

# ANTIBIOSIS Y MICOPARASITISMO DE HONGOS ENDÓFITOS SOBRE EL AGENTE CAUSAL DEL MOHO GRIS DEL ARÁNDANO (*Botrytis cinerea*)

Betsabe Leon-Ttacca<sup>1</sup>, Richard J. Yactayo-Yataco<sup>1</sup>, Almendra Astete-Farfán<sup>1</sup>, Luz L. Mattos-Calderón<sup>2</sup> y Jasmín C. Arestegui-Cantoral<sup>1</sup>

## RESUMEN

El "moho gris" es una de las principales enfermedades del cultivo de arándano que causa pérdidas económicas, cuyo agente causal es el hongo *Botrytis cinerea*. La aplicación de fungicidas es una de las principales estrategias para su manejo; sin embargo, el patógeno ha desarrollado resistencia a grupos de fungicidas. En busca de una nueva alternativa de control, en la Universidad Nacional de Cañete se evaluó la actividad antagonista de 40 cepas de hongos endófitos (HE) sobre *B. cinerea*. Se realizaron pruebas de antibiosis con la extracción de metabolitos secundarios de las cepas de HE y micoparasitismo con el método de placa precolonizada por el patógeno, en donde se evaluó la inhibición micelial del patógeno y colonización del HE respectivamente. Los metabolitos obtenidos del género *Aspergillus* (cepa 111) inhibieron completamente el crecimiento micelial del patógeno, seguido de los géneros *Nigrospora* (cepa 58) y *Aspergillus* (cepa 117) con 89,82 y con 63,33 %, respectivamente, en comparación con *Cladosporium* (cepa 116) que tuvo menor efecto hacia el patógeno con 3,19 % de inhibición micelial. Sin embargo, todas las cepas del género *Trichoderma* (1, 91, 93 y 94), *Alternaria* (5 y 78), *Fusarium* (106), *Cladosporium* (41) y *Lasioidiplodia* (49) colonizaron completamente al patógeno y fueron los micoparásitos más agresivos seguido de las cepas de *Aspergillus* (117 y 111) que colonizaron en 83,33 y 63,33 % al patógeno, respectivamente. Estos hongos endófitos con actividad antagonista hacia *B. cinerea* podrían ser utilizados como una alternativa para el control de enfermedades en el cultivo de arándano.

**Palabras clave adicionales:** Antagonismo, colonización, inhibición, metabolitos secundarios, patógeno

## ABSTRACT

### Antibiosis and mycoparasitism of endophytic fungi on the causal agent of blueberry gray mold (*Botrytis cinerea*).

The "gray mold" is one of the main diseases of the blueberry crop that causes economic losses, the causal agent is the fungus *Botrytis cinerea*. The application of fungicides is one of the main strategies for its management; however, the pathogen has developed resistance to groups of fungicides. In search of a new control alternative, the antagonistic activity of 40 strains of endophytic fungi (EF) on *B. cinerea* was evaluated at the National University of Cañete. Antibiosis tests were performed with the extraction of secondary metabolites from the strains of HE and mycoparasitism with the method pre-colonized plate by the pathogen, where the mycelial inhibition of the pathogen and HE colonization, respectively, were evaluated. The metabolites obtained from the genus *Aspergillus* (strain 111) completely inhibited the mycelial growth of pathogen, followed by the genera *Nigrospora* (58) and *Aspergillus* (117) with 89.82 and 63.33 %, respectively, compared to *Cladosporium* (116) which had less effect towards the pathogen with 3.19 % mycelial inhibition. However, all the strains of the genus *Trichoderma* (1, 91, 93 and 94), *Alternaria* (5 and 78), *Fusarium* (106), *Cladosporium* (41) and *Lasioidiplodia* (49) completely colonized the pathogen and were considered as the most aggressive mycoparasites followed by the *Aspergillus* strains 117 and 111, that colonized 83.33 and 63.33 % to the pathogen, respectively. These endophytic fungi with antagonistic activity towards *B. cinerea* could be used as an alternative for disease control in blueberry cultivation.

**Additional keywords:** Antagonism, colonization, inhibition, pathogen, secondary metabolites

## INTRODUCCIÓN

Entre las frutas y hortalizas, el arándano constituye el segundo producto de exportación del

Perú, país que destaca entre los principales exportadores de este fruto en el mundo (Redagricola, 2020). En el 2021 se exportaron aproximadamente 160 mil toneladas de arándanos

Recibido: Octubre 19, 2021

Aceptado: Junio 30, 2022

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Cañete. Lima, Perú. e-mail: bleon@undc.edu.pe (autor de correspondencia); rjyactayo@gmail.com; almendra\_1225@hotmail.com; yasmincarmena@gmail.com

<sup>2</sup> Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. e-mail: leomattos@lamolina.edu.pe

frescos, siendo Estados Unidos el principal importador con el 50 % de éstas (Santana, 2021). Uno de los problemas fitosanitarios más importantes que ocasiona pérdidas económicas considerables en la producción de arándanos a nivel mundial, en condiciones de pre y poscosecha, lo constituyen las infecciones causadas por el denominado “moho gris” o el hongo *Botrytis cinerea* por su estilo de vida necrotrófico y su amplia gama de hospedantes (Romanazzi y Droby, 2016; Abbey, 2017).

Una de las principales estrategias para minimizar la proliferación del “moho gris” es el control químico, mediante aplicaciones de fungicidas a partir de la floración, periodo donde se presenta la mayor susceptibilidad de las plantas al ataque de este hongo (Williamson et al., 2007). Sin embargo, el uso indiscriminado de fungicidas puede ejercer una presión de selección sobre el patógeno y permitir el desarrollo rápido de resistencia a varios grupos de estos fungicidas (Shao et al., 2021). Además, su uso no se considera sostenible para el ambiente y la salud humana, por los riesgos asociados con los residuos químicos en los alimentos (Romanazzi y Droby, 2016). Otra alternativa poco empleada señala que, a nivel de semillas, se ha probado el uso de radiación gamma para controlar ataques de hongos del género *Botrytis* (Aguilar et al., 2021).

Es poco probable que una sola medida tenga éxito en el control de *B. cinerea*, ya que este microorganismo presenta variedad en sus modos de infección, diversos hospedantes como fuentes de inóculo y puede sobrevivir como esclerocios durante períodos prolongados (Williamson et al., 2007). La búsqueda de nuevas alternativas para el control de este fitopatógeno ha llevado al uso de microorganismos endofíticos como agentes de control biológico de enfermedades de plantas por los diversos mecanismos de acción que poseen contra fitopatógenos y los beneficios que brinda a su hospedante (Toghueo et al., 2016; Leon Ttacca et al., 2018; Vásquez et al., 2018).

En la Universidad Nacional de Cañete (Lima - Perú) se han aislado hongos endofíticos de plantas de arándano que están siendo estudiadas para el control de enfermedades de varios cultivos considerando que estos microorganismos son no patógenos, que viven dentro de las plantas de manera asintomática, forman una asociación simbiótica mutualista con la planta y pueden

beneficiar a su huésped produciendo varios metabolitos secundarios con propiedades antifúngicas, antibacterianas e insecticidas y contribuyendo al crecimiento y desarrollo de la planta huésped; asimismo, existen investigaciones que se centran en el estudio de endófitos como agentes de control biológico para el manejo de patógenos de plantas (Dutta et al., 2014).

El conocimiento de los géneros de hongos endófitos con capacidad antagonica a *B. cinerea*, permitiría la oportunidad de ser empleados dentro de un plan de manejo integrado de plagas y enfermedades (MIPE) para el cultivo de arándano, como una alternativa respetuosa con el ambiente, y la posibilidad de acceder a mercados más exigentes para su exportación. Por lo que, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la actividad antagonica (antibiosis y micoparasitismo) de hongos endófitos hacia el agente causal del moho gris del arándano (*B. cinerea*).

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Ubicación del experimento.** Se ejecutó en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Escuela de Agronomía de la Universidad Nacional de Cañete (UNDC), ubicado en el distrito de Imperial, provincia de Cañete y departamento de Lima, Perú (13°3' S, 76°21' W, 85 msnm).

**Origen de los hongos endófitos.** En la actualidad, el laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNDC cuenta con una colección de hongos endófitos que fueron aislados de hojas y tallos de plantas de arándano (*Vaccinium corymbosum*) var. biloxi de fundos ubicados en las Regiones de Lima e Ica. Las 40 cepas de hongos endófitos, sus nueve géneros, los lugares de origen y los órganos de desarrollo utilizadas en la presente investigación se presentan en el Cuadro 1. Las cepas indicadas se reactivaron en placas Petri de 90 × 15 mm, conteniendo medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) y se incubaron a una temperatura de 25 °C por seis días.

**Cepa de hongo endófito aislado de tallos (HE-ART), de hojas (HE-ARH) y de raíces (HE-ARR) en plantas de arándano.**

- **Aislamiento de *Botrytis cinerea*.** De campos de producción de arándano ubicado en la Empresa Visions S.A.C. en la provincia de Cañete, se colectaron flores y frutos con síntomas de podredumbre gris, y fueron colocadas en cámara

húmeda por 48 horas. El aislamiento se realizó usando la técnica de punta de hifa, para lo cual se extrajo una pequeña porción apical de hifas y

conidias de la parte infectada y se transfirió a otra caja de Petri con medio PDA para obtener un cultivo axénico del hongo (Apolonio et al., 2017).

**Cuadro 1.** Origen de cepas de hongos endófitos colectadas de plantas de arándano var. Biloxi.

Cepa	Género	Lugar de origen (Distrito, Provincia y Región)	Órgano
1 HE-ART-1	<i>Trichoderma</i>	Nuevo Imperial, Cañete, Lima	Tallo
2 HE-ART-5	<i>Alternaria</i>	Quilmaná, Cañete, Lima	Tallo
3 HE-ARH-9	<i>Alternaria</i>	Quilmaná, Cañete, Lima	Hoja
4 HE-ARH-10	<i>Alternaria</i>	Nuevo Imperial, Cañete, Lima	Hoja
5 HE-ART-12	<i>Alternaria</i>	Quilmaná, Cañete, Lima	Tallo
6 HE-ART-16	<i>Alternaria</i>	Imperial, Cañete, Lima	Tallo
7 HE-ARH-20	<i>Alternaria</i>	Quilmaná, Cañete, Lima	Hoja
8 HE-ARH-26	<i>Alternaria</i>	Imperial, Cañete, Lima	Hoja
9 HE-ARH-28	<i>Ulocladium</i>	Imperial, Cañete, Lima	Hoja
10 HE-ARH-31	<i>Alternaria</i>	Imperial, Cañete, Lima	Hoja
11 HE-ARH-35	<i>Stemphylium</i>	Roma, Cañete, Lima	Hoja
12 HE-ART-39	<i>Stemphylium</i>	Nuevo Imperial, Cañete, Lima	Tallo
13 HE-ARH-40	<i>Alternaria</i>	Imperial, Cañete, Lima	Hoja
14 HE-ART-41	<i>Cladosporium</i>	Imperial, Cañete, Lima	Tallo
15 HE-ARH-42	<i>Cladosporium</i>	Nuevo Imperial, Cañete, Lima	Hoja
16 HE-ART-45	<i>Alternaria</i>	Nuevo Imperial, Cañete, Lima	Tallo
17 HE-ART-49	<i>Lasiodiplodia</i>	Roma, Cañete, Lima	Tallo
18 HE-ART-53	<i>Alternaria</i>	Imperial, Cañete, Lima	Tallo
19 HE-ARH-58	<i>Nigrospora</i>	Quilmaná, Cañete, Lima	Hoja
20 HE-ARH-63	<i>Cladosporium</i>	Nuevo Imperial, Cañete, Lima	Hoja
21 HE-ART-73	<i>Alternaria</i>	Imperial, Cañete, Lima	Tallo
22 HE-ARH-78	<i>Alternaria</i>	Quilmaná, Cañete, Lima	Hoja
23 HE-ART-79	<i>Alternaria</i>	Quilmaná, Cañete, Lima	Tallo
24 HE-ART-88	<i>Cladosporium</i>	Imperial, Cañete, Lima	Tallo
25 HE-ART-91	<i>Trichoderma</i>	Roma, Cañete, Lima	Tallo
26 HE-ARR-92	<i>Trichoderma</i>	Roma, Cañete, Lima	Tallo
27 HE-ARH-93	<i>Trichoderma</i>	Pisco, Piso, Ica	Hoja
28 HE-ART-94	<i>Trichoderma</i>	Pisco, Piso, Ica	Tallo
29 HE-ART-95	<i>Cladosporium</i>	Pisco, Piso, Ica	Tallo
30 HE-ARH-100	<i>Cladosporium</i>	Pisco, Piso, Ica	Hoja
31 HE-ART-104	<i>Alternaria</i>	Pisco, Piso, Ica	Tallo
32 HE-ART-106	<i>Fusarium</i>	Pisco, Piso, Ica	Tallo
33 HE-ART-109	<i>Fusarium</i>	Pisco, Piso, Ica	Tallo
34 HE-ART-111	<i>Aspergillus</i>	Pisco, Piso, Ica	Tallo
35 HE-ART-116	<i>Cladosporium</i>	Pisco, Piso, Ica	Tallo
36 HE-ART-117	<i>Aspergillus</i>	Pisco, Piso, Ica	Tallo
37 HE-ART-118	<i>Trichoderma</i>	Pisco, Piso, Ica	Tallo
38 HE-ARH-123	<i>Alternaria</i>	Pisco, Piso, Ica	Hoja
39 HE-ART-140	<i>Cladosporium</i>	Pisco, Piso, Ica	Tallo
40 HE-ART-161	<i>Trichoderma</i>	Pisco, Piso, Ica	Tallo

Las placas fueron incubadas a 25 ° C por siete días, y se observaron las características de la colonia y sus estructuras morfológicas

microscópicas para hacer la identificación con las claves de Barnett y Hunter (1998), Barrón (1968) y Watanabe (2002). Al confirmar que el agente

causal del moho gris fue *B. cinerea*, se procedió a la multiplicación del patógeno en placas Petri de 90 × 15 mm en medio PDA.

**Prueba de antibiosis** Se extrajeron metabolitos secundarios solubles inhibitorios de las cepas de hongos endófitos según la metodología propuesta por Bailey et al. (2008). De cultivos jóvenes de HE de siete días de edad se obtuvo una suspensión de esporas en 10 mL de agua destilada con Tween-80 en cada placa; luego, se realizó el conteo y estandarización de la concentración de esporas a  $1 \times 10^6$  ufc·mL<sup>-1</sup>. Por otro lado, se esterilizaron matraces con 100 mL de medio líquido de caldo papa dextrosa (CPD), en donde se depositó 1 mL de la suspensión de esporas y se incubaron en un agitador orbital mod. LOM-150 a 110 rpm por siete días a 25 °C. Por cada hongo endófito se realizaron tres repeticiones. Transcurrido el tiempo de incubación, el micelio desarrollado en los matraces fue removido por filtración y se extrajeron 35 mL del filtrado en tubos Falcon esterilizados dentro de una cabina de bioseguridad (modelo Class II Cabinet). Posteriormente, el filtrado fue centrifugado a 3000 rpm por cinco minutos para extraer el sobrenadante (12,5 mL del filtrado) el cual se colocó en baño maría (baño termostataado JSIB-22T) a 90 °C por una hora; luego, se agregó un volumen igual de medio de cultivo PDA con 2x de agar y se realizó la mezcla a una proporción 1:1 (v:v); inmediatamente, se transfirieron 10 mL de la mezcla a placas Petri de 60 x 15 mm. Un disco de 5 mm de medio PDA con micelio del patógeno se colocó en el centro de las placas con los filtrados y éstas fueron incubadas a una temperatura de 25 °C por 3 días. Se realizaron tres repeticiones por filtrado. Para los controles (testigo) se realizó la mezcla con el filtrado sin los HE.

La evaluación se realizó cuando el patógeno colonizó completamente las placas de los testigos; con ayuda de un vernier digital, se registraron las medidas del crecimiento radial de la colonia (mm) del patógeno en cuatro radios de las placas. El porcentaje de inhibición micelial se calculó utilizando la siguiente fórmula:  $I(\%) = C-T/C \times 100$ , donde: I(%)= Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (radial), C= Medida del crecimiento radial del patógeno en el control y T=Medida de crecimiento radial del patógeno en

presencia del biocontrolador (Toghueo et al., 2016).

**Prueba de micoparasitismo.** Se realizó con el método de placa precolonizada por el patógeno propuesto por Bailey et al. (2008). Dentro de una cabina de flujo, se extrajo (con un sacabocado) un disco de 5 mm de un cultivo joven del patógeno, luego se colocó en un extremo de la placa Petri (90 x 15 mm) con medio PDA y se incubó a 25 °C por 10 días. Por otro lado, se extrajo un disco de 5 mm de diámetro de una colonia joven de hongo endófito y se colocó en el otro extremo de la placa Petri sobre el crecimiento micelial del patógeno (tres placas por hongo endófito), luego fueron incubadas a 25°C por 15 días. Transcurrido el tiempo, se realizó el reislamiento del patógeno; usando un sacabocado se obtuvieron 10 discos de 5 mm de diámetro cerca al punto de inóculo del patógeno, se colocaron cinco discos en cada placa conteniendo medio PDA, y luego fueron incubadas a 25 °C por cinco días. De cada disco, se evaluó el crecimiento del patógeno y del hongo endófito de acuerdo con el siguiente parámetro de evaluación: micoparásito (+) si creció solo el hongo endófito, y no micoparásito (-) si creció el patógeno o ambos.

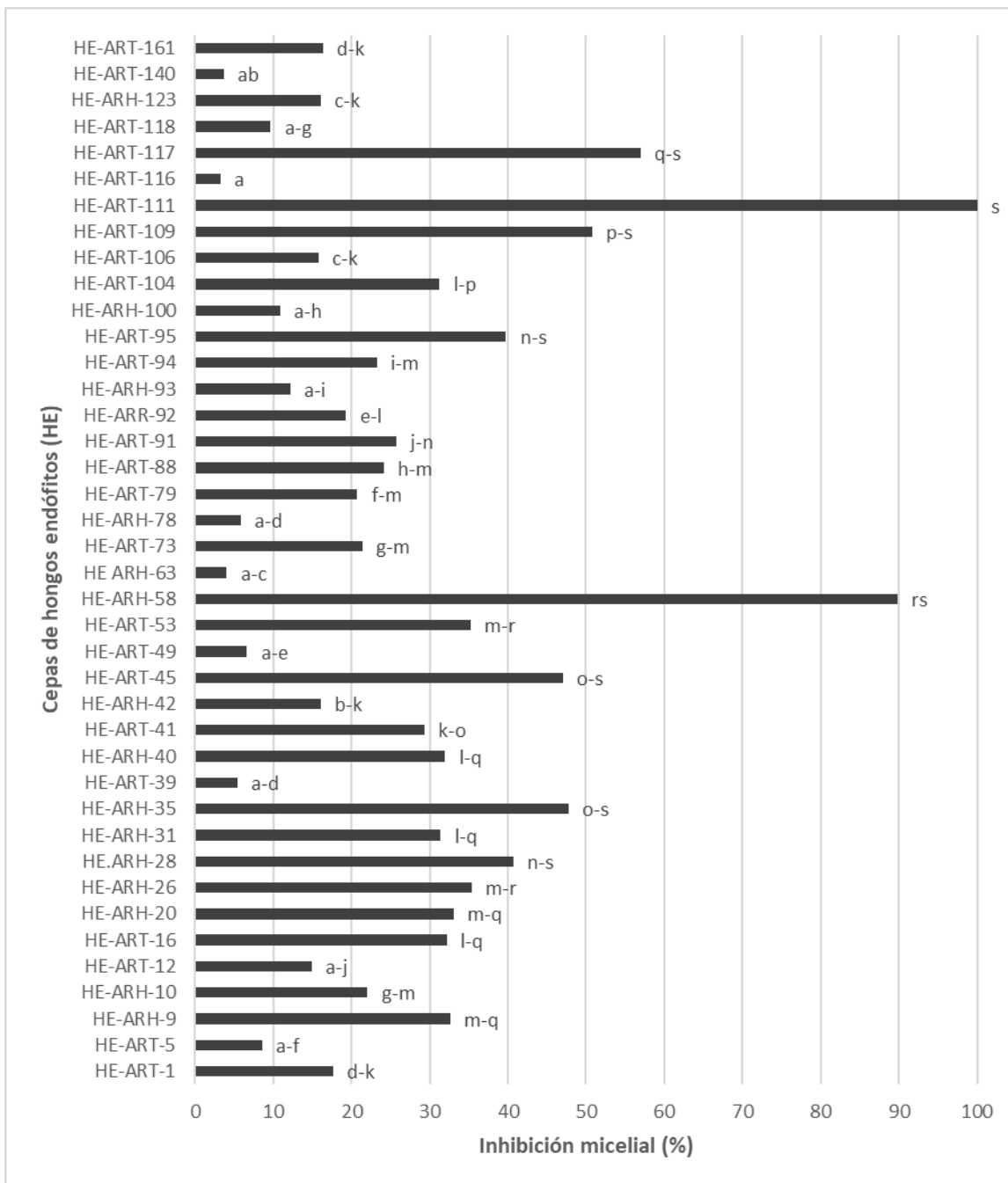
**Análisis estadístico.** El experimento se condujo bajo un diseño completamente al azar con 40 tratamientos (HE) y tres repeticiones, con un total de 120 unidades experimentales. Los datos del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (antibiosis) y porcentaje de colonización (micoparasitismo) fueron analizados utilizando el software estadístico InfoStat, versión 2008 (Univ. Nac. Córdoba, Argentina). Estos datos no cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, por lo que se realizó un análisis de varianza no paramétrico con la prueba de Kruskall Wallis, con un nivel de significancia de 0,05.

## RESULTADOS Y DISCUSION

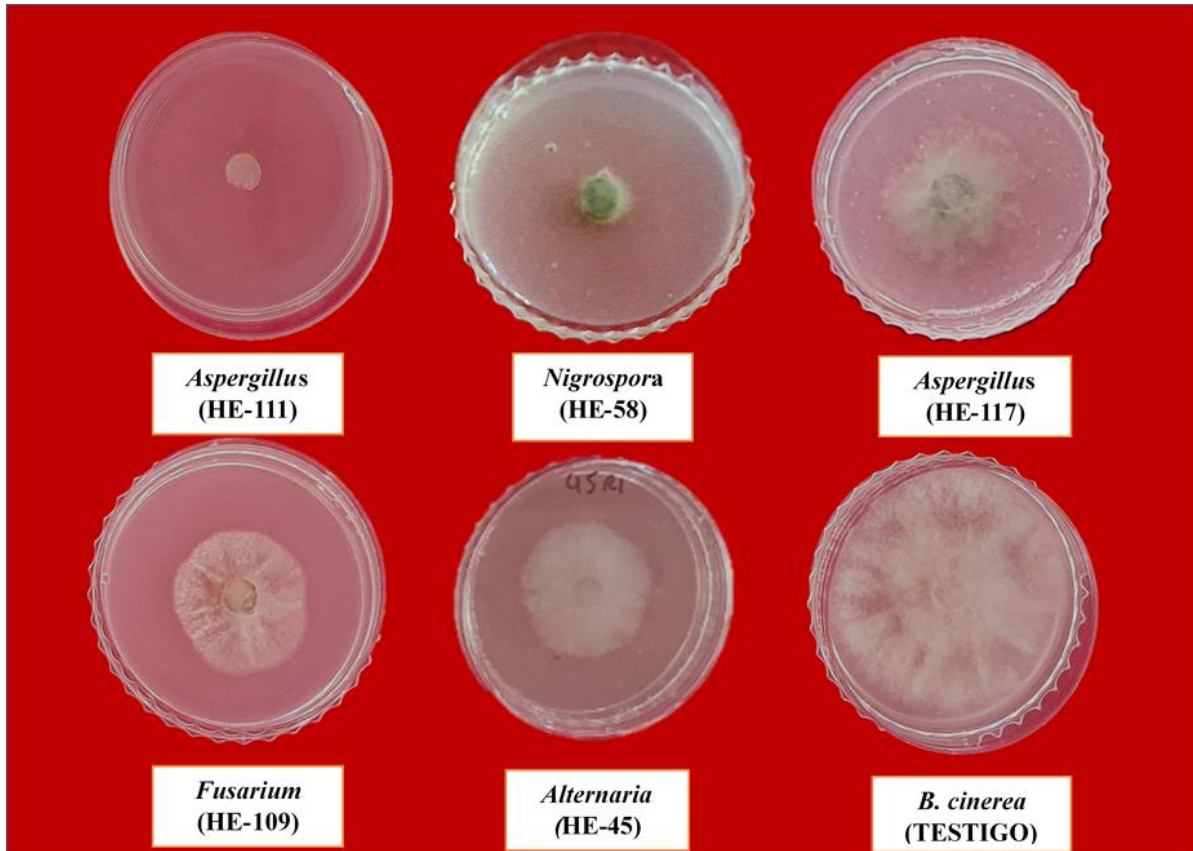
**Antibiosis.** Los resultados mostrados en la Figura 1 indican que los metabolitos secundarios aislados de cepas de hongos endófitos variaron en su capacidad de inhibir el crecimiento micelial de *B. cinerea* con valores de 3,19 a 100 %. La cepa 111 del género *Aspergillus* fue capaz de inhibir completamente el crecimiento micelial de *B. cinerea* (100 %), seguido del género *Nigrospora*

(cepa 58) con 89,82 %; así mismo, *Aspergillus* (cepa 117) y *Fusarium* (cepa 109) con valores mayores al 50 % de inhibición, *Stemphyllium* (cepa 35), *Alternaria* (cepa 45) *Ulocladium* (cepa

28), *Cladosporium* (cepa 95) mostraron valores que variaron de 39,77 a 47,72 % con diferencias significativas entre dichas cepas.



**Figura 1.** Efecto de los metabolitos secundarios de cepas de hongos endófitos sobre el crecimiento micelial de *B. cinerea* en medio de cultivo PDA a las 72 h de incubación. Letras diferentes en las barras indican diferencias significativas entre las cepas de hongos endófitos, evaluadas por la prueba de Kruskal Wallis, con un nivel de significancia de 0,05.



**Figura 2.** Crecimiento de *Botrytis cinerea* en placas Petri (60x15 mm) conteniendo medio de cultivo papa dextrosa agar con 50 % de metabolitos secundarios extraídos de las cepas de hongos endófitos con mayor efecto en la inhibición micelial del patógeno (*Botrytis cinerea*) a las 72 horas de incubación.

Los metabolitos secundarios extraídos de la cepa 116 del género *Cladosporium* mostraron el menor efecto en la inhibición con 3,19 %, al igual que las cepas 63 y 140 con valores inferiores al 5 % de inhibición micelial. La Figura 2 muestra el efecto de los metabolitos secundarios de las cepas de hongos endófitos con mayor y menor inhibición del crecimiento micelial de *B. cinerea* en medio PDA en comparación con el tratamiento testigo (sin metabolitos).

Estos resultados concuerdan con investigaciones realizadas por Bailey et al. (2008) quienes mencionan que las cepas de hongos endófitos aisladas de *Theobroma cacao* variaron en su capacidad para producir metabolitos inhibidores de *Moniliophthora roreri*. Además, existen metabolitos de especies de hongos endofíticos que han mostrado actividad fungicida frente a *B. cinerea* (Bolívar et al., 2020). Es así que, en nuestra investigación, los metabolitos

fúngicos de los endófitos de arándano revelaron tener efectos sobre el crecimiento de *B. cinerea*, se presume por contener antibióticos o toxinas (Howell, 2003). De igual modo, Moreno et al. (2003) reportaron que *Aspergillus giganteus* inhibió fuertemente el crecimiento micelial, así como la germinación conidial de *B. cinerea* debido a la producción y secreción de una proteína (AFP) que contiene propiedades antifúngicas. También, Li et al. (2012) demostraron que los metabolitos aislados de *Aspergillus fumigatus* LN-4, un hongo endofítico del tallo de *Melia azedarach*, mostraron potentes actividades antifúngicas contra hongos fitopatógenos, siendo uno de ellos *Botrytis cinerea*. Por su parte, Kriiaa et al. (2015) mencionan que *Aspergillus tubingensis* CTM 507 GOD inhibe el crecimiento de micelio y la producción de esporas *in vitro* y controla las enfermedades del tomate causadas por

*F. solani* debido a la producción de la glucosa oxidasa (GOD).

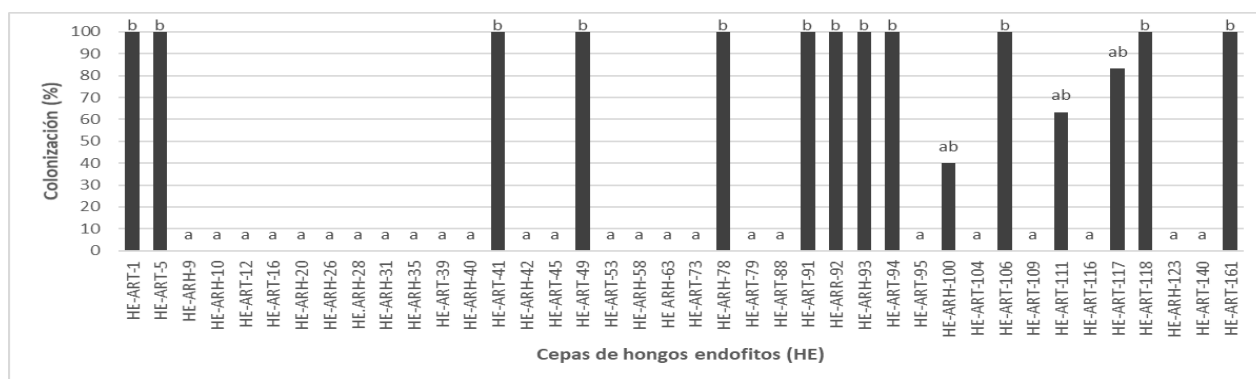
De igual manera, la cepa 58 del género *Nigrospora* tuvo un mayor efecto en la inhibición de *B. cinerea*, similares resultados concuerdan con lo reportado por Al-Badi et al. (2020), en donde el endófito *N. sphaerica* (cepa E1) fue el más efectivo (81,7 %) en la inhibición del crecimiento micelial de *Monosporascus cannonballus*. Por consiguiente, Zhao et al. (2012) aislaron cuatro metabolitos secundarios antifúngicos del hongo endófito *Nigrospora* sp., y demostraron que el metabolito griseofulvina mostraba una clara inhibición del crecimiento de ocho hongos patógenos incluyendo a *B. cinerea*. Por su parte, Chowdhary y Sharma (2017) mencionan que derivados de solanapirona C y fomalactona producidos por *Nigrospora* sp. mostraron inhibición contra el patógeno *Botrytis cinerea*.

En cuanto a *Fusarium* (cepa 109) tuvo un control moderado del 50.8 %, estos resultados concuerdan con el trabajo realizado por Thongkamngam y Jaenaksorn (2017), en donde *Fusarium oxysporum* no patógeno (F221-B) tuvo la capacidad de inhibir el crecimiento micelial de patógenos fungosos de 36 a 56 %. Además Eram et al. (2018) describen que hongos endófitos del género *Alternaria* son capaces de producir metabolitos, como ácido coletotrico, griseofulvina, helvólico y

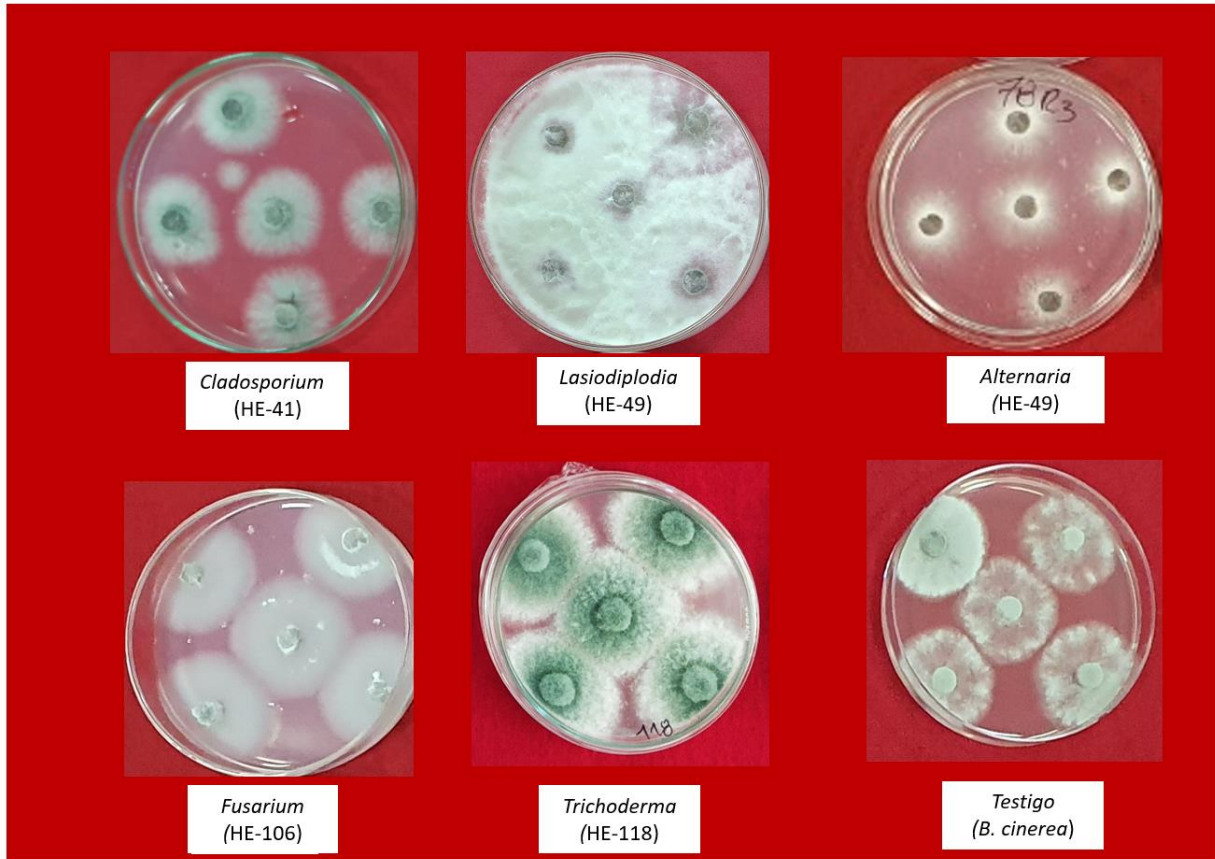
fischexanthone, que son compuestos antifúngicos.

**Micoparasitismo.** La Figura 3 muestra el porcentaje de colonización de cepas de hongos endófitos sobre *B. cinerea*. Doce cepas colonizaron completamente al patógeno y fueron los micoparásitos más agresivos, a tal punto que el patógeno no pudo ser recuperado en las placas Petri. Todas las cepas del género *Trichoderma* (cepas 1, 91, 93, 94, 118 y 161), *Alternaria* (5 y 78) *Fusarium* (106), *Cladosporium* (41) y *Lasiodiplodia* (49) colonizaron al patógeno en un 100 %. Seguindo de las cepas TE-117 y TE-111 del género *Aspergillus* que colonizaron 83,33 % y 63,33 % respectivamente sin diferencias significativas, y una cepa de *Cladosporium* (100) colonizó 40 % en comparación a las demás cepas de los géneros *Alternaria*, *Ulocladium*, *Nigrospora* y *Stemphylium*, no mostraron ser micoparásitas de *B. cinerea*.

La Figura 4 muestra el reaislamiento del patógeno de las placas colonizadas con las cepas de HE, en donde los géneros *Trichoderma*, *Fusarium*, *Lasiodiplodia* y *Cladosporium* mostraron una colonización total. De esta manera, en todos los discos extraídos de las placas colonizadas se desarrolló el micelio de las cepas HE de los géneros mencionados, a diferencia del testigo en donde sólo se desarrolló el patógeno *Botrytis cinerea*.



**Figura 3.** Colonización de hongos endófitos en placas precolonizadas por *B. cinerea* en medio de cultivo PDA. Los valores representan al reaislamiento del patógeno de colonias colonizadas por cepas de hongos endófitos durante 15 días de incubación a 25 °C. Letras diferentes sobre las columnas indican diferencias significativas entre las cepas de hongos endófitos, evaluadas por la prueba de Kruskal Wallis, con un nivel de significancia de 0.05.



**Figura 4.** Reaislamiento de *B. cinerea* de placas precolonizadas con *Trichoderma* (cepas 118), *Alternaria* (5 y 78), *Fusarium* (106), *Cladosporium* (41), *Lasiodiplodia* (49) y Testigo (*B. cinerea*). Los discos de inóculo fueron extraídos de placas Petri colonizadas por los hongos endófitos sobre cultivos del patógeno a los 15 días de incubación a 25 °C.

Bailey et al. (2008) reportaron que cepas de hongos endófitos aisladas de *Theobroma cacao* variaron en su capacidad para parasitar cultivos de *M. royeri*. Por su parte, Ticona et al. (2016) indican que *Trichoderma* colonizó en un 100 % al patógeno *Botrytis fabae* Sard. Del mismo modo, en nuestros resultados se encontraron cepas de hongos endófitos del género *Trichoderma* que colonizaron completamente las colonias del patógeno, así como cepas que no resultaron ser micoparásitos. Esto, probablemente, se deba a lo descrito por Harman (2006), en que los endófitos del género *Trichoderma* pueden controlar el crecimiento de patógenos a través de mecanismos que involucran enzimas quitinolíticas y glucanolíticas que hidrolizan los componentes de las paredes celulares del patógeno. También Seidl et al. (2014) mencionan que esta capacidad de micoparasitar del género *Trichoderma* se debe principalmente a su producción de quitinasa-B, los

cuales contribuyen a la degradación de las paredes celulares de los hongos. Por su parte, Kubicek et al. (2011) mencionan que la degradación de la pared celular del patógeno se refleja en la abundancia de quitinasa y  $\beta$ -1,3-glucanasa que codifica los genes presentes en el genoma de *Trichoderma*, en comparación con otros hongos.

La eficacia del género *Lasiodiplodia* como micoparásito de *B. cinerea*, coincide con estudios realizados por Vásquez et al. (2018), quienes reportaron que cepas del género *Lasiodiplodia* impidieron el crecimiento de *Moniliophthora royeri* y *M. pernicioso*. Igualmente, Kumar (2020) indica que el género *Lasiodiplodia* produce gran cantidad de ácido jasmónico, que es un inductor de resistencia vegetal frente a patógenos. Por su parte, Laredo et al. (2017) demostraron que el ácido jasmónico induce la biosíntesis de varias enzimas involucradas en las reacciones de resistencia de las plantas, entre ellas, las



fitoalexinas como: polifenol oxidasa, calcona sintasa, fenilalanina-amino liasa (PAL) y HMG-Co-reductasa (HMGR). De igual modo, el género *Cladosporium* logró un buen resultado con 100 % de inhibición micelial de *B. cinerea*; en tal sentido, Moricca et al. (2001) mencionan que *Cladosporium tenuissimum* es un potencial agente de biocontrol de patógenos tanto *in vitro* como en campo.

### CONCLUSIONES

Los metabolitos obtenidos del género *Aspergillus* (cepa 111) inhibieron completamente el crecimiento micelial del patógeno *B. cinerea*, seguido de *Nigrospora* (cepa 58) a comparación de *Cladosporium* (cepa 116) que tuvo menor efecto hacia el patógeno en la inhibición micelial. Sin embargo, todas las cepas pertenecientes al género *Trichoderma*, dos cepas de *Fusarium*, una cepa de *Cladosporium* y una cepa de *Lasiidiplodia* resultaron ser micoparásitos agresivos, seguido de las cepas de *Aspergillus* y una de *Cladosporium* (cepa 100) que fueron poco agresivos en comparación de las demás cepas no mostraron ser micoparásitos para *Botrytis cinerea*.

### AGRADECIMIENTO

El trabajo de investigación es parte de los resultados del proyecto de investigación experimental menor – PIEM, el cual fue financiado por la Universidad Nacional de Cañete.

### LITERATURA CITADA

- Abbey, J.A. 2017. Sustainable management of Botrytis blossom blight in wild blueberry (*Vaccinium angustifolium* Aiton). Tesis. Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia. <https://n9.cl/hj1fq> (consulta de julio 8, 2021).
- Aguilar-Luna, J.M.E, S. López-López y J.M. Loeza-Corte. 2021. Susceptibility of fungi, mainly chocolate spot (*Botrytis fabae* Sard.), to gamma irradiation in the faba bean crop (*Vicia faba* L.). *Bioagro* 33(1): 29-40.
- Al-Badi, R. S., T. G. Karunasinghe, A. M. Al-Sadi, I. H. Al-Mahmooli y R. Velazhahan. 2020. In vitro antagonistic activity of endophytic fungi isolated from Shirazi Thyme (*Zataria multiflora* Boiss.) against *Monosporascus cannonballus*. *Polish Journal of Microbiology* 69(1): 1-5.
- Apolonio-Rodríguez, I., O. Franco-Mora, M. L. Salgado-Siclán, J. G. Aquino-Martínez, I. Apolonio-Rodríguez, O. Franco-Mora et al. 2017. Inhibición *in vitro* de *Botrytis cinerea* con extractos de hojas de vid silvestre (*Vitis* spp.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(2): 170-185.
- Bailey, B.A., H. Bae, M.D. Strem, J. Crozier, S.E. Thomas, G.J. Samuels et al. 2008. Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control* 46(1): 24-35.
- Barnett, H.L. y B.B. Hunter. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Macmillan Publishing Co., London.
- Barron, G.L. 1968. *The genera of Hyphomycetes from soil*. Baltimore. The Williams and Wilkins Co. Tulsa, OK, USA.
- Bolívar-Anillo, H.J., C. Garrido y I.G. Collado. 2020. Endophytic microorganisms for biocontrol of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. *Phytochemistry Reviews* 19(3): 721-740.
- Chowdhary, K. y S. Sharma. 2017. Potential of fungal endophytes in plant growth and disease management. *In: D.P. Singh et al. (eds.). Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives: Volume 1. Fundamental Mechanisms, Methods and Functions*. Springer, Singapore. pp. 275-290.
- Dutta, D., K.C. Puzari, R. Gogoi y P. Dutta. 2014. Endophytes: exploitation as a tool in plant protection. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 57(5): 621-629.
- Eram, D., M.K. Arthikala, G. Melappa y G. Santoyo. 2018. *Alternaria* species: endophytic fungi as alternative sources of bioactive compounds. *Italian Journal of Mycology* 47(1): 40-54.
- Harman, G.E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96(2): 190-194.
- Howell, C. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87(1): 4-10.
- Kriaa, M., I. Hammami, M. Sahnoun, M.C.

- Azebou, M.A. Triki y R. Kammoun. 2015. Biocontrol of tomato plant diseases caused by *Fusarium solani* using a new isolated *Aspergillus tubingensis* CTM 507 glucose oxidase: Comptes Rendus Biologies 338(10): 666-677.
15. Kubicek, C.P., A. Herrera-Estrella y V. Seidl-Seiboth. 2011. Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. Genome Biol. 12(40): 1-15.
  16. Kumar, C. G. 2020. Bioprospecting for secondary metabolites of family Botryosphaeriaceae from a biotechnological perspective. In: J. Singh y P. Gehlot (eds.). New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. Elsevier. pp. 167-286.
  17. Laredo-Alcalá, E.I., J.L. Martínez-Hernández, A. Iliná, L. Guillen-Cisneros y F.D. Hernández-Castillo. 2017. Aplicación de ácido jasmónico como inductor de resistencia vegetal frente a patógenos. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 8(3): 673-683.
  18. Leon-Ttacca, B., N. Ortiz-Calcina, N. Condori-Ticona y E. Chura-Yupanqui. 2018. Cepas de *Trichoderma* con capacidad endofítica sobre el control del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) y mejora del rendimiento de quinua. Revista de Investigaciones Altoandinas 20(1): 19-30.
  19. Li, X.-J., Q. Zhang, A.-L. Zhang y J.-M. Gao. 2012. Metabolites from *Aspergillus fumigatus*, an endophytic fungus associated with *Melia azedarach*, and their antifungal, antifeedant, and toxic activities. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60(13): 3424-3431.
  20. Moreno, A.B., A.M. Del Pozo, M. Borja y B.S. Segundo. 2003. Activity of the antifungal protein from *Aspergillus giganteus* against *Botrytis cinerea*. Phytopathology 93(11): 1344-1353.
  21. Moricca, S., A. Ragazzi, K. R. Mitchelson y G. Assante. 2001. Antagonism of the Two-Needle Pine Stem Rust Fungi *Cronartium flaccidum* and *Peridermium pini* by *Cladosporium tenuissimum* *in vitro* and *in planta*. Phytopathology 91(5): 457-468.
  22. Redagricola. 2020. El arándano peruano alcanza el liderazgo mundial. <https://n9.cl/1r45> (consulta de julio 8, 2021).
  23. Romanazzi, G. y S. Droby. 2016. Control strategies for postharvest grey mould on fruit crops. In: S. Fillinger y Y. Elad (eds.). *Botrytis—The Fungus, the Pathogen and Its Management in Agricultural Systems*. Springer International Pub., Cham, Denmark. pp. 217-228.
  24. Santana, K. 2021. Fortalecimiento de la oferta exportable de arándanos frescos al mercado de los Estados Unidos, período 2022. Tesis. Universidad Norbert Wiener. Lima. 174 p. <https://n9.cl/4b71o> (consulta de julio 28, 2022)
  25. Seidl-Seiboth, V., K. Ihrmark, I. Druzhinina, y M. Karlsson. 2014. Molecular Evolution of *Trichoderma* Chitinases. In: V.K. Gupta et al. (eds.). *Biotechnology and Biology of Trichoderma*. Elsevier, Amsterdam. pp. 67-78.
  26. Shao, W., Y. Zhao, y Z. Ma. 2021. Advances in understanding fungicide resistance in *Botrytis cinerea* in China. Phytopathology 111(3): 455-463.
  27. Thongkamngam, T. y T. Jaenaksorn. 2017. *Fusarium oxysporum* (F221-B) as biocontrol agent against plant pathogenic fungi *in vitro* and in hydroponics. Plant Protection Science 53(2): 85-95.
  28. Ticona, N., B. León y J.G.Z. Pari. 2016. Hongos antagonistas nativos de *Vicia faba* L. con capacidad de biocontrol hacia *Botrytis fabae* S. Revista Investigaciones Altoandinas 18(3): 281-288.
  29. Toghueo, R.M.K., P. Eke, Í. Zabalgogea, B.R.V. de Aldana, L.W. Nana y F.F. Boyom. 2016. Biocontrol and growth enhancement potential of two endophytic *Trichoderma* spp. from *Terminalia catappa* against the causative agent of common bean root rot (*Fusarium solani*). Biological Control 96(1): 8-20.
  30. Vásquez, M.V., R.E. Lozano, S.P. Martínez y D.S. del Castillo. 2018. Hongos endófitos foliares como candidatos a biocontroladores contra *Moniliophthora* spp. de *Theobroma cacao* (Malvaceae) en Ecuador. Acta Biológica Colombiana 23(3): 235-241.
  31. Watanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi. Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. CRC Press. Washington, D.C

32. Williamson, B., B. Tudzynski, P. Tudzynski y J.a.L. Van Kan. 2007. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology* 8(5): 561-580.
33. Zhao, J. H., Y. L. Zhang, L. W. Wang, J. Y. Wang y C. L. Zhang. 2012. Bioactive secondary metabolites from *Nigrospora* sp. LLGLM003, an endophytic fungus of the medicinal plant *Moringa oleifera* Lam. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 28(5): 2107-2112.

