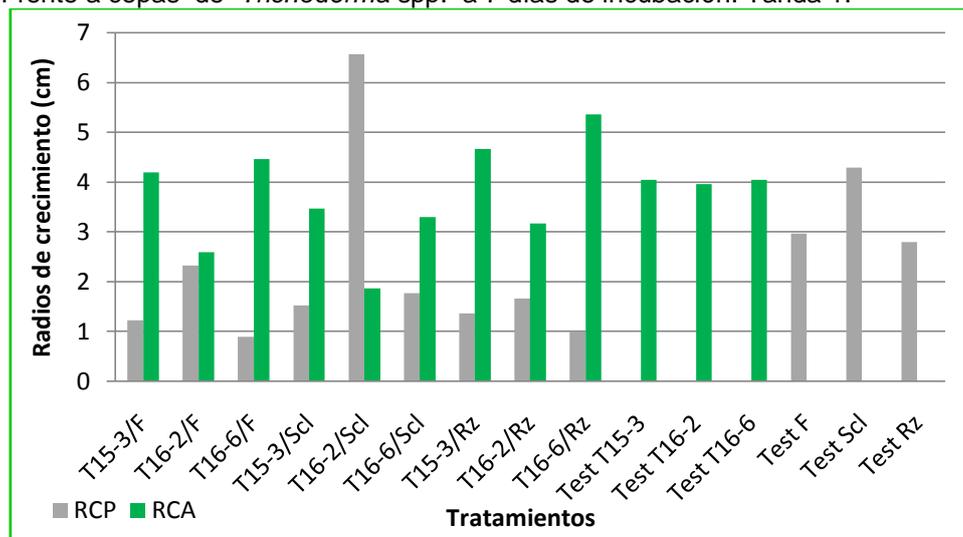
Cuadro13: RCA y RCP a 7 días de incubación. Tandas 1, 2,3 y 4.

| Tanda 1 | | | | Tanda 2 | | | | Tanda 3 | | | | Tanda 4 | | | |
|------------|-----------------------|------|---|------------|-----------------------|------|---|------------|-----------------------|------|-----|------------|-----------------------|------|----|
| Tratam. | Radios de crecimiento | | | Tratam. | Radios de crecimiento | | | Tratam. | Radios de crecimiento | | | Tratam. | Radios de crecimiento | | |
| | RCA | RCP | | | RCA | RCP | | | RCA | RCP | | | RCA | RCP | |
| T15-3/F | 4,20 | 1,23 | A | T1-2/F | 3,92 | 1,42 | B | T2-1/F | 3,21 | 2,21 | B | T1-4/F | 5,80 | 1,33 | A |
| T16-2/F | 2,60 | 2,33 | B | T4-1/F | 3,32 | 2,12 | C | T8-2/F | 4,71 | 1,52 | A | T5-4/F | 4,27 | 2,13 | CD |
| T16-6/F | 4,47 | 0,90 | A | T19-1/F | 4,32 | 1,22 | A | T8-3/F | 4,53 | 1,43 | A | T7-1/F | 3,60 | 2,80 | E |
| Test F | | 2,97 | B | T19-2/F | 4,02 | 1,42 | B | T14-1/F | 3,51 | 2,51 | B C | T7-4/F | 4,51 | 1,87 | BC |
| | | | | Test F | | 3,02 | D | Test F | | 2,97 | C | T9-1/F | 3,30 | 2,57 | DE |
| | | | | | | | | | | | | T11-1/F | 4,77 | 1,43 | AB |
| | | | | | | | | | | | | T12-1/F | 5,13 | 1,57 | AB |
| | | | | | | | | | | | | Test F | | 3,67 | F |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| T15-3/Scl | 3,47 | 1,53 | A | T1-2/Scl | 3,72 | 2,22 | C | T2-1/Scl | 2,81 | 7,31 | E | T1-4/Scl | 4,13 | 2,43 | A |
| T16-2/Scl | 1,87 | 6,57 | C | T4-1/Scl | 2,22 | 7,32 | E | T8-2/Scl | 4,51 | 2,01 | A | T5-4/Scl | 3,13 | 7,27 | D |
| T16-6/Scl | 3,30 | 1,77 | A | T19-1/Scl | 4,32 | 1,92 | B | T8-3/Scl | 4,17 | 2,51 | B | T7-1/Scl | 2,53 | 7,57 | DE |
| Test Scl | | 4,30 | B | T19-2/Scl | 4,02 | 1,62 | A | T14-1/Scl | 2,93 | 3,51 | C | T7-4/Scl | 3,73 | 7,52 | DE |
| | | | | Test Scl | | 4,32 | D | Test Scl | | 4,25 | D | T9-1/Scl | 2,37 | 7,53 | DE |
| | | | | | | | | | | | | T11-1/Scl | 4,43 | 7,71 | E |
| | | | | | | | | | | | | T12-1/Scl | 4,10 | 3,31 | B |
| | | | | | | | | | | | | Test Scl | | 4,25 | C |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| T15-3/Rz | 4,67 | 1,37 | B | T1-2/Rz | 4,42 | 1,42 | B | T2-1/Rz | 3,20 | 3,07 | B | T1-4/Rz | 6,37 | 1,44 | A |
| T16-2/Rz | 3,17 | 1,67 | C | T4-1/Rz | 3,92 | 1,92 | C | T8-2/Rz | 5,23 | 1,74 | A | T5-4/Rz | 4,93 | 2,43 | BC |
| T16-6/Rz | 5,37 | 1,00 | A | T19-1/Rz | 4,02 | 1,42 | B | T8-3/Rz | 5,20 | 1,67 | A | T7-1/Rz | 4,43 | 3,73 | D |
| Test Rz | | 2,80 | D | T19-2/Rz | 5,22 | 0,82 | A | T14-1/Rz | 3,11 | 3,11 | B | T7-4/Rz | 3,90 | 2,63 | C |
| | | | | Test Rz | | 4,02 | D | Test Rz | | 4,00 | C | T9-1/Rz | 4,57 | 3,63 | D |
| | | | | | | | | | | | | T11-1/Rz | 4,67 | 1,97 | AB |
| | | | | | | | | | | | | T12-1/Rz | 7,47 | 1,93 | AB |
| | | | | | | | | | | | | Test Rz | | 4,25 | D |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| Test T15-3 | 4,05 | | | Test T1-2 | 4,35 | | | Test T2-1 | 3,50 | | | Test T1-4 | 4,25 | | |
| Test T16-2 | 3,97 | | | Test T4-1 | 4,05 | | | Test T8-2 | 4,25 | | | Test T5-4 | 4,25 | | |
| Test T16-6 | 4,05 | | | Test T19-1 | 4,35 | | | Test T8-3 | 4,25 | | | Test T7-1 | 4,00 | | |
| | | | | Test T19-2 | 4,35 | | | Test T14-1 | 4,22 | | | Test T7-4 | 4,25 | | |
| | | | | | | | | | | | | Test T9-1 | 4,07 | | |
| | | | | | | | | | | | | Test T11-1 | 4,25 | | |
| | | | | | | | | | | | | Test T12-1 | 4,25 | | |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

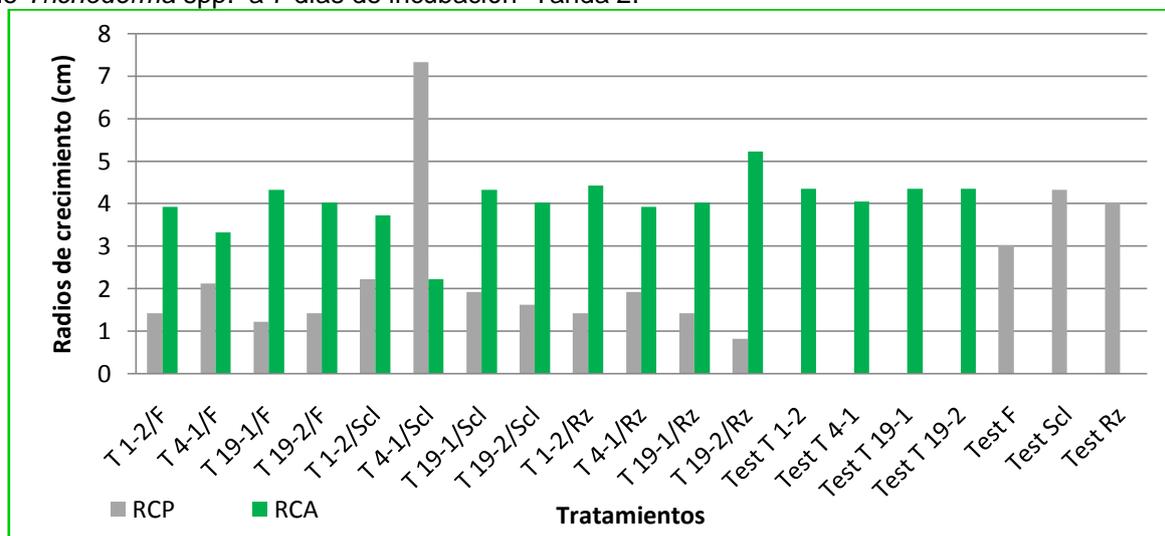
Los resultados obtenidos dan cuenta de que las especies de *Trichoderma* son buenos competidores y coincidiendo Huang y otros (1995, citado por Hernández Mansilla, Sierra Peña y Carr Pérez, 2006, p.106), poseerían una actividad metabólica muy particular que los capacita como eficientes hiperparásitos de las estructuras fúngicas de los hongos.

Gráfico 5: Crecimiento radial de *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* Frente a cepas de *Trichoderma* spp. a 7 días de incubación. Tanda 1.



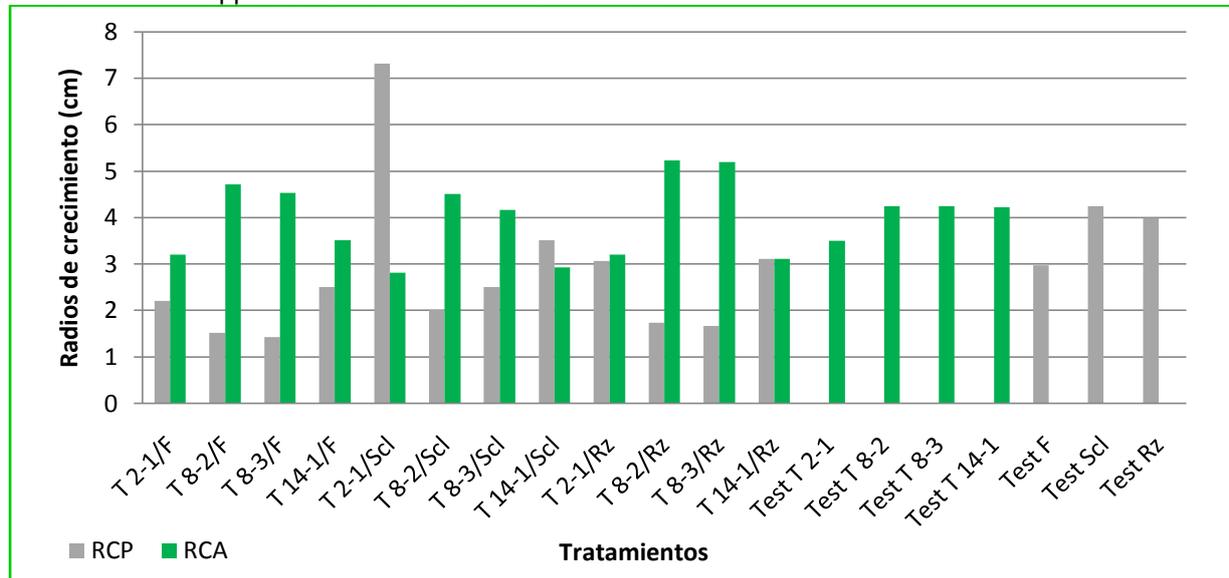
En el gráfico 5, se observa que los RCP fueron muy inferiores con respecto a los RCA y sus respectivos controles, excepto en el tratamiento T16-2/Scl en donde el crecimiento del antagonista (1,87 cm) se ve afectado por la presencia del patógeno el cual se desarrolla en mayor distancia (6,57 cm).

Gráfico 6: Crecimiento radial de *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* frente a cepas de *Trichoderma* spp. a 7 días de incubación- Tanda 2.



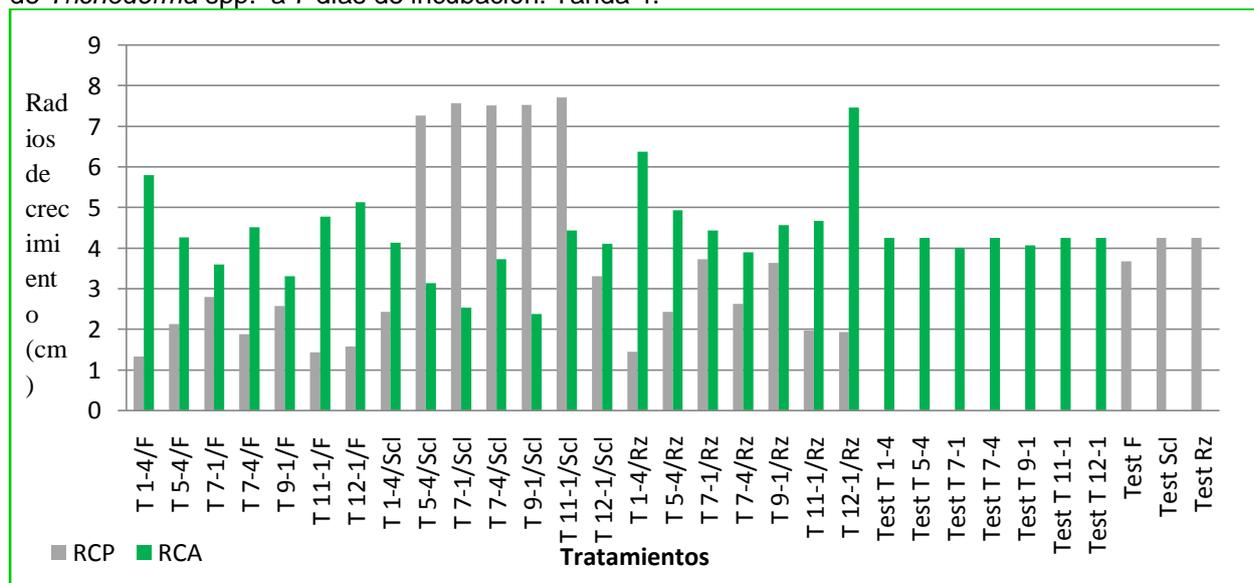
En el gráfico 6, también se observa el sobrecrecimiento del patógeno *Sclerotium* spp. sobre el antagonista T4-1.

Gráfico 7: Crecimiento radial de *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* frente a cepas de *Trichoderma* spp. a 7 días de incubación. Tanda 3.



Las cepas T8-2 y T8-3 presentan los mayores RCA en cultivos duales y similares a sus controles (Gráfico 7).

Gráfico 8: Crecimiento radial de *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* frente a cepas de *Trichoderma* spp. a 7 días de incubación. Tanda 4.



En el Gráfico 8, se observa como *Sclerotium* spp. limita el crecimiento de las cepas antagonistas T5-4, T7-1, T7-4, T9-1 y T11-1.

Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR)

En enfrentamientos con *Fusarium* spp. el mayor antagonismo se presentó en T16-6 que disminuyó el crecimiento del patógeno en un 69%. Las cepas T15-3, T19-1, T1-4 y T11-1 presentaron PICR superior al 60%, tres cepas con valores entre el 50-60% (T1-2, T19-2 y T12-1) y cuatro con inhibición entre el 40-50% (T8-2, T8-3, T5-4 y T7-4), las cepas restantes obtuvieron PICR inferiores al 40% (Cuadro 14). Los resultados hallados coinciden con lo expuesto por distintos autores; Fernández Barbosa y Suárez Meza (2009), al estudiar seis cepas de *Trichoderma harzianum* (nativas y comerciales) frente a *Fusarium oxysporum*, obtuvieron PICR del 40-60% a los 8 días de evaluación; Michel- Aceves y otros (2005, citado por Guédez y otros, 2012), encontraron que al evaluar el efecto antagónico de aislados nativos de *Trichoderma* spp. sobre *F. oxysporum* y *F. subglutinans*, los valores máximos de inhibición fueron de 47,6% y 73%, respectivamente; En algunos ensayos *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma harzianum* inhibieron un 48% a *Fusarium subglutinans* (Hernández Mansilla y otros, 2006).

Frente a *Sclerotium* spp. las cepas con mejor comportamiento fueron T15-3 y T19-2 que inhiben un 62,79%. Las cepas T16-6, T19-1 y T8-2 presentaron valores entre 50-60%, T1-2 y T1-4 entre un 40-50% y las restantes inhiben menos del 40%. Según González y otros (2002, citado por Paez y Sanabria de Albarracín, 2007, p.29), al evaluar el efecto antagónico de seis aislamientos de *Trichoderma* sobre hongos del suelo causantes de enfermedades en frijol, observaron diferencias significativas con respecto a los testigos, en el control de *Sclerotium rolfsii*.

Con respecto a *Rhizoctonia solani* seis cepas inhiben al patógeno por encima del 60%, sobresaliendo la cepa T19-2 con PICR igual a 77,80 %, cinco cepas inhiben entre el 50-60% y sólo T5-4 inhibe en un 44,31%, las restantes presentan PICR inferiores al 40%. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por; Yusimy Reyes y otros (2008), en donde *Trichoderma* a las 96 horas, muestra frente a *Rhizoctonia* sp. un efecto inhibitorio entre un 34-85%; Hernández y otros (2006, citado por Yusimy Reyes y otros, 2008, p.114), al evaluar *R. solani* aislada de Piña con

diferentes cepas de *Trichoderma* obtuvieron PICR entre un 40-50%; Guigón-López y otros (2010), obtuvo que *Trichoderma* inhibió el crecimiento micelial de *R. solani* en un 34% al 52%.

Cuadro 14: PICR (%) en cultivos duales de cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani* a 7 días de incubación. Tanda 1, 2, 3 y 4.

| Tandas | T vs. <i>Fusarium</i> spp. | | | T vs. <i>Sclerotium</i> spp. | | | T vs. <i>Rhizoctonia solani</i> | | |
|--------|----------------------------|--------|-----|------------------------------|--------|---|---------------------------------|--------|-----|
| | Trat. | PICR % | | Trat. | PICR % | | Trat. | PICR % | |
| 1 | T15-3/F | 61,65 | B | T15-3/ScI | 62,79 | B | T15-3/Rz | 50 | B |
| | T16-2/F | 24,79 | A | T16-2/ScI | -52,71 | A | T16-2/Rz | 39,29 | A |
| | T16-6/F | 69 | B | T16-6/ScI | 57,36 | B | T16-6/Rz | 64,29 | C |
| 2 | T1-2/F | 53,33 | B | T1-2/ScI | 48,84 | B | T1-2/Rz | 65 | B |
| | T4-1/F | 31,67 | A | T4-1/ScI | -69,77 | A | T4-1/Rz | 52,50 | A |
| | T19-1/F | 61,67 | C | T19-1/ScI | 55,81 | C | T19-1/Rz | 65 | B |
| | T19-2/F | 53,33 | B | T19-2/ScI | 62,79 | D | T19-2/Rz | 77,80 | C |
| 3 | T2-1/F | 24,82 | A B | T2-1/ScI | -70,27 | A | T2-1/Rz | 22,89 | A |
| | T8-2/F | 48,74 | B | T8-2/ScI | 52,94 | D | T8-2/Rz | 55 | B |
| | T8-3/F | 45,33 | B | T8-3/ScI | 34,12 | C | T8-3/Rz | 61,67 | B |
| | T14-1/F | 14,57 | A | T14-1/ScI | 17,65 | B | T14-1/Rz | 22,25 | A |
| 4 | T1-4/F | 63,49 | D | T1-4/ScI | 42,75 | C | T1-4/Rz | 65,88 | D |
| | T5-4/F | 43,58 | BC | T5-4/ScI | -70,98 | A | T5-4/Rz | 44,31 | B C |
| | T7-1/F | 24,44 | A | T7-1/ScI | -78,04 | A | T7-1/Rz | 12,16 | A |
| | T7-4/F | 48,06 | CD | T7-4/ScI | -75,69 | A | T7-4/Rz | 38,04 | B |
| | T9-1/F | 30,03 | AB | T9-1/ScI | -77,25 | A | T9-1/Rz | 14,51 | A |
| | T11-1/F | 60,83 | D | T11-1/ScI | -80,39 | A | T11-1/Rz | 53,73 | C D |
| | T12-1/F | 57,27 | CD | T12-1/ScI | 21,18 | B | T12-1/Rz | 54,51 | C D |

| | |
|-------------|--|
| PICR 60-77% | |
| PICR 50-60% | |
| PICR 40-50% | |
| PICR < 40% | |

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

En la tanda 1: T15-3 y T16-6 presenta diferencias significativas con respecto a T16-2 frente a *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani*.

En la tanda 2: T19-1 es el mejor tratamiento frente a *Fusarium* spp. y T19-2 frente a *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani*.

En la tanda 3: T8-2 y T8-3 son los mejores tratamientos frente a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* no existiendo diferencias significativas entre ellas, y T8-2 es el mejor frente a *Sclerotium* spp.

En la tanda 4: T1-4, T7-4, T11-1 y T12-1 son los mejores tratamientos frente a *Fusarium*, no existiendo diferencias significativas entre ellas y también frente a *Rhizoctonia solani* excepto T7-4 y T1-4 es el mejor tratamiento frente a *Sclerotium* spp.

Del cuadro 14 de PICR, se puede resumir lo siguiente;

a) Cepas c/ PICR > 40% frente a *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani*: T15-3, T16-6, T1-2, T19-1, T19-2, T8-2 y T1-4.

b) Cepas c/ PICR > 40% frente a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani*: T8-3, T5-4, T11-1 y T12-1.

c) Cepas c/ PICR > 40% sólo frente a *Fusarium* spp.: T7-4.

d) Cepas c/ PICR > 40% sólo frente a *Rhizoctonia solani*: T4-1

e) Cepas c/ PICR < 40% frente a *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp. y *Rhizoctonia solani*: T16-2, T2-1, T14-1, T7-1 y T9-1.

Lo expuesto en a, b, c y d donde los aislados presentaron más del 40 % de inhibición podrían tener una acción promisorio frente a los patógenos. Estos resultados demuestran la actividad controladora de *Trichoderma* spp. sobre los fitopatógenos, lo cual coincide con lo observado en diferentes estudios ya sea por micoparasitismo, antibiosis u otros mecanismos de control (Márquez y otros, 2002).

El hecho de que T7-4 sólo actúe positivamente frente a *Fusarium* spp. y T4-1 sólo frente a *Rhizoctonia solani*, muestra que no todos los aislamientos de una misma especie de *Trichoderma* actúan de la misma manera e intensidad contra los tres patógenos ensayados, por el contrario su actividad es altamente específica. Estas características de especificidad pueden deberse a las interacciones bioquímicas entre hongos; Elad y otros (1983, citado por Hoyos-Carvajal, Chaparro, Abramsky, Chet y Orduz, 2008, p.456), aisló una lectina de las hifas y del filtrado del cultivo en medio líquido de *R. solani*, a su vez las paredes de la célula de *Trichoderma* spp. contienen galactosa, que previene la aglutinación de esta lectina (Goldman y otros, 1994, citado por Hoyos-Carvajal y otros, 2008, p.456), de ambos estudios se concluye que la lectina presente en las hifas de *R. solani* se une a los residuos de galactosa en las paredes de la célula de *Trichoderma* spp. y da inicio a la acción micoparasítica sobre el fitopatógeno, este fue el caso de *T. asperellum* el cual tuvo niveles intermedios en la reducción de la enfermedad causada por *S. rolfsii*, pero en el control de *R. solani* fue uno de los más eficaces, en ensayos realizados por Hoyos-Carvajal y otros (2008).

Por lo tanto se debe tener presente que el nivel de control de un patógeno puede variar de acuerdo con la cepa utilizada y con su adaptabilidad a las condiciones bióticas y abióticas específicas (Dennis y Webster, 1971, citado por Correa y otros, 2007, p.8), dentro y entre especies de *Trichoderma*. También Wells y otros (1972, citado por Correa y otros, 2007, p.8), observaron que especies de *Trichoderma* pueden ser diferencialmente selectivas contra diferentes hongos. Por lo anterior se recomienda la selección de antagonistas contra una enfermedad específica y la evaluación de mezclas de antagonistas para amplias aplicaciones (Bell y otros, 1982, citado por Correa y otros, 2007, p.8).

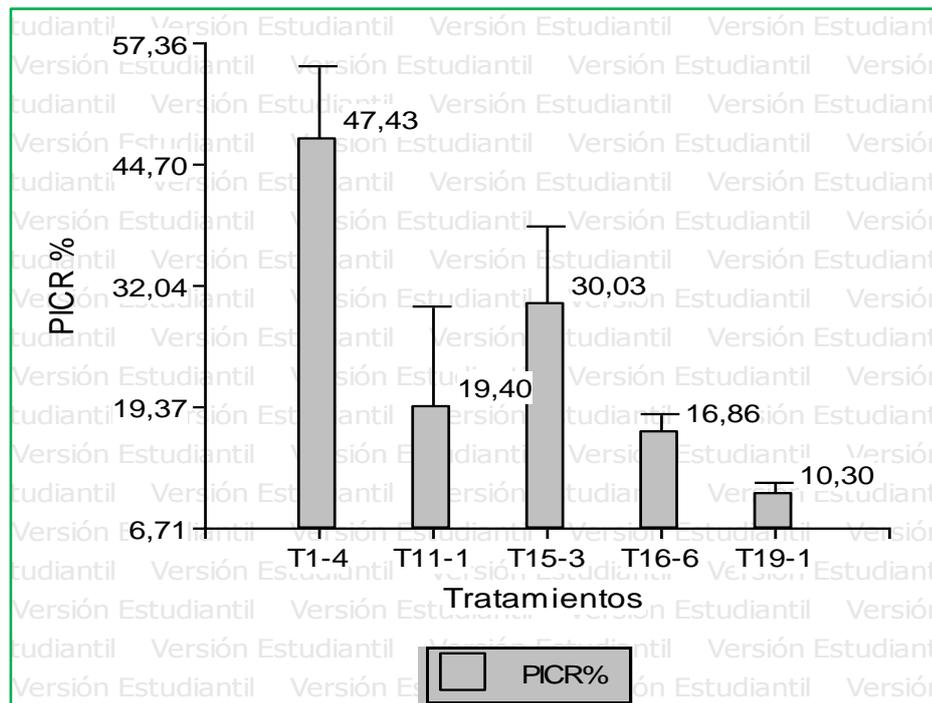
2) Ensayo de Metabolitos Volátiles (MV)

Las cepas con PICR > 60% en ensayos de CD frente a *Fusarium* spp., fueron sometidas a ensayos de MV obteniéndose que la cepa T1-4 presenta diferencias significativas frente a las restantes, inhibiendo el crecimiento del patógeno en más del 40% (Cuadro 15, Gráfico 9). Posiblemente esto se deba a que el antagonista excreta antibióticos volátiles con un efecto fungistático, que debilita al patógeno y lo hace más sensible a los metabolitos solubles (Yusimy Reyes y otros, 2008, p.115).

Cuadro 15: PICR (%) a 7 días de incubación.

| Tratamientos | PICR (%) | |
|--------------|----------|----------|
| T 1-4/F | 47,43 | B |
| T 11-1/F | 19,40 | A B |
| T 15-3/F | 30,03 | A B |
| T 16-6/F | 16,86 | A B |
| T 19-1/F | 10,30 | A |

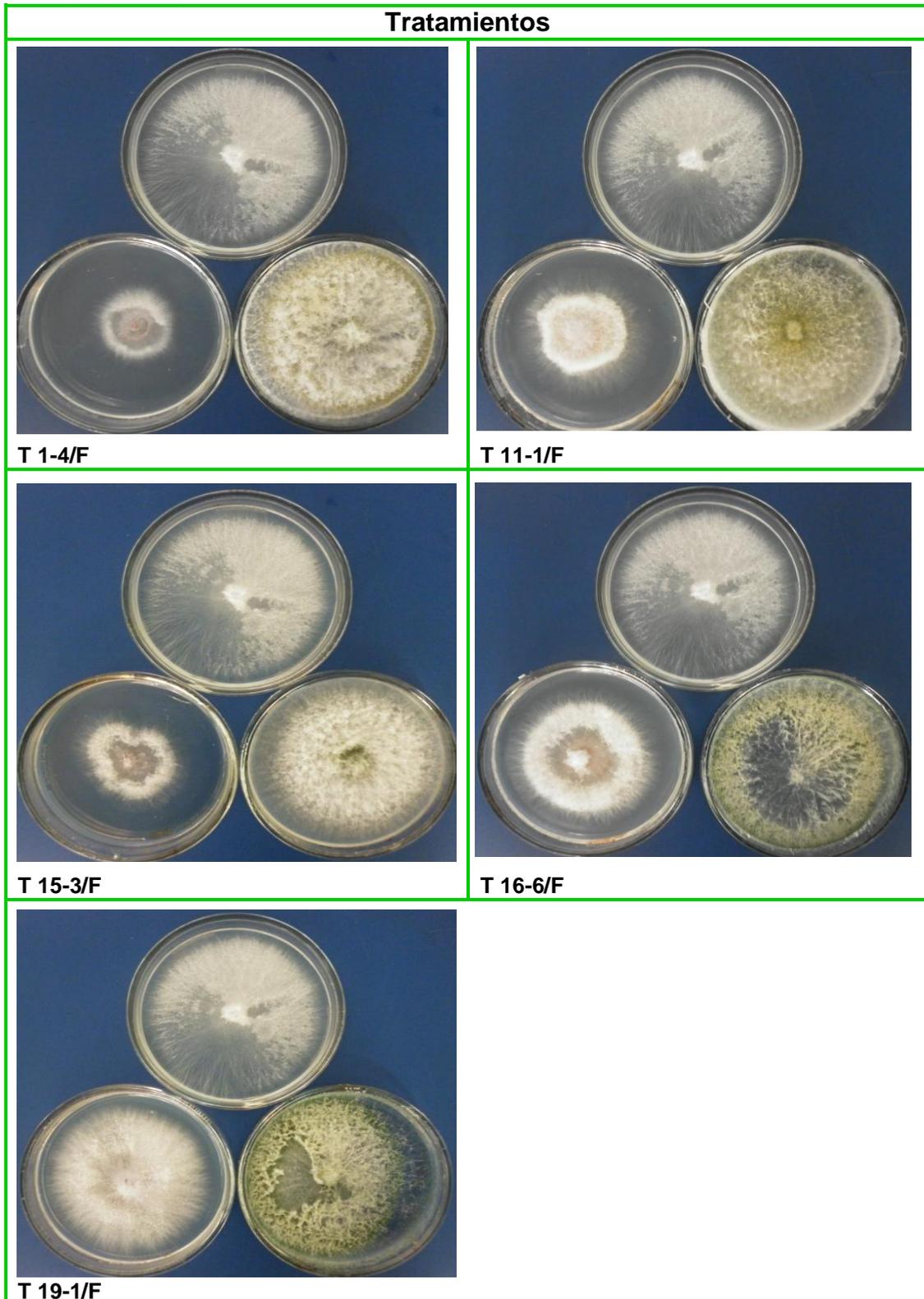
Gráfico 9: PICR (%) a 7 días de incubación.



En el cuadro 16 puede observarse como en el tratamiento T1-4/F el crecimiento del patógeno *Fusarium* spp. se ve afectado por metabolitos volátiles producidos por la cepa de *Trichoderma* T1-4. En contraste en el tratamiento T19-1/F el crecimiento del

patógeno no es afectado por la cepa antagonista, creciendo de forma muy similar a su testigo.

Cuadro 16: Efectos por Metabolitos Volátiles producidos por *Trichoderma* spp. (placa inferior derecha), sobre *Fusarium* spp. (placa inferior izquierda) y testigo (placa superior), al séptimo día de evaluación.



3) Ensayos de Metabolitos Difusibles al Medio (MDM)

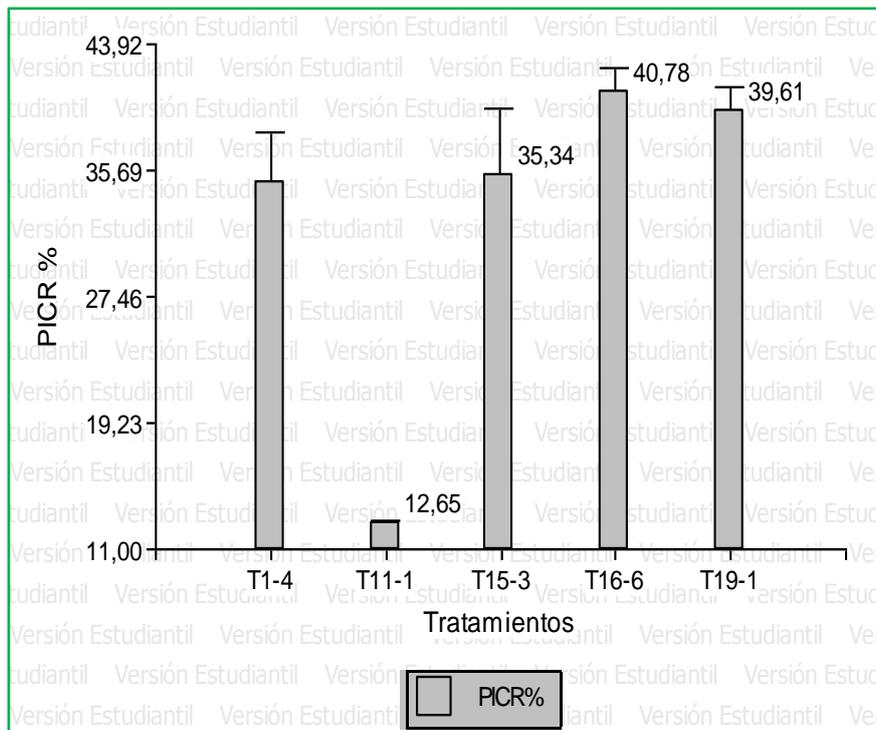
En ensayos de MDM la cepa de mayor PICR fue T16-6 (40,78%), le siguieron T19-1(39,61%), T15-3(36,52%) y T1-4(34,98) no existiendo diferencias significativas entre ellas. Resultados similares obtuvieron Michel-Aceves y otros (2001), quienes seleccionaron cepas a partir del 30% de inhibición, los mismos expresan que el criterio de selección no debe ser riguroso a fin de no descartar especies que pudieran tener diferentes formas de expresarse y actuar. Se infiere que *Trichoderma* ha excretado al medio algún metabolito con acción fungistática sobre el patógeno inhibiendo su crecimiento (Yusimy Reyes y otros, 2008, p.115).

La cepa T11-1 presentó el menor valor de PICR de 10,15% y es estadísticamente diferente a las restantes.

Cuadro 17: PICR (%) a 7 días de incubación.

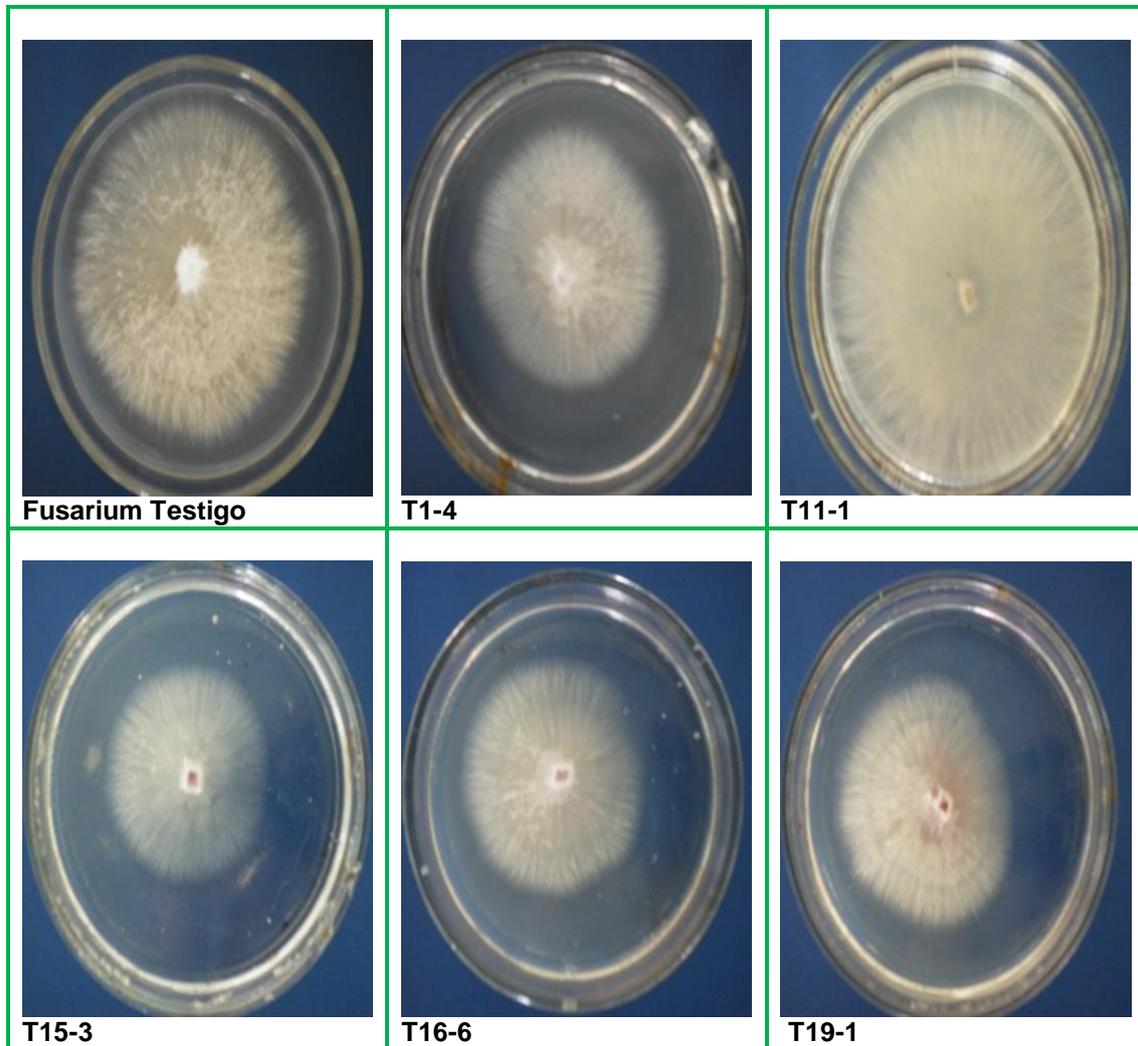
| Tratamientos | PICR (%) | |
|--------------|----------|----------|
| T 1-4/F | 34,98 | B |
| T 11-1/F | 10,15 | A |
| T 15-3/F | 36,52 | B |
| T 16-6/F | 40,78 | B |
| T 19-1/F | 39,61 | B |

Gráfico 10: PICR (%) a 7 días de incubación.



En el siguiente cuadro se observa el efecto que producen las cepas de *Trichoderma* spp. debido a metabolitos difusibles al medio, sobre el crecimiento de *Fusarium* spp.

Cuadro 18: Efecto de MDM provenientes de *Trichoderma* spp. sobre cepas de *Fusarium* spp.



Conclusión

Del análisis descriptivo de las encuestas las principales conclusiones fueron que los productores destinan pequeñas superficies al cultivo de quinua en función de la disponibilidad de agua y de la mano de obra familiar, que complementaban en la región Puna con otros cultivos andinos como papa, haba; y en la región de Quebrada con hortalizas de hoja, variedades de maíces entre otros. Con respecto al origen de las semillas, no se habla de variedades sino de poblaciones que los productores diferencian por el color del grano en blancas, moradas, mezclas, etc. Los quineros actualmente están organizados en dos Mesas, la de Puna y la de Quebrada, que se reúne mensualmente con el apoyo técnico de instituciones públicas como el INTA, la Secretaria de Agricultura Familiar, la Facultad de Ciencias Agrarias entre otros.

De esta investigación se puede concluir que *Trichoderma* spp. a pesar de las rigurosas condiciones ambientales que presenta la Región de Puna y Quebrada de la Provincia de Jujuy, está adaptado a éstos suelos, lo cual resulta favorable si se pretende emplear estos microorganismos en el control biológico de enfermedades fúngicas o como promotor de crecimiento, ya que los mismos estarían altamente adaptados a esas condiciones ambientales, alcanzando una mayor probabilidad de éxito.

Todas las cepas aisladas pueden considerarse de rápido crecimiento y desarrollo, y resultan ventajosas en la competencia por colonizar un espacio, por tal motivo futuros trabajos de antagonismo *in vivo*, podrían permitir la utilización de éstas cepas en tratamientos preventivos estimulando su colonización en la rizósfera y el filoplano de las plantas. Además presentan buena producción de conidios/ml que van de $1E+08$ a $5,72E+08$ (excepto la cepa T2-1 que presenta $6,18E+07$ conidios/ml), concentraciones mayores podrían alcanzarse si se realizaría la producción artesanal de estos antagonistas sobre medios más nutritivos como arroz, quinua o avena.

De las 18 cepas nativas evaluadas, no todas actuaron de la misma forma frente a los tres patógenos, a pesar de pertenecer a un mismo género, lo cual denota su especificidad. Es así que 8 cepas T1-2, T19-2, T8-2, T8-3, T15-3, T16-6, T19-1 y T1-4, frente a los tres fitopatógenos presentaron buena actividad antagónica,

competencia por espacio e inhibieron el crecimiento de los patógenos en más del 40%, además las cuatro últimas produjeron MDM y T1-4 también produce MV. Frente a los tres parámetros anteriores las cepas T5-4, T11-1 y T12-1 resultaron favorables frente a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani*, T7-4 se comportó positivamente solo frente a *Fusarium* spp. y T4-1 sólo frente a *Rhizoctonia solani*. Las cepas restantes (T16-2, T2-1, T14-1, T9-1 y T7-1) presentaron PICR < 40% frente a los tres hongos fitopatógenos, las tres primeras con actividad antagónica frente a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* y competencia solo frente a *Rhizoctonia solani*, las dos últimas presentaron buena actividad antagónica y competencia sólo frente a *Fusarium* spp. Es así que las 18 cepas evaluadas presentaron uno o más de los mecanismos de acción frente a los tres o a alguno de los patógenos.

Dado que en pruebas in vitro no se tiene en cuenta la interacción con la planta, se sugiere realizar pruebas de invernadero y a campo que comprueben el biocontrol de los antagonistas nativos aislados, frente a patógenos aislados directamente de plantas de quinua enfermas. Se deberá avanzar en estudios posteriores de caracterización de las cepas de *Trichoderma* aisladas en función a especies, tarea que implicará ajustar la metodología de caracterización molecular por PCR.

Referencias

- Agamez Ramos, E. Y., Zapata Navarro, R. I., Oviedo Zumaqué, L. E. y Barrera Violeth, J. L. (2008). Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma* sp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 10(2), 23-34.
- Aguilar, R. L., Pino Morera, S., Martínez Coca, B., Liriano Gonzalez, R., y Núñez Sosa, D. B. (2012). Aislamiento y selección de cepas de *Trichoderma* y su efecto antagonista frente a *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. *Revista Centro Agrícola*, 39(2), 43 -48.
- Bonifacio, A., Alcon M. y Vargas, A. (2013). Evaluación de la severidad del mildiu y daño del granizo en líneas de quinua. En M. Vargas. *Congreso Científico de la Quinua (Memorias)* (pp. 227-236). La Paz, Bolivia: GrafikaLeal.
- Carrasco, R. V., Cortez, G., Rafael, O. M., Quispe Villalpando, L. y Ramos, I. (2007). Cultivos andinos. En A. E. León y C. M. Rosell. *De tales harinas, tales panes: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica* (pp. 245-249). Córdoba, Argentina: A. E. León y C. M. Rosell.
- Centro de Educación y Tecnología (CET). (2004). *Producción y utilización de Trichoderma spp.* Santiago de Chile: Autor.
- Correa, S., Mello, M., Ávila, Z. R., Braúna, L. M., Pádua, R. R. y Gomes, D. (2007). Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* sacc. *Revista Fitosanidad*, 11(1), 3-9.
- Danay Infante, Martínez, B., Noyma González y Yusimy Reyes. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal* 24(1), 4-21.

- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M. y Robledo, C.W. (2015). *InfoStat versión 2015-Grupo InfoStat*. Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Recuperado de <http://www.infostat.com.ar>
- Fernández Barbosa, R. J. y Suárez Meza, C. L. (2009). Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* rifai sobre *Fusarium oxysporum* schlecht f. sp *passiflorae* en maracuyá (*Passiflora edulis* sims var. *flavicarpa*) del municipio Zona Bananera Colombiana. *Revista Fac. Nal. Agr. Medellín* 62(1), 4743-4748.
- French, E. R. y Hebert, T. (1980). *Métodos de Investigación Fitopatológica*. Costa Rica: Instituto Interamericano de ciencias Agrícolas.
- Gabriel, J., Luna, N., Vargas, A., Magne, J., Angulo, A., La Torre, J., Bonifacio, A. (2013). Quinua de valle (*Chenopodium quinoa* Willd.): fuente valiosa de resistencia genética al Mildiu (*Peronospora farinosa* Willd). En M. Vargas. *Congreso Científico de la Quinua (Memorias)* (pp. 17-30). La Paz, Bolivia: GrafikaLeal.
- Geronazzo, A. P., Rivera, A., Catacata, J. y Alvarez S. (mayo, 2015). *Evaluación de bioles sobre parámetros de germinación y crecimiento inicial de plántulas de quinua (Chenopodium quinoa Wild)*. V Congreso Mundial- II Simposio Internacional de granos andinos, Jujuy, Argentina. Recuperado de <http://spotidoc.com/doc/1056630/descargar----v-congreso-mundial-de-la-quinua>
- Golsberg, C., Orcasitas, E., Chauque, J. G. y Daza, R. (marzo, 2010). *La quinua en la Región del Noroeste Argentino-Reconstrucción del conocimiento del cultivo y revalorización cultural y alimenticia*. Trabajo presentado en III Congreso Mundial de la Quinua, Bolivia. Recuperado de <http://www.inta.gov.ar/cipaf/index.htm>
- González Salgado, C. H., Puertas Arias, A., Fonseca Flores, M., Suárez Soto, E. y Blaya Gómez. (1999). Actividad antagónica de *Trichoderma* sp. aislada de un suelo de la

- provincia Granma, Cuba frente a *Alternaria solani* Sor. *Revista Facultad de Agronomía (LUZ)* 16, 167-173.
- Guédez, C., Cañizalez, L., Castillo, C. y Olivar, R. (2012). Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 32, 44-49.
- Guigón-López, C., Guerrero-Prieto, V., Vargas-Albores, F., Carvajal-Millán, E., Ávila-Quezada, G. D., Bravo- Luna, L., Ruocco, M., Lanzuise, S., Woo, S. y Lorito, M. (2010). Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento *in vitro* y antagonismo contra hongos fitopatogénos. *Revista mexicana de fitopatología*, 28(2), 87-96.
- Hernández Martínez, R. y Montoya, E. A. R. (2012). Búsqueda de cepas Antagonistas a hongos causantes de la marchitez vascular en tomate. *Revista Electrónica de divulgación de la Investigación*, 2, 1-9.
- Hernández Mansilla, A. A., Sierra Peña, A., y Carr Pérez, A. (2006). Evaluación in vitro del antagonismo de especies de *Trichoderma* sobre hongos fitopatógenos que afectan las vitroplantas de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr. *Revista Fitosanidad*, 10(2), 105-108.
- Hoyos-Carvajal, L., Chaparro, P., Abramsky, M., Chet, L. y Orduz, S. (2008). Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones in vitro y de invernadero. *Revista Agronomía Colombiana* 26(3), 451-458.
- Márquez, M., Martínez, M. M. y Franco, M. (2002). Aislamiento de *Trichoderma* sp. y actinomicetes a partir de suelos de clavel (*Dianthus caryophyllus*) y evaluación de su

- capacidad antagónica *in vitro* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Revista Agronomía Colombiana* 19(1-2), 81-87.
- Martínez, B., Danay Infante y Yusimy Reyes. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal* 28(1), 1-11.
- Michel-Aceves, A. C., Rebolledo-Domínguez, O., Lezama-Gutiérrez, R., Ochoa-Moreno, M. E., Mesina-Escamilla, J. C. y Samuels, G. J. (2001). Especies de *Trichoderma* en suelos cultivados con mango afectados por escoba de bruja y su potencial inhibitorio sobre *Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(2), 154-160.
- Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. (2008). Cultivos Andinos (quinua): Jujuy. *Debilidades y desafíos tecnológicos del sector productivo*. Recuperado de http://www.cofecyt.mincyt.gov.ar/pcias_pdfs/jujuy/UIA_cultivos_andinos_08.pdf
- Mujica, A. y Jacobsen, S. (2006). La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres. *En Botánica Económica de los Andes Centrales* (pp. 449-456). La Paz: Moraes, R., Øllgaard, B., Kvist, L. P., Borchsenius, F. y Balslev, H.
- Orietta Fernández y Larrea Vega. (2001). Microorganismos Antagonistas para el control fitosanitario. *Revista Manejo Integrado de plagas*, 62, 96-100.
- Ortiz, R. y Zanabria E. (1997). *Plagas en quinua y kañiwa: cultivos andinos*. Bogotá, Colombia: (s.n.).
- Paez, M. E. y Sanabria de Albarracin, N. (2007). Evaluación de la capacidad antagónica de *Trichoderma koningii* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Revista Fav. Agron. (LUZ)*, 24(1), 27-31.

- Plata, G. y Calizaya, J. J. (2013). Control biológico del mildiu de la quinua utilizando diferentes aislamientos de *Trichoderma* sp. En M. Vargas. *Congreso Científico de la Quinua (Memorias)* (pp. 455-463). La Paz, Bolivia: GrafikaLeal.
- Rivas, J. C. (2013). *Avances en el cultivo de quinoa (Chenopodium quinoa Wild) en el sur de Argentina*. Buenos Aires, Argentina: INTA.
- Roisinblit, D., Golsberg, C., Schimpf, J., Figlioli, G., Chauque, J., Sardina, J., Rivero, M., Chavez, M. F., Quiroga, P., Alvarez, S. y Hamity, V. (2015). *La producción de quinua en la Quebrada de Humahuaca y Puna Jujeña*”. Recuperado de http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_la_produccion_de_quinua_en_la_quebrada_de_humahu.pdf
- Suárez Meza, C. L., Fernández Barbosa, R. J., Valero, N. O., Gámez Carrillo, R. M., Páez Redondo, A. R. (2008). Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. *Revista Colombiana de Biotecnología* 10(2), 35-43.
- Yusimy Reyes, Martínez B. y Danay Infante. (2008). Evaluación de la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. *Revista de Protección Vegetal*, 23(2), 112-117.

Anexos

Anexo 1: Visita a productores de quinua en la Región de Puna y Quebrada de la provincia de Jujuy.

| Comunidad | Parceleros |
|--|---|
| <p>Comunidad Aborigen Hornadita de la Cordillera (a 74 km de la Quiaca-Dpto. Yavi)</p> | <p>Rufino Fidencio Torres (Quinua emergiendo)</p>  |
| <p>Chujchuara (a 20 km de la Quiaca- Dpto. Yavi)</p> | <p>Liliana Bautista (arado utilizado, siembra de quinua, sistema de riego)</p>  |
| <p>Comunidad Aborigen Vera Cruz (a 90 km desde la Quiaca- Dpto. Cochinoca)</p> | <p>Francisco Cruz, Salvador Cruz y Lorenzo Cruz (Vista Vera Cruz)</p>  |

| | | |
|--|--|---|
| <p>El Angosto (a 60 km de la Quiaca- Dpto. Santa Catalina)</p> | <p>Teófilo Vargas</p>  | |
| <p>Chalguamayoc (Dpto. Yavi)</p> | <p>Darío Tito</p>  | <p>Jesús Tito</p>  |
| <p>La Quiaca Vieja (a 5 km de la Quiaca- Dpto. Yavi)</p> | <p>Oscar Castillo</p>  | |

| | |
|--|---|
| <p>Paraje Santuario (8-10 Km al Norte de la ciudad de Abra Pampa- Dpto. Cochino)</p> | <p>Santiago Tolaba</p>  |
| <p>Comunidad Aborigen de El Cóndor (a 65 Km desde la Quiaca- Dpto. Yavi)</p> | <p>Nemecio Vargas (parcela de quinua)</p>  |
| <p>Comunidad Aborigen de Villa El Perchel (Dpto. Tilcara)</p> | <p>Héctor Romero</p>  |

| | | |
|---|--|---|
| <p>Comunidad Aborigen de Punta Corral (Dpto. Tumbaya)</p> | <p>Jorge Vilca</p>  | |
| <p>Paraje Coctaca (Dpto. Humahuaca)</p> | <p>Pantaleón Tactaca (cultivo de quinua)</p>  | <p>Donato</p>  |
| | <p>Eloy Tactaca (productor, cultivo de haba,)</p>   | |

Fotografías: Ing. Susana Edit Álvarez

Anexo: 2: Encuestas realizadas a productores de la Región de Puna y Quebrada de Humahuaca de la Provincia de Jujuy

| REGION PUNA | Encuesta 1 | Encuesta 2 | Encuesta 3 |
|---|--|---|--|
| Nombre del productor | Jacinto Torres | Rufino Fidencio Torres | Liliana Bautista |
| Edad | ----- | ----- | ----- |
| Nivel de escolarización | ----- | ----- | ----- |
| Composición familiar | ----- | ----- | ----- |
| Comunidad a la que pertenece | Comunidad Aborigen Hornaditas de la Cordillera (a 74 Km desde la Quiaca-Dpto. Yavi) | Comunidad Aborigen Hornaditas de la Cordillera (a 74 Km desde la Quiaca-Dpto. Yavi) | Chujchuara (a 20 Km de a Quiaca-Dpto. Yavi) |
| Acerca de la tierra a-Régimen de Tenencia b-Superficie total que posee c-Actividad que realiza d-Superficie sembrada con quinua | a----- b----- c-Ganadería y Agricultura (haba, papa andina, cebada, arveja y quinua) d----- | a----- b----- c-Ganadería y Agricultura (haba, papa andina, cebada, arveja, oca, y quinua) d----- | a----- b- ½ ha c-Ganadería y Agricultura (haba, arveja, papa andina y quinua) d----- |
| Acerca de las variedades de quinua a-Variedades sembradas el último año b-Época de siembra y cosecha c-Producción obtenida d-Destino de la producción | a-Desconocida b-Siembra=15/11- Cosecha=Abril c----- d-Autoconsumo | a-Desconocida b-Siembra=15/11- Cosecha=Abril c----- d-Autoconsumo | a-Desconocida b-Siembra=15/11-Cosecha=Abril c----- d-Autoconsumo |
| Durante la producción a-Problemas más frecuentes(vinculado al manejo cultural; agua, enfermedades, plagas, nutrición) b-Productos que utiliza para control de plagas y enfermedades. | a----- b-Para el control de hongos de suelo: <i>Trichoderma</i> | a----- b-Producto Biológico <i>Trichoderma</i> . | a----- b-Producto Biológico <i>Trichoderma</i> . |
| Otros a-Mano de obra Utilizada b-Vínculos con otros productores c-Institución que lo asesora d-Abona e-Riego | a-Familiar b-Com. Aborigen c----- d-Si, con guano de oveja y llama. e-El agua p/ riego se capta de vertiente, pero la producción es su mayoría a seco. | a-Familiar b-Com. aborigen c-Asesoramiento de Técnicos: Sardina, Cartagena y Quiroga. d-Si, con guano de oveja y llama e-El agua p/ riego se capta de vertiente, pero la producción es su mayoría a seco. | a----- b----- c-Asesoramiento de Técnicos d-Si, con guano de llamas y ovejas. e-Agua de acequia proveniente de un ojo de agua, se instaló un sistema de riego por goteo recientemente. |

| | Encuesta 4 | Encuesta 5 | Encuesta 6 |
|---|--|---|---|
| Nombre del productor | Francisco Cruz | Salvador Cruz y Lorenzo Cruz | Héctor Chaile |
| Edad | ----- | ----- | 48 años |
| Nivel de escolarización | ----- | ----- | Nivel primario (6 y 7° en el angosto) |
| Composición familiar | ----- | ----- | Esposa, 9 hijos (el mayor tiene 26 y la más chica 12), 4 nietos. |
| Comunidad a la que pertenece | Comunidad Aborigen Vera Cruz (a 90 Km desde la Quiaca- Dpto. Cochinoca) | Comunidad Aborigen Vera Cruz (a 90 Km desde la Quiaca- Dpto. Cochinoca) | El Angosto (a 60 Km de la Quiaca-Dpto. Santa Catalina) |
| Acerca de la tierra a-Régimen de Tenencia b-Superficie total que posee c-Actividad que realiza d-Superficie sembrada con quinua | a----- b----- c-Ganadería y Agricultura (haba, papa y quinua) d- | a----- b----- c-Ganadería y Agricultura (haba, papa y quinua) d----- | a-Propietario b- 40x50 mts c-Agricultura (maíz, haba, papa, cebolla, zapallo y quinua) d-40x50 |
| Acerca de las variedades de quinua a-Variedades sembradas el último año b-Época de siembra y cosecha c-Producción obtenida d-Destino de la producción | a-Desconocida (mezcla) b-Principios de Diciembre c----- d----- | a-Desconocida (mezcla) b-Principios de Diciembre c----- d----- | a-Desconocida (mezcla), provista por la Secretaria de Agricultura familiar b-Quinua (Siembra=15/11- Cosecha= Abril)- Maíz (Siembra=8/10, Cosecha= Dic)- Haba (Siembra=20/09) c-- d-Cuando sembraba con el padre era para autoconsumo, ahora también para la venta. |
| Durante la producción a-Problemas más frecuentes(vinculado al manejo cultural; agua, enfermedades, plagas, nutrición) b-Productos que utiliza para control de plagas y enfermedades. | a----- b-Productos Biológicos; <i>Trichoderma</i> y <i>Bauveria</i> | a- b-Productos Biológicos; <i>Trichoderma</i> y <i>Bauveria</i> | a-La falta de agua, daño por pájaros b-No utiliza químicos, usa productos Biológicos; <i>Bauveria</i> y <i>Trichoderma</i> (si es que los técnicos le llevan) |
| Otros a-Mano de obra Utilizada b-Vínculos con otros productores c-Institución que lo asesora d-Abona e-Riego | a----- b-Comunidad Aborigen c-Asesoramiento de Técnicos d-Si, con guano de llama y oveja e-Agua de riego se capta de una vertiente | a----- b-Comunidad Aborigen c-Asesoramiento de Técnicos: Sardina, Cartagena y Quiroga. d-Si, con guano de oveja y llama e-Agua de vertiente p/ el riego | a-Familiar b-Comunidad aborigen c-Asesoramiento Técnico: J.F. Joaquín d-Si, Abono de chivo e----- |

| | Encuesta 7 | Encuesta 8 | Encuesta 9 |
|---|---|---|--|
| Nombre del productor | Teófilo Vargas | Darío Tito | Jesús Tito |
| Edad | ----- | ----- | ----- |
| Nivel de escolarización | ----- | ----- | ----- |
| Composición familiar | Esposa e hijos | ----- | ----- |
| Comunidad a la que pertenece | El Angosto (a 60 Km de la Quiaca-Dpto. Santa Catalina) | Chalguamayoc (Dpto. Yavi) | Chalguamayoc (Dpto. Yavi) |
| Acerca de la tierra a-Régimen de Tenencia b-Superficie total que posee c-Actividad que realiza d-Superficie sembrada con quinua | a-Propietario b----- c-Agricultura (maíz blanco, haba, papa, cebolla, zapallo y quinua) d- | a----- b----- c-Ganadería y Agricultura (haba, arveja, papa y quinua) d----- | a----- b----- c-Ganadería y Agricultura (haba, zanahoria, cebolla, ajo, papa, arveja y quinua) d----- |
| Acerca de las variedades de quinua a-Variedades sembradas el último año b-Época de siembra y cosecha c-Producción obtenida d-Destino de la producción | a-Desconocida (mezcla), proporcionada por la secretaria de agricultura familiar b-Siebra=15/11- Cosecha=Abril c----- d-Autoconsumo | a-Variedad morada y variedad Blanca en menor cantidad b-Siembra=15/11- Cosecha=Abril c----- d-Autoconsumo | a-Variedad morada y variedad Blanca en menor cantidad. b-Siembra=15/11- Cosecha=Abril c----- f-Autoconsumo |
| Durante la producción a-Problemas más frecuentes(vinculado al manejo cultural; agua, enfermedades, plagas, nutrición) b-Productos que utiliza para control de plagas y enfermedades. | a----- b-No utiliza productos químicos | a----- b----- | a----- b----- |
| Otros a-Mano de obra Utilizada b-Vínculos con otros productores c-Institución que lo asesora d-Abona e-Riego | a-Familiar b-Comunidad aborígen c-Asesoramiento de Técnicos: J.F. Joaquín. d----- e----- | a-Familiar b----- c-Asesoramiento de Técnicos d-Si, con guano de oveja y llama e-Riego a través de agua de represa a 7 km del predio-Riego por goteo. | a-Familiar b----- c-Asesoramiento de Técnicos d-Si, con guano de oveja y llama e-Riego a través de agua de represa a 7 km del predio-Riego por goteo |

| | Encuesta 10 | Encuesta 11 | Encuesta 12 |
|---|---|---|--|
| Nombre del productor | Oscar Castillo | Santiago Tolaba | Gustavo Cruz |
| Edad | 55 años | ----- | ----- |
| Nivel de escolarización | ----- | ----- | ----- |
| Composición familiar | Matrimonio (hijos grandes) | ----- | ----- |
| Comunidad a la que pertenece | La Quiaca Vieja (a 5 km de la Quiaca- Dpto. Yavi) | Paraje Santuario (10 Km al norte de la ciudad de Abra Pampa- Dpto. Cochino) | Paraje Santuario (8 km al norte de la ciudad de Abra Pampa- Dpto. Cochino) |
| Acerca de la tierra a-Régimen de Tenencia b-Superficie total que posee c-Actividad que realiza d-Superficie sembrada con quinua | a-propietario b-6 ha c-Agricultura (hortalizas, cebada y quinua) d-2 ha en suelo virgen (no se cultivaba antes) | a-Proceso sucesorio-Herencia b----- c-Ganadería y Agricultura (pasturas, papa andina, quinua) d- | a-Propietario, posee escritura b-500 ha c-Ganadería extensiva (450 ha) y Agricultura (100x40m) (alfalfa, quinua) d- |
| Acerca de las variedades de quinua a-Variedades sembradas el último año b-Época de siembra y cosecha c-Producción obtenida d-Destino de la producción | a-Semilla mezcla (cica y quinua blanca) de origen local e intercambiada b-Siembra=15/11-Cosecha=Abril c-3000Kg/ha d-Autoconsumo, alimentación de ovejas (cañas y panojas) | a-Desconocida b-Principios de Diciembre c- d-Autoconsumo y para alimentación de animales | a-Desconocida b-Principios de Diciembre c----- d-Alimentación de animales |
| Durante la producción a-Problemas más frecuentes(vinculado al manejo cultural; agua, enfermedades, plagas, nutrición) b-Productos que utiliza para control de plagas y enfermedades. | a-Problemas por palomas, gusanos y mildiu. b----- | a----- b----- | a----- b----- |
| Otros a-Mano de obra Utilizada b-Vínculos con otros productores c-Institución que lo asesora d-Abona e-Riego | a-Familiar b-Agrupación precooperativa Tika quinua y Agrupación de la Quiaca Florida. c-Asesoramiento de PROHUERTA (INTA La Quiaca) d-Si, abona con guano de vacas, llamas y ovejas. e-Dispone de riego por goteo | a-Familiar b----- c-Asesoramiento de Técnicos: Dante Ríos d-Si, abona con guano local (llama y oveja) e-Dispone de riego por goteo. | a-Familiar b----- c-Asesoramiento de Técnicos. d----- e-Disponibilidad de riego en la parcela agrícola. -Los productos cárnicos se venden en la ciudad. |

| Encuesta 13 | |
|---|---|
| Nombre del productor | Nemecio Vargas |
| Edad | ----- |
| Nivel de escolarización | ----- |
| Composición familiar | ----- |
| Comunidad a la que pertenece | Comunidad Aborigen de El Cóndor (a 65 Km desde la Quiaca- Dpto. Yavi) |
| Acerca de la tierra a-Régimen de Tenencia b-Superficie total que posee c-Actividad que realiza d-Superficie sembrada con quinua | a----- b----- c-Agricultura (haba, arveja, papa, cebolla, zanahoria, avena y dos variedades de quinua) d----- |
| Acerca de las variedades de quinua a-Variedades sembradas el último año b-Época de siembra y cosecha c-Producción obtenida d-Destino de la producción | a-Desconocida b-Siembra=15/11- Cosecha=Abril c----- d-Autoconsumo |
| Durante la producción a-Problemas más frecuentes(vinculado al manejo cultural; agua, enfermedades, plagas, nutrición) b-Productos que utiliza para control de plagas y enfermedades. | a----- b- No utiliza químicos, si Productos Biológicos. |
| Otros a-Mano de obra Utilizada b-Vínculos con otros productores c-Institución que lo asesora d-Abona e-Riego | a-Familiar b----- c-Asesoramiento de Técnicos; Sardina, Cartagena y Quiroga (...) d----- e- Riego por surco |

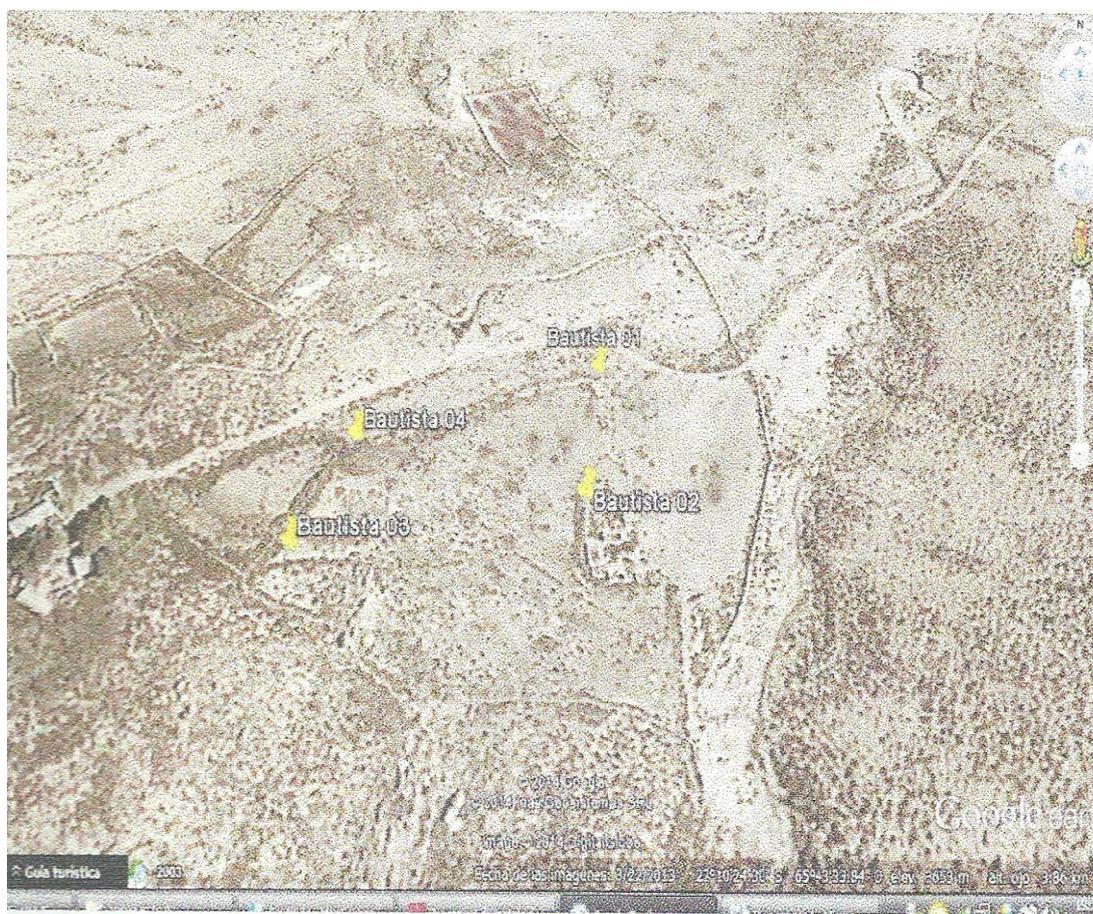
| REGION QUEBRADA | Encuesta 14 | Encuesta 15 | Encuesta 16 |
|--|---|---|---|
| Nombre del productor | Héctor Romero | Jorge Vilca | Donato |
| Edad | 42 años | 30 años | ----- |
| Nivel de escolarización | Secundario sin terminar | Secundario | ----- |
| Composición familiar | Esposa, 5 hijos y el padre | Concubina, un hijo y la madre | ----- |
| Comunidad a la que pertenece | Comunidad Aborigen Villa El Perchel (Dpto. Tilcara) | Comunidad Aborigen Punta Corral (Dpto. Tumbaya) | Comunidad Aborigen de Coctaca (Dpto. Humahuaca) |
| Otros | | | ----- |
| a-Régimen de Tenencia de la tierra | -Ocupante (al lado del río y al lado de la vía) | -Terreno fiscal- Tenencia precaria con título imperfecto | ----- |
| b-Superficie total que posee | -0,75 ha | -0,46ha | ----- |
| c-Actividades que realiza | -Agricultura (hortalizas de hoja, remolacha, zapallito) | -Agricultura- Principalmente maíces amarillos y blancos (0,2 ha), papa andina y habas (0,2 ha), arveja y tres variedades de alfalfa. | ----- |
| d-Destino de la producción | -Vende en la feria campesina y al intermediario (mercado). | -Maíz y papa se venden en eventos locales como carnaval y feria campesina y algo para autoconsumo. | ----- |
| e-Utiliza abonos-Cuáles | -Abonan con guano y elaboración de compost. | -Abona desde hace tres años con guano de cabra y oveja. | ----- |
| f-Disponibilidad de riego | ----- | ----- | ----- |
| g-Problemas más frecuentes (vinculado al manejo cultural; agua, enfermedades, plagas, nutrición) | -Comercialización -Pulgones | -El problema más crítico es el agua, debido a la disminución del caudal de la vertiente en la época estival. -Plagas más frecuentes son; Gusano cogollero (maíz), epitrix y Liriomyza. | ----- |
| h-Productos que utiliza p/ control de plagas y enfermedades | -Muy dependiente de agroquímicos, sin embargo hay parcelas en transición con aplicación de técnicas agroecológicas. | -No se utilizan productos químicos, solo biofertilizantes. -Se trabaja de forma agroecológica (aplican <i>Trichoderma</i> y Supermagro) | ----- |
| i-Mano de obra Utilizada | -Familiar (propia, esposa, padre) | -Familiar -Trabaja junto a un amigo | ----- |
| j-Vínculos con otros productores | -Comunidad aborigen Villa el Perchel (antes era presidente, ahora secretario) | -Comunidad aborigen Punta Corral -Participa en el Movimiento Argentino Jóvenes Agrarios | ----- |
| k-Institución que los asesora | -UPPAJS -INTA AER Hornillos | -INTA AER Hornillos -Municipalidad de Tumbaya | ----- |

| | Encuesta 17 | Encuesta 18 |
|---|---|--|
| Nombre del productor | Eloy Tactaca | Pantaleón Tactaca |
| Edad | 62 años | 65 años |
| Nivel de escolarización | ----- | ----- |
| Composición familiar | Esposa | ----- |
| Comunidad a la que pertenece | Comunidad Aborigen de Coctaca (Dpto. Humahuaca) | Comunidad Aborigen de Coctaca (Dpto. Humahuaca) |
| Otros | | |
| a-Régimen de Tenencia de la tierra | -Propietario | -Propietario |
| b-Superficie total que posee | -0,5 ha | -1 ha |
| c-Actividades que realiza | -Agricultura (papa, maíz, haba, arvejas) | - Agricultura (papa, maíz, haba, arvejas y quinua) |
| d-Destino de la producción | -Autoconsumo -Mercado local -Trueque | -Autoconsumo -Mercado local -Trueque |
| e-Utiliza abonos-Cuáles | -Guano de llama y oveja | -Guano de llama y oveja |
| f-Disponibilidad de riego | -Con posibilidad de Riego | -Con posibilidad de Riego |
| g-Problemas más frecuentes(vinculado al manejo cultural; agua, enfermedades, plagas, nutrición) | ----- | ----- |
| h-Productos que utiliza p/ control de plagas y enfermedades | -No utiliza agroquímicos-producción agroecológica | -No utiliza agroquímicos-producción agroecológica |
| i-Mano de obra Utilizada | -Familiar (Propia, esposa) | -Familiar |
| j-Vínculos con otros productores | -Centro vecinal en Coctaca (es presidente) -Asociación de vitivinicultores | - Asociación de vitivinicultores |
| k-Institución que asesora | -INTA AER Hornillos (Técnicos: Galean y Albarracin) -UPPAJS | -INTA AER Hornillos (Técnicos: Galean y Albarracin) -UPPAJS |

Anexo 3: Mapas de sitios de muestreos en las regiones de Puna y Quebrada de la Provincia de Jujuy.

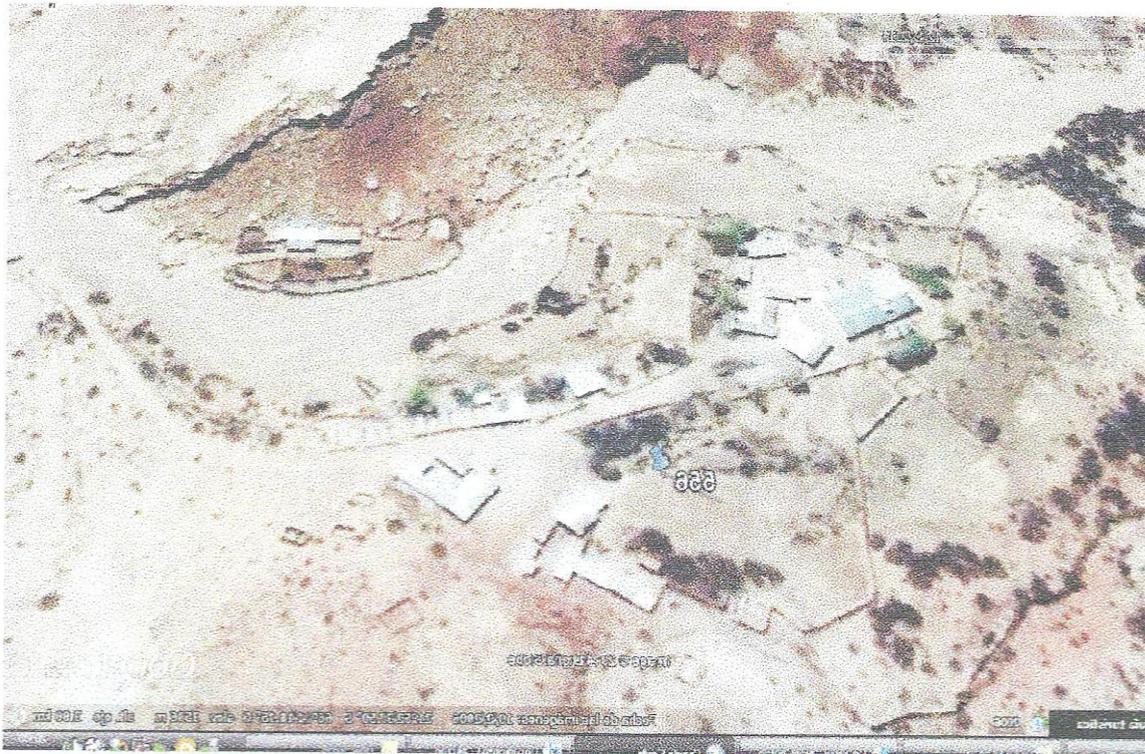
Parcelero: Liliana Bautista

Comunidad: Chujchuara (a 20 km de la Quiaca- Dpto. Yavi)



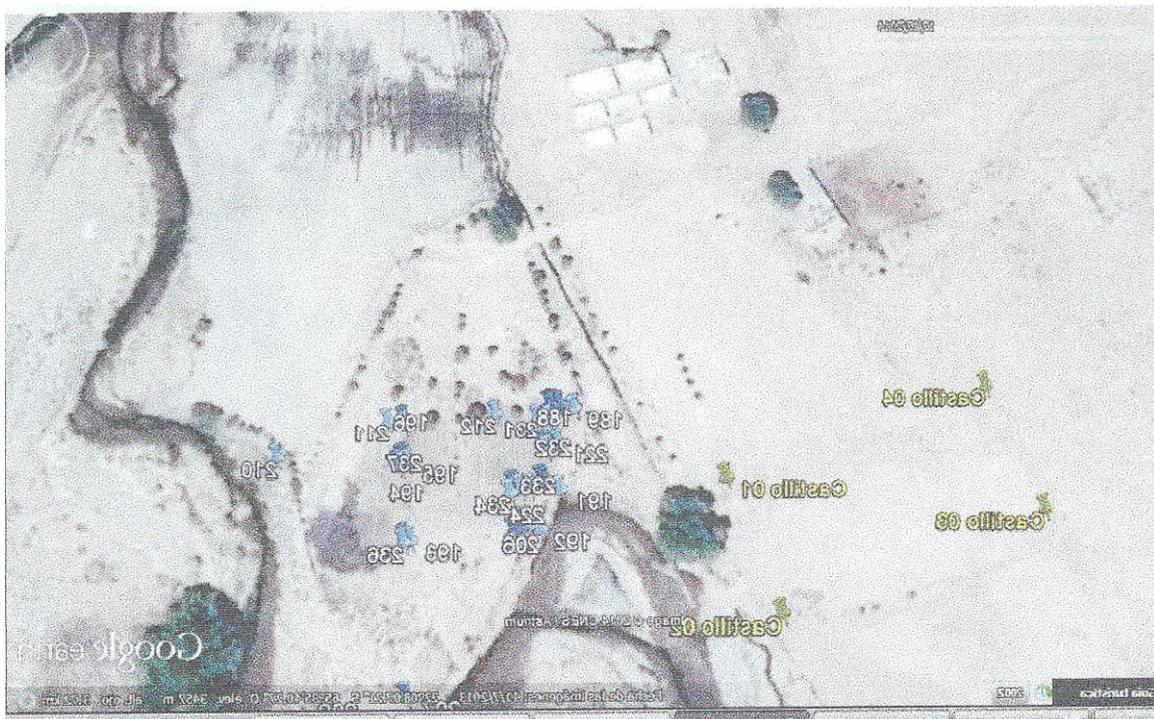
Parcelero: Teófilo Vargas

Comunidad: El Angosto (a 60 Km de la Quiaca- Dpto. Santa Catalina)



Parcelero: Oscar Castillo

Comunidad: La Quiaca Vieja (a 5 km de la Quiaca- Dpto. Yavi)



Anexo 4: Procedimiento seguido para la recolección y almacenamiento de muestras de suelo.

Muestreo de suelo a 20 cm de profundidad.



Foto ilustrativa



Muestras rotuladas



Muestras de suelo en proceso de secado.



Muestras de suelo listas para su almacenamiento.

Anexo 5: Procedimiento para el Aislamiento de *Trichoderma* spp.

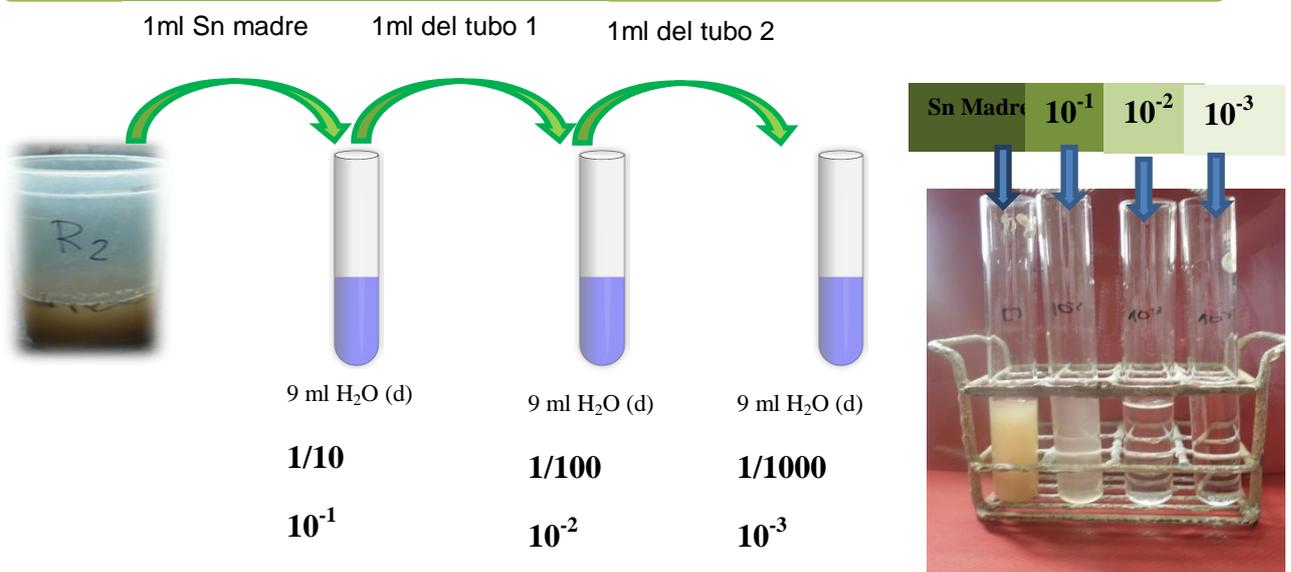
Paso 1: De cada muestra de suelo se extraen 4 submuestras de 10 gr.



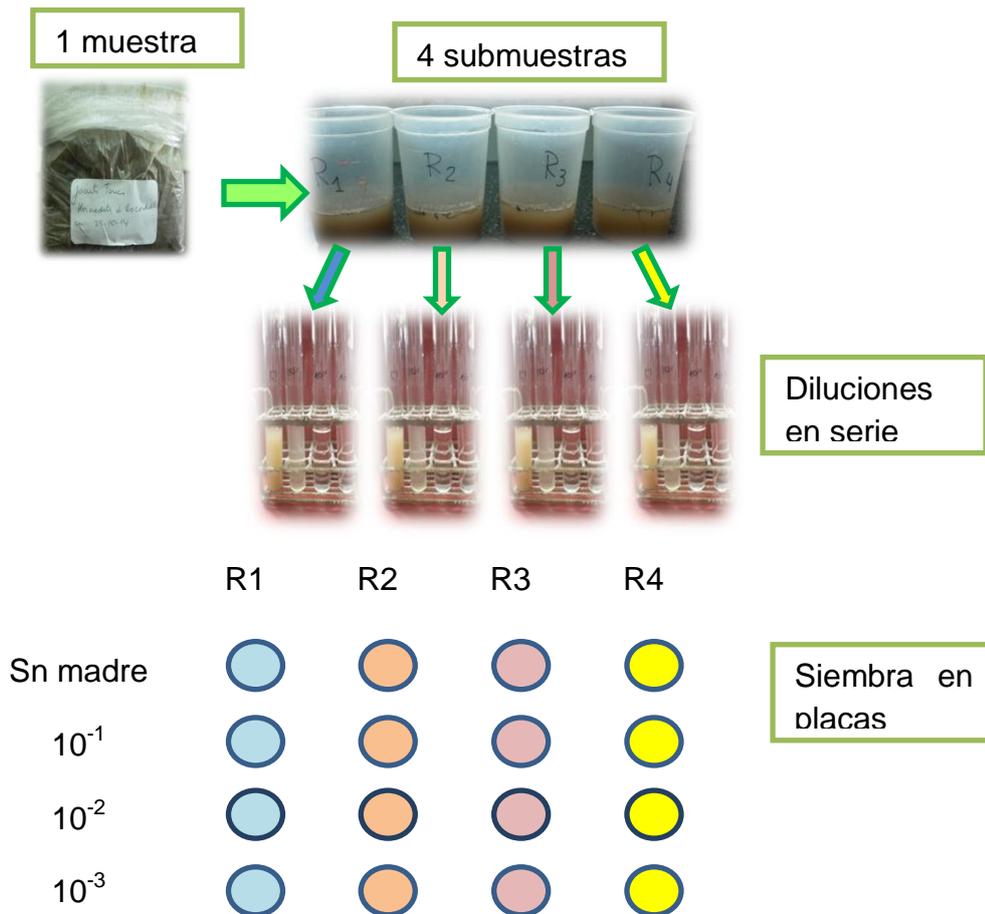
Paso 2: Cada submuestra es añadida a 100ml de agua destilada estéril, se agita durante 30 min y se deja decantar por 10 min, obteniendo las soluciones madres de cada submuestra.



Paso 3: De cada solución madre se realizan tres diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} .

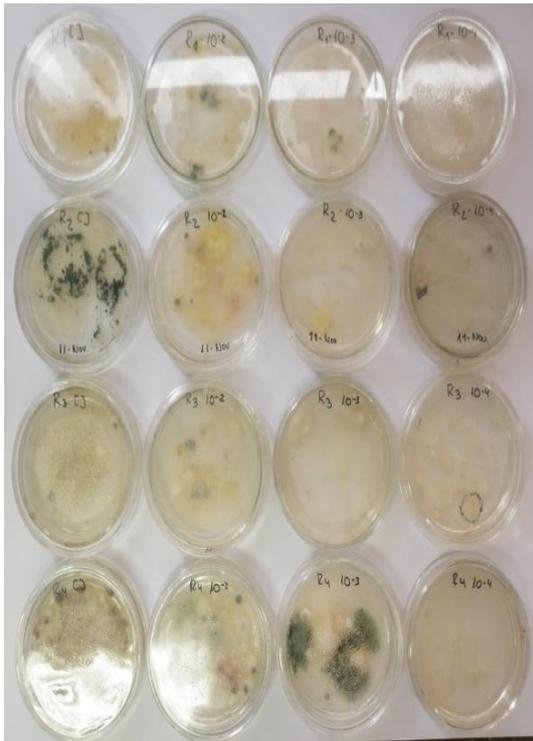


Paso 4: Se siembra sobre placas de Petri conteniendo medio de cultivo APG al 2%, y por triplicado alícuotas de 100 ul (0,1 ml) de la solución madre y de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} . Las cajas sembradas se incuban a 25°C, 12 hs continuas en luz, seguido de 12 hs de oscuridad por 7-10 días, con monitoreo constante.

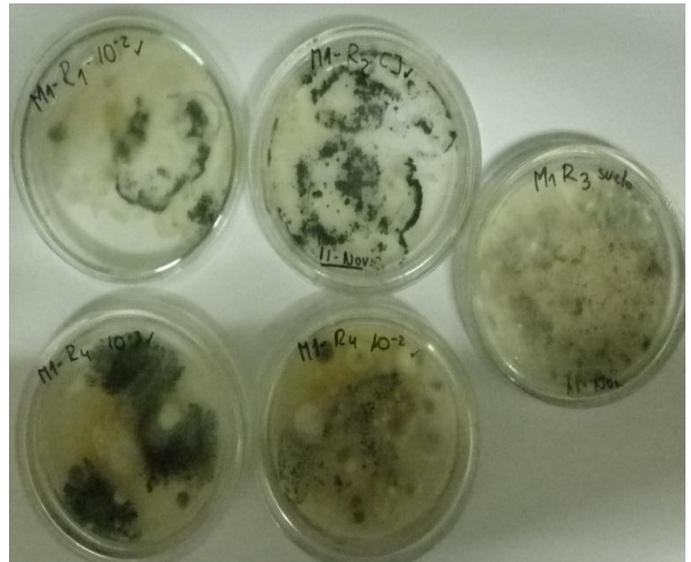


Cámara de flujo laminar- Laboratorio de Fitopatología- FCA-UNJu-

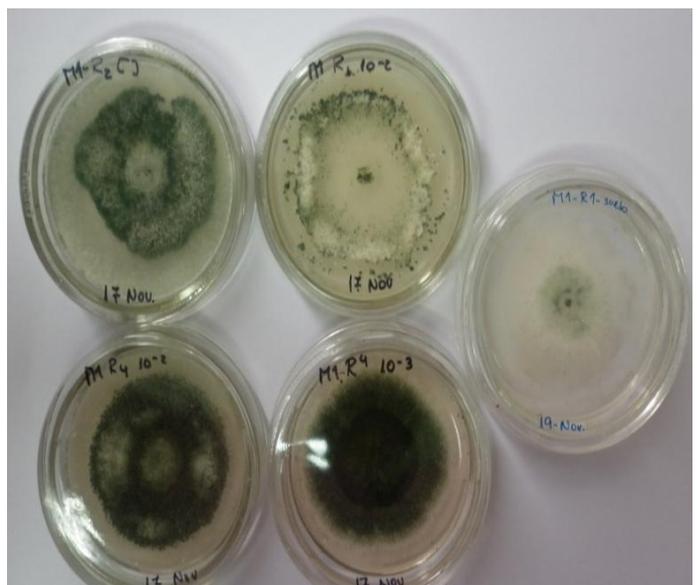
Paso 5: Se realizan observaciones diariamente, a fin de detectar la presencia y registrar la cantidad de colonias de color verde o amarillo verdoso, de crecimiento rápido y abundante esporulación, característico de *Trichoderma* spp. De las colonias con dichas características se tomó parte del crecimiento del hongo y se sembró en APG al 2% y se llevaron a incubación en estufa por 7 días a 25°C, 12 hs luz/12 hs oscuridad.



Siembras de diluciones seriadas en placas al 6^{to} día.

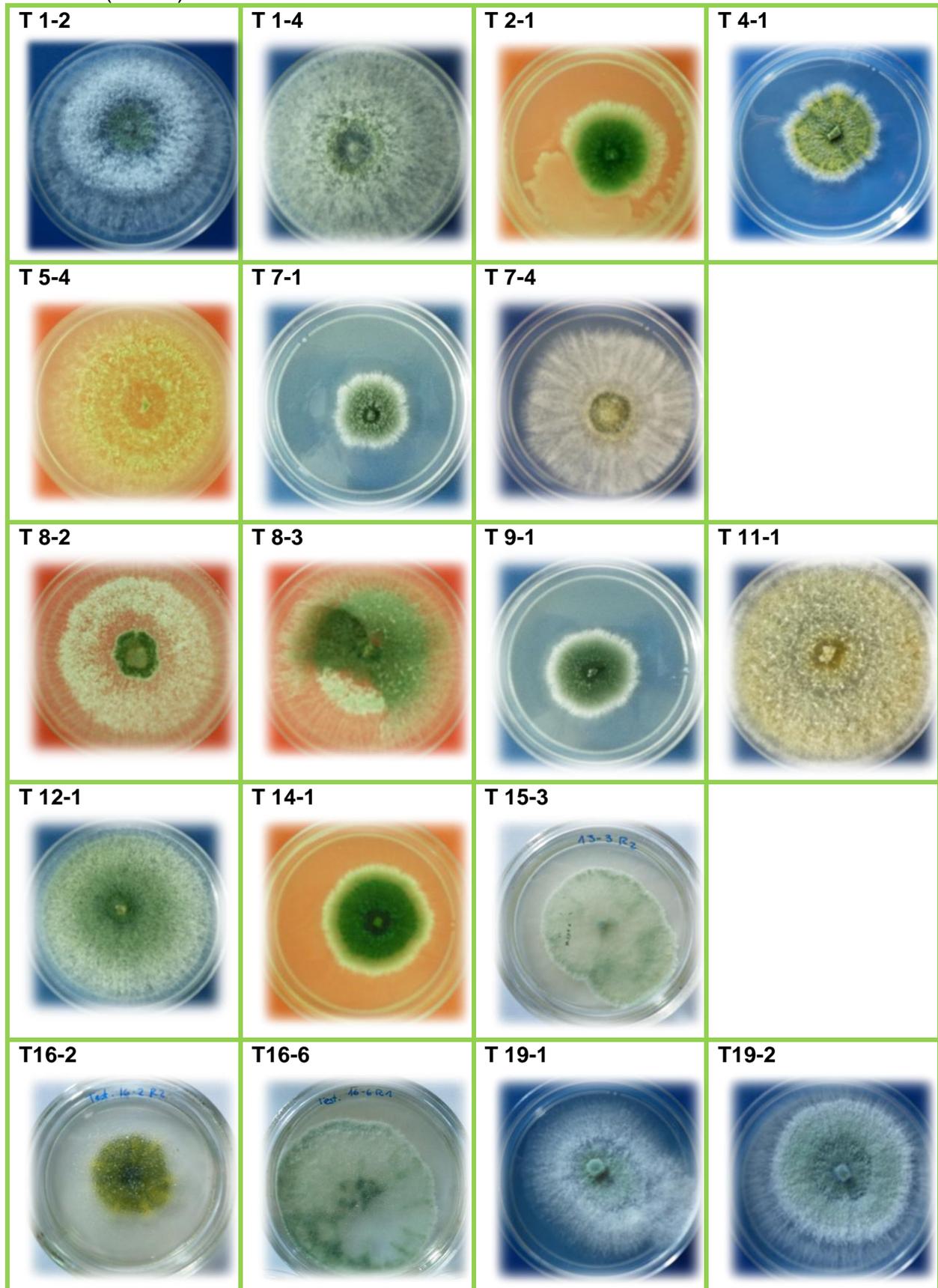


Cajas seleccionadas por presencia de colonias posiblemente pertenecientes al género *Trichoderma* spp.

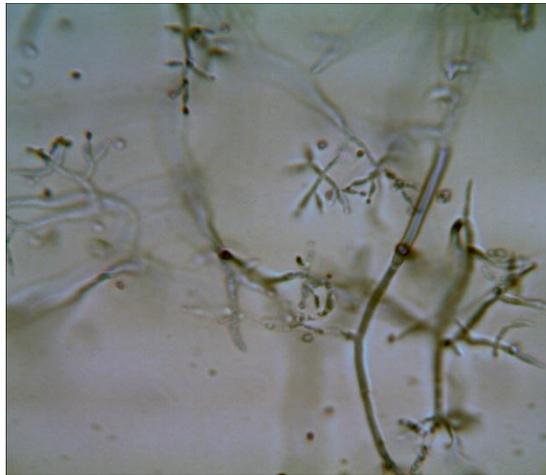


Cepas aisladas de *Trichoderma* spp. a 7 días de incubación.

Anexo 6: Algunas de las cepas de *Trichoderma* spp. aisladas de muestras de suelo a 72 hs (3 días) de incubación.

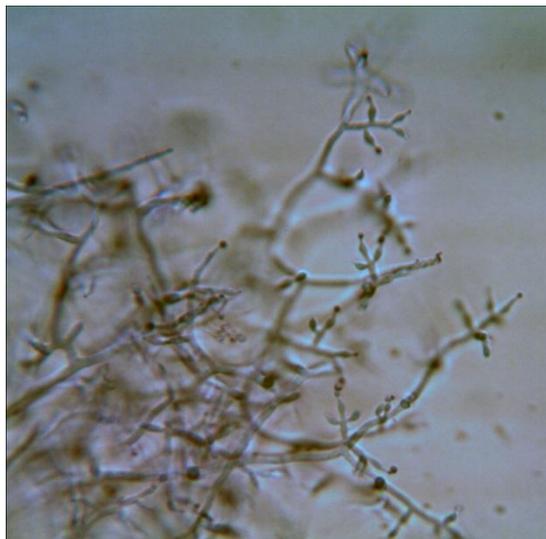


Anexo 7: Montaje en lactofenol del hongo aislado, para la observación de las características microscópicas del género *Trichoderma* spp.



a), b) y c) Características microculturales de *Trichoderma*

Fotografías: Ing. Susana Edit Álvarez.



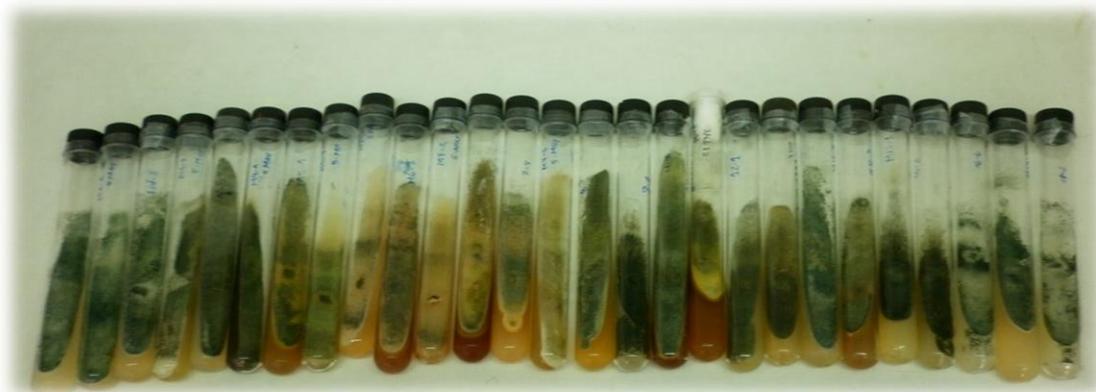
Anexo 8: Procedimiento para conservación de cepas de *Trichoderma* spp.



Cultivos puros de las cepas aisladas de 7 días de edad



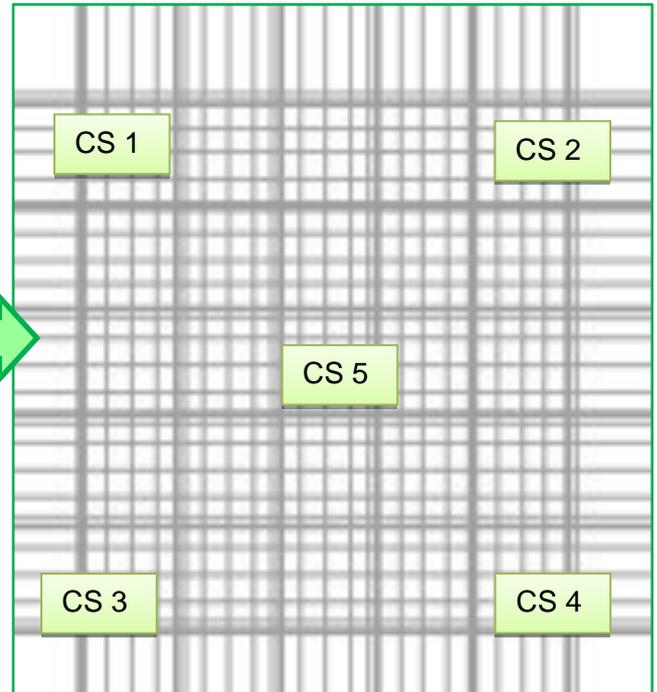
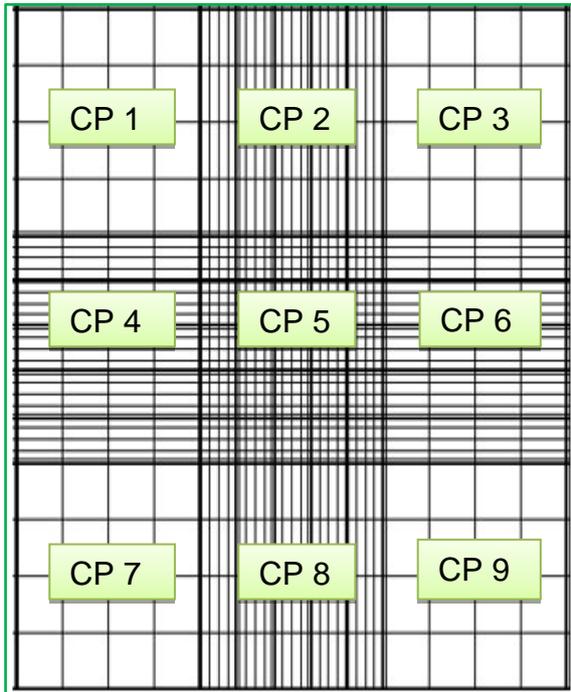
Siembra de las cepas aisladas en tubos inclinados



Tubos inclinados con *Trichoderma* a 7 días de incubación y listos para ser almacenados a bajas temperaturas entre 4-7 °C.

Anexo 9: Procedimiento para determinación de conidios/ml.





Con el menor aumento se pueden visualizar los 9 cuadrados principales que posee la cámara de Neubauer.

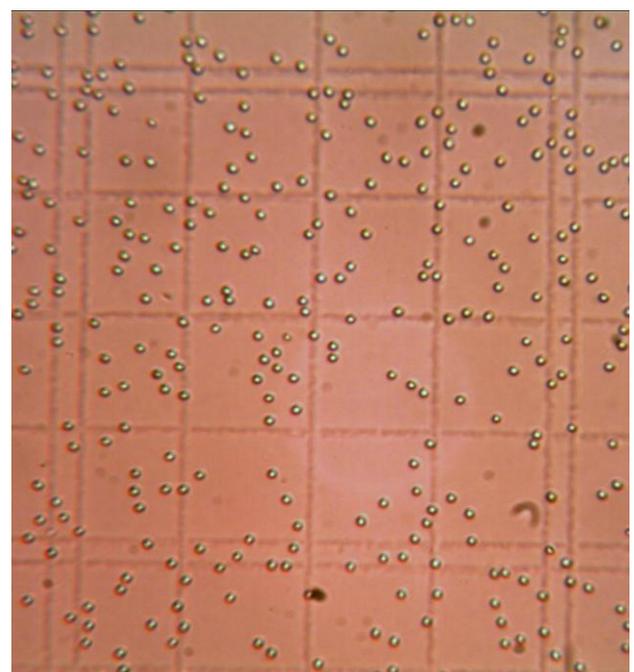
Con un aumento mayor debe enfocarse el cuadrado principal central (CP 5). El conteo se realiza en los cuatro cuadrados secundarios (CS) esquinados y el central.



Enfoque con el mayor aumento en uno de los CS del CP central.

Fórmula aplicada para obtener el número de conidios en 1 ml:

$$\sum 5 \text{ CS} \times 50000 \times \text{factor de dilución}$$

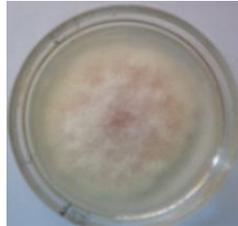


Anexo 10: Ensayo de Cultivos Duales (CD)

Paso 1: Se debe disponer de cultivos puros de hongos antagonistas y fitopatógenos de 7 días de crecimiento.



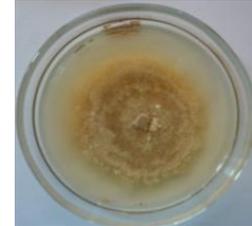
Trichoderma spp.



Fusarium spp.

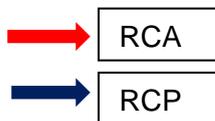
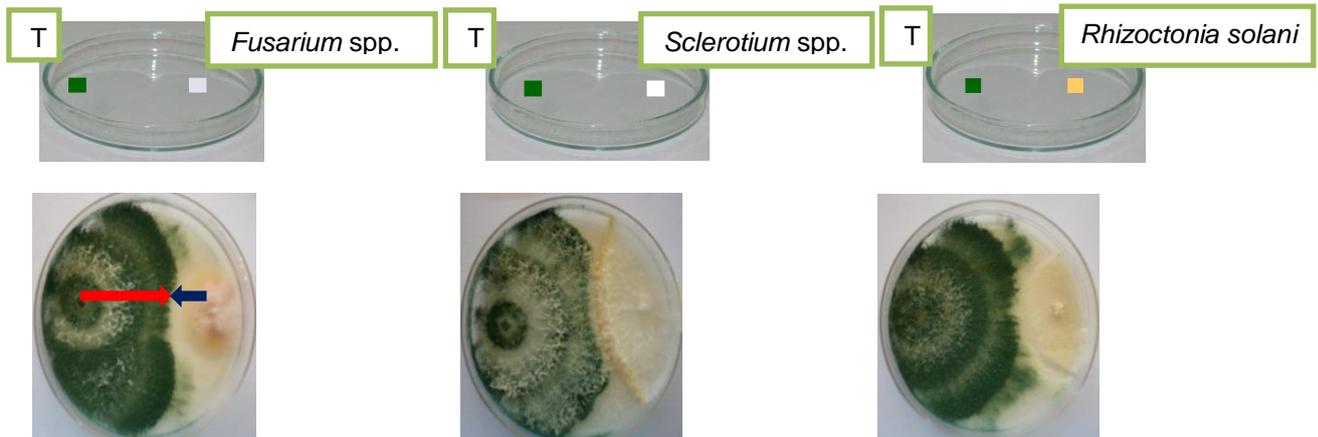


Sclerotium spp.



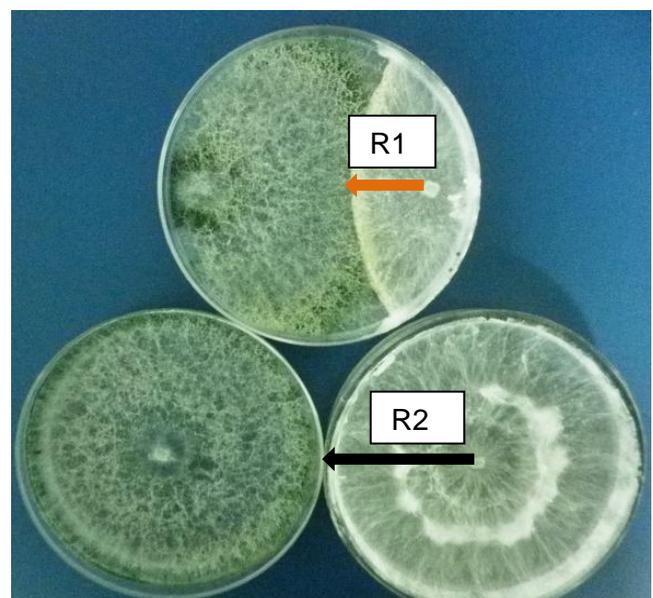
Rhizoctonia solani

Paso 2: Se siembran secciones de 4x4 mm del hongo antagonista y patógeno en extremos opuestos, se lleva a estufa a 25 °C, 12 hs de luz/12 hs oscuridad. Cada 24 hs se miden los radios con regla graduada durante 7 días.



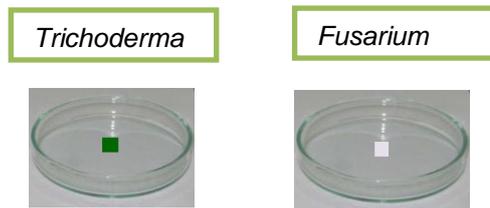
Fórmula utilizada para el cálculo del PICR (%):

$$\text{PICR} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

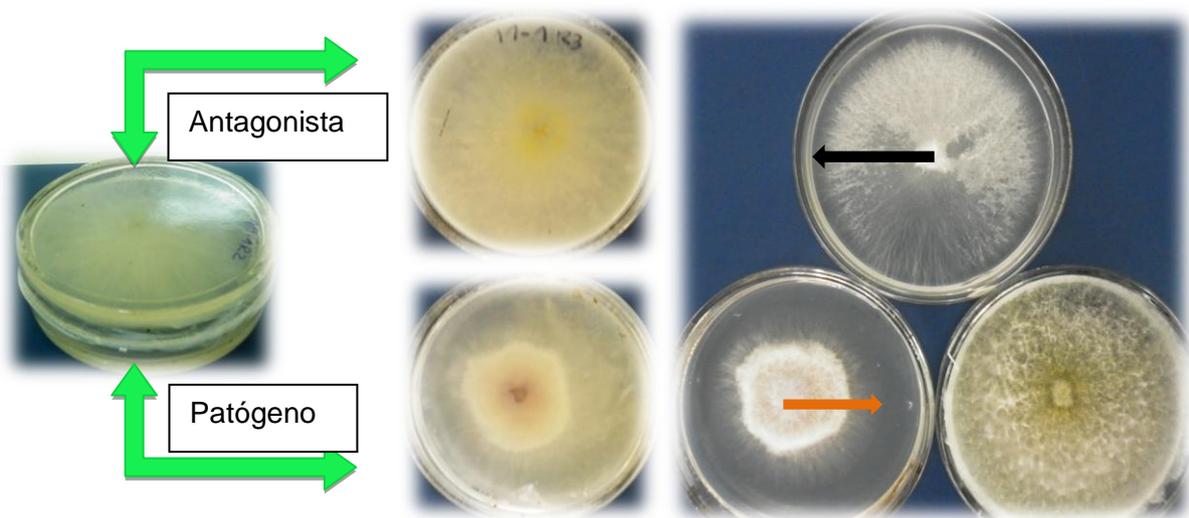


Anexo 11: Ensayo de Metabolitos Volátiles (MV)

Paso 1: Se siembran secciones de 4x4 mm del hongo antagonista y patógeno en el centro de cajas de Petri con APG 2%. Se substituyen las tapas de las cajas por un disco de papel celofán estéril y se unen ambas cajas con cinta adhesiva. Paralelamente se siembra en otra caja una sección del fitopatógeno testigo. Las cajas así acondicionadas se colocan en estufa a 25°C durante 7 días, 12hs luz/12hs oscuridad.



Paso 2: A los 7 días de incubación se mide el crecimiento radial del hongo fitopatógeno testigo y del fitopatogeno enfrentado al hongo antagonista, con los datos obtenidos se calcula el % PICR.



→ R1= Radio del patógeno testigo.

→ R2=Radio del patógeno en enfrentamiento con el antagonista.

Fórmula utilizada para el cálculo del PICR (%):
$$PICR = (R1 - R2) / R1 \times 100$$

Anexo 12: Ensayos de Metabolitos Difusibles al Medio (MDM)

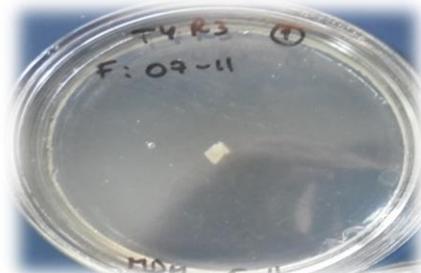
Paso 1: Colocación del papel de celofán sobre el medio de APG.



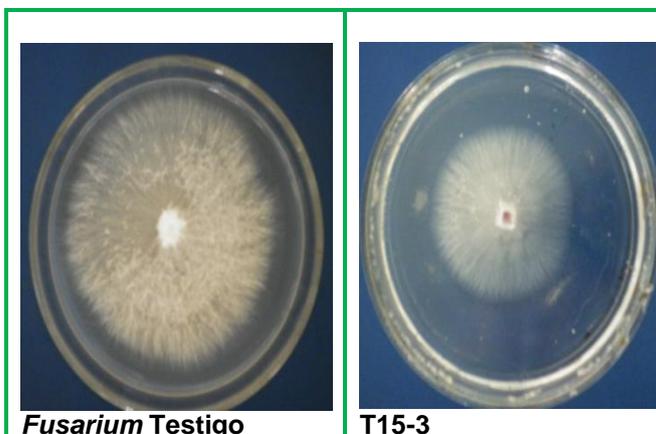
Paso 2: Siembra de una sección de *Trichoderma* spp. sobre el papel celofán.



Paso 3: Luego de 48 hs de incubación, se retira el papel de celofán con la colonia de *Trichoderma* spp. adherida a él, y se realiza la siembra de una sección del hongo fitopatógeno sobre el medio de APG.



Paso 4: A los 7 días de incubación se calcula el PICR (%).



Comparación del crecimiento entre el fitopatógeno Testigo y el fitopatógeno en presencia de metabolitos producidos por *Trichoderma* spp.