

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCABELICA
(Creada por Ley N° 25265)
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

"EFECTO DE TRES DOSIS DE *Trichoderma harzianum* EN EL CONTROL DE LA RANCHA (*Phytophthora infestans* DE BARY), EN EL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) EN CONDICIONES DE LABORATORIO"

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN
CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGRÓNOMO
PRESENTADO POR:

Bach. CHAHUAYLACC AUCCATOMA, Jorge Luis
ACOBAMBA - HUANCABELICA

2014

SB

ACTA DE SUSTENTACIÓN O APROBACIÓN DE UNA DE LAS MODALIDADES DE TITULACIÓN

En la ciudad Universitaria de "Comun Era" a los 13 días del mes de Agosto del año 2014, a horas 12:05 a.m. Se reunieron; los miembros del Jurado Calificador, que está conformado de la siguiente manera:

PRESIDENTE : Dr. David RUÍZ VÍLCHEZ
SECRETARIO : Ing. Jesús Antonio JAIME PIÑAS
VOCAL : Ing. Leónidas LAURA QUISPETUPA
ACCESITARIO : Ing. Carlos Raúl Verastegui Rojas.

Designados con la Resolución N° 256-2014-FC-FCA-UNH, como miembros de jurado calificador para optar el Título Profesional por la modalidad de Trabajo Investigación Científica (Tesis), Titulado: **"EFECTO DE TRES DOSIS DE *Trichoderma harzianum* EN EL CONTROL DE LA RANCHA (*Phytophthora infestans* DE BARY), EN EL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) EN CONDICIONES DE LABORATORIO"**

Siendo autor (es) el (los) Bachiller (es):

Jorge Luis CHAHUAYLACC AUCCATOMA

A fin de proceder con la evaluación y calificación de la sustentación del: proyecto de investigación, antes citado.

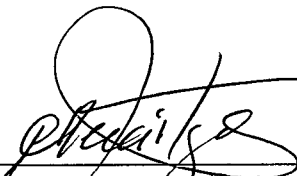
Finalizado la evaluación; se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto; y, luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al siguiente el resultado:

APROBADO POR ☒ UNANIMIDAD.....

DESAPROBADO ☐

En conformidad a lo actuado firmamos al pie.


Dr. David RUÍZ VÍLCHEZ
PRESIDENTE


Ing. Carlos Raúl Verastegui Rojas
SECRETARIO


Ing. Leónidas LAURA QUISPETUPA
VOCAL

SA

ASESOR

Mg. Ing. Marino Bautista Vargas

CO-ASESOR

Ing. Freddy López Palacios,

DEDICATORIA

A DIOS

Quien está siempre conmigo, por permitirme culminar otra meta más en mi vida.

A MI HIJO

Thiago y Xiomara por su amor, motivo de mi fortaleza para seguir adelante.

A MIS PADRES

Por los esfuerzos y sacrificios para brindarme una profesión que es la mejor herencia que pudieran darme y por su apoyo incondicional en mi desarrollo personal y profesional.

A MIS HERMANOS

Por su confianza, comprensión que siempre han demostrado.

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Academico Profesional de Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Huancavelica

Al Ing. Marino Bautista Vargas, por su apoyo y dedicación por proporcionarme conocimientos en el desarrollo del presente trabajo.

De manera muy especial al Ing. Santiago Puente Segura, encargado del Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias, por su apoyo y colaboración en este presente trabajo de investigación.

Al Ing. Freddy López Palacios, como Co-asesor del desarrollo del presente trabajo.

A los docentes, el personal técnico y administrativo de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Huancavelica, que me brindaron su amistad y ayuda en todo lo que estuvo a su alcance.

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN.....	6
INTRODUCCIÓN.....	8
Capítulo I: Problema.....	9
1.1.- Planteamiento del problema.....	10
1.2.- Formulación del problema.....	10
1.3.- Objetivo: General y Específico.....	10
1.4.- Justificación.....	10
Capítulo II: Marco teórico:.....	13
2.1.- Antecedentes.....	13
2.2.- Bases teóricas.....	14
2.3.- Hipótesis.....	22
2.5.- Variables de estudios.....	22
Capítulo III: Metodología de la Investigación.....	24
3.1.- Ámbito de estudio.....	24
3.2.- Tipo de investigación.....	24
3.3.- Nivel de investigación.....	24
3.4.- Método de investigación.....	24
3.5.- Diseño de investigación.....	25
3.6.- Población, Muestra y Muestreo.....	25
3.7.- Técnicas e Instrumentos de recolección de datos.....	26
3.8.- Procedimiento de recolección de datos.....	29
3.9.- Técnicas de procesamiento y análisis de datos.....	29
Capítulo IV: Resultados.....	30
4.1.- Presentación de resultados.....	30

4.2.- Discusión.....	45
Conclusiones	
Recomendaciones	
Referencia bibliográfica	
Artículos científicos	
Anexos	
Gráficos, cuadros, imágenes	

RESUMEN

Esta investigación se realizó en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de "Común Era" – Acobamba, de la Universidad Nacional de Huancavelica – Perú ubicado a 3400 msnm, en los meses de Junio a Octubre con el siguiente objetivo: "Evaluar el efecto de tres dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca (*Phytophthora infestans* DE BARY), en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio". Se utilizó el diseño experimental de bloques completamente al azar, se evaluó cuatro tratamientos y tres repeticiones, se realizó pruebas de confrontación en medios de cultivo: papa, dextrosa y agar (PDA), en placas Petri, se sembraron uno de sus extremos *Trichoderma harzianum* y en el otro extremo opuesto se sembró *Phytophthora infestans*, los dos hongos previamente activados, se delimitó el centro de placa Petri con una lámina de papel milimetrado que sirvió de regla para determinar quién invade más rápido el medio de cultivo (PDA), se aplicó (0.1ml, 0.2ml y 0.3ml) el material fue colocado en condiciones asépticas de laboratorio a temperatura ambiente de (21 °C – 27 °C luz – oscuridad), se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial y el tiempo de control.

En donde los resultados indican que la aplicación de las tres dosis de *Trichoderma harzianum*, presentaron gran capacidad antagonista a los 10 días, en donde mostro que *Trichoderma harzianum* aumenta los niveles de enzimas hidrolíticas β -1,3-glucosa en donde ejerce mayor competencia por espacio y nutrientes e interacción directamente con el patógeno (micoparasitismo), todo lo cual, juega un papel importante en la reducción y destrucción de la colonia del patógeno puede controlar eficientemente a *Phytophthora infestans*. En definitiva, el tratamiento con *Trichoderma harzianum*, a medida que transcurren el tiempo aumenta la destrucción del micelio fúngico desarrollando hasta ese momento, ha sido capaz de reducir hasta un 100% por ciento (0.3ml), 98,246(0.2ml) y 94,386(0.1ml) *Phytophthora infestans* en papa (*Solanum tuberosum* L.) a los 10 días.

PALABRAS CLAVES:

Hongo: Organismo heterótrofo.

Heterótrofo: Organismo que depende de la materia orgánica para su suministro de energía.

Trichoderma spp.: Es un tipo de hongo anaerobio facultativo que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios. Pertenece a la sub división deuteromicetes, que se caracteriza por no poseer o no presentar un estado sexual determinado. De este microorganismo existen más de 30 especies, todas con efectos benéficos para la agricultura y otras ramas.

Antagonista: Organismo que actúa en contra de otros causándole la muerte. Micoparasitismo: los hongos antagonistas son capaces de parasitar micelios de hongos, envuelve al hongo patógeno y penetra en sus células causándoles alteración en la pared celular.

Antibiosis: Producen gran cantidad de antibióticos que son fungotóxicos, inhibiendo el desarrollo y destruyendo la viabilidad del micelio o estructura del micelio estructura del fitopatógeno.

INTRODUCCIÓN

La papa blanca (*Solanum tuberosum* L.) es una de los cultivos de mayor importancia económica en el Perú, en nuestro país desde tiempos del incanato hasta la actualidad, donde se posiciona como el cuarto alimento más importante del mundo, teniendo en cuenta que en Perú existen más de 4,000 variedades. El cultivo de papa ocupa en el Perú el primer lugar en la producción agrícola nacional con 2.7 millones de toneladas en el año 2001; el tercer cultivo en extensión con 233,984 has después del maíz (amarillo y amiláceo) y el arroz. La papa es considerado como alimento base en la canasta básica y su consumo es indispensable ya que a esto se le suma su gran valor alimenticio, pues es una fuente rica en proteínas, carbohidratos, potasio, vitaminas C, otras vitaminas y minerales en menor proporción. (Barrera, 1994).

Una de las principales causas para la disminución de los rendimientos en el cultivo de papa son las enfermedades del suelo como la rancha producida por el hongo *Phytophthora infestans* DE BARY; que es la más común en el país. (Rodríguez, 1992).

Existe un alto número de esfuerzos para encontrar métodos de control adecuados para esta patología. Entre ellos, el control biológico es una gran alternativa, de relevancia creciente, cuyo objetivo es producir una disminución en la incidencia de enfermedades sin alterar ni dañar el medio ambiente.

El principal beneficio de *Trichoderma harzianum* para la agricultura es el antagonismo con microorganismos patógenos de las plantas por su capacidad para producir secreciones enzimáticas tóxicas extracelulares que causan desintegración y muerte en hongos fitopatógenos que habitan el suelo (micoparasitismo), en la degradación de paredes celulares de las hifas de hongos patógenos (depredación), en la producción de químicos volátiles y antibióticos antifúngales que inhiben hongos basidiomicetos (amensalismo), en la colonización directa del hongo por penetración hifal (predación), en la competencia por oxígeno, nutriente y espacio en el suelo y por su gran adaptabilidad y rápido crecimiento. (Domínguez, 1984).

CAPITULO I: PROBLEMA

1.1.- Planteamiento del Problema

El cultivo de papa, en las zonas alto andinas de la provincia de Acobamba, desde años atrás presenta una merma en el rendimiento, esto principalmente por la presencia de hongos como la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY, que trae como consecuencia pérdidas económicas para el agricultor de esta zona, más aun agravándose este si las condiciones ambientales son favorables para la incidencia de esta enfermedad. El uso intensivo e irresponsable de fungicidas y fumigantes para el control temporal de este tipo de enfermedades ocasiona serios problemas en la salud humana, plantas, animales y problemas medioambientales. El empleo de agentes biológicos para el control de plagas y enfermedades es una técnica con tendencia al incremento por ser económica, duradera y de resultados benéficos relacionados con la estabilidad que le ofrecen al ecosistema, y evitan la contaminación del ambiente producida por la aplicación de plaguicidas. El presente trabajo se realiza para evaluar en el efecto de control fitosanitario en el cultivo de papa y consecuentemente una reducción de las pérdidas económicas.

1.2.- Formulación del Problema

- ¿Cuál es el efecto de las tres dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la racha (*Phytophthora infestans* DE BARY), en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio?

1.3.- Objetivos: General y Específicos

Objetivo General

- Evaluar el efecto de las tres dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la racha *Phytophthora infestans* DE BARY, en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio.

Objetivos Específicos:

- Determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), de *Phytophthora infestans* DE BARY, en presencia de *Trichoderma harzianum*, en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio.
- Conocer el tiempo de control en la confrontación in vitro de *Trichoderma harzianum*, frente a *Phytophthora infestans* DE BARY, en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio.

1.4.- Justificación

CIENTÍFICO:

La investigación va orientada de forma integral a solucionar problemas desde un punto de vista agrícola siendo un hecho reconocido que los conocimientos tradicionales y los usos de una tecnología sencilla, eficaz y orgánica son una importante fuente del saber que debe ser incentivada y científicamente validada,

sistematizada a través de acciones que contribuyan a una mayor sensibilización, conocimiento y conservación sostenible, contrastando las altas incidencias del uso de los agroquímicos que contaminan el medio ambiente. El uso de agentes biológicos para el control de plagas y enfermedades es una técnica que contribuye a la agricultura orgánica por ser económica, duradera y de resultados benéficos relacionados con la estabilidad que le ofrecen al ecosistema, y evitan la contaminación del ambiente producida por la aplicación de plaguicidas. Por consiguiente, con la aplicación adecuada de *Trichoderma harzianum*, se conseguirá un control biológico más eficiente, el mismo que está considerado dentro del manejo integrado de enfermedades.

SOCIAL:

El presente trabajo de investigación va orientada a obtener resultados verídicos, para así poder ser confiable de una determinada investigación y brindando estabilidad, bienestar individual y familiar; mayor participación social y comunitaria, finalmente promover la capacitación y la creatividad del agricultor en las actividades agrícolas consumiendo productos orgánicos. Por lo cual, es un componente de mayor importancia para la generación de los recursos en la economía familiar, al mejorar sus rendimientos y su rentabilidad del cultivo, podemos aperturar nuevas oportunidades económicas para mejorar su condición de vida y garantizando una mejor condición social en lo educativo, alimentación y salud.

ECONÓMICO:

Con el presenta trabajo, se buscará ayudar a los agricultores solucionar problemas de enfermedades fitopatógenos en el cultivo de papa que disminuyen la producción agrícola. La investigación busca solucionar los requerimientos alimentarios de la familia a través de la disminución en pérdidas de producción del cultivo de papa. Por lo cual, los ingresos de sus productos agrícolas se destinaran

a salud, educación, vivienda, etc., es decir elevar la calidad de vida y el socio económico del agricultor y a fortalecer la ecología sin alterar el ecosistema con miras al futuro de la familia.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

HERRERA (2 005) manifiesta que, se puede obtener buenas producciones de flores de verano, sin la necesidad de aplicar Bromuro de Metilo, Dazomet, o cualquier químico para desinfectar los suelos; aplicando productos orgánicos y con un manejo racional que permita mantener el equilibrio de las poblaciones y la fertilidad en el suelo, se alcanza niveles altos de producción. En este cultivo los lotes en los que se aplicaron como tratamientos Agrolac + *Trichoderma* spp. de finca, Bihobac + *Trichoderma* spp. de finca, Bocashi, *Trichoderma* spp. de finca, y Dazomet; tuvieron menor incidencia de enfermedades radiculares.

MORENO (2 005) utilizó como antagonista a *T. pseudokoningii* y constató que los bulbos de cebolla desinfectados con este antagonista, registraron mayores alturas, también verificó que únicamente existe un rango de validación, en la que C1A1 (2 sacos de compost con la aplicación foliar de *T. harzianum*), registró un incremento leve en el número de tallos cosechados.

BAKER (1 982) menciona que, las exudaciones de raíces de las plantas sirven como estímulo y recursos de alimento para los hongos antagonistas y en muchos casos para el patógeno también. Los desechos de tallos, raíces u hojas sirven como un lugar de sobrevivencia para el patógeno y también sirve como un recurso de energía para los microorganismos saprofitos.

Según **FALCONÍ (1 990)** Control biológico es la manipulación directa o indirecta por parte del hombre de los agentes vivos que de forma natural tienen capacidad de control. Está manipulación provoca el aumento de su capacidad de ataque sobre las enfermedades. Bajo esta premisa, el control biológico está basado en la utilización de procesos ecológicos y su importancia radica en el impacto beneficioso para la conservación del ambiente y a su vez la factibilidad tecnológica de poder manejar agentes naturales de biocontrol.

Según **COOK (1 995)** El control biológico puede estar definido como la reducción de la densidad de inóculo o de la actividad de un patógeno mediante la acción natural o de uno o más microorganismos a través de la manipulación del ambiente, hospedero, antagonistas o por introducción masiva de uno o más microorganismos antagonistas. Los factores que forman parte de un control biológico son el hospedero, patógeno y el ambiente. La población de hospederos que se encuentra en el ambiente natural forma parte siempre de un control biológico ya que esta población se encarga de mantener el balance natural del suelo, manteniendo a los patógenos suprimidos en su mayoría de veces.

2.2 Bases Teóricas

2.2.1.- Hongo antagónico *Trichoderma spp.*

a.- Clasificación taxonómica:

División	: Mycota.
Sub. División	: Eumycota.
Clase	: Deuteromicetes.
Orden	: Moniliales.
Familia	: Moniliaceae.
Género	: <i>Trichoderma</i>
Especies	: <i>T. harzianum</i> Rifai, <i>T. viride</i> Pers., <i>T. polysporum</i> Link fr, <i>T. reesei</i> EG Simmons, <i>T. virens</i> , <i>T. longibrachatum</i> Rifai, <i>T. parceromosum</i> , <i>T. pseudokoningii</i> , <i>T. hamatum</i> , <i>T. lignorum</i> y <i>T. citroviride</i> .

Su fase perfecta (estado Teleomorfo) lo ubica en la Clase Ascomycetes, Serie Pyrenomycetes, Orden Hipocreales, Género Hypocrea. Tiene como sinónimos el género *Tolypocladium*. **(Esposito y Da-Silva, 1 998).**

b.- Biología.

Este género agrupa a 33 especies, el hongo se identifica como una mota de color verde habitante natural del suelo. Visto al microscopio parece un árbol pequeño, que produce esporas o conidias asexuales, las cuales son similares a semillas, que aseguran la sobre vivencia del hongo en la próxima generación, y la apariencia de mota son ramificaciones del cuerpo del hongo llamado micelio compuesto por hifas. *Trichoderma* spp produce en el micelio, unos ensanchamientos, que luego toman forma globosa u ovoide llamadas clamidosporas, las cuales son bastante tolerantes a condiciones ambientales adversas y son consideradas estructuras de sobre vivencia, ya que pueden perdurar a través del tiempo **(Esposito y Da-Silva, 1 998).**

c.- Uso agrícola del *Trichoderma*.

Trichoderma tiene diversas ventajas como agente de control biológico, posee un rápido crecimiento y desarrollo, también produce una gran cantidad de enzimas, inducibles con la presencia de hongos fitopatógenos. Puede desarrollarse en una amplia gama de sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura. Su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas y hábitat, donde los hongos son causantes de diversas enfermedades, le permiten ser eficiente agente de control; de igual forma pueden sobrevivir en medios con contenidos significativos de pesticidas y otros químicos. Además su gran variabilidad se constituye en un reservorio de posibilidades de control biológico bajo diferentes sistemas de producción y cultivos. **(Stefanova, 2 003).**

c.1.- Protección directa a suelos y diferentes cultivos.

El manejo de las plantas mediante la rotación de cultivos favorece a *Trichoderma* a librar el suelo de los propágulos del fitopatógeno, vulnerables durante su latencia en ausencia del hospedante, por esta razón la utilización del biopreparado en los cultivos a rotar en las áreas altamente infectadas será una forma a contribuir en la reducción de la población del patógeno en un menor plazo de tiempo. Además la preparación adecuada del terreno, la mejor fecha de siembra, fertilización y riego actúan a favor de la combinación *Planta-Trichoderma* asociadas.

La aplicación del *Trichoderma*, directa al suelo ofrece incluso una protección mayor a los cultivos. Cuando *Trichoderma* es utilizado para el control de hongos del suelo, pueden mezclarse con materia orgánica (estiércol, casting y biotierra) y otras enmiendas utilizadas como biofertilizantes, tal como se hace con inoculantes bacterianos usados como fertilizantes ecológicos. La cepa de *Trichoderma*, efectiva para patógenos en *tabaco* coloniza el suelo de forma progresivamente superior al desarrollo del sistema radical y brinda una cobertura adecuada a las plántulas en el semillero, que es donde mejor puede lograrse una mayor protección con el biopreparado de *Trichoderma*. También el conjunto *Trichoderma – Micorriza* favorece el desarrollo de las plantas de *tabaco* y no afecta el hiper parasitismo, por lo que se pueden aplicar éstos bio agentes de forma conjunta. Este efecto beneficioso también se logra en otros cultivos. El *Trichoderma* ejerce un efecto favorable en la primera fase de desarrollo de la *caña de azúcar*, ya que es capaz de inhibir la acción de otros hongos, además, se pudo comprobar que la aplicación de *Trichoderma* fue eficiente debido a que en todas las combinaciones donde se aplicó este producto, se logró un mayor número de posturas germinadas que en la variante donde no se aplicó el mismo (Stefanova, 2 003).

c.2.- Control sobre diferentes microorganismos fitopatógenos.

El *Trichoderma*, posee aislamientos con poderes antibióticos, los cuales actúan contra varios microorganismos fitopatógenos. Se comporta como saprofito en la

rizófora, siendo capaz de destruir residuos de plantas infectadas por patógenos. Se considera que su acción es antagonista, siendo capaz de sacar el mejor provecho por su alta adaptación al medio y por competir por el sustrato y por espacio. Es bien conocida la definición de la enfermedad como resultado de una interacción entre la planta - hospedante y el patógeno, y organismos antagónicos que limitan la actividad del patógeno y/o elevan la resistencia de la planta.

La importancia del hombre en esta relación radica en saber manejar las especificidades de cada uno para lograr que prevalezca la interacción a favor de la planta y el antagonista. Esto no es posible sin conocimientos de la etiología de la enfermedad que se desea controlar, el hábito del hongo fitopatógeno, su forma de propagarse y permanecer en el campo. *Trichoderma* siendo un microorganismo competitivo ofrece una protección biológica a la planta, destruye el inóculo patógeno presente y contribuye a prevenir su formación. (Esposito y Da-Silva, 1998).

d.- Las virtudes del hongo *Trichoderma spp.*

Los hongos del género *Trichoderma* están presentes en casi todos los suelos agrícolas. El interés actual en este género proviene esencialmente de sus propiedades enzimáticas y antibióticas y actualmente este hongo es entre los microorganismos utilizados en el control biológico, uno de los casos raros de resultados consistentes en el combate de hongos patógenos. Las especies de *Trichoderma* que frecuentemente se utilizan para el biocontrol, son las especies *harzianum* y *viride*, de las cuales la primera es la que ha sido más estudiada (Boyle, 1983).

d.1.- La competencia por nutrientes

Algunos hongos tienen un comportamiento saprofítico. Al colonizar desechos vegetales producen una infección primaria y gracias a los elementos nutritivos de esos desechos, el patógeno logra contaminar los órganos sanos. *Trichoderma*

harzianum compite y coloniza más rápidamente los desechos vegetales y retarda la instalación de otros hongos (Boyle, 1983).

d.2.- La antibiosis

Los antibióticos volátiles tienen un efecto esencialmente fungistático debilitando al agente patógeno y haciéndolo más sensible a los antibióticos solubles.

Trichoderma harzianum produce numerosos antibióticos como son: la trichodermina, la suzukacilina, la alameticina, la dermadina, la penicilina, los trichotecenos, las trichorzianinas, entre otros (González, et al., 2002).

d.3.- El micoparasitismo

El *Trichoderma harzianum* manifiesta propiedades parasitarias contra diversos hongos, produciendo alteraciones en las hifas del parásito. Inicialmente *Trichoderma* realiza un reconocimiento y adherencia sobre la pared del patógeno.

d.4.- La estimulación de defensas de la planta.

Trichoderma harzianum induce a la planta, por medio de sustancias secretadas por el microorganismo a producir fitoalexinas, a las cuales son sensibles algunos hongos patógenos. Las fitoalexinas son producidas en forma natural por la planta como respuesta a heridas. En el caso de *Trichoderma harzianum*, éste induce altos niveles de fitoalexinas de tal forma que el nivel tóxico alcanzado evita que otros hongos patógenos se puedan establecer (González, et al., 2002).

d.5.- La estimulación del crecimiento de la raíz.

Se ha observado que en experimentos utilizando plantas de bajo vigor provenientes de semillas sometidas a estrés oxidativo, al ser sometidas a tratamiento con *Trichoderma*, recuperaron su vigor al ser colonizadas por el hongo, revertiendo los

daños por oxidación de los componentes de las membranas celulares de la raíz (Nafex, 2 005).

2.2.2.- *Phytophthora infestans*

a.- Clasificación taxonómica:

División	: Protista.
Clase	: Oomycetes.
Orden	: Peronosporales.
Familia	: Pythiaceae.
Género	: <i>Phytophthora</i>
Especies	: <i>P. infestans</i>

b.- Biología.

Las esporas de este Oomicetes hibernan en los tubérculos infectados, en particular los que se quedan en el suelo después de la cosecha del año anterior y se propagan rápidamente en condiciones cálidas y húmedas. Esto puede tener efectos devastadores de destrucción de cosechas enteras. Las esporas se desarrollan en las hojas, extendiéndose por los cultivos cuando las temperaturas están por encima de 10 °C y la humedad es superior al 75% durante 2 días o más. La lluvia puede arrastrar las esporas al suelo donde infectan a los tubérculos jóvenes y el viento puede arrastrar a las esporas a millas de distancia. Las primeras etapas de la plaga pasan fácilmente desapercibidas y no todas las plantas son afectadas a la vez. Los síntomas incluyen la aparición de manchas oscuras en las hojas y tallos de plantas. En condiciones de humedad aparecerá un polvo blanco debajo de las hojas y toda la planta puede colapsarse rápidamente. Los tubérculos infectados desarrollan manchas de color gris o negro y que son de color marrón rojizo por debajo de la piel. Rápidamente se pudren por una infestación bacteriana secundaria y producen muy mal olor. Los tubérculos aparentemente sanos se pudrirán más tarde, mientras estén almacenados para su consumo o plantación (Agrios, 1 996).

c.- Signos y Síntomas:

Las lesiones en las hojas son muy variadas, dependiendo de la temperatura, humedad, intensidad de luz y variedad del hospedante. Los síntomas iniciales son unas manchitas pequeñas de color verde claro a verde oscuro, de forma irregular. Bajo condiciones favorables de medio ambiente las lesiones progresan convirtiéndose en lesiones necróticas grandes de color castaño a negro purpúreo, que pueden causar la muerte de los folíolos y diseminarse por los pecíolos hacia el tallo, matando eventualmente toda la planta. Bajo condiciones favorables se forma un mildiu veloso constituido por esporangios y esporangioforos en el borde de las lesiones, especialmente en la cara inferior de las hojas (**Agrios, 1 996**).

d.- Ciclo de la Enfermedad:

En la naturaleza se han encontrado oosporas, donde. Las hojas que tocan el suelo son las primeras en infectarse, lo que sugiere que las oosporas juegan un rol en la supervivencia de *P. infestans* DE BARY, bajo condiciones adversas. En áreas tropicales donde se cultiva papa todo el año, la fase de invernación de *P. infestans* DE BARY, no tiene importancia, sin embargo en lugares donde la diferencia de las estaciones es marcada, la invernación de *P. infestans* DE BARY, se hace en su forma de micelio. Después de que la planta emerge, el hongo invade algunos de los brotes en desarrollo y esporula siempre que las condiciones de humedad sean favorables, produciéndose así el inoculo primario. Una vez realizada la infección primaria, la diseminación se realiza por medio de los esporangios que son transportados por el agua y por el viento. Los tubérculos frecuentemente brotan en los montones de desecho y forman una masa de tejido succulento que es fácilmente infectada por esporas de *P. infestans* DE BARY provenientes de los tubérculos enfermos. La esporulación en el follaje produce un ingente número de esporas que infectan los campos vecinos (**Bayer Crop Science, 2 007**).

e.- Epidemiología:

Los tubérculos particularmente aquellos que no están bien cubiertos pueden infectarse en el campo, por medio de las esporas que caen de las hojas como consecuencia del lavado que ejerce el agua de irrigación o de lluvia. En condiciones óptimas de almacenaje la diseminación de *P. infestans* es limitada o nula. La infección en el campo es más efectiva en presencia de baja temperatura y alta humedad, sin embargo puede realizarse bajo un amplio rango de condiciones ambientales y existen informes sobre la presencia de razas del hongo que se avienen a altas temperaturas. La producción de esporangios es más rápida y prolífica a 100% de humedad relativa y a 21 grados centígrado. Los sistemas de pronóstico para el tizón tardío lo mismo que la oportunidad de aplicación de fungicidas se basan en registros de temperatura y precipitación o de temperatura y humedad relativa, que asumiendo la presencia del inoculo, predicen la posibilidad de desarrollo del tizón tardío (Bayer Crop Science, 2 007).

2.2.3.- Medios de cultivo

Los medios de cultivo que con mayor frecuencia se utilizan son papa dextrosa- agar (PDA), el cual es bueno para la mayoría de los hongos (pero no para todos), el agar-agua o agarglucosa (de 1 a 3% de glucosa en agar-agua), que se utiliza para separar algunos hongos (*Pythium*, *Phytophthora* y *Fusarium*) de bacterias; por último, el agar nutritivo, el cual contiene peptona y extracto de carne y es útil para aislar bacterias fitopatógenas. En cultivo los hongos pueden también separarse de bacterias, al añadir 1 ó 2 gotas de una solución de ácido láctico al 25% (la cual inhibe el crecimiento de las bacterias) a 10 ml del medio de cultivo antes de vertirlo en las cajas de Petri. Las soluciones de medios de cultivo se preparan en matraces que posteriormente se tapan y colocan en una autoclave a 120 ° C y a 15 libras de presión durante 20 minutos. Los medios de cultivo esterilizados se dejan enfriar durante un cierto tiempo y posteriormente se vierten en cajas de Petri, tubos de ensayo u otros recipientes apropiados previamente estériles. En caso de que al

medio se le añada agar, deberá dejarse que este último se solidifique para que el medio de cultivo pueda entonces ser utilizado para cultivar hongos o bacterias. El vaciado del medio de cultivo en cajas de Petri, tubos de ensayo, etc., debe llevarse a cabo lo más asépticamente posible, ya sea en una sala de cultivo apartada o en una pieza limpia y libre de corrientes de aire y polvo. En cualquiera de los casos, la mesa de trabajo debe limpiarse con una solución de Clorox al 10%, las manos de la persona deben estar limpias y el material de trabajo (**Agrios, 1 996**).

2.3 Hipótesis

HIPÓTESIS PLANTEADA

Hp: Las concentraciones de las tres dosis de *Trichoderma harzianum* influyen en el control de la racha (*Phytophthora infestans* DE BARY) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio.

HIPÓTESIS NULA

Ho: No Influye las concentraciones de las tres dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la racha (*Phytophthora infestans* DE BARY) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio.

2.5 Variables de estudio.

a.- VARIABLE INDEPENDIENTE:

a.1.- Dosis de aplicación de *Trichoderma harzianum*

b.- VARIABLE DEPENDIENTE:

b.1.- Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), de *Phytophthora infestans* DE BARY, en presencia de *Trichoderma harzianum*.

b.2.- Tiempo de control en la confrontación in vitro de *Trichoderma harzianum* frente a *Phytophthora infestans* DE BARY.

C.- VARIABLE INTERVENIENTE

c.1.- Cultivo de papa

VARIABLE	TIPO DE VARIEBLE		OPERACIONES	INDICADOR	UNIDAD
	DE RELACION	DE MEDICION			
Dosis a aplicar	Independiente	Cuantitativa continua	Dosis	Dosificación	ml
% de inhibición	Dependiente	Cuantitativa discontinúa	De 1 a 10 días	Inhibición	mm
Tiempo de control	Dependiente	Cuantitativa discontinúa	Días de confrontación	Tiempo	Horas

CAPITULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Ámbito de estudio

3.1.1. Ubicación Política

Departamento	: Huancavelica
Provincia	: Acobamba
Distrito	: Acobamba
Lugar	: "Común Era"

3.1.2. Ubicación Geográfica

Altitud	: 3340 m.s.n.m.
Latitud Sur	: 12°48'11"
Longitud Oeste	: 74°34'10"

3.2 Tipo de Investigación

El presente trabajo de investigación es de tipo aplicada.

3.3 Nivel de Investigación

El presente trabajo de investigación es de nivel explicativo.

3.4 Método de Investigación

Se aplicó el método científico experimental, cuyo procedimiento nos permitirá validar el efecto de las tres diferentes dosis de *Trichoderma harzianum*. para el

control de *Phytophthora infestans* DE BARY, en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio.

3.5 Diseño de Investigación

3.5.1 Diseño experimental

En el presente experimento se utilizará el Diseño DCA, con 4 tratamientos, 3 repeticiones en total de 12 unidades experimentales y para las comparaciones metodológicas se utilizará el ANALISIS DE VARIANZA (ANVA) para ver si hay diferencias significativas estadísticas en los tratamientos a margen del error de 0.01 y 0.05 para la comparación de medidas de los tratamientos la prueba de Tukey.

Modelo aditivo lineal del diseño: $Y_{ij} = \mu + t_j + e_{ij}$.

Dónde:

Y_{ij} = Variable respuesta del j-ésimo tratamiento en la i-ésimo repetición.

μ = Media general

T_j = Efecto del j-ésimo tratamiento.

E_{ij} = Efecto del error experimental

3.6 Población, Muestra, Muestreo

3.6.1. Población

La población experimental estuvo constituida por 12 placas petri de *Trichoderma Harzianum* por unidad experimental.

3.6.2. La Muestra

La muestra experimental estuvo constituida por 1 placa Petri, observadas y medidas en cada unidad experimental.

3.6.3. El muestreo

Se realizó en forma aleatoria a todos los tratamientos en donde la unidad experimental son las placas Petri.

3.7 Técnicas e instrumentos de Recolección de Datos

3.7.1 Obtención de *Trichoderma Harzianum*

Se obtuvo del laboratorio de Antagonista SCB - SENASA, Lima – Perú, probado en arroz con una concentración de conidios $1^{\circ} \times 10^{12}$ conidios / bolsa

3.7.2. Recolección de los tubérculos con síntomas de rancha *Phytophthora infestans* DE BARY

Se realizó una muestra de un saco de 50 Kg de papa variedad Canchan identificando así los tubérculos que presenten síntomas de problemas de rancha se extrajeran 10 tubérculos enfermos, luego se clasifico por el porcentaje de incidencia, después se tomó 5 tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) con una incidencia de 90 a 100 % para el estudio, de este material se desinfectaron en una disolución de hipoclorito de sodio al 2.5 ml en 500 ml durante 4 minutos , luego se enjuago 3 veces con agua destilada y se secó bajo corriente de aire en la cámara de flujo laminar. A continuación se procedió a sembrar las partes infectadas de la rancha *Phytophthora infestans* DE BARY estéril raspándolas con la ayuda de una asa de kolle desinfectando al mechero al rojo vivo para luego sembrar en placas Petri con medio de cultivo (PDA), para la activación de los micelios. Por espacio de 20 días a temperatura ambiente de 24°C a 27°C.

3.7.3 Aislamiento de *Phytophthora infestans* DE BARY

Para el aislamiento de *Phytophthora infestans* DE BARY, se extrajo suelo aledaño a las raíces o que presenten sintomatología de enfermedad, este suelo se colocó en un pequeño orificio que se le hizo en el tubérculos, el suelo colocado en las tubérculo se humedeció con H₂O esterilizada y se lo tapo con cinta adhesiva, al cabo de 5 días se realizaron un corte por la mitad en donde se identificó la presencia de micelio, el mismo que por observación

al microscopio se idéntico como *Phytophthora*, para la siembra e este hongo se preparó un medio, de ahí se aisló y purifico en cajas petri que contienen medio PDA.

3.7.4 Evaluación de crecimiento de *Trichoderma Harzianum*

El hongo antagonico de *Trichoderma Harzianum* fue reactivadas en cajas petri con PDA más antibiótico (Cloranfenicol), después de haber dejado 48 horas en incubación a 25°C se procedio a extraer con una jeringa de 5mm de diámetro muestras de la periferia de cada caja petri, para después sembrar cuidadosamente en el centro de las cajas petri con PDA y así se evaluo la velocidad de crecimiento diametral cada 24 horas.

3.7.5 Identificación de microorganismos aislados

De los aislamientos que se obtenga en los muestreos de campo tanto de los tubérculos, suelo como de material vegetal, se procederá a realizar cultivos puros, a partir estos cultivos mantenidos en tubos con PDA y bajo refrigeración se trasfiere a las cajas Petri con PDA. Las muestras se incubaran a 25 °C durante 2 a 3 días hasta obtener el aparecimiento de micelios y esporas. La identificación de aislados se realizó mediante reconocimiento de crecimiento de estructuras microscópicas (hifas, esporas y clamidosporas) y macroscópicas (color de micelio, forma de micelio y crecimiento) de cada aislado en PDA se prepararon muestras frescas de micelio sobre placas portaobjetos, con lactofenol para determinar los hongos aislados. Las características macro y microscópicas serán comparadas con la clave de identificación de especies del patógeno *Phytophthora* sp utiliza la clave de (Booth, C. 1 977).

3.7.6 Cultivos duales

Se utilizó la técnica de (Cherif & Berhamou 1990), para cada tratamiento en placas Petri con PDA, se sembraron 12 placas Petri. en un extremo de la placa Petri las tres dosis de *Trichoderma Harzianum* (0.1 ml, 0.2ml, 0.3ml), con esporas activas de 20 días, diluida en agua destilada estéril, en el otro extremo se sembró los micelios de *Phytophthora infestans* DE BARY en activo crecimiento de 20 días , colocando equidistantemente en una placa Petri de 9.5 cm de diámetro sobre una superficie de PDA, para ello se utilizó una micro jeringa de tuberculina estéril , después de la inoculación , las placas Petri se aseguraron con una cinta parafilm para evitar la entrada de otros patógenos , después se colocó bajo condiciones asépticas del laboratorio a temperatura ambiente de 21°C a 27°C, para evaluar el porcentaje de inhibición del crecimiento radial PICR, y el tiempo de control, a los 1,2,3,4,5,6,7,8,9 y 10 días, empleando la fórmula de (Samaniego et al, 1989). $PICR = (R1 - R2)/R1 \times 100$.

Donde r1 y r2 son los radios mayor y menor de crecimiento radial de hongo patógeno respectivamente

Se tomaron lecturas cada un día para determinar los días de control de *Trichoderma Harzianum* a *Phytophthora infestans* DE BARY

3.7.7 Datos a tomar y métodos de evaluación

Crecimiento diametral en dos direcciones (D1, D2) de las confrontación es de *Trichoderma Harzianum* y de *Phytophthora infestans* DE BARY. La medida fue tomada desde el borde del círculo de siembra hasta el límite de crecimiento que presentaba cada día.

3.8 Procedimiento de Recolección de Datos

En este presente trabajo para evaluar el porcentaje de inhibición radial se midió el área de crecimiento de cada hongo utilizando una cinta milimetrada colocada sobre las placas Petri, utilizando la siguiente fórmula de Samaniego $PICR = (R1 - R2) / R1 \times 100$.

Para conocer el tiempo de control se midió diariamente hasta que colapse el hongo antagonista al hongo patógeno.

3.9 Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos

Se utilizó el análisis correlacional, análisis de variancia, pruebas de comparación de medias (Tukey), análisis Inferencial y descriptivo etc.

Capítulo IV: Resultados

4.1.- Presentación de Resultados

INTERACCIÓN DE *TRICHODERMA HARZIANUM* FRENTE A *PHYTOPHTHORA INFESTANS* DE BARY

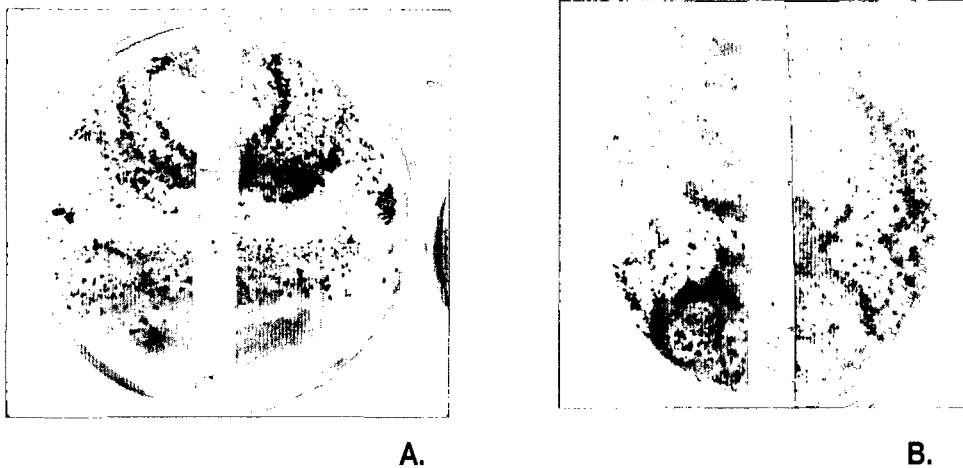


Figura 1. Confrontación de *Trichoderma harzianum* y *Phytophthora infestans* DE BARY (A); inhibición del crecimiento vegetativo de *Phytophthora infestans* DE BARY en presencia de *Trichoderma harzianum* en el medio PDA, (B): *Trichoderma harzianum* realiza hiperparasitismo, invade totalmente la superficie de la colonia de *Phytophthora infestans* DE BARY y esporula sobre la misma a los 10 días.

Los tres dosis de *Trichoderma harzianum* demostró un claro efecto antagónico contra *Phytophthora infestans* DE BARY en los cultivos duales realizados en medios de cultivo (PDA), aumentando su actividad anti fúngica mediante la secreción del enzima hidrolítico

(β -1,3-glucanasa), sobrecreciendo y reduciendo totalmente la colonia de *Phytophthora infestans* DE BARY.

(fig.1B), muestra la zona de inhibición producida por *Trichoderma harzianum*, frente a *Phytophthora infestans* DE BARY, aumenta a medida que transcurre el tiempo, aumento que va acompañado de la destrucción del micelio fúngico desarrollado hasta ese momento.

Lo que se observa en primer lugar es la zona de inhibición progresiva en parte por la mayor velocidad de crecimiento de *Trichoderma harzianum*, después aparece un marcado efecto de hiperparasitico, que se manifiesta por la inhibición del crecimiento micelial no sólo por compartir el mismo sustrato sino también porque el *Trichoderma harzianum* produce antibióticos y enzimas (β -1,3- glucanasa, quitinasa, proteasa y celulasa) degradadores de la pared celular que juegan un importante papel en el micoparasitismo.

Tabla N° 1: Análisis de varianza del efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a un día.

FUENTE VARIACION	G. L	S. C	C. M	F. C	F. tab	Sig.
					0.05	
TRATAMIENTO	2	9.86	4.93	6.0	4.26	*
ERROR	9	7.39	0.82			
TOTAL	11	17.25				

C.V (%) =16.3

En la tabla N° 1: De análisis de varianza a un día, se encontró que la **F. cal** es mayor que la **F. tab** para los efectos de las dosis de *Trichoderma harzianum*, para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa. En condiciones del laboratorio, por lo tanto se rechazó la hipótesis nula, entonces se concluye que al menos un tratamiento es diferente a los demás, sin embargo, no se sabe que tratamientos son iguales o diferentes por lo que es necesario hacer una comparación de medias.

El coeficiente de varianza de **16.3**, según la valorización de Calzada Benza está dentro de la escala de excelente.

Tabla N° 2: Análisis de comparación de media de tukey, de efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca (*Phytophthora infestans* DE BARY) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a un día.

O.M.	Trat.	MEDIAS+ TUKEY	Sig. 5%
1	T3	6.66	a
2	T2	5.55	b
3	T1	4.44	c
VALORES DE LA TABLA			3.95
TUKEY			0.33

En la tabla N° 2: Como resultado de la comparación de medias de Tukey a un día podemos observar que existen diferencias entre los efectos de 3 dosis de *trichoderma harzianum* siendo mejor la dosis 0,3 de *Trichoderma harzianum* para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa en condiciones de laboratorio.

TABLA N°3: Análisis de varianza del efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones del laboratorio a dos días.

FUENTE VARIACION	G. L	S. C	C. M	F. C	F. T	Sig.
					0.05	
TRATAMIENTO	2	12.53	6.26	9.63	4.26	*
ERROR	9	5.85	0.65			
TOTAL	11	18.38				

$$CV(\%) = 6.6$$

En tabla N°3: De Análisis de varianza a los dos días, se encontró que la **F. cal** es mayor que la **F. tab** para los efectos de las dosis de *Trichoderma harzianum*, en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en

condiciones del laboratorio, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, entonces se concluye que al menos un tratamiento es diferente a los demás, sin embargo, no se sabe que tratamiento son iguales o diferentes, por lo que es necesario hacer una comparación de medias.

El coeficiente de varianza con valor de 6.6, según la variación de Calzada Benza está dentro de la escala de excelente.

Tabla N° 4: Análisis de comparación de media de tukey, de efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a dos días.

O.M.	Trat.	MEDIAS+ TUKEY	Sig. 5%
1	T3	13.58	a
2	T2	12.21	b
3	T1	11.1	c
VALORES DE LA TABLA			3.95
TUKEY			0.33

En la tabla N° 4: Como resultado de la comparación de medias de Tukey a un día podemos observar que existen diferencias entre los efectos de 3 dosis de *Trichoderma harzianum* siendo mejor la dosis 0,3 de *Trichoderma harzianum* para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa en condiciones de laboratorio.

TABLA N°5: Análisis de varianza del efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones del laboratorio a tres días.

FUENTE VARIACION	G. L	S. C	C. M	F. C	F. Tab	Sig.
					0.05	
TRATAMIENTO	2	14.99	7.50	8.11	4.26	*
ERROR	9	8.32	0.92			
TOTAL	11	23.31				

C.V (%) = 4.8

En la tabla N°5: De análisis de varianza a los 3 días, se encontró que la F. cal es mayor que la F. tab para los efectos de las dosis de *Trichoderma harzianum*, en el control de la rancho *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones del laboratorio, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, entonces se concluye que al menos un tratamiento es diferente a los demás, sin embargo, no se sabe que tratamiento son iguales o diferentes, por lo que es necesario hacer una comparación de medias.

El coeficiente de varianza con valor de **4.8**, según la valorización de Calzada Benza está dentro de la escala de malo, lo que nos indica que a los 3 días entra en contacto los 2 hongos y comienza competir los espacios y nutrientes.

Tabla N° 6: Análisis de comparación de media de tukey, de efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la rancho *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a tres días.

O.M.	Trat.	MEDIAS+ TUKEY	Sig. 5%
1	T3	21.65	a
2	T2	19.43	b
3	T1	19.15	c
VALORES DE LA TABLA			3.95
TUKEY			0.33

En la tabla N° 6: Como resultado de la comparación de medias de Tukey a tres días podemos observar que existen diferencias entre los efectos de 3 dosis de *Trichoderma harzianum* siendo mejor la dosis 0.3 ml de *Trichoderma harzianum* para el control de *Phytophthora infestans* en el cultivo de papa en condiciones de laboratorio.

TABLA N° 7: Análisis de varianza del efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a cuatro días.

FUENTE VARIACION	G. L	S. C	C. M	F. C	F. Tab	Sig.
					0.05	
TRATAMIENTO	2	14.99	7.50	5.21	4.26	*
ERROR	9	12.94	1.44			
TOTAL	11	27.93				

$$C.V(\%) = 4.4$$

En **tabla N°7**: de análisis de varianza a un día, se encontró que la **F. cal** es mayor que la **F. tab** para los efectos de las dosis de *Trichoderma harzianum*, para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa. En condiciones del laboratorio, por lo tanto se rechazó la hipótesis nula, entonces se concluye que al menos un tratamiento es diferente a los demás, sin embargo, no se sabe que tratamientos son iguales o diferentes por lo que es necesario hacer una comparación de medias.

El coeficiente de variabilidad con valor de **4.4**, según la valorización de Calzada Benza está dentro de la escala de malo, lo que nos indica que a los 4 días los 2 hongos siguen compitiendo los espacios y nutrientes.

Tabla N° 8: Análisis de comparación de media de tukey, de efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a cuatro días.

O.M.	Trat.	MEDIAS+ TUKEY	Sig. 5%
1	T3	28.58	a
2	T2	26.36	b
3	T1	26.09	c
VALORES DE LA TABLA			3.95
TUKEY			0.33

Tabla N° 8: Como resultado de la comparación de medias de Tukey a los cuatro días podemos observar que existen diferencias entre los efectos de 3 dosis de *Trichoderma harzianum* siendo mejor la dosis 0,3 de *Trichoderma harzianum* para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa en condiciones de laboratorio.

TABLA N°9: Análisis de varianza del efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a cinco días.

FUENTE VARIACION	G. L	S. C	C. M	F. C	F. Tab	Sig.
					0.05	
TRATAMIENTO	2	159.15	79.57	49.47	4.26	*
ERROR	9	14.48	1.61			
TOTAL	11	173.62				

C.V (%) = 3.6

En tabla N°9: de análisis de varianza a un día, se encontró que la **F. cal** es mayor que la **F. tab** para los efectos de las dosis de *Trichoderma harzianum*, para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa. En condiciones del laboratorio, por lo tanto se rechazó la hipótesis nula, entonces se concluye que al menos un tratamiento es diferente a los demás, sin embargo, no se sabe que tratamientos son iguales o diferentes por lo que es necesario hacer una comparación de medias.

El coeficiente de variabilidad con valor de **3.6**, según la valorización de Calzada Benza está dentro de la escala de regular.

Tabla N° 10: Análisis de comparación de media de tukey, de efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a cinco días.

O.M.	Trat.	MEDIAS+ TUKEY	Sig. 5%
1	T3	39.96	a
2	T2	33.02	b
3	T1	31.64	c
VALORES DE LA TABLA			3.95
TUKEY			0.33

Tabla N° 10: Como resultado de la comparación de medias de Tukey a cinco días podemos observar que existen diferencias entre los efectos de 3 dosis de *Trichoderma harzianum* siendo mejor la dosis 0,3 de *Trichoderma harzianum* para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa en condiciones de laboratorio.

TABLA N°11: Análisis de varianza del efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a los seis días.

FUENTE VARIACION	G. L	S. C	C. M	F. C	F. Tab	Sig.
					0,05	
TRATAMIENTO	2	311,93	155,963	96,96	4,26	*
ERROR	9	14,48	1,61			
TOTAL	11	326,40				

C.V (%) = 2.9

En tabla N°11: de análisis de varianza a un día, se encontró que la **F. cal** es mayor que la **F. tab** para los efectos de las dosis de *Trichoderma harzianum*, para el control de

Phytophthora infestans DE BARY en el cultivo de papa. En condiciones del laboratorio, por lo tanto se rechazó la hipótesis nula, entonces se concluye que al menos un tratamiento es diferente a los demás, sin embargo, no se sabe que tratamientos son iguales o diferentes por lo que es necesario hacer una comparación de medias.

El coeficiente de variabilidad con valor de 2.9, según la valorización de Calzada Benza está dentro de la escala de regular.

Tabla N° 12: Análisis de comparación de media de tukey, de efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la rancha *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a seis días.

O.M.	Trat.	MEDIAS+ TUKEY	Sig. 5%
1	T3	50.78	a
2	T2	44.4	b
3	T1	38.3	c
VALORES DE LA TABLA			3.95
TUKEY			0.33

Tabla N°12: Como resultado de la comparación de medias de Tukey a seis días podemos observar que existen diferencias entre los efectos de 3 dosis de *Trichoderma harzianum* siendo mejor la dosis 0,1 de *Trichoderma harzianum* para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa en condiciones de laboratorio.

TABLA N°13: Análisis de varianza del efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la rancha *Phytophthora infestans* en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a siete días.

FUENTE VARIACION	G. L	S. C	C. M	F. C	F. Tab	Sig.
					0,05	
TRATAMIENTO	2	654,86	327,431	191,34	4,26	*
ERROR	9	15,40	1,71			
TOTAL	11	670,26				

C.V (%) = 2.4

En tabla N°13: De análisis de varianza a los siete días, se encontró que la **F. cal** es mayor que la **F. tab** para los efectos de las dosis de *Trichoderma harzianum*, para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa. En condiciones del laboratorio, por lo tanto se rechazó la hipótesis nula, entonces se concluye que al menos un tratamiento es diferente a los demás, sin embargo, no se sabe que tratamientos son iguales o diferentes por lo que es necesario hacer una comparación de medias.

El coeficiente de variabilidad con valor de **2.4**, según la valorización de Calzada Benza está dentro de la escala de muy bueno.

Tabla N° 14: Análisis de comparación de media de tukey, de efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la rancha *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a siete días.

O.M.	Trat.	MEDIAS+ TUKEY	Sig. 5%
1	T3	62.9	a
2	T2	55.22	b
3	T1	44.9	C
VALORES DE LA TABLA			3.95
TUKEY			0.33

Tabla N°14: Como resultado de la comparación de medias de Tukey a un día podemos observar que existen diferencias entre los efectos de 3 dosis de *Trichoderma harzianum* siendo mejor la dosis 0,3 de *Trichoderma harzianum* para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa en condiciones de laboratorio.

TABLA N°15: Análisis de varianza del efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la rancha *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a los ocho días.

FUENTE VARIACION	G. L	S. C	C. M	F. C	F. Tab	Sig.
					0,05	
TRATAMIENTO	2	712,36	356,18	126,91	4,26	*
ERROR	9	25,26	2,81			
TOTAL	11	737,62				

$$C.V(\%) = 2.5$$

En tabla N°15: De análisis de varianza a un día, se encontró que la **F. cal** es mayor que la **F. tab** para los efectos de las dosis de *Trichoderma harzianum*, para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa. En condiciones del laboratorio, por lo tanto se rechazó la hipótesis nula, entonces se concluye que al menos un tratamiento es diferente a los demás, sin embargo, no se sabe que tratamientos son iguales o diferentes por lo que es necesario hacer una comparación de medias.

El coeficiente de variabilidad con valor de **2.5**, según la valorización de Calzada Benza está dentro de la escala de excelente.

Tabla N° 16: Análisis de comparación de media de tukey, de efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a los ocho días.

O.M.	Trat.	MEDIAS+ TUKEY	Sig. 5%
1	T3	75.2	a
2	T2	66.05	b
3	T1	56.33	c
VALORES DE LA TABLA			3.95
TUKEY			0.33

Tabla N°16: Como resultado de la comparación de medias de Tukey a los ocho días podemos observar que existen diferencias entre los efectos de 3 dosis de *Trichoderma harzianum* siendo mejor la dosis 0,1 de *Trichoderma harzianum* para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa en condiciones de laboratorio.

TABLA N°17: Análisis de varianza del efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a los nueve días.

FUENTE VARIACION	G. L	S. C	C. M	F. C	F. Tab	Sig.
					0,05	
TRATAMIENTO	2	777,66	388,83	80,01	4,26	*
ERROR	9	43,74	4,86			
TOTAL	11	821,40				

C.V(%) = 2.9

En **tabla N°17:** De análisis de varianza a los nueve días, se encontró que la **F. cal** es mayor que la **F. tab** para los efectos de las dosis de *Trichoderma harzianum*, para el

control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa. En condiciones del laboratorio, por lo tanto se rechazó la hipótesis nula, entonces se concluye que al menos un tratamiento es diferente a los demás, sin embargo, no se sabe que tratamientos son iguales o diferentes por lo que es necesario hacer una comparación de medias.

El coeficiente de variabilidad con valor de **2.9**, según la valorización de Calzada Benza está dentro de la escala de excelente.

Tabla N° 18: Análisis de comparación de media de tukey, de efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a los nueve días.

O.M.	Trat.	MEDIAS+ TUKEY	Sig. 5%
1	T3	87.41	a
2	T2	76.87	b
3	T1	67.71	c
VALORES DE LA TABLA			3.95
TUKEY			0.33

Tabla N°18: Como resultado de la comparación de medias de Tukey a un día podemos observar que existen diferencias entre los efectos de 3 dosis de *Trichoderma harzianum* siendo mejor la dosis 0,3 de *Trichoderma harzianum* para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa en condiciones de laboratorio.

TABLA N°17: Análisis de varianza del efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a los diez días.

FUENTE VARIACION	G. L	S. C	C. M	F. C	F. tab	Sig.
					0,05	
TRATAMIENTO	2	850,77	425,38	54,0	4,26	*
ERROR	9	70,85	7,87			
TOTAL	11	921,61				

C.V(%) = 3.2

En tabla N°17: De análisis de varianza a los nueve días, se encontró que la **F. cal** es mayor que la **F. tab** para los efectos de las dosis de *Trichoderma harzianum*, para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa. En condiciones del laboratorio, por lo tanto se rechazó la hipótesis nula, entonces se concluye que al menos un tratamiento es diferente a los demás, sin embargo, no se sabe que tratamientos son iguales o diferentes por lo que es necesario hacer una comparación de medias.

El coeficiente de variabilidad con valor de **3.2**, según la valorización de Calzada Benza está dentro de la escala de excelente.

Tabla N° 18: Análisis de comparación de media de tukey, de efecto de las 3 dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de la ranca *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de laboratorio a los diez días.

O.M.	Trat.	MEDIAS+ TUKEY	Sig. 5%
1	T3	99.6	a
2	T2	87.7	b
3	T1	79.09	c
VALORES DE LA TABLA			3.95
TUKEY			0.33

Tabla N°18: Como resultado de la comparación de medias de Tukey a un día podemos observar que existen diferencias entre los efectos de 3 dosis de *Trichoderma harzianum* siendo mejor la dosis 0,3 de *Trichoderma harzianum* para el control de *Phytophthora infestans* DE BARY en el cultivo de papa en condiciones de laboratorio.

4.2.- DISCUSIÓN

TABLA N° 1 y 2, en el primer día de lectura se observó, la formación de hifas de ambos hongos, y en el análisis de varianza, la evaluación mostro diferencias estadísticas entre los tratamientos con un (C.V= 16.3%), y al realizar la prueba de medias de Tukey (0.05), se determinó que el mejor tratamiento fue la dosis de 0.3 ml con el nivel de confianza de (6.66%), 0.3 ml (5.55%), 0.2 ml y 0,1 ml (4.44%) la que demuestra que ambos hongos comienzan crecer en su capo de acción.

TABLA N° 3 y 4, en el segundo día de lectura muestra los resultados obtenidos en los cultivos duales en donde se observa que se produjo un porcentaje de inhibición del crecimiento radial de los patógenos en estudio entre tratamientos con un (C.V= 6.6) y al realizar la prueba de medias de Tukey (0,05), se determinó que el mejor tratamiento fue la dosis de 0.3 ml con el nivel de confianza de (13.58%), 0.3 ml (12.21%) 0.2ml y 0.1 ml (11.1%), se destaca una actividad antagónica superior sobre *Phytophthora infestans* DE BARY con una diferencia estadística. Resultados similares comparten (Wills, 1 986), (chet, 1 987) y (Bernal *et al.*, 2 001), los cuales encontraron que la mayoría de las especies de *Trichoderma* tienen un buen micoparasitismo, capaz de detectar a su hospedante a distancia. Posterior a la detección comienza la emisión de enzimas y ramas de forma atípica hacia el hongo patógeno, además de competir eficientemente por espacio y nutrientes.

TABLA N° 5y 6, en el tercer día de lectura muestra los resultados en los cultivos duales, que indican que la hifas de las cepas de *Trichoderma harzianum* hicieron contacto a diferentes tiempos con las hifas de *Phytophthora infestans* DE BARY, produciendo un crecimiento más confuso en donde ambos hongos compiten por espacio y nutrientes por tal motivo en algunos tratamientos, *Phytophthora infestans* DE BARY trata de sobrecrecer por los costados y *Trichoderma harzianum* por el otro lado, pero entre menos fueron los contactos, mayor agresividad existe por parte del hongo antagónico y menor resistencia del Fitopatógeno.

Tabla N° 7 y 8, en el cuarto día de lectura muestra los resultados en los cultivos duales, que indican que las hifas de Todas las cepas de *Trichoderma harzianum* en contacto con las hifas de *Phytophthora infestans* DE BARY, produciendo un crecimiento más confuso en donde ambos hongos compiten por espacio y nutrientes por tal motivos en algunos tratamientos, *Phytophthora infestans* DE BARY, trata de sobrecrecer por los costados y *Trichoderma harzianum* por el lado, pero entre menos fueron los contactos, mayor agresividad existe por parte del hongo antagónico y menor resistencia del fitopatógeno produciendo un porcentaje de inhibición del crecimiento radial de los patógenos en estudio entre tratamientos con un (C.V=4.4) y al realizar la prueba de medias de tukey (0.05), se determinó que el mejor tratamiento fue la dosis 0.3ml con el nivel de confianza de (28.58%), 0.2 ml (26.36%), y 0,1 ml (26.09%), estos resultados defieren reportado por (Michel, 2 001), quien indica que entre menos sean los días al contacto, mayor agresividad que existe por parte del hongo antagonico y menor la resistencia del fitopatógeno.

Tabla 9 y 10, en el quinto día de lectura muestra los resultados en los cultivos duales, que indican que la hifas de todas las cepas de *Trichoderma harzianum* aumenta la actividad antifungica sobrecreciendo y reduciendo la colonia del patógeno. Es decir que *Trichoderma harzianum* no solo inhibe la expansión de *Phytophthora infestans* DE BARY creciendo en su campo de acción, sino que al quinto día la colonia de patógeno *Phytophthora infestans* DE BARY se detiene su crecimiento. Este efecto se debe al vertido del enzima hidrolítico β -1,3-glucosa, lo que permite concluir que el aumento del nivel de esta enzima y posiblemente otros, juegan un papel muy importante en la reducción y destrucción de la colonia del patógeno *Phytophthora infestans* DE BARY. Produciendo un porcentaje de inhibición de crecimiento radial de los patógenos en estudio entre tratamientos con un (C.V=3.6) y al realizar la prueba de medias de tukey (0.05), se determinó que el mejor tratamiento fue la dosis 0.3ml con el nivel de confianza de (39.96%), 0.2 ml (33.02%) y 0.1 ml (31.64%). estos resultados de acuerdo con el reportado por (Bara *et.al.*, 2 003), que usando laminarina como sustrato, en los medios de cultivo para cepas de *Trichoderma*, obtuvieron un aumento de la activada β -1,3-gluconasa

hasta del 67% y una mayor acción lítica sobre patógenos como *Sclerotinia rolfsii* y *Rhizoctonia solani* respectivamente.

Tabla N° 11 y 12, en el sexto día de lectura muestra los resultados en los cultivos duales, que indican que las hifas de todas las cepas de *Trichoderma harzianum* aumenta la actividad antifúngica sobrecreciente y reduciendo la colonia del patógeno. Es decir *Trichoderma harzianum*, demuestra la inhibición progresiva frente al patógeno *Phytophthora infestans* DE BARY. A medida que transcurre el tiempo, aumento que va acompañado a la destrucción del micelio fúngico desarrollado hasta ese momento. Este efecto se debe al vertido del enzima hidrolítico β -1,3-glucosa, lo que permite concluir que el aumento del nivel de este enzima y posiblemente otros, juega un papel muy importante en la reducción y destrucción de la colonia del patógeno *Phytophthora infestans* DE BARY. Produciendo un porcentaje de inhibición del crecimiento radial de los patógenos en estudio entre tratamientos con un (C.V=2.9) y al realizar la prueba de medias de tukey (0.05), se determinó que el mejor tratamiento fue la dosis 0.3ml con el nivel de confianza de (50.78%), 0.2 ml (44.4%) y 0.1 ml (38.3%). estos resultados de acuerdo con el reportado por (Bara *et.al.*, 2 003), que usando laminarina como sustrato, en los medios de cultivo para cepas de *Trichoderma*, obtuvieron un aumento en la actividad β -1,3-glucosa, hasta del 67% y una mayor acción lítica sobre patógenos como *Sclerotinia rolfsii* y *Rhizoctonia solani* respectivamente.

Tabla N° 13 y 14, en el séptimo día de la lectura muestra los resultados en los cultivos duales, que indican que las hifas de todas las cepas de *Trichoderma harzianum* aumenta la actividad antifúngica sobrecreciente y reduciendo la colonia del patógeno. Es decir *Trichoderma harzianum*, demuestra la inhibición progresiva, en parte por la mayor velocidad del crecimiento de *Trichoderma harzianum*, después aparece un marcado efecto de hiperparasítico, que se manifiesta por la inhibición del crecimiento micelial no solo por compartir el mismo sustrato sino también porque *Trichoderma harzianum*, produce antibióticos y enzimas (β -1,3-glucosa, quitinasa, proteasa y celulasa), degradadores de la pared celular, que juega un papel muy importante en el micoparasitismo Produciendo un porcentaje de inhibición del crecimiento radial de los patógenos en estudio entre tratamientos con un (C.V=2.4) y al realizar la prueba de

medias de tukey (0.05), se determinó que el mejor tratamiento fue la dosis 0.3 ml con el nivel de confianza de (62.9%), 0.2 ml (55.22%) y 0.1 ml (44.9%). estos resultados de acuerdo con el reportado por (Bara *et. al.*, 2003), que usando laminarina como sustrato, en los medios de cultivo para cepas de *Trichoderma*, obtuvieron un aumento en la actividad β -1,3-gluconasa, hasta del 67% y una mayor acción lítica sobre patógenos como *Sclerotinia rolfsii* y *Rhizoctonia solani* respectivamente.

Tabla N° 15 y 16, en el octavo día de la lectura muestra los resultados en los cultivos duales, que indican que las hifas de todas las cepas de *Trichoderma harzianum* aumenta la actividad antifúngica sobrecreciente y reduciendo la colonia del patógeno. Es decir *Trichoderma harzianum*, demuestra la inhibición progresiva, en parte por la mayor velocidad del crecimiento de *Trichoderma harzianum*, después aparece un marcado efecto de hiperparasítico, que se manifiesta por la inhibición del crecimiento micelial no solo por compartir el mismo sustrato sino también porque *Trichoderma harzianum*, produce antibióticos y enzimas (β -1,3-glucosa, quitinasa, proteasa y celulasa), degradadores de la pared celular, que juega un papel muy importante en el micoparasitismo Produciendo un porcentaje de inhibición del crecimiento radial de los patógenos en estudio entre tratamientos con un (C.V=2.5) y al realizar la prueba de medias de tukey (0.05), se determinó que el mejor tratamiento fue la dosis 0.3 ml con el nivel de confianza de (75.2%), 0.2 ml (66.05%) y 0.1 ml (56.33%). estos resultados de acuerdo con el reportado por (Bara *et. al.*, 2003), que usando laminarina como sustrato, en los medios de cultivo para cepas de *Trichoderma*, obtuvieron un aumento en la actividad β -1,3-gluconasa, hasta del 67% y una mayor acción lítica sobre patógenos como *Sclerotinia rolfsii* y *Rhizoctonia solani* respectivamente.

Tabla N° 17 y 18, en el noveno día de la lectura muestra los resultados en los cultivos duales, que indican que las hifas de todas las cepas de *Trichoderma harzianum* comienza la esporulación sobre la colonia del patógeno. Es decir que *Trichoderma harzianum*, demuestra la inhibición progresiva, en parte por la mayor velocidad del crecimiento de *Trichoderma harzianum*, después aparece un marcado efecto de hiperparasítico, que se manifiesta por la inhibición del crecimiento micelial no solo por compartir el mismo sustrato

sino también porque *Trichoderma harzianum*, produce antibióticos y enzimas (β -1,3-glucosa, quitinasa, proteasa y celulasa), degradadores de la pared celular, que juega un papel muy importante en el micoparasitismo. Produciendo un porcentaje de inhibición del crecimiento radial de los patógenos en estudio entre tratamientos con un (C.V=2.9) y al realizar la prueba de medias de tukey (0.05), se determinó que el mejor tratamiento fue la dosis 0.3 ml con el nivel de confianza de (87.41%), 0.2 ml (76.87%) y 0.1 ml (67.71%). Estos resultados están de acuerdo con el reportado por (Berhamou & chet, 1993), que reportan comportamientos similares donde *Trichoderma harzianum* esporula sobre *Pythium ultimum*.

Tabla N° 19 y 20, en el décimo día de la lectura muestra los resultados en los cultivos duales, que indican que las hifas de todas las cepas de *Trichoderma harzianum* logra esporular en toda la superficie de la placa Petri, a un sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans* DE BARY lo que pone de manifiesto la agresividad de hongo antagonico. En el sentido que *Trichoderma harzianum*, produce antibióticos y enzimas (β -1,3-glucosa, quitinasa, proteasa y celulasa), degradadores de la pared celular, que juega un papel muy importante en el micoparasitismo. Produciendo un porcentaje de inhibición del crecimiento radial de los patógenos en estudio entre tratamientos con un (C.V=3.2) y al realizar la prueba de medias de tukey (0.05), se determinó que el mejor tratamiento fue la dosis 0.3 ml con el nivel de confianza de (100%), 0.2 ml (87.7%) y 0.1 ml (79.09%). Estos resultados están de acuerdo con el reportado por (Berhamou & chet, 1993), que reportan comportamientos similares donde *Trichoderma harzianum* esporula sobre *Pythium ultimum*.

CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos en el presente trabajo demuestran que las tres dosis de *Trichoderma harzianum* en la condiciones del laboratorio mostró una cierta evidencia que si controla al hongo patógeno *Phytophthora infestans* DE BARY.
2. Las cepas de *Trichoderma harzianum* evaluadas, presentaron gran capacidad antagónico por su alta velocidad de crecimiento en cultivos duales y un alto porcentaje de inhibición del hongo *Phytophthora infestans* DE BARY, demostrando ser organismo altamente agresivo en cuanto a la competencia por espacio y nutrientes, lo cual confirma que este hongo controla efectivamente a *Phytophthora infestans* DE BARY.
3. A los diez días produce el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), de las tres dosis de *Trichoderma harzianum*, con la dosis, 0.3ml (99.6%), 0.2ml (87.7%) y 0.1ml (79.09%).

RECOMENDACIONES

1. Se le recomienda realizar otros trabajos similares en el campo de producción.
2. Hacer análisis microbiológicos de los suelos y de acuerdo a la microflora presente, tomar las decisiones concretas para cualquier aplicación de un producto, sea biológico o químico para evitar el desequilibrio microbiológico del suelo.
3. Aplicar la dosis adecuadas de *Trichoderma harzianum* por unidad de área.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- **Agrios, (1996)**, Fitopatología, 2da , Editorial Limusa, México, D.F. 838 p.
- **Apple, (1983)**. Evaluación of póvalo late blight forecasts modified to incorporate host resistance and fungicide weathering. *Phytophthora infestans. Annu. Rev. Phytopathol.* 6, 375-396.
- **Baker, (1982)**, Laboratory Guide to the Identification of the Major Species; Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey-England. Pgs 5,6,12,14,16,19.
- **Bayer Crop Science, (2007)**. En <http://www.bayercropscience-ca>. Conectado el 12 de Noviembre del 2008.
- **(Booth, C. 1 977)**. *Fusarium* Laboratory Guide to the Identification of the Major Species; Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey-England. Pgs 5,6,12,14,16,19.
- **Boyle, (1983)**. Parasitism of *Trichoderma* sp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*—Scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. *Phytopathology* 73, 85-88.
- **Cook, (1995)**. Alternativas orgánicas en reemplazo al control químico para desinfección de suelos Tesis de Ingeniería Agropecuaria, IASA- ESPE. Sangolquí – Ecuador.
- **Esposito y Da-Silva, (1998)**. Evaluación de *Trichoderma* frente a hongos Causantes de enfermedades en plantas. En <http://www.fags.org/patents/app/20090011491>. Conectado el 11 de Octubre del 2008.
- **Espinoza, L. y C. Mendoza, (2001)**. Etiología de la pudrición de raíz y cuello del chile (*Capsicum annuum* L.) ocasionado por el hongo *Phytophthora capsici* en la región de Valseguillo, Puebla, México. *Fitopatología* 30: 47-55.
- **Falconi (1990)**. Martínez M., 2001 Libro de agricultura orgánica. Bogotá pp. 20, 186, 191, 192.
- **Federici BA. 1999**. *Bacillus thuringiensis* in Biological Control, pp. 575-593. En *Handbook*

- *of Biological Control*. (Bellows TS y Fisher TW, eds.). Academic Press, New York, USA.
- **French, E., R. Teddy y T. Herbert. 1980.** Métodos de investigación fitopatológica y aislamiento de fitopatógenos. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, San José, Costa Rica. pp. 142-186.
- **González, M., I. Torres y H. Guzmán. 2002.** Búsqueda de resistencia natural contra patógenos de raíz *Phytophthora capsici*, *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en colectas de Chile. Proceedings of the 16th Internacional Pepper Conference. Tampico y Tamaulipas, México.
- **Herrera, (2005),** Fitopatógenos controlados por *Trichoderma spp.* Venezuela. En <http://www.geocities.com/ecologia luz/trichoderma1.htm>. Conectado el 10 de Octubre del 2008.
- **Moreno, (2005),** Procesos de antagonistas, utilizando *Trichoderma harzianum*. Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en Microbiología Clínica y Aplicada. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito. pp. 23
- **Nafex, (2005),** Laboratorio Reprodutor de Organismos Benéficos, Universidad Autónoma del Estado de México. En <http://www.nafex.com.mx/>. Conectado el 12 Octubre del 2008.
- **Stefanova, (2003).** Agentes de biocontrol. a base de *Trichoderma sp.* para el control biológico de la *P. infestans*. Boletín técnico No. 2, EdiEspe. pp. 7-8.

ANEXOS

-

PANEL FOTOGRÁFICO

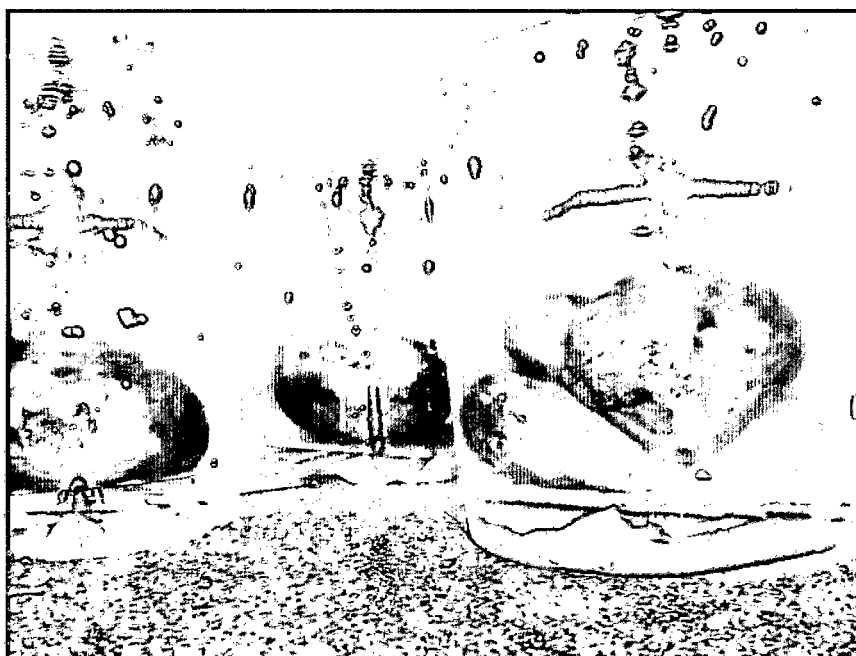


Foto N° 01: Identificación de Tubérculos con Sintomatología de *Phytophthora infestans*



Foto N° 02: Activación de *Trichoderma harzianum*



Foto N° 03: Plaqueo del medio de cultivo (papa dextrosa- agar)



Foto N° 04: Medición y evaluación de los tratamientos

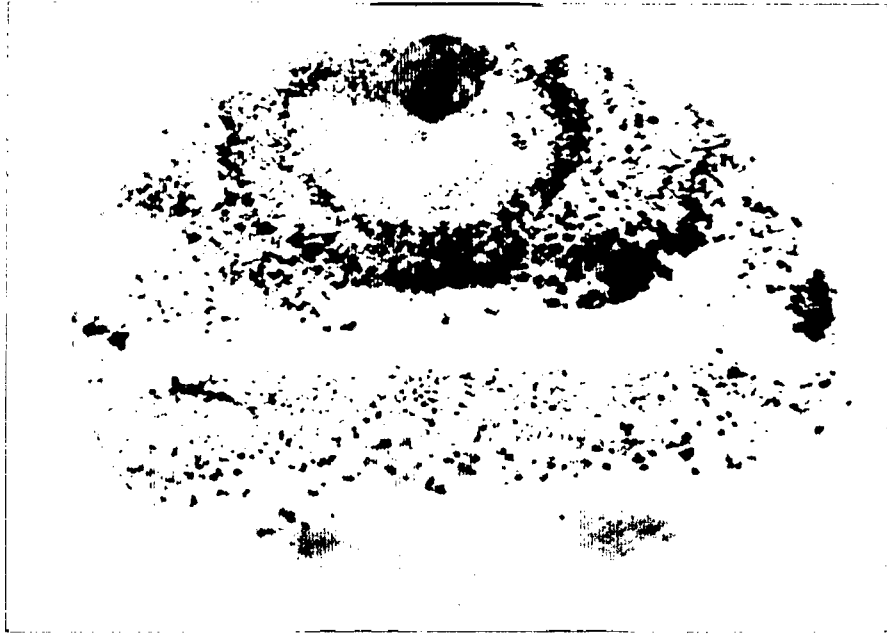


Foto N° 05: Confrontación de *Trichoderma harzianum* y *Phytophthora infestans*



Foto N° 06: *Trichoderma harzianum* realiza hiperparasitismo, invade totalmente la superficie de la colonia de *Phytophthora infestans* DE BARY y esporula sobre la misma a los 10 días.