



DOCTORADO EN GESTIÓN AMBIENTAL

**DIVERSIDAD MICOLÓGICA DEL CULTIVO DE CHÍA (*Salvia hispánica L*) EN
FINCAS RURALES DE ITAPÚA Y MISIONES, PARAGUAY**

ALICIA BEATRIZ ALBRECHT ENCINA

Encarnación, Paraguay

2019



El Programa de Postgrado Doctorado en Gestión Ambiental Código 14-POS-015 es cofinanciado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología - CONACYT, con recursos del FEEI”.

Institución ejecutora del programa: Universidad Nacional de Itapúa

Alicia Beatriz Albrecht Encina

**DIVERSIDAD MICOLÓGICA DEL CULTIVO DE CHÍA (*Salvia hispánica L*) EN
FINCAS RURALES DE ITAPÚA Y MISIONES, PARAGUAY**

Tesis preparada a la Escuela de Postgrado de la
Universidad Nacional de Itapúa como requisito
parcial para la obtención del título de Doctor en
Gestión Ambiental.

Tutor: Dr. Amado Insfrán.

Encarnación, Paraguay

2019

Diversidad micológica del cultivo de Chia (*salvia hispanica l*) en fincas rurales de Itapúa y Misiones, Paraguay

Esta tesis fue evaluada y aprobada en fecha ___/___/___ para la obtención del título de Doctor en Gestión Ambiental por la Universidad Nacional de Itapúa.

Miembros de la Mesa Examinadora:

Nombres

Firmas

Prof. _____

.....

Prof. _____

.....

Prof. _____

.....

Dedico esta tesis a:

A Dios, por tantas bendiciones recibidas.

A mis padres, doña Benita Encina, a don Juan Albrecht por darme las herramientas necesarias para salir adelante y ser una mejor persona.

Agradezco a:

A todas las personas que de una u otra manera colaboraron en la concreción de este trabajo de investigación, especialmente a;

Al Dr. Amado Insfran por su apoyo constante y buena predisposición.

A la Qca. Farmacéutica Mónica Liliana Albrecht quien ha recorrido este largo camino en forma incondicional hasta llegar a la meta.

A José Lorenzo Lugo Rolón que siempre estuvo a mi lado acompañándome.

Al Ingeniero Marco Maidana Ojeda por su valiosa colaboración.

A la Ingeniera Karina Morínigo y la Bioquímica Cinthia Burgos que siempre están para ayudar.

A la Ingeniera Ambiental Angela Montiel por su ayuda constante.

A la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Itapúa.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por el apoyo constante.

A mis directores por el acompañamiento a que sus docentes sean formados.

A mis amigas/os que estuvieron en todo momento.

"La cosa más bella que podemos experimentar es lo misterioso. Es la fuente de toda verdad y ciencia. Aquel para quien esa emoción es ajena, aquel que ya no puede maravillarse y extasiarse ante el miedo, vale tanto como un muerto: sus ojos están cerrados.."

Einstein en Octubre de 1930

Lista de Tablas

Tabla 1. Definición operacional de variables	75
Tabla 2. Indicadores de logro de objetivos.	86
Tabla 3. Hongos asociados al cultivo de chía en los Departamentos de Itapúa y Misiones en los años 2016, 2017 y 2018.	92
Tabla 4. Porcentaje promedio de colonización de estructuras micóticas micorrízicas en dos regiones de Itapúa y Misiones.	96
Tabla 5. Resultados de análisis de suelo en las dos localidades de Itapúa y Misiones.	99
Tabla 6. Microorganismos identificados en el departamento de Misiones años 2016, 2017 y 2018.	101
Tabla 7. Microorganismos identificados en el departamento de Itapúa años 2016,2017,2018.	104
Tabla 8. Resultados integrales de la investigación.	109

Lista de Figuras

Figura 1. Punto de muestreo en Itapúa	67
Figura 2. Punto de muestreo en Misiones.	69
Figura 3. Diseño de unidades experimentales.	70
Figura 4. Muestreo de plantas en parcela experimental.	70
Figura 5. Análisis filogenético de distancia Bayesiana de cepas de hongos aislados en este experimento.	95
Figura 6. Propiedades fisicoquímicas del suelo antes y después del cultivo, Itapúa.	100
Figura 7. Propiedades fisicoquímicas del suelo antes y después del cultivo, Misiones.	100
Figura 8. Gráfico de variación de temperatura máxima y mínima, Misiones, año 2016, 2017 y 2018.	102
Figura 9. Precipitación promedio de Misiones, años 2016, 2017 y 2018.	102
Figura 10. Promedio de Heliofanía del departamento de Misiones de los años 2016, 2017 y 2018.	103
Figura 11. Promedio de Temperatura en el departamento de Itapúa en los años 2016, 2017, 2018	105
Figura 12. Promedios de precipitaciones en el departamento de Itapúa.	105
Figura 13. Heliofanía del departamento de Itapúa en los años estudiados.	106
Figura 14. Número de Género de Hongos	107
Figura 15. Número de géneros de hongos y la humedad	107
Figura 16. Número de géneros de hongos y heliofanía	108

Lista de Abreviaturas

HMA	Hongos micorrízicos arbusculares
sp	Especies individuales dentro de un género

Tabla de Contenido

Diversidad micológica del cultivo de chia (<i>salvia hispanica l</i>) en fincas rurales de Itapúa y Misiones.....	4
Planteamiento del Problema	6
Pregunta Central de Investigación	8
Preguntas Específicas de Investigación	8
Objetivos	9
General.	9
Específicos.....	9
Viabilidad.....	11
Evaluación de las Deficiencias en el Conocimiento del Problema	11
Delimitación de la Investigación.....	12
Limitaciones	12
Consecuencias de la Investigación.....	12
Historia de la Chía en la alimentación humana	14
Clasificación Taxonómica.....	15
Las características botánicas de la chía	15
Plantas y enfermedades	20
Géneros de Hongos	22
Hongos micorrizicos arbusculares	24
Ectomicorrizas	24
Endomicorrizas.....	25
Características específicas de los Hongos micorrizicos arbusculares	26
Relación HMA- planta	28
Aplicación de HMA	29
Hongos del género <i>Trichoderma</i>	31
Antibiosis.....	31
Promotor de crecimiento	31
Ventajas de <i>Trichoderma</i> y formas de actuación	32

Inconvenientes del uso de <i>Trichoderma</i>	34
Resistencia Sistémica Inducida	34
Aplicación en el suelo	35
Colonización de raíces de las plantas	36
Productos comerciales con <i>Trichoderma</i>	36
Hongos del género <i>Fusarium</i>	37
Relación <i>Fusarium</i> - planta	37
Acción patógena	38
Mecanismos de defensa planta-hongo.....	39
Hongos del género <i>Rhizoctonia</i>	41
Control del patógeno	42
Hongos del género <i>Alternaria</i>	42
Toxinas contenidas en el hongo	43
Hongos del género <i>Curvularia</i>	44
Hongos del género <i>Sclerotinia</i>	45
Hongos del género <i>Beauveria bassiana</i>	47
Hongo del género <i>Collectotrichum</i>	47
Hongo del género Mucor Circinelloides	49
Hongos del género Lasiodiplodia theobromae.....	49
Hongos del género <i>Macrophomina Phaseolina</i>	50
Antecedentes de hongos en otros cultivos agrícolas.....	51
Fusarium en maíz	51
Relación hongo – planta	51
Acción patógena	52
Efectos tóxicos.....	52
Método de control del hongo.....	53
Mecanismo de defensa planta – hongo.....	53
<i>Trichoderma</i> en maíz	54
Relación hongo – planta	54
Acción patógena	54
Método de control del hongo	55

Mecanismo de defensa planta – hongo.....	55
<i>Fusarium</i> en soja	56
Relación hongo – planta	56
Acción patógena	56
Efectos tóxicos.....	57
Método de control del hongo.....	57
Mecanismo de defensa planta – hongo.....	57
<i>Trichoderma</i> en soja.....	58
<i>Fusarium</i> spp en trigo	59
Relación hongo – planta	59
Acción patógena	60
Efectos tóxicos.....	61
Método de control del hongo.....	62
Mecanismo de defensa planta – hongo.....	63
Características físico-químicas del suelo	63
Indicadores de calidad de cultivos.....	63
Temperatura y Humedad	64
Macro y micro nutrientes.....	64
Materia orgánica.....	64
Características del suelo de Itapúa y Misiones (suelo, planta)	71
Interacción y microorganismos	72
Ecosistema.....	73
Identificación de las Variables o Constructos	74
Definición Conceptual de las Variables o Constructos	74
Definición Operacional de las Variables.....	75
Marco Metodológico.....	66
Descripción del área de investigación.....	66
Recolección y transporte de muestras de plantas.....	71
Muestreo de hongos.....	72
Aislamiento y purificación de muestras en laboratorio.....	72

Aislamiento.....	72
Purificación.....	73
Aislamiento de punta de hifa.....	74
Técnica de la cinta adhesiva.....	74
Observación del cultivo microscópico.....	75
Identificación morfológica.....	75
Obtención de DNA.....	77
Análisis filogenético.....	78
Muestreo de suelo.....	79
Materia orgánica determinada por digestión húmica:.....	80
Determinación de fósforo, potasio, cobre y zinc, por el método de Mehlich-1.....	81
La determinación de cationes intercambiables de Ca, Mg, Al y Manganeseo.....	82
La determinación del contenido de azufre por el método del fosfato de Calcio.....	83
Determinación del contenido de hierro por el método del oxalato de amonio.....	83
El contenido de boro en muestra, determinado por el método del agua caliente.....	84
La determinación de la textura aplicando el método Bouyoucos.....	84
El nivel de pH en suelo.....	84
Enfoque de la Investigación.....	85
Diseño de Investigación.....	85
Tipo de Investigación.....	85
Nivel de Conocimiento Esperado.....	85
Instrumentos y Técnicas de Recolección de Datos.....	86
Marco Analítico.....	88
Análisis de Datos y discusiones.....	88
Géneros de hongos presentes del cultivo de Chía (<i>S. hispánica</i>) en fincas rurales de Itapúa y Misiones.....	88
Microorganismos benéficos y no benéficos que se encuentran en el cultivo de Chía (<i>S. hispánica</i>) en Itapúa y Misiones.....	95
Las condiciones ambientales en las cuales se desarrolla el cultivo de Chia (<i>S. hispánica</i>) y su relación con la presencia de hongos en las fincas seleccionadas.....	98

Resultados Integrales de la Investigación	109
Conclusiones	110
Recomendaciones	113
Lista de Referencias	114
Anexos	134

**Diversidad micológica del cultivo de Chia (*salvia hispanica l*) en fincas rurales de Itapúa y
Misiones, Paraguay**

Alicia Beatriz Albrecht Encina

Universidad Nacional de Itapúa – UNI

Alicia Beatriz Albrecht Encina

E-mail: alicciaa2009@gmail.com

Resumen

Diversidad micológica del cultivo de Chia (*salvia hispanica l*) en fincas rurales de Itapúa y Misiones. La chía (*Salvia hispanica* L.) posee incipiente importancia como cultivo agrícola en Paraguay y la presencia de hongos constituye una asociación simbiótica de alta relevancia para el cultivo. Se realizaron experimentos en dos localidades pertenecientes a los departamentos de Itapúa y Misiones respectivamente. El estudio estableció como objetivo el análisis de los hongos presentes en cultivos de Chia (*Salvia hispánica*) en fincas rurales de Itapúa y Misiones. Se realizó la siembra en dos localidades pertenecientes a los departamentos anteriormente mencionados, se extrajeron fragmentos de plantas correspondientes a la muestra, de 0 a 10 cm de profundidad, las mismas se llevaron al laboratorio de Ciencias y Tecnologías de la Universidad Nacional de Itapúa para la determinación de los géneros de hongos presentes, la especificación de la capacidad de realizar beneficio o perjuicio que poseen, y la descripción de las condiciones ambientales que regulan el desarrollo de los cultivos y la relación de estas con los hongos presentes. Se concluyó que estos factores pueden influir en la presencia o no de microorganismos en ambas regiones.

Palabras claves: *Salvia hispanica* L. hongos, estructuras

Abstract

Mycological diversity of the cultivation of Chia (Hispanic sage L.) in rural farms of Itapúa and Misiones. Chia (Hispanic sage L.) has incipient importance as an agricultural crop in Paraguay and the presence of fungi constitutes a symbiotic association of high relevance for the crop. Experiments were performed in two locations belonging to the departments of Itapúa and Misiones respectively. The study established the objective of the analysis of the fungi present in crops of Chia (Hispanic sage) in rural farms of Itapúa and Misiones. Sowing was carried out in two locations belonging to the aforementioned departments, fragments of plants corresponding to the sample were extracted, from 0 to 10 cm deep, they were taken to the Science and Technology laboratory of the National University of Itapúa for determination of the genera of fungi present, the specification of the ability to realize benefit or harm they possess, and the description of the environmental conditions that regulate the development of crops and their relationship with the fungi present. It was concluded that these factors may influence the presence or absence of microorganisms in both regions.

Keywords: Hispanic sage L., fungi, structures.

Diversidad micológica del cultivo de chia (*salvia hispanica l*) en fincas rurales de Itapúa y Misiones

La demanda de cereales por medio de los cuales se potencien las condiciones de salud favorables para el ser humano y se extienda la oferta de alimentos, mejorando la calidad de vida y fortaleciendo la dieta; conlleva a la introducción de una nueva variedad de cultivo, generalmente condicionada por numerosos aspectos, del tipo técnico, comercial y político. La *Salvia hispánica* o chía es una planta herbácea anual de la familia de las Lamiaceae, originaria de regiones montañosas de México y sur de Estados Unidos; se afirmó como uno de los principales alimentos de los pueblos precolombinos. Las semillas contienen células con sustancias mucilaginosas que en contacto con el agua se hinchan, excretando mucílago. La capa de mucílago recubre el pericarpio y la semilla, protegiendo a la plántula en los primeros estadios de la germinación. Esta propiedad de mixocarpia, conjuntamente con la composición química de las semillas hacen de la chía una importante fuente de fibra, proteína y antioxidantes con interesantes propiedades nutricionales, medicinales y de otros tipos (Ayerza, 2007).

Existen diversos parámetros para determinar la calidad de las semillas, los mismos pueden diferenciarse entre fisiológicos o sanitarios, los primeros son aquellos propios de la especie y los segundos se encuentran relacionados a los patógenos asociados a la semilla. De lo anterior se asume la existencia de numerosos microorganismos patógenos, siendo los hongos los de mayor relevancia, estos causan las principales enfermedades en los cultivos agrícolas. El uso de herbicidas selectivos ha demostrado ser una técnica que ofrece grandes ventajas para el control de malezas en diversos cultivos, sin embargo, puede ocasionar problemas si no se aplican en forma adecuada; estos van desde el poco o nulo efecto sobre las malezas, daños al cultivo e invasión de especies resistentes al herbicida.

La estructura del documento se distribuye de la siguiente manera: Inicialmente se presentó el planteamiento del problema, dentro del mismo se identificaron las preguntas de investigación, las cuales orientaron el establecimiento de los objetivos investigativos; dentro del mismo apartado se detallaron la justificación por medio de la cual se sustenta la investigación, además se evaluaron los límites asociados a la deficiencia del conocimiento, se delimitó el campo de estudio, a su vez se expresaron las limitaciones y consecuencias de la investigación.

Posteriormente se desarrolló el marco teórico, en él se fundamentaron las bases bibliográficas del trabajo; las mismas sirvieron de marco conceptual para el análisis de los resultados y el establecimiento de las recomendaciones.

Luego se expresó la metodología de investigación aplicada, describiendo la secuencia y las técnicas utilizadas para analizar las características de las variables, del mismo modo que se detallan las interacciones de las mismas con el área de estudio. Durante el desarrollo del siguiente apartado se presentaron los resultados obtenidos de manera posterior a la aplicación de la metodología correspondiente. Finalmente se perfilaron las conclusiones y las recomendaciones establecidas de manera posterior al análisis de los datos. Se combinaron conocimientos útiles para la determinación y valoración de los resultados. El trabajo concluyó con la apreciación de los créditos otorgados a los autores, cuya producción de información aportó a este trabajo investigativo.

Planteamiento del Problema

La agricultura históricamente ha desempeñado un papel importante en el desarrollo de las sociedades humanas; presuponiendo una relación de creciente necesidad asociada a la producción de alimentos para un planeta con demasiados habitantes (Alvarado-Castillo & Benítez, 2009).

En el Paraguay, el desarrollo agropecuario sostenible está fuertemente vinculado a la interpretación que se haga del ecosistema sobre el cual crece y a la aplicación consecuente de los conceptos adecuados en su manejo. Si no se tiene en cuenta las características propias de cada región y las condiciones ambientales que puedan ocurrir en ellos, su capacidad para la producción de biomasa y los factores que limitan su capacidad productiva en el momento de tomar decisiones sobre su uso, se estará contribuyendo a su destrucción a largo plazo.

En el mencionado contexto el rubro de la chía viene posicionándose en diversas zonas productivas del país, como es el caso de Itapúa y Misiones. En el primer caso este departamento tiene una larga tradición agrícola ya que está considerado como el granero del país. La segunda región viene realizando grandes esfuerzos por incorporar el rubro agrícola. En ambos lugares la presencia del cultivo de chía es una oportunidad productiva de gran expectativa e interés en los agricultores de las zonas mencionadas, Cfr. (MAG, 2016)

El cultivo de la chía (*Salvia hispánica* L) debe enfrentar a malezas, insectos y hongos no benéficos, todo esto puede afectar a la producción de este rubro. En el caso de los hongos presentan comportamientos diversos, activan mecanismos de defensa y tienden a evolucionar con mayor rapidez, para subsistir a los instrumentos de control comúnmente utilizados.

Teniendo en cuenta umbrales de daño producidos por la presencia de estos patógenos, en diversos cultivos tradicionales como la soja, el trigo y también en la chía, es importante estudiar

como las condiciones ambientales, la patogenicidad, los componentes físico- químicos del suelo, así como la presencia de hongos que puedan mejorar la calidad de la rizosfera, puedan de alguna manera también afectar el cultivo de chíá, y por ende a la calidad de la producción.

A partir de lo expuesto anteriormente como la *Salvia hispánica* L es un nuevo rubro en Paraguay, los estudios sobre la misma son escasos, no encontrándose mucha información de cuáles pueden ser los microorganismos benéficos y no benéficos. La diversidad biológica de nuestros ecosistemas, hacen que la variabilidad de los géneros de los hongos sean un punto en el cual debemos enfocarnos, los datos obtenidos por las entidades encargadas al introducir una nueva especie no son suficientes.

Tener en cuenta que se busca la conservación de los suelos, mantener una producción regular, y al mismo tiempo generar interrelaciones de interés investigativo, por asociarse a temáticas como ser la reducción de daños ambientales, la pérdida de la capa vegetal, la afluencia de las aguas, la erosión de los suelos y su sedimentación, la utilización de otros mecanismos de defensa que sean en forma natural, utilizando los propios elementos del suelo , disminuirá significativamente la problemática de usos indebidos de químicos que destruyen la biodiversidad de la misma (Pérez, Saquero, & Beltrán, 2003).

La diversidad del medio natural tiende a aumentar con el paso del tiempo con diversos mecanismos: diversificación de nichos, modificaciones de hábitat, reparto de recursos y la aparición de mecanismos de interferencia entre los seres bióticos y componentes abióticos que conviven próximos, esto influye también la presencia de microorganismos que pueden afectar negativamente al medio que lo rodea (Machado & Campos, 2008)

Cuando se perturba un sistema (como es el caso de los agroecosistemas), todas o alguna de las dimensiones de la diversidad se simplifican: se reducen las especies, disminuyen los

niveles tróficos funcionales y ocurren menos interacciones, produciendo un desequilibrio en la naturaleza, esta situación puede tornarse caótica al pasar el tiempo.

La agricultura del cual los seres humanos toman los productos primarios (como la *Salvia hispánica L.*) y secundarios, es caracterizada por un control progresivo y una intensificación de los procesos biológicos, a fin de incrementar la producción de alimentos y otros productos, sin considerar las consecuencias que esto acarrearía (FAO, 2011).

Ello obliga a pensar sobre el uso que se hace de los recursos naturales para satisfacer las necesidades humanas y en los impactos que ha estado teniendo, así como lo que puede ocurrir al no prever alternativas efectivas, como ser la utilización de microorganismos benéficos para el control de los patógenos disminuyendo el impacto nocivo de las mismas tanto en la calidad, cantidad del producto y del medio natural que lo rodea.

Desde las políticas nacionales o sectoriales involucradas con el sector productor agrícola, ocupadas en la explotación y desarrollo de nuevos cultivos o rubros como la chía a corto, mediano y largo plazo requiere poner en marcha experiencias controladas sobre las semillas con determinadas características biotecnológicas propias y apropiadas en el marco de la productividad de los departamentos de Itapúa y Misiones propiamente, Cfr. (MAG, 2016).

Pregunta Central de Investigación

¿Cuáles son las características asociadas a los hongos presentes en cultivos de Chía (*Salvia hispánica L.*) ubicados en fincas rurales de Itapúa y Misiones?

Preguntas Específicas de Investigación

- ¿Cuáles son los géneros de hongos identificados en cultivos de Chía (*Salvia hispánica L.*) ubicados en fincas rurales de Itapúa y Misiones?

- ¿Cuáles son los hongos benéficos y no benéficos encontrados en cultivos de Chía (*S. hispánica*) ubicados en fincas rurales de Itapúa y Misiones?
- ¿Cuál es la relación entre las condiciones ambientales en las que se desarrolla el cultivo y la presencia de hongos en fincas rurales de Itapúa y Misiones?

Objetivos

General.

Analizar los hongos en cultivos de Chía (*Salvia hispánica*) en fincas rurales de Itapúa y Misiones

Específicos.

- Identificar los géneros de hongos presentes en cultivos de Chía (*S. hispánica*) ubicados en fincas rurales de Itapúa y Misiones
- Especificar los hongos benéficos y no benéficos que se encuentran en cultivos de Chía (*S. hispánica*) ubicados en fincas rurales de Itapúa y Misiones.
- Describir la relación existente entre las condiciones ambientales en las que se desarrolla el cultivo de Chia (*S. hispánica*) y la presencia de hongos, en fincas rurales de Itapúa y Misiones

Justificación

Paraguay como país productor y exportador de materia prima del sector agrícola es un referente a nivel mundial. Actualmente la producción agrícola cobra una vital importancia en los escenarios del comercio internacional, que interesantemente requiere de nuevos productos que cubran la demanda de grandes sectores humanos. Este es el caso de la producción de la chía, que es un rubro de joven tradición a nivel país, pero con un alto potencial de desarrollo tecnológico y económico (MAG, 2016).

La inclusión de un nuevo cultivo como la *Salvia hispanica* exige conocer, detalladamente las características físicas, biológicas y técnicas del mismo, a fin de lograr una aproximación a la adaptación de estos dentro del ecosistema de los departamentos de Itapúa y Misiones de la República del Paraguay.

Son varios los aspectos claves para obtener una buena producción que van desde la calidad del suelo sobre el cual estará asentado el cultivo. El manejo apropiado del mismo y el uso racional de agroquímicos que buscan causar efectos positivos como el equilibrio biológico. Es sabido que un suelo con desequilibrio biológico conlleva a la proliferación de microorganismos patógenos que atacan a los cultivos y a la disminución de otros microorganismos benéficos.

La calidad de un suelo depende de la actividad biológica que existe en el mismo, en un gramo de suelo viven cientos de millones de microorganismos entre ellos: bacterias, hongos, protozoarios, nematodos y otros.

Es fundamental determinar las interacciones producidas entre el cultivo y el medio en el cual desarrollará todo su potencial genético; y por ello se deben caracterizar las influencias registradas teniendo como referencia la información respecto a los posibles problemas ambientales que podrían ocasionar, entre los que se mencionan patógenos, contaminación del suelo, agua, aire y alteraciones a la biodiversidad.

Los responsables de los cultivos deben asumir interés colectivo respecto al desarrollo de prácticas de mitigación, en la búsqueda de reducir el impacto negativo de las actividades agrícolas ante el medio ambiente.

Viabilidad

El tema de la presente investigación contó con suficiente acceso de información primaria tanto en la literatura convencional como en los formatos virtuales de uso extendido en la actualidad.

El estudio en cuestión se realizó en parcelas productivas del rubro de la Chía. Para el efecto se recurrió a la ayuda de laboratorios especializados a nivel nacional e internacional.

El trabajo en cuestión se realizó en mediano plazo, para la ejecución de los procesos de investigación se previeron tiempos especiales, ya que los resultados presentados favorecieron las condiciones orientadas al análisis de las interacciones producidas entre los géneros de hongos reconocidos y el ecosistema correspondiente a los departamentos objetos de estudio.

La viabilidad también estuvo presente en la administración de insumos laboratoriales, en la participación de especialistas, en cierta intervención del Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT); al igual que las autorizaciones ofrecidas por el Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas (SENAVE); como ser también por la difusión de los resultados obtenidos en la investigación.

Evaluación de las Deficiencias en el Conocimiento del Problema

Este trabajo investigativo sobre la diversidad micológica del cultivo de chia requiere de marcos de referencia técnico científicos provenientes de experiencias llevadas a cabo a nivel nacional y regional, ya que existe suficiente aporte científico, pero de orden internacional.

Los ensayos realizados respondieron a la necesidad de brindar respuesta ante los inconvenientes asociados a las interacciones manifestadas entre el cultivo y los ecosistemas locales; priorizando aspectos ambientales, se consideró a la identificación de los géneros de hongos una herramienta útil en cuanto al estudio de las especies desarrolladas.

La temática de la chía desafía actualmente los estudios locales, referidos a la diversidad y presencia de hongos.

La presencia de la *Salvia Hispanica L.* en los departamentos de Itapúa y Misiones aún no moviliza con suficiente fuerza a los sectores estudiosos de las interacciones ecológicas, debido a la poca fuerza productiva que presenta el rubro mencionado.

Delimitación de la Investigación

La investigación correspondió a la línea de impacto ambiental urbano, industrial y rural. Fue realizada en los departamentos de Itapúa y Misiones (zonas de producción de la chía), república del Paraguay en el periodo comprendido entre el año 2016 a 2018.

Para este trabajo desde lo metodológico se consideró un enfoque cuantitativo con diseño no experimental del tipo transversal de carácter descriptivo, recolectados en un espacio de tiempo previamente establecido, con el objeto de describir y analizar las variables en el intervalo definido.

Limitaciones

Las limitaciones propias de esta investigación se asociaron a la escasa experiencia de la investigadora en el área fitopatológica, así también los costos elevados que presentaron los análisis moleculares realizados en el exterior (México), al igual que la inseguridad jurídica a nivel nacional, la cual se refiere a las escasas garantías ofrecidas por el estado de derecho.

Consecuencias de la Investigación

El presente trabajo se ha desarrollado dentro del marco ético exigido para responder a los criterios de validez y confiabilidad de la investigación científica. En este contexto, los datos obtenidos fueron utilizados con fines eminentemente investigativos.

Con referencia a las consecuencias de la investigación, donde se tienen en cuenta los aspectos éticos, primeramente se ha comunicado y solicitado las autorizaciones correspondientes para realizar el trabajo de campo, luego se procedió al reconocimiento de las fuentes, derecho del autor.

A sí mismo se tuvo el consentimiento voluntario, por escrito, de los participantes (productores de chía de Itapúa y Misiones) de la investigación, además el acceso a los datos laboratoriales, siempre con la asistencia técnica de los profesionales del área agrícola.

Marco Teórico

Antecedentes de los cultivos de Chía

Historia de la Chía en la alimentación humana

Hace dos mil seiscientos años atrás, la humanidad encontró en la chía un alimento de gran potencial. Fue así que, se inició su cultivo de manera doméstica. Esto se remonta a los antiguos pueblos originarios de México. Se sabe que antes de las expediciones conquistadoras, la chía ya era un alimento indispensable para las mencionadas civilizaciones. Estudios muestran que tan grande era su importancia que su cultivo ocupaba un lugar de preponderancia económica, que solamente era superado por los porotos o frijoles (*Phaseolus vulgaris*) y el maíz (*Zea mays*) (Centurión, 2018).

En los comienzos su recolección, es decir, de las semillas, era realizada a partir de especímenes silvestres, hasta que algunos pueblos originarios de México domesticaron la mencionada planta. De esta forma se dio inicio al cultivo de la chía propiamente (Centurión, 2018).

Era tan grande el cultivo que se sabe llegaba a más de 1500 toneladas por año. También se sabe que era empleada como sustento para la ofrenda de los dioses y para la producción de aceites, que eran utilizados para pinturas corporales y para la decoración de utensilios y paredes de las viviendas. La revisión histórica muestra, además que esta semilla y sus brotes eran ofrendados a la diosa del maíz (Vitali, Mazzei, Montero, & Vesprini, 2017).

Un documento conocido con el nombre de *Codex Florentinus* del fray Bernardino de Sahagún, que realiza una transcripción de la historia general de lo que ocurría en México – conocido por aquel entonces como Nueva España - describe con precisión la importancia que

revestía la chía como cultivo en la dimensión económica de los pueblos originarios de América pre colombina (Centurión, 2018).

Este Codex narra las tareas de producción, almacenamiento, comercialización y los diferentes usos que se le otorgaba a la mencionada semilla.

Clasificación Taxonómica

La chía pertenece al reino *Plantae*, correspondiente al subreino *Tracheobionta*. Su división es *Magnoliophyta*. Como tal pertenece a la Clase *Magnoliopsida*. Esta planta tiene Sub clase denominada *Asteridae*; que es del Orden de las *Lamiales* de la familia *Lamiaceae* (Almendariz, 2012).

Las características botánicas de la chía

La Salvia hispánica –chía-, corresponde a la familia de las mentas (*Lamiaceae*). Por sus características botánicas es una hierba de crecimiento anual; su altura ronda el metro y, metro y medio (Almendariz, 2012).

La raíz de la chía es fibrosa y bien desarrollada. Está formada por una raíz vertebral o principal que está muy ramificada. Las hojas de la chía se presentan opuestas, sus bordes son aserrados, el pecíolo con unos 40 milímetros de largo aproximadamente. Tiene poca pubescencia blanca y muy corta. Miden entre ochenta a cien milímetros de largo y unos cuarenta a sesenta milímetros de ancho, con sus bordes aserrados, tienen un pecíolo de hasta cuarenta milímetros de largo, poca pubescencia blancuzca y muy corta, y miden de ochenta a cien milímetros de longitud y de cuarenta a sesenta milímetros de anchura (Fuentes, 2016).

Con relación a su tallo puede señalarse que son muy ramificados con una forma cuadrangular, con pubescencias de carácter corto y de coloración blanca. Esta planta tiene una floración que se

produce en espigas terminales, se encuentran en grupos protegidos por pequeñas brácteas con extensas extremidades terminadas en punta. (Peiretti, 2010)

El pedúnculo de la *S. hispánica* es corto, mientras que el cáliz es persistente con forma de pequeño tubo, abultado, con estrías, con bello blanco; posee tres dientes muy agudos con uno más largo que los restantes dos. Tiene un diámetro parecido al de los otros dos juntos. La corola de la chía es de aspecto tubular, de una coloración azulada, con cuatro estambres, de estos cuatro estambres dos son grandes y estériles (Peiretti, 2010).

En esta flor su ovario es discoideo y el estigma bífido. Los estambres y sus aspectos, como la coloración y la forma de la mencionada flor de la chía, así como la presencia de un disco nectarífero, señalan que la chía es posiblemente alogámica, es decir, que transfieren polen de la antera de la flor al estigma de las flores de una planta genéticamente diferente y que también es entomófila, es decir que es polinizada por los insectos (Centurión, 2018).

La chía tiene semillas que son ovaladas, muy suaves y de aspecto brillante. Tienen un color negro y grisáceo, presentando algunas manchas con formas irregulares en tono rojo oscuro. Estas semillas están en grupos de cuatro y tienen un largo de uno y medio a dos milímetros (Almendariz, 2012).

Requerimientos edafoclimáticos

La *S. hispánica* regularmente necesita un suelo con humedad que le permita germinar. Cabe señalar que una vez que las plántulas se han establecido demuestra un comportamiento bueno con cantidades limitadas de agua. Los estudios muestran que con solamente 400 mm de precipitaciones, o con precipitaciones que llegan a 1 200 mm también tiene buen desempeño (Berne, 2017).

Para la chía la luz es un factor muy importante, debido a que la planta es sensible durante el lapso del día. La estación de crecimiento se asocia a las condiciones proporcionadas por la zona involucrada en el cultivo (Peiretti, 2010).

La temperatura ideal oscila entre una mínima de 11°C y una máxima de 36°C, del mismo modo los requerimientos de humedad relativa rondan entre el 40 y 70% (Almendariz, 2012). Con relación a los estudios que corresponden a las observaciones de campo, señalan que la Salvia hispánica crece bien en los suelos con amplia variedad de nutrientes. Es un cultivo que agrada de estar en suelos arenosos-limosos con buen drenaje (Buol, Hole, & McCracken, 2016).

Ciclo vegetal de la Salvia hispánica

La chía es un cultivo que tiene una facultad de germinación que se mantiene durante un periodo de cinco años. La recomendación al respecto de la germinación es que no se supere los dos años, debido a que, con el paso del tiempo, disminuye su capacidad germinativa (Fernández, 2018).

Con relación a la ramificación, esta se produce entre los 30 a 40 días, esto depende de la altura en que se encuentre sembrada, aparecen las primeras espigas alrededor de los 60 días, junto a estas espigas brotan las inflorescencias. La chía muestra signos de maduración a los 120 días, aproximadamente, esto se advierte a través de su coloración en tono café que aparece en las espigas (Fernández, 2018).

Características de la labranza de la *Salvia hispánica* L.

Para el cultivo de la chía es necesario contar con un suelo mullido, que esté limpio de malezas o malas hierbas. El terreno debe estar bien desmenuzado. Estas propiedades permiten que las labores sean ejecutadas con precisión, además de tener en cuenta la época en que deben ser realizadas (García, Martínez, & Torres, 2012).

Es fundamental realizar la desinfección de las semillas. Esto se hace con la aplicación de productos químicos que son aplicados, que es el caso de *malathion* en polvo, que puede ser usado en una proporción de 100 gr/10Kg de semilla de chía. La semilla de la chía debe tener un porcentaje no menor al 80% de germinación, respectivamente. La siembra la *Salvia hispánica* resulta propicia al término del invierno, debido a la necesidad y los requerimientos de agua que conllevan su desarrollo vegetativo (Berne, 2017).

Cuando se ha decidido que la siembra sea en surcos, es decir, que sea a chorro continuo, los surcos se separan 60 cm uno de otro. En cuanto a la siembra mecanizada se realiza con maquinaria de chorro fino, que tiene un chorro continuo en hilera, para el efecto es necesario que la distancia sea de **0.60 m** a una profundidad de 3 cm, respectivamente (Peiretti, 2010).

Enfermedades y plagas que atacan a la chía

La *Salvia hispánica* tiene una característica peculiar, es capaz de elaborar un aceite que permite repeler a ciertas plagas, caso que ha llevado a mostrar que no se ha encontrado ni una sola plaga, como así también enfermedades en la mencionada planta. Es un cultivo de mucha resistencia a las enfermedades y plagas (Centurión, 2018).

Fisiopatías

Es muy importante señalar que la *Salvia hispánica* no es un cultivo que resista a las intensas heladas. De igual manera, la chía no es capaz de resistir intensas y continuas lluvias. Estas situaciones que conllevan un exceso de humedad perjudican al cultivo, ya que los encharcamientos y la presencia de los suelos pesados no le favorecen. Este es un cultivo que requiere poca agua (Fuentes, 2016).

Hasta el momento, la chía no ha tenido algún tipo de mejora genética, ya que se trata de un cultivo redescubierto. El rendimiento por hectárea es relativo, se ha encontrado entre 1200 Kg/ha

y más aún, incluso su rendimiento llega a mínimos como 450 Kg/ha. Todo dependerá de factores múltiples (Almendariz, 2012).

La chía tiene múltiples fuentes nutricionales de gran valor para la alimentación humana por ser fuente de Omega 3, también se encuentran proteínas, fibra y antioxidantes.

Para cosecharla se requiere de máquina cosechadora que esté combinada con cabezal de molinete. Según especificaciones técnicas, luego de la cosecha la ventilación del grano es aconsejable realizarla mediante ventilaciones no mayores a 40°C, debido a que si es superior la temperatura puede causar daños a los componentes de proteína que contiene la salvia hispánica (Martín, Rivera, & Pérez, 2013).

Para la conservación de las semillas de chía hay que considerar que el producto debe estar en un lugar seco, con una humedad del 60% relativa ambiente. Es recomendable estacionar el grano a una humedad del 13%, respectivamente (Vitali, Mazzei, Montero, & Vesprini, 2017).

Características del cultivo de *S. hispánica* L.

Dentro de las características se menciona que el 50%, que son partículas, tienen un cuerpo menor a 2.5 mm. Esto permite una mejor distribución en el terreno. Al respecto la porosidad sufre una variación de 40% y 50% y la densidad estimativamente real se encuentra alrededor de 0,35 y 0,45 gr por centímetro (Madriz, 2012).

El pH neutro aumenta el poder amortiguador, esto permite una mejora de la estructura y una regulación de la temperatura, así también minimiza la fijación del fósforo por la arcilla. El suelo se descontamina por la biodegradación de los agrotóxicos, básicamente (Ramírez, 2015).

Se evidencia una mejoría de las propiedades químicas, por cuanto evita la pérdida del nitrógeno. Esto favorece la movilización de K, Ca, Mg, S y P, y otros elementos menores (Ramírez, 2015).

Composición de la semilla.

La chía es una semilla oleaginosa que además de su alto contenido de Omega-3 presenta en su composición otros componentes de gran interés para la nutrición humana, como la fibra, las proteínas, los antioxidantes, las vitaminas y algunos minerales, estas semillas tienen un gran contenido de proteínas que varían entre 19 a 27 g/100g, frente a otras semillas de consumo habitual como es el caso de trigo, maíz y arroz. Respecto al contenido de materia grasa (Omega 3), los valores reportados fluctúan entre 30.0 y 33.5 g/100g. (Fernández, 2018)

La semilla de chía también contiene fibra, calcio (entre un 2.5% a 3%), hierro, magnesio (0.6% a 0.8%), manganeso (340 a 470 ppm), zinc (250 a 280 ppm), fósforo (2.3 % a 2.5%), cobre (50 a 68 ppm), molibdeno, vitamina A, tiamina (B1), niacina y riboflavina. (Ramírez, 2015).

Plantas y enfermedades

La enfermedad puede entenderse como una interacción dinámica entre un patógeno, un hospedante y el medio ambiente. Esta lleva a que el mencionado hospedante manifiesta modificaciones o cambios anormales de tipo morfo-fisiológico (Fuentes, 2016).

Según lo detallado por ciertos autores, los microorganismos generan infecciones en las plantas, reconociéndose patógenos como los hongos, las bacterias, los nematodos, los protozoarios flagelados, los virus y viroides (Berne, 2017).

Generalmente toda infección se debe a una respuesta que se da de manera visible o de forma invisible con relación a las células y los tejidos de una planta a un agente de carácter infeccioso o a un elemento no infeccioso, esto resulta en cambios no benéficos en la forma, en las funciones o en la integridad del vegetal (Madriz, 2012). Se observan alteraciones en la formación, el uso de nutrientes, la disponibilidad de agua y la apariencia de la planta infestada, en comparación con otras en condiciones de sanidad.

La chía es un cultivo que suele abarcar los meses de diciembre y enero. Las plantas pueden alcanzar los dos metros de altura. Si se llegara a sembrar en los meses de febrero y abril su promedio de altura apenas supera el metro (Centurión, 2018).

En Paraguay por sus características genéticas la altura promedio de una planta de chía oscila entre el metro a metro setenta (Centurión, 2018).

Las plagas que la chía padece suelen aparecer después de la siembra, estas plantas pueden sufrir el ataque de hormigas y otros insectos.

Suele observarse el cultivo de la chía el ataque de langostas apenas iniciado el crecimiento de las mismas. Con relación a otras plagas como los pulgones no se han detectado mayormente ataques importantes. Así también enfermedades causadas por elementos fungosos o virósicos han sido en menor escala (Fuentes, 2016).

La chía es un cultivo que requiere el control de malezas que permitan a su vez el control de hormigas e insectos para los cuales pueden utilizarse productos naturales que son en esencia insecticidas y fertilizantes. Por las características que presenta este cultivo, es decir, que aún no presente el ataque de plagas y enfermedades, se puede mencionar que es un producto de carácter inocuo (Fernández, 2018).

La cosecha de la chía se inicia alrededor del cuarto mes de la siembra, de acuerdo a la madurez de las mismas. Es aconsejable no extenderse en el tiempo, porque de tal forma las semillas maduran y se caen (Almendariz, 2012).

El cultivo de chía suele darse en pequeñas superficies, haciendo que su cosecha sea intensa debido a que se realiza en forma manual en algunos casos. Para este efecto se golpea la planta de la cual caen las semillas (Centurión, 2018).

El desarrollo de las semillas de chía se da en forma de ramillete que normalmente está en floración, aunque un veinte por ciento de ese largo del ramillete suele mantenerse en estado vegetativo. Es por ello que las condiciones de cosecha y otros muestran un producto de color amarillento (Fernández, 2018).

Cuando este color amarillento aparece, es un indicador para el productor para que inicie la cosecha. En los ramilletes debe observarse un ochenta por ciento de la coloración mencionada, así también la presencia de cápsulas en los ramilletes, conteniendo estas alrededor de tres a cuatro semillas respectivamente (Padilla, 2015).

El rendimiento de la chía como cultivo extensivo suele alcanzar seis cientos kilogramos por hectárea en el Paraguay. Son mercados de interés para este cultivo Argentina y algunos países europeos. Actualmente hay empresas nacionales interesadas en el acopio de la chía (Almendariz, 2012).

Este producto noble y de buen rendimiento en el país genera oportunidades de transacción en mercados como Argentina y Europa, generando así una dinámica comercial versátil gracias al cultivo de chía (Centurión, 2018).

Géneros de Hongos

Por lo general los hongos se asocian a la imagen representada por aquellos en forma de sombrilla, visualizados en los campos. No obstante, en esta investigación los de interés, se vinculan a aquellos no observables a simple vista, denominados hongos microscópicos; los cuales se desarrollan en el suelo y la superficie de las plantas (Centurión, 2018).

Teniendo estilos de vidas muy variados; pueden vivir en el suelo desintegrando la materia orgánica, o bien, pueden establecer relaciones benéficas o antagónicas con las plantas, animales, insectos, otros hongos y bacterias. Mantener sus interacciones con los organismos en los que

viven y con su ambiente es muy importante para la estabilidad de los ecosistemas. Estos seres imperceptibles al ojo humano, juegan un destacado papel en los cultivos: algunas especies pueden convertirse en peligrosas plagas, mientras que otras pueden ser aliadas de los productores y ayudar a controlar las dificultades (Centurión, 2018).

Los cambios producidos en el ambiente al transformar ecosistemas naturales en espacios de cultivo de plantas, denominados agroecosistemas, causan un fuerte impacto en la dinámica de los organismos. En el caso de los cultivos con fines alimenticios se vuelven plaga y causan pérdidas económicas. Los diversos hongos microscópicos, que dañan las plantas cultivadas y reducen su capacidad alimenticia, son denominados patógenos, pudiendo a su vez producir hormonas que favorecen el desarrollo de las plantas (Avalos, 2010). Por su parte existen géneros que no afectan a las plantas sino a otros hongos que sí lo hacen, así como a insectos que dañan los cultivos. Estos hongos se consideran microorganismos benéficos que pueden incluirse en un programa de manejo integral de plagas. Cabe mencionar que el manejo integrado de plagas comprende la combinación de varios métodos sociales, ambientales y económicamente viables para el control de plagas (Cisneros, 2010). En la interrelación de hongos benéficos alguno de los grupos asociados se ven necesariamente desfavorecidos por el crecimiento del otro, por lo que se les llama grupos antagónicos.

Los mismos se encuentran favorecidos por condiciones de humedad y temperatura elevada, posibilitándose la pérdida de parte de la producción. El género *Colletotrichum* por su parte causa necrosis en hojas jóvenes, flores y frutos, pero el daño más fuerte se presenta durante la etapa de floración y fructificación, pudiéndose registrar pérdidas mayores al cincuenta por ciento de la producción (Salazar, Hernández, Tapia, & Gómez-Alpícar, 2012). Por lo general el manejo de las enfermedades se basa en la aplicación de fungicidas en combinación con algunas

prácticas culturales, como extraer el tejido dañado. Con frecuencia es común tener daños significativos después de la cosecha o detectar la aparición de cepas de hongos resistentes a los fungicidas de mayor uso, además de los problemas ambientales que causan las sustancias químicas. Diversos hongos interactúan antagónicamente con los hongos patógenos, pudiendo ser utilizados para generar propuestas sustentables de manejo. El control biológico debería funcionar de forma natural, pero algunas prácticas agrícolas, como la aplicación de fungicidas, herbicidas y desinfección de suelos, rompen este equilibrio dinámico y favorecen el desarrollo de los hongos patógenos; incide en la reducción de la severidad de una enfermedad (Santos, Diáñez, de Cara, Camacho, & Tello, 2012).

Hongos micorrizicos arbusculares

Las raíces de los vegetales pueden ser colonizadas por diversas especies de hongos, sean estos superficiales o internos. Dicha asociación de un hongo filamentoso con la raíz de una planta recibe el nombre de micorriza. El término aplica a las relaciones establecidas entre hongos y raíces de las plantas. Son posibles todos los grados de interdependencia y de especificidad; algunas especies de hongo sólo pueden asociarse con una sola especie de vegetal.

Las micorrizas se clasifican en dos grandes grupos, según las hifas de los hongos permanezcan en el exterior de la raíz (ectomicorrizas) o penetren en el interior (endomicorrizas).

Ectomicorrizas

Pequeñas, generalmente carnosas y en que las radículas de la planta huésped pueden llegar a desaparecer en favor de estructuras engrosadas de formas características y presentan colores variados, los más reconocidos son el gris, blanco, el rojo, el negro y el amarillo. El micelio del hongo sólo penetra parcialmente los espacios intercelulares de los tejidos corticales sin penetrar dentro de las células.

La asociación puede afectar a la totalidad de las raíces o sólo a una parte, y en una misma planta puede coexistir más de un tipo de hongo, que se pueden distinguir por su distinta coloración. Se conserva la individualidad, aunque hay cambios morfológicos externos e internos.

Endomicorrizas

Presenta escasez de pelos absorbentes, las raíces jóvenes presentan opacidades y son más carnosas. El micelio penetra y se instala en el interior de las células del parénquima de la raíz y en su interior. Aparecen en diversidad de plantas, herbáceas, leñosas, etc. Las más especializadas son simbioses de Ericáceas, Orquidiáceas y Gencianáceas, aunque se presentan en algunos miembros de casi todas las familias de Angiospermas y en algunos Pteridófitos y Briófitos (Medina, 2010).

Entre los hongos implicados en la formación de las endomicorrizas se encuentra la familia de las Endogonacias, constituida por hongos que sólo pueden vivir en simbiosis con raíces de plantas superiores. Penetran en las células del parénquima radicular y forman unas formas arbustivas que sirven para intercambiar sustancias, y vesículas, ricas en lípidos de reserva, constituyendo las micorrizas endotróficas vesículo-arbusculares, que se encuentran en un 90 % de las plantas superiores y en muchos vegetales inferiores. Estas micorrizas tienen un gran papel en la agricultura por su capacidad de captar y acumular nutrientes y transferirlos a las plantas micorrizadas. El hongo, a su vez, obtiene glúcidos y factores de crecimiento sintetizados por las plantas. Estas micorrizas crecen en relación estrecha con gran variedad de cereales, hortalizas, forrajes, etc., a los que permiten un incremento de rendimiento en su cultivo por su capacidad aumentada de absorción de nutrientes (Medina, 2010).

Los hongos micorrízicos arbusculares, son aquellos organismos del suelo que viven simbióticamente con la mayoría de plantas (Medina, 2010). Estos aportan beneficios,

proporcionando defensas respecto a las plantas no micorrizadas, ya sea facilitándole a la planta la toma de nutrientes de baja disponibilidad o de poca movilidad en el suelo, evitando así la acción de microorganismo patógenos en la raíz, aumentando de este modo la tolerancia de la planta a condiciones de stress abiótico en el suelo.

La simbiosis entre el hongo y la planta conlleva a una secuencia de etapas de reconocimiento causando cambios tanto morfológicos como fisiológicos en los dos organismos que interactúan. Desde la óptica de la biotecnología el uso de los microorganismos es de gran importancia, requiriéndose el conocimiento de los mismos, sobre todo la identificación de las condiciones físico-químicas que favorecen su proliferación y las características de cada género en particular (Medina, 2010).

Considerando la respuesta establecida entre los hongos micorrizicos arbusculares y los hospederos, se identifican condiciones edáficas del suelo, especificaciones del metabolismo de las plantas, la constitución de la raíz y las estrategias ecológicas implementadas por los hongos. El uso de HMA (hongos micorrizicos arbusculares) en procesos agrícolas contribuye a mejorar el nivel nutricional de la planta, pero la condición de monocultivo en los agroecosistemas, puede ocasionar una disminución en la diversidad de los mismos y como consecuencia estos microorganismos podrían estar limitando las condiciones de los hospederos (Perez, Rojas, Montes, & Donicer, 2011).

Características específicas de los Hongos micorrizicos arbusculares

Constituyen microorganismos del suelo que forman simbiosis con el ochenta por ciento de las plantas terrestres, conformando arbusculos y vesículas en algunas especies, así como hifas en el interior de las células corticales de las plantas que colonizan. Se encuentra distribuida en todos los ecosistemas, pudiendo ser muy heterogénea en un mismo sitio en cuanto a variedad y

cantidad, lo que es un requisito importante para que la planta obtenga el máximo beneficio de la asociación (Ruiz, Rojas, & Sieverding, 2011). Esta asociación simbiótica entre el hongo y la planta, actúa como un complemento de la raíz de la planta en la toma de nutrientes, especialmente en la absorción de fosfórica, aumentando la tolerancia a condiciones de stress abiótico, mejorando la calidad del suelo, fijando el contenido de nitrógeno y aumentando en la diversidad y productividad de las plantas en un ecosistema determinado.

Nutricionalmente la absorción de fosforo ocasionado es el principal beneficio de esta especie de hongos. El fósforo al no ser un elemento limitante en el suelo, su simbiosis puede llegar a ser reducida o hasta inhibida si se encuentran altos niveles. Resulta importante su actuación en la eficiencia del suelo respecto a la captación de nutrientes, pudiéndose reducir de este modo los problemas asociados a los niveles de contaminación, por el exceso de fertilizantes químicos (Alvarado, Dasgupta, Ambriz, Sánchez, & Villegas, 2011).

La diversidad de las comunidades de HMA tiende a reducirse en ecosistemas naturales transformados a agroecosistemas. Citando el caso de los monocultivos se afirma que después de años de manejo agrícola pueden reducir la abundancia de las especies fúngicas. Las mismas no tienen especificidad en la elección de sus hospederos, pero manifiestan diferencias en los efectos causados sobre el crecimiento de los individuos de especies vegetales, indicando la respuesta a especies específicas y por lo tanto, hay un aumento en la diversidad y productividad de las plantas en un ecosistema determinado (Alvarado, Dasgupta, Ambriz, Sánchez, & Villegas, 2011).

La utilización de HMA para movilizar y reciclar nutrientes, así como para fertilizar el suelo, resulta ser una alternativa ecológica para la generación de mejores resultados que los posibles con fertilizantes convencionales (Alvarado, Dasgupta, Ambriz, Sánchez, & Villegas,

2011). Resulta necesario establecer el comportamiento general y específico de cada género, para determinar las características edáficas del suelo ante dicho comportamiento.

Relación HMA- planta

Estos hongos se caracterizan por presentar un crecimiento intra/inter celular en la corteza de la raíz y por formar dos tipos de estructuras básicas, arbuscúlos y vesículas . Los arbuscúlos son hifas que se dividen dicotómicamente, son invaginados por la membrana plasmática de las células corticales y presentan periodos de vida cortos, por su parte las vesículas son estructuras de almacenamiento que se forman en la parte terminal de las hifas. Los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* no producen vesículas, en lugar de ellas forman células auxiliares (Nelson & Nelson, 2015).

En cuanto a la morfología de colonización se distingue el tipo Arum, cuyas hifas presentan crecimiento intercelular y los arbuscúlos se encuentran dentro de las células corticales de la raíz; y el tipo París en el que las hifas presentan crecimiento intracelular al igual que los arbuscúlos, pero forman enrollamientos cuando están dentro de la célula (Lizarraga, Ruiz, Salazar, Díaz, & Albornoz, 2015). El crecimiento del hongo se da entre una o dos semanas hasta que hace contacto con la raíz del hospedero, formando una estructura llamada apresorio por donde penetrarán las hifas a las células corticales de la raíz, para formar los arbuscúlos e incrementar el área de contacto entre la planta y el hongo.

Cuando las plantas son invadidas por microorganismos del suelo, se inician una serie de cambios fisiológicos y bioquímicos que no ocurren cuando un HMA coloniza la planta, afirmándose así la hipótesis de que el hongo inicia el crecimiento hifal debido a la calidad de los exudados de las plantas desprovistas de fosforo, más que a la cantidad liberada, debido a que en este tiempo la longitud del sistema radical y la cantidad de exudados tanto de plantas deficientes

y no deficientes en fósforo es similar (Sánchez de Prager, Posada Almanza, Velásquez Pomar, & Naváez Carillo, 2010).

Aplicación de HMA

Dentro de la agricultura, el potencial biotecnológico del HMA radica en facilitar la disponibilidad de nutrientes útiles para las plantas. Las plantas micorrizadas poseen una ventaja importante con respecto a las plantas no micorrizadas. Sin embargo, el conocimiento sobre las interacciones entre las condiciones edáficas y la ecología de los hongos nativos y la efectiva asociación simbiótica entre las plantas y estos microorganismos es limitado (Nelson & Nelson, 2015).

Analizar las poblaciones nativas y su ambiente edáfico, conducen al uso eficiente de HMA en la agricultura. Su importancia en la agricultura se encuentra en la formación de su extenso micelio extra radical, se forma un vínculo entre la planta y el suelo debido a que al darse la asociación planta-hongo, las plantas micorrizadas presentan ventajas en cuanto a la absorción de nutrientes de poca movilidad, tal es el caso del fosforo, respecto a las plantas no micorrizadas, ya que en las primeras el micelio externo se extiende a una mayor (Nelson & Nelson, 2015).

La planta también libera compuestos de naturaleza volátil o difusible (exudados) que estimulan el crecimiento de la hifa en diferentes puntos de control mientras se da la colonización fúngica. Se cree que la estimulación de los exudados sobre la elongación hifal es mayor en plantas deficientes en fósforo, presentándose grandes diferencias en cuanto al crecimiento hifal en plantas con ausencia de este elemento (Nelson & Nelson, 2015).

Por su parte la simbiosis se puede reducir o inhibir si el nivel fosfórico en el suelo es alto y la raíz de la planta puede absorberlo por sí misma. Existen dos métodos aplicables al manejo de los HMA en la agricultura, el primero corresponde al trabajo con hongos nativos con el fin de

obtener el mejor beneficio de ellos, estimulándose de este modo uno o varios de los géneros después de que han sido determinados, y segundo constituye la introducción de HMA seleccionados pudiendo ser manejados con prácticas agronómicas que ya hayan sido utilizadas con estos hongos (Sánchez de Prager, Posada Almanza, Velásquez Pomar, & Naváez Carillo, 2010). El segundo método posee el inconveniente de que la inoculación puede alterar la acción de los géneros nativos eficiente, al tener estos que competir con los hongos seleccionados. Por su parte resulta ser una opción importante ya que sistemas de monocultivos reducen la abundancia de las especies fúngicas, debido a que limitan los beneficios que le proporcionan los HMA a la planta al seleccionarlos.

Considerando que una concentración alta de fosforo en el suelo causa disminución o inhibición de la colonización micorrizica, pero cuando el nivel de este elemento es muy alto y hay colonización micorrizica también se dice que la planta es dependiente de dichos hongos; cuando se observa esta situación se habla de una interacción del tipo mutualismo o parasitismo. El hongo puede estar absorbiendo el fósforo del suelo, no registrándose un incremento de este elemento en la planta, ocasionando una disminución en el crecimiento de la misma con respecto a plantas no micorrizadas (Hernández, López, & Palma, 2014).

Se registran especies de plantas que no son dependientes de los HMA en las primeras etapas de crecimiento debido a que tienen semillas con grandes reservas alimenticias, suficientes para las primeras fases de desarrollo, pero cuando las reservas se han acabado, ellas pueden convertirse en plantas micotróficas dependientes. La utilización constante de pesticidas registra efectos en la acción de los HMA, debido a que según el tipo de suelo y del cultivo realizado, puede haber un efecto estimulante, depresivo o no significativo sobre el hongo (Hernández, López, & Palma, 2014). Insecticidas o fungicidas biológicos basados en especies de *Bacillus* y

Trichoderma respectivamente, son recomendados como controladores de plagas en cultivos donde se ha hecho aplicación de HMA.

Hongos del género *Trichoderma*

Este género se encuentra compuesto por hongos presentes en forma natural, en casi todos los suelos y hábitats del planeta. Consiste en un Deutoromiceto perteneciente al grupo de los Hifomicetos, cuya característica principal es su rápida reproducción y la emisión de grandes cantidades de esporas verdes (Martínez, Infante, & Reyes, 2013). Frecuentemente se encuentra sobre la madera y los tejidos vegetales en descomposición. Es un organismo dominante en los suelos, debido a su naturaleza agresiva y su capacidad metabólica para competir con la abundante microflora de la zona. Una vez introducidas en el área las cepas de *Trichoderma* germinan y desarrollan un micelio óptimo y necesario para actuar frente a los patógenos, que estén presentes en suelo.

Antibiosis

La antibiosis “es un proceso que se da durante las interacciones que involucran moléculas de bajo peso molecular o antibióticos originados por cepas de *Trichoderma*, que privan el aumento de otros microorganismos” (Padilla, 2015). La mayoría producen metabolitos volátiles y no volátiles. Como el ácido harzianico, alameticinas, tricolina, peptaboils, antibióticos, 6-pentil- α -pirona y masoilactona, aunque se han descrito más de 123 metabolitos secundarios producidos por *Trichoderma*.

Promotor de crecimiento

Muchas cepas de *Trichoderma* son capaces de estimular el crecimiento de diferentes especies de plantas, incluyendo frutales, hortalizas, pastos y forestales.

Esta relación parece ser específica con muchas cepas teniendo un amplio rango de hospedantes, mientras que otras son más restrictivas, pudiendo inducir un incremento de más del 200% en la biomasa total comparada con plantas control. Sin embargo, no ha sido adoptado en este aspecto debido a la alta variabilidad en diferentes lugares y ciclos de cultivo, probablemente por la fluctuación de factores bióticos y abióticos (Berne, 2017).

Las cepas de *Trichoderma* colonizan raíces y a su vez estimulan el desarrollo de las plantas. Esta colonización genera una protección contra agentes patógenos infecciosos que suelen atacar las raíces. Para que se produzca la colonización debe darse una adhesión y reconocimiento de las raíces de las plantas, es decir, implican una habilidad de las plantas, en consecuencia se observa la penetración y resistencia a los metabolitos tóxicos que se producen a la invasión de organismos extraños en la planta, para (Berne, 2017).

Ventajas de *Trichoderma* y formas de actuación

El parasitismo directo es la forma común en la que este género puede asociarse a otro hongo. La *Trichoderma* secreta enzimas como las celulasas, glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas, ayudando estas a disolver la pared celular de las hifas huésped, propiciando la inserción de estructuras especializadas y el micelio propio del género. A su vez absorben nutrientes del interior del hongo huésped; el micelio del parasitado queda vacío y perforado (Eraso, Acosta, Salazar, & Betancouth, 2014).

El ciclo de la *Trichoderma* se considera desde que el género se ha enrollado alrededor de las hifas del patógeno, liberando una batería de enzimas hidrolíticas que degradan la pared celular del patógeno. Posteriormente se observa la erosión de la pared celular del patógeno y los hoyos por los cuales ha penetrado en el interior el hongo; esto permite que ingrese dentro del otro

hongo y degrade su contenido citoplasmático, utilizándolo como nutriente. El parasitismo directo no es el único método que tiene, para parasitar a otros hongos, puede producir antibióticos que le permiten inhibir el desarrollo de otros hongos o bacterias, que compiten por nutrientes y espacio; si la cantidad de patógenos es elevado, las hifas de *Trichoderma* lo rodean, emitiendo antibióticos que paralizan el crecimiento sobre todo del mismo. Posteriormente lo mata por micoparasitismo como vimos anteriormente.

Podemos mencionar incluso, que este hongo es capaz de detectar la pared celular del microorganismo patógeno, y emitir un antibiótico específico para este (Eraso, Acosta, Salazar, & Betancouth, 2014).

Para lograr una competencia efectiva, es necesario que el hongo colonice el sustrato primero, o al mismo tiempo que el patógeno. La competencia a nivel del sistema radicular se produce por las secreciones de importantes cantidades de nutrientes de las raíces, en activo crecimiento para hongos del suelo. Este género desarrolla un nicho ecológico, ocupando el sitio físico, donde se alimenta y se reproduce, es muy difícil que otro hongo u otro organismo patógeno, pueda colonizar la misma porción de suelo. Es un hongo que crece rápidamente, con un micelio aéreo ligeramente algodonoso, que desprende un ligero olor a coco. La reproducción se logra a través de abundante formación de conidios de color verde y en ocasiones blanco. En cuanto a la formación de clamidosporas, correspondientes a hifas cuyas paredes son más gruesas de lo normal y pueden actuar como esporas. Las formulaciones comerciales de *Trichoderma* normalmente están hechas a base de esporas y/o clamidosporas, dependiendo de la forma de fabricación. Algunos efectos secundarios son la emisión de vitaminas que se absorben por la raíz, con lo que la planta crece más rápido y emite también gran cantidad de enzimas, mejorando la alimentación de la planta. Este género se alimenta de nitrógeno, fósforo, potasio y

oligoelementos, en caso de que no tenga ningún hongo para alimentarse, y mejora también la estructura del suelo (Eraso, Acosta, Salazar, & Betancouth, 2014).

Inconvenientes del uso de *Trichoderma*

El principal inconveniente radica en que aún no se registran fijadores de este género, capaz de colocar este hongo en la parte aérea de la planta. Es decir, podemos controlar las enfermedades de cuello y raíz, pero no las aéreas. A nivel laboratorial, este hongo es capaz de anular gran cantidad de hongos patógenos aéreos como *Botrytis* (Martín, Rivera, & Pérez, 2013).

En caso de utilizarlo ante patógenos, lo ideal sería la aplicación previa de algún fungicida químico, para reducir la población de manera previa. Por lo general se realizan tratamientos compartidos (Martín, Rivera, & Pérez, 2013)

A partir de las experiencias se sabe que dentro de las ventajas se puede mencionar la habilidad en el desplazamiento en otras especies de hongos, este desplazamiento suele ocurrir ya que son altamente competidores por los espacios y nutrientes existentes en las plantas (Martín, Rivera, & Pérez, 2013).

Una ventaja notable que permite la colonización y sobrevivencia de las cepas de *Trichoderma*, es que ellas consiguen nutrientes y son capaces de un crecimiento rápido. Este sistema comprende la producción de nutrientes que funcionan como transportadores (Zaragoza, 2015).

Resistencia Sistémica Inducida

La resistencia sistémica se produce cuando hay un incremento a nivel de moléculas, en la concentración de metabolitos y enzimas que están estrechamente vinculadas a factores defensivos, involucrados en la síntesis de glucanasas, quitinasas y fitoalexinas (Vitali, Mazzei, Montero, & Vesprini, 2017).

Se sabe que en respuesta a los patógenos los genes de las plantas generan mecanismos defensivos. Estos mecanismos no necesitan, en esencia, de organismos vivos, ya que los metabolitos de *Trichoderma* funcionan como elicitores. En los casos de este hongo de los resultados de estudios muestran la efectividad en diversos cultivos, y especialmente, contra variedades de hongos y ciertas bacterias (Madriz, 2012).

Aplicación en el suelo

Su aplicación en el suelo es un complemento ante los métodos convencionales. Se puede realizar una desinfección suave, como es la solarización, y posteriormente aplicar el hongo por el riego (Zaragosa, 2015).

Por lo general, durante la realización de una desinfección severa del suelo, el desinfectante no llega a todos los puntos y es en ellos en donde se acumulan patógenos. Al matar toda la vida del suelo, el mismo se encuentra en estado virgen, por lo que el patógeno se desarrolla más rápido y con mayor nocividad. Se cree que luego de la desinfección con productos químicos, dentro de las siguientes dos semanas, se deben insertar en la zona microorganismos beneficiosos, para que estos compitan con los posibles patógenos (Zaragosa, 2015).

El producto lleva el microorganismo en estado latente; es lo que se conoce como unidad formadora de colonias, siendo conveniente en dicho momento que el suelo esté húmedo cuando se aplica el mismo, para que se pueda emitir rápidamente el micelio. No dejar rastros de residuos en el fruto es la principal ventaja de la aplicación de estos hongos en los cultivos. Puede ser aplicado durante el riego, o de forma sólida con cierto contenido de materia orgánica (Zaragosa, 2015)..

Colonización de raíces de las plantas

Si se considera el crecimiento de la *Trichoderma*, cabe señalar que el mismo se da de manera intercelular; la notoriedad está en que la epidermis, la corteza y los vasos se mantienen intactos, prácticamente sin alteración o modificaciones (Soka & Ritchie, 2014).

Lo anterior señala que el fortalecimiento de las paredes celulares, por efecto de la deposición de celulosa y a su vez por la producción de fenólicos, que le confieren una alta rigidez en las paredes celulares, no permitiendo la entrada de hongos fitopatógenos (Zaragosa, 2015).

Puede decirse parcialmente que este hongo posee variadas habilidades, efectivamente probadas en la productividad y sanidad vegetal. Estas pueden ser explotadas con mayor eficiencia, siempre y cuando se sea capaz de comprender los mecanismos y sistemas que operan en las diversas interacciones entre los factores patógenos de las plantas y la *Trichoderma* (Vitali, Mazzei, Montero, & Vesprini, 2017).

Productos comerciales con *Trichoderma*

Constituyen biopreparados que contienen microorganismos naturales del suelo en estado latente, que intervienen en el ciclo de biodegradación de materiales orgánicos y minerales, convirtiéndolos en nutrientes asimilables por las plantas. Se recomienda almacenar este producto en frío a una temperatura comprendida entre 4 y 14 grados centígrados. De todas formas, si mantenemos el producto durante 2 o 3 días a temperatura ambiente, no se alteran las propiedades del producto (Vitali, Mazzei, Montero, & Vesprini, 2017).

A una temperatura comprendida dentro del intervalo anterior, se garantiza una caducidad de un año, es decir, a partir del año algunas esporas empiezan a morir. A temperatura ambiente, el producto se conserva bien durante 2 o 3 meses. Ciertos productos están conformados por más de una cepa. Al tener varias cepas del hongo, tenemos también un abanico grande de actuación

del hongo frente a diversas enfermedades. Plantas con mejor desarrollo, son el principal reflejo de la aplicación de este hongo, las raíces son más fuertes y se registran un mayor número de pelos absorbentes (Vitali, Mazzei, Montero, & Vesprini, 2017).

Hongos del género *Fusarium*

Los hongos correspondientes a este género son ascomicetos filamentosos y cosmopolitas, poseen micelio sumamente desarrollado, con gran cantidad de septos y conidióforos característicos; pese a esto ciertas especies poseen talo unicelular. Los representantes del género *Fusarium* ocasionan diversas enfermedades en los cultivos. Los efectos registrados en las plantas afectadas se manifiestan con una serie de afecciones, generalmente irreversibles, registrándose severas pérdidas económicas para los productores (Figuroa, y otros, Caracterización de Especies de *Fusarium* Asociadas a la Pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México, 2010).

Por lo general el control de enfermedades asociadas a los cultivos depende de la aplicación de agroquímicos, como parte del tratamiento. No obstante, el uso de los mismos constituye un riesgo elevado para la salud humana y se asocia al incremento de la contaminación ambiental. A su vez se ha registrado la aparición de microorganismos con resistencia, asociados a la conducción de enfermedades fúngicas más graves, para combatir dicha situación se plantea la adopción de estrategias accesibles, sencillas y no tóxicas (Figuroa, y otros, Caracterización de Especies de *Fusarium* Asociadas a la Pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México, 2010).

Relación *Fusarium*- planta

Estos hongos son ampliamente conocidos, debido a su proliferación y la producción de metabolitos tóxicos que ponen en peligro la salud tanto de hombres como de animales. Se constituyen en patógenos que ocasionan enfermedades caracterizadas por marchitez y

podriciones en cultivos; el género *Fusarium* emplea varias estrategias de infección, el mismo puede sobrevivir en el suelo como micelio o como esporas en ausencia de sus hospederos (Abrunhosa, y otros, 2012).

La infección puede iniciar en las raíces o en partes de las plantas por encima del suelo, por intermedio del agua o del aire. Se considera una infección exitosa cuando la interacción entre hongo y planta responde a un proceso donde se registre movilidad de diferentes conjuntos de genes, la adhesión a la superficie de este, la descomposición enzimática de las barreras físicas, la resistencia a antifúngicos, con posterior inactivación y muerte de las células del huésped (Abrunhosa, y otros, 2012).

Acción patógena

Se reconocen diversos genes básicos de patogenicidad en los hongos que afectan a los componentes esenciales de las plantas, sean estas proteínas o sus complejos. Las especies de *Fusarium* causantes de marchitez siguen un patrón básico de infección; penetran por la raíz y colonizan en el tallo de las plantas de sistema vascular. Dicha colonización se restringe en cultivos tanto resistentes como susceptibles, a la región de entrada inicial del patógeno, debido a la oclusión de los vasos por geles, deposiciones de calosa y tilosas. En los cultivares susceptibles la colonización continúa en una distribución secundaria cuando los geles y calosas son degradados por el efecto de enzimas pectolíticas del patógeno y el crecimiento de las tilosas es inhibido (Montes, 2009).

Efectos tóxicos

Además de inactivar sustancias tóxicas producidas por el anfitrión, producen toxinas propias que aumentan su virulencia. Resultando tóxicas según la variedad considerada y se registran efectos de diversos tipos, pudiendo ser estos de carácter carcinogénicos, mutagénicos,

teratogénicos, citotóxicos, neurotóxicos, nefrotóxicas, llegando al punto de ser inmunosupresores. Se reconocen cerca de 300 micotoxinas, siendo las más conocidas las aflatoxinas, las ocratoxinas A, las patulinas, las fumonisinas, las zearalenonas, los tricotecenos y los alcaloides del ergot (Abrunhosa, y otros, 2012). Los tricotecenos y las fumonisinas constituyen los grupos de micotoxinas más contaminantes, siendo comunes de los cereales.

Método de control del hongo

Al ser un organismo fitopatógeno resulta sumamente difícil de controlar en el suelo, requiriendo de prácticas culturales y controles tanto del tipo químico como del biológico. Las enfermedades de las plantas causadas por este tipo de hongos se hallan entre los factores más importantes que aumentan las pérdidas y afectan los rendimientos de los cultivos. En el tratamiento de enfermedades causadas por *Fusarium spp* así como otros hongos se utilizan fungicidas sistémicos como los benzimidazoles, incluyéndose aquí el benomil, carbendazim, tiabendazol, y tiofanato (Rubio, Baltodano, Abanto, Wilson, & Muñoz, 2008).

Mecanismos de defensa planta-hongo

En el caso de la defensa constitutiva, se incluyen barreras físicas, procesos de lignificación, suberización y formación de calosas formadas antes de la presencia de algún patógeno. Las primeras pueden estar presentes en determinadas etapas o en todo el ciclo biológico de la planta, o bien formarse en respuesta al inicio del proceso infeccioso (Montes, 2009).

Una capa cerosa en la cutícula de las hojas de algunas especies de plantas, impide la formación de películas de agua en la superficie foliar después de las lluvias, lo que desfavorece la germinación de las esporas de hongos fitopatógenos. Las defensas químicas de las plantas son

de diversa índole y poseen una elevada actividad biológica tóxica o inhibidora, algunas de ellas se presentan previas al reconocimiento del patógeno, como fenoles, lignina, taninos, saponinas, antocianinas, flavonoides, glucocinatos, lectinas, glucanasas y quitinasas (Montes, 2009).

Dichos compuestos se pueden encontrar siempre en concentraciones suficientes para inhibir el desarrollo de los hongos como el ácido protocatéquico y catecol y que pueden estar en concentraciones bajas normalmente, pero también pueden incrementarse con la infección, como ocurre con la *Cumarina escopolina* y el ácido clorogénico en papas infectadas con *Phytophthora infestans* (Montes, 2009).

Considerando la defensa inducida, se menciona que la misma solo se activa como respuesta al ataque de patógenos durante el proceso infeccioso. Las plantas emplean una gran cantidad de señales, originadas por los patógenos o por el medio circundante que les permiten reconocer al agresor y activar sus mecanismos de defensa (Durrant & Dong, 2004). Los elicitores constituyen las sustancias químicas o factores bióticos que desencadenan un cambio en el metabolismo de la planta. La primera manifestación es la hipersensibilidad consistente en la muerte celular localizada en el sitio de infección; desencadena gracias a la presencia del ácido salicílico y a la explosión oxidativa por las especies reactivas de oxígeno, como el peróxido de hidrógeno y al radical súper óxido. Se consideraba una respuesta característica de plantas resistentes y que se activaba únicamente en aquellas situaciones en las que existía una relación gen a gen. A su vez se asumía que el producto del gen de la virulencia que actúa como elicitador específico de raza, interaccionaba con el producto del gen de resistencia correspondiente. Los metabolitos secundarios son compuestos que, sin ser esenciales para la supervivencia de células individuales, tienen un papel importante en la vida y supervivencia de la planta en su entorno

ecológico y considerando las complejas rutas biosintéticas que los originan, se pueden agrupar en terpenos, alcaloides y fenilpropanoides.

Por último, la respuesta sistémica de defensa se asocia a la diseminación de la resistencia a través de los tejidos de la planta denominado resistencia sistémica adquirida y resulta duradera para la planta, a veces por el resto de su vida, y combate contra un amplio espectro de patógenos como virus, hongos, bacterias y ascomicetos. (Salgado, 2012). La reacción sistémica se caracteriza por activarse después de la infección por parte de un patógeno necrosante o tras la aparición y va acompañada por el incremento de la expresión de un gran número de genes de proteínas constituyendo armas de la planta para el ataque contra el patógeno y por lo tanto, componentes de la propia respuesta, como agentes antimicrobianos y como moléculas señalizadoras.

Hongos del género *Rhizoctonia*

Existen varias especies de hongos dentro del género *Rhizoctonia*, las más reconocidas son *Rhizoctonia solani* y *Rhizoctonia violácea*. El género provoca grandes daños en plantas individuales, siendo las pérdidas de rendimiento muy variadas y dependen de la fecha de infección y del tamaño de la superficie infestada; en ciertos cultivos el contenido en azúcar puede bajar en más de un 60 por ciento en caso de registrarse una infección grave.

Los síntomas exteriores visibles en las plantas más viejas incluyen la marchitez repentina y el amarilleo del follaje y la pudrición de color negro de los peciolos cerca del vástago. Posteriormente, las hojas marchitas se caen y secan, formando una roseta seca y marrón que persiste a través de la época de cultivo. Las zonas expuestas de las raíces infectadas están cubiertas a menudo por masas de micelio marrón. El hongo causa una pudrición seca característica de color marrón con fisuras profundas en la corona o cerca de ella. La raíz y la

corona quedan destruidas parcial o completamente. El hongo se extiende fácilmente, posee numerosos huéspedes de cultivo y sobrevive en los restos de plantas del suelo en forma de pequeñas estructuras en reposo llamadas esclerocios. Crece en el suelo e infecta la raíz y la vástago de las plantas, puede aparecer en la mayoría de tipos de suelo, pero presenta mayor gravedad en suelos pesados escasamente drenados en los que se acumula el agua.

Control del patógeno

Puede ser combatido por métodos químicos y culturales, la reducida persistencia de los fungicidas químicos en el suelo ha dificultado el control. Se asume que el hongo posee un amplio rango de hospederos, razón por la cual la resistencia genética resulta difícil, se registra una acentuada habilidad saprofítica, la misma hace inefectiva la rotación de cultivos como medida de control cultural.

Hongos del género *Alternaria*

Se refiere a especies cosmopolitas que se encuentran en un amplio rango de materiales y productos. Como saprobias pueden deteriorar alimentos y forrajes, produciendo compuestos biológicamente activos tales como micotoxinas. Como patógenas reducen el rendimiento de las cosechas o afectan a los vegetales almacenados (Andersen, Kroger, & Roberts, 2001).

Los conidios de *Alternaria* tienen septos transversales y longitudinales y se los conoce como dictiosporas, además son pardos y picudos. Nacen por la brotación apical de una célula conidiógena o de la espora anterior, dando lugar en este último caso a una cadena que suele ramificarse si una espora produce más de un brote. La especie *A. infectoria* tiene un estado perfecto que pertenece al género *Pleospora*. Éste forma pseudotecios sobre el tallo de cereales o hierbas con ascas bitunicadas cilíndricas en los lóculos del estroma, dentro de las cuales hay 8 ascosporas provistas de septos transversales y longitudinales, resulta común observar en los

hongos una plasticidad morfológica (Calvo, 2002). Cuando las especies de *Alternaria* crecen en medios ricos y en la obscuridad bajo condiciones ambientales no controladas, se forma un exceso de micelio aéreo que afecta al desarrollo tridimensional de la esporulación.

Toxinas contenidas en el hongo

Las especies de *Alternaria* son capaces de producir una variedad de compuestos diferentes, algunos de los cuales son tóxicos para los animales o plantas, siendo las primeras micotoxinas y las segundas fitotoxinas. La producción de metabolitos secundarios se ha aplicado en la distinción entre especies morfológicamente similares, especialmente entre las especies de esporas pequeñas. La presencia de toxinas de *Alternaria spp* en cereales está correlacionada con el grado de obscurecimiento de los granos (Pavón, González, Martín, & García, 2012).

Las micotoxinas son metabolitos secundarios de bajo peso molecular producidos por determinadas especies fúngicas al final de la fase exponencial de crecimiento y durante la fase estacionaria. La ingestión, inhalación o absorción cutánea de estos compuestos provoca efectos adversos en la salud de animales y personas. Pueden contaminar los alimentos o las materias primas utilizadas para su elaboración, originando un grupo de enfermedades o trastornos, denominados micotoxicosis. Las especies del género *Alternaria* sintetizan más de 70 metabolitos secundarios tóxicos para las plantas, pero solo una pequeña parte de ellos se han caracterizado químicamente e identificado como compuestos tóxicos para personas y animales, por lo que se consideran micotoxinas (Pavón, González, Martín, & García, 2012).

La contaminación de los alimentos con micotoxinas se produce de manera natural y su concentración puede aumentar como resultado de las condiciones ambientales o de operaciones inadecuadas de recolección, almacenamiento y elaboración de los productos alimentarios. Resulta necesario disponer de programas de control que eviten la contaminación con hongos

tóxicos. Se recomienda aplicar medidas preventivas que minimicen el desarrollo fúngico en los alimentos, tales como el almacenamiento en condiciones idóneas de temperatura, humedad relativa y atmósfera (Pavón, González, Martín, & García, 2012).

La asociación del hongo con infecciones humanas no es muy elevada, ya que solo ocurre en casos de personas inmunodeficientes, es uno de los principales géneros causantes de alergias. La respuesta alérgica es mayor frente a las esporas fúngicas que frente a los restos micelares u otras células fúngicas.

Hongos del género *Curvularia*

Agrupar un gran número de especies capaces de ser patógenos facultativos de las plantas y del suelo; asociándose a diferentes tipos de daños en hojas, tallos, flores y semillas, que abarcan desde pequeñas manchas hasta lesiones de mayor tamaño (Jin, 1991).

Los síntomas de la enfermedad causada por *Curvularia* son más evidentes en tejidos senescentes, principalmente en las hojas. En tejido senescente, la conidia del patógeno infecta y esporula. Los síntomas inicialmente aparecen como un distintivo mosaico amarillo y verde con un patrón típico que se extiende desde la punta de la hoja hacia abajo, las hojas eventualmente se encojen y cambian a un color gris, excepto en el caso de *Agrostis palustris* en donde las hojas se tornan bronceadas, en el caso que se presenten condiciones de alta temperatura y humedad puede ocurrir una rápida infección (Estrada & Sandoval, 2004).

Constituye una enfermedad difícil de controlar debido a que se presenta cuando el cultivo se encuentra en condiciones de stress medio ambiental severo. Practicas tales como minimizar la compactación del suelo, otorgando un mejor ambiente para el crecimiento y el manejo cultural apropiado (Zaragosa, 2015).

El género *Curvularia* contiene varias especies, incluyendo *Curvularia brachyspora*, *Curvularia clavata*, *Curvularia geniculata*, *Curvularia lunata*, *Curvularia pallescens*, *Curvularia senegalensis* y *Curvularia verruculosa* (Zaragoza, 2015).

Hongos del género *Sclerotinia*

Se considera un hongo que afecta a una amplia gama de especies cultivables y no cultivables, es un factor importante a considerar y las medidas a tomar para prevenir y minimizar sus pérdidas deben ser concebidas a nivel de sistema productivo. Como paso inicial para el manejo de este patógeno es importante identificar los lotes en que se haya detectado la enfermedad evitando la siembra de cultivos susceptibles, la siembra directa es otra de las medidas recomendadas (Montoya, Quiróz, & Troglia, 2007).

El ciclo de vida consta de una fase asexual, con la principal función de dispersar la enfermedad, y una fase sexual. En la etapa asexual con condiciones de elevada humedad y moderada temperatura, los esclerocios germinan y se produce un micelio de aspecto algodonoso, este penetra en las plantas generalmente a la altura del suelo, a través de heridas o aperturas (Montoya, Quiróz, & Troglia, 2007).

El hongo se desarrolla sobre la planta infectada y produce nuevos esclerocios, que caen fácilmente al suelo, comenzando otra vez el ciclo. Los esclerocios, constituidos por una masa de hifas, poseen la capacidad de permanecer viables en el suelo por un tiempo prolongado y son el principal modo de propagación de la enfermedad.

El ciclo de vida sexual a su vez inicia con esclerocios, sobre los que se desarrolla una estructura denominada apotecio, en cuyo interior se encuentran las ascas que contienen las ascosporas. Estas son diseminadas cuando se depositan en órganos vegetales senescentes, tales como las flores muy maduras, el hongo crece e infecta a otros órganos de la planta y desarrolla

el micelio de aspecto algodonoso. Sobre el micelio se forman esclerocios que caen al suelo, dando origen nuevamente al ciclo.

El ciclo de la enfermedad inicia en el suelo cuando las estructuras en reposo, denominadas esclerocios comienzan el proceso de germinación; el mismo se puede presentar en dos modalidades:

Carpogénica: produciendo apotecios los cuales forman ascosporas que se transportan a través del viento hacia plantas susceptibles.

Miceliogénica: la de mayor frecuencia, el esclerocio produce un micelio que ataca las partes de la planta que están en contacto con la superficie del suelo (Pereyra & Escande, 1995). La dispersión del inóculo de la enfermedad se da a través del viento en el caso de las ascosporas, mientras los esclerocios y el micelio se diseminan por el movimiento de suelo contaminado de un lugar a otro.

En cuanto a los síntomas se registra marchitez de las hojas externas de la planta, con la presencia de crecimiento micelial algodonoso blanco hacia la parte basal o central del tallo, a partir del cual se forman unos cuerpos compactos, los esclerocios, estructuras de reposo compuestas por una porción interna de color claro llamada médula y una cubierta externa negra llamada corteza.

La colonización inicial de los tejidos muertos provee nutrientes para el establecimiento del patógeno y recursos para infectar tejidos sanos de la planta. El grado de patogenicidad se relaciona con la producción de ácido oxálico y la expresión de enzimas que degradan la pared celular y causa lesiones que se expanden. Estas actividades liberan pequeñas moléculas (oligo-galacturonidos y péptidos) que sirven para inducir la expresión de una segunda onda de enzimas degradativas que colectivamente llevan a la disolución casi total de los tejidos de la planta.

Hongos del género *Beauveria bassiana*

Se alimentan de insectos llamados entomopatógenos (Jaramillo, Montoya, Benavides, & Góndora, 2015). Ambos han sido usados para el control de un importante rango de plagas de insectos. Pese a los altos porcentajes de mortalidad de insectos logrados en laboratorio mediante hongos, el éxito de las aplicaciones en campo ha sido esporádico debido al poco entendimiento de su ecología.

La mayoría de los estudios se han enfocado al uso de estos hongos como un reemplazo de insecticidas químicos, sin estudiar o considerar su nicho ecológico, refiriéndose este a su posición en un ecosistema y las múltiples relaciones que en él se establecen. Además, existen varios productos elaborados a base de hongos microscópicos que han sido registrados alrededor del mundo; siendo aplicados se han utilizado en pequeños nichos de mercado y no a gran escala en cultivos. Resulta necesario comprender y buscar alternativas de solución a los problemas agrícolas, en un mundo microscópico donde los hongos cuyo estilo de vida es por lo general patógeno, teniendo como función regular las poblaciones de sus hospederos, sean estos partes de plantas u otros insectos (Jaramillo, Montoya, Benavides, & Góndora, 2015).

Hongo del género *Collectotrichum*.

En los ciclos vitales de las plantas que forman cultivos como la Chía y otros se encuentran patógenos de extendida importancia debido a su distribución mundial y especialmente a su ataque a los mencionados cultivos en ciertas regiones (Padilla, 2015).

Uno de los géneros patógenos de importancia es el hongo *Collectotrichum* que presenta un mecanismo de ataque de lesionamiento en las plantas. Las lesiones que presentan, es decir, su sintomatología está presente directamente en los tallos, pecíolos y hojas. Inicialmente las hojas afectadas presentan puntos de color rojo expandiéndose; las lesiones van creciendo en forma

irregular. Este crecimiento desproporcional da como resultado la unión de los mencionados puntos, ocasionando un daño irreparable, es decir, se da la necrosis total de la hoja (Padilla, 2015).

Son factores propicios para la aparición de este hongo las lluvias intensas invernales y a su vez alta humedad relativa; En un lapso breve bajo estas condiciones puede darse la aparición de brotes epidémicos muy severos, que llegan a afectar al desarrollo total de la planta (Covacevich, Sainz, Barbieri, & Echeverría, 2015).

La presencia o mejor la infestación de este hongo con su consecuente antracnosis en las plantas ha generado en los productores de los cultivos afectados una reacción perjudicial, ya que estos al pretender salvar sus cultivos, exageran en la aplicación de fungicidas, obteniendo en consecuencia daño ambiental, altos costos de producción y en el más grave de los casos el abandono de los cultivos (Covacevich, Sainz, Barbieri, & Echeverría, 2015).

Esta situación grave presente en la producción agrícola de cultivos extendidos ha tomado relevancia a nivel mundial, debido a la presencia de la antracnosis *Collectotrichum*. La difundida presencia del hongo genera diversos sistemas de atención a sus procesos de infección, ya que presentan mecanismos de resistencia bioquímica (García, Martínez, & Torres, 2012).

Se considera que no existen hongos netamente beneficiosos, más bien estos comparados con otros microorganismos nocivos, mejoran las condiciones. La mayor actividad de estos microorganismos se realiza desde la superficie del suelo, hasta unos 20 centímetros de profundidad. Sus colonias permanecen adheridas en las partículas del suelo y sobre las raíces de las plantas, ya que así les aportan sustancias orgánicas, que son utilizadas como alimento. Existen productos compuestos por estos microorganismos y que se caracterizan por su movilidad de los mismos, ya que están provistos de flagelos, y presentan respuesta a factores

quimiotácticos, permaneciendo durante un largo periodo de tiempo, en la rizosfera de los cultivos (García, Martínez, & Torres, 2012).

Hongo del género *Mucor Circinelloides*

Constituye un hongo de carácter filamentoso, distribuido en suelos y sustratos orgánicos en descomposición, por lo general presenta un micelio cenocítico, con esporangioforos ramificados (López S. , 2015).

Se desarrolla con un ciclo de vida asexual o vegetativo, caracterizado por la formación de esporas vegetativas o esporangiosporas, al germinar las esporas se hincan y producen tubos germinativos, originando hifas que crecen y ramifican. El ciclo de vida sexual por su parte, es responsable de la recombinación del material genético y de la variabilidad genética de la especie, se registra cuando dos micelios de diferente tipo sexual se encuentran, provocando inhibición de la formación de esporangiosforos y la diferenciación de las hifas sexuales (Gooday, Fawcett, Green, & Shaw, 1973).

Este género participa en la síntesis de metabolitos secundarios, en procesos de respuesta a la luz, síntesis de lípidos y resulta eficaz para la transformación de genes (Torres-Martínez, 2012). Funciona principalmente como sistema eficaz para la transformación genética y la introducción de ADN exógeno.

Hongos del género *Lasiodiplodia theobromae*.

Se reconoce como un género con amplio rango de hospederos, incluyendo monocotiledóneas, dicotiledóneas y gimnospermas, considerando ambientes trópicos y subtrópicos (Abdollahzadeh, Javadi, Mohammadi- Goltapeh, Zare, & Phillips, 2010).

Es considerado un patógeno latente, ubicado en carácter de endófito en tejidos sanos de la planta, manifestando condición de patógeno cuando el hospedero está débil. Ocasiona tizón de hojas y pudrición de raíces en plantas (Pitt & Hocking, 2009).

Se clasifica dentro de los Ascomicetos en el orden de los Botryosphaerales y en la familia Botryosphaeriaceae, (Slippres, et al., 2013).

Entre las principales características se menciona la presencia de Picnidios, paráfasis y estriaciones en conidios maduros, su morfología es de color café oscuro a negro, dotado de una gruesa pared de capas internas de color café. Las colonias en medio de cultivo son moderadamente densas, con micelio aéreo, inicialmente blancas tornándose grises al cabo de los 7 días y con el tiempo adquieren un color negro. Los rangos de temperatura bajo los cuales puede desarrollarse son entre 15 y 40 °C, considerando un a temperatura optima de 28 °C; la porulación del hongo se ve favorecida por una exposición a la luz solar de 16 horas (Alves, Crous, Correia, & Phillips, 2008).

La enfermedad está relacionada a las altas temperaturas y las condiciones de humedad relativa, el ingreso a los hospederos los realiza a través de lesiones en la planta, por lo general aquellas relacionadas con el uso de herramientas de trabajo o producidas por insectos; el proceso consiste en la colonización del sistema vascular de la planta y de este modo avanza (Shahbaz, Iqbal, Sallem, & Anjum, 2009).

Hongos del género *Macrophomina Phaseolina*

Constituye un género de carácter patógeno, cuyas condiciones de crecimiento se asocian a las altas temperaturas, de entre 28 a 35 °C, así como baja humedad del suelo; dentro de los tejidos infectados y es capaz de sobrevivir en los rastrojos, o libre en los suelos. Se reconoce como infección primaria a la aparición de microesclerocios, que intersectan al sistema radicular

de la planta, cuando más temprana sea la infección, mayor será el daño registrado, se encuentra favorecida por el bajo contenido de humedad y temperaturas por encima de los 30 °C, la infección progresa y coloniza la raíz, logrando el cambio de aspecto (Ivancovich, Flores, & Lavilla, 2016).

Los síntomas observables se asocian a la podredumbre de raíces, con consecuente marchitamiento rápido de la planta y la adhesión de las hojas, se observa la presencia de microesclerocios en la raíz principal, estrías o líneas de color negro en tejidos y raíces.

Antecedentes de hongos en otros cultivos agrícolas.

Fusarium en maíz

El cereal más ampliamente distribuido a nivel mundial es el maíz, el cual ocupa la tercera posición en producción, seguido por el trigo y el arroz (Gobierno de México, 2019). Los principales países productores de maíz en América Latina son Argentina, uno de los principales productores de maíz, con el 8.7 % de la producción Latinoamérica. Las enfermedades causadas por patógenos se destacan las producidas por el género *Fusarium*, el cual se encuentra naturalmente en el suelo. El género *Fusarium* presenta una distribución cosmopolita y es endémico de zonas maiceras de todo el mundo (Gobierno de México, 2019).

Relación hongo – planta

Este hongo, en maíz puede causar daño en todas las etapas del cultivo. En semilla, el micelio puede invadir y ocasionar manchas en las cubiertas externas, causando además disminución de la germinación por la muerte del embrión. En plántula y planta adulta, debilita y pudre la raíz (Gobierno de México, 2019).

Leslie (2006) reportó *F. subglutinans* y *F. verticillioides* como las más ampliamente distribuidas en todas las áreas maiceras del mundo y son consideradas las de mayor capacidad patogénica.

Acción patógena

Las cepas *F. verticillioides* y *F. subglutinans* son las que mayor daño causan a las plántulas de maíz. Leslie reportó que *F. verticillioides* es capaz de colonizar maíz durante todo el ciclo vegetativo de las plantas (Leslie & Summerell, 2006).

Otros estudios realizados reportan a *F. moniliforme* (*F. verticillioides*) como patogénico en el maíz, el cual suele ser uno de los más agresivos. Por otro lado, algunas “cepas como *F. subglutinans* y *F. heterosporum* causan menor nivel de daño en planta, lo que sugiere que existe alta diversidad en las especies de *Fusarium*, y diferentes niveles de susceptibilidad de las poblaciones de maíz” (Figuroa, y otros, Caracterización de Especies de *Fusarium* Asociadas a la Pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México, 2010)

Las cepas *F. subglutinans*, *F. verticillioides* y *F. verticillioides* muestran patogenicidad, ya que causan la muerte a nueve de trece accesiones raciales de maíz. En cambio las cepas *F. verticillioides* y *F. subglutinans* solo causan daño en cinco accesiones raciales de maíz y *F. verticillioides* solo en cuatro, aunque estadísticamente el nivel de patogenicidad es igual a las anteriores. (Leslie & Summerell, 2006)

Efectos tóxicos

Cuando los síntomas de la enfermedad se incrementan las plántulas se encuentran en la etapa inicial y la infección es sintomática y puede presentarse en cualquier etapa de la planta, pudiéndose o no desarrollar una infección (Figuroa, Rodríguez, Guerrero, & González,

Caracterización de Especies de *Fusarium* Asociadas a la Pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México, 2010).

Método de control del hongo

Para la obtención de materiales de maíz con resistencia genética amplia y durable a *Fusarium spp.*, es necesario como primer paso conocer la diversidad de especies presentes en la región de interés. La literatura no reporta una escala que se haya realizado exclusivamente para la identificación de daños a causa de este hongo. La combinación de las accesiones y cepas da como resultado 156 tratamientos; cada uno con tres repeticiones, las cuales contienen cinco plantas por repetición. (Leslie & Summerell, 2006)

Mecanismo de defensa planta – hongo

El mecanismo de defensa estaría en el manejo agronómico y las condiciones ambientales a las que se exponen las plantas durante su desarrollo, no obstante, sería de gran utilidad identificar genotipos de maíz resistentes a la pudrición de tallo y mazorca, los cuales darían gran ventaja para el manejo eficiente y económico de esta enfermedad. (Gobierno de México, 2019)

La raza de maíz (Tuxpeño) como resistente a este patógeno es aquella de origen tropical. Se puede mencionar que esta raza tiene mayor diversidad y es resistente a *Fusarium*; también se afirma que esta raza pudo haber interactuado por muchos años en su medio ambiente con este patógeno, lo cual fue formando genes de resistencia. Otra razón por lo que esta raza puede presentar esta tolerancia es debido a las condiciones erráticas de las áreas, donde son producidos estos maíces. (Figuroa, Rodríguez, Guerrero, & González, Caracterización de Especies de *Fusarium* Asociadas a la Pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México, 2010)

***Trichoderma* en maíz**

El género *Trichoderma* reúne gran cantidad de especies encontradas en casi todos los tipos de suelos y en materia orgánica en descomposición, especialmente madera y hojarasca, las cuales poseen una gran importancia desde el punto de vista económico, ya que son capaces de producir enzimas de interés industrial y sustancias con actividad antimicrobiana, pueden ser utilizadas como agentes biocontroladores de enfermedades en plantas con variados mecanismos de acción e incluso han sido reportadas como patógenos oportunistas en humanos inmunosuprimidos, siendo la especie más común en estos casos *Trichoderma longibrachiatum*. (Pavone & Dorta, 2015)

Relación hongo – planta

A pesar de que la caracterización morfológica ha sido el método más utilizado para identificar especies de “*Trichoderma*, ésta es muy propensa a errores, “con la consecuencia de que alrededor del 50% de los aislados, depositados en colecciones están mal identificados, siendo las herramientas moleculares las más confiables en la identificación de las especies de *Trichoderma*” (Pavone & Dorta, 2015).

Resulta de interés estudiar su diversidad en el país con base en identificaciones confiables, dada la gran importancia económica que posee este género por sus múltiples aplicaciones biotecnológicas.

Acción patógena

Debido a la abundante homoplasia en los caracteres fenéticos en *Trichoderma spp*, resulta imposible discriminar entre especies solamente con base en la morfología. Esta homoplasia también es la razón por la que el número de especies basadas en características morfológicas es

significativamente menor al número de especies filogenéticas reconocidas por secuencias de ADN. (INTA, 2009)

Si bien, “la mayoría de las especies de este género pueden ser identificadas, mediante identificación molecular, solo con esta información, se da el caso de algunas especies muy relacionadas, en las que el polimorfismo no es suficiente para diferenciarlas entre sí” (Pavone & Dorta, 2015).

Método de control del hongo

Las generalizaciones acerca de la distribución de *Trichoderma* se han vuelto muy complicadas, siendo su ocurrencia determinada por componentes microclimáticos, disponibilidad de sustratos, asociaciones rizosféricas, química del suelo e interacciones ecológicas. Además, la introducción de especies invasivas, los agentes de control biológico y las perturbaciones agrícolas, pueden producir cambios en los patrones específicos de distribución. (Pavone & Dorta, 2015).

El conocimiento de la distribución de especies de *Trichoderma* está evolucionando constantemente en el contexto de los avances actuales en la resolución de la taxonomía del género, por lo que puede suponerse un mejor entendimiento de la biogeografía, al comprender mejor las complejos de especies agregadas (Pavone & Dorta, 2015).

Mecanismo de defensa planta – hongo

Las “aplicaciones biotecnológicas recomendadas para las cepas comprenden: biocontrol de hongos fitopatógenos, resistencia sistémica inducida en plantas contra fitopatógenos, aumento de la biomasa en plantas, así como producción de antibióticos, polisacáridos con capacidad terapéutica y celulasas bioremediación de compuestos fenólicos” (Pavone & Dorta, 2015).

***Fusarium* en soja**

Se trata de una enfermedad de media estación, que “puede ser provocada por varias especies del género *Fusarium* (*F. solani*, *F. virgulifome*, *F. tucumaniae*). El nivel de pérdidas depende del estado de desarrollo del cultivo al momento de infección, de la reacción del cultivar y, del ambiente” (INTA, 2009).

Relación hongo – planta

El clima fresco y húmedo favorece la manifestación de la enfermedad y se ha sugerido que el nematodo del quiste (*Heterodera glycines*) constituye un factor predisponente.

El hongo sólo se encuentra en la raíz de la planta y actúa a nivel interno, una vez que se instala e ingresa al sistema de alimentación de la planta, genera toxinas que llegan a las hojas y causan síntomas foliares. Los síntomas generalmente aparecen a partir de floración y una vez que se visualizan no hay nada que se pueda hacer. Las primeras señales aparecen en las hojas (puntos amarillos que se extienden y con el tiempo se juntan, y luego se secan). Toda la hoja queda de color marrón y sólo las nervaduras permanecen de color verde. (INTA, 2009)

Es común observar la caída de las hojas, mientras que los peciolo permanecen adheridos al tallo. “En cuanto a las raíces, provoca pudrición y generalmente las plantas afectadas se arrancan con facilidad del suelo. En ocasiones pueden observarse en las raíces puntos azules, que corresponden a masas de esporas del hongo” (Figuroa, Rodríguez, Guerrero, & González, Caracterización de Especies de *Fusarium* Asociadas a la Pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México, 2010).

Acción patógena

La enfermedad puede presentarse en plantas aisladas o extenderse a todo un lote. Los primeros síntomas aparecen cerca de floración, como manchas cloróticas en las hojas.

Eventualmente, el tejido clorótico se necrosa y solo permanece verde alrededor de las venas principales. (Zaragosa, 2015)

Los folíolos muy afectados pueden caer, mientras que “los pecíolos quedan adheridos a la planta. Los síntomas foliares de la muerte súbita son comunes a otras enfermedades como la podredumbre marrón del tallo (*Phialophora gregata*) y el cancro del tallo (*Diaporthe phaseolorum*), con las que suele confundirse” (INTA, 2009).

Efectos tóxicos

Este patógeno puede apreciarse en la parte interna de las raíces y primeros nudos del tallo, en ellos se desarrolla una coloración grisácea a castaño-rojiza, que irradia desde la médula hacia el exterior. Sin embargo, la médula permanece blanca. En infecciones severas, hay reducción del sistema radicular y es frecuente el aborto de flores y vainas. Las plantas muy afectadas pueden morir en forma prematura. (INTA, 2009)

Método de control del hongo

“La integración de diversas tácticas de manejo permite minimizar las pérdidas por la enfermedad. Como medida de control preferencial, es importante elegir cultivares resistentes o tolerantes” Así también, un correcto diagnóstico debe incluir la exploración de los tejidos internos del tallo y las raíces. (INTA, 2009).

Mecanismo de defensa planta – hongo

Se ha sugerido que los cultivares con resistencia a *H. glycines*, generalmente son menos susceptibles a muerte súbita. El atraso de la fecha de siembra, puede ser útil pues, una mayor temperatura y menor humedad de suelo en las fases iniciales del cultivo, reducen el riesgo de la enfermedad. Por este motivo, también se ha indicado que la incidencia es menor en lotes

trabajados de manera convencional, con respecto a los lotes en directa. La rotación de soja con maíz o sorgo permite reducir la densidad de inóculo. (INTA, 2009)

***Trichoderma* en soja**

La soja es una de las oleaginosas más importantes del mundo. Es altamente nutritiva, sus granos contienen alrededor del 35 % de proteínas y posee casi todos los aminoácidos esenciales. La producción mundial de soja ha superado los 250 millones de toneladas, distribuidas principalmente entre Estados Unidos (45 %) y Brasil (26 %), seguidos por Argentina, China, India, Paraguay y Canadá. (Cruz, y otros, 2017)

Las altas temperaturas y humedades relativas son propicias para la proliferación de numerosas plagas, y daños causados por hongos. “Las enfermedades se manifiestan en cualquier estado de desarrollo de la planta o simplemente durante todo su ciclo; reduciendo la producción de soja, afectando la calidad física, fisiológica, nutricional y comercial del producto, tanto en grano comercial como en semilla” (Leslie & Summerell, 2006).

Las enfermedades fúngicas del suelo son de difícil control y el tratamiento de semillas no logra la protección de los cultivos durante largos períodos de tiempo. “La aplicación reiterada de fungicidas químicos contra estos patógenos ha favorecido la aparición de cepas resistentes y desbalances en el microbiota del suelo, que disminuyen la actividad antagonista de microorganismos beneficiosos que están presentes en el suelo” (INTA, 2009).

La aplicación de *Trichoderma spp.* en diferentes interacciones planta-patógeno ha demostrado su factibilidad biológica a nivel global. Este hongo antagonista es un habitante natural del suelo que posee excelentes cualidades para el control biológico de patógenos fúngicos y posee diferentes mecanismos, a través de los cuales ejerce su acción, destaca entre ellos, la competencia microbiana actuando como colonizador de las raíces y no dejando nicho ecológico a

otros hongos fitopatógenos. También producen metabolitos que favorecen la salud, la masa radicular, y consecuentemente los rendimientos. (Cruz, y otros, 2017)

***Fusarium* spp en trigo**

La fusariosis de la espiga, es la enfermedad causada por diferentes especies del género *Fusarium* en trigo y otros cereales de grano pequeño, causando también pudriciones de raíz. “La enfermedad está presente en el norte-centro de Europa, Asia, y principalmente en China y Japón, donde la enfermedad se considerada endémica” (Lori, Carranza, Violante, Rizzo, & Alippi, 2016).

La Fusariosis también se presenta en Sudamérica, especialmente en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay. La Fusariosis ha sido relacionada con diferentes especies del género *Fusarium* entre ellas: *F. culmorum*; *F. avenaceum* (*G. avenaceae*); *F. graminearum* (*G. zea* Syn. *G. subinetii*); *F. poae* y *Microdochium nivale*. Estas y otras especies atacan a diferentes cereales de granos pequeños como: trigo, cebada, avena y centeno. (Lori, Carranza, Violante, Rizzo, & Alippi, 2016)

Relación hongo – planta

La roña o tizón de la espiga de trigo es una enfermedad de gran importancia en regiones de climas cálidos y húmedos del mundo; donde puede afectar cereales como trigo, cebada, avena y centeno. Los cultivos de trigo en América Latina sufren daños considerables como resultado de la enfermedad genéricamente conocida como fusariosis, causada por el hongo *Fusarium graminearum* (Figuroa, Rodríguez, Guerrero, & González, Caracterización de Especies de *Fusarium* Asociadas a la Pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México, 2010)

La *F. graminearum* es un parásito facultativo, y como tal tiene la capacidad de sobrevivir como saprófito asociado a restos de trigo, maíz, arroz, y varias malezas del tipo de las gramíneas. El hongo sobrevive como saprófito en el suelo en forma de micelio; con paredes gruesas y densas, o en clamidosporas. (Zaragosa, 2015)

Los desechos de las plantas huéspedes, tales como los tallos, mazorcas o espigas y rastrojos, son las principales fuentes de inóculo. El patógeno se ha incrementado, debido a la rotación de cultivos de cereales: maíz-trigo, maíz-cebada o cebada-trigo, en forma de peritecios, micelio o clamidosporas en los restos de plantas. (INTA, 2009)

Acción patógena

El proceso de infección de la fusariosis de la espiga se puede iniciar con diferentes tipos de inóculo, a) macroconidios producidos por esporodocios o en forma individual; b) ascosporas producidas en el interior de los peritecios de *Gibberella zeae*; c) clamidosporas que persisten en el suelo o sobre los residuos, aunque este tipo de inóculo es menos frecuente y por último; d) el micelio que sobrevive sobre los restos de maíz o trigo. (Lori, Carranza, Violante, Rizzo, & Alippi, 2016)

Se considera tres tipos de inóculo: micelios, conidios y ascosporas. Para que se produzcan epifitias, los factores climáticos que favorecen la producción y dispersión de esporas, el desarrollo sobre la superficie del huésped y la infección, deben coincidir con el momento en que la planta es susceptible al hongo. “Las temperaturas entre 15 °C y 35 °C, la lluvia salpicada o arrastrada por el viento, que contribuyen a la dispersión de esporas y la humedad persistente ($\geq 48-60$ hrs) en las espigas y mazorcas favorecen a la infección del hongo” (Zaragosa, 2015).

Efectos tóxicos

En cuanto al *Fusarium graminearum* Schwabe es la especie del género *Fusarium* más frecuente en trigo. Ocasionalmente aparecen otras especies que junto a la mencionada son productoras de micotoxinas tales como zearalenona y sus derivados, responsable de un síndrome estrogénico y tricotecenos. El género *Fusarium* es uno de los más prolíficos en la producción de micotoxinas, especialmente cuando ataca cereales como maíz, trigo, arroz, cebada y sorgo. Estos metabolitos tóxicos, afectan la salud humana y animal. (Lori, Carranza, Violante, Rizzo, & Alippi, 2016)

Las micotoxinas son compuestos químicos tóxicos producidos por algunos hongos, siendo “las más importantes la zearalenona y un grupo de compuestos afines llamados tricotecenos, que incluye la vomitoxina, la toxina T-2 y la toxina HT-2” (Zaragoza, 2015).

Los tricotecenos se dividen en dos categorías: Grupo "A", a este grupo pertenecen la Toxina T-2, T-2 tetraol, neosolaniol, diacetoxicirpenol (DAS) y Acetil T-2 como las más tóxicas, los que producen irritación dérmica, náuseas, vómitos, diarreas, abortos y alteraciones hematológicas (leucopenia). Actúan como carcinogénicos y pueden llegar a ocasionar la muerte en el hombre y en otros animales. (Lori, Carranza, Violante, Rizzo, & Alippi, 2016)

“Las toxinas correspondientes al grupo "B" son deoxinivalenol (DON), nivalenol (NIV) y fusarenona-x (FUS-X), como las más importantes. Estas originan alteraciones digestivas sin llegar a producir la muerte, pero de hallarse juntas DON y NIV la toxicidad se acentúa” (Lori, Carranza, Violante, Rizzo, & Alippi, 2016).

Método de control del hongo

El uso de fungicidas es otra herramienta apropiada para el control, principalmente en regiones propensas a la enfermedad y en mercados en donde las clases de trigo poseen distintos comportamientos. Sin embargo, el uso de fungicidas no es universal debido al alto costo de las aplicaciones de los fungicidas y al hecho de que los químicos disponibles en el mercado no son consistentemente efectivos en el control de la fusariosis y en la reducción de la síntesis de DON. (Zaragosa, 2015)

El control químico se utiliza como herramienta complementaria del manejo de la fusariosis de espiga de trigo (FET). El tratamiento debe realizarse de manera preventiva para evitar la germinación de las ascosporas y penetración del hongo en la espiga, antes de la ocurrencia de los primeros síntomas, ya que una vez que el patógeno ha penetrado los tejidos de esta inflorescencia, la cantidad de fungicida dentro de la misma es incapaz de detener el crecimiento del hongo. (INTA, 2009)

“Los fungicidas conteniendo triazol, imidazol o triazolintiona como ingrediente activo, que inhiben la biosíntesis de ergosterol, fueron son los más activos contra la FET y contaminación con DON” (Zaragosa, 2015).

Varios estudios se orientan en el uso de agentes de control biológico para el manejo integrado de la FET. El biocontrol podría jugar un rol importante en la producción del trigo. Las cepas que están siendo estudiadas y muestran resultados promisorios con relación al control de la enfermedad y la reducción de contaminación con micotoxinas son fundamentalmente bacterias tales como, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp* y *Lysobacter spp* y levaduras tales como, *Cryptococcus spp* y *Sporobolomyces spp*. (Yoshida, 2012)

Mecanismo de defensa planta – hongo

La dependencia de esta enfermedad de los factores climáticos, su naturaleza y epidemiología y su esporádica manifestación, han determinado que las medidas de control existentes no sean satisfactorias. Sin embargo, la FET no solo depende de las condiciones climáticas, sino también de factores agronómicos, como las prácticas culturales, el uso de genotipos resistentes al patógeno, la aplicación de fungicidas y la utilización de agentes de biocontrol. (Yoshida, 2012)

La fuente de resistencia genética más usada contra la FET es el cultivar de trigo de origen chino; también métodos apropiados de preparación del suelo, rotación con cultivos no cereales, buenas técnicas de laboreo, y diferentes tiempos de siembra, ayudarían a reducir la cantidad de inóculo primario y la probabilidad de infección. (Yoshida, 2012)

Hay estudios previos que demostraron que si bien emplear métodos individuales de control puede ser eficiente también la combinación de la misma será efectiva FET” (INTA, 2009).

Características físico-químicas del suelo

Indicadores de calidad de cultivos

La temperatura óptima para la emergencia de la semilla es 25 °C, para el crecimiento de la planta es de 18.3 a 29.4 °C y requiere 1,050 a 1,150 grados día de calor con una base de 10 °C.

La mayoría de las variedades maduran a los 50 a 60 días, las cuales se encuentran en condiciones óptimas de cosecha del ejote. Temperaturas arriba de 32.2 °C causa aborto de flores, así como las lluvias durante la floración (Covacevich, Sainz, Barbieri, & Echeverría, 2015).

Crecen en muchos tipos de suelo y en un rango de pH de 5.5 a 7.5. El pH óptimo es de 6.0 a 6.5. Suelos con buen drenaje son preferidos. Excesiva humedad en el suelo estimula las enfermedades radiculares y deficiencias nutrimentales (Fernández, 2018).

No toleran salinidad, una reducción del 50% del rendimiento podría presentarse con una salinidad del suelo de 3.6 ECe (dS/m a 25 C) (Martín, Rivera, & Pérez, 2013).

Temperatura y Humedad

Las dos variables de consideración en cuanto al cultivo de chía son la temperatura y la humedad, aunque se debe considerar que esta especie tiene resistencia a la sequía que no afecta su crecimiento y desarrollo (Almendariz, 2012).

Las experiencias muestran que a este cultivo no le afectan las precipitaciones, aunque si se da un malestar durante el periodo de floración. Esta posible intensidad de lluvia genera o provoca el aborto de las flores (Centurión, 2018).

Los campos son seleccionados de manera que permita producir una chía de alta calidad en zonas con muy buena sanidad (Escaso nivel o presencia de enfermedades y plagas) (Almendariz, 2012).

Macro y micro nutrientes

Bases Saturadas

El pH del suelo debe estar en equilibrio por cuanto los valores de saturación de bases altas estarían señalando que los sitios de intercambio están determinados por iones no ácidos, es decir, la saturación de bases está relacionada de manera positiva con el pH del suelo (Sacsa, 2017).

La información relacionada a la acidez, fertilidad y presencia de nutrientes de los suelos es un indicador para la actuación frente a la acumulación de ácido y los potenciales de lixiviación de los minerales presentes en el suelo (Sacsa, 2017).

Materia orgánica

El crecimiento óptimo de los cultivos es en parte gracias a la presencia de materia orgánica en los suelos que es vital para la fertilidad y en consecuencia para obtener buenos resultados

agropecuarios. De más está señalar que los suelos pobres no favorecen en nada a la producción de cultivos (Szostak, 2017).

El humus que es beneficioso en el desarrollo y crecimiento de los cultivos es el resultado de la descomposición de materia orgánica en bruto, esta descomposición se da gracias a microorganismos que transforman la mencionada materia. Para la obtención humus (materia orgánica importante) pueden utilizarse todo tipo de residuos de origen animal o vegetal que luego será vertido en los suelos de los cultivos (Covacevich, Sainz, Barbieri, & Echeverría, 2015).

El humus se ha venido a convertir en un compuesto orgánico de tremendo impacto en los suelos de cultivo de alto rendimiento (chía, soja, trigo). Este compuesto orgánico tiene características que evitan el lavado de los suelos, la pérdida de nutrientes ya que tiene una alta capacidad de absorción y retención de agua; varias veces su propio peso. Por ello se observan en los cultivos con la utilización de humus una mejora en las condiciones físicas, químicas y biológicas de los suelos (Fernández, 2018).

El uso frecuente de humus en los cultivos beneficia al suelo ya que los suaviza, permite la porosidad y la infiltración de agua (riego artificial y natural). También permite la aireación adecuada que, junto con el aporte importante de nutrientes, gracias a las bacterias y hongos presentes dentro de él, puede darse una fijación más consistente de las plantas o cultivos en los cuales se utilice (Szostak, 2017).

Específicamente, se le atribuye al humus la fijación del nitrógeno, magnesio, potasio, calcio. Otro aspecto resaltante es su capacidad de mantener la vida de los organismos presentes en los suelos, que son esenciales en los cultivos. Es por ello que los suelos pobres para el cultivo de

chía y otros, podrían recibir aplicaciones para el aumento de la productividad (Buol, Hole, & McCracken, 2016).

Estudios actuales en plantas superiores muestran que estas contienen incluso hasta sesenta elementos químicos, de entre ellas diez y seis son considerados importantes en el proceso de desarrollo de las mismas. Otros estudios mencionan que solo cuatro elementos son importantes para algunas plantas (García, Martínez, & Torres, 2012).

Los elementos esenciales citados arriba pueden ser suministrados mayormente por el aire y el agua, trece de estos elementos son aportados por el suelo. Estos se clasifican en macro y microelementos según estos cultivos necesiten cantidades en dosis mayores o menores (Buol, Hole, & McCracken, 2016).

Los macroelementos señalados son: S, N, K, Mg, y P. Los microelementos vitales para los cultivos pueden encontrarse en: Cl, Mo, B, Mn, Cu, y Zn.

Con relación a los macroelementos es necesario señalar que los mismos deben hallarse de manera molecular en el suelo para que los cultivos puedan asimilarlos, dándose así la nutrición de las plantas; aunque la presencia de los elementos nutritivos no suele generar una adecuada nutrición de los cultivos, pero en cantidades abundantes podrían asegurar los procesos de germinación, desarrollo y finalmente supervivencia de los cultivos (Fernández, 2018).

Las mencionadas cantidades y su disponibilidad son variables fundamentales en cultivos como la chíá, así como se ha mencionada más arriba. Se podría decir que este equilibrio entre suficiencia y disponibilidad generan procesos en los cultivos que asegurarían la productividad final cuando de cultivos de consumo se esté mencionando (Fuentes, 2016).

Los mencionados macronutrientes pueden distinguirse en dos rangos: Los primarios que contienen a; K, P y N, y los llamados secundarios, dentro de los cuales encontramos los siguientes elementos; S, Mg y Ca (Martín, Rivera, & Pérez, 2013).

Los elementos primarios mencionados vienen a cubrir las necesidades de plantas, es decir, de cultivos que de por si tienen ciertas reservas de elementos; aunque así y todo es necesario aportar al suelo el equilibrio en cantidad y dosificación de sustancias fertilizantes (Martín, Rivera, & Pérez, 2013).

Los aportes de estos elementos como el nitrógeno, que suelen combinarse con otros elementos, permiten su fijación. Esto se da gracias a mecanismos de microorganismos mediante fenómenos físicos que implican la descarga eléctrica presente en la atmósfera (García, Martínez, & Torres, 2012).

El nitrógeno de origen orgánico debe haber recibido influencia de microorganismos para que llegue a los cultivos ya que muchas veces sus moléculas aparecen con gran tamaño y complejidad, haciéndose inaccesible para los vegetales. Por ello se observa una necesaria actividad microbiana en la descomposición de los materiales orgánicos en iones inorgánicos simples, esta transformación es utilizada por los cultivos ya que va dándose gradualmente en el suelo (Buol, Hole, & McCracken, 2016).

De habitual los cultivos utilizan con mucha rapidez el nitrógeno, tal circunstancia suele exceder la velocidad con que el nitrógeno es liberado en el suelo. Es por ello que este elemento suele ser de escasa presencia en consecuencia (Fernández, 2018).

Otro elemento a describir es el fósforo. Este se incorpora de forma bioquímica a los suelos mediante la labor de microorganismos presentes; el fósforo no suele poseer ayuda microbiana

debido a que su origen está en la descomposición de la roca madre que tuvo lugar en el proceso meteórico (García, Martínez, & Torres, 2012).

El porcentaje presente de fósforo en los suelos rara vez supera el 0.50 por ciento. En estas condiciones el fósforo puede clasificarse como orgánico o inorgánico. El fósforo inorgánico es procedente de minerales (apatito por ejemplo), y en menor cantidad por silicatos, donde reemplaza al silicio. También suele hallarse en minerales neo-formados (Madriz, 2012).

Con relación al fósforo orgánico su presencia es fundamental para la productividad de los suelos. Suele hallarse en el humus y otros tipos de materia orgánica y son una fuente rica que permite el desarrollo normal en tiempo y forma de los cultivos (Covacevich, Sainz, Barbieri, & Echeverría, 2015).

El potasio viene a sumarse a la lista de elementos de prioridad, ya que es un mineral presente en gran cantidad en los cultivos debido a que está presente con frecuencia en las rocas. El potasio presente en los suelos suele proceder de minerales potásicos, contenidos en rocas cuya desintegración y descomposición muchas veces hace que no sea necesaria la adición de este elemento que está presente en diversos fertilizantes (García, Martínez, & Torres, 2012).

La presencia de Potasio suele estar condicionada por los tipos de suelos, por ejemplo, los limo-arcillosos son los más ricos. Cabe señalar también que la variación en el contenido de potasio presente en el suelo está afectada por la frecuencia de las pérdidas dadas en la extracción por los cultivos en sí mismos y así también por la erosión que sufren los suelos (Fuentes, 2016).

Los elementos secundarios comprenden un grupo que contiene a Mg, S y Ca. Tal grupo cuando se halla en cantidades suficientes pueden cubrir las necesidades de la mayoría de los cultivos, y en tal sentido, no se precisa de aportes o adiciones de estos elementos al suelo (López, González, & De Llamas, 2017).

El calcio está presente en los fertilizantes, y procede de rocas y ciertos minerales que se hallan en el suelo terrestre. Su contenido varía, por ejemplo, en los suelos no calizos está presente entre un 0.10 y 0.20 por ciento, en cambio, el porcentaje llega a veinte y cinco en suelos calizos (Madriz, 2012).

Se puede mencionar que el calcio es el resultado de la meteorización presente en los minerales. Suele ser tan común que está presente en la mayoría de los suelos en cantidad adecuada, que permite satisfacer la demanda de los cultivos (Fernández, 2018).

Otro elemento es el magnesio que está muy activo en la naturaleza, pero se encuentra en forma mineral. Se cree que la corteza terrestre contiene un 2.3 por ciento y que en los suelos se llega a un 0.5 por ciento. Este elemento junto a los ya mencionados generan procesos de equilibrio y fuerte impacto en el desarrollo de cultivos como es el caso de la chíá (Madriz, 2012).

En contrapartida a los macronutrientes hallamos también elementos indispensables reconocidos como micronutrientes. Estos favorecen el ciclo esencial de los cultivos, pues los completan, y es justamente por la presencia en cantidades pequeñas que son llamados así. La presencia de micronutrientes en el suelo está dada por la función del material de partida y de los mecanismos edafológicos. La concentración de los micronutrientes en los suelos habitualmente es inferior a mil miligramos por kilogramo (Sacsá, 2017).

Los micronutrientes fundamentales para los cultivos en baja concentración son: Cu, Mn y Zn. Es necesario recalcar que debe ser baja su concentración ya que, en índices elevados, se vuelven tóxicos (Sacsá, 2017).

El hierro de gran abundancia en los suelos y rocas figura como uno de los micronutrientes más deficientes. En la corteza continental aparece de manera abundante, alrededor del quince por

ciento, ubicándose en el cuarto lugar como elemento químico de importancia en los cultivos (Ramírez, 2015).

El hierro en la naturaleza aparece bajo la forma de óxidos e hidróxidos; pero en suelos con gran presencia de materia orgánica, el hierro se presenta en forma de quelatos. En la corteza terrestre la presencia del hierro fluctúa en un rango que llega al cinco por ciento, especialmente en los suelos templados. En casos aislados suele llegar a valores cercanos del diez por ciento. Estos valores presentan variaciones dependiendo de la presencia de hierro en las rocas (Madriz, 2012).

El cobre es otro elemento de carácter principal tanto para las plantas como animales. Aunque si bien su presencia es necesaria, las cantidades en exceso pueden producir efectos sumamente tóxicos. El cobre proviene de rocas ígneas encontrándose en gran medida en el basalto (Buol, Hole, & McCracken, 2016).

El cobre se halla presente mayormente en rocas sedimentarias, de manera muy baja en rocas carbonatadas y como se había mencionado abunda en las rocas basálticas, este elemento se suma a la lista por cuanto favorece el desarrollo de la plántula (Sacsá, 2017).

El manganeso se origina por la descomposición de rocas de origen ferro-magnésicas. Se halla en abundancia en la litósfera y es un micro-elemento muy similar al hierro en su química como en su geología (García, Martínez, & Torres, 2012).

El contenido de manganeso normalmente en los suelos aparece hasta unos ochocientos miligramos por kilogramo. Como el hierro estos porcentajes deben considerarse como una indicación de su disponibilidad para los cultivos, debido a que su absorción está limitada por muchos factores (Buol, Hole, & McCracken, 2016).

El zinc tiene una amplia distribución, aunque se halla en cantidades mínimas, aunque suficiente. Se puede encontrar en suelos donde aparece la roca madre. La presencia de este metal es más fuerte en los horizontes superiores que en los inferiores y es que esta presencia es un aspecto importante y necesario de resaltar por cuanto los suelos con la presencia de este elemento permiten el desarrollo de cultivos con este componente (Martín, Rivera, & Pérez, 2013).

Esta presencia de zinc se cree, se debe en parte a residuos de las plantas ya que aparentemente quedan depositados en la superficie del suelo, iniciándose su descomposición, por otra parte cabe señalar que el zinc no emigra descendentemente, debido a quedar absorbido en la materia orgánica y en algunas arcillas (Fernández, 2018).

De lo anterior se infiere que en los suelos en los cuales se dan estos cultivos de extensión (chía, soja, trigo, etc.) es necesaria la presencia de una composición física-química y biológica que propicie el desarrollo de las plantas por cuanto que los elementos químicos mencionados si están presentes en cantidades equilibradas generan los procesos necesarios en la plantas, y evidentemente la ausencia de estos produce alteraciones graves, reduciendo notablemente el desarrollo de los cultivos (Sacsá, 2017).

Características del suelo de Itapúa y Misiones (suelo, planta)

Órdenes de suelos predominantes en los Departamentos de Itapúa y de Misiones, según el Sistema Completo de Clasificación de Suelos de los E.U.A. (Buol, Hole, & McCracken, 2016). Itapúa presenta el orden oxisol (López, González, & De Llamas, 2017). Itapúa y Misiones presentan los órdenes entisol, ultisol y alfisol.

Las siguientes son características del orden oxisol: Son suelos muy intemperizados, y ricos en sesquióxidos, de regiones intertropicales; Uso y recomendaciones de manejo: Agricultura; por su

escaso contenido de nutrientes, tras unos años de cultivo necesita fertilizantes o reforestar (Buol, Hole, & McCracken, 2016).

Características del orden entisol: Son suelos de reciente formación, superficiales, por influencia de factores como la erosión rápida o escasa); Usos: Los sitios inhóspitos para reservas naturales y pruebas militares, los sitios bajos para agricultura primitiva con control de inundación; recomendaciones de manejo: Medidas antierosión en sitios con pendiente; en sitios bajos problema de ingeniería (inundación) a resolver (Buol, Hole, & McCracken, 2016).

Características del orden ultisol: Son suelos forestales con bajo contenido de bases; están asociados a clima cálido húmedo y suelos antiguos, produciendo coloración más rojiza (por el óxido de hierro) que los suelos de zonas frías y templadas; Usos y recomendaciones: Gran potencial agrícola. Posteriormente el suelo se agota y el agricultor debe trasladarse o usar fertilizante; se recomienda usar medidas antierosión en las pendientes (Fernández, 2018).

Características del orden alfisol: Son suelos forestales con alto contenido de bases; Uso: Cultivos de cosecha, heno, pastos, bosques; Recomendaciones de manejo: Usar medidas antierosión en las pendientes; encalar para cultivo de leguminosas (Buol, Hole, & McCracken, 2016).

Interacción y microorganismos

Considerando que el crecimiento se asocia al aumento del volumen de células y tejidos, deben asumirse las fases sucesivas involucradas, siendo estas la división, expansión y diferenciación celular. El proceso de crecimiento de las plantas se caracteriza por la reducción del área foliar, con una incipiente actividad fotosintética y con la finalidad de lograr el brote de hojas (Vidal, 2009).

El incremento del área foliar estará acompañado del aumento considerable la tasa de producción, posteriormente aparecen las flores y la planta continua su desarrollo hasta lograr la madurez.

Asumiendo lo anteriormente expuesto se consolida la premisa asociada a la estrecha relación entre la planta y el medio ambiente, a su vez los diferentes microorganismos presentes realizan modificaciones en las estructuras biológicas, dependiendo de las condiciones ecosistémicas favorables.

Ecosistema.

Efecto del servicio ecosistémico de la polinización en chía (*Salvia hispánica*). La polinización biótica es un bien gratuito ofrecido por el ecosistema, para el bienestar humano, por esto, es considerada un servicio ecosistémico (Vitali, Mazzei, Montero, & Vesprini, 2017).

Este servicio tiene asociado un beneficio económico directo para los productores agrícolas. El discurso dominante establece que necesitamos aumentar la producción de los cultivos, para satisfacer la demanda de la humanidad, que experimenta un crecimiento exponencial (Madriz, 2012).

Para ello, justifica el avance inescrupuloso sobre áreas naturales como única estrategia posible. Incorporar las escasas áreas naturales remanentes a sistemas productivos industriales, sólo trae como consecuencia el aumento de los altísimos costos sociales, ecológicos y ambientales (Sacsá, 2017).

Aumentar la productividad de las áreas ya dedicadas a la producción agropecuaria con tecnologías que no impliquen costos ambientales innecesarios es una posibilidad poco considerada en el contexto del modelo actual de producción extensiva (López, González, & De Llamas, 2017).

El servicio de la polinización es un componente prioritario a ser considerado en este sentido: es necesario generar los conocimientos que permitan aumentar los rendimientos por medio de un mejor uso de este servicio (Ramírez, 2015).

Conforme experiencias realizadas en Argentina, se ha concluido que el servicio de la polinización biótica produce, en las condiciones convencionales de manejo, aumentos considerables en los parámetros productivos analizados (López, González, & De Llamas, 2017).

Es esperable que ante un manejo ambiental más propicio para la diversidad biótica (reducción de uso de agroquímicos y aumento de la especificidad de insecticidas), aumento de la superficie de estos cultivos junto con la conservación de relictos de ambientes naturales, los beneficios productivos del servicio de la polinización sean aún mayores (Vitali, Mazzei, Montero, & Vesprini, 2017).

Identificación de las Variables o Constructos

- Géneros de hongos
- Características de los hongos
- Calidad del suelo

Definición Conceptual de las Variables o Constructos

Géneros de hongos

Conforme avanza la clasificación taxonómica de un reino, se van añadiendo características hasta definir la especie, incluyendo a cada individuo en un género, siendo este un término concreto, capaz de reflejar un nombre científico (Bon, 2004).

Características de los hongos

Existe una amplia variedad de relaciones producidas entre las especies de microorganismos, el ecosistema, el suelo y las plantas; se consideran relevantes aquellas en las

cuales se refleje el beneficio o no producido por los microorganismos. Como posibles impactos generados se destacan aquellos de carácter funcional, como ser la fijación y solubilización de elementos, el control biológico; por su parte el impacto negativo se asocia a la competencia por el espacio, los nutrientes, y las lesiones generadas en los cuerpos vegetales (Cano, 2011).

Calidad del suelo

Capacidad del suelo para desarrollarse y funcionar efectivamente, con propiedades físicas, químicas y biológicas específicas (Campitelli, Aoki, Gudelj, Rubenacker, & Sereno, 2010)

Definición Operacional de las Variables

Tabla 1. Definición operacional de variables

Variables	Dimensiones	Indicadores	Instrumento
Géneros de hongos	Diferentes géneros	Características morfológicas	Observación de características particulares.
Características de los hongos.	Microorganismos	Benéficos y no benéficos.	Identificación morfológica
Calidad del suelo	Clima	Humedad Temperatura Precipitación	Análisis de base de datos

Fuente: Autor, 2018.

Marco Metodológico

Descripción del área de investigación.

Para la investigación se consideraron los departamentos de Itapúa y Misiones como áreas de estudio, interviniendo en cultivos ubicados en parcelas experimentales de cultivo de *Salvia hispánica L.* bajo condiciones estándar.

Se realizó una evaluación de lugar para cerciorar que el mismo era el adecuado, considerando las características del ambiente y las posibles situaciones que pudieran entorpecer el desarrollo normal de las actividades, del mismo modo se analizaron los espacios temporales en los cuales se ejecutarían acciones programadas, y la viabilidad del trabajo en campo.

Según se destaca en la bibliografía consultada, deben considerarse dos dimensiones fundamentales en lo que respecta al área de investigación; tales como la conveniencia y la accesibilidad. El primer criterio se asocia a la definición de casos o situaciones vinculadas al objeto de estudio; el segundo con la posibilidad de recolección de información, el acceso a los datos necesarios y la obtención de los permisos necesarios (Mertens, 2010).

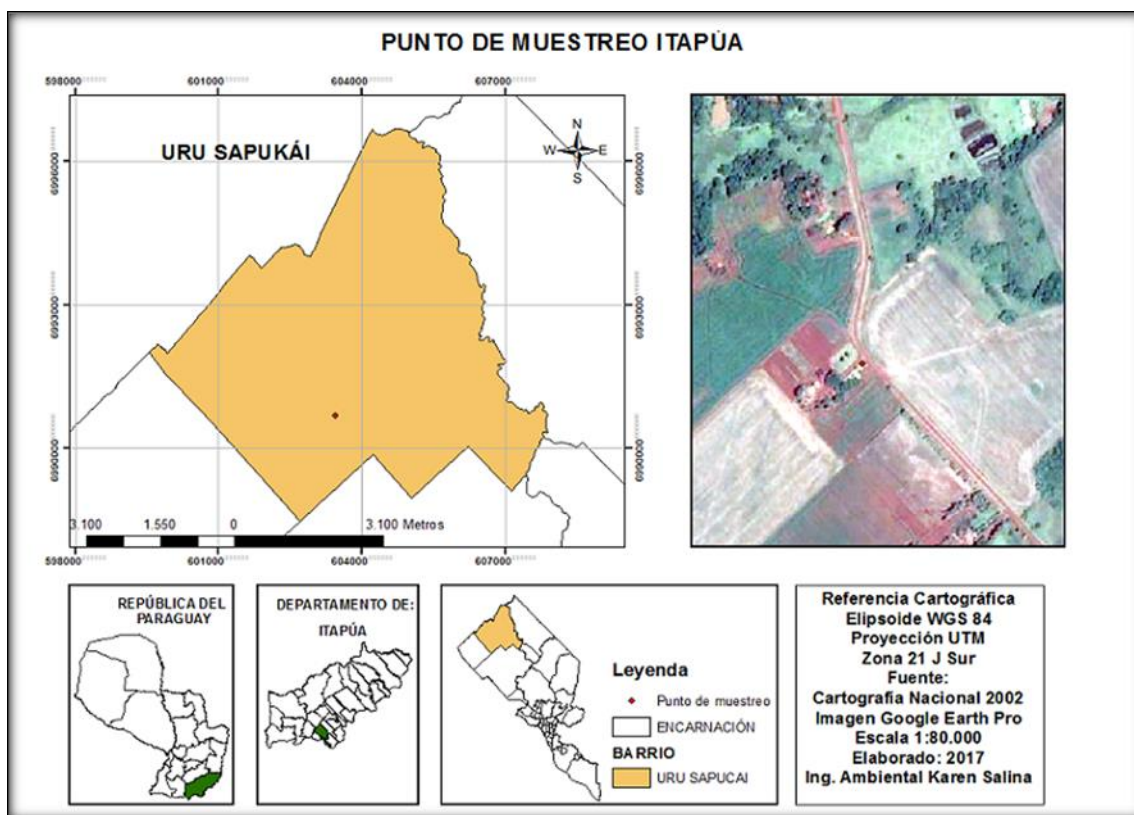
A criterio de la investigadora, entre los aspectos asociados a la conveniencia de la selección de las áreas, se encuentran la ubicación del lugar, el tipo de suelo y la actividad socioeconómica realizada en la zona. En lo que respecta a la accesibilidad se consideró la posibilidad del acceso a la información, la obtención de permisos por parte de los responsables, los controles realizados en la zona, así como las garantías propuestas por los encargados, estos criterios se analizaron en ambas áreas de investigación.

El departamento de Itapúa se ubica al sureste del país, en la región Oriental, entre los paralelos 26°06' y 27°30' de latitud; los meridianos 54°20' y 56°45' de longitud al oeste; contemplando como límites al norte Caazapá y Alto Paraná, al sur y al este el río Paraná y al

oeste Misiones. Es considerado el granero del país por la alta producción agrícola registrada en la zona, con cultivos en cantidad y variedad considerable. La temperatura anual ronda los 21°C, la precipitación promedio 2419 mm (DGEEC, 2018).

La comunidad de Uru Sapukai, distrito de Encarnación dista a 25 km del centro de la ciudad. Específicamente el sitio de experimento se localiza en la finca rural número 2557, en las coordenadas 27°12'09.8"S 55°57'19.2"W.

Figura 1. Punto de muestreo en Itapúa



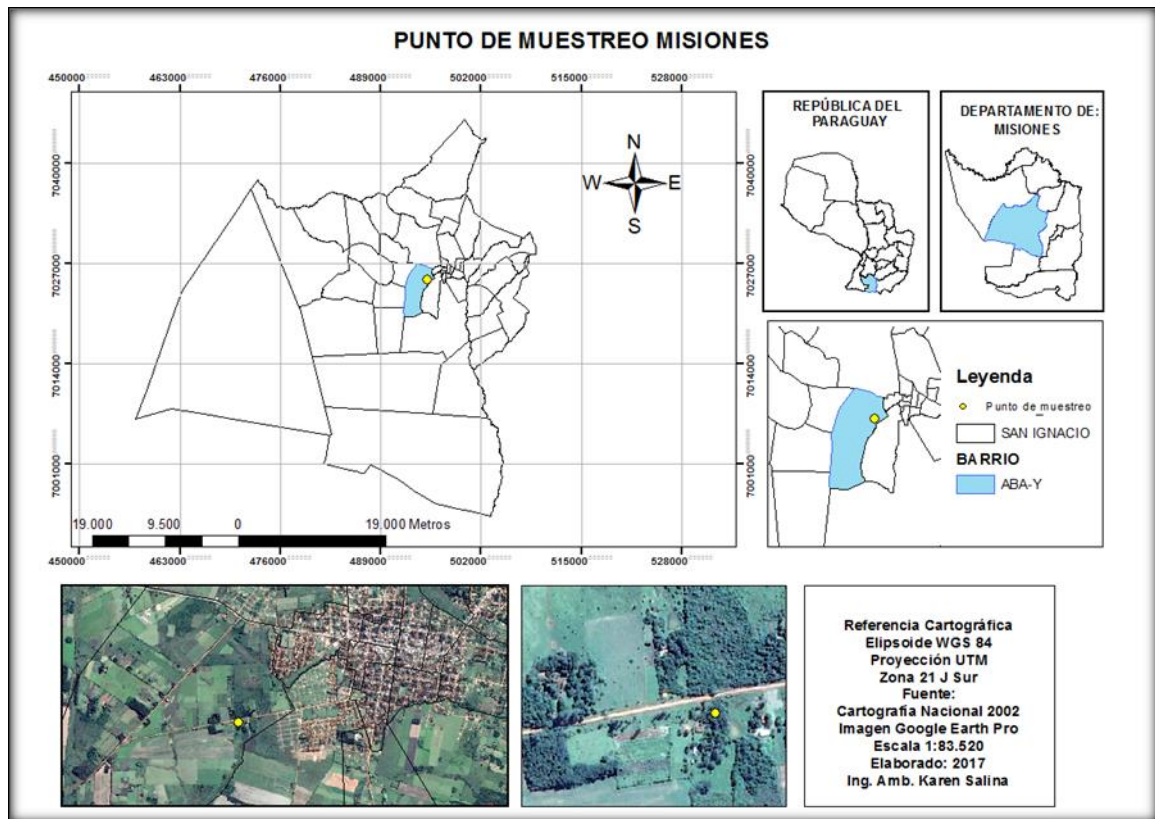
Fuente: Elaboración propia

La zona de muestreo representa tierras agrícolas (intensivas y extensivas), aptas para el desarrollo agrícola de cultivos anuales, sin o con moderadas restricciones, aunque también soportan actividades menos intensivas como cultivos perennes, actividades pecuarias, forestales o de protección. A su vez se registran tierras forestales de protección, que no son aptas para desarrollo agropecuario o de producción forestal, y que deben destinarse únicamente a

actividades de protección. Presentan muy severas limitaciones, solas o combinadas, en erosión, pendiente, profundidad efectiva, textura o pedregosidad, que no permiten su uso para actividades agropecuarias o de reforestación comercial, por lo que solo deben destinarse a actividades de regeneración natural y protección (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 1995).

El departamento de Misiones se encuentra ubicado al sur del país, específicamente en la región Oriental, $26^{\circ}25'$ y $27^{\circ}35'$ de latitud sur entre los paralelos y $56^{\circ}30'$ y $57^{\circ}45'$ de longitud oeste entre los meridianos. Se reconocen como límites al norte los departamentos de Paraguarí y Caazapá; al este Itapúa, al oeste Ñeembucú y al sur el río Paraná. Se caracteriza por desarrollar extensas actividades agropecuarias (DGEEC, 2018); por lo cual no se registran considerables datos estadísticos asociados a los sistemas de producción de cultivos como el considerado en la investigación. La temperatura anual se aproxima a los 22°C , con una precipitación promedio de 2102 mm, según especifica la fuente anteriormente mencionada.

La comunidad de Aba'y, perteneciente al distrito de Misiones dista a 1,5 km del centro de la ciudad. Específicamente el sitio de experimento se localiza en la finca rural número 21749, en las coordenadas $26^{\circ}52'09.4''\text{S}$ $57^{\circ}06'26.9''\text{W}$

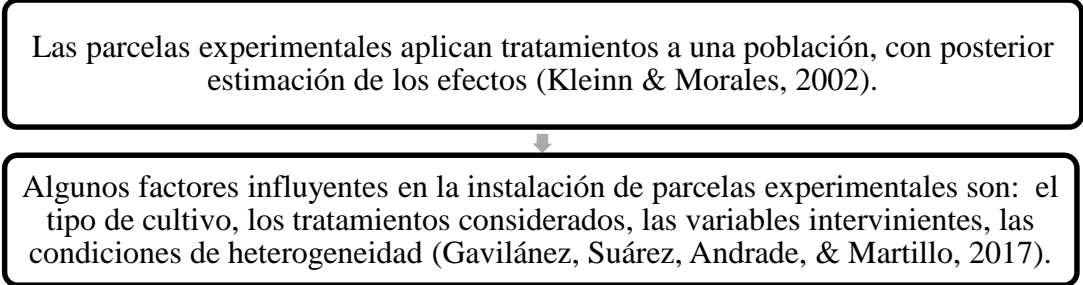
Figura 2. Punto de muestreo en Misiones.

Fuente: Elaboración propia

La zona de muestreo representa un área de conservación ecológica o especial, son suelos muy frágiles y con severos problemas de drenaje, no aptos para desarrollo agropecuario intensivo, que por la riqueza de sus recursos ecológicos deben destinarse a protección. Así como tierras agrícolas (intensivas y extensivas) aptas para desarrollo agrícola, que comprenden las tierras aptas para desarrollo agrícola intensivo de cultivos anuales, sin o con moderadas restricciones, aunque también soportan actividades menos intensivas como cultivos perennes, actividades pecuarias, forestales o de protección.

Diseño de las unidades experimentales

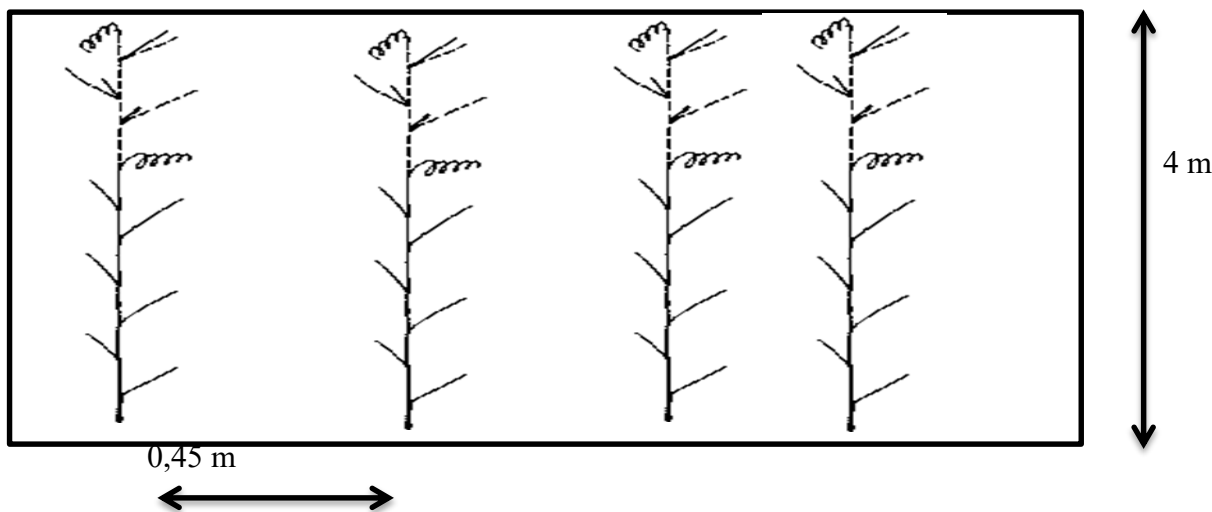
Figura 3. Diseño de unidades experimentales.



Fuente: Elaboración propia

En ambos departamentos la unidad experimental estuvo compuesta por fincas rurales de dimensiones correspondientes a un largo de 4 m y fachada de 2 m, mientras que las muestras representativas, fueron extraídas a 20 cm de la superficie, considerando 0,45 m de distancia entre los surcos, contando con 4 hileras, realizando el muestreo en las 2 hileras centrales, descartando las demás por el efecto borde (Avilán & Mozón, 1974).

Figura 4. Muestreo de plantas en parcela experimental.



Fuente: Elaboración propia

Muestreos.

Muestreo de plantas.

Los procedimientos de muestreo realizados no intervienen en las actividades realizadas por los microorganismos y las cantidades registradas de los mismos. Se garantizó la selección de muestras representativas, libres de alteraciones tal como lo indica la bibliografía (Atlas & Bartha, 2005). Para lo anterior se identificaron y registraron los puntos de muestreo de forma precisa, utilizando sistemas de georeferenciación y anotaciones de campo puntuales.

La toma de muestras fue representativa, seleccionando las mismas al azar, estratificada, la misma se caracterizó por la división de la unidad experimental en subunidades homogéneas, cuyas muestras fueron conformadas al azar, descartando situaciones de escasa uniformidad, considerando la propuesta de establecida por la bibliografía de referencia (Atlas & Bartha, 2005).

Se procedió al análisis de variables según los requerimientos asociados a cada uno de los objetivos propuestos.

Siendo el primer objetivo específico el de identificar los géneros de hongos que se encuentra en la *Salvia hispánica*, se llevó a cabo el aislamiento de los microorganismos presentes de la siguiente manera:

Recolección y transporte de muestras de plantas.

Para recolectar las muestras de tejido infectado en el campo, se recurrieron a tres elementos, los mismos fueron: papel adsorbente, bolsas de papel y rótulos.

Las muestras de tejido, distinguiendo raíz, tallo y hoja; envueltas en papel absorbente, se colocaron en bolsas de papel. Se asume el descarte de las bolsas plásticas para este procedimiento, considerando la escasa porosidad de las mismas y por lo tanto no contribuyen a la acumulación de humedad en su interior; la misma favorece el crecimiento de microorganismos saprofitos, que dificultarán el aislamiento del hongo presente en la *Salvia hispánica L.*

Las bolsas de papel se transportaron claramente identificadas, los rótulos contenían los siguientes datos: el lugar de toma de muestra, la fecha de recolección, datos del recolector, coordenadas asociadas a la latitud y longitud del lugar de recolección (Castellanos, Jara, & Mosquera, 2011)

Muestreo de hongos.

Aislamiento y purificación de muestras en laboratorio.

Aislamiento

Para la siembra de las muestras fueron preparados medios de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar) siguiendo el procedimiento descrito por la bibliografía de referencia (Castellanos, Jara, & Mosquera, 2011) :

- ✓ Se pesó el PDA deshidratado.
- ✓ Se cargó en un matraz 500 ml de agua destilada y se le agregó el PDA deshidratado.
- ✓ Se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 121° C.
- ✓ Se dejó enfriar un poco, se le agregó el Clorafenicol como antibiótico para evitar el crecimiento de bacterias contaminantes. Se vació la suspensión en cajas de Petri en la campana de flujo laminar con los cuidados de contaminación correspondiente (lavado y desinfección de las manos, esterilización de los bordes de las cajas de Petri y el matraz con la llama del mechero durante el vaciado).
- ✓ Se reposó el medio de cultivo hasta solidificar.

El aislamiento se realizó considerando el material vegetal pertinente, el cual fue cortado en trozos, posteriormente fue desinfectado utilizando hipoclorito de sodio al 2,5 %, por un tiempo aproximado de 3 minutos, los trozos desinfectados fueron enjuagados con agua destilada estéril en una caja Petri.

Se colocaron los trozos de muestra sobre toallas de papel estériles durante un espacio temporal de 10 minutos. Una vez secos los trozos fueron tomados con una pinza previamente esterilizada, para finalmente ser sembrados en una caja de Petri bañada con el medio de cultivo PDA; la incubación fue realizada durante 7 días a una temperatura de 24°C, situación asociada a la producción de masas de conidias y micelio (Castellanos, Jara, & Mosquera, 2011)

Purificación

El proceso de purificación partió de una sola conidia, la finalidad de la aplicación del método se asoció a evitar la mezcla de cepas.

Considerando el material bibliográfico de referencia, el procedimiento fue el siguiente:

- ✓ Se tocó con un ansa flameado la masa de conidias, logrando así que varias de ellas se adhieran al material utilizado.
- ✓ Las muestras fueron desprendidas del ansa utilizando entre 4 y 6 gotas agua destilada estéril, para ser depositadas en el medio de cultivo PDA contenido en una caja de Petri.
- ✓ La incubación en las cajas contempló 24 horas a 20°C, posteriormente inició la germinación de las conidias, posibilitando el traslado individual.
- ✓ La elección de la conidia germinada, concluyó con el traslado de la misma a una caja de Petri para la incubación a 24 °C durante 10 días; situación que posibilitó procesos de aislamiento específico del hongo (Castellanos, Jara, & Mosquera, 2011).

Aislamiento de punta de hifa

Este método se utilizó para producir un cultivo puro proveniente de un solo conidio, para ello se cumplieron los siguientes pasos:

- ✓ Se colocó en un vaso de precipitado una cantidad conveniente de agar agua caliente
- ✓ Se sembró el hongo con un ansa en la porción de la lámina que tiene la película del medio y estirla cuidadosamente.
- ✓ Se incubó por un periodo estimado entre dos o tres días.
- ✓ Se observó en cámara de flujo laminar al microscopio las colonias que se han formado.
- ✓ Se seleccionó la colonia cuyo aislamiento fue más notorio.
- ✓ Se escogió una hifa solitaria y cortarla.
- ✓ Se colocó la punta cortada en placa Petri conteniendo PDA (Cañedo & Ames, 2004)

Este medio es pobre, en el mismo el micelio creció en forma poco común, fue utilizado para aislamientos de punta de hifa. Considerando la consistencia requerida por el medio para una situación particular requirió una variación en la cantidad de agar.

Técnica de la cinta adhesiva

Una vez que los hongos crecieron, se recurrió a la aplicación de la técnica de la cinta pegante, debido a su capacidad de conservación original de esporas y segmentos fúngicos, con escaso grado de alteración. Para dicho procedimiento se sostuvo con pinzas la cinta adhesiva, con el lado adherente expuesto hacia afuera, ejerciendo presión sobre la superficie a analizar, posteriormente se colocó la cinta en un portaobjetos, adicionando una gota de azul de lactofenol (Koneman, 1987).

Observación del cultivo microscópico.

Para las observaciones fue utilizado un microscopio electrónico considerando un aumento de 40X, realizando barridos para una mejor observación, el micelio aéreo se unió a la superficie de la cinta, procedimiento que facilita la separación de las colonias.

Las esporas y los cuerpos fructíferos son las características más importantes de los hongos utilizadas para la identificación de los mismos, considerando que estos órganos se examinan directamente en el microscopio una vez concluida la purificación de los cultivos (Agrios, Plant Pathology, 2008).

Siendo el segundo objetivo específico establecer los microorganismos benéficos y no benéficos que se encuentran en el cultivo de salvia hispánica en las regiones (Misiones, Itapúa), se procedió a la identificación de las características propias de cada uno de los hongos reconocidos.

Identificación morfológica

Para la identificación de los microorganismos benéficos y no benéficos que se encuentran en el cultivo de *Salvia hispánica L.* en las regiones (Misiones, Itapúa), se aplicó una metodología que facilitó la observación de las características morfológicas a nivel microscópico, así como la descripción de los efectos de la acción fúngica considerando un manual de fitopatología establecido como bibliografía de referencia (Bergamin Filho, Kimati, & Amorin, 1995).

Las características morfológicas consideradas durante el proceso de identificación fueron las siguientes: velocidad de crecimiento, pigmentación, aspecto del micelio a nivel aéreo, nivel de colonia de cultivo, tamaño, forma, coloración de micro y macroconidios, presencia o ausencia de clamidosporas; así como el tamaño y la forma de la cabeza, vesícula, métula (Carrillo & Gómez Molina, 2007).

En cuanto a la identificación de presencia de micorrizas en las raíces de la *Salvia hispánica*, para los cuales realizaron muestreos en ambas localidades, se extrajeron muestras de suelo con raíces de cada unidad experimental a una profundidad de 0 a 10 cm. En el laboratorio se procedió a la separación de las raíces del suelo posteriormente fueron lavadas con agua destilada, de cada muestra se tomaron 3 g de raíz peso fresco, fueron cortadas en segmentos de 1 a 2 cm, colocadas en tubos de ensayos, cubiertas con una solución 10% KOH y llevadas a baño termostático a 90 °C durante 15 minutos, transcurrido el tiempo se retiró el KOH y se enjuagaron con agua. Luego las raíces se dejaron reposar con una solución HCl durante 10 minutos a temperatura ambiente. Finalizado ese tiempo se lavaron con agua y se secaron con papel. Se agregó colorante (mezcla de: ácido láctico: 325 ml, glicerol: 300 ml, agua destilada: 400 ml y azul de tripán: 0.65 g), seguidamente se colocaron las raíces en el baño termostático durante 20 minutos a 90°C, se decantó el colorante y se lavó el exceso con abundante agua. Por último, las raíces se transfirieron a una solución de ácido láctico y glicerol para su conservación hasta la observación microscópica (Giovannetti & Mosse, 1980).

Para la observación microscópica las raíces se cortaron en segmentos de 1 a 2 cm de longitud, fueron colocadas en láminas 10 a 20 segmentos entre porta y cubre objeto, para su observación se hicieron tres pasajes equidistantes por segmento, la presencia de una estructura micorrízicos se tomó como valor uno, su ausencia se calificó con valor cero para obtener el % de colonización micorrízicos de las raíces observadas (Giovannetti & Mosse, 1980).

El reconocimiento morfológico se realizó en las instalaciones del laboratorio de la Facultad de Ciencias y Tecnología, ubicado en Encarnación, Paraguay.

Identificación molecular

Obtención de DNA

La obtención de DNA en condiciones de calidad, considerando una especie en particular se logra a través de ensayos con diferentes métodos de aislamiento, siendo el método Doyle & Doyle 1987 el más efectivo y económicamente rentable. Dicho método consiste en aumentar la cantidad de buffer de extracción y el uso de isopropanol para la precipitación.

Para ello se procedió a extraer el DNA utilizando un kit comercial DNeasy Plant Mini, siguiendo estrictamente el protocolo establecido por el fabricante. Fueron extraídos entre 50 y 100 mg de micelio fresco, para luego ser transferidos a un tubo de microcentrifuga de 1,5 μ L (tubos Eppendorf), se adicionaron 400 μ L de Buffer AP1 Y 4 μ L de RNasa La agitación se realizó en vortex y la incubación a 65 °C durante 10 minutos a baño María agitando por inversión 2 ó 3 veces. Se adicionaron 130 μ L de Buffer P3, se mezcló por inversión y se incubaron por 5 minutos en hielo. La mezcla fue colada en una columna de QIAshredder Mini spin y se centrifugo por 2 minutos a 14000 rpm. El líquido que paso por la columna fue transferido a un nuevo tubo de microcentrifuga de 2 μ L adicionando 1,5 volúmenes de del buffer AP3/E; se colocó en una columna DNeasy Mini spin y se centrifugó por 1 min a 8000 rpm. Se transfirió en un nuevo tubo de 2 μ L, se adiciono 500 μ L de Buffer AW2 y centrifugo por 1 minuto a 8000 rpm. Se adiciono otros 500 μ L de Buffer AW2, y centrifugar por 2 minutos a 14000 rpm, transfiriendo la columna DNeasy Mini spin a un tubo nuevo. Finalmente se adiciono 100 μ L de Buffer AE para la elución, incubando por 5 minutos a temperatura ambiente (15-25°C) posteriormente se centrifugo por 1 minuto a 8000 rpm (Quiagen, 2012).

La calidad del DNA extraído fue verificada por electroforesis en gel de agarosa al 0,4 % utilizando el Buffer de corrida 1 x TAE y Gel Red. Las muestras de DNA analizada fueron

mezcladas con 1/1 de volumen de Loading 6x (Azul de bromofenol, xilen-cianol, glicerol y EDTA) y depositadas en el pozo, se corrió en una cámara de electroforesis horizontal (Biosciences Amersham) a 120 v por 15 min. Se observó el gel mediante el transiluminador de UV visualizando así las bandas de DNA. Las muestras de ADN se almacenaron a 4° C hasta su uso, tal como lo especificó la bibliografía de referencia (Babu, Saxena, Srivastava, & Arora, 2007).

Al obtener el DNA se enviaron las muestras hasta las instalaciones del laboratorio de biotecnología, perteneciente a Macrogen, sito en Maryland, Estados Unidos.

Análisis filogenético

La reconstrucción filogenética se llevó a cabo con un análisis concatenado de la región del espacio transcrito interno (ITS) y el gen factor de elongación (Tef1) usando inferencia Bayesiana (BI) y Máxima Verosimilitud (ML). Se utilizaron secuencias correspondientes al complejo de especies de *Fusarium solani*, recientemente delimitadas las especies (Sandoval-Denis, Guarnaccia, Polizzi, & Crous, Symptomatic Citrus trees reveal a new pathogenic lineage in *Fusarium* and two new *Neocosmospora* species, 2018). Las secuencias consenso se obtuvieron usando el software Geneious 3.2 (Kearse, et al., 2012). Posteriormente los alineamientos se llevaron a cabo utilizando el servidor en línea MAFFT aligment. Para BI se utilizó el software MrBayes 3.2.6 (Ronquist, et al., 2012).

El análisis se llevó a cabo mediante cuatro Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) y 1,500,000 iteraciones. Previamente, se seleccionaron los mejores modelos evolutivos para cada marcador usando el software JModelTest (Posada, 2008) y se implementaron en el análisis (GTR+I+G para ITS, y HKY+G para Tef1). Posterior al número de iteraciones se alcanzó una desviación estándar de 0.0079, obteniendo un total de 2235 árboles muestreados. De este total se

obtuvo el árbol consenso previamente descartando el 25% de los datos como fase de calentamiento del análisis (burnin-phase).

En cuanto al método de ML, se utilizó el software raxmlGUI (Silvestro & Michalak, 2012) Se realizó un análisis rápido + Bootstrap de 1000 repeticiones, además de implementar el modelo GTR+I+G. Los árboles se visualizaron en el software FigTree v1.3.1 (Rambaut, 2009).

En ambos análisis, se utilizó a FSSC 30 NRRL 22579 como fuera de grupo.

Muestreo de suelo.

Las muestras de suelo fueron recolectadas utilizando una pala para extracción, considerando una distancia de 20 cm desde la superficie del lugar. De manera previa y como condición de garantía y seguridad de las muestras, el instrumento de recolección fue descontaminado.

El procedimiento se realizó en un terreno previamente dividido en áreas uniformes en lo que hace a la topografía del lugar, de las parcelas estudiadas, se obtuvo una muestra correspondiente a cada una de ellas, lográndose así la representatividad de la misma.

El procesamiento y posterior almacenamiento de la muestra incluyó como medida previa el paso a través de un tamiz de 2 mm, contribuyendo al intercambio gaseoso de las partículas, proceso realizado a temperatura ambiente, almacenadas en oscuridad, con libre flujo de aire, conforme a las indicaciones establecidas en la bibliografía de referencia (Burlage, Atlas, Stahl, Geesey, & Sayler, 1998).

Asumiendo las condiciones requeridas, se realizó un almacenamiento en bolsas plásticas cerradas de manera holgadas, se evitaron las condiciones anaeróbicas en los fondos.

Las características físico-químicas reconocidas en ambas regiones fueron determinadas por medio de las diferentes metodologías aplicadas para la distinción de cada uno de los

parámetros utilizados. Aquellos encontrados en el suelo, contribuyen a la determinación del estado de fertilidad del mismo, así como la limitación del crecimiento de las plantas. Entre ellos se distinguen:

Materia orgánica determinada por digestión húmica:

El carbono en los suelos puede encontrarse en forma de distintos compuestos; entre ellos materia orgánica. La determinación de dicho valor se basa en la oxidación del carbono, en el caso de la vía húmeda se basa en la oxidación parcial producida por un agente oxidante, el grado de oxidación dependerá de las condiciones bajo las cuales se realice la reacción, con o sin calor externo.

Este método es aplicable a tomas de muestra que contengan menos de 20 mg de C en valor absoluto. La rentabilidad de los resultados es dudosa si el suelo contiene un porcentaje de M.O. superior al 15%. La mínima cantidad de muestra pulverizada a tomar es de 0,0625 g, por debajo de este peso la reproducción de los resultados es baja. En el caso de muestras muy ricas en M.O. es preferible duplicar la cantidad de dicromato potásico y ácido sulfúrico a disminuir excesivamente el peso de muestra. La sensibilidad del método es de 0,3 a 0,8% de materia orgánica.

El procedimiento realizado fue el siguiente:

- ✓ Se pulverizó una muestra de 10 g de suelo. El mismo debió pasar a través de un tamiz de 0,2 mm.
- ✓ Se pesaron 0,5 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 ml.
- ✓ Se añadieron 10 ml de solución 1 N de dicromato de Potasio.
- ✓ Se añadieron 20 ml de ácido sulfúrico concentrado
- ✓ Se dejó el matraz Erlenmeyer en reposo durante 20 minutos.

- ✓ Se añadieron 100 mL de agua desmineralizada y se dejó enfriar. Se añadieron 10 mL de ácido fosfórico concentrado
- ✓ Se añadieron 5 gotas del indicador (difenilamina) (R-4). Se valoró con la solución ferrosa
- ✓ Por diferencia se calculó el dicromato gastado, equivalente al carbono orgánico contenido en la muestra.
- ✓ Se aplicó la siguiente fórmula;

$$\%C - orgánico = (V_B - V_M) \cdot 10^{-3} \cdot N_{Fe} \cdot \frac{12}{4} \cdot \frac{1}{p} \cdot \frac{100}{(100 - \%H)} \cdot f$$

En la cual:

V_B = Volumen de sal ferrosa gastada en el ensayo en blanco.

V_M = Volumen de sal ferrosa gastado con la muestra.

N_{Fe} = normalidad de la sal ferrosa.

P = peso de la muestra en gramos.

F = factor de recuperación.

Para convertir el carbono orgánico a materia orgánica, se multiplica el resultado obtenido, por el factor de Van Bemmelen, que según análisis estadísticos se supone que el contenido de materia orgánica del suelo es asociado al 58% de carbono orgánico. Definiéndose como sigue:

$$\%M.O = \% C \cdot 1,724$$

Expresándose de este modo el resultado en % de materia orgánica, según lo estipulado por el material de referencia (Rad & López).

Determinación de fósforo, potasio, cobre y zinc, por el método de Mehlich-1

El método utilizado para la extracción de múltiples elementos, también denominado método del doble ácido diluido consistió en la extracción del fósforo combinado con aluminio,

hierro, todos en forma de fosfato de Calcio. Considerando la fuente bibliográfica de referencia, el procedimiento fue el siguiente (Department of agronomy of the Kansas State University, 2000):

- ✓ Se pesaron 5 g de suelo, previamente tamizado, para posteriormente transferirlos a un Erlenmeyer de 50 ml.
- ✓ Se agregaron 29 ml de solución Mehlich 1, agitando durante un tiempo aproximado de 5 minutos, a temperatura ambiente menor a 24 o 27 °C.
- ✓ Se filtró utilizando papel de filtro N° 2.
- ✓ Se realizó un análisis por colorimetría, observando el contenido de P en el blanco y los patrones que contengan la solución Mehlich 1.
- ✓ El cálculo aplicado fue el siguiente:

$$P \text{ extractante } \left(\frac{mg}{kg} \right) = \left[\text{Concentración de P en extracto Mehlich 1 } \left(\frac{mg}{L} \right) \right] \cdot \left[\frac{0,020 L \text{ extracto}}{0,005 kg \text{ de suelo}} \right]$$

La determinación de cationes intercambiables de Ca, Mg, Al y Manganeso

Se realizó por el utilizando una solución de acetato de amonio amortiguada, con posteriores mediciones de la concentración de cada catión por medio de absorción atómica.

Según la bibliografía consultada el procedimiento consiste en:

- ✓ Se pesaron 5 g de suelo en un Erlenmeyer de 125 ml.
- ✓ Se agregaron 25 ml de acetato de amonio de 1 molar y agitar 30 minutos.
- ✓ Se filtró al vacío, el filtrado se recolectó en valores volumétricos de 100 ml.
- ✓ Se lavó el suelo con pequeñas cantidades de la solución de acetato de amonio y se completó el volumen con agua doblemente delonizada.
- ✓ El filtrado conforma el extracto de suelo a partir del cual se determinaron los cationes de interés (McKean, 1993).

La determinación del contenido de azufre por el método del fosfato de Calcio

Considerando que las diversas fuentes de azufre que se asocian a la cobertura de los requerimientos de las plantas, siendo algunas de estas: el dióxido de azufre atmosférico, los fertilizantes y el agua de riego la calibración de resultados es difícil debido a la movilidad del azufre en el suelo y la mineralización de azufre orgánico, la concentración de S en el suelo normalmente ronda entre los 6 y los 12 μg . Las soluciones extractantes que retiran el sulfato soluble y adsorbido en el suelo han sido correlacionadas muy bien con el azufre aprovechado por la planta.

El procedimiento empleado fue el siguiente:

- ✓ Se pesaron 10 g de suelo en un Erlenmeyer de 125 ml.
- ✓ Se agregaron 50 ml de fosfato de calcio de 0,008 molar y agitando durante 30 minutos.
- ✓ Se utilizó papel de filtro doble, trabajando con la suspensión por gravedad en un tubo de ensayo.
- ✓ Se tomaron 10 ml de las muestras.
- ✓ Se adicionaron 2 ml de la solución semilla.
- ✓ Se agregaron 4 ml de gelatina, agitando suavemente.
- ✓ Se dejó reposar la solución 45 minutos.
- ✓ Se calibró el espectrofotómetro con los patrones a una longitud de onda de 420 nm.
- ✓ Se leyó la turbidimetría de las muestras.
- ✓ Se calculó la concentración de azufre en μg de azufre en suelo (McKean, 1993).

Determinación del contenido de hierro por el método del oxalato de amonio

El método utiliza Oxalato de amonio 0,2 M considerando un pH cercano a 3, el extractante actúa a través de la formación de complejos solubles de hierro y aluminio, además

del oxalato, se realiza en la oscuridad, a fin de prevenir la reducción fotoquímica del óxido de hierro cristalino, el tiempo de extracción ronda las 4 horas (Hernández & Meurer, 1997).

El contenido de boro en muestra, determinado por el método del agua caliente

Considerando la asociación del boro con las funciones fisiológicas Este elemento constituye un macronutriente esencial para el suelo y las plantas. El procedimiento de extracción con agua caliente requiere de una solución de CaCl_2 0,01 a 0,02 N en lugar de agua, debido a que se asume que la solución debe ser incolora, por lo tanto, no se necesita utilizar carbón para decolorar durante la extracción (Montoya, et al., 2003).

La determinación de la textura aplicando el método Bouyoucos

El método para cuantificar las fracciones texturales utilizó los primeros 20 cm del perfil de suelo en el área de muestreo, se miden el contenido de arcilla, limo y arena, se realiza una dispersión química con hexametáfosfato de sodio, y una física en una batidora especial. Se coloca luego la suspensión en una probeta de 1 litro, se enrasa y se introduce el hidrómetro. Se lee en la escala el valor medido y luego se hacen los cálculos para determinar los porcentajes de las distintas fracciones (Bouyoucos, 1962)

El nivel de pH en suelo

Este parámetro se encuentra vinculado a la composición de cationes de intercambio, la concentración de sales, la presencia de metales alcalinos y la composición general.

La medición de este parámetro se realizó con un pHmetro mezclando 20 g de muestra de suelo con agua destilada, luego se agita la muestra y se registra el valor observado. El mismo fue determinado utilizando un pHmetro, se mezclaron 20 g de suelo en agua destilada

Para determinar la interacción de los microorganismos con el ecosistema, se utilizaron los valores de temperatura máxima, mínima, humedad, precipitación, radiación solar y los indicadores de calidad de suelo, haciendo una correlación entre los años y los microorganismos encontrados.

Enfoque de la Investigación

Investigación con enfoque cuantitativo.

La investigación parte de una idea claramente delimitada, deriva en objetivos, preguntas de investigación, determinación de variables y el establecimiento de un plan de acción. La medición de variables se realiza en un contexto determinado, el análisis de las mismas se realiza por medio de métodos estadísticos, facilitando el establecimiento de recomendaciones.

Diseño de Investigación

Diseño no experimental

El trabajo no contempló manipulación de las variables, se caracterizó por el análisis de los parámetros considerados, la vinculación de estos con el fenómeno estudiado y la descripción de la problemática en su entorno real.

Tipo de Investigación

Transversal de carácter descriptivo

Los datos fueron recolectados en un espacio de tiempo previamente establecido, con el objeto de describir y analizar las variables en el intervalo definido.

Nivel de Conocimiento Esperado

El investigador pretende conocer de manera precisa las características de las variables analizadas.

Instrumentos y Técnicas de Recolección de Datos

Tabla 2. Indicadores de logro de objetivos.

Fuente: Elaboración propia

Objetivo	Variable	Indicadores
Identificar los géneros de hongos presentes en cultivos de Chía (<i>S. hispánica</i>) ubicados en fincas rurales de Itapúa y Misiones	Presencia de hongos	Número de Géneros de hongos Determinado por características morfológicas: <ol style="list-style-type: none"> 1. Necrosis 2. Manchas en las hojas (coloración) 3. Endo 4. Ecto 5. Preponderancia 6. Producción de toxinas 7. Resistencia en ausencia de hospederos
Especificar los hongos benéficos y no benéficos que se encuentran en cultivos de Chía (<i>S. hispánica</i>) ubicados en fincas rurales de Itapúa y Misiones.	Características de los hongos	Género de hongos benéficos Género de hongos no benéficos. Identificación morfológica por: <ol style="list-style-type: none"> 1. Velocidad de crecimiento 2. Pigmentación. 3. Aspecto del micelio a nivel aéreo. 4. Nivel de colonia de cultivo. 5. Tamaño. 6. Forma. 7. Coloración de micro y macroconidios. 8. Presencia o ausencia de clamidosforos. Identificación molecular por: <ol style="list-style-type: none"> 1. Obtención de DNA, considerando especie en particular.
Describir la relación existente entre las condiciones ambientales en las que se desarrolla el cultivo de Chia (<i>S.</i>	Calidad de suelo	Identificación de características fisicoquímicas, aplicación de análisis específicos para cada parámetro: <ol style="list-style-type: none"> 1. Materia orgánica por digestión húmica.

hispánica) y la presencia de hongos, en fincas rurales de Itapúa y Misiones

2. Fosforo, Potasio por el método de Mehlich-1.
3. Cationes intercambiables de Ca, Mg, Al, por medio de absorción atómica.
4. Determinación de textura por el método Bouyoucos.
5. Nivel de pH aplicando sensores asociados al método electroquímico.
6. Temperatura max y min.
7. Precipitación.
8. Humedad.
9. Radiación solar.

Marco Analítico

Análisis de Datos y discusiones.

Géneros de hongos presentes del cultivo de Chía (*S. hispánica*) en fincas rurales de Itapúa y Misiones

Durante los años en los que se realizó este estudio sobre el cultivo de chía en los Departamentos de Itapúa y Misiones, se registró la presencia de hongos y micorrizas (Tabla 1). Entre los hongos, se registraron a *Fusarium equiseti*, *F. solani*, *Beauveria* spp. y *Trichoderma* sp. pertenecientes al orden Hypocreales (Clase Sordariomycetes) (Druzhinina, et al., 2011) (Michielse & MJN, 2009) (Sung, et al., 2007), *Colletotrichum* spp. del orden Glomerellales (Clase Sordariomycetes) *Curvularia* spp. y *Alternaria* spp. del orden Pleosporales (Clase Dothideomycetes) (Kirk, Cannon, Minter, & Stalpers, 2008) *Sclerotinia* spp. del orden Helotiales (Clase Dothideomycetes) (Wang, Xu, Gao, & Hao, 2009), *Macrophomina phaseolina* y *Lasiodiplodia* sp. del orden Botryosphaeriales (Clase Dothideomycetes) (Crous, et al., 2006) (Barr, 1987), *Rhizoctonia* spp. del orden Hymenomycetales (Clase Heterobasidiomycetes) (Ogoshi, 1975), y *Mucor circinelloides* del orden Mucorales (Clase Zygomycetes) (James, et al., 2006)

En el primer año de muestreo, las especies *F. equiseti* y *F. solani* se encontraron asociadas al cultivo de chía en los departamentos de Itapúa (Uru Sapukai) y Misiones (San Ignacio), con la diferencia de que en Itapúa estos hongos fueron aislados del tallo y en Misiones, de hojas. Hongos del género *Alternaria* spp fueron encontrados también en ambos departamentos, teniendo como órgano de origen, hojas muestreadas. Además, en Itapúa se

registraron especies de *Curvularia spp* y *Rhizoctonia spp*, mientras que en Misiones se hallaron especies de *Sclerotinia spp* y *Beauveria spp*, todos aislados a partir de hojas.

En el año 2017, se identificaron nuevamente especies de los géneros *Curvularia spp* y *Rhizoctonia spp* en el departamento de Itapúa, determinándose también la presencia de hongos de los géneros *Colletotrichum spp* y *Trichoderma sp*. Además, se determinó la presencia de micorrizas. Por otro lado, los hongos registrados en el Departamento de Misiones fueron los pertenecientes a los géneros *Sclerotinias spp*, *Fusarium equiseti* y *Trichoderma sp*, apareciendo también ese año micorrizas asociadas al cultivo.

A partir de las muestras obtenidas durante el ciclo de producción del año 2018, se determinó la presencia de *F. equiseti* y *F. solani*, así como fue registrado en las muestras del año 2016, hongos del género *Trichoderma sp* aparecieron nuevamente en este ciclo de producción, añadiéndose a la lista los hongos *Macrophomina spp*. y *Lasiodiplodia spp*. De igual manera, en Misiones se registró la presencia de *F. equiseti* y *F. solani*, a partir del tallo y raíz, respectivamente y por primera vez, se constató la presencia de *Mucor circinelloides*, aislado de tallos de chíá.

Existe poca información sobre las enfermedades que pueden afectar a la chíá, menos aún de las regiones productoras en el Paraguay. En el noreste argentino, se han determinado algunas enfermedades que pueden afectar al cultivo, como la marchitez generalizada asociada con *Fusarium sp.*, la clorosis de las hojas producida por *Phytophthora sp.*, las manchas carbonosas en el tallo ocasionadas por *Macrophomina phaseolina* y la necrosis en hojas producida por *Rhizoctonia solani*. Así también, se ha detectado la presencia de *Sclerotinia sclerotiorum* en la provincia de Tucumán, Argentina (Aguaysol, Robles-Terán, González, Lobo-Zavalía, & Ploper, 2014). Por su parte otra bibliografía (Yeboah, et al., 2014), reportaron agentes patógenos en

semillas de chía, como *F. solani*, *Pallidoroseum* sp., *Rhizopus* sp., *Cladosporium* sp., mientras que otros autores (Azad, Alam, Hossain, & Khokon, 2017) reportan a *Fusarium oxysporum*, *Alternaria brassicae* y *Botrytis cinerea* como patógenos de chía. Por último, bajo un sistema de producción orgánica, los hongos *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Peronospora farinosa* y *Spongophora* causan enfermedades en el cultivo de chía en la provincia de Mendoza, Argentina (Di Fabio, Navarro, & Turaglio, 2018). Varios de los géneros de hongos reportados en la literatura analizada han sido registrados en este trabajo, revalidando la asociación de estos hongos con el cultivo de chía, y también, proponiendo que se sugiere que existe una potencial carga patogénica que podría afectar al cultivo.

Las especies *F. equiseti* y *F. solani* fueron observadas con mayor frecuencia y se presentaron en ambos departamentos. *F. equiseti* ha sido reportado como un agente causal de damping-off, podredumbre de tallo y pérdida de post-cosecha con alta incidencia en más de 50 especies de plantas medicinales, hortícolas y en distintos granos. De manera similar, *F. solani* causa enfermedades como marchitamiento y damping-off en un gran número de especies cultivables, provocando pérdidas económicas importantes en plantas medicinales de todo el mundo (Chandel, Dubey, & Kaushal, 2014). Además, algunos estudios moleculares revelan que este patógeno presenta un alto nivel de diversidad dentro de su población (Saremi, Okhovvat, & SJ, 2011)

Otros autores reportaron la capacidad de cepas de *Macrophomina phaseolina* de infectar al cultivo de chía. Además, las cepas de *M. phaseolina* aisladas de soja, sésamo y crotalaria fueron patogénicas al cultivo de chia, alcanzando una elevada incidencia (Morel-Gadea & Orrego-Fuente, 2014).

Los hongos *Mucor circinelloides* . y *Lasiodiplodia* sp. se registraron una sola vez en el año 2018. En Misiones e Itapúa, respectivamente. El género *Mucor* abarca alrededor de 50 especies, muchas de las cuales tienen una ocurrencia generalizada y son de considerable importancia económica para la biotecnología o la industria. Algunas de estas especies son de importancia médica y existen pocos reportes de afectar a los seres humanos (Pinheiro, 2004). Por otro lado, la identificación de *Lasiodiplodia parva* infectado plantas de *Salvia divinorum* es el primer reporte de un hongo del género *Lasiodiplodia* induciendo tizones foliares y muerte descendente en una especie cercana a la chia (Moo-Koh, et al., 2014).

Tabla 3. Hongos asociados al cultivo de chíá en los Departamentos de Itapúa y Misiones en los años 2016, 2017 y 2018.

Año 2016		
Departamento	Estructura de origen	Hongo
Itapúa	Tallo	<i>Fusarium equiseti</i>
	Tallo	<i>Fusarium solani</i>
	Raíz	<i>Curvularias spp</i>
	Hoja	<i>Alternaria spp</i>
	Hoja	<i>Rhizoctonia spp</i>
Misiones	Hoja	<i>Sclerotinias spp</i>
	Hoja	<i>Fusarium equiseti</i>
	Hoja	<i>Fusarium solani</i>
	Hoja	<i>Beauveria spp</i>
	Hoja	<i>Alternaria spp</i>
Año 2017		
Itapúa	Raíz	Micorrizas
	Raíz	<i>Curvularia spp</i>
	Hoja	<i>Rhizoctonia spp</i>
	Hoja	<i>Collectotrichum spp</i>
	Raíz	<i>Trichoderma sp</i>
Misiones	Raíz	<i>Trichoderma sp</i>
	Raíz	<i>Sclerotinia spp</i>
	Hoja	<i>Fusarium equiseti</i>
	Raíz	Micorrizas
Año 2018		
Itapúa	Hoja	<i>Lasiodiplodia sp</i>
	Hoja	<i>Macrophomina phaseolina</i>
	Tallo	<i>Fusarium equiseti</i>
	Raíz	<i>Fusarium solani</i>
	Raíz	<i>Trichoderma sp</i>
Misiones	Tallo	<i>Mucor circinelloides</i>
	Tallo	<i>Fusarium equiseti</i>
	Raíz	<i>Fusarium solani</i>

Se ha procedido al análisis bioinformático de las diferentes secuencias consenso obtenidas a partir del procedimiento de extracción de AND de las muestras de chíá en hojas, raíces y tallos.

Esta etapa se realiza para corroborar las coincidencias obtenidas mediante la verificación en Blast, en el repositorio del NCBI. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

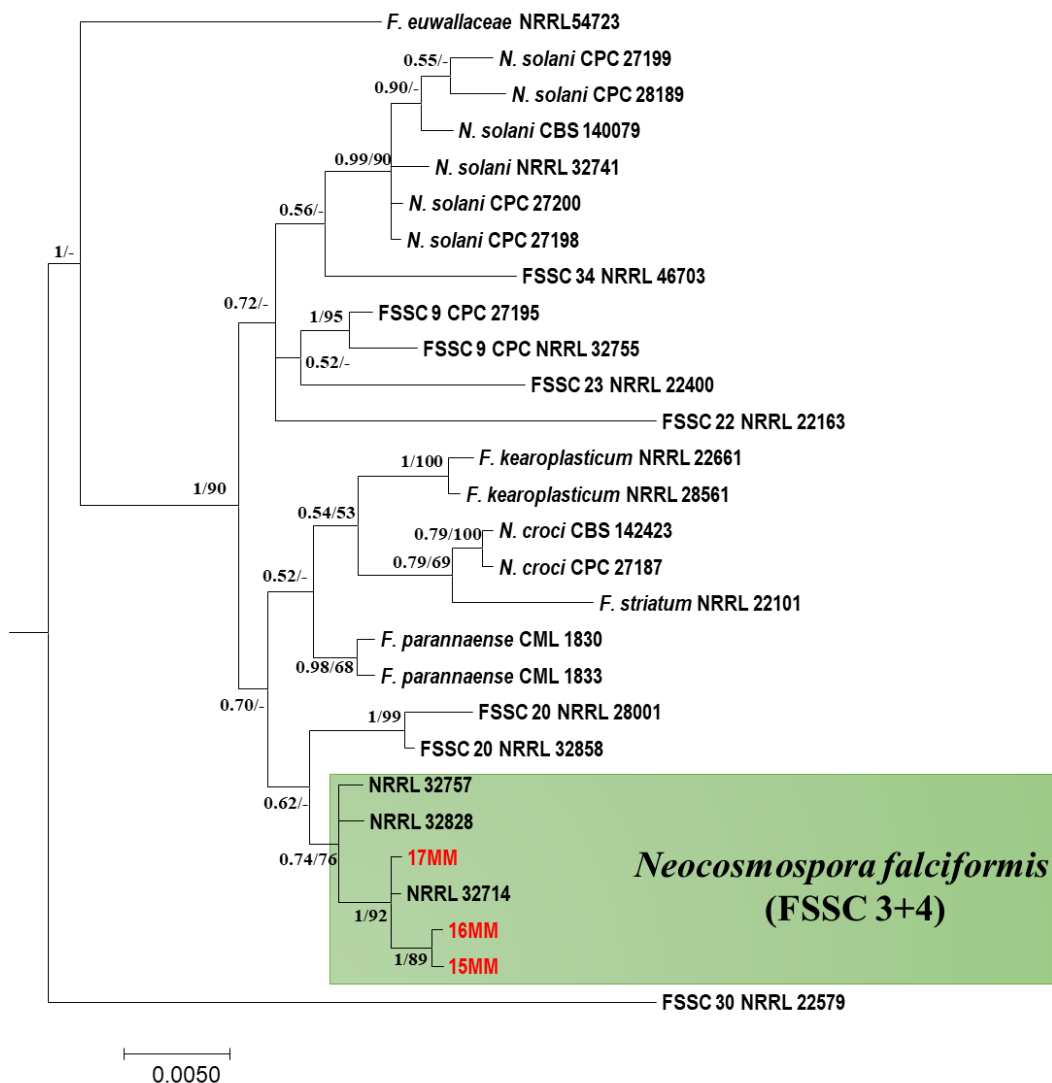
Teniendo en cuenta la secuencia consenso catalogada como “>T3U2201” (zona de muestreo Itapúa) “T3M” (zona de muestreo Misiones) correspondiente a las muestras obtenidas en tallos y “H1MF” (zona de muestreo Misiones) en hojas, “T1U222DI tallo (zona de Itapúa) ; se pudo evidenciar una similitud del 100% con un valor E de 0, con el organismo *Fusarium equiseti* coincidiendo este hallazgo con los resultados próximos de alineaciones significativas de aproximadamente 34 registros y una puntuación mayor a 200. Similares resultados se han obtenido, pero en coincidencia con el organismo *Mucor circinelloides* con el registro “T1M” (zona de muestreo Misiones) en tallo. Así también “H2U”; “H3U” (zona de muestreo Itapúa) en hojas, *Lasiodiplodia sp*, *Macrophomina phaseolina respectivamente*. Finalmente, las muestras tomadas en las raíces correspondientes a los registros “R2M”; “R3M” (zona de muestreo Misiones) dieron como resultado una coincidencia con el organismo *Fusarium solani* y el registro “RU2201” (zona de muestreo Itapúa) con *Trichoderma sp*. Es importante contar con géneros identificados molecularmente, obteniendo datos precisos del género de hongos con los que nos encontramos en el ecosistema del área de estudio.

En cuanto al análisis filogenético, consistió en 28 secuencias concatenadas (ITS+Tef1), con un total de 1,213 caracteres (ITS:524; Tef1:689). La cepa FSSC 30 NRRL 22579 se utilizó como fuera de grupo en ambos análisis. En el análisis de ML se implementó una prueba de Bootstrap de 1000 repeticiones con el modelo Gamma Time Reversible con distribución gama y sitios invariables (GTR+I+G). En la BI se corrieron 1500000 iteraciones e implementaron los modelos GTR+I+G y Hasegawa-Kishino-Yano y distribución gamma (HKY+G) para ITS y Tef1, respectivamente. Las tres cepas obtenidas en este estudio se agruparon en el clado de

Neocospora falciformis, correspondiente al complejo de especies de *Fusarium solani*, con un alta probabilidad posterior y soporte bootstrap (1/92, respectivamente). Esta especie anteriormente fue conocida como *Fusarium falciforme* ó FSSC 3+4 (O'Donell, et al., 2008) y recientemente reclasificada como *N. falciformis*.

Las cepas obtenidas en el análisis filogenético fueron 15MM, 16MM y 17MM, los mismos se encuentran agrupadas en el árbol de distancia Bayesiana agrupados en distancia genética cercana entre sí, los dos primeros se encuentran más cercanos en el árbol filogenético y son cercanas a la cepa NRRL 32714 antes que a la cepa 17MM, así mismo las tres cepas se encuentran cercanas a las cepas NRRL32828 y NRRL 32757, las cepas analizadas en este estudio con las tres más cercana comparadas se agrupan como *Neocospora falciformis* (FSSC 3+4).

Figura 5. Análisis filogenético de distancia Bayesiana de cepas de hongos aislados en este experimento.



Fuente: Elaboración propia

Microorganismos benéficos y no benéficos que se encuentran en el cultivo de Chía (*S. hispánica*) en Itapúa y Misiones

En cuanto a los resultados que indican la presencia de hongos micorrícicos en ambas regiones, las cantidades son similares entre sí como se muestra (Tabla 4). Se infiere que el cultivo de chía se coloniza en ambos entornos de manera similar p valor = 0.96. Sin embargo, las estructuras evaluadas presentaron una diferencia estadística significativa, observando que las

hifas y arbusculos estaban cerca en presencia, mostrando la diferencia a nivel de la estructura vesicular.

Tabla 4. Porcentaje promedio de colonización de estructuras micóticas micorrízicas en dos regiones de Itapúa y Misiones.

Localidad	Estructura			Promedios
	Vesícula	Arbusculo	Hifas	
Misiones	0,5	63	62	42
Itapúa	1	63	63	42
Promedios	0,75 a	63 b	63 b	42
Valor p estructura				<0,0001
Valor p localidad				0,9667

Fuente: Elaboración propia

Se identificó que los hongos micorrízicos arbusculares forman una población natural en los ambientes evaluados, la chía es un cultivo que tiene una asociación simbiótica con estos hongos de manera natural (Helgason & Fitter, 2005). También teniendo en cuenta la propuesta de Barrer (2009), los resultados obtenidos en este experimento pueden asociarse con el autor mencionado anteriormente de que los hongos HMA pueden mejorar el nivel nutricional de las plantas en este caso de cultivo de chía y la absorción de fósforo de los mismos. Por lo tanto, se puede inferir que la chía puede absorber el fosfato, un ion altamente inmóvil en el suelo. La presencia de hongos micorrízicos ayuda a los cultivos para esta función fisiológica de las plantas reconocidas como la absorción de nutrientes minerales en este caso de fósforo, esto coincide con lo expresado por (Whipps, 2004).

Bolan (1991) menciona que la presencia de la estructura arbuscular de los hongos micorrízicos contribuye al aumento de la capacidad de absorción y utilización de los nutrientes, lo que expresado por el autor mencionado anteriormente puede relacionarse de manera directa con lo que se obtuvo en este estudio (Bolan, 1991).

La microbiota del suelo juega un papel fundamental en la regulación de los ecosistemas terrestres, influyendo en la productividad, diversidad y estructura de las comunidades vegetales, y en esta investigación se encontraron estructuras arbusculares de hongos micorrízicos en ambos departamentos en estudio (Van der Heijden, Bardgett, & Van Straalen, 2008) .

Y siguiendo con los hongos benéficos fue identificado *trichoderma sp* en raíz en ambos departamentos (Albrecht & Albrecht, 2017), esta especie se caracteriza por tener aplicación en el ámbito agrícola, sobre todo para el control biológico de patógenos presentes en los cultivos, pudiendo ser utilizado los datos para otras investigaciones y con ello contribuir a la disminución de la utilización de químicos, mejorar la calidad de los suelos y evitar la contaminación del ecosistema circundante (Zapata, et al., 2012).

La *bauveria spp* es otra especie considera benéfica, se identificó en el año 2016 en hoja de chía, este hongo se caracteriza por ser un buen controlador de insectos, uno de los más utilizados es la *bauveria basiana* que es capaz de infectar a más de 200 especies de insectos (Carballo, Hidalgo, & Rodríguez, 2004) puede utilizarse como controlador biológico.

Estos resultados sugieren que la chía es un cultivo que se encuentra colonizado con distintos tipos de hongos que pueden resultar benéficos como patógenos, en este sentido se puede resaltar las micorrizas que en la literatura se cita como benéfico para las plantas y para el suelo dejando el elemento mineral fosforo cuando están en el ambiente, esto se pudo constatar en este trabajo de investigación.

Las condiciones ambientales en las cuales se desarrolla el cultivo de Chia (*S. hispánica*) y su relación con la presencia de hongos en las fincas seleccionadas

Lo relacionado al análisis de suelo de ambas regiones en estudio, se pudo notar que los valores de pH obtenidos en ambas localidades de estudio oscilan entre las categorías de suelos extremadamente ácidos ($\text{pH} < 4,5$) y fuertemente ácido (pH de 4,5 a 4,9). Así también, estos rangos de pH son característicos de los suelos de Itapúa y Misiones (Bataglia Meyer, 2011). El contenido de Ca^{+2} y Mg^{+2} está relacionados con el pH, ya que suelos ácidos se encuentran mayormente saturados por hidrogeniones mientras que en suelos básicos retienen mayor número de bases. En este estudio, las bases Ca^{+2} y Mg^{+2} se encuentran en niveles bajos según la clasificación del (IAN, 1988) y coinciden con los valores reportados por (Bataglia Meyer, 2011).

Otros autores sugieren que los suelos de Itapúa son los que poseen más años de uso agrícola en el país, en los cuales a partir de los años 80 se intensificó la degradación de los mismos por la labranza excesiva y la erosión (Vallejos, Kliewer, Florentin, Derpsch, & Calegari, 2001).

Por otro lado, se observan niveles bajos de Al^{+3} , pero que en suelos ácidos podrían llegar a acumularse debido a que gran proporción de los sitios de intercambio de las arcillas está ocupado por aluminio, en donde este reemplaza otros cationes como el Mg^{2+} y el Ca^{2+} y simultáneamente se adsorbe a los fosfatos (Casierra-Posada & Aguilar-Avenidaño, 2007).

En cuanto al contenido de K^{+} , se observa que, en Itapúa, específicamente en la localidad de estudio, el suelo contiene 108,6 ppm ($0,48 \text{ cmol (+) Kg}^{-1}$) con un ligero aumento al final de la experimentación. Este valor se encuentra dentro del rango de contenido de K^{+} del Departamento de Itapúa según el estudio realizado por (Martinez-Braga, 2011). Mientras que el contenido de este elemento en el Departamento de Misiones es superior al promedio reportado por (Martinez-Braga, 2011) en el mismo Departamento.

El nivel de P en Itapúa se considera muy bajo, encontrándose por debajo de 13 ppm. Según bibliografía de referencia (Jorgge Prieto, 2012), el nivel bajo de fósforo en este Departamento, se debe principalmente al tipo de suelo que predomina, ricos en arcilla tipo óxido de hierro y aluminio, que hacen que el fósforo se fije con facilidad, formando compuestos insolubles indisponibles para las plantas, también presenta regiones de agricultura extensiva con

alta extracción de este elemento por los cultivos de granos, con suelos de varios años de uso, que llevan al desgaste de los mismos y pérdida de nutrientes.

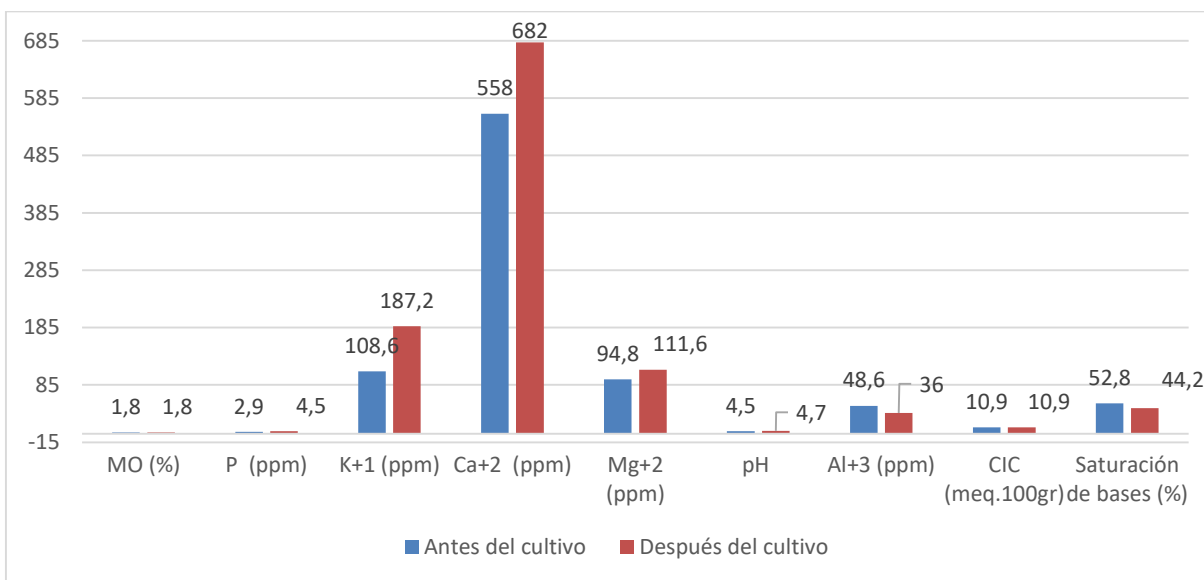
Por otro lado, a diferencia de Itapúa, en Misiones se observan niveles muy altos de P por encima de las 90 ppm para ambas épocas. En general, los suelos de Misiones son pobres en fósforo pero mayormente los terrenos son bajos y pantanosos, muy poco aptos para el cultivo agrícola. Sin embargo, la fracción cultivable, representa apenas el 20 % de la superficie departamental, en donde debido a las prácticas agrícolas como la fertilización de suelo, se podrían encontrar mayor contenido de este elemento (Jorgge Prieto, 2012).

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) se refiere al número total de cationes que un suelo puede retener; esto es, su carga negativa total y se ve afectada por el pH, debido a que el pH del suelo cambia el CIC porque el suelo tiene sitios de intercambio que se activarán a medida que aumenta el pH, posiblemente debido a la formación de aluminosilicatos activos. La CIC de un suelo puede aumentar hasta en un 50% si el pH se cambia de 4.0 a 6.5 (Piedrahita, 2011).

Tabla 5. Resultados de análisis de suelo en las dos localidades de Itapúa y Misiones.

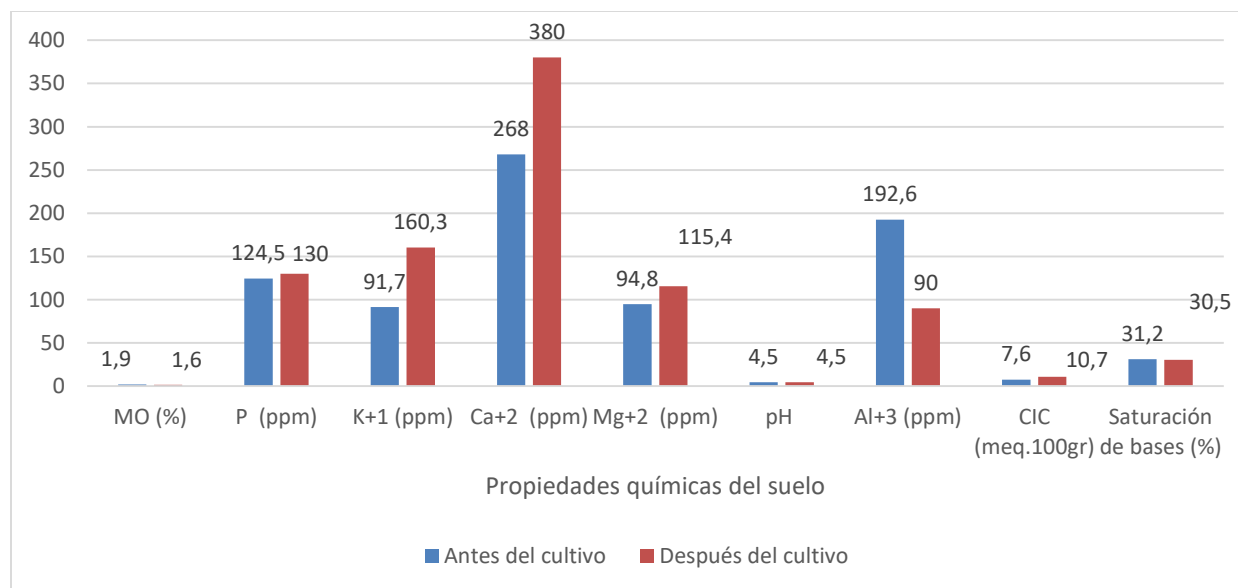
Variable	Itapúa		Misiones	
	Antes del cultivo (03/07/2016)	Después del cultivo (26/07/2018)	Antes del cultivo (03/07/2016)	Después del cultivo (26/07/2018)
MO (%)	1,8	1,8	1,9	1,6
P (ppm)	2,9	4,5	124,5	130,0
K ⁺¹ (ppm)	108,6	187,2	91,7	160,3
Ca ⁺² (ppm)	558,0	682,0	268,0	380,0
Mg ⁺² (ppm)	94,8	111,6	94,8	115,4
pH	4,5	4,7	4,5	4,5
Al ⁺³ (ppm)	48,6	36,0	192,6	90,0
CIC (meq.100gr)	10,9	10,9	7,6	10,7
Saturación de bases (%)	52,8	44,2	31,2	30,5

Figura 6. Propiedades fisicoquímicas del suelo antes y después del cultivo, Itapúa.



En la figura 6 se observa la variación de las propiedades fisicoquímicas del suelo en el departamento de Itapúa antes y después del cultivo de chíá, en el mismo se puede observar que el contenido de K, Ca y Mg aumentaron en los suelos donde se cultivó. Por otro lado, el contenido de Al y la saturación de bases mostraron tendencia a disminuir después de la siembra.

Figura 7. Propiedades fisicoquímicas del suelo antes y después del cultivo, Misiones.



- Figura 7 en el departamento de Misiones se observa que los resultados de análisis fisicoquímicos del suelo antes y después del cultivo de la chía el K, Ca, Mg y el P presentaron tendencia a aumentar, mientras que el Al disminuyó.

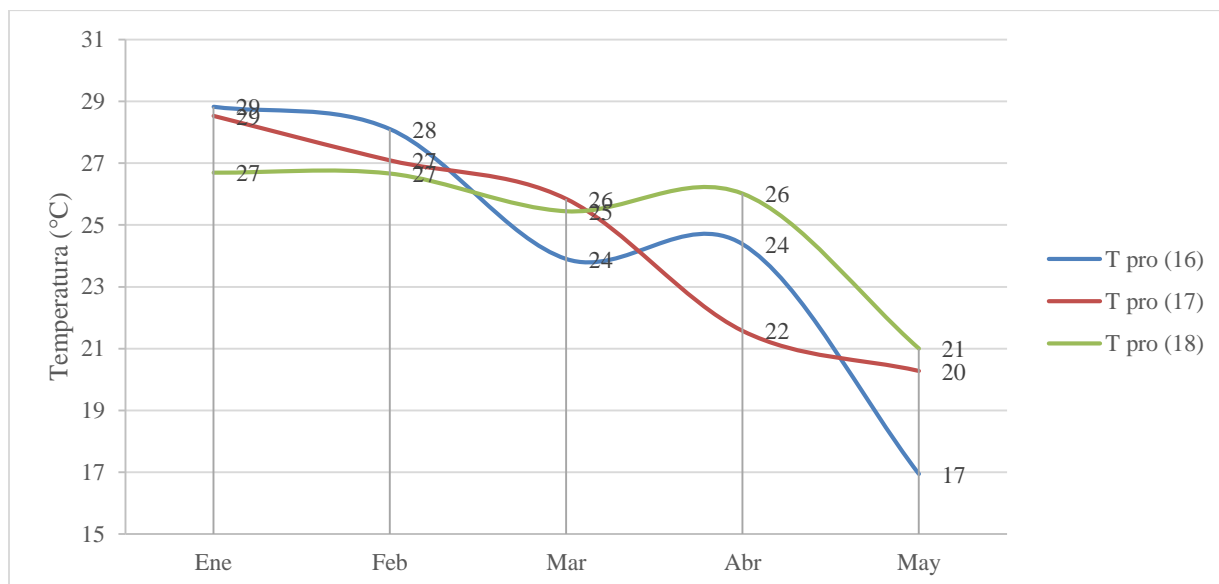
Debido a que los microorganismos reaccionan de forma positiva o negativa a estímulos ambientales, los parámetros correlacionados tenidos en cuenta en ambos departamentos se muestran en las tablas 6 y 7.

Tabla 6. Microorganismos identificados en el departamento de Misiones años 2016, 2017 y 2018.

Microorganismos (Misiones)	Año 2016	Año 2017	Año 2018	Cantidad encontrada
<i>Alternaria</i> spp	si	no	no	1
<i>Beauveria</i> spp*	si	no	no	1
<i>Collectotrichum</i> spp	si	no	no	1
<i>Curvularia</i> spp	no	no	no	0
<i>Fusarium equiseti</i>	si	si	si	3
<i>Fusarium solani</i>	si	no	si	2
<i>Lasiodiplodia</i> sp	no	no	no	0
<i>Macrophomina phaseolina</i>	no	no	no	0
<i>Micorrizas</i> *	no	si	no	1
<i>Mucor circinelloides</i> *	no	no	si	1
<i>Rhizoctonia</i> spp	no	no	no	0
<i>Trichoderma</i> sp*	no	si	no	1
<i>Sclerotinia</i> spp	no	si	no	1
Cantidad de microorganismo	5	4	4	

En la tabla 6 se observa que el microorganismo *Fusarium equiseti* fue el que se identificó en los tres años en Misiones seguido por *Fusarium solani*, en el año que se identificó mayor cantidad de microorganismo fue en el 2016 con la presencia de cinco géneros.

Figura 8. Gráfico de variación de temperatura máxima y mínima, Misiones, año 2016, 2017 y 2018.



En el figura 8 podemos observar la variación de la temperatura promedio, donde la máxima ha alcanzado en el año 2016, y osciló entre 17 a 29 °C en los meses de enero y mayo .

Figura 9. Precipitación promedio de Misiones, años 2016, 2017 y 2018.

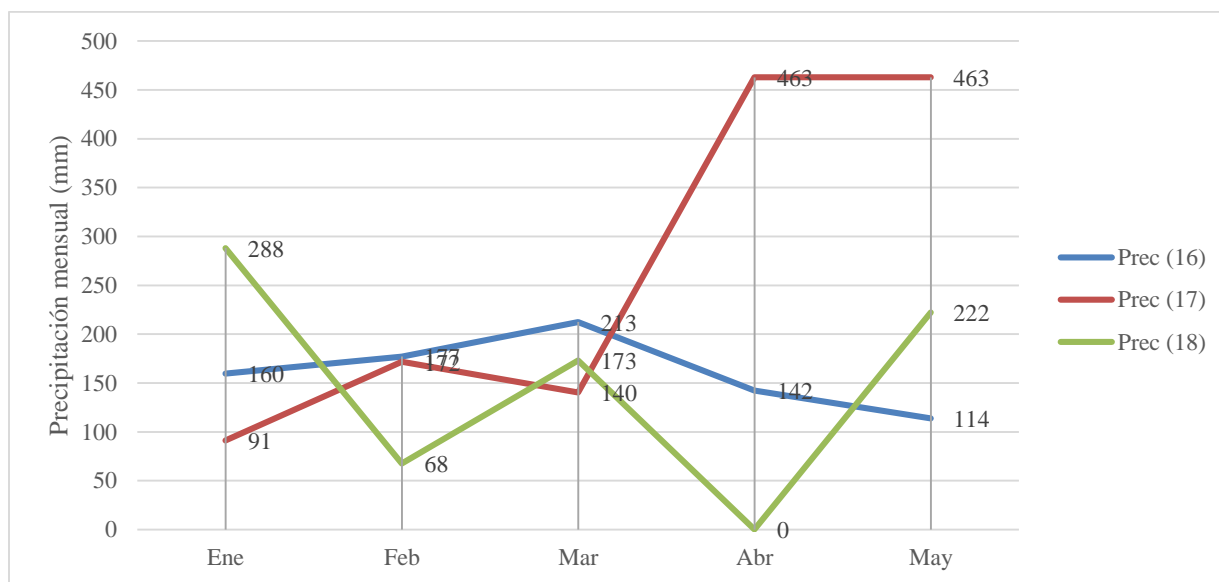


Figura 9 la precipitación promedio mensual en el cultivo mostró variación, principalmente en el

mes de abril del 2018 donde la cantidad fue muy baja , y se observó la mayor cantidad registrada de la misma en el 2017.

Figura 10. Promedio de Heliofanía del departamento de Misiones de los años 2016, 2017 y 2018.

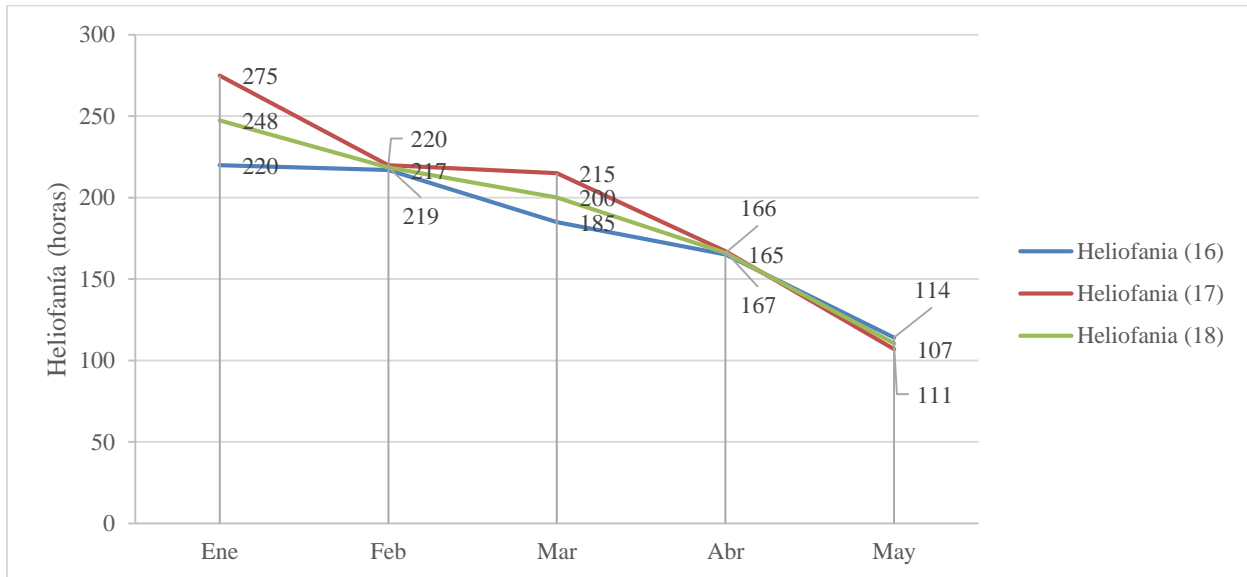


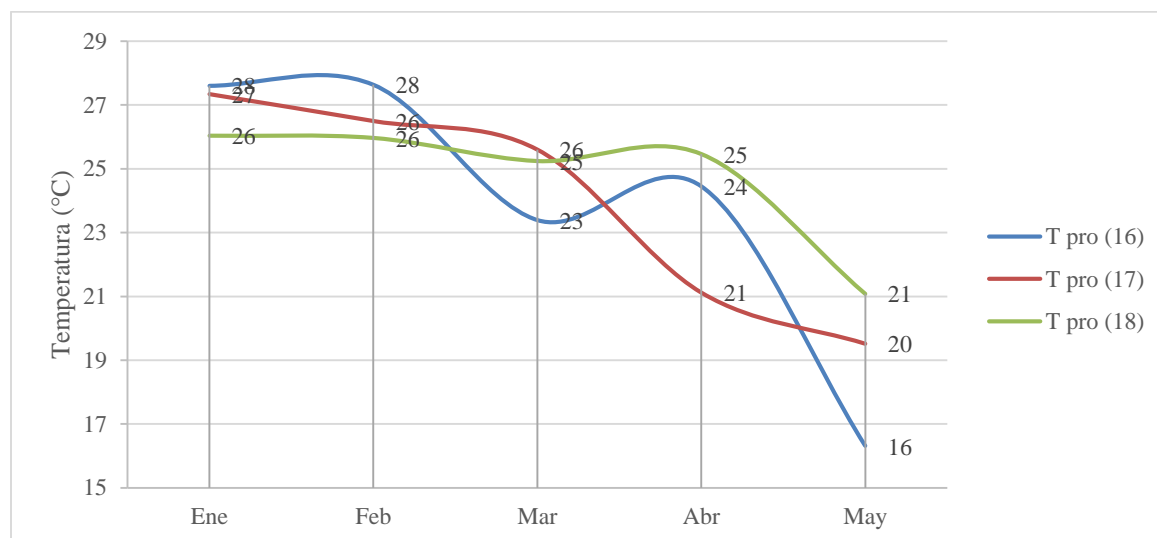
Figura 10 la heliofanía mostró tendencia a disminuir entre los distintos meses de duración del cultivo de chía en el departamento de Misiones, mientras que entre los años estudiados mostró duración similar.

Tabla 7. Microorganismos identificados en el departamento de Itapúa años 2016,2017,2018.

Microorganismo (Itapúa)	Año 2016	Año 2017	Año 2018	Presencia encontrada
<i>Alternaria</i> spp	si	No	no	1
<i>Beauveria</i> spp*	no	No	no	0
<i>Collectotrichum</i> spp	no	Si	no	1
<i>Curvularia</i> spp	si	Si	no	2
<i>Fusarium equiseti</i>	si	No	si	2
<i>Fusarium solani</i>	si	No	si	2
<i>Lasiodiplodia</i> sp	no	No	si	1
<i>Macrophomina Phaseolina</i>	no	No	si	1
<i>Micorrizas</i> *	no	Si	no	1
<i>Mucor circinelloides</i> *	no	No	no	0
<i>Rhizoctonia</i> spp	si	Si	no	2
<i>Trichoderma</i> sp*	no	Si	si	2
<i>Sclerotinia</i> spp	no	No	no	0
Presencia de microorganismo	5	5	5	

Comparando la presencia de los microorganismos entre los departamentos se observa que en Misiones no se identificaron los microorganismos *Curvularia* spp, *Macrophomina phaseolina* y *Rizoctonia* spp, estos si se identificaron en el departamento de Itapúa, por otra parte en el mismo lugar no se identificaron los siguientes microorganismo *Beauveria* spp, *Mucor circinelloides* y *Sclerotinia* spp en comparación con Misiones, se observa que la diversidad de los microorganismos entre los distintos ambientes es variable relacionado con el cultivo de chíá.

Figura 11. Promedio de Temperatura en el departamento de Itapúa en los años 2016, 2017, 2018



En la figura 11 se pueden observar los promedios de las temperaturas en el departamento de Itapúa en los años 2016, 2017 y 2018. En el cual se observa que la mayor oscilación se presentó en el año 2016 entre 16 y 28 ° C.

Figura 12. Promedios de precipitaciones en el departamento de Itapúa.

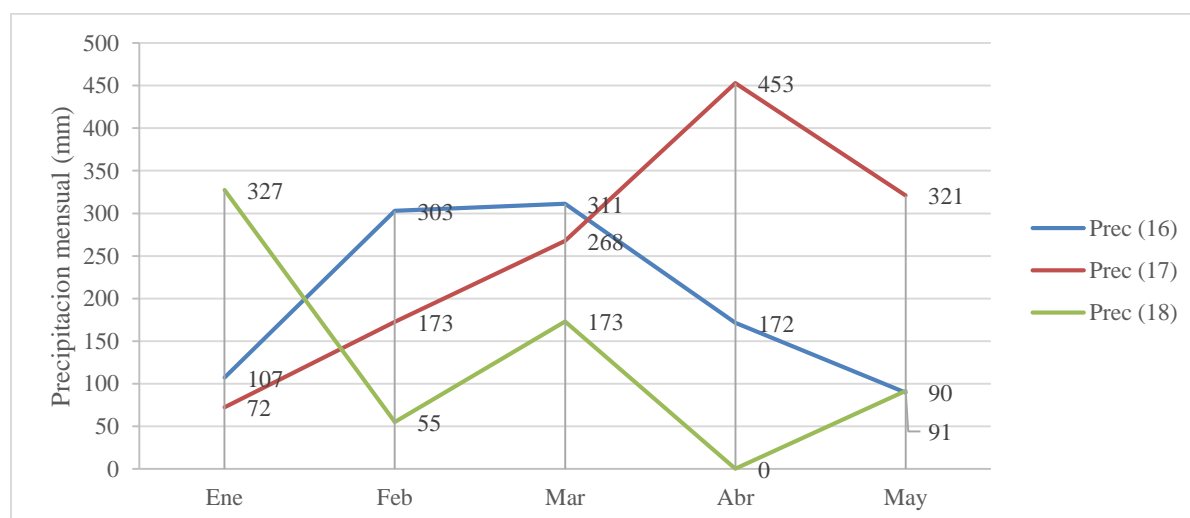


Figura 12: La precipitación registrada en el departamento de Itapúa presentó variación entre los distintos meses y los tres años en las que se realizaron las evaluaciones del cultivo de chíá.

Por tanto, dependiendo del tipo de microorganismo es necesario un mayor o menor número de precipitaciones, y no siempre deberán ser de la misma forma, ya que influirá en los resultados obtenidos si son hongos la germinación de los conidios y el establecimiento de la infección requieren agua libre, procedente de lluvia, rocío o nieblas. Dada las precipitaciones en los periodos analizados que tuvieron lugar en el área de estudio, en el año 2017 para ambos departamentos fue el de mayor cantidad, encontrándose también el mayor número de hongos benéficos.

Figura 13. Heliofanía del departamento de Itapúa en los años estudiados.

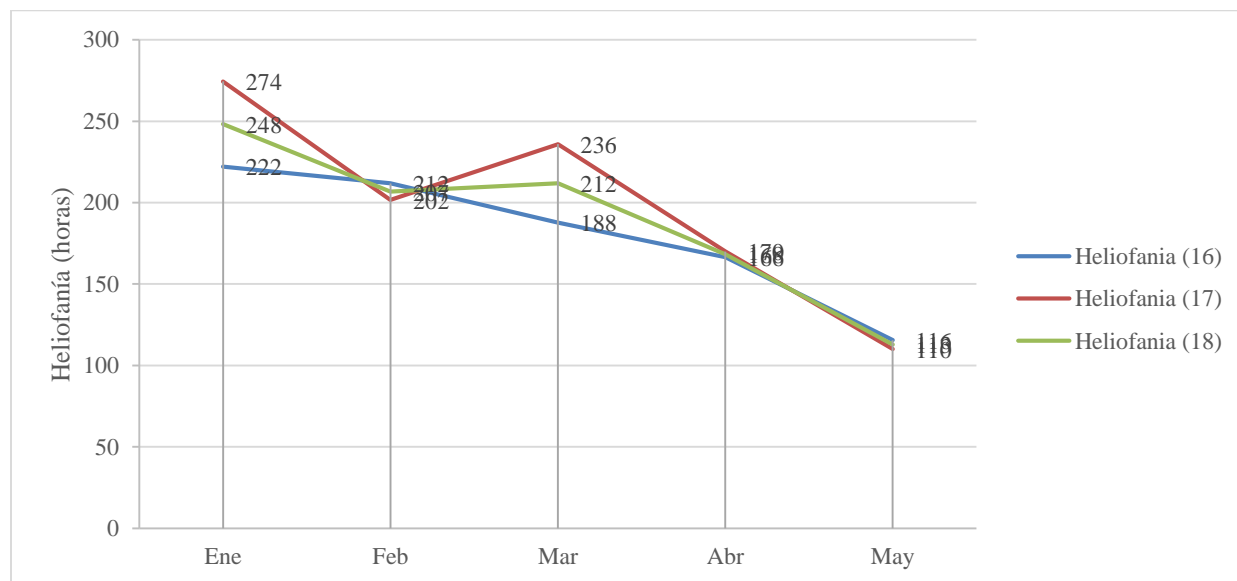
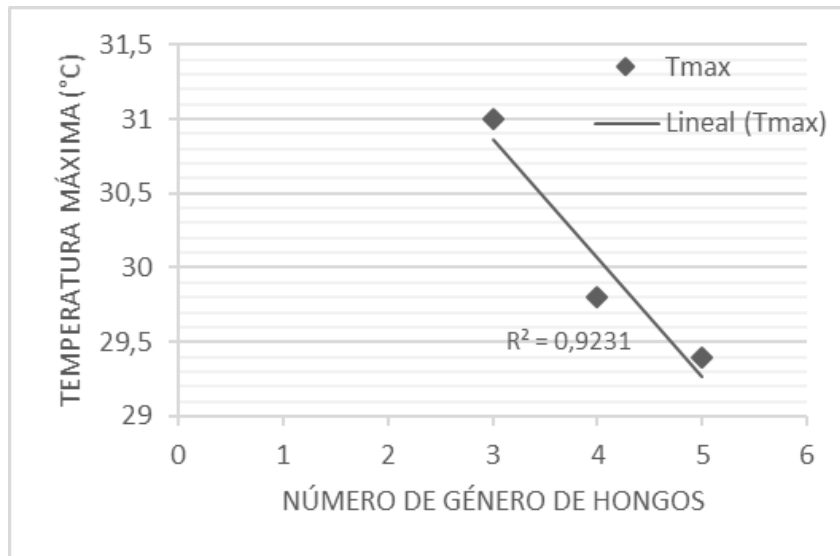


Figura 13 la heliofanía en el departamento de Itapúa mostro tendencia similar al del departamento de Misiones, la variación del mismo fue entre los meses donde se observó importante disminución de la hora luz desde enero a mayo respectivamente. Según los datos obtenidos que cuando mayor es la radiación solar afecta la cantidad de hongos, conforme se incrementó el tiempo

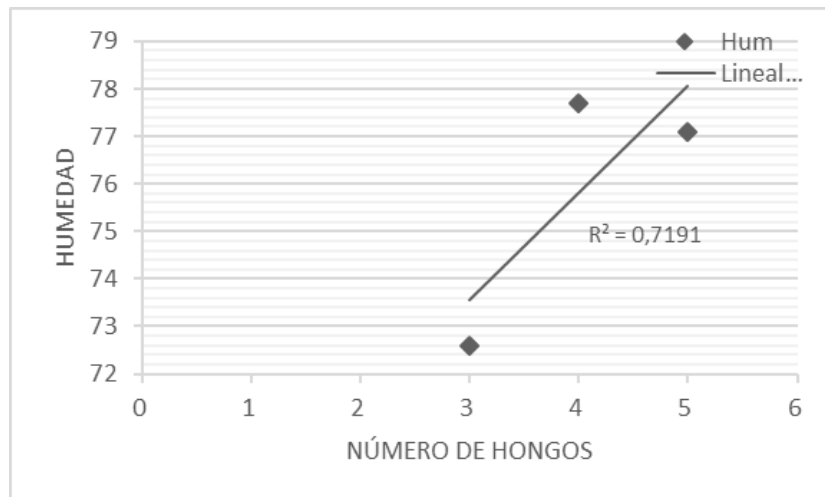
de exposición a la radiación solar, indicando que el efecto que ejerce este factor sobre la viabilidad de dichos microorganismos depende de la exposición a la misma.

Figura 14. Número de Género de Hongos



Las temperaturas altas son desfavorables para el crecimiento de los hongos, la temperatura ideal es de 20 a 25 grados

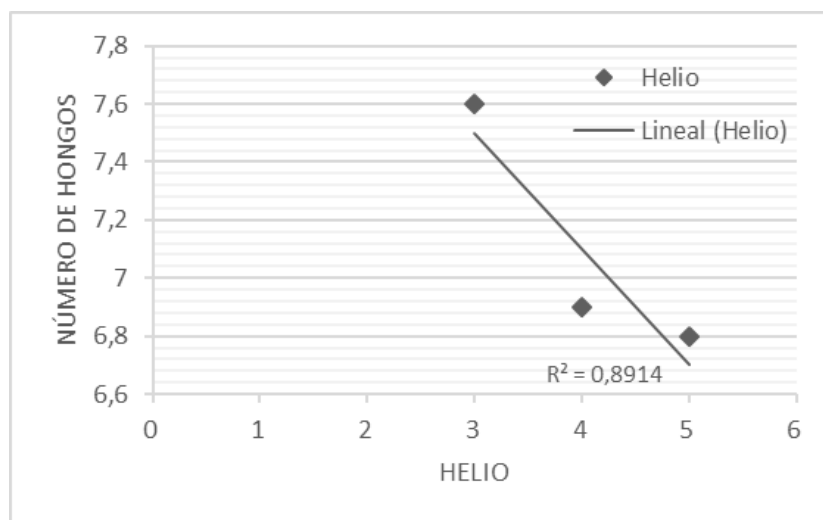
Figura 15. Número de géneros de hongos y la humedad



En la figura 15 se observa una relación positiva entre la diversidad de hongos presentes y la humedad ambiental.

La relación entre los microorganismos y la humedad requieren unas condiciones óptimas de la misma para su reproducción y crecimiento. Un exceso de humedad inhibirá el crecimiento de hongos al reducir la concentración de oxígeno en el suelo la falta de humedad también produce cambios en la presencia de los hongos, (Ramos & Zúñiga, 2008)

Figura 16. Número de géneros de hongos y heliofanía



En la figura 16 se identifica la relación inversa entre diversidad de hongos y el helio.

Con la correlación de Karl Pearson, se pudo comprobar la relación positiva y negativa del número de hongos con las condiciones climáticas. Es decir, disminuye la diversidad de género de hongos con el aumento de la temperatura y el helio, y aumenta con la humedad el número de los mismos.

Conforme a la regresión logarítmica, en Itapuá no se observó diferencias de número de hongos conforme varían las condiciones climáticas. Mientras que, en Misiones, sí se observó variación del número de hongos conforme a las condiciones climáticas.

Resultados Integrales de la Investigación**Tabla 8.** Resultados integrales de la investigación.

Objetivos Específicos	Resultados
Identificar los géneros de hongos presentes en cultivos de Chía (<i>S. hispánica</i>) ubicados en fincas rurales de Itapúa y Misiones	Lista de microorganismos
Especificar los hongos benéficos y no benéficos que se encuentran en cultivos de Chía (<i>S. hispánica</i>) ubicados en fincas rurales de Itapúa y Misiones.	Separar benéficos de no benéficos
<ul style="list-style-type: none"> • Describir la relación existente entre las condiciones ambientales en las que se desarrolla el cultivo de Chia (<i>S. hispánica</i>) y la presencia de hongos, en fincas rurales de Itapúa y Misiones 	Resultados de análisis de suelo Análisis de correlación

Conclusiones

En este trabajo de investigación se buscó primeramente analizar la presencia de hongos en cultivos de Chía (*Salvia hispánica L*) en fincas rurales de Itapúa y Misiones con características diferentes, en la cual se encontraron trece géneros de hongos, que fueron identificados en forma morfológica y molecularmente, con estos datos se pudo especificar cuáles de estos microorganismos son considerados benéficos y no benéficos

Los géneros que son considerados patógenos fueron *Alternaria spp*, *Collectotrichun spp*, *Curbularia spp*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium solani*, *Lasiodiplodia sp*, *Macrophomina Phaseolina*, *Rhizoctonia spp*, *Sclerotinia spp*. Estos hongos pueden ocasionar grandes pérdidas económicas en las distintas fincas de diversos cultivos agrícolas, especialmente en el chia, por ello contar con información adecuada servirá como herramienta, para combatir con rapidez y eficacia a un patógeno, evitando poner en riesgo toda la producción y la aparición de hongos resistentes. En tal sentido es necesario investigar los mismos, ya que la información sobre los cambios que ocurren dentro y entre las poblaciones de los patógenos señalados, tiene importantes aplicaciones, como predecir con qué rapidez puede evolucionar el hongo en un tiempo determinado.

Los hongos fitopatógenos ocasionan grandes pérdidas económicas en la mayoría de los cultivos agrícolas. El conocimiento de los factores que influyen en los cambios de las poblaciones de los hongos permitirá conocer con qué rapidez un patógeno puede evolucionar bajo un ambiente determinado.

En cuanto a los géneros benéficos, fueron *Trichoderma sp*, *Mucor circinelloides*, *Bauveria spp* y Micorrizas. Estos microorganismos juegan un papel muy importante en el ecosistema en general y, en los departamentos donde fue realizada esta investigación, porque

contribuyen al mantenimiento de la calidad del suelo utilizado para la producción agrícola habitual (trigo, maíz y soja) y de la *Salvia hispánica* L.

Si bien, existen infinidad de hongos que son usados en la agricultura, los mencionados anteriormente son de gran beneficio para el suelo (de Itapúa y Misiones) y para las raíces de las plantas de Chía, permitiéndoles tomar del suelo los macro nutrientes más importantes, tales como fósforo y potasio, entre tantos otros, directamente involucrados en el crecimiento y fortalecimiento de las plantas.

Pero, lo que más ha llamado la atención de este estudio es que dichos hongos, pueden convertirse en potentes agentes de combate de patógenos, incluso, otros hongos que puedan ser perjudiciales para las plantaciones, así como en facilitar el desarrollo de las raíces para una mejor y mayor absorción de nutrientes, como ser las Micorrizas.

En cuanto a las características físico-químicas del suelo de ambas regiones se notó un importante incremento en los análisis realizados antes y después del cultivo, aumentando notablemente estos parámetros, deduciéndose que el cultivo de chía aporta nutrientes al suelo, ya que al ser determinada la presencia de micorrizas que cumplen una función muy importante en la fijación de fósforo aumenta la calidad del suelo.

Se constato la relación existente entre las condiciones ambientales en las que se desarrolla el cultivo de Chia (*S. hispánica*) y la presencia de hongos anteriormente mencionados, estos microorganismos incrementan la solubilidad de nutrientes minerales, y ayuda a mantener el equilibrio, mejorando el medio natural en el que se desarrollan.

La presencia de estos hongos puede ayudar al crecimiento y desarrollo de las plantas, el control de patógenos se puede realizar en forma natural utilizando a los microorganismos benéficos como ser poblaciones nativas como inoculantes, ya que están en relación directa con los procesos que

ocurren entre la planta y el suelo, pudiendo mejorar el mecanismo de defensa de las mismas en forma natural, evitándose el uso de químicos.

Con este trabajo de investigación se pudo analizar la importancia de conocer la relación que existe entre los hongos y el medio que lo rodea, pudiendo ser utilizados los datos obtenidos en beneficio tanto de la planta como para el agricultor, que quiera invertir en este rubro, nuevo para nosotros, es una alternativa de producción y sería lo ideal dejar de utilizar sustancias químicas, que pueden perjudicar tanto el bien estar de las personas como así el del ecosistema que está en contacto con ella.

Recomendaciones

Los hongos juegan un papel fundamental en la naturaleza por ello a través de esta investigación se recomienda la utilización de estos principalmente a los considerados benéficos como ser en los casos de:

Las micorrizas son importantes en la captación de fósforo del suelo, tienen un papel esencial para el crecimiento de las plantas y que es absorbido casi enteramente en forma inorgánica, si se utilizara como inoculantes mejoraría la calidad de la biota y se estaría dejando de utilizar productos sintéticos que dañan al medio que los rodea.

El hongo *Beauveria bassiana* es considerado uno de los agentes de control biológico con mejor eficiencia en el sector agrícola, tiene un gran potencial de disminuir la cantidad de plaguicidas químicas.

Trichoderma sp es un poderoso agente para el control biológico, en tanto su crecimiento y desarrollo se dan de manera bastante rápidos. Por otro lado, tiene la virtud de segregar una gran cantidad de enzimas, altamente efectivas y beneficiosas para las plantas.

Conocer como estos microorganismos se distribuyen e interaccionan con el medio circundante y su función ecológica impulsará mejoras en la aplicación de procesos de restauración de ecosistemas degradados, y puede promover una forma de agricultura más acorde con el medio e incluso ayudar a prever las respuestas de los ecosistemas terrestres frente al cambio global.

Lista de Referencias

- American Psychological Association, (APA). (2011). *Manual de Publicaciones de la American Psychological Association* (3ra ed.). México: El Manual Moderno.
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2010). *Metodología de la investigación* (5ta ed.). México: Mc Graw Hill.
- Guttandin, F. (2012). *Investigación cualitativa interpretativa. Una caja de herramientas* (Vol. 84 Biblioteca Paraguaya de Antropología). Asunción: Imprenta Salesiana.
- Hurtado de Barrera, J. (2000). *Metodología de la investigación holística*. Caracas: Instituto Universitario de Tecnología Caripito Servicio y Proyecciones para América Latina.
- Barrera Morales, M. (1995). *Importancia del Enfoque Holístico* (Julio. Año VII. N° 8 ed.). Caracas: Fundación Sypal.
- MEC Paraguay. (2011). *Campaña de apoyo a la gestión pedagógica de docentes en servicio. Modalidad: Educación de personas jóvenes y adultas*. Retrieved abril 15, 2013, from [paraguayeduca.org:
http://biblioteca.paraguayeduca.org/biblioteca/materiales_varios/capacitacion-nacional-2011/modulo-4/campana%204-Educacion%20Permanente-3.pdf/view](http://biblioteca.paraguayeduca.org/biblioteca/materiales_varios/capacitacion-nacional-2011/modulo-4/campana%204-Educacion%20Permanente-3.pdf/view)
- Barrera Morales, M. (1995). *Importancia del Enfoque Holístico* (Julio. Año VII. N° 8 ed.). Caracas: Fundación Sypal.
- Hurtado de Barrera, J. (2000). *Metodología de la investigación holística* (Vol. s.v.). (s.e., Ed.) Caracas: Instituto Universitario de Tecnología Caripito Servicio y Proyecciones para América Latina.
- UNESCO. (2012). *Antecedentes y criterios para la elaboración de políticas docentes en América Latina y el Caribe*. Santiago de Chile: Acción Digital.

- OEI. (2000, 09 02). *Informe Iberoamericano sobre Formación Continua de Docentes*. Retrieved from Informe Iberoamericano sobre Formación Continua de Docentes:
<http://www.oei.es/webdocente/Paraguay.htm>
- CONEC, MEC. (2008). *Avances de la Reforma Educativa. Informes sobre la situación de la Educación*. Asunción: CONEC.
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2010). *Metodología de la investigación* (5ta ed.). México: Mc Graw Hill.
- UNESCO. (2009). *Conferencia Mundial sobre la Educación Superior. La nueva dinámica de la educación superior y la investigación para el cambio social y el desarrollo*. Retrieved abril 05, 2013, from unesco.org:
http://www.unesco.org/education/WCHE2009/comunicado_es.pdf
- American Psychological Association - APA. (2011). *Manual de Publicaciones de la American Psychological Association* (3ra ed.). México: El Manual Moderno.
- Alvarado-Castillo, G., & Benítez, G. (2009). El enfoque de agroecosistemas como una forma de intervención científica en la recolección de hongos silvestres comestibles. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 531-539.
- Hilje, L. (1994). *Lecturas sobre manejo integrado de plagas*. Turrialba: CATIE.
- Bornacelly, H. (2009). *Estudio del ciclo de vida de Mycosphaerella fijiensis en tres clones de banano, en tres regiones de la zona bananera de Magdalena*. Palmira: Universidad Nacional de Colombia.
- Pérez, L., Saquero, M., & Beltrán, J. (2003). Caracterización morfológica de Colletotrichum sp. como agente causal de la antracnosis en ñame Dioscorea sp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 24-35.

- Salas, M., & Salazar-Solis, E. (2003). Importancia del uso adecuado de agentes de Control biológico. *Acta Universitaria*, 29-35.
- Jaramillo, J., Montoya, E., Benavides, P., & Góndora, C. (2015). Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae para el control de broca del café en frutos del suelo. *Revista Colombiana de Entomología* , 95-104.
- Blancol, F., & Salas, E. (1997). Micorrizas en la agricultura: Contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 55-67.
- Peña-Venegas, C., Cardona, G., Arguelles, J., & Arcos, L. (2007). Micorrizas Arbusculares del Sur de la Amazonia Colombiana y su Relación con Algunos Factores Físicoquímicos y Biológicos del Suelo. *Acta Amazónica*, 327-336.
- Serralde, A., & Ramírez, M. (2004). Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (Zea mays) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. *Revista Corpoica*, 31-40.
- Bolaños, M., Rivillas, C., & Suárez, S. (2000). Identificación de micorrizas arbusculares en suelos de la zona cafetera colombiana. *Cenicafé*, 245-262.
- Cuenca, G., Cáceres, A., Oirdobro, Z., & Urdaneta, C. (2007). Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Inverciencia*, 23-29.
- Sieverding, E. (1986). El papel de las micorrizas en la agricultura. *Suelos Ecuatoriales*, 52-59.
- Usuaga, C., Castañeda, D., & Franco, A. (2008). Multiplicación de hongos micorriza arbuscular (H.M.A) y efecto de la micorrización en plantas micropropagadas de banano (Musa AAA cv. Gran Enano)(Musaceae) . *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 4279-4290.

- Honrubia, M. (2009). Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 133-144.
- Cortés, S., & de la Nova, B. (2007). Biofertilización con hongos formadores de micorrizas arbusculares en semilleros de Extraña Rosa (*Callistephus sinensis*). *INCA*.
- Hernández, J., López, C., & Palma, F. (2014). Caracterización morfológica de micorriza arbuscular asociada a *Agave potatarum* Zucc. con potencial de uso agronómico. *Revista Mexicana de Agroecosistemas* , 82-93.
- Martínez, b., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 1-11.
- García, R., Durán, M., & Riera, R. (2006). Producción de Biomasa de *Trichoderma Harzianum* por fermentación Líquida. *Fitosanidad*, 295-298.
- García, J., Shagarodsky, T., Fresneda, J., Fundora, Y., & González, J. (2007). Caracterización de especies del género *Fusarium* en el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum*) en las provincias ciudad Habana y La Habana. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 63-66.
- Barrera, L., & García, L. (2009). Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*) . *Revista UDO Agrícola*, 33-41.
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. New York: Elsevier Academic Press.
- Abrunhosa, L., Morales, H., Soares, C., Calado, T., Vila-cha, A., Pereira, M., & Venancio, A. (2012). Micotoxinas detectadas en productos alimenticios en Portugal: Revisión. *Biociencias*, 5-31.

- Rubio, G., Baltodano, F., Abanto, L., Wilson, J., & Muñoz, M. (2008). Resistencia in vitro de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP. *Revista Biológica de la Universidad de Trujillo*, 34-46.
- Montes. (2009). Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista mexicana de micología*, 73-82.
- Durrant, W., & Dong, X. (2004). Systemic acquired resistance. *Annual Review Phytopathology*, 185-209.
- Palacios, N. (2004). Biología molecular, una herramienta para la bioprospección del metabolismo secundario de plantas en Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 67-77.
- Salgado, L. (2012). *Inductores de resistencia a TuMV en Arabidopsis thaliana (L)*. México: Tesis doctoral. Colegio de Postgraduados, Texcoco.
- Andersen, B., Kroger, E., & Roberts, R. (2001). Chemical and morphological segregation of *Alternaria alternata*, *A. gaisen* and *A. longipes*. *Mycological Research*, 291-199.
- Jin, M. (1991). Preliminary Study of Discolored Rice Grain Caused by *Curvularia*. *Seed Pathology and Microbiology*, 295.
- Plan Encarnación Más. (2015). *Medio Ambiente y Territorio*.
- Montoya, M., Quiróz, F., & Troglia, C. (2007). Sclerotinia. Un viejo conocido que veranea en la zona. *Visión rural*, 5-8.
- Pereyra, V., & Escande, A. (1995). *Enfermedades del girasol. Guía para productores del sudeste bonaerense*. Buenos Aires: INTA, Centro Regional Buenos Aires Sur.

- Pavón, M., González, I., Martín, R., & García, T. (2012). Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y agente causal de enfermedades humanas. *Nutrición hospitalaria*, 1772-1781.
- Calvo, M. (2002). El género *Alternaria*, características morfológicas y capacidad de producción de micotoxinas. *Anales de la Real Academia de Doctores*, 357-368.
- Estrada, G., & Sandoval, I. (2004). Patogenicidad de especies de *Curvularia* en arroz. *Fitosanidad*, 23-26.
- Avalos, J. (2010). *Un hongo patógeno en plantas sirve para sintetizar compuestos de la dieta humana*. Sevilla: Departamento de Genética de la Universidad de Sevilla.
- Cisneros, F. (2010). *Control de plagas agrícolas*.
- Martínez, L., Téliz, D., Rodríguez, C., Mora, A., Nieto, D., Cortés, I. M., . . . Silva, G. (2012). Resistencia a fungicidas en poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* del Sureste Mexicano. *Agrociencia*, 707-717.
- Salazar, E., Hernández, R., Tapia, A., & Gómez-Alpícar, L. (2012). Identificación molecular del hongo *Colletotrichum* spp., Aislado de banano (*Musa* spp) de altura en la zona de tuttialba y determinación de su sensibilidad a fungicidas poscosecha. *Agronomía Costarricense*, 53-68.
- Santos, M., Diáñez, F., de Cara, M., Camacho, F., & Tello, J. (2012). Control biológico de plagas y enfermedades, un encuadre crítico. *Cuadernos de estudios Agroalimentarios*, 61-72.
- Medina, L. (2010). Aislamiento e identificación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de la zona de las Caobas, Holguín. *Cultivos Tropicales*.

- Perez, A., Rojas, J., Montes, V., & Donicer, M. (2011). Hongos formadores de micorrizas arbusculares: Una alternativa bioógica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el caribe colombiano. *Revista Colombiana Cienc. Anim.*, 367-385.
- Ruiz, P., Rojas, K., & Sieverding, E. (2011). La distribución geográfica de los hongos de micorriza arbuscular: una prioridad de investigación en la Amazonía Peruana. *Espacio y Desarrollo*, 47-63.
- Alvarado, C., Dasgupta, N., Ambriz, E., Sánchez, J., & Villegas, J. (2011). Hongos Micorrízicos Arbusculares y la fitorremediación de plomo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 357-364.
- Lizarraga, S., Ruiz, A., Salazar, S., Díaz, J., & Albornoz, P. (2015). Micorrizas vesículo-arbusculares, endófitos septados oscuros y anatomía radical en *Fragaria ananassa* var. Camino Real (Rosaceae), en la provincia de Tucumán, Argentina. *Revista de Agronegocios Noreste Argentino*, 11-17.
- Nelson, C., & Nelson, M. (2015). Uso y manejo de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y humus de lombriz en tomate (*Solanum lycopersicum* L.), bajo sistema protegido. *Cultivos Tropicales*, 53-62.
- Sánchez de Prager, M., Posada Almanza, R., Velásquez Pomar, D., & Naváez Carillo, M. (2010). *Metodologías básicas para el trabajo con micorriza arbuscular y hongos formadores de micorriza arbuscular*. Palmira: Universidad Nacional de Colombia- Sede Palmira.
- Eraso, C., Acosta, J., Salazar, C., & Betancouth, C. (2014). Evaluación de cepas de *Trichoderma* spp. para el manejo del amarillamiento de arveja causado por *Fusarium oxysporum*. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 237- 249.

- Figueroa, M., Rodríguez, R., Guerrero, B., González, M., Pons, J., Jiménez, J., . . . Mendoza, M. (2010). Caracterización de Especies de Fusarium Asociadas a la Pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitología*, 124-134.
- Ayerza, R. (2007). *Chía: Redescubriendo un olvidado alimento de los aztecas*. Buenos Aires: Del Nuevo Extremo.
- Hernández, S., Reyes, M., Garcia, J., Mayek, N., & Reyes, C. (2007). Incidencia de Hongos Potencialmente Toxígenos en Maíz (*Zea mays* L.) Almacenado y Cultivado en el. *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 25, 127-133.
- Arenas, R. (2003). *Micología Médica Ilustrada*. México D.F.: McGraw-Hill Interamericana Editores.
- Beltrán- Orozco M C, R. M. (2003). Chía, alimento milenario. *Revista Industria Alimentaria*, 20-29.
- Cruz, A. (2015, Febrero 7). *La república*. Retrieved from larepublica.pe/.../854215-sobreproduccion-detiene-el-boom-del-cultivo-de-la-chia
- MAG. (2016, Marzo 15). *Ministerio de Agricultura y Ganadería*. Retrieved from Ministerio de Agricultura y Ganadería: <http://www.mag.gov.py/>
- Mertens, D. (2010). *Research and evaluation in education and psychology: integrating diversity with quantitative, qualitative, and mixed methods*. California: Sage.
- DGEEC. (2018, Junio 14). *Dirección General de Estadísticas, Encuestas y Censos*. Retrieved from www.dgeec.gov.py
- Ministerio de Agricultura y Ganadería, M. (1995). *Estudio de Reconocimiento de Suelos, Capacidad de Uso de la Tierra y Propuesta de Ordenamiento Territorial Preliminar de la Región Oriental del Paraguay*. Retrieved from

<http://www.geologiadelparaguay.com.py/Estudio-de-Reconocimiento-de-Suelos-Regi%C3%B3n-Oriental-Paraguay.pdf>

- Avilán, W., & Mozón, D. (1974). Efectos de competencia y de bordura entre parcelas experimentales en ensayos de fertilizantes con algodón, caraota, frijol y soya. *Agronomía Tropical*, 421-442.
- Atlas, R., & Bartha, R. (2005). *Ecología microbiana y Microbiología Ambiental. Cuarta Edición*. Madrid: Pearson Educación, S.A.
- Castellanos, G., Jara, C., & Mosquera, G. (2011). Guías de prácticas de laboratorio para el manejo de patógenos del frijol. *Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)*, 7-8.
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). *Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos*. Lima: Centro Internacional de la Papa.
- Koneman, E. (1987). Micología, Tercera edición. *Médica Panamericana*, 70-73.
- Agrios, G. (2008). *Plant Pathology*. New York: Elsevier Academic Press.
- Bergamin Filho, A., Kimati, H., & Amorin, L. (1995). *Manual de Fitopatología- Principios e conceitos*. Sao Paulo: Agro Ceres.
- Leslie-F, J., & Summerell- A, B. (2006). *The fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing.
- Carrillo, L., & Gómez Molina, S. (2007). Micotoxinas. In *Manual de Microbiología de los alimentos*. San Salvador Jujuy: Carrillo.
- Nelson, P., Tousson, T., & Cook, R. (1981). *Fusarium: Disease, Biology and Taxonomy*. Pennsylvania: Uk: Pennsylvania State University .
- Booth, C. (1971). *The genus Fusarium*. Kew Surrey.

- Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytology*, 489-500.
- Quiagen. (2012). *Manual del kit QIAamp®*. Alemania: DSP DNA Blood Mini.
- Babu, B., Saxena, A., Srivastava, A., & Arora, D. (2007). Identification and detection of *Macrophomina phaseolina* by using species-specific oligonucleotide primers and probe. *Mycology*, 797-803.
- Burlage, R., Atlas, R., Stahl, D., Geesey, G., & Sayler, G. (1998). Techniques in Microbial Ecology. *Oxford University Press*, 239-242.
- Rad, C., & López, J. (n.d.). *Determinación del contenido de materia orgánica de un suelo*. Grupo de Investigación en Compostaje UBUCOMP.
- Department of agronomy of the Kansas State University. (2000). Methods of phosphorus analysis for soils, sediments, residuals and waters N° 396. Kansas: SAAESD.
- McKean, S. (1993). *Manual de análisis de suelos y tejido vegetal*. Palmira: CIAT.
- Hernández, J., & Meurer, E. (1997). Óxidos de hierro en los suelos: sus propiedades y su caracterización con énfasis en los estudios de retención de fósforo. *Agrociencia*, 1-14.
- Montoya, J., Bono, Alfredo, Barraco, Mirian, & Diaz-Zorita, M. (2003). *Boro, Un nutriente que crea invertidumbre: Experiencias de fertilización en la región pampeana*. General Villegas: FAUBA.
- Bouyoucus, G. (1962). *Hydrometer method improved for making*. Agron.
- Kleinn, C., & Morales, D. (2002). Consideraciones metodológicas al establecer parcelas permanentes de observación en bosque natural o plantaciones forestales. *Revista forestal centroamericana*, 6-12.

- Gavilánez, F., Suárez, C., Andrade, P., & Martillo, J. M. (2017). *Tamaño de la parcela en los experimentos agrícolas*. Guayaquil: Universidad Agraria del Ecuador.
- Centurión, C. (2018). El Cultivo de la Chía. *Abc Color Digital*.
- Vitali, Á., Mazzei, M., Montero, G., & Vesprini, J. (2017). *Efecto del servicio ecosistémico de la polinización en Chía (Salvia Hispánica) y Colza (Brassica napus)*. ReseachGate.
- Almendariz, P. (2012). *Evaluación Agronómica del Cultivo de Chía con Dos Densidades de Siembra y Tres de Fertilizante Orgánico, en San Pablo de Atenas, Provincia Bolívar*. Guaranda: Universidad Estatal de Bolívar.
- Fuentes, D. (2016). Diagnóstico y Manejo de la pudrición redicular del frijol ejotero. *Universidad Autonoma Chapingo*, 5-18.
- Peiretti, G. (2010). Característica de la Ensilabilidad de Chía durante el Ciclo de Crecimiento y Patrón de Fermentación de sus Ensilajes afectados por los Niveles de Marchitez. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 33-35.
- Berne, L. (2017). *Tratamiento Curasemilla con Pyraclostrobin+Tiofanato Metílico para el Control de Fusariosis del Trigo*. María Auxiliadora: Universidad Católica "Nuestra Señora de la Asunción".
- Buol, S., Hole, F., & McCracken, R. (2016). *Génesis y Clasificación de Suelos*. Ciudad de México: Trillas.
- Fernández, A. (2018). *Elementos del Suelo Esenciales para las Plantas*. InfoAgro.
- García, A., Martínez, G., & Torres, A. (2012). *Influencia del pH en el crecimiento de quince cepas de hongos ectomicorrizógenos*. Tlaxcala: Universidad Nacional Autónoma de México.

- Martín, G., Rivera, R., & Pérez, A. (2013). Efecto de Canavalia, Inoculación Micorrizica y Dosis de Fertilizante Nitrogenado en el Cultivo del Maíz. *Cultivos Tropicales*, 60-67.
- Madriz, K. (2012). Mecanismos de Defensa en las Interacciones Planta-Patógeno. *Manejo Integrado de Plagas*, 22-32.
- Ramírez, L. (2015). *Diagnóstico y Manejo Químico-Biológico de los Agentes Causales de la Pudrición de Raíz y Cuello de la Gerbera*. Chapingo: Universidad Autónoma Chapingo.
- Padilla, J. (2015). Incidencia e identificación de enfermedades en genotipos de trigo con diferentes niveles de resistencia bajo el sistema de siembras de camas permanentes. *Universidad Autonoma de Chapingo*, 29-34.
- Zaragosa, M. (2015). *Identificación de Especies de Fusarium spp. Causantes de la Roña de la Espiga de Trigo en Valles Altos de Oaxaca*. Chapingo: Universidad Autónoma Chapingo.
- Soka, G., & Ritchie, M. (2014). Arbuscular mycorrhizal symbiosis and ecosystem processes: Prospects for future research in tropical soils. *Open Journal of Ecology*, 11-22.
- Covacevich, F., Sainz, H., Barbieri, P., & Echeverría, H. (2015). *Formas de Colocación de Fósforo sobre el Crecimiento y la Micorrización Espontánea del Cultivo de Trigo*. Buenos Aires: UNMDP.
- Sacsa, G. (2017, 08 11). *¿Qué es la saturación de bases en los suelos?* Retrieved from Grupo Sacsa: <http://www.gruposacsa.com.mx/que-es-la-saturacion-de-bases-en-los-suelos/>
- Szostak, J. (2017). *Trabajo Práctico de Zoología*. Hohenau: Facultad de Ciencia Agrarias.
- López, Ó., González, E., & De Llamas, P. (2017). *Mapa de Reconocimiento de Suelos de la Región Oriental*. Asunción.

- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones- Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., . . . Drummond, A. (2012). Geneious Basic: una plataforma de software de escritorio integrada y extensible para la organización y análisis de datos de secuencia. *NCBI*, 1647-9.
- Ronquist, F. T., van der Mark, P., Ayres, D., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., . . . Huelsenbeck, J. (2012). MrBayes 3.2: Inferencia filogenética bayesiana eficiente y elección de modelo a través de un gran espacio modelo. *NCBI*, 539-542.
- Posada, D. (2008). jModelTest: promediado del modelo filogenético. *NCBI*, 1253-6.
- Rambaut, A. (2009). *Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh*. Retrieved from <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Sandoval-Denis, M., Guarnaccia, V., Polizzi, G., & Crous, P. (2018). Symptomatic Citrus trees reveal a new pathogenic lineage in *Fusarium* and two new *Neocosmospora* species. *Persoonia*, 1-25.
- Silvestro, D., & Michalak, I. (2012). raxmlGUI: un front-end gráfico para RAxML. *Springer Link*, 335–337.
- López, S. (2015). *Análisis genómico-funcional de la regulación de la expresión génica por la luz en el hongo Mucor circinelloides*. Murcia: Universidad de Murcia.
- Gooday, G., Fawcett, P., Green, D., & Shaw, G. (1973). The formation of fungal sporopollenin in the zygosporangium wall of *Mucor mucedo*; A role for the sexual carotenogenesis in the Mucorales. *Journal of General Microbiology*, 233-239.
- Torres-Martínez, S. (2012). Molecular tools for carotenogenesis analysis in the zygomycete *Mucor circinelloides*. *Methods Mol. Biol.*, 85-107.

- Abdollahzadeh, J., Javadi, A., Mohammadi- Goltapeh, E., Zare, R., & Phillips, A. (2010). Phylogeny and morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. *Persoonia*, 1-10.
- Pitt, J., & Hocking, A. (2009). *Fungi and Food Spoilage*. 3 ed., 125-127.
- Slippres, B., Boissin, E., Phillips, A. G., Lombard, L., Wingfield, M., Postma, A., . . . Crous, P. (2013). Phylogenetic lineages in the Botryosphaerales: a systematic and evolutionary framework. *Studies in Mycology*, 31-49.
- Alves, A., Crous, P., Correia, A., & Phillips, A. (2008). Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. *Fungal Diversity*, 1-13.
- Shahbaz, M., Iqbal, Z., Sallem, A., & Anjum, M. (2009). Association of *Lasiodiplodia theobromae* with different decline disorders in mango. *Pakistan Journal of Botany*, 359-368.
- Ivancovich, A., Flores, C., & Lavilla, M. (2016). Podredumbre carbonosa de la soja, causada por *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., un hongo oportunista muy dependiente del estrés hídrico y térmico. *Estación Experimental Agropecuaria Pergamino "Ing. Agr. Walter Kugler"*, 1-8.
- Vidal, J. (2009). *Efectos del factor térmico en el desarrollo y crecimiento inicial de pimiento (Capsicum annum L) cultivado en campo*. Tucumán: Universidad Nacional de Tucumán. .
- Druzhinina, I., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B., Kenerley, C., Monte, E., & Kubicek, C. (2011). Trichoderma: the genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology*, 9(10), 749-759.

- Michielse, C., & MJN. (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology* 10(3), 311-324.
- Sung, G., Hywel-Jones, N., Sung, J., Luangsa-ard, J., Shrestha, B., & Spatafora, J. (2007). Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Stud Mycol*, 5-59.
- Kirk, P., Cannon, P., Minter, D., & Stalpers, J. (2008). *Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi, 10th edn*. Wallingford: CAB International.
- Wang, H., Xu, Z., Gao, L., & Hao, B. (2009). A fungal phylogeny based on 82 complete genomes using the composition vector method. *BMC Evol Biol* 9, 195.
- Crous, P., Slippers, B., Wingfield, M., Rheeder, J., Marasas, W., & Philips, A. (2006). Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. *Stud Mycol.*, 235-253.
- Barr, M. (1987). *Prodromus to class Loculoascomycetes*. Massachusetts.: Amherst.
- Ogoshi, A. (1975). Grouping of *Rhizoctonia solani* Kühn and their perfect stages. *Rev. Plant. Protect.*, 93-103.
- James, T., Kauff, F., Schoch, C., Matheny, P., Hofstetter, V., Cox, C., . . . Crockett, M. (2006). Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*, 818-822.
- Yeboah, S., Owusu, D. L., Mochiah, M., Oteng- Darko, P., Adama, I., Appiah- Kubi, Z., & Agyeman, K. (2014). Influence of Planting Methods and Density on Performance of Chia (*Salvia hispanica*) and its Suitability as an Oilseed Plant. *Agricultural Science* 2(4), 14-26.

- Azad, M., Alam, M., Hossain, M., & Khokon, M. (2017). Effect of biofungicide on the production of healthy and quality seeds of *Salvia hispanica* in Bangladesh. *Bangladesh J. Plant Pathol.* 33 (1&2):, 57-64.
- Chandel, S., Dubey, K., & Kaushal, P. (2014). Major diseases of medicinal and aromatic plants recorded in Himachal Pradesh., *India. J. Pl. Dis. Sci.* 9:, 145-153.
- Saremi, H., Okhovvat, S., & SJ, A. (2011). Fusarium diseases as the main soil borne fungal pathogen on plants and their control management with soil solarization in Iran. *Biotech.* 10:, 18391-18398.
- Morel-Gadea, G., & Orrego-Fuente, A. (2014). *Especificidad de aislados del hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid sobre cultivos agrícolas, abonos verdes y malezas.* San Lorenzo: FCA-UNA.
- Pinheiro, M. (2004). *Estudo de variabilidade genética de *Aspergillus flavus* como base para desenvolvimento de PCR multiplex para detecção de fungos produtores de aflatoxinas em Castanha-do-Brasil e castanha de caju.* Brasília: Universidade Católica de Brasília.
- Moo-Koh, F., Cristóbal-Alejo, A., Reyes-Ramírez, J., Tun-Suárez, A., Sandoval-Luna, A., Ruth, M., & Ramírez-Pool, J. (2014). In vitro activity of an aqueous extract of *Bonellia flammaea* against phytopathogenic fungi. *Agrociencia*, 833-845.
- Aguaysol, N., Robles-Terán, L., González, V., Lobo-Zavalía, R., & Ploper, L. (2014). Detección de *Sclerotinia sclerotiorum* en cultivos de chia (*Salvia hispanica*) en Tucumán durante la campaña 2014. *Avance Agroindustrial* 35 (4), 20-24.
- Albrecht, A., Insfrán, A., & Faggioli, V. (2018). Determination of the presence of Microrrhizal Fungi in Chia (*Salvia Hispánica* L.) in two localities of Paraguay. *International Journal of Advance Research (IJAR)*, 6(2), 899 - 902.

- Helgason, T., & Fitter, A. (2005). The ecology and evolution of the arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycologist*, 19, 96-101.
- Barrer, S. (2009). The use of arbuscular mycorrhizal fungi as an alternative for agriculture. *Faculty of Agriculture Sciences*, 124(1).
- Whipps, J. M. (2004). Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique*, 82, 1198-1227.
- Bolan, N. (1991). A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, 134, 189-207.
- Van der Heijden, M., Bardgett, R., & Van Straalen, N. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11, 296-310.
- Albrecht, A., & Albrecht, M. (2017). Determinación de *Trichoderma* sp en raíz del cultivo de Chía (*Salvia hispánica* L). *Agrotecnia* (25), 13.
- Zapata, R., Quiroga, M., Murillo, B., Agüero, D., Lisiy, B., & Mena, P. (2012). *Trichoderma* spp Biocontrolador y promotor de crecimiento: Una Alternativa al uso de agroquímicos en cultivos intensivos. *ASADES*, 47-55.
- Carballo, M., Hidalgo, E., & Rodríguez, A. (2004). Control biológico de insectos mediante hongos entomopatógenos. *CATIE*, 232.
- Olalde, V., & Aguilera, L. (1988). Microorganismos y biodiversidad. *Terra Latinoamericana*, 289-292.
- Owen, E. (1995). Características físico-químicas del suelo y su incidencia en la absorción de nutrimentos, con énfasis en el cultivo de la palma de aceite. *Palmas*, 31-39.

- Cano, M. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp y *Pseudomonas* spp. *Revista U.D.C.A* , 15-31.
- Bataglia Meyer, V. (2011). *Classification of active acidity levels (pH) and lime necessity of the east region soils of Paraguay*. Universidad Nacional de Asunción, Asunción.
- IAN. (1988). *Metodología de análisis para laboratorios de suelos*. MAG/DIA, Dirección de Investigación Agrícola.
- Vallejos, F., Kliewer, I., Florentin, M., Derpsch, R., & Calegari, A. (2001). *Abonos verdes y rotación de cultivos en siembra directa: Sistemas de producción tractorizado "Proyecto de Conservación de suelos MAG-GTZ"*. San Lorenzo, PY.: Artes Gráficas Robert.
- Casierra-Posada, F., & Aguilar-Avenidaño, O. E. (2007). Estrés por aluminio en plantas: reacciones en el suelo, síntomas en vegetales y posibilidades de corrección. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 1(2), 246-257.
- Martinez-Braga, R. (2011). *Potassium level classification on soils on the oriental region of Paraguay*. Universidad Nacional de Asunción.
- Jorge Prieto, M. (2012). *Classification of soil phosphorus levels of the eastern region of Paraguay*. Universidad Nacional de Asunción.
- Piedrahita, O. (2011). *Capacidad de Intercambio Catiónico*. Retrieved from [www.nuprec.com/Nuprec_Sp_archivos/Literatura/CAPACIDAD% 20DE% 20INTERCAMBIO% 20CATIONICO. pdf](http://www.nuprec.com/Nuprec_Sp_archivos/Literatura/CAPACIDAD%20DE%20INTERCAMBIO%20CATIONICO.pdf).
- Mello, M., Telnaes, N., Gaglianone, P., Chicarelli, M., Brassell, S., & Maxwell, J. (1988). Organic geochemical characterisation of depositional palaeoenvironments of source rocks and oils in Brazilian marginal basins. *Organic Geochemistry In Petroleum Exploration*, 13, 31-45.

- De Mello, F., De Oliveira, C., M., Arzolla, S., Silvera, R., Netto, A., & Castro K.J. (1988).
Fertilidade do Solo. Nobel.
- Paniagua, J., H., C., Leguizamón, C. E., Centurión, M., Paredes, J., Galeano, M., . . . Vega, S.
(2001). *Manual para el llenado de la encuesta, la descripción de las observaciones para
capacidad de uso de la tierra y la obtención de muestras de la cámara superficial del
suelo de las Unidades Territoriales de Intervención*. San Lorenzo, Py:
DESOT/FCA/UNA;PRODESAL/DINCAP/MAG.
- Bon, M. (2004). *Guía de campo de los hongos de España y de Europa*. España: Ed. Omega.
- Pedraza, R., Teixeira, K., Fernández, A., Garcia de Salamone, I., Baca, B., Azcón, R., . . .
Bonilla, R. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la
calidad de los suelos. *Revista Corpoica*, 155-164.
- Ramos, E., & Zúñiga, D. (2008). Efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la
actividad microbiana a nivel de laboratorio. *Ecología aplicada*, 123-130.
- Bautista Cruz, A., Etchevers Barra, J., del Castillo, R., & Gutiérrez, C. (2004). La calidad del
suelo y sus indicadores. *Revista Ecosistemas*, 90-97.
- O'Donell, K., Sutton, D., Fothergill, A., McCarthy, D., Rinaldi, M., Brandt, M., . . . Geiser, D.
(2008). Molecular Phylogenetic Diversity, Multilocus Haplotype Nomenclature, and In
Vitro Antifungal Resistance within the *Fusarium solani* Species Complex. *Journal of
Clinical Microbiology*, 46, 2477-2490.
- Sandoval-Denis, M., Guarnaccia, V., Polizzi, G., & Crous, P. (2018). Symptomatic Citrus trees
reveal a new pathogenic lineage in *Fusarium* and two new *Neocosmospora* species.
Persoonia, 40, 1-25.

- Di Fabio, A., Navarro, R., & Turaglio, E. (2018). Agroquímicos usados en el cultivo de *Salvia hispánica* L. *Revista ICU*, 10-11.
- Gobierno de México. (2019). *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIACON)*. Retrieved from <http://www.gob.mx/siap>
- Leslie, J., & Summerell, B. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing Professional. Retrieved from <http://www.scirp.org>
- Figuroa, M., Rodríguez, R., Guerrero, B., & González, M. &. (2010, Setiembre 3). Caracterización de Especies de *Fusarium* Asociadas a la Pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 133.
- Pavone, D., & Dorta, B. (2015). Diversidad del hongo *Trichoderma* spp. en plantaciones de maíz de Venezuela. *interciencia*, 23 - 31.
- INTA. (2009). *Enfermedades del tallo y raíz en soja*. Retrieved from <https://inta.gob.ar>
- Cruz, A., Triana, I., Rivero, D., Martínez, B., Echevarría, A., & Rodríguez, A. (2017). Evaluación de la actividad antifúngica de *Trichoderma asperellum* Samuels ante patógenos fúngicos que afectan al cultivo de la soja (*Glycine max* L.). *SCielo*, <http://scielo.sld.cu>.
- Lori, G., Carranza, M., Violante, A., Rizzo, I., & Alippi, H. (2016, 28 Setiembre). *CICDigital*. Retrieved from <https://digital.cic.gba.gob.ar>
- Yoshida, A. e. (2012). *Saccharomyces GENOME DATA BASE*. Retrieved from <https://www.yeastgenome.org>

Anexos



Imagen N°1: Cultivo de *Salvia Hispánica* (Chía) emergente



Imagen N°2: Cultivo de *Salvia Hispánica* (Chía) en crecimiento



Imagen N° 3 y 4: Elección muestras para posterior análisis.



Imgaen N° 5 y 6: Procedimiento de limpieza y desinfección de la muestras para su posterior siembra.

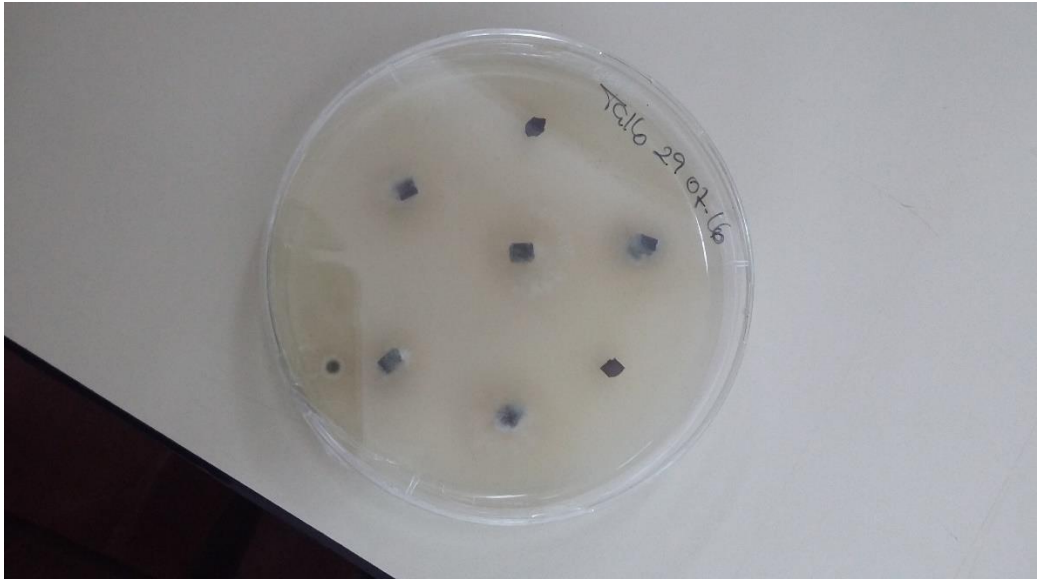


Imagen N°7: Siembra de muestra en placa con Potato Dextrosa Agar (PDA)



Imagen N°8: Siembra de muestra en Tubos con Agar Saboreaud y Potato Desxtrosa Agar (PDA)

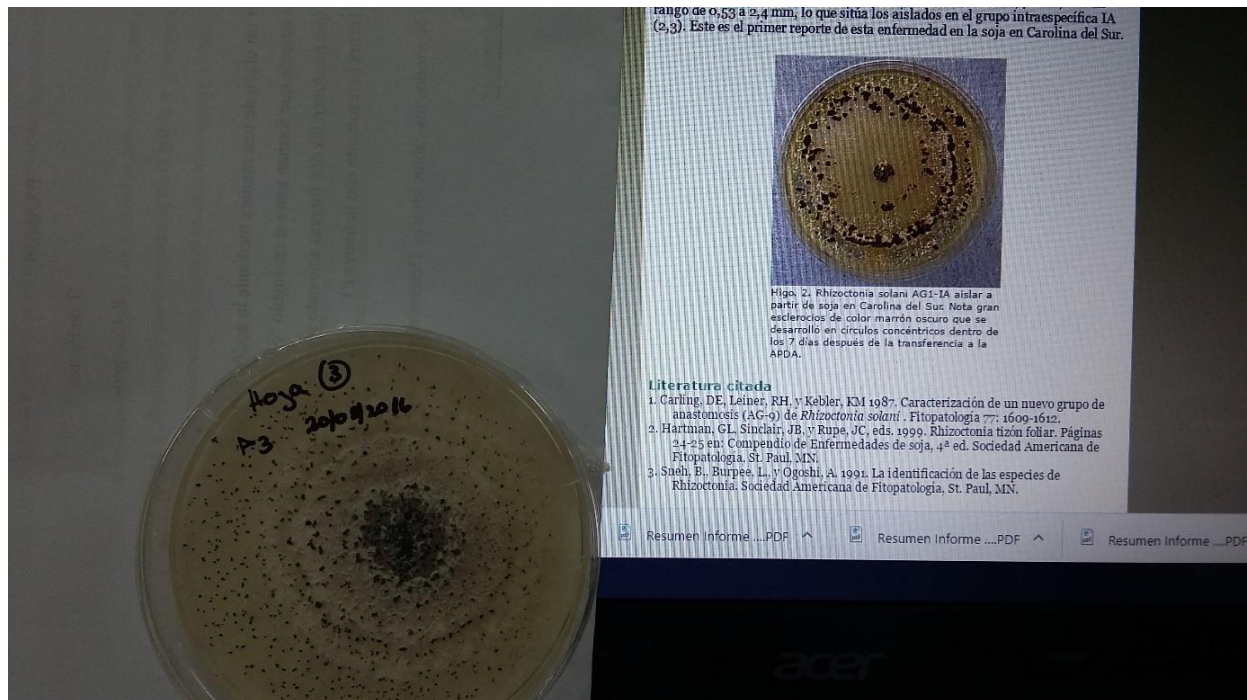


Imagen N° 9: Observación Macroscópica de la colonia de *Rhizoctonia*.

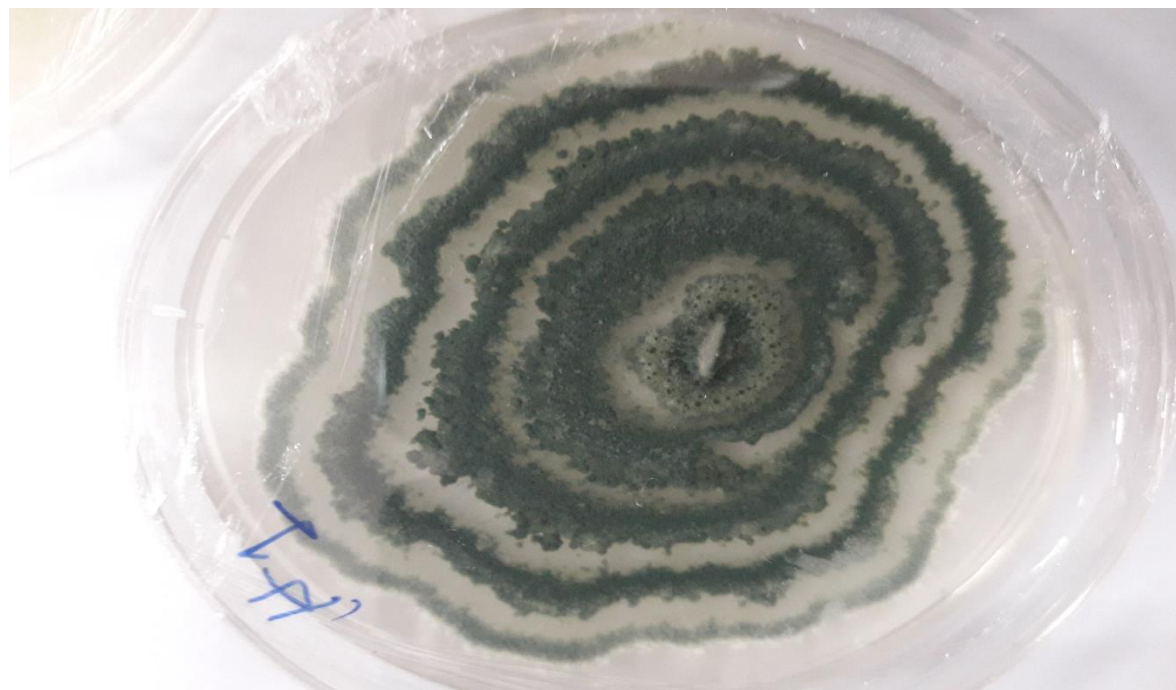


Imagen N° 10: Observación Macroscópica de la Colonia de *Trychoderma* sp.

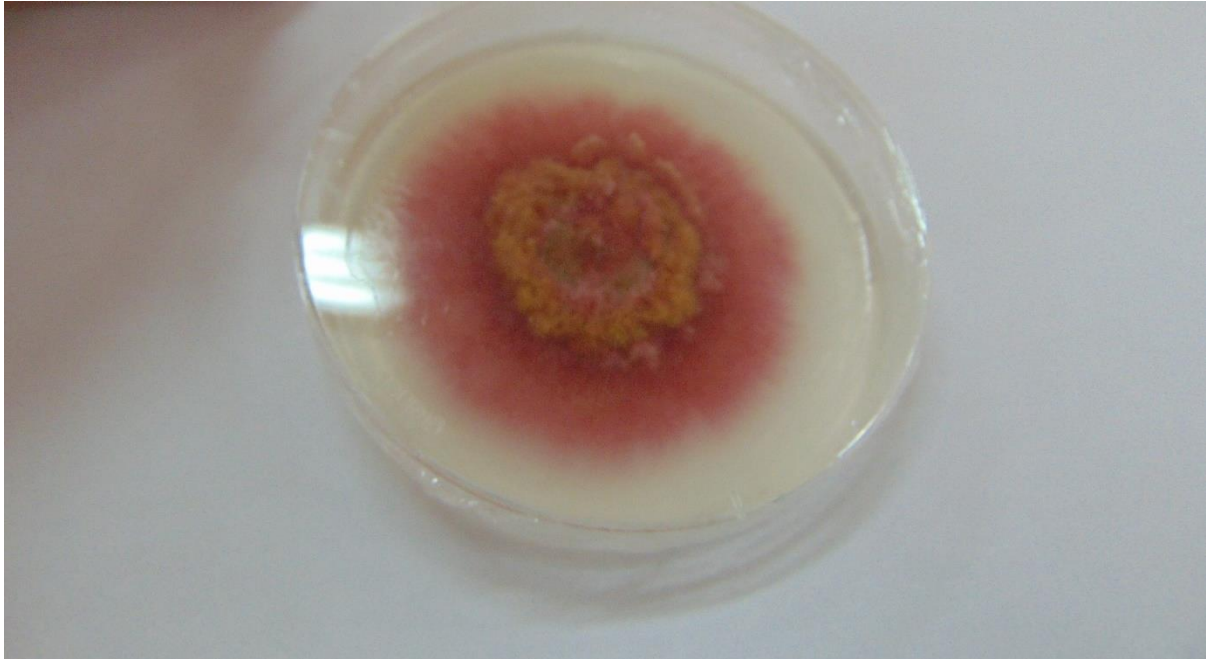


Imagen N° 11: Observación Macroscópica de la colonia de Fusarium

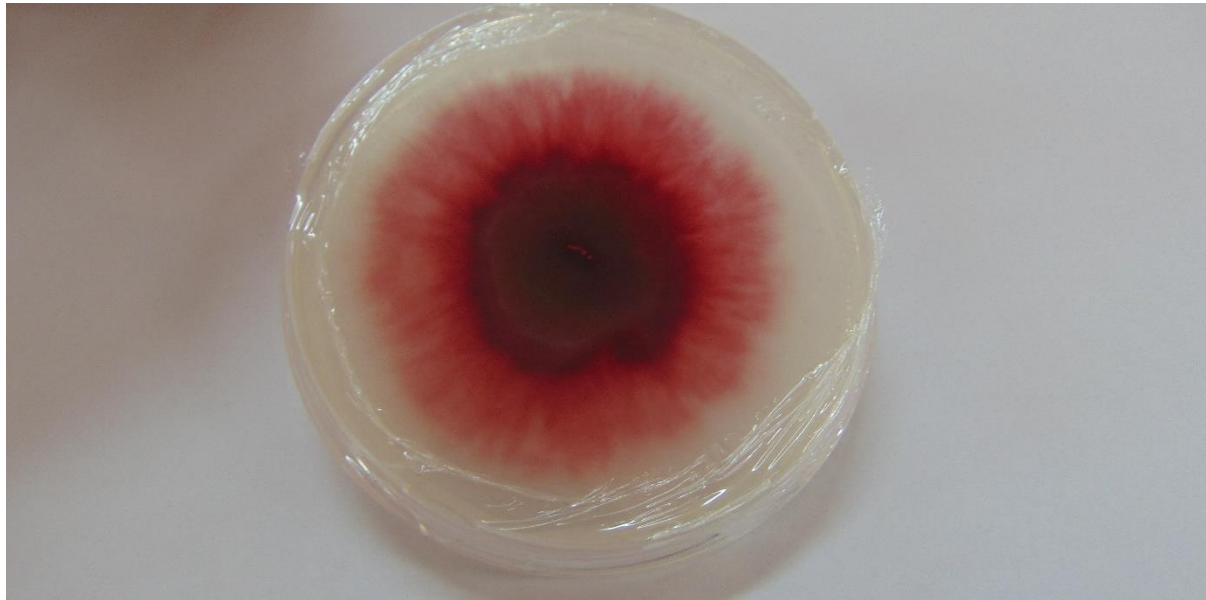


Imagen N° 12: Observación Macroscópica de la colonia de Fusarium Equiseti

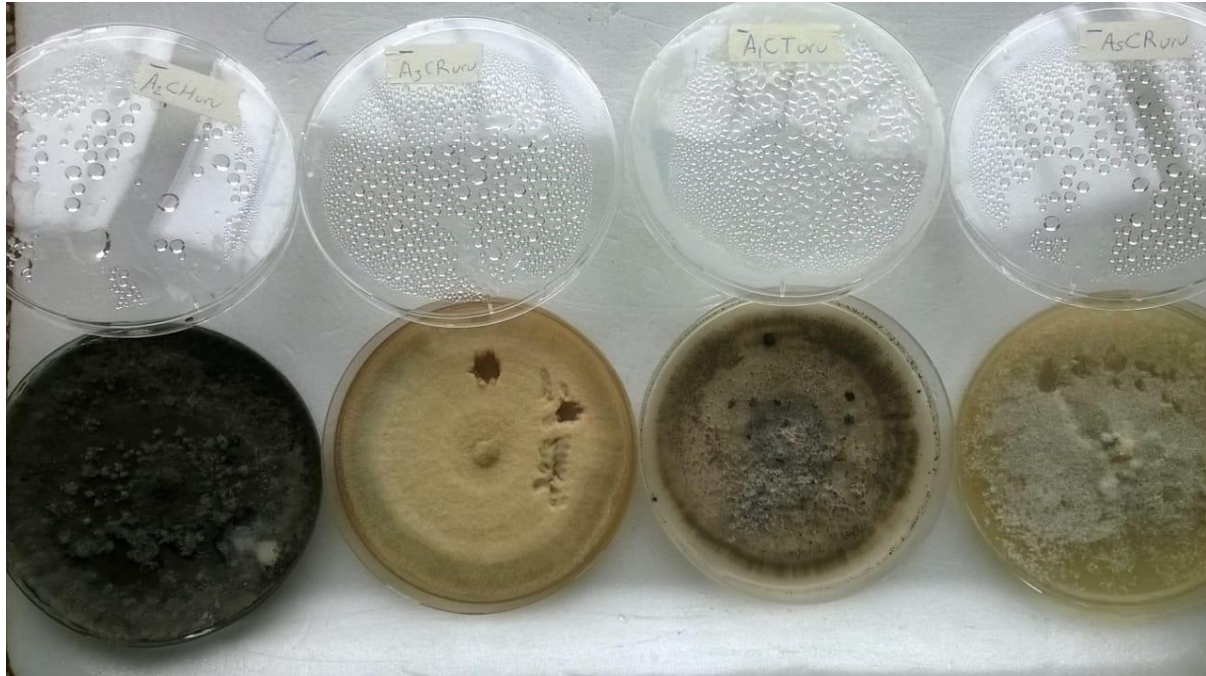


Imagen N° 13: Observación macroscópica de colonias fúngicas varias.



Imagen N° 14: Observación macroscópica de colonias fúngicas diversas en tubos con cultivo tipo pico de flauta.



Imagen N° 15: Observación microscópica en 40 x. de *Alternaria* sp.



Imagen N° 16: Imagen microscópica en 40 x de Fusarium.

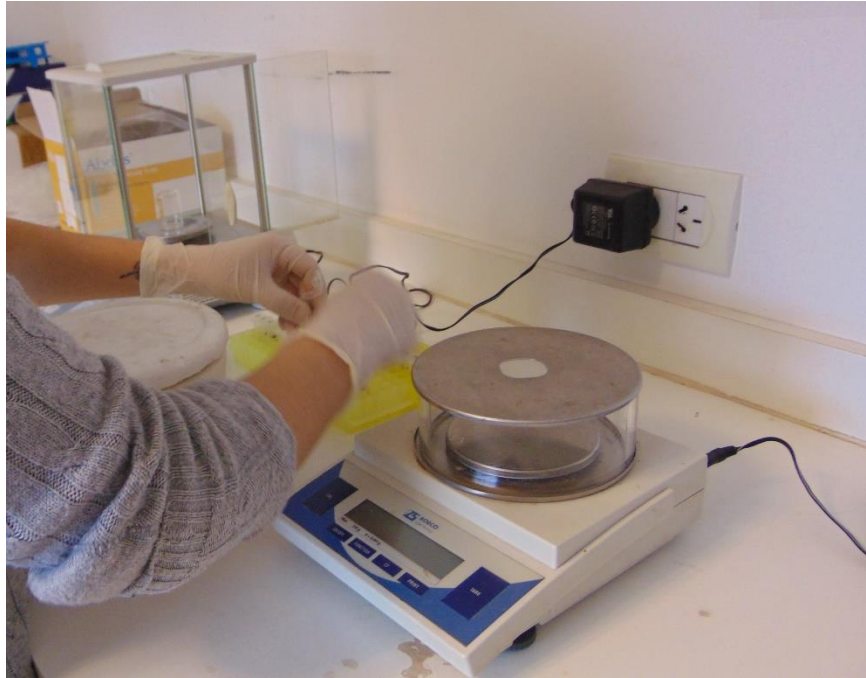


Imagen N° 17: Proceso de preparación de muestras para obtención de ADN.



Imagen N° 18: Centrifugación de muestras para obtención de ADN.



Imagen N° 19: Agitación de muestra mediante vórtex.

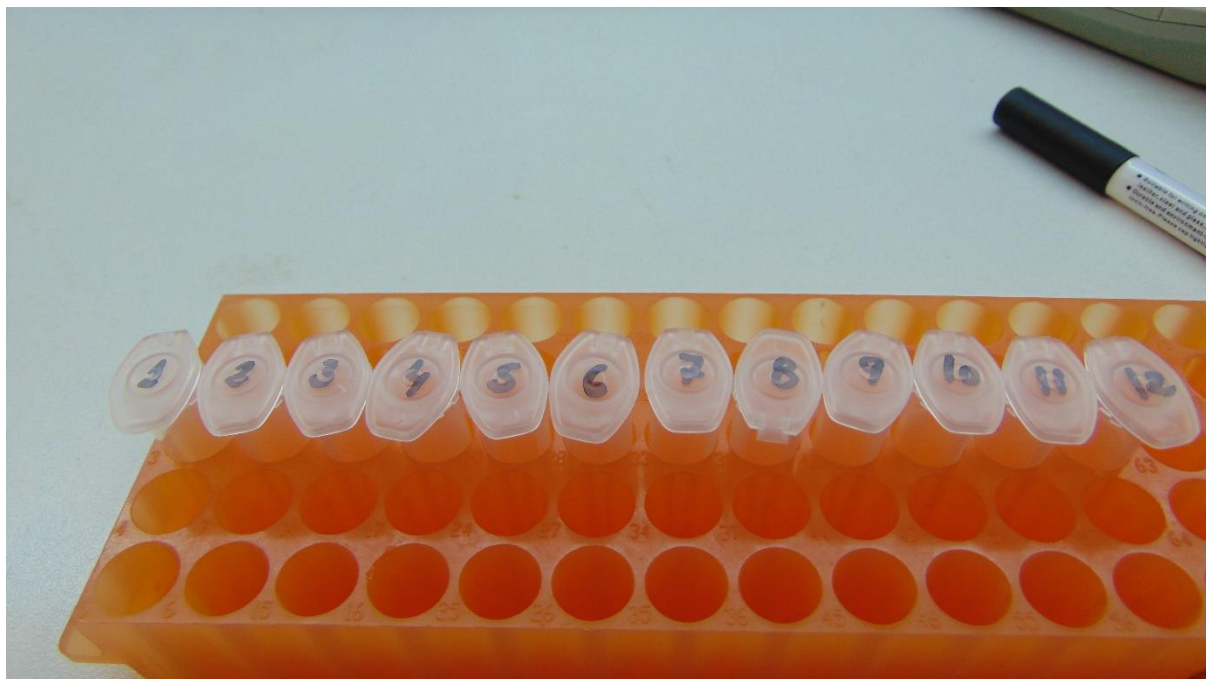


Imagen N° 20: Numeración de muestras, para posterior extracción de ADN.



Imagen N° 22: Preparación de muestras para observación de Micorrizas



Imagen N° 23: Lavado y desinfección de muestras para observación de Micorrizas.

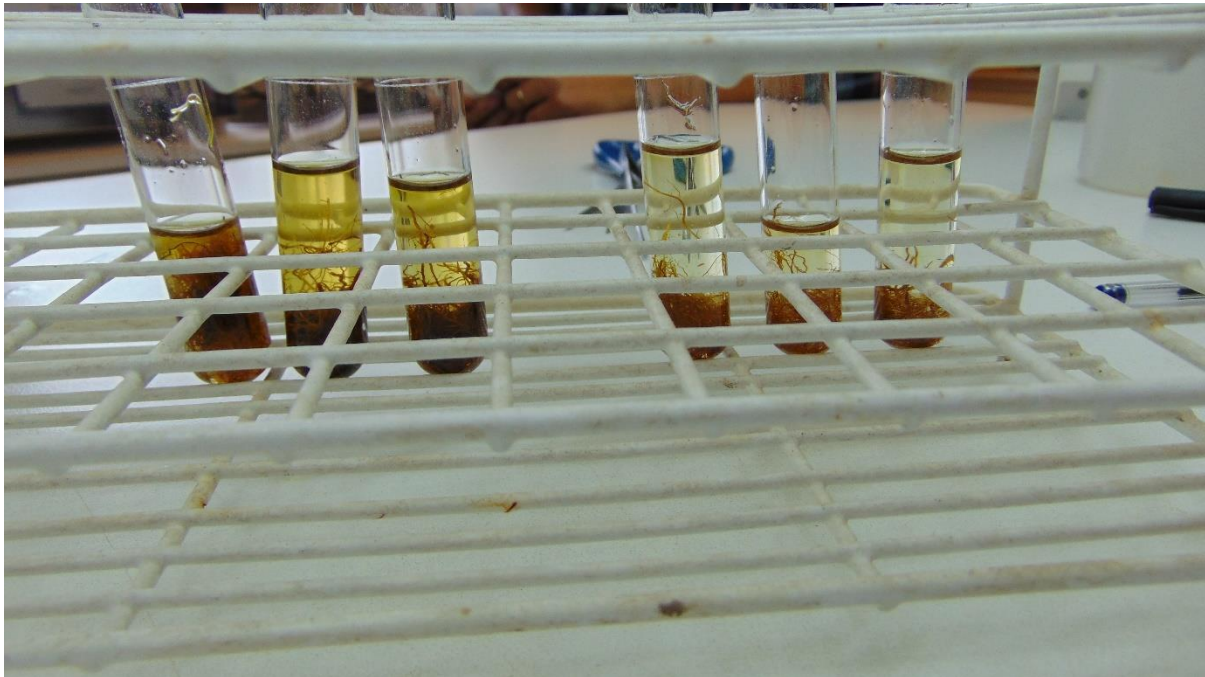


Imagen N° 24: Preparación de muestras en Ac. Láctico para observación de Micorrizas



Imagen N° 25: Tinción de Muestras con Colorante para observación de Micorrizas.

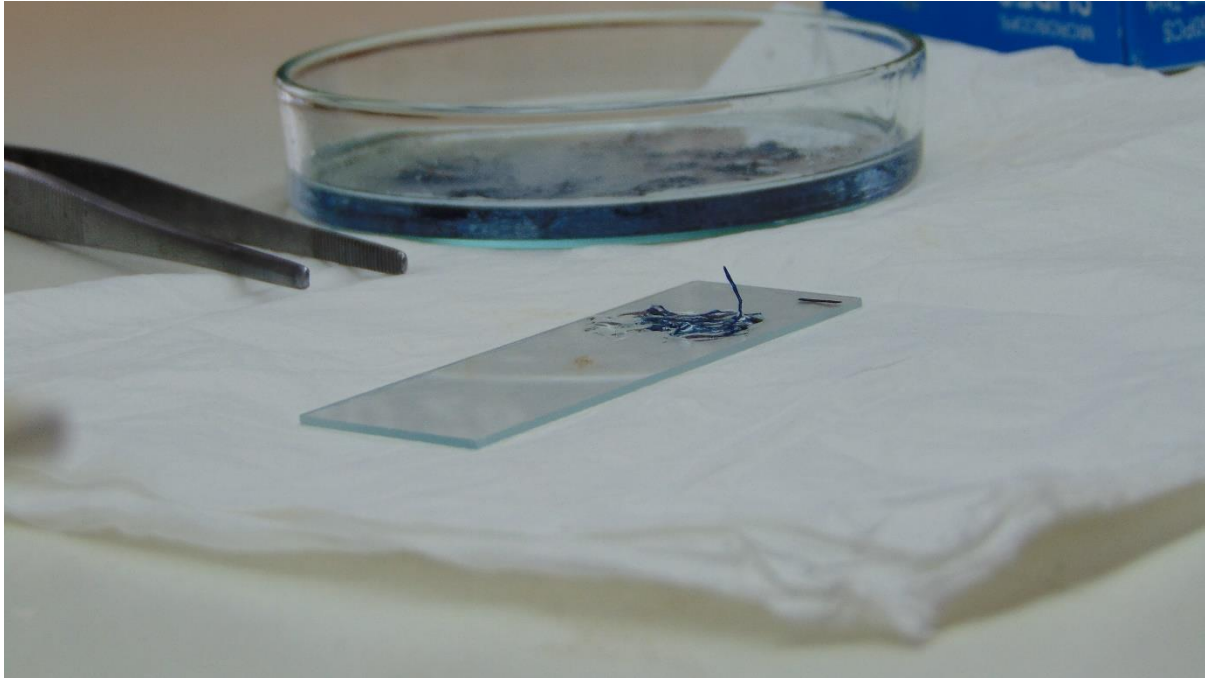


Imagen N° 26: Preparación de Muestra sobre porta objeto para observación de Micorrizas.

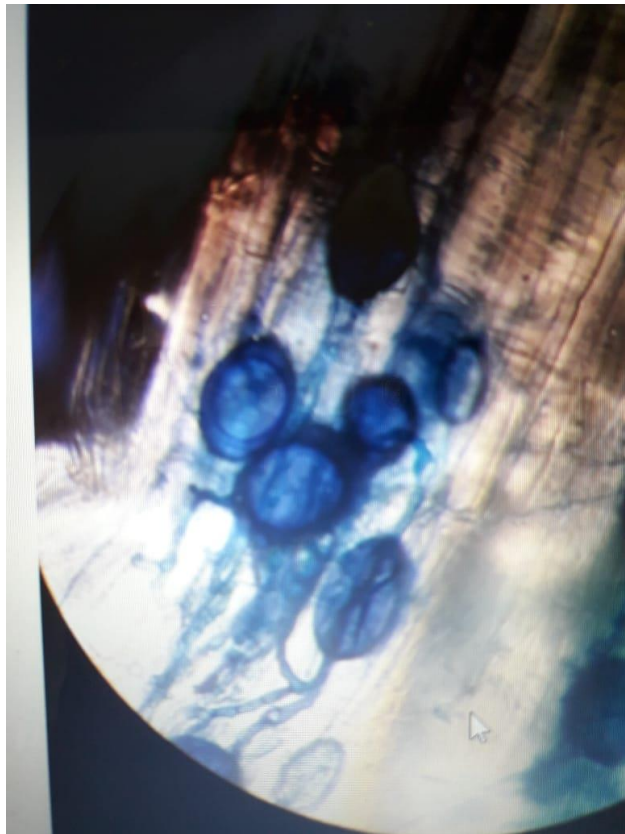


Imagen N°27: Observación microscópica de Micorrizas, 40 x.