

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

ESCUELA DE DESARROLLO INTEGRAL AGROPECUARIO

“Evaluación en laboratorio de la capacidad antagonista de *Trichoderma spp.*, frente al crecimiento de lanosa (*Rosellinia spp.*), en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum L.*)”

Tesis de grado previa la obtención del título de
Ingeniera en Desarrollo Integral Agropecuario

AUTORA: Rosa Tamar Ger Iñiguez

ASESOR: M.Sc. David Herrera

TULCÁN - ECUADOR

AÑO: 2014

CERTIFICADO.

Certifico que el estudiante Rosa Tamar Ger Iñiguez con el número de cédula 0401740436 ha elaborado bajo mi dirección la sustentación de grado titulada: “ Evaluación en laboratorio de la capacidad antagonista de *Trichoderma spp.*, frente al crecimiento de lanosa (*Rosellinia spp.*), en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum L.*) ”

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en el reglamento de Grado del Título a Obtener, por lo tanto, autorizo la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.

M.Sc. David Herrera

Tulcán, 05 de mayo del 2014

AUTORÍA DE TRABAJO.

La presente tesis constituye requisito previo para la obtención del título de Ingeniero en Desarrollo Integral Agropecuario de la Facultad de Industrias Agropecuarias Y Ciencias Ambientales.

Yo, Rosa Tamar Ger Iñiguez con cédula de identidad número 0401740436 declaro: que la investigación es absolutamente original, autentica, personal y los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.

f......

Rosa Tamar Ger Iñiguez

Tulcán, 05 de mayo del 2014

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DE TESIS DE GRADO.

Yo Rosa Tamar Ger Iñiguez, declaro ser autor del presente trabajo y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la resolución del Consejo de Investigación de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi de fecha 21 de junio del 2012 que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través o con el apoyo financiero, académico o institucional de la Universidad”.

Tulcán, 05 de mayo del 2014

Rosa Tamar Ger Iñiguez
CI 040174043-6

AGRADECIMIENTO.

A Dios por ser la fortaleza, que siempre me acompañó durante toda mi vida por haberme guiado, en el camino de la vida profesional lo cual trae consigo una gran satisfacción

A mis padres Raúl Ger y Carmen Iñiguez quienes fueron y han sido el soporte y el pilar fundamental de lo que soy, tanto en mi vida académica, moral, emocional pero sobre todo por estar presente en cada escalón de superación profesional y formación como persona.

A mis hermanos Diana, Verónica y Diego Ger por su incondicional apoyo, en cada situación, sus palabras, su cariño y sobre todo por todo ese amor de hermanos quienes fueron y serán el motivo de superación.

Agradezco infinitamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, la cual me abrió sus puertas guiándome y formando parte de toda esta formación profesional y el deseo de superación para un futuro competitivo.

Al Ingeniero David Herrera, tutor de la investigación por el apoyo, dedicación brindada y todo su tiempo dedicado para el desarrollo de esta investigación obtenga los mejores resultados.

A la Doctora Jenny Yambay, por haberme apoyado en todo momento y además permitirme adquirir experiencia profesional, humana por ser un ejemplo de vida y superación para mí.

A todas las personas quienes me brindaron su apoyo moral durante el transcurso de la investigación a mis Abuelitos quienes con su cariño siempre representaran un pilar fundamental en mi vida. Y finalmente a mis amigos y amigas quienes estuvieron pendientes en el desarrollo de la investigación.

DEDICATORIA.

A Dios, por tener la oportunidad de que cada día me supere más por ser la fuente y Luz de vida de cada uno de nosotros quien nos prepara en cada situación.

Quiero dedicarle este proyecto a mi familia quien fue el vínculo de superación y apoyo incondicional, el cual no dejará de ser lo más importante en mi vida, a mis padres, Raúl Ger y Carmen Iñiguez pilares fundamentales de mi vida, jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora soy y por quienes cada día lucho por ser alguien mejor por ustedes. A mis hermanos Diana, Verónica y Diego Ger quiero ofrecerles este trabajo.

Además quiero dedicarle a un ser tan imprescindible en mi vida María del Carmen mi hermanita un angelito mas quien no está a mi lado en cuerpo pero su espíritu siempre me acompañará desde donde quiera que se encuentre.

A todas esas personas que de alguna forma u otra pusieron ese granito de arena en el transcurso de la investigación. A esos amigos, profesores y sobre todo impulsores de tu vida profesional que Dios le pone en el camino y me motivaron a seguir creciendo como profesional.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|--------|
| CERTIFICADO..... | i |
| AUTORÍA DE TRABAJO..... | ii |
| ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DE TESIS DE GRADO. | iii |
| AGRADECIMIENTO. | iv |
| DEDICATORIA..... | v |
| RESUMEN EJECUTIVO..... | xv |
| ABSTRACT..... | xvi |
| INTRODUCCIÓN | - 1 - |
| I. EL PROBLEMA. | - 3 - |
| 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | - 3 - |
| 1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA. | - 4 - |
| 1.3. DELIMITACIÓN. | - 4 - |
| 1.4. JUSTIFICACIÓN..... | - 4 - |
| 1.5. OBJETIVOS. | - 6 - |
| 1.5.1 Objetivo General. | - 6 - |
| 1.5.2 Objetivos Específicos..... | - 6 - |
| II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA. | - 7 - |
| 2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS. | - 7 - |
| 2.2. FUNDAMENTACIÓN LEGAL..... | - 9 - |
| 2.3. FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA..... | - 10 - |
| 2.4. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA. | - 11 - |
| 2.4.1. Cultivo de papa (<i>Solanum tuberosum L.</i>)..... | - 11 - |
| 2.4.1.1. Origen | - 11 - |

| | |
|---|--------|
| 2.4.1.2. Clasificación Taxonómica. | - 11 - |
| 2.4.1.3. Descripción Botánica | - 12 - |
| 2.4.2. Plagas que atacan al cultivo de la papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) | - 13 - |
| 2.4.3. Enfermedades foliares causadas por hongos | - 13 - |
| 2.4.4. Enfermedades del suelo causadas por hongos | - 13 - |
| 2.4.4.1. Lanosa o torbo, mortaja, tocineta o macana (<i>Rosellinia</i> spp.) | - 14 - |
| 2.4.4.1.1. Generalidades..... | - 14 - |
| 2.4.4.1.2. Clasificación Taxonómica. | - 15 - |
| 2.4.4.1.3. Agente Causal | - 16 - |
| 2.4.4.1.4. Hospedantes del género <i>Rosellinia</i> | - 16 - |
| 2.4.4.1.5. Epidemiología | - 17 - |
| 2.4.4.1.6. Ciclo de vida | - 17 - |
| 2.4.4.1.7. Síntomas y Signos | - 18 - |
| 2.4.4.2. Importancia Económica..... | - 19 - |
| 2.4.5. Control de <i>Rosellinia</i> spp. | - 20 - |
| 2.4.5.1. Control cultural de <i>Rosellinia</i> spp..... | - 20 - |
| 2.4.5.2. Control químico de <i>Rosellinia</i> spp..... | - 21 - |
| 2.4.5.3. Control Biológico de <i>Rosellinia</i> spp..... | - 21 - |
| 2.4.5.3.1 Control biológico y Agente de biocontrol..... | - 21 - |
| 2.4.5.3.2. <i>Trichoderma</i> spp. | - 22 - |
| 2.4.5.3.3. Taxonomía y Morfología | - 23 - |
| 2.4.5.3.4. Estructura del género <i>Trichoderma</i> | - 23 - |
| 2.4.5.3.5. Mecanismos de biocontrol de <i>Trichoderma</i> | - 24 - |
| 2.4.5.3.6. Biocontrol por competencia..... | - 24 - |

| | |
|---|--------|
| 2.4.5.3.6.1. Fungistasis: | - 24 - |
| 2.4.5.3.6.2. Competencia por nutrientes | - 25 - |
| 2.4.5.3.6.3. Antibiosis..... | - 25 - |
| 2.4.5.3.6.4. Micoparasitismo | - 25 - |
| 2.4.5.3.6.5. Degradación de pared celular | - 26 - |
| 2.4.5.3.6.6. Sinergismos | - 26 - |
| GLOSARIO TÉCNICO | - 27 - |
| 2.5. HIPÓTESIS..... | - 29 - |
| 2.5.1. Hipótesis alternativa..... | - 29 - |
| 2.5.2. Hipótesis Nula..... | - 29 - |
| 2.6. VARIABLES..... | - 29 - |
| 2.6.1. Variable dependiente: | - 29 - |
| 2.6.2. Variable independiente: | - 29 - |
| III. METODOLOGÍA..... | - 30 - |
| 3.1. MODALIDAD DE LA INVESTIGACIÓN..... | - 30 - |
| 3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN..... | - 30 - |
| 3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN..... | - 30 - |
| 3.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES..... | - 32 - |
| 3.5. RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN..... | - 33 - |
| 3.5.1. Fuentes Bibliográficas..... | - 33 - |
| 3.5.2. Información procedimental..... | - 33 - |
| 3.5.3. Fuentes de estudio..... | - 33 - |
| 3.5.4. Diseño experimental | - 33 - |
| 3.5.6. Análisis funcional | - 34 - |

| | |
|--|--------|
| 3.5.7. Plan de recolección de la información | - 34 - |
| 3.5.7.1. Velocidad de crecimiento en (mm/día) de los hongos:..... | - 34 - |
| 3.5.7.2. Tiempo | - 35 - |
| 3.5.7.3. Antagonismo | - 35 - |
| 3.5.7.4. Crecimiento micelial de los hongos..... | - 35 - |
| 3.5.8. Materiales y equipos utilizados en la investigación | - 36 - |
| 3.5.8.1. Equipos | - 36 - |
| 3.5.8.2. Materiales | - 36 - |
| 3.5.8.3. Sustancias y productos | - 37 - |
| 3.5.9. Procedimiento | - 37 - |
| 3.5.9.1. Recolección de la muestra de la enfermedad Lanosa (<i>Rosellinia spp.</i>), en el cultivo de la papa (<i>Solanum tuberosum L.</i>) | - 37 - |
| 3.5.9.2. Actividades realizadas en el aislamiento de <i>Rosellinia spp.</i> | - 38 - |
| 3.5.9.3. Aislamientos, siembras, purificación de los hongos | - 38 - |
| 3.5.9.4. Siembra y prueba de antagonismo de <i>Rosellinia spp.</i> , vs <i>Trichoderma</i> <i>spp.</i> | - 40 - |
| 3.5.9.5. Inoculación de patógenos a plantas sanas mediante los postulados de Koch (Agrios, 1995) | - 41 - |
| 3.5.9.6. Prueba de Antagonismo..... | - 43 - |
| 3.6. PROCESAMIENTO, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS. | - 43 - |
| 3.6.4. Tipo de antagonismo que presentó <i>Trichoderma spp.</i> | - 55 - |
| 3.6.4.1. <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1 | - 55 - |
| 3.6.4.2. <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2 | - 57 - |
| 3.6.4.3. <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3 | - 58 - |

| | |
|---|--------|
| IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | - 60 - |
| 4.1. CONCLUSIONES. | - 60 - |
| 4.2. RECOMENDACIONES..... | - 61 - |
| VII. ANEXOS. | - 62 - |
| VI. BIBLIOGRAFÍA..... | - 77 - |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|---|--------|
| Cuadro 1. Clasificación Taxonómica de la papa..... | - 11 - |
| Cuadro 2: Clasificación taxonómica Lanosa (<i>Rosellinia</i> spp.) | - 15 - |
| Cuadro 3: Clasificación Taxonómica <i>Trichoderma</i> spp..... | - 23 - |
| Cuadro 4: Tratamientos evaluados en la investigación..... | - 33 - |
| Cuadro 5: D.C.A., grados de libertad de la investigación..... | - 34 - |
| Cuadro 6: Características de diseño experimental evaluados en la investigación- | 43 - |

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

| | |
|---|--------|
| Fotografía 1: Lanosa (<i>Rosellinia</i> spp.) en la papa en tubérculos | - 15 - |
| Fotografía 2: Cepa de (<i>Rosellinia</i> spp.), pura y vista microscópicamente ... | - 16 - |
| Fotografía 3: Cepas de <i>Trichoderma</i> spp., purificadas en laboratorio. | - 22 - |
| Fotografía 4: Estructura de <i>Trichoderma</i> spp. | - 24 - |
| Fotografía 5: Puntos de división de la unidad experimental..... | - 34 - |
| Fotografía 6: Puntos de lectura para <i>Rosellinia</i> spp., vs <i>Trichoderma</i> spp., prueba de antagonismo y testigos. | - 35 - |
| Fotografía 7: Puntos de lectura del antagonismo, <i>Rosellinia</i> spp., versus <i>Trichoderma</i> spp..... | - 36 - |

| | |
|---|--------|
| Fotografía 8: Limpieza de las muestras con hipoclorito de sodio y agua destilada por triplicado. | - 38 - |
| Fotografía 9: Siembra de <i>Rosellinia spp.</i> , del material vegetal infectado..... | - 39 - |
| Fotografía 10. Siembra profunda de <i>Trichoderma spp.</i> | - 40 - |
| Fotografía 11. Cepas puras de <i>Trichoderma spp.</i> , y <i>Rosellinia spp.</i> , en PDA ... | - 40 - |
| Fotografía 12: Cepa de <i>Rosellinia spp.</i> , en PDA..... | - 41 - |
| Fotografía 13: Proceso de inoculación de <i>Rosellinia spp.</i> , en la planta de papa . | - 42 - |
| Fotografía 14: Síntomas visibles a los 8 días de la inoculación de <i>Rosellinia spp.</i> | - 42 - |
| Fotografía 15: T1 <i>Rosellinia spp.</i> , vs <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1 a los 50 días - | - 56 - |
| Fotografía 16: Tipo de Antagonismo presentó la Fuente 1 de <i>Trichoderma spp.</i> - | - 56 - |
| Fotografía 17: T2 <i>Rosellinia spp.</i> , vs <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2 a los 50 días - | - 57 - |
| Fotografía 18: Tipo de antagonismo que presentó la Fuente 2 de <i>Trichoderma spp.</i> | - 58 - |
| Fotografía 19: T3 <i>Rosellinia spp.</i> , vs <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3 a los 50 días - | - 59 - |
| Fotografía 20: Tipo de antagonismo que presentó la Fuente 3 de <i>Trichoderma spp.</i> | - 59 - |

ÍNDICE DE GRÁFICAS

| | |
|--|--------|
| Gráfica 1: Resultados, del crecimiento de la distancia inferior ocupada por <i>Rosellinia spp.</i> , a 8 días de su siembra. | - 45 - |
| Gráfica 2: Resultados, del crecimiento de la distancia inferior ocupada por <i>Rosellinia spp.</i> , a 20 días de su siembra. | - 47 - |
| Gráfica 3: Resultados, del crecimiento de la distancia inferior ocupada por <i>Rosellinia spp.</i> , a 50 días de su siembra. | - 50 - |
| Gráfica 4: Resultados, del crecimiento de la distancia superior ocupada por <i>Trichoderma spp.</i> , a 8 días de su siembra..... | - 51 - |
| Gráfica 5: Resultados, del crecimiento de la distancia superior ocupada por <i>Trichoderma spp.</i> , a 20 días de su siembra..... | - 53 - |
| Gráfica 6: Resultados, del crecimiento de la distancia superior ocupada por <i>Trichoderma spp.</i> , a 50 días de su siembra..... | - 54 - |
| Gráfica 8: Resultados, del tipo de antagonismo de la distancia inferior de <i>Rosellinia spp.</i> , y distancia superior <i>Trichoderma spp.</i> , fuente (1) T1, a 50 los días después de su siembra. | - 55 - |
| Gráfica 10: Resultados, del tipo de antagonismo de la distancia inferior de <i>Rosellinia spp.</i> , y distancia superior <i>Trichoderma spp.</i> , fuente (2) T2, a los 50 días después de su siembra. | - 57 - |
| Gráfica 12: Resultados, del tipo de antagonismo de la distancia inferior de <i>Rosellinia spp.</i> , y distancia superior <i>Trichoderma spp.</i> , fuente (3) T3, a los 50 días después de su siembra. | - 58 - |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|---|--------|
| Anexo 1: Recolección del material vegetal infestado..... | - 62 - |
| Anexo 2: Tubérculos infectados por <i>Rosellinia spp.</i> | - 62 - |

| | |
|--|--------|
| Anexo 3: Aislamiento del patógeno <i>Rosellinia spp.</i> | - 62 - |
| Anexo 4: Purificación de <i>Rosellinia spp.</i> | - 63 - |
| Anexo 5: Vista microscópica de <i>Rosellinia spp.</i> | - 63 - |
| Anexo 6: Claves de identificación de <i>Rosellinia spp.</i> | - 64 - |
| Anexo 7: Análisis de identificación de <i>Rosellinia spp.</i> , en los tubérculos de la papa INIAP..... | - 66 - |
| Anexo 8: Inoculación de el patógeno al hospedante..... | - 68 - |
| Anexo 9: Presencia de los síntomas de <i>Rosellinia spp.</i> | - 68 - |
| Anexo 10. Fuentes de <i>Trichoderma</i> utilizados | - 68 - |
| Anexo 11: Purificación del antagonista <i>Trichoderma</i> | - 69 - |
| Anexo 12: Proceso de siembra de la prueba del antagonismo | - 69 - |
| Anexo 13 : T1 <i>Rosellinia spp.</i> , vs <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1 a 5 días de su siembra | - 70 - |
| Anexo 14: T2 <i>Rosellinia spp.</i> , vs <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2 a 6 días de su siembra | - 70 - |
| Anexo 15: T3 Antagonismo <i>Rosellinia spp.</i> , vs <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3 a 3 días de su siembra..... | - 70 - |
| Anexo 16 : T4 Testigo <i>Rosellinia spp.</i> , vs Metabolitos de microorganismos , 6 días de su siembra | - 71 - |
| Anexo 17: T5 Testigo <i>Rosellinia spp.</i> , 6 días de su siembra | - 71 - |
| Anexo 18: T6 Testigo <i>Rosellinia spp.</i> , vs Tiabendazol, 6 días de su siembra- | 71 - |
| Anexo 19: T6 Testigo <i>Rosellinia spp.</i> , vs Benomil, 6 días de su siembra ... | - 72 - |
| Anexo 20: T6 Testigo <i>Rosellinia spp.</i> , vs Tiofanato de metil; a 10 días de su siembra | - 72 - |
| Anexo 21: Registro de datos de la prueba de antagonismo, <i>Rosellinia spp.</i> , versus <i>Trichoderma spp.</i> | - 72 - |

| | |
|---|--------|
| Anexo 22: Registros del <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1, vs <i>Rosellinia spp.</i> , día 1 y día 50..... | - 73 - |
| Anexo 23: Antagonismo de <i>Rosellinia spp.</i> , vs <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1, a los 16 días | - 73 - |
| Anexo 24: Registros de datos para el Testigo absoluto y testigos químicos | - 73 - |
| Anexo 25: Presupuesto de la investigación. | - 74 - |
| Anexo 26: Registro de los datos de crecimiento (<i>Rosellinia spp.</i> , distancia inferior) durante los 50 días después de su siembra. | - 75 - |
| Anexo 27 Registro de los datos de crecimiento (<i>Trichoderma spp.</i> , distancia superior) durante los 50 días después de su siembra. | - 76 - |

RESUMEN EJECUTIVO.

Para evaluar en laboratorio la capacidad antagonista de *Trichoderma spp.*, frente al crecimiento de lanosa (*Rosellinia spp.*) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum L.*), se realizó el aislamiento y purificación de las cepa del patógeno lanosa (*Rosellinia spp.*) comprobándose la patogenicidad mediante los postulados de Koch en su hospedante papa (*Solanum tuberosum L.*).

Mediante un Diseño Completamente al Azar se evaluó 8 tratamientos (3 fuentes de *Trichoderma spp.*, el testigo absoluto, un biofungicida a base de metabolitos de microorganismos y 3 testigos químicos (Bensimidazoles) con 8 repeticiones, para medir la actividad antagonista diferencial de las cepas de *Trichoderma spp.*, frente a la acción patogénica ejercida por *Rosellinia spp.* El T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), el antagonista llegó a cubrir el 100% de las placas, evidenciando el micoparasitismo como mecanismo de biocontrol el cual involucra la disolución de la pared celular del fitopatógeno. Mientras tanto en: T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 2) y T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3), prevaleció la competencia por espacio y nutrientes como mecanismo de biocontrol.

ABSTRACT.

Laboratory to evaluate the antagonistic capacity of *Trichoderma* spp. against woolly growth (*Rosellinia* spp.) In the potato crop (*Solanum tuberosum*.L), isolation and purification of the strain was carried woolly pathogen (*Rosellinia* spp.) verifying pathogenicity by the them by Koch's postulates in the host potato (*Solanum tuberosum*.L)

Using a completely randomized design with 8 treatments were evaluated (3 power *Trichoderma* spp. Absolute control, fungicide metabolites based microorganisms and 3 chemical controls (benzimidazoles), with 8 replicates, to measure differential antagonistic activity *Trichoderma* spp strains, against pathogenic action exerted by *Rosellinia* spp. T1 (*Rosellinia* spp., Vs *Trichoderma* spp., Source 1), the antagonist comes to cover 100% of the plates, showing mycoparasitism and biocontrol mechanism through the dissolution of the cell wall by enzymatic activity fitopatogen physical penetration cell wall. (Lopez-Gonzalez, 2004).

In the meantime: (*Rosellinia* spp, *Trichoderma* spp vs, source 2) and T3 (*Rosellinia* spp, *Trichoderma* spp vs source 3), prevailed competition for space and nutrients as a mechanism of biocontrol.

TUKUYSHUK RANAKU

Tapungabu ukupi yachanabu shug kari tapun de *Trichoderma spp.*, chaybi tiash wiñachish akchagubada (*Rosellinia spp*) papa tarpungabu (*Solanum tuberosum L.*), rurraran shugshichingabu y mayllangabu utila mugllakunada ukumanda akchakunata (*Rosellinia spp.*) rrikuchish shug nani chaupimanda ruchachishkakuna de Koch chaypi tian papa (*Solanum Tuberosum L.*)

Chaupimanda shug rurrana illitakuna na yuyash tapuran 8 katingapak (3 ukukuna de *Trichoderma spp.*, shug kari rrikuran illita, shug kari allichina tiash na cambiesh de microorganismos y 3 kari rrikun químicos (Bensimidazoles) 8 kurin rrurish, rrikngabu shug rrurana ningabu kutishuk kuna *Trichoderma spp.*, rrikush shug rurrana shug nani churin rrurachish por *Rosellinia spp.* El T1 (*Rosellinia spp.* vs *Trichoderma spp.*, ukumamda 1), chay nani chayaran ama rrikungabu el 100% tapungabu, rikush chay utila micoparasitismo yuyashmanda de biocontrol nishmanda chaypichish kincha celular del fitopatógeno rurrash enzimática uktu rurish física kincha celular.

Chaymanda T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, ukupi 2) y T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, ukupi 3)tiaran kutishukkuna utila ashpa y allí mikuna allichingabu.

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum L.*), es un cultivo tradicional en la sierra ecuatoriana el cual forma parte de la canasta familiar de todos los estratos sociales, la demanda de este cultivo es muy elevada conllevando a ser uno de los principales rubros económicos de los agricultores en la provincia del Carchi.

Debido a los altos ingresos dados por este cultivo se ha llegado a convertir en un mono cultivo a nivel de la provincia, lo que ha originado problemas de patógenos de suelo y de semilla, a través de la proliferación de hongos fitopatógenos causantes de diversas enfermedades. (Pumisacho y Sherwood, 2002). Lanosa (*Rosellinia spp.*) es uno de los principales hongos fitopatógenos del suelo que afecta a los tubérculos de la papa causando la enfermedad conocida como “Lanosa” (INIAP-CIP-BID, 1997) en el Ecuador y como “mortaja blanca” en Colombia, debido al manto micelial blanco que recubre las partes infectadas. *Rosellinia* no necesariamente es un parásito, también puede vivir de manera saprófita sobre restos de cosechas o rastrojos, lo que le permite sobrevivir por largo tiempo en el hospedante la papa (*Solanum tuberosum L.*), causando pudriciones en raíces, estolones y tubérculos, disminuyendo la producción de hasta un 90% (Pumisacho & Sherwood, 2002).

El control de fitopatógenos en los cultivos se lo ha realizado mediante el uso de productos químicos convencionales, los cuales han dado buenos resultados; pero en la actualidad están perdiendo vigencia por la presencia de métodos más amigables para la salud humana y el medio ambiente; tal es el caso del control biológico. Las especies del género *Trichoderma*, son utilizadas dentro del control biológico, debido a su fácil aislamiento, rápido crecimiento y su capacidad antagónica sobre diversos hongos fitopatógenos como: *Rhizoctonia spp.*,

Fusarium spp., *Phytophthora spp.*, *Pythium spp.*, entre otros, que causan graves daños a cultivos de importancia económica como papa (*Solanum tuberosum L.*), maíz (*Zea mays L.*), tomate (*Solanum lycopersicum*), cebolla (*Allium cepa*), trigo (*Triticum aestivum*), etc. Los mecanismos utilizados por *Trichoderma* para desplazar al fitopatógeno son: competencia directa por el espacio y por los nutrientes, producción de metabolitos, antibióticos y parasitismo.

I. EL PROBLEMA.

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

A nivel de la provincia del Carchi, uno de los problemas de interés común es el uso inapropiado e indebido de agroquímicos que ocasionan impactos ambientales y económicos que repercuten con la salud y la economía de nuestros agricultores. En la provincia del Carchi se produce mayor cantidad de papa, de acuerdo a la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) realizada en 2009, en concordancia con el Ministerio de Agricultura y Pesca (MAGAP), registra 68.151 toneladas métricas de producción, lo cual representa el 24% del total nacional.

Las prácticas culturales actualmente agilizadas por parte de los agricultores, resultan ser demasiado deficientes en la conservación medio ambiental, por este motivo se busca generar alternativas de bajo impacto ambiental que contribuyan a una producción más sana, sustentable y sostenible.

Uno de los problemas que aqueja a este sector productivo es la presencia de Lanosa (*Rosellinia spp.*) (INIAP-CIP-BID, 1997), enfermedad polífaga que afecta a varios cultivos en la zona. La enfermedad está presente en las zonas paperas de los 5 continentes, ubicadas en ambientes de clima cálido, húmedo y en suelos con bastante materia orgánica. En el Perú, la enfermedad está presente en los campos de cultivo ubicados en la vertiente oriental de los Andes, entre 2700 y 3300 m.s.n.m., ocasionado pérdidas entre 20 y 80% de los rendimientos (Rodríguez, 1958; Guerrero, 1984; Torres, 1998), con el monocultivo y al tercer o cuarto año las pérdidas pueden alcanzar el 100% (Orellana, 1978; Ayala, 1987) (HERRERA, 2012).

En la actualidad no existe un control específico para Lanosa (*Rosellinia spp.*) es por ello que se utiliza habitualmente al grupo de los Benzimidazoles como controladores de este tipo de enfermedad, grupo que a la vez tiene un alto grado de resistencia según la Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). Por todo lo anteriormente mencionado es imprescindible el estudio de alternativas menos tóxicas y rentables, que contribuyan con el desarrollo y conservación del agro.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Se puede controlar lanosa (*Rosellinia spp.*) en papa (*Solanum tuberosum L.*) con productos biológicos a base del hongo antagonista del género *Trichoderma*, a nivel de laboratorio?

1.3. DELIMITACIÓN.

La investigación se realizó en los laboratorios de microbiología y fitopatología de la facultad de Ciencias Ambientales e Industrias Agropecuarias, de la carrera de Ingeniería en Desarrollo Integral Agropecuario de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi (UPEC), ubicada en la Provincia del Carchi, Cantón Tulcán, Ciudad Tulcán, Parroquia Tulcán. Aplicada al campo agrícola, área agrobiotecnología, duración de un año.

1.4. JUSTIFICACIÓN.

Bumham citado por Anguilera (2002), plantea que dentro de los impactos a tener en consideración en la aplicación de una tecnología son los estéticos, uso de la tierra, calidad del agua, impacto económico, culturales, salud, ecológico y efecto social. Todo esto se refiere a las consecuencias globales del cambio científico y tecnológico, sus relaciones con el desarrollo, el medio ambiente y las cuestiones

éticas involucradas. El uso de un control biológico ha tenido significados diferentes a lo largo del tiempo; originando grandes perspectivas para los agricultores en el control de diversos patógenos que afectan los cultivos provocando bajas producciones y por ende originando una situación económica no favorable. Los fitopatólogos han tendido a usar el término control biológico, para denotar métodos de control que incluyen rotación de cultivos, alteraciones del pH del suelo, uso de enmiendas orgánicas, etc. (Baker, 1985; Schrot & Hancock, 1985);

Ecuador con un total del 0.4% del territorio de uso agropecuario se dedica a la producción de papa. Carchi, provincia conocida como productora de papa a nivel nacional, con 6.179 hectáreas, a nivel provincial y con 4.166 productores de papa (FODA, 2013) , presenta problemas de fitopatógenos como la Lanosa (*Rosellinia spp.*), una de las alternativas que se busca para combatir estas patógenos, son los Controladores biológicos como: *Trichoderma spp.*, que aún no han sido estudiados para el control de este tipo de enfermedad, se hace imprescindible el estudio del efecto antagonista de *Trichoderma spp.*, frente al crecimiento de Lanosa (*Rosellinia spp.*) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum L.*).

Con este estudio se buscará reducir el uso indiscriminado agroquímicos produciendo en la actualidad se detecten residuos de estos en el ambiente y se asocien con riesgo potencial a la salud pública (Albert, 1998) y a la vez generar alternativas de control biológico, que beneficien a productores y consumidores, brindando productos sanos y sobre todo cuidando el medio ambiente que es lo que se manifiesta en el Sumak Kawsay y en nuestra constitución.

1.5. OBJETIVOS.

1.5.1 Objetivo General.

Evaluar en laboratorio la capacidad antagonista de *Trichoderma* spp., frente al crecimiento de lanosa (*Rosellinia* spp.), en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.).

1.5.2 Objetivos Específicos.

- Aislar del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) el hongo causante de lanosa (*Rosellinia* spp.) y purificarlo.
- Verificar la patogenicidad de *Rosellinia* spp., mediante los postulados de Koch en su hospedante papa (*Solanum tuberosum* L.).
- Determinar a nivel de laboratorio la especie de *Trichoderma* spp., que presenta la mejor capacidad antagonista frente al hongo fitopatógeno lanosa (*Rosellinia* spp), en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.).

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.

La Pontificia Universidad Javeriana en la investigación; EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTAGONISTA “in vivo” DE AISLAMIENTO DE *Trichoderma spp* FRENTE AL HONGO FITOPATOGENO *Rhizoctonia solani*. Aduce que *Trichoderma* al poseer diversas ventajas a nivel agrícola, es considerado un agente de control biológico. En este estudio se evaluó la capacidad antagonista de 6 aislamientos de *Trichoderma* (T3, Tsp5, Tv1, Tc1, Ti1 y T235), frente a *Rhizoctonia solani*. Los tratamientos, T235 y T3 mostraron los mayores valores de crecimiento a las 24h y los más altos porcentajes de inhibición micelial PIM (CASTAÑO, 2008).

En la investigación: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE TRECE AISLAMIENTOS DE *Trichoderma spp*. SOBRE *Rhizoctonia sp.* , realizada por el Departamento. De Biología y Sanidad Vegetal, de la Universidad Agraria de La Habana (UNAH). Se evaluó el Tizón de la Vaina o Mancha Oriental, enfermedad en el cultivo del arroz. Utilizando *Trichoderma* como control biológico, registrándose su potencialidad con resultados positivos como antagonista sobre *Rhizoctonia* y otros patógenos del suelo. Se evaluó eficacia en condiciones semicontroladas para el biocontrol de *Rhizoctonia sp.* , el 100 % de los aislados presentaron alta capacidad antagónica, con diferentes tipos de interacción hifal: lisis, vacuolización, enrollamiento y penetración (Yusimy Reyes, 2008).

En la investigación acerca del Antagonismo *in vitro* de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo del ajo realizada por el Área de Microbiología, Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, afirma que: La capacidad antagónica de 22 cepas de hongos filamentosos

hacia *Penicillium* sp., y *Fusarium* spp., que afectan al cultivo del ajo, los enfrentamientos *in vitro*, de ocho cepas contribuyeron en la inhibición del crecimiento de los patógenos, dos cepas correspondieron al género *Trichoderma* sp., los principales mecanismos de acción identificados fueron; inhibición del crecimiento, micoparasitismo, antibiosis y competencia. Causando efectos como; agrupamiento, deformación y lisis de conidios de los patógenos (Vivian Quiroz, 2008).

Además en la investigación: MECANISMOS DE ACCIÓN DE *Trichoderma* FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS el Departamento de Fitopatología, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) se prueba que: las especies del género *Trichoderma*, presentan diferentes modos o mecanismos de acción en el control de patógenos como; competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, desactivación de enzimas del patógeno, resistencia inducida, entre otros. Mientras mayor sea la manifestación de varios mecanismos de acción de estos antagonistas, más eficiente y duradero será el control sobre el patógeno, propiedades que no poseen los plaguicidas químicos. (Danay Infante, 2009)

Sin embargo en la investigación sobre: INTERACCIÓN DE CUATRO FOSFONATOS MÁS *Trichoderma harzianum* PARA EL CONTROL DE LANCHA DE PAPA (*Phytophthora infestans*), A NIVEL DE LABORATORIO, realizada por la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO, concluye que: al determinar la interacción de dos cepas de *Trichoderma harzianum* (Chambo y Cajabamba) más cuatro fosfonatos (calcio, potasio, Fosetil aluminio e hipofosfito de potasio) a tres dosis, para el control de lancha de papa *Phytophthora infestans* a nivel de laboratorio. Realizando dos fases; registrando el porcentaje de severidad cada dos días, al final los tratamientos a base de hipofosfito más *Trichoderma* dieron mejores resultados en la investigación (GUZMÁN, 2010).

2.2. FUNDAMENTACIÓN LEGAL.

La presente investigación está contemplada en la siguiente fundamentación legal:

Según el enfoque nacional se busca dar cumplimiento a lo establecido en la Constitución de la república del Ecuador publicada en el 2008. Entre los Derechos del Buen Vivir, el art.13 de la Constitución señala que las personas y las colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales, para lo cual el Estado deberá promover la soberanía alimentaria.

En el Art. 281 de la Constitución el Estado: aduce que se deberá ; a).- Fomentar la producción sostenible y sustentable de alimentos, reorientando el modelo de desarrollo agroalimentario, que en el enfoque multisectorial de esta ley hace referencia a los recursos alimentarios provenientes de la agricultura, actividad pecuaria, pesca, acuicultura y de la recolección de productos de medios ecológicos naturales; d) Incentivar el consumo de alimentos sanos, nutritivos de origen agroecológico y orgánico, evitando la expansión del monocultivo.

La presente investigación pretende dar cumplimiento a lo estipulado en el reglamento de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi en cuanto a trabajos de investigación de tesis, graduación, titulación e incorporación. En el CAPÍTULO II; DEL MARCO LEGAL en el Art.2. OBLIGATORIEDAD DE LA TESIS.- Menciona que para la obtención del Título Profesional de tercer nivel, los estudiantes deben realizar una Tesis de Grado conducente a una propuesta para resolver un problema o situación práctica, en referencia a los artículos 80 literal e) y 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior – LOES.

2.3. FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA.

En la actualidad el cuidado del medio ambiente, y el adecuado equilibrio entre el hombre y los demás habitantes de nuestro planeta; ha inducido a la búsqueda de nuevas tecnológicas, las cuales benefician al máximo todos los recursos disponibles en nuestro entorno, de la misma forma así como existen tecnologías que contribuyen al desarrollo y mejorando temporalmente la producción también perjudican a otros condiciones por lo tanto cada día se lucha por hallar alternativas que colaboren en este adecuado equilibrio, con la única finalidad de mejorar la calidad de vida de todos sus habitantes, incluyendo el respeto de un ambiente sano.

Esta investigación se sustenta en:

La Agricultura Orgánica emplea gran variedad de opciones tecnológicas con el empeño de reducir y hacer recuperables los costos de producción, proteger la salud, mejorar la calidad de vida y la calidad del ambiente, a la vez que intensifican las interacciones biológicas y los procesos naturales beneficiosos (FAZ-UJED, 2003), no es una agricultura de recetas, sino más bien una agricultura que se desarrolla a partir de un entendimiento cabal entre el ser humano y la naturaleza, aparece como una alternativa a la agricultura convencional (Nuñez, Nava , & Jiménez, 2003).

Control biológico es la acción de parásitos, predadores o patógenos para mantener la densidad de población de otro organismo aun promedio más bajo que el que existiría en su ausencia (Huertas, 1990) , los antagonistas pueden actuar en forma más lenta y en menor escala, su acción puede ser más estable y duradera que el control químico (Papavizas, 1984), (Lauwerys, 1998).

Permacultura (Agricultura Permanente) es el diseño consciente y mantenimiento de ecosistemas agrícolas productivos, los cuales tienen la diversidad, estabilidad

resistencia de los ecosistemas naturales. Es la integración armónica del paisaje y la gente produciendo comida, energía, cobijo y otras necesidades y no materiales de una manera sostenible (Mollison, 1988)

2.4. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA.

2.4.1. Cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.)

2.4.1.1. Origen

La papa (*Solanum tuberosum* L.) se originó hace unos 8.000 años en las montañas de los Andes, donde descendencias de campesinos han creado 5.500 variedades de este cultivo (FAO, 2006). Es originaria de América Andina, el centro de domesticación del cultivo se encuentra en los alrededores del Lago Titicaca, cerca de la frontera entre Perú y Bolivia. Es una de las especies domesticadas más antiguas (Ochoa, 1999). La mayor diversidad genética de papa (*Solanum tuberosum*, L.), se encuentra en las tierras alto andinas de América del Sur. (FUNDAGRO, 1991)

2.4.1.2. Clasificación Taxonómica.

La papa (*Solanum tuberosum*) tiene la clasificación taxonómica que se describe a continuación: (Hawkes, 1990).

Cuadro 1. Clasificación Taxonómica de la papa

| | |
|--------------------|--------------------------|
| Reino: | Plantae |
| Tipo: | Spermatophyta |
| Clase: | Angiosperma |
| Subclase: | Dicotiledoneas |
| Orden: | Tubiflorineas |
| Familia: | Solanaceae |
| Género: | <i>Solanum</i> |
| Especie: | <i>tuberosum</i> |
| Nombre Científico: | <i>Solanum tuberosum</i> |
| Nombre Vulgar: | Papa, patata, etc. |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

2.4.1.3. Descripción Botánica

La papa (*Solanum tuberosum*), pertenece a la familia de las solanáceas, la peculiaridad principal de este grupo es la solanina que se encuentra de modo natural en hojas, frutos y tubérculos de las solanáceas, en particular en todas las especies del género *Solanum*, de ahí su nombre. (Horton, 1992)

Raíces: son fibrosas nacen de los tallos subterráneos, muy ramificadas, finas y largas. Las raíces tienen un débil poder de penetración (CORPOICA , 2003).

Tallos: son aéreos y subterráneos, gruesos, fuertes y angulosos, al inicio erguido y con el tiempo se van extendiendo hacia el suelo. Los tallos se originan en la yema del tubérculo, siendo su altura variable entre 0.5 y 1 metro. (B.R., 2000)

Rizomas: son tallos subterráneos de los que surgen las raíces adventicias, producen unos hinchamientos denominados tubérculos. (CORPOICA , 2000)

Tubérculos: son los órganos comestibles de la papa, formados por tejido parenquimático, donde se acumulan las reservas de almidón. En las axilas del tubérculo se sitúan las yemas de crecimiento llamadas “ojos”. (Ortega, 1998)

Hojas: son compuestas, imparipinnadas y con folíolos primarios, secundarios e intercalares(Pumisacho & Velásquez, 2009).

Inflorescencias: son cimosas, están situadas en la extremidad del tallo y sostenidas por un escapo floral. Es una planta autógena, siendo su androesterilidad muy habitual. Las flores tienen la corola rotácea gamopétala de color blanco, rosado, violeta, etc (Horton, 1992).

Frutos: en forma de baya redondeada de color verde de 1 a 3 cm de diámetro, que se tornan amarillos al madurar (INIAP, 1998).

2.4.2. Plagas que atacan al cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.)

Las principales plagas que ocasionan daños en el cultivo de la papa son: Polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*), gusano blanco (*Pemnotrypex bórax*), minador (*Liriomyza* sp) y trips (*Frankliniella occidentalis*). (Halsouet & Miñambres, 2005)

2.4.3. Enfermedades foliares causadas por hongos

Las enfermedades foliares más importantes que pueden ocasionar pérdidas económicas considerables son: Oidio (*Erysiphe chichoracearum*), Lancha (*Phytophthora infestans*), Tizón Temprano (*Alternaría solani*), Roya (*Puccinia pittieriana*), Viruela del tomate (*Septoria lycopersici*) (Sifuentes, Cervantes, Apodaca, & Cortez, 2006).

2.4.4. Enfermedades del suelo causadas por hongos

Las enfermedades de la papa causadas por hongos de suelo pueden presentar múltiples síntomas como: necrosis radiculares, marchitez del follaje por ataque al sistema vascular, deformaciones del tubérculo por lesiones en la base del tallo. En general, la estrategia de sobrevivencia de los patógenos del suelo radica, en su capacidad de infectar la planta, lo que le da una ventaja sobre sus competidores. Las principales enfermedades producidas por hongos del suelo son: Carbón (*Thecaphora solani*), Lanosa o torbo (*Rosellinia* sp), Rhizoctoniasis o costra negra (*Rhizoctonia solani* Kuhn), Pudrición seca (*Fusarium solani*), Marchitez (*Fusarium* spp), Esclerotiniosis (*Sclerotinia sclerotiorum*), Roña o

sarna polvorienta (*Spogospora subterranea*), Pudrición acuosa (*Pythium spp.*) (INIAP-CIP, 2002)

2.4.4.1. Lanosa o torbo, mortaja, tocineta o macana (*Rosellinia spp.*)

2.4.4.1.1. Generalidades

El hongo Ascomycete del género *Rosellinia*, perteneciente a la familia Xylariaceae constituida por más de 90 especies y la mayoría especies de este género son patógenas para las plantas, presenta la septación típica del micelio y la presencia de rizomorfos (Orellana, 1987) . Las colonias tienen forma irregular con micelios blanco y aplastado además distribuidos a través de la masa micelial se forma esclerocios laminares, que al principio son de color claro, luego se tornan oscuros y de viejos aparecen negros (Ayala, 1987; FITOPATOLOGIA 1 JAM, 2012).

Rosellinia es causante de la podredumbre blanca de las raíces de muchas especies de plantas de importancia económica. (Dargan, Thind, & Rodriguez, 1979-1989). La enfermedad está presente en zonas paperas de los 5 continentes, situadas en ambientes de clima cálido, húmedo y en suelos con bastante materia orgánica, entre 2700m y 3300 m.s.n.m. La *Rosellinia* se la conoce como torbó en Costa Rica (Rodriguez, 1958); en Colombia, mortaja blanca (Guerrero O. , 1984); en Ecuador, lanosa (Orellana, Estudio de Lanosa de la papa en Ecuador, 1978) y en el Perú la llaman sogope o barba de viejo, entre otros calificativos (Torres, 1998).

Lanosa o torbo, mortaja, es un hongo de comportamiento saprófito, se desarrolló en ausencia de cultivos hospedantes, presente de forma natural en el suelo, según investigaciones realizadas por el ICA en Colombia y el INIAP en

Ecuador, se aduce que existen un amplio rango de hospedantes de este hongo por lo que hace muy difícil su manejo y control, encontrándose en la mayoría de las plantas cultivadas en el clima frío de la zona Andina (ICA, 2011).

Este hongo, se lo considera un parásito facultativo, vive como forma micelar o formando cordones sobre residuos vegetales, dado que forma esclerocios (FITOPATOLOGIA 1 JAM, 2012). Se desarrolla y se conserva como forma vegetativa, siendo raras sus frutificaciones, ascospóricas y conídicas. El micelio se caracteriza por la dilatación de los septos, por sus características culturales y su amplia gama de huéspedes. (López, RODAS, 2013)

Fotografía 1: Lanosa (*Rosellinia* spp.) en la papa en tubérculos



Fotografía tomada por: Ger Tamar, 2014

2.4.4.1.2. Clasificación Taxonómica.

La lanosa, *Rosellinia* spp., tiene la siguiente clasificación taxonómica (Huertas, 1990).

Cuadro 2: Clasificación taxonómica Lanosa (*Rosellinia* spp.)

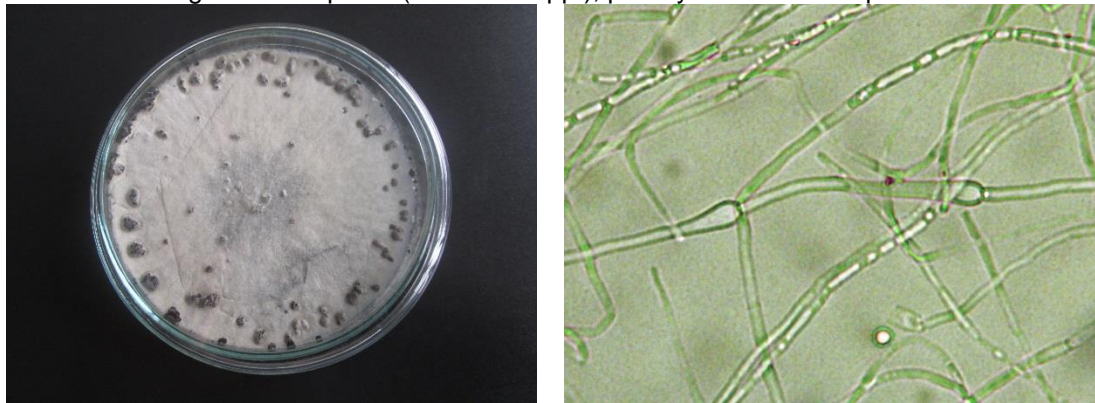
| | |
|------------------|-------------------|
| Reino: | Fungí |
| División: | Ascomicota |
| Clase: | Ascomicetes |
| Orden: | Xylariales |
| Familia: | Xylariaceae |
| Género: | <i>Rosellinia</i> |

Elaborado por: Tamar Ger, (2013).

2.4.4.1.3. Agente Causal

La enfermedad es causada por varias especies del hongo *Rosellinia* (fase sexual), *R. necatrix* (Sivanasen & Holliday, 1972) *R. bunodes* (Sivanasen & Holliday, 1972) y *R. pepo* (Booth & Holliday, 1972) . La fase asexual de este hongo es *Dematophora sp.* (Ellis & Elis, 1985). El hongo se caracteriza por formar rizomorfos que se desarrollan en el suelo en todas direcciones y cubren parcial o totalmente la superficie del huésped, toman forma de cordones, al inicio son de color blanco y a medida que madura se tornan oscuros, su micelio es septado, inicialmente hialino y luego se torna oscuro; presenta anastomosis y abultamientos cerca de la cepa, sin embargo en el área de las raíces, tubérculos afectados, este hongo forma estructuras duras de color negro, formando los esclerocios. El hongo igualmente origina synemas con conidioforos dentados y ramificados, donde se constituyen las conidias elipsoides (Ayala, 1987; FITOPATOLOGIA 1 JAM, 2012).

Fotografía 2: Cepa de (*Rosellinia* spp.), pura y vista microscópicamente



Tomada por: Insuasti. M (INIAP) & Ger Tamar, (2013).

2.4.4.1.4. Hospedantes del género *Rosellinia*.

El hongo del género *Rosellinia*, así como afecta a la papa, también a otros cultivos de importancia agrícola como: olluco (*Ullucus tuberosus*), oca (*Oxalis tuberosa*), remolacha (*Beta vulgaris*), zanahoria (*Daucus carota*), lechuga (*Lactuca sativa*), arveja (*Pisum sativum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), maíz (*Zea mays*) y haba (*Vicia faba*). También afecta a malezas como lengua de vaca

(*Rumex conglomeratus*), plantas del género *Brassica* y *Polygonum*. (Rodríguez, 1958; Ayala, 1987; Torres, 1998), y otras como árboles frutales y forestales (López, RODAS, 2013).

2.4.4.1.5. Epidemiología

Lanosa (*Rosellinia* spp.), es una enfermedad que se presenta por lo general en zonas paperas en suelos con poco drenaje muy ácidos, húmedos (Turkensteen & Hooker, 1981), suelos ricos en materia orgánica, ya sean rastrojos o que anteriormente fueron deforestados y tardan mucho tiempo en descomponerse debido a las bajas temperaturas lo cual favorece la supervivencia del inóculo (ICA, 2011). Yépez (1976) afirma, que más que la humedad del suelo, el pH es un factor significativo para el desarrollo del hongo siendo su pH óptimo 6.3, y en una elevada humedad entre 75-100%.

2.4.4.1.6. Ciclo de vida

El hongo del género *Rosellinia*, es un patógeno que sobrevive en el suelo o en la superficie de los tubérculos en forma de esclerocios. También se mantiene a manera de micelio en residuos de tejidos, raíces y tallos dañados, las hifas invaden la superficie del tubérculo semilla, afectando a brotes y tallos de la planta, los esclerocios (cuerpos fructíferos) emergen en condiciones favorables en la humedad del suelo. El micelio de este patógeno envuelve la superficie de las raíces, estolones y tubérculos de las nuevas plantas y los esclerocios se establecen debajo de esta capa miceliana, de este modo el ciclo inicia nuevamente. (Ayala, 1987; Sivanasen & Holliday, 1972). Además esta enfermedad se propaga especialmente por tubérculos–semilla enfermos, suelos contaminados, agua y herramienta. (ICA, 2011) p 24.

2.4.4.1.7. Síntomas y Signos

Al igual que muchas enfermedades de suelo, ésta aparece inicialmente en plantas particulares y luego forma parches en los cultivos. (Pumisacho & Sherwood, 2002), pág. 110. Un síntoma es el marchitamiento de plantas y pudrición de tubérculos aunque en ocasiones no presentan este síntoma, pero en la producción se logran ver los de tubérculos con pudrición debido a esta enfermedad ocasionada por *Rosellinia spp* (Pumisacho & Sherwood, 2002).

a). En las plantas: Las plantas enfermas dejan de crecer, muestran clorosis en las hojas del tercio inferior, se marchitan, las hojas mueren lentamente debido a la pudrición del sistema radicular y del tallo ocasionando la no tuberización por lo tanto pérdidas en el rendimiento (Turkensteen & Hooker, 1981).

Los tallos pueden llegar a presentar canchales, las raíces y estolones se tornan de una coloración oscura y se cubren con una capa blanca. (Orellana, 1978). La necrosis ocurre principalmente en el cuello de la planta, originando una decoloración café oscura. Igualmente se nota una marchitez que avanza de abajo hacia arriba hasta una marchitez total (Guerrero O. , 1984).

b). En los Tubérculos: En la profundidad del suelo, las raíces y los tubérculos resultan cubiertos en una capa gruesa de micelio blanco, peculiaridad que por la cual se ha designado con el nombre de lanosa a esta enfermedad (Orellana, 1987). Al cortar transversalmente un tubérculo afectado, se observan estrías necróticas formadas por rizomorfos que avanzan desde la superficie hacia adentro. Las estrías son de color negruzco (Rodríguez, 1958; Turkensteen & Hooker, 1981; Ayala, 1987) o blanquecino (Torres, 1998). La pulpa de los tubérculos enfermos muestran estrías de color negro, y los tubérculos se degeneran (pudrición) antes de la cosecha.

c). Presencia de esclerocios en tallos y en tubérculos: Según Torres (1998) , el micelio blanquecino propio de la enfermedad que cobija la superficie de tallos y tubérculos, toma un color plumizo de igual forma synemas y esclerocios estos tiene un diámetro de 0.5 a 1.5 mm, son de color negro y forma más o menos redondeada, se ubican debajo de la capa miceliana que envuelve los tejidos afectados. Además estos esclerocios que se desarrollan en la superficie de los tubérculos afectados la dejarlos enterrados en el campo, se mantienen en forma latente de una temporada a otra según encuentren un ambiente adecuado.

2.4.4.2. Importancia Económica.

En nuestro país no se han realizado estudios económicos específicos para determinar los daños que causa la Lanosa, sin embargo en Costa Rica es la segunda enfermedad de gran importancia después de la Lancha (*Phytophthora infestans*) (Rodríguez, 1958). Este autor aduce que las pérdidas en las cosechas exceden el 50%, tanto por la disminución del valor comercial como por la pudrición de los tubérculos antes y después de la cosecha. Las pudriciones ocasionadas por *Rosellinia* spp., se consideran las más limitantes, puesto que además de dañar la producción el patógeno se establece en el suelo donde permanece como inóculo para futuras siembras (Duarte & González, 2000).

La *Rosellinia* spp. , o lanosa tiene un alto potencial de daño económico y representa una enfermedad importante en Carchi. La distribución del hongo en el suelo es errática, presentándose en sectores aislados dentro del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.). Está bien distribuida en las provincias de Pichincha, Tungurahua y Chimborazo. El hongo, que por la ausencia de estructuras fructificantes se clasifica como Mycellia esterilia, es característico de suelos ricos en materia orgánica y más activo en condiciones de alta humedad. (Pumisacho & Sherwood, 2002).

La enfermedad es muy trascendental porque causa pérdidas que oscilan entre 20 y 80% de los rendimientos, (Rodríguez, 1958; Guerrero O. , 1984; Torres, 1998) sin embargo, si el agricultor practica el monocultivo y siembra en campos de cultivo infestados, al tercer o cuarto año las pérdidas pueden alcanzar hasta el 100% (Orellana, Estudio de Lanosa de la papa en Ecuador, 1978; Ayala, 1987).

En Ecuador, las pérdidas varían de acuerdo a un sin número de factores tales como: localización del cultivo, establecimiento del patógeno, topografía del terreno y potencial de hidrógeno en el suelo. En los primeros años de contaminación, el daño oscila alrededor del 1 y 20%; y en el tercero y cuarto año, se puede perder el cultivo en su totalidad. Es así que, la importancia indirecta del hongo radica en su hábito omnívoro y en la rápida diseminación por la semilla (Orellana, 1978; Ayala, 1987).

2.4.5. Control de *Rosellinia spp.*

2.4.5.1. Control cultural de *Rosellinia spp.*

- La enfermedad se encuentra en arbustos y bosques. Por lo cual se recomienda tener cuidado durante en la labranza de terrenos. La quema de arbustos y restos de árboles ayuda a eliminar las fuentes de infección. (ICA, 2011)
- Rotaciones largas ayudan a reducir las fuentes de infección. Enterrar los restos del cultivo anterior durante la preparación de suelo.
- Utilizar semilla tubérculos sanos, procedentes de cultivos sanos. Evitar sembrar papa en suelos contaminados con la enfermedad.
- Mejorar el drenaje de los suelos para evitar acumulación de agua. Realizar rotaciones del cultivo de papa con plantas que no sean susceptibles

gramíneas, especialmente pastos, como avena (*Avena sativa*), mashua (*Tropaeolum tuberosum*). (CORPOICA , 2003)

- Conservar los campos limpios de material leñoso, libres de malezas ya que este hongo se propaga en todo material leñoso que se halle en el suelo y se conserva en las raíces de malezas. (Orellana, 1978)
- Quemar todos los residuos de plantas infectadas.

2.4.5.2. Control químico de *Rosellinia spp.*

Aun no existe un control químico específico como se habló anteriormente esta enfermedad es muy difícil de erradicar pero se conoce que *Rosellinia necatrix* es muy sensible a los benzimidazoles y tiofanatos.

2.4.5.3. Control Biológico de *Rosellinia spp.*

Con respecto a la enfermedad el factor más importante es tratar toda la superficie donde se encuentre el hongo, pues de otra forma en ausencia de antagonista competidores, el área tratada se recolonizara con rapidez a partir de la margen muy sensible a distintos tipos de antagonistas, por ejemplo bacterias, *Trichoderma*, basidiomicetos y nematodos. (Ochoa, 1999)

2.4.5.3.1 Control biológico y Agente de biocontrol

El control biológico puede definirse como la reducción de las actividades de un patógeno que produce una enfermedad, por uno o más organismos, en forma natural o a través de la manipulación del medio ambiente, hospedero o antagonista, o por la introducción de una población de uno o más antagonistas (FIA, 2008)

Mediante el uso de hongos y bacterias antagonistas se han podido conocer estrategias con mayor potencial para el control de enfermedades ocasionadas por patógenos del suelo (Cook & Baker, 1983). Muchas especies saprofitas como *Trichoderma harzianum.* , *Gliocladium spp.*, y *Veticillium lecanii* son

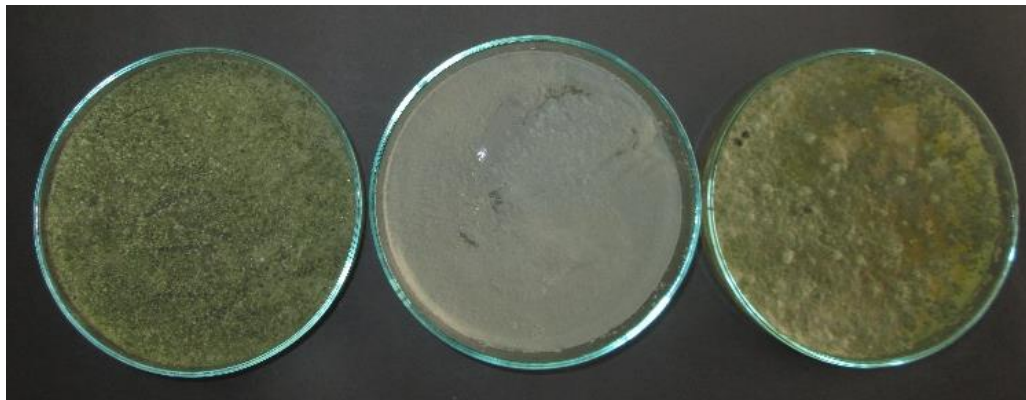
antagonistas de varios organismos plaga, incluyendo patógenos de plantas, malezas e insectos (González, 1989). De otra parte sobreviven durante periodos relativamente largos como formas de resistencia, haciendo innecesaria la reinfeción continua con el agente biocontrolador.

A un agente de biocontrol se lo define como el microorganismo (hongo o bacteria) con capacidad de limitar o evitar de manera más o menos selectiva el crecimiento de un hongo o bacteria fitopatógenos, sin interferir en el crecimiento de la planta; así como otros organismos (FIA, 2008).

2.4.5.3.2. *Trichoderma spp.*

Trichoderma spp., es un hongo anaerobio facultativo, que se encuentra de manera natural, en suelos y otros tipos de medios; se caracteriza por tener un comportamiento saprófito o parásito, propiedades que benefician su actividad antagónica (Camargo, 2005). Se conoce que existen más de 30 especies alrededor del mundo. (FIA, 2008). Las especies del genero *Trichoderma* presenta conidióforos complejos altamente ramificados en forma piramidal o cónica dando origen a esterigmas, con extremos ahusados. (Barnett y h 1982).

Fotografía 3: Cepas de *Trichoderma spp.*, purificadas en laboratorio.



Tomada por: Ger Tamar ,2013

Las especies de *Trichoderma* han sido investigadas como agentes de control biológico debido a su alta capacidad reproductiva, habilidad para sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables, eficiencia en la utilización de nutrientes , capacidad para modificar la rizosfera, fuerte agresividad contra hongos fitopatógenos y eficiencia en promoción de crecimiento en plantas e inducción de mecanismos de defensa (Benítez, Rincón, Limón, & Codón, 2004).

- Es un agente natural, no agresivo con plantas o suelos.
- Aumenta la capacidad de crecimiento de la planta y le confiere mayor resistencia a condiciones de estrés.
- Las raíces se desarrollan con mayor rapidez.
- Carece de toxicidad sobre las partes comestibles de los cultivos, asimismo disminuye el daño al medio ambiente por la ausencia de químicos persistentes en el suelo.
- Es de bajo costo, comparado con productos químicos y alternativos (extractos vegetales) (FIA, 2008)

2.4.5.3.3. Taxonomía y Morfología

Cuadro 3: Clasificación Taxonómica *Trichoderma spp.*

| | |
|-------------|--------------------|
| Reino | Fungi |
| División | Eucomycota |
| Subdivisión | Eumycota |
| Clase | Hyphomycetes |
| Orden | Hyphales |
| Familia | Moniliaceae |
| Genero | <i>Trichoderma</i> |

Elaborado por. Ger Tamar ,2014

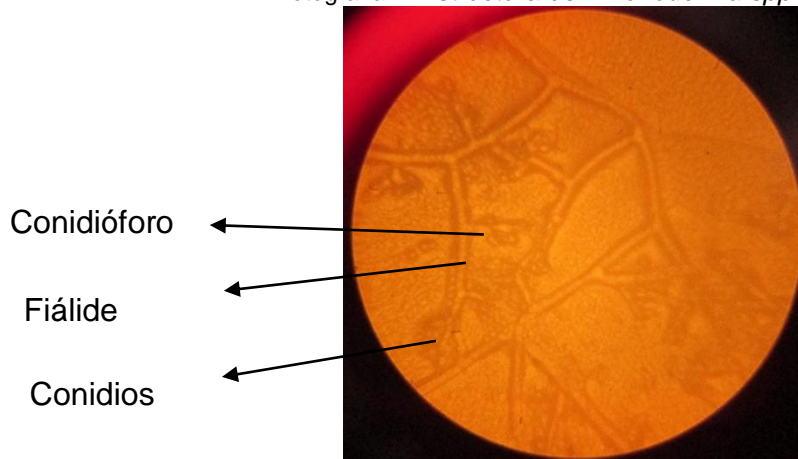
Fuente: Axeo 1996

2.4.5.3.4. Estructura del género *Trichoderma*

El micelio en su mayoría es ralo, y al observarlo en el microscopio es fino, los conidióforos son ramificados, parecen un árbol pequeño, terminan en fialides

donde se forman las esporas asexuales o conidios, de gran importancia para la identificación taxonómica a nivel de especies. Los conidios aseguran las generaciones del hongo durante gran parte del periodo vegetativo de las plantas. Son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucanos. Además de los conidióforos, éstas se pueden producir sobre fialides que emergen directamente del micelio (Infante, Martínez, Gonzáles, & Reyes, 2009).

Fotografía 4: Estructura de *Trichoderma spp.*



Tomada por: Ger Tamar, 2014

2.4.5.3.5. Mecanismos de biocontrol de *Trichoderma*.

Trichoderma como agente de biocontrol genera diferentes mecanismos de acción que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos, estos mecanismos son: competencia por el espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis (producción de metabolitos) (Infante, Martínez, Gonzáles, & Reyes, 2009).

2.4.5.3.6. Biocontrol por competencia

2.4.5.3.6.1. Fungistasis:

Un buen antagonista es capaz de superar el efecto fungistático que resulta de la presencia de diferentes metabolitos producidos por otras especies. Incluyendo plantas, y sobrevive bajo condiciones adversas o competitivas (Benítez, Rincón, Limón, & Codón, 2004). Las cepas de *Trichoderma sp.*, crecen rápidamente cuando se inoculan en el suelo ya que son naturalmente resistentes a muchos

compuestos tóxicos incluyendo herbicidas, fungicidas recuperándose rápidamente después de ser aplicados estos compuestos (Chet I. , 1987).

2.4.5.3.6.2. Competencia por nutrientes

Se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento también conocida como inanición (Chet & Hadar, 1997). El factor esencial para que pueda ocurrir competencia es que exista escasez de un elemento, si hay exceso no hay competencia. La competencia se da por nutrientes, oxígeno o espacio (Infante, Martínez, Gonzáles, & Reyes, 2009).

2.4.5.3.6.3. Antibiosis

La antibiosis ocurre durante la interacción de los compuestos difusibles de bajo peso molecular o antibióticos producidos por cepas de *Trichoderma* que inhiben el crecimiento de otros microorganismos. Además las cepas de *Trichoderma* producen metabolitos tóxicos volátiles y no volátiles que impiden colonización por microorganismos antagonizados; entre estos metabolitos, la producción de ácido harzánico, alameticinas, tricholinas, peptaiboles, antibióticos ,etc (Howell C. , 1998).

2.4.5.3.6.4. Micoparasitismo

Según Harman citado por (Lopez & Gonzales, 2004), indica que el micoparasitismo es un proceso complejo, que involucra el crecimiento trófico del agente de biocontrol hacia el hongo objetivo, el enrollamiento mediado por lectina y la adherencia de las hifas en torno al patógeno, finalmente el ataque y disolución de la pared celular de éste por actividad de las enzimas que puede asociarse por una penetración física de la pared celular.

El ataque directo de un hongo a otro es un proceso muy complejo en donde se involucra eventos secuenciales, incluye reconocimiento, ataque y penetración

subsecuente y muerte al huésped. *Trichoderma spp.*, puede ejercer control directo por el rango de parasitismo de hongo, detectando otros hongos y creciendo sobre estos (Benítez, Rincón, Limón, & Codón, 2004). El proceso de micoparasitismo por parte de *Trichoderma* se produce en varias etapas sucesivas. Comienza por el crecimiento quimiotrófico de *Trichoderma* hacia el hospedador con la producción de aminoácidos y azúcares (Chet & R).

Trichoderma se adhieren con carbohidratos unidos a lectinas en la pared celular del patógeno, *Trichoderma* se adhiere, enrosca al patógeno y forma apresorio (Howell C. , 2003), produciendo enzimas hidrolíticas, que facilitan la entrada de la hifa de *Trichoderma* dentro del lumen del hongo parasitado y la asimilación del contenido de la pared celular (Benítez, Rincón, Limón, & Codón, 2004).

2.4.5.3.6.5. Degradación de pared celular

La lisis es el mecanismo en el cual intervienen las enzimas hidrolíticas producidas por los microorganismos antagonistas como factores biocontroladores. Se ha observado que *Trichoderma spp.*, produce celulasas, glucanasas y quitinasas que degradan las paredes de microorganismos (Elad & Chet, 1982).

2.4.5.3.6.6. Sinergismos

El sinergismo entre las actividades de enzimas líticas y antibióticas, es la mejor estrategia para ser un buen controlador, además de abrir el campo para posibles cepas transformantes que pueden producir las diferentes enzimas logrando un sinergismo que sea revolante (Benítez, Rincón, Limón, & Codón, 2004).

GLOSARIO TÉCNICO

- **Cepa:** Es un conjunto de microorganismos que se desarrollan a partir de una colonia inicial que comparten ciertas características fisiológicas, bioquímicas, genéticas, patológicas (una o más de estas características) que los diferencian de otras cepas.
- **Conidio:** Es una espora asexual inmóvil formada directamente a partir de una hifa o célula conidiógena o esporógena.
- **Conidióforo:** Es una estructura microscópica especializada en la producción asexual de miles de esporas llamadas conidios.
- **Espora:** Es una célula reproductora producida por ciertos hongos, plantas (musgos, helechos) y algunas bacterias.
- **Esclerocios:** Un esclerocio es una masa compacta de micelio endurecido que contiene reservas alimenticias. Un papel de los esclerocios es sobrevivir en periodos ambientales extremos.
- **Micelio septado:** Es el que está dividido mediante paredes celulares, propio de los Ascomicetos y Basidiomicetos.
- **Rizomorfo:** Hongo cuyas hifas se agrupan formando los llamados cordones micelinos, que son una especie de raíces observables a simple vista.
- **Patógeno:** Se denomina patógeno a todo agente biológico externo que se aloja en un ente biológico determinado, dañando de alguna manera su anatomía, a partir de enfermedades o daños visibles o no
- **Especie:** Una especie es un conjunto de individuos que proceden de antecesores comunes y que son capaces de reproducirse entre sí y de dar lugar a una descendencia fértil.
- **Micelio:** Es la masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo de un hongo.
- **Antagonista:** Es un tipo de competencia en que un organismo inhibe el desarrollo de otro para apoderarse de su entorno.
- **Fitopatógeno:** En Fitopatología se denomina fitopatógeno a un organismo, en general microorganismo, que causa enfermedades en las plantas por medio de disturbios en el metabolismo celular causado por la secreción

de enzimas, toxinas, fitoreguladores y otras sustancias y, además, por la absorción de nutrientes de la célula para su propio crecimiento.

- **Micoparasitismo:** Consiste en el parasitismo de un hongo por parte de otro hongo de diferente especie.
- **Esterigmas:** Apéndice hifal que contiene una basidióspora, un conidio o un esporangio.
- **Fialide:** Estructura con forma de botella, ubicada en el extremo de un conidióforo, sobre la cual se producen esporas.
- **Rizosfera:** Es una parte del suelo inmediata a las raíces donde tiene lugar una interacción dinámica con los microorganismos.
- **Glucanos:** Son polisacáridos de monómeros D-glucosa ligados con enlaces glucosídicos.
- **Quitina:** Es un carbohidrato que forma parte de las paredes celulares de los hongos.
- **Fungistacis:** Inhibición de la actividad vital de los hongos.
- **Antibiosis:** Relación entre dos o más especies en la cual una de las especies resulta perjudicada activamente.
- **Glucanasas:** Son enzimas que degradan b-glucanos.
- **Lisis:** Es el proceso de ruptura de la membrana celular que produce la salida del material intracelular.
- **Anastomosis:** Las uniones celulares llamadas unión estrecha.
- **Facultativo:** Dícese del microorganismo que tolera la falta de oxígeno aunque su principal fuente de energía la obtiene de la respiración aeróbica.
- **Fialide:** Célula conidiógena, habitualmente en forma de botella, en la que se produce una serie de conidios blásticos (fialoconidios).
- **Ahusado:** En forma de huso, forma alargada, elipsoide, y con las extremidades más estrechas que el centro.

2.5. HIPÓTESIS.

2.5.1. Hipótesis alternativa

Trichoderma spp, controla *Rosellinia* spp, a nivel de laboratorio.

2.5.2. Hipótesis Nula

Trichoderma spp, no controla *Rosellinia* spp., a nivel de laboratorio.

2.6. VARIABLES.

2.6.1. Variable dependiente:

Crecimiento micelial de *Rosellinia* spp. , a nivel de laboratorio.

Las investigaciones parten de lo común a lo general, es por ello, que se hace necesario realizar una investigación en laboratorio acerca del comportamiento de Lanosa (*Rosellinia* spp.) frente a *Trichoderma* spp.

2.6.2. Variable independiente:

Controladores biológicos, tres fuentes del género *Trichoderma*.

En la actualidad la agricultura está tomando otro enfoque, por ende es necesario desarrollar nuevas tecnologías e investigaciones, las cuales permitan contrarrestar ciertos tipos de plagas y enfermedades, para este tipo de investigación se seleccionó *Trichoderma* spp., por ser un microorganismo de amplio espectro el cual tiene un nivel alto de antagonismo frente a diversos hongos fitopatógenos y al mismo tiempo es amigable con el ecosistema.

III. METODOLOGÍA.

3.1. MODALIDAD DE LA INVESTIGACIÓN.

La investigación fue de carácter cuali-cuantitativo; cuantitativo porque en el proceso se midió el nivel de antagonismo (crecimiento micelial en mm) de *Trichoderma spp.*, frente a Lanosa (*Rosellinia spp.*), también fue de carácter cualitativo debido a la determinación del tipo de antagonismo (micoparasitismo, antibiosis, competencia por espacio y nutrientes) de *Trichoderma spp.*, frente al patógeno. Además fue experimental porque por medio de la aplicación de ensayos se buscó posibles alternativas para el control de la enfermedad en mención. Y aplicada por que mediante los estudios realizados se consiguió generar nuevas investigaciones sean estas en campo o laboratorio.

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.

Esta investigación fue: bibliográfica ya que se recolectó toda la información pertinente para el desarrollo e implementación de la investigación, de laboratorio porque fue el medio para realizar los ensayos pertinentes y obtener datos exactos del comportamiento de los agentes en estudio. Y finalmente aplicada ya que con el inicio de este estudio, se amplió el campo de la investigación en lo relacionado a este tema.

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN.

Población: Se encontró conformada por 64 unidades experimentales siendo estas las cajas petri, donde se evaluó la capacidad antagonista de tres fuentes de *Trichoderma spp.*, versus Lanosa (*Rosellinia spp.*) aislada del cultivo de papa (*Solanum Tuberosum* L.). Las fuentes utilizadas fueron (*Trichoderma spp.*, fuente 1), (*Trichoderma spp.*, fuente 2) y (*Trichoderma spp.*, fuente 3).

Muestra: La muestra estuvo representada por cada una de las cajas Petri como unidad experimental.

Tratamientos: 8

Repeticiones: 8

Unidad experimental: 1 caja Petri.

3.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

| | VARIABLES | DIMENSIONES | INDICADORES | TÉCNICAS | INSTRUMENTOS | INFORMANTE |
|--|---|--------------------------|---|--|--|------------|
| "Evaluación en laboratorio de la capacidad antagonista de <i>Trichoderma spp.</i> , frente al crecimiento de lanosa (<i>Rosellinia spp.</i> ", en el cultivo de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) | V. D Distancia ocupada de <i>Rosellinia spp.</i> , en la superficie de la unidad experimental | Distancia ocupada | Crecimiento radial (mm/días) | Medición de crecimiento en caja Petri para la distancia inferior (din)) | scalímetro, Medios de cultivo, Equipos, materiales de laboratorio en general | Tamar Ger |
| | | Velocidad de crecimiento | Tiempo (mm/días) | Medición de crecimiento en caja Petri para la distancia inferior (din) | Calendario, reloj, scalímetro, contador de colonias | Tamar Ger |
| | V. I Controladores biológicos, tres fuentes del género <i>Trichoderma.</i> | Distancia ocupada | Crecimiento radial (mm/días) | Medición de crecimiento para la distancia superior (ds) | Regla, Reactivos. Medios de cultivo, Equipos, materiales de laboratorio en general | Tamar Ger |
| | | Velocidad de crecimiento | Tiempo (mm/días) | Medición de crecimiento para la distancia superior (ds) | Reloj, scalímetro, contador de colonias | Tamar Ger |
| | | Tipo de antagonismo | Antibiosis Parasitismo Competición por espacio y nutrientes | Medición del espacio invadido u ocupado por cada fuente de <i>Trichoderma spp.</i> | Scalímetro, contador de colonias | Tamar Ger |

Elaborado por: Ger Tamar, 2013

3.5. RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.

3.5.1. Fuentes Bibliográficas.

La información bibliográfica del tema investigado se recolecto a través de libros, tesis, informes de revistas científicas, otras investigaciones realizadas, informes de organizaciones internacionales y revistas científicas.

3.5.2. Información procedimental.

Esta investigación fue realizada en los Laboratorios N° 204 de Microbiología; N° 202 de Fitopatología y Entomología de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi de la Escuela de Desarrollo Integral Agropecuario, donde se utilizó un Diseño Completo al Azar (DCA) para poder evaluar los factores en estudio; para la comprobación de la hipótesis se realizó un ADEVA, y la prueba de Tukey al 5% para efectuar comparaciones entre tratamientos.

3.5.3. Fuentes de estudio.

Constituido por los siguientes tratamientos.

Cuadro 4: Tratamientos evaluados en la investigación

| Factor: | Fuentes comerciales de <i>Trichoderma spp.</i> |
|---------------------|--|
| Tratamientos | Producto |
| T1 | <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1 |
| T2 | <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2 |
| T3 | <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3 |
| T4 | Extractos de frutas , plantas y metabolitos de microorganismos |
| T5 | Testigo absoluto |
| T6 | Tiabendazol |
| T7 | Benomil |
| T8 | Tiofanato Metil |

Elaborado por: Ger Tamar, 2013

3.5.4. Diseño experimental

Se estableció un Diseño Completamente al Azar (DCA), el cual estuvo conformado por 8 tratamientos y 8 repeticiones.

3.5.6. Análisis funcional

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (D.C.A), y pruebas de significancia Tukey al 5% para comparar tratamientos.

D.C.A análisis funcional del diseño aplicado en la investigación:

Cuadro 5: D.C.A., grados de libertad de la investigación.

| Fuentes de variación | Datos | Grados de libertad |
|----------------------|-------|--------------------|
| Total | 64 | 63 |
| Tratamientos | 8 | 7 |
| Error | | 56 |

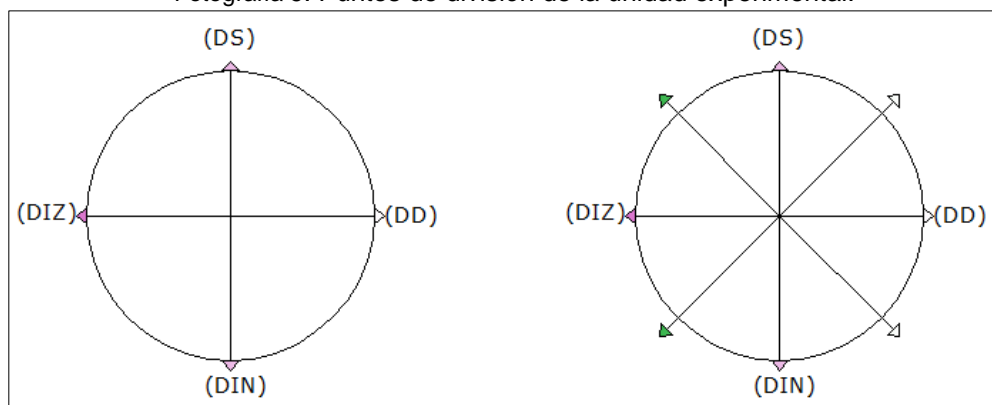
Elaborado por: Ger Tamar, 2014

3.5.7. Plan de recolección de la información

3.5.7.1. Velocidad de crecimiento en (mm/día) de los hongos:

Los datos para la velocidad de crecimiento micelial fueron registrados tanto para *Rosellinia spp.*, y *Trichoderma spp.*, se tomó la medida en milímetros por día con la ayuda de un scalímetro.

Fotografía 5: Puntos de división de la unidad experimental.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014

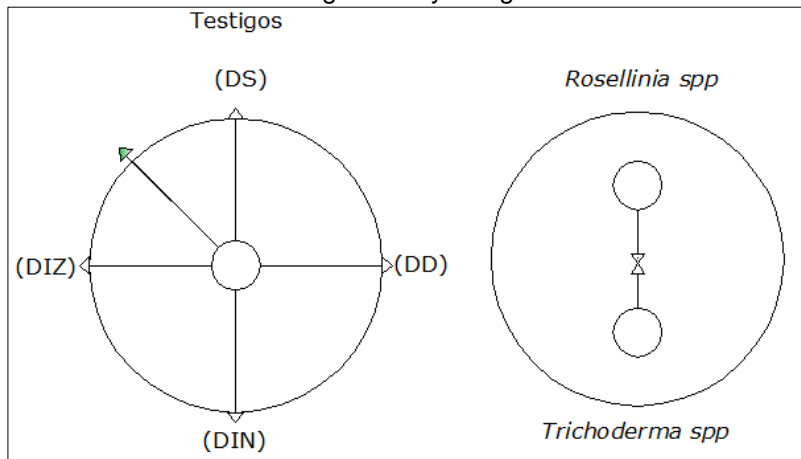
3.5.7.2. Tiempo

Los datos fueron registrados durante 50 días, los primeros 8 días cada 24 horas y el resto del tiempo cada 48 horas, a la misma hora 17:00 pm.

3.5.7.3. Antagonismo

El antagonismo se consideró por medio del efecto y mecanismos de biocontrol ocasionado por parte del antagonista hacia el patógeno, se registró las dos distancias de enfrentamiento; distancia inferior para *Rosellinia spp.* , distancia superior para *Trichoderma spp.* , en milímetros por día.

Fotografía 6: Puntos de lectura para *Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, prueba de antagonismo y testigos.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014

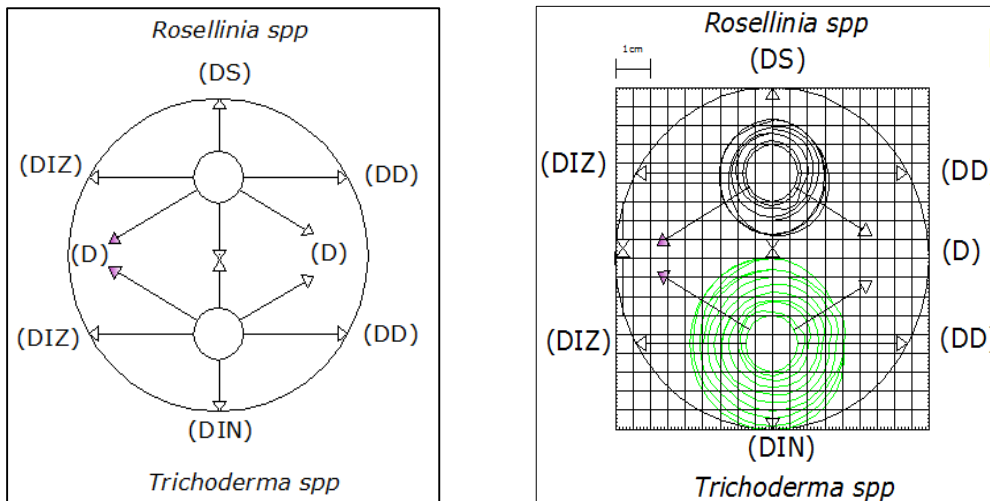
3.5.7.4. Crecimiento micelial de los hongos

Se registró los datos desde las 24 horas después de su siembra, durante los 50 días, tomando como referencia 4 puntos; en que fueron divididas las placas;

- Distancia superior (DS)
- Distancia inferior (DIN),
- Distancia izquierda (DIZ) y
- Distancia derecha (DD)

Para *Rosellinia spp.*, se tomó la distancias inferior (DIN), mientras tanto para *Trichoderma spp.* , se registró la distancia superior (DS).

Fotografía 7: Puntos de lectura del antagonismo, *Rosellinia spp.*, versus *Trichoderma spp.*



Elaborado por: Ger Tamar, 2014

3.5.8. Materiales y equipos utilizados en la investigación

3.5.8.1. Equipos

- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Contador de colonias
- Estufa/Esterilizador
- Microscopio compuesto
- Balanza analítica
- pH metro

3.5.8.2. Materiales

- Indumentaria para laboratorio
- Cajas petri
- Bisturí
- Pinzas de punta plana
- Vasos de precipitación de 50/100/250ml
- Frasco Autoclavable Tapa Azul 250/600ml
- Asa de platino

- Lámparas de Alcohol
- Vidrio reloj
- Espátula
- Probeta graduada
- Piseta plástica
- Tubos de ensayo
- Jeringuillas
- Papel parafilm
- Gasa
- Algodón
- Papel comercio
- Cinta masquin
- Marcadores de colores

3.5.8.3. Sustancias y productos

- Material vegetal infectado (tubérculos)
- *Trichoderma spp.*
- Alcohol potable y antiséptico
- PDA (Agar papa dextrosa)
- Extracto de frutas, plantas y metabolitos de microorganismos
- Bensimidazoles (Tianbendazol, Beomil, Tiofanato de metilo).

3.5.9. Procedimiento.

3.5.9.1. Recolección de la muestra de la enfermedad Lanosa (*Rosellinia spp.*), en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum L.*).

La recolección del material vegetativo enfermo, se realizó en los alrededores de la ciudad de Tulcán (sector rural) parroquia Santa Martha de Cuba caserío Chumban Alto. Las plantas seleccionadas fueron las que presentaron los signos característicos de *Rosellinia spp.*, como por ejemplo: Marchitez progresiva de la planta acompañada de caída del follaje; la raíz se torna de color negro rojizo y es el sitio por donde comienza el ataque, en los tubérculos

el ataque de este tipo de enfermedad es más evidente formando costras blanquecinas al rededor del tubérculo y de los tallos. Ver anexo 1

3.5.9.2. Actividades realizadas en el aislamiento de *Rosellinia* spp.

3.5.9.2.1. Preparación del material

- Lavado y enjuagado con agua destilada.
- Empacado de material con papel comercio u hojas recicladas.
- Esterilizar en la estufa a 120 °C, durante una hora (esterilización seca).

3.5.9.3. Aislamientos, siembras, purificación de los hongos

- Lavado del material vegetal enfermo (tubérculo) anexo 2, sin tocar el micelio.
- Colocar en tres vidrio reloj agua destilada, hipoclorito de sodio al 5% (cloro) y agua destilada estéril.
- Realizar cortes de cubos de 1cm, con la mitad de material sano y enfermo.
- Durante dos minutos en los vidrio reloj con cloro al 5% con la finalidad de limpiar la muestra de hongos contaminados y al final se colocó en el vidrio reloj de agua destilada con el fin de enjuagar y quitar el exceso de cloro, realizado por triplicado. Ver anexo 3

Fotografía 8: Limpieza de las muestras con hipoclorito de sodio y agua destilada por triplicado.



Tomada por: Ger Tamar, 2013

- Se ubicó los cubos de forma triangular en las cajas petri con el medio PDA (39g/1000ml), tapando y sellando cada una de las placas con papel parafilm a 20°C durante 15 días.

Fotografía 9: Siembra de *Rosellinia spp.*, del material vegetal infectado



Tomada por: Ger Tamar, 2013

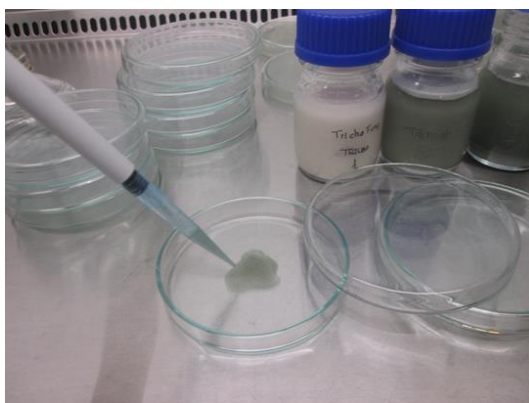
3.5.9.3.1. Purificación y multiplicación de hongos en caso de contaminación o para purificación de cepas.

- Con la ayuda de una aza de siembra se realizó un pequeño raspado del micelio de la superficie del hongo de interés, y en la caja petri con medio se realizó un picado en el centro de la placa. Dejándose que crezca durante 8 a 15 días a 20°C en la incubadora. Ver anexo 4

3.5.9.3.2. Siembra de *Trichoderma spp.*, en polvo y líquido.

- Esterilización de 98 ml de agua destilada en frascos autoclavable de 100ml.
- Colocar 2g de las fuentes de *Trichoderma spp.*, en el agua estéril y mezclar. Ver anexo 10
- Colocar en el centro 1 ml solución en las cajas petri, realizando una siembra profunda y luego se procedió a cubrir con el medio PDA, de igual forma se hizo la siembra directa del *Trichoderma spp.*, en líquido para luego sellar con papel parafilm. Ver anexo 11

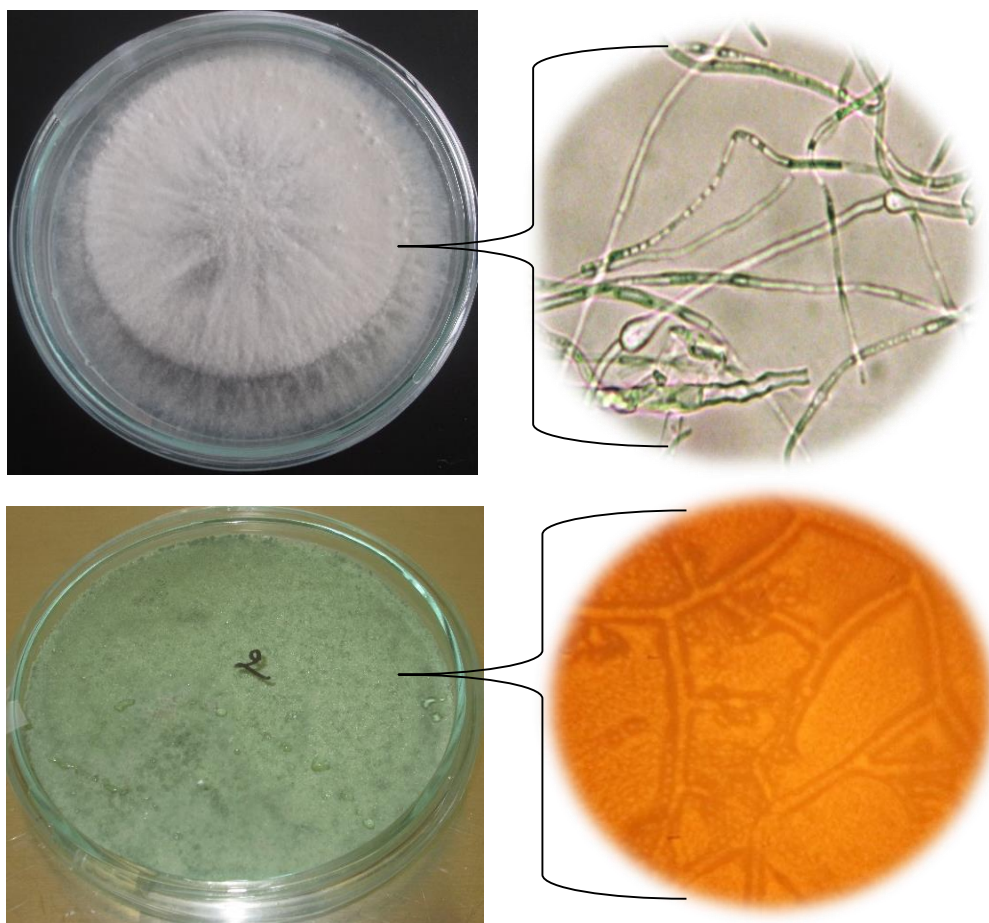
Fotografía 10. Siembra profunda de *Trichoderma spp.*



Tomada por: Ger Tamar, 2013

3.5.9.4. Siembra y prueba de antagonismo de *Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*

Fotografía 11. Cepas puras de *Trichoderma spp.*, y *Rosellinia spp.*, en PDA



Tomada por: Insuasti. M (INIAP) & Ger Tamar, 2013

- Con la cepas puras del patógeno *Rosellinia spp.* (anexo 5) y el antagonista *Trichoderma spp.* En cajas petri con medio, para cada tratamiento con 8 cajas por tratamiento y una en blanco como verificación de contaminación.
- Se separó con la ayuda de un tubo de ensayo pequeñas rodajas de 7mm de radio donde se colocó con la ayuda de un papel milimetrado a una distancia aproximada de 15mm desde el borde de la caja en la parte superior *Rosellinia spp.*, y en el borde opuesto *Trichoderma spp.* Ver anexo 12

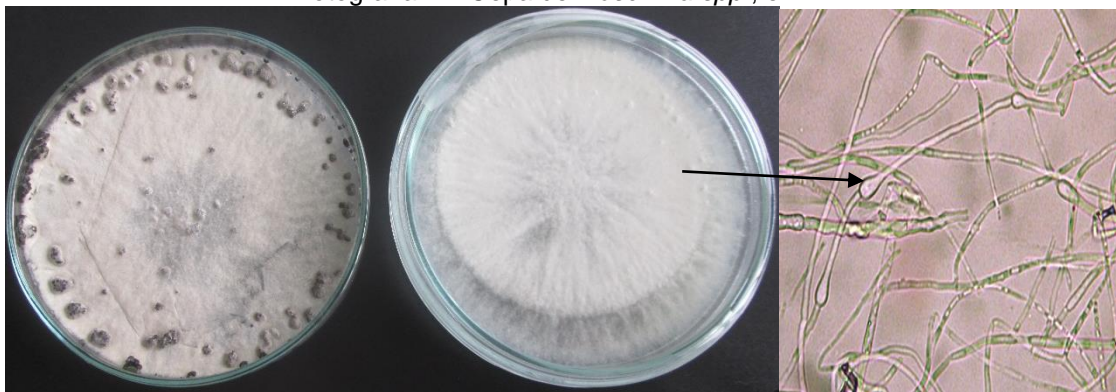
3.5.9.5. Inoculación de patógenos a plantas sanas mediante los postulados de Koch (Agrios, 1995)

Con las cepas de Lanosa *Rosellinia spp.* , y el hospedante papa (*Solanum tuberosum* L.), respectivamente se aplicó los postulados de Koch de acuerdo al protocolo que proponen (French & Hobert, 1982).

En términos generales se aplicaron los siguientes pasos:

- 1.- El aislamiento de los agentes causales, su purificación y conservación.
- 2.- La producción de inóculo se realizó en Agar Papa Dextrosa.

Fotografía 12: Cepa de *Rosellinia spp.*, en PDA



Tomada por: Ger Tamar, 2013

- 3.- La inoculación se efectuó a 5 cm del cuello de la raíz de la papa, haciendo pequeñas incisiones de 3mm de diámetro y 4 mm de profundidad donde se depositó 5 ml de inóculo. Ver anexo 8

Las plantas inoculadas se mantuvieron en condiciones de humedad y condiciones adecuadas para el desarrollo del patógeno en macetas ubicadas en un laboratorio en constante vigilancia para la observación de sus resultados durante un mes. Ver anexo 9

Fotografía 13: Proceso de inoculación de *Rosellinia spp.*, en la planta de papa



Tomada por: Ger Tamar, 2013

4.- Una vez que se verifico la presencia de los síntomas del patógeno *Rosellinia spp.*, los cuales se presentaron a los 8 días después de la inoculación se procedió a verificar el material infectado.

Fotografía 14: Síntomas visibles a los 8 días de la inoculación de *Rosellinia spp.*



Tomada por: Ger Tamar, 2013

5.- Se estableció la homogeneidad que presenten estos aislados con las cepas originales. Por lo tanto se verificó la que la cepa del patógeno *Rosellinia spp.*, es pura. Además la cepa que se utilizó en la investigación previamente fue

analizada en la Estación Santa Catalina (INIAP), en los laboratorios de protección vegetal en la ciudad de Quito. Ver anexo 7. Utilizando las claves de identificación de hongos fitopatógenos (Watanabe, 1937) ver anexo 6.

3.5.9.6. Prueba de Antagonismo.

La prueba de antagonismo consistió en la valoración (milímetros por día) de la superficie ocupada en la unidad experimental y observación del efecto ocasionado, mecanismos de biocontrol de *Trichoderma*, mediante competencia por el espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis, frente al patógeno *Rosellinia spp.*

3.6. PROCESAMIENTO, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

Después de haber realizado la prueba de antagonismo de *Rosellinia spp.*, versus *Trichoderma spp.*, se continuó con el procesamiento, análisis e interpretación de resultados. A continuación se presentan los tratamientos realizados.

Cuadro 6: Características de diseño experimental evaluados en la investigación

| | | | |
|----|------------------------|-----|--|
| T1 | <i>Rosellinia spp.</i> | Vs. | <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1 |
| T2 | <i>Rosellinia spp.</i> | Vs. | <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2 |
| T3 | <i>Rosellinia spp.</i> | Vs. | <i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3 |
| T4 | <i>Rosellinia spp.</i> | Vs. | Extractos de frutas, plantas y metabolitos de microorganismos. |
| T5 | <i>Rosellinia spp.</i> | | Testigo absoluto |
| T6 | <i>Rosellinia spp.</i> | Vs. | Tiabendazol |
| T7 | <i>Rosellinia spp.</i> | Vs. | Benomil |
| T8 | <i>Rosellinia spp.</i> | Vs. | Tiofanato Metilo |

Elaborado por: Ger Tamar, 2013

3.6.1. Prueba de antagonismo (distancia inferior, ocupada por *Rosellinia spp.*)

3.6.1.1. Crecimiento de (*Rosellinia spp.*, distancia inferior), a los 8 días después de su siembra.

Tabla 1: ANOVA para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 8 días después de su siembra

| F.V. | SC | gl | CM | F cal |
|---------------------|----------|----|-------|---------|
| Total | 187,79 | 63 | | |
| Tratamientos | 139,64 | 7 | 19,95 | 23,20** |
| Error | 48,15 | 56 | 0,81 | |
| CV | 22,07% | | | |
| X | 19,60 mm | | | |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Después de haber realizado el análisis de varianza (Tabla1) para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, se observó diferencia estadística significativa entre tratamientos. El coeficiente de variación fue de 22,07 % y el promedio del experimento de 19,60 mm en crecimiento del patógeno.

Tabla 2: Prueba de Tukey al 5 % para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 8 días después de su siembra

| TRATAMIENTO | MEDIAS(mm) | | | | |
|--|------------|---|---|---|---|
| T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2) | 7,06 | A | | | |
| T4 (Extractos de frutas plantas y metabolitos de microorganismos) | 7,25 | A | | | |
| T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1) | 7,69 | A | | | |
| T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3) | 13,81 | A | B | | |
| T8 (Tiofanato de metil) | 21,00 | | B | C | |
| T6 (Tiabendazol) | 24,63 | | | C | |
| T7 (Benomil) | 35,38 | | | | D |
| T5 (Testigo absoluto) | 39,94 | | | | D |

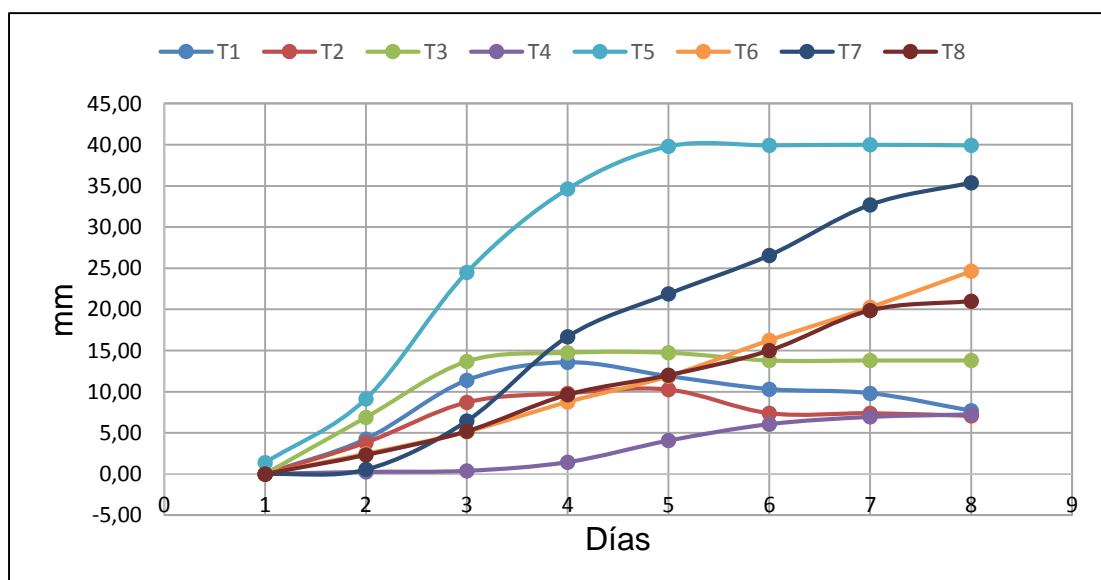
Elaborado por: Ger Tamar, 2014

En la tabla 2 se pueden observar las medias del crecimiento en milímetros para cada tratamiento ubicándose, en la categoría A los tratamientos T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 2), con 7,06 mm, T4 (*Rosellinia spp.*, vs Metabolitos de microorganismos), con 7,25 mm de promedio y T1

(*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), con 7,69 mm; en el rango A y B se encontró el tratamiento, T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3) ,con 13,81 mm ; además en el rango B y C, se ubicó el tratamiento T8 (*Rosellinia spp.*, vs Tiofanato Metilo), con 21,00 mm ; en el rango C , estuvo el tratamiento T6 (*Rosellinia spp.*, vs Tiabendazol) con 24,63 mm; en el rango D, se ubicó el tratamiento T7 (*Rosellinia spp.*, vs Benomil) , con 35,38 mm, y T5 siendo este el testigo absoluto (*Rosellinia spp.*) con un promedio de crecimiento de 39,94 mm.

Los Bensimidazoles son fungicidas pertenecientes al grupo sistémicos, el modo de acción de estos es; inhibición del ensamble de los microtúbulos, impidiendo, el proceso de división celular en los hongos patógenos (Davidsed, 1982, citado por Besoaín) (1989). Este grupo de fungicidas tienen poco efecto inhibitorio en la germinación de esporas de hongos sensibles, dependiendo de la concentración y del medio de cultivo, afectan en: desarrollo del tubo germinativo, multiplicación celular e inhiben fuertemente el crecimiento de las hifas (Erwin, 1973; Hammerschlag y Sisler, 1973, citado por Besoaín, 1989).

Gráfica 1: Resultados, del crecimiento de la distancia inferior ocupada por *Rosellinia spp.* , a 8 días de su siembra.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014

3.6.1.2. Crecimiento de (*Rosellinia spp.*, distancia inferior) a los 20 días después de su siembra.

Tabla 3: ANOVA para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 20 días después de su siembra

| F.V. | SC | gl | CM | F cal |
|---------------------|----------|----|-------|---------|
| Total | 318,30 | 63 | | |
| Tratamientos | 243,95 | 7 | 34,85 | 26,25** |
| Error | 74,36 | 56 | 1,33 | |
| CV | 26,52% | | | |
| X | 22,79 mm | | | |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Después de haber realizado el análisis de varianza para el crecimiento de *Rosellinia spp.*, a los 20 días después de su siembra, se pudo observar que existió una diferencia estadísticamente significativa al 1% entre tratamientos, con un coeficiente de variación de 26,52 % y el promedio del experimento fue de 22,79 mm de crecimiento en el medio PDA.

Tabla 4: Prueba de Tukey al 5 % para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 20 después de su siembra

| TRATAMIENTO | MEDIAS(mm) | | | | |
|--|------------|---|---|---|---|
| T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1) | 0,13 | A | | | |
| T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2) | 6,00 | A | B | | |
| T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3) | 11,00 | A | B | | |
| T4 (Extractos de frutas plantas y metabolitos de microorganismos) | 16,63 | | B | C | |
| T8 (Tiofanato de metil) | 29,38 | | | C | D |
| T7 (Benomil) | 38,88 | | | | D |
| T5 (Testigo absoluto) | 39,94 | | | | D |
| T6 (Tiabendazol) | 40,38 | | | | D |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

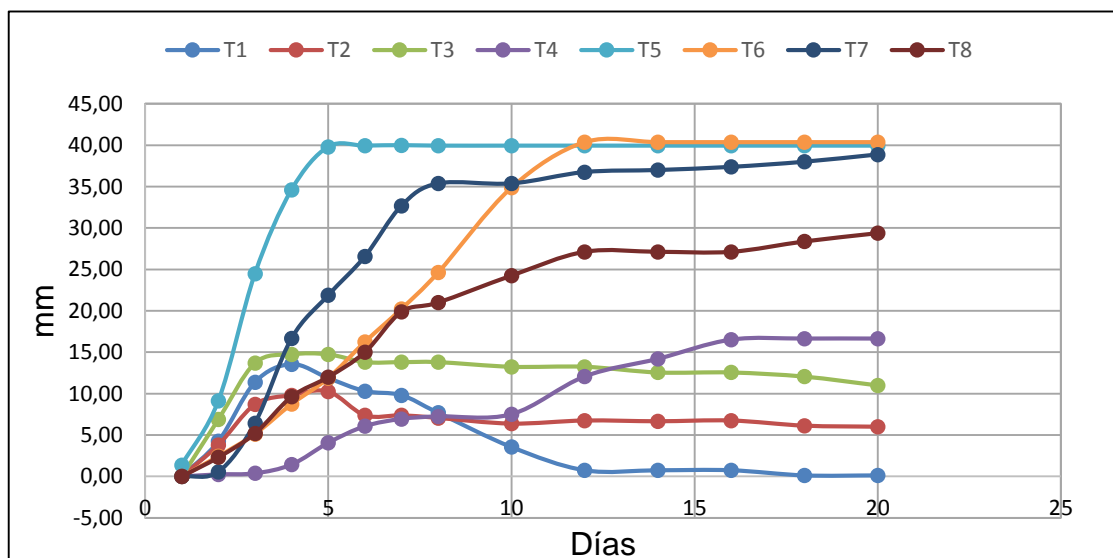
En la tabla 4 se observa las medias de cada tratamiento del espacio ocupado por el patógeno, en la categoría A , se encontró el tratamiento T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), con 0,13 mm ; en el rango A y B estuvieron los tratamientos T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 2), con 6,00 mm y T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3) ,con 11,00 mm , después se ubicó en el rango B y C el T4 (*Rosellinia spp.*, vs Metabolitos

de microorganismos), con 16,63 mm de promedio ; en el rango C y D se encontró el tratamiento T8 (*Rosellinia spp.*, vs Tiofanato Metilo), con 29,38 mm y en el rango D estuvieron los tratamientos T7 (*Rosellinia spp.*, vs Benomil) , con 38,88 mm ; T5 el testigo absoluto (*Rosellinia spp.*) con un promedio de crecimiento de 39,94 mm y por último el T6 (*Rosellinia spp.*, vs Tiabendazol) con 40,38 mm.

Nicole, Ruel, & Ovellette (1994) detallan que la relación patógeno-hospedante en las estructuras celulares particulares de los hongos pueden estar envueltas en la alteración de la pared celular. Los hongos patógenos pueden producir una amplia modificación de sus estructuras celulares especializadas en la penetración del hospedante estos pueden ser: apresorios, haustorios o microhifas. La alteración de los tejidos resulta de la presión mecánica y de actividad enzimática.

El problema en el uso del grupo de Bensimidazoles es el rápido desarrollo de poblaciones fungosas resistentes (Alvarez, 1989; Carreño y Pinto de Torres, 1979; Davidse, 1982, citados por Besoáin).

Gráfica 2: Resultados, del crecimiento de la distancia inferior ocupada por *Rosellinia spp.* , a 20 días de su siembra.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014

3.6.1.3. Crecimiento de (*Rosellinia spp.*, distancia inferior) a los 50 días después de su siembra.

Tabla 5: ANOVA para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 50 días después de su siembra

| F.V. | SC | gl | CM | F cal |
|---------------------|----------|----|-------|---------|
| Total | 376,49 | 63 | | |
| Tratamientos | 285,28 | 7 | 40,75 | 25,02** |
| Error | 91,21 | 56 | 1,63 | |
| CV | 29,39% | | | |
| X | 23,63 mm | | | |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Después de haber realizado el análisis de varianza para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, a los 50 días después de su siembra en PDA, se observó que existió una diferencia significativa estadísticamente al 1% entre tratamientos, con un coeficiente de variación de 29,39 % y el promedio del experimento fue 23,63 mm de espacio ocupado por el patógeno.

Tabla 6: Prueba de Tukey al 5% para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 50 después de su siembra

| TRATAMIENTO | MEDIAS(mm) | | | |
|--|------------|---|---|---|
| T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1) | 0,00 | A | | |
| T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3) | 5,06 | A | | |
| T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2) | 5,88 | A | | |
| T4 (Extractos de frutas plantas y metabolitos de microorganismos) | 21,63 | | B | |
| T7 (Benomil) | 38,00 | | | C |
| T8 (Tiofanato de metil) | 38,13 | | | C |
| T5 (Testigo absoluto) | 39,94 | | | C |
| T6 (Tiabendazol) | 40,38 | | | C |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

En la interpretación de la tabla 6, de los promedios del crecimiento del patógeno en cada tratamiento, en la categoría A se encontraron los tratamientos T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.* Fuente 1), con 0,00 mm; T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3), con 5,06 mm; y el T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.* Fuente 2), con 5,88 mm; en el rango B estuvo el tratamiento T4 (*Rosellinia spp.*, vs Metabolitos de microorganismos),

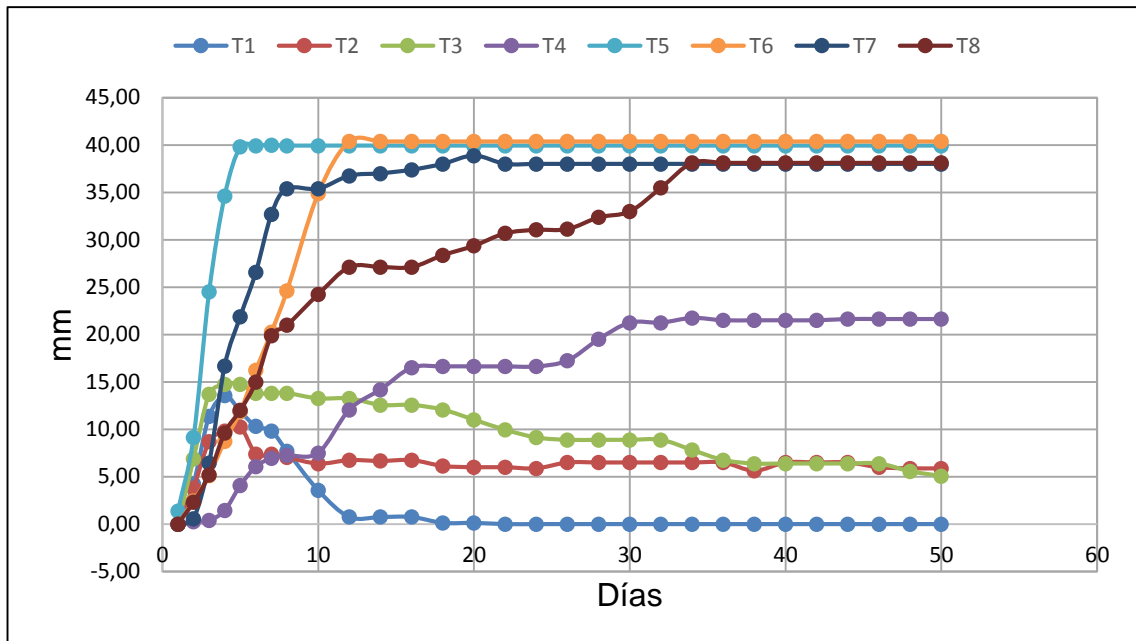
con 21,63 mm de promedio ; en el rango C se ubicaron los tratamientos T7 (*Rosellinia spp.*, vs Benomil) , con 38,00 mm ; después el T8 (*Rosellinia spp.*, vs Tiofanato Metilo), con 38,13 mm ; luego el T5 el testigo absoluto (*Rosellinia spp.*) con un promedio de crecimiento de 39,94 mm y por último el T6 (*Rosellinia spp.*, vs Tiabendazol) con 40,38 mm.

La capacidad fungicida de los Bensimidazoles beneficia la aparición de resistencia en los patógenos ya que poseen un modo de acción sitio - específica (Álvarez, 1989).

La Lanosa (*Rosellinia spp.*) enfermedad que se propaga a través de la semilla y en menor grado por el suelo, por lo tanto tiene una forma rápida y alarmante de propagación (Pumisacho & Sherwood, 2002). La temperatura es uno de los factores ambientales que modifican el crecimiento y esporulación de los hongos, es así como Bisby (1943), citado por (Orellana, 1978) aunque por cada especie de hongo existe su rango de temperatura la mayoría esporulan 32 a 20°C, la cantidad y calidad de nutrientes es decisivo para el crecimiento y esporulación de los hongos, llegando a necesita sustratos pobres , pero Lanosa desarrolla mejor en materia orgánica y un pH de 5 y 6 influyendo en el desarrollo de la infección siendo más favorable en el rango de 7 (Ayala, 1987).

Los antagonistas ayudan a mitigar los daños que ocasionan las enfermedades. La competencia es uno de los mecanismos de antagonismo en donde el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), presenta disminución de cantidad o espacio disponible. Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente control biológico como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, y por otro lado por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros. (Ahmad & Baker, 1987)

Gráfica 3: Resultados, del crecimiento de la distancia inferior ocupada por *Rosellinia spp.* , a 50 días de su siembra.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014

3.6.2. Prueba de antagonismo (distancia superior, ocupada por *Trichoderma spp.*)

3.6.2.1. Crecimiento de (*Trichoderma spp.*, distancia superior) a 8 los días después de su siembra.

Tabla 7: ANOVA para la distancia superior de *Trichoderma spp.* , en cada tratamiento evaluado a los 8 días después de su siembra

| F.V. | SC | gl | CM | F cal |
|---------------------|----------|----|------|-------|
| Total | 12,48 | 23 | | |
| Tratamientos | 4,20 | 2 | 2,10 | 5,34* |
| Error | 8,27 | 21 | 0,39 | |
| CV | 14,30% | | | |
| X | 18,77 mm | | | |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Después de haber realizado el análisis de varianza para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, a los 8 días después de su siembra en PDA, se puede afirmar que existió una diferencia significativa estadísticamente al 1% entre

tratamientos, el coeficiente de variación fue de 14,30% y el promedio del experimento fue de 18,77 mm en el crecimiento del antagonista.

Tabla 8: Prueba de Tukey al 5 % para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 8 después de su siembra.

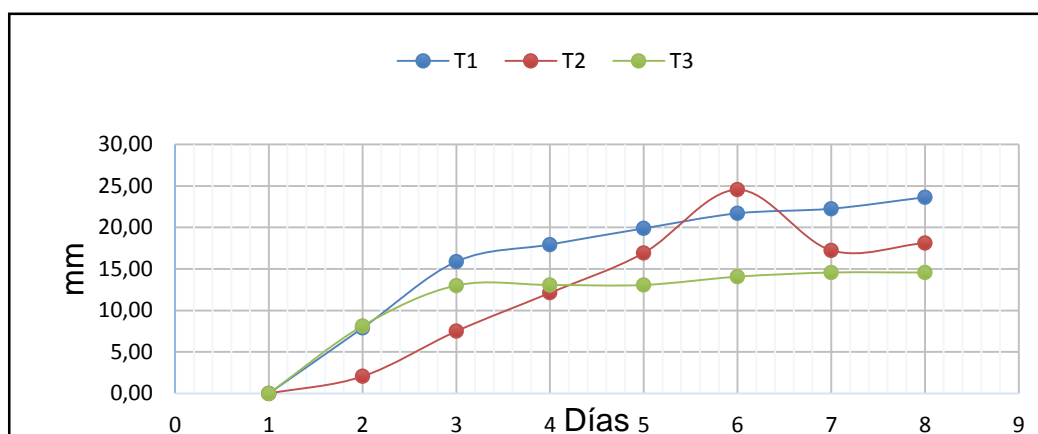
| TRATAMIENTO | MEDIAS(mm) | | |
|--|------------|---|---|
| T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1) | 23,63 | A | |
| T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2) | 18,13 | A | B |
| T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3) | 14,56 | | B |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

En la interpretación de la tabla N° 8 de la prueba de Tukey al 5 %, se observó las medias del crecimiento de cada tratamiento; en la categoría A , se ubicó el tratamiento T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), con 23,63 mm; luego estuvo en la categoría A y B el tratamiento T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 2) con 18,13 mm; mientras que en la categoría B se encontró el tratamiento T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3), con 14,56 mm.

Los antagonistas contribuyen a la atenuación de los daños que causan las enfermedades, poseyendo modos de acción que les permitan ejercer su efecto biorregulador junto con la capacidad de multiplicarse, permitiéndoles ser los agentes de control biológico de mayor importancia , su control se efectúa de forma lenta pero consigue controlar efectos patogénicos. (Agronomía, 2009)

Gráfica 4: Resultados, del crecimiento de la distancia superior ocupada por *Trichoderma spp.* , a 8 días de su siembra.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014

3.6.2.2. Crecimiento de (*Trichoderma spp.*, distancia superior) a los 20 días después de su siembra

Tabla 9: ANOVA para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 20 días después de su siembra.

| F.V. | SC | gl | CM | F cal |
|---------------------|----------|----|-------|---------|
| Total | 59,61 | 23 | | |
| Tratamientos | 46,92 | 2 | 23,46 | 38,83** |
| Error | 12,69 | 21 | 0,60 | |
| CV | 14,11% | | | |
| X | 31,81 mm | | | |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Después de haber realizado el análisis de varianza para el crecimiento de *Trichoderma spp.*, a los 20 días después de su siembra en PDA, se observó diferencia significativa estadísticamente al 1% entre tratamientos, el coeficiente de variación fue de 14,11% y el promedio del experimento estuvo con 31,81 mm en el crecimiento del antagonista.

Tabla 10: Prueba de Tukey al 5 % para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 20 días después de su siembra

| TRATAMIENTO | MEDIAS(mm) | | |
|---|------------|---|---|
| T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1) | 54,88 | A | |
| T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2) | 24,00 | A | |
| T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3) | 16,56 | | B |

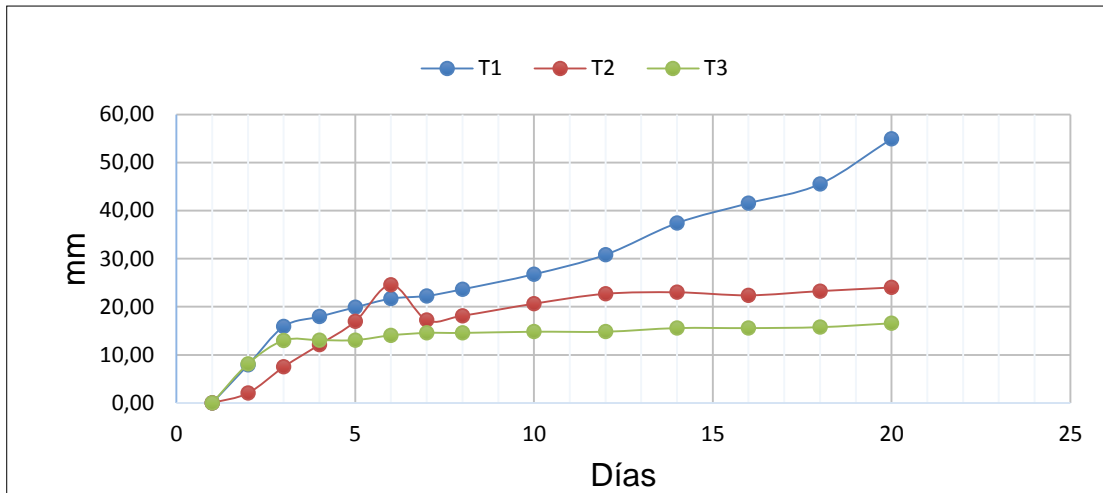
Elaborado por: Ger Tamar, 2014

En la interpretación de la tabla N°10 de la prueba de Tukey al 5 %, se observó que en la categoría A, estuvieron los tratamientos T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), con 54,88 mm; y el tratamiento T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 2) con 24,00mm; mientras que en la categoría B se encontró el tratamiento T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3), con 16,56 mm del espacio ocupado por el antagonista.

La velocidad de crecimiento de un antagonista no determina la colonización efectiva, sino más bien la aplicación homogénea del mismo en todo el sustrato, o en de otra forma la velocidad de crecimiento, junto con otro de los

mecanismos de acción propia del antagonista, es determinante en el biocontrol del patógeno y colonización del sustrato. (Pérez"(UNAH)., 2009).

Gráfica 5: Resultados, del crecimiento de la distancia superior ocupada por *Trichoderma spp.* , a 20 días de su siembra.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014

3.6.2.3. Crecimiento de (*Trichoderma spp.*, distancia superior) a los 50 días después de su siembra

Tabla 11: ANOVA para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 50 días después de su siembra

| F.V. | SC | gl | CM | F cal |
|---------------------|----------|----|-------|---------|
| Total | 62,30 | 23 | | |
| Tratamientos | 38,57 | 2 | 19,28 | 17,06** |
| Error | 23,73 | 21 | 1,13 | |
| CV | 17,60% | | | |
| X | 38,08 mm | | | |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Después de haber realizado el análisis de varianza del crecimiento de *Trichoderma spp.*, en la tabla 11, se observó diferencia significativa estadísticamente al 1% entre tratamientos, el coeficiente de variación fue de 17,60 % y el promedio del experimento fue 38,08 mm en el espacio ocupado por el antagonista.

Tabla 12: Prueba de Tukey al 5 % para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 50 días después de su siembra.

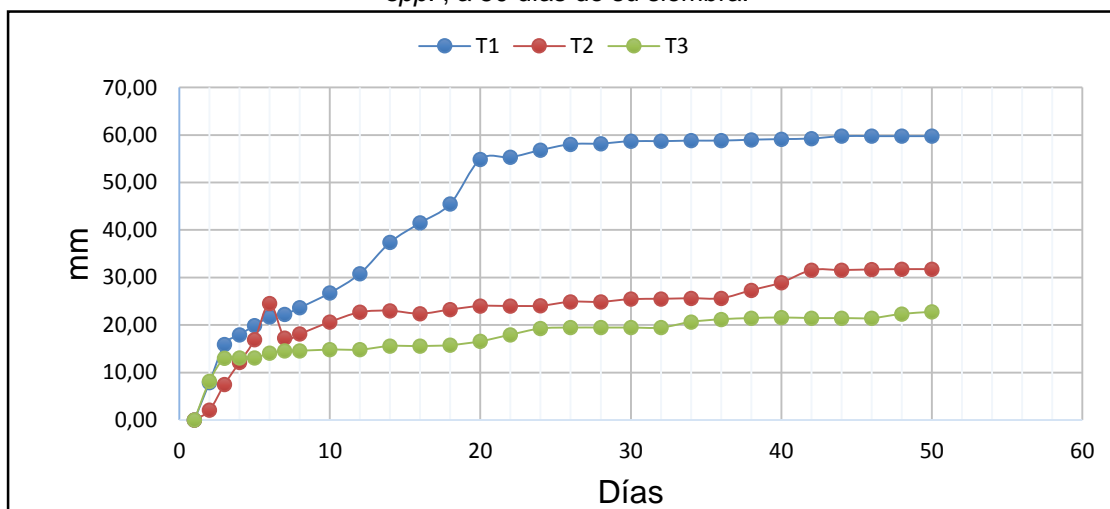
| TRATAMIENTO | MEDIAS(mm) | | |
|--|------------|---|---|
| T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1) | 59,75 | A | |
| T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2) | 31,75 | A | |
| T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3) | 22,75 | | B |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

En la interpretación de la tabla N° 12 de la prueba de Tukey al 5 %, se observó los promedios del crecimiento en milímetros de cada uno de los tratamientos de las fuentes de *Trichoderma spp.*, utilizados en la categoría A estuvieron los tratamientos T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), con 59,75 mm; y el tratamiento T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 2) con 31,75 mm; mientras que en la categoría B se encontró el tratamiento T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3), con 22,75mm.

La acción biocontroladora de *Trichoderma* se han descrito diferentes mecanismos de acción que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos. La capacidad antagonista del *Trichoderma* se mantuvo aumentando hasta el día 50, lo cual demostró que el patógeno dejó de crecer, mientras que el hongo antagonista ocupó el total de la placa, demostrando la competencia por el espacio, nutrientes y micoparasitismo.

Gráfica 6: Resultados, del crecimiento de la distancia superior ocupada por *Trichoderma spp.*, a 50 días de su siembra.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014

3.6.3. Velocidad de crecimiento de las tres fuentes comerciales de *Trichoderma spp.*, en mm/día evaluado durante 50 días después de su siembra.

Tabla 13: Velocidad de crecimiento de las fuentes comerciales de *Trichoderma spp.*, en mm/día

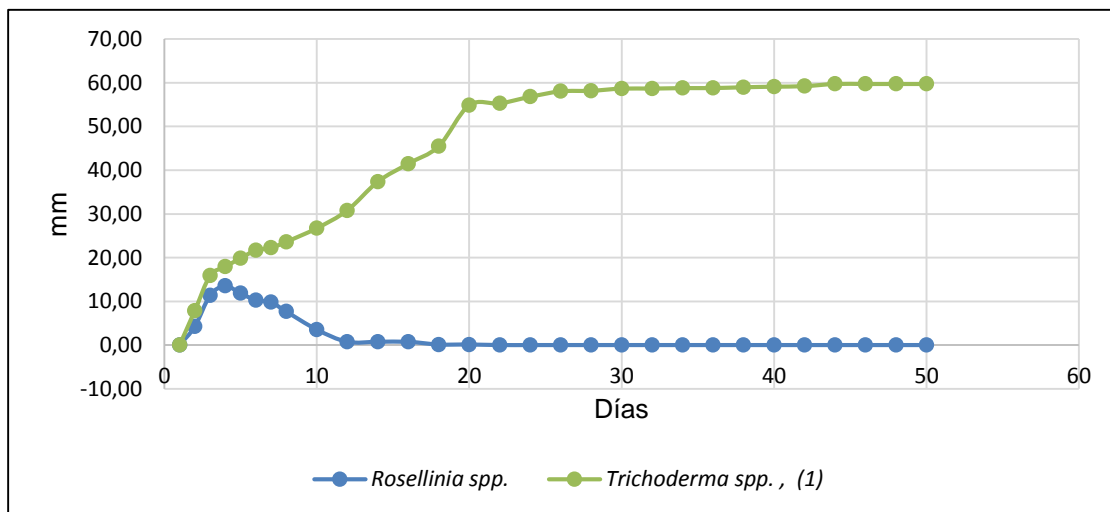
| Fuentes | Velocidad de crecimiento mm/día |
|--|---------------------------------|
| T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1) | 1,19 |
| T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2) | 0,63 |
| T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3) | 0,45 |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

3.6.4. Tipo de antagonismo que presentó *Trichoderma spp.*

3.6.4.1. *Trichoderma spp.* , fuente 1

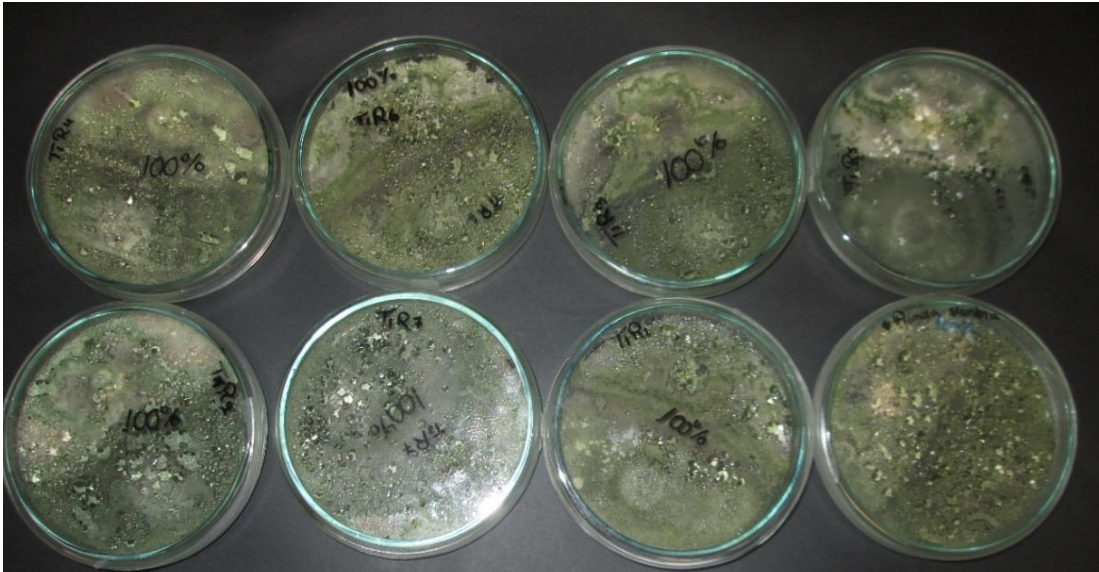
Gráfica 7: Resultados, del tipo de antagonismo de la distancia inferior de *Rosellinia spp.* , y distancia superior *Trichoderma spp.* , fuente (1) T1, a 50 los días después de su siembra.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014

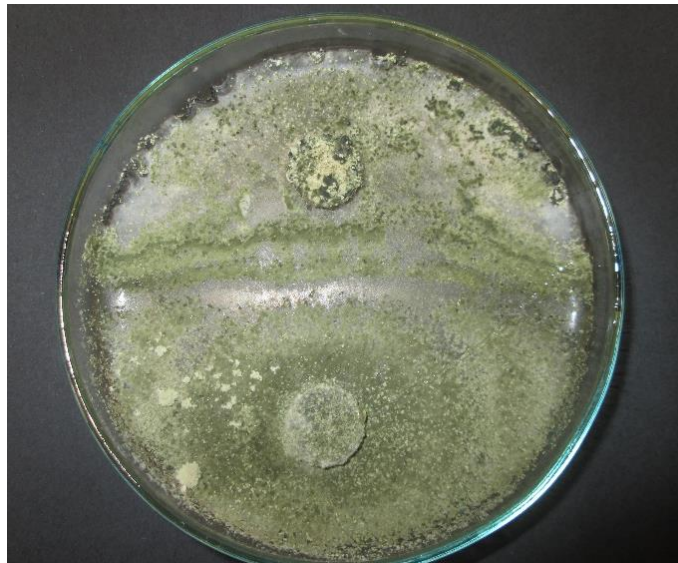
Trichoderma spp. , fuente 1, el mecanismo de biocontrol que se presentó exclusivamente es la competencia de nutrientes y espacio durante los primeros 5 días después de la siembra, desde el día sexto hasta el día 50 después se sumó a este mecanismo de biocontrol el micoparasitismo.

Fotografía 15: T1 *Rosellinia* spp. , vs *Trichoderma* spp. , fuente 1 a los 50 días



Tomada por: Ger Tamar, 2014

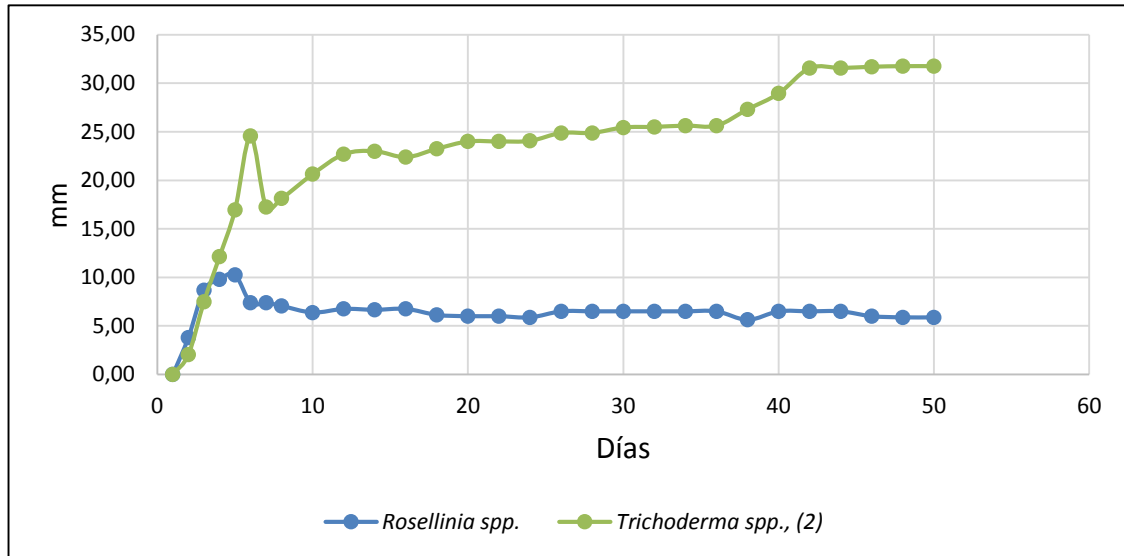
Fotografía 16: Tipo de Antagonismo presentó la Fuente 1 de *Trichoderma* spp.



Tomada por: Ger Tamar, 2014

3.6.4.2. *Trichoderma* spp. , fuente 2

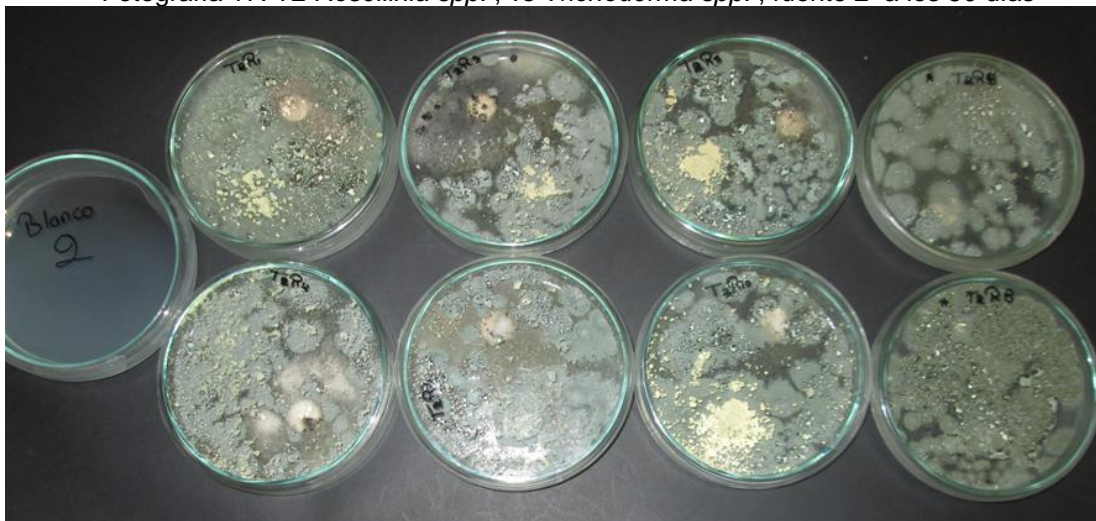
Gráfica 8: Resultados, del tipo de antagonismo de la distancia inferior de *Rosellinia* spp. , y distancia superior *Trichoderma* spp. , fuente (2) T2, a los 50 días después de su siembra.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014

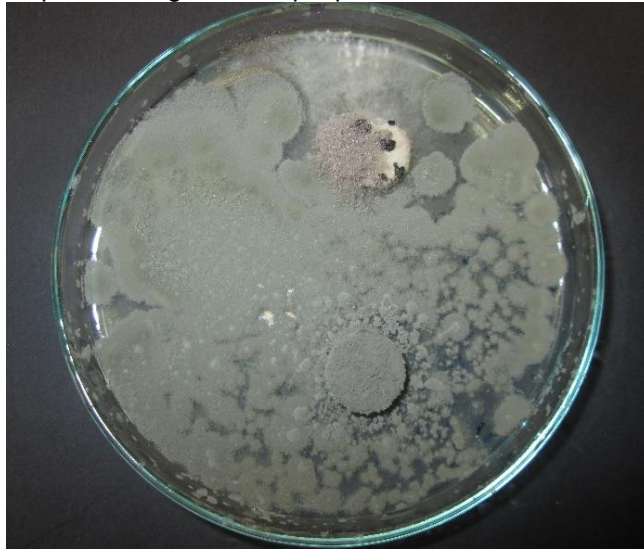
El tratamiento T2 *Rosellinia* spp. , vs *Trichoderma* spp. , según la gráfica 10 y los datos obtenidos se afirmó que en *Trichoderma* spp. , fuente 2, el mecanismo de biocontrol que se presentó exclusivamente fue la competencia de nutrientes y espacio durante los primeros 6 días después de la siembra, desde el día séptimo hasta el día 50 después se suma a este mecanismo de biocontrol el micoparasitismo.

Fotografía 17: T2 *Rosellinia* spp. , vs *Trichoderma* spp. , fuente 2 a los 50 días



Tomada por: Ger Tamar, 2014.

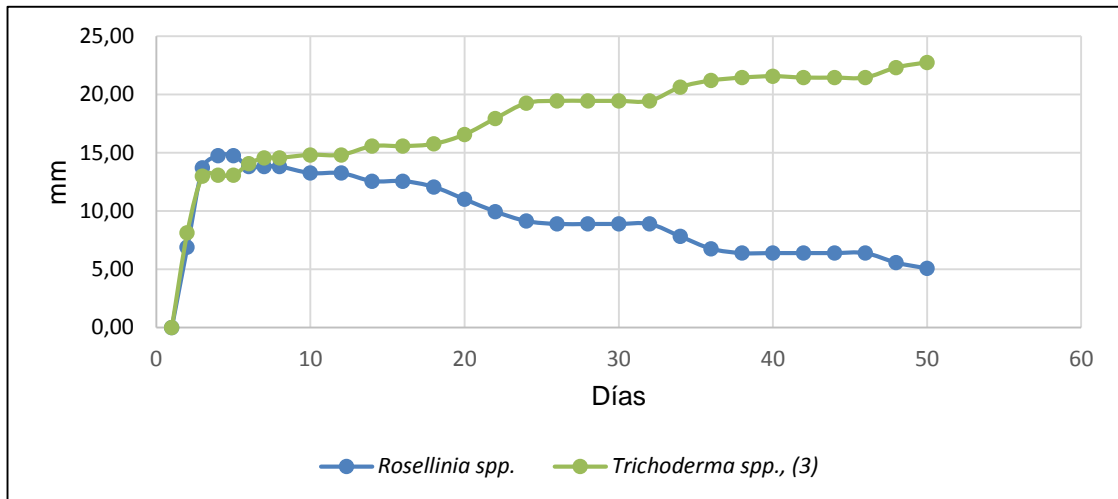
Fotografía 18: Tipo de antagonismo que presentó la Fuente 2 de *Trichoderma spp.*



Tomada por: Ger Tamar, 2014.

3.6.4.3. *Trichoderma spp.* , fuente 3

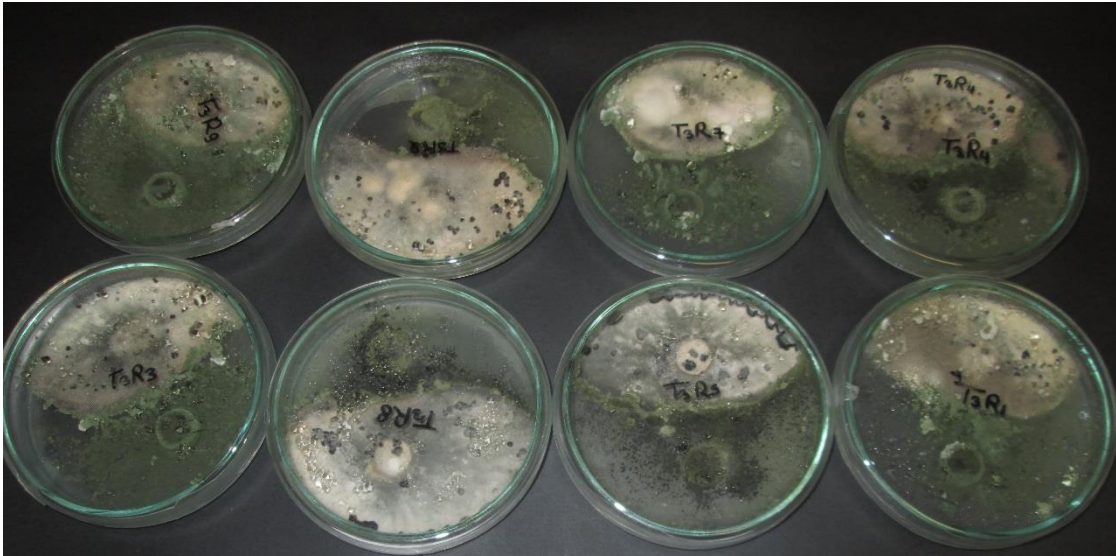
Gráfica 9: Resultados, del tipo de antagonismo de la distancia inferior de *Rosellinia spp.* , y distancia superior *Trichoderma spp.* , fuente (3) T3, a los 50 días después de su siembra.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014.

Trichoderma spp. , fuente 3, el mecanismo de biocontrol que se presentó exclusivamente es la competencia de nutrientes y espacio durante los primeros 4 días después de la siembra hasta los 50 días.

Fotografía 19: T3 *Rosellinia* spp. , vs *Trichoderma* spp. , fuente 3 a los 50 días



Tomada por: Ger Tamar, 2014

Fotografía 20: Tipo de antagonismo que presentó la Fuente 3 de *Trichoderma* spp.



Tomada por: Ger Tamar, 2014

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

4.1. CONCLUSIONES.

- 1) Con los postulados de Koch se comprobó que la pudrición blanca de los tubérculos analizados es causada por *Rosellinia spp.* , comprobando la patogenicidad del patógeno mediante los postulados de Koch en su hospedante papa (*Solanum Tuberosum* L.)
- 2) En los análisis de identificación efectuados tanto en los laboratorios de la UPEC y el INIAP se observó las estructuras y el comportamiento de *Rosellinia spp.*
- 3) La fuentes comerciales analizadas presentan esporas viables de *Trichoderma spp.*
- 4) El tratamiento 1, (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), controla Lanosa (*Rosellinia spp.*) ocupando el 100% de la unidad experimental a los 50 días después de su siembra, mediante micoparasitismo y competencia por espacio y nutrientes como mecanismo de biocontrol.
- 5) Bajo las condiciones de laboratorio se confirmó que el tratamiento T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), fue la fuente comercial que presentó mejores tasas de crecimiento, tal y como quedó demostrado en el espacio ocupado con 1,99 mm / día, cubrimiento total de la unidad experimental.
- 6) Los tratamientos; *Trichoderma spp.*, fuente 2 (T2) y *Trichoderma spp.*, fuente 3 (T3), presentaron competencia por espacio y nutrientes como mecanismo de biocontrol deteniendo el crecimiento del patógeno.
- 7) Los testigos químicos T6 (Tiabendazol), T7 (Benomil) y T8 (Tiofanato de metilo) fueron de acción rápida pero sus moléculas se degradaron en menos tiempo por lo que su efecto solo duro unos días, al contrario de los antagonistas su mecanismo de biocontrol fue lento pero prevaleció su acción.

4.2. RECOMENDACIONES.

- 1) Evaluar en campo el comportamiento de los productos comerciales a base de *Trichoderma spp.*, con respecto al biocontrol de lanosa (*Rosellinia spp.*) para conocer las frecuencia y dosis de aplicación.
- 2) En los productos químicos aplicar las dosis siguiendo las instrucciones de los intervalos de aplicación recomendados por el fabricante.
- 3) Para futuras investigaciones utilizar un mayor número de cepas de *Trichoderma* reconociendo las especies, para conocer de mejor manera el comportamiento de este antagonista frente al patógeno *Rosellinia spp.*
- 4) Realizar otras investigaciones con respeto al hongo *Trichoderma* versus otros hongos patógenos de importancia en nuestro sector agrícola como: *Lanchara* (*Phytophthora infestans*), Tizón Temprano (*Alternaria solani*), Roya (*Puccinia pittieriana*), Sarna negra (*Rhizoctonia solani*) para conocer las interacciones antagonistas de estos hongos como biocontroladores.

VII. ANEXOS.

Anexo 1: Recolección del material vegetal infestado.



Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 2: Tubérculos infectados por *Rosellinia* spp.



Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 3: Aislamiento del patógeno *Rosellinia* spp.



Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 4: Purificación de *Rosellinia* spp.



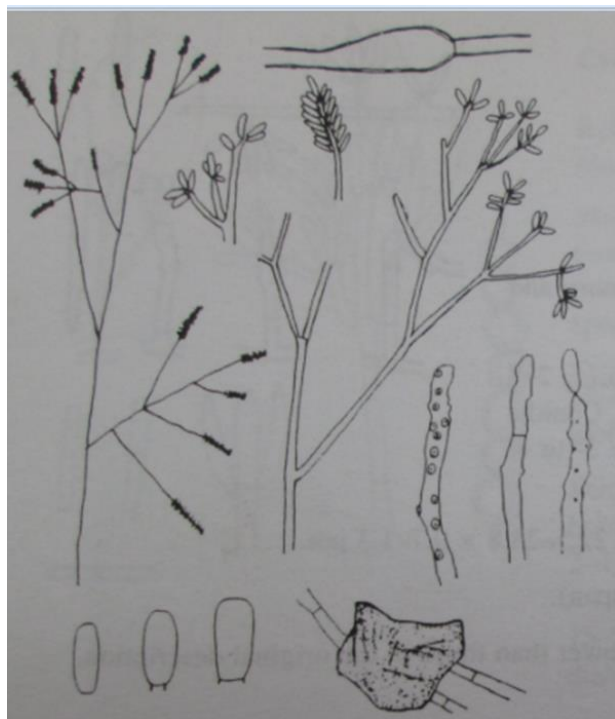
Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 5: Vista microscópica de *Rosellinia* spp.



Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 6: Claves de identificación de *Rosellinia* spp.



Dematophora Hartig

Unters , Forstbot . Inst . Minchen
3 , 95 , 1883

Especie tipo: *D necatrix* Hartig ,
el anamorfo de

Rosellinia necatrix (Harting) Berl.
Ex prill

Dematophora necatrix Hartig

Teleomorfo : *Rosellinia necatrix* (Harting) Berl. Prill Ex .

Referencias: Ellis 1971 : Francis
1985 ; Watanabe 1992b

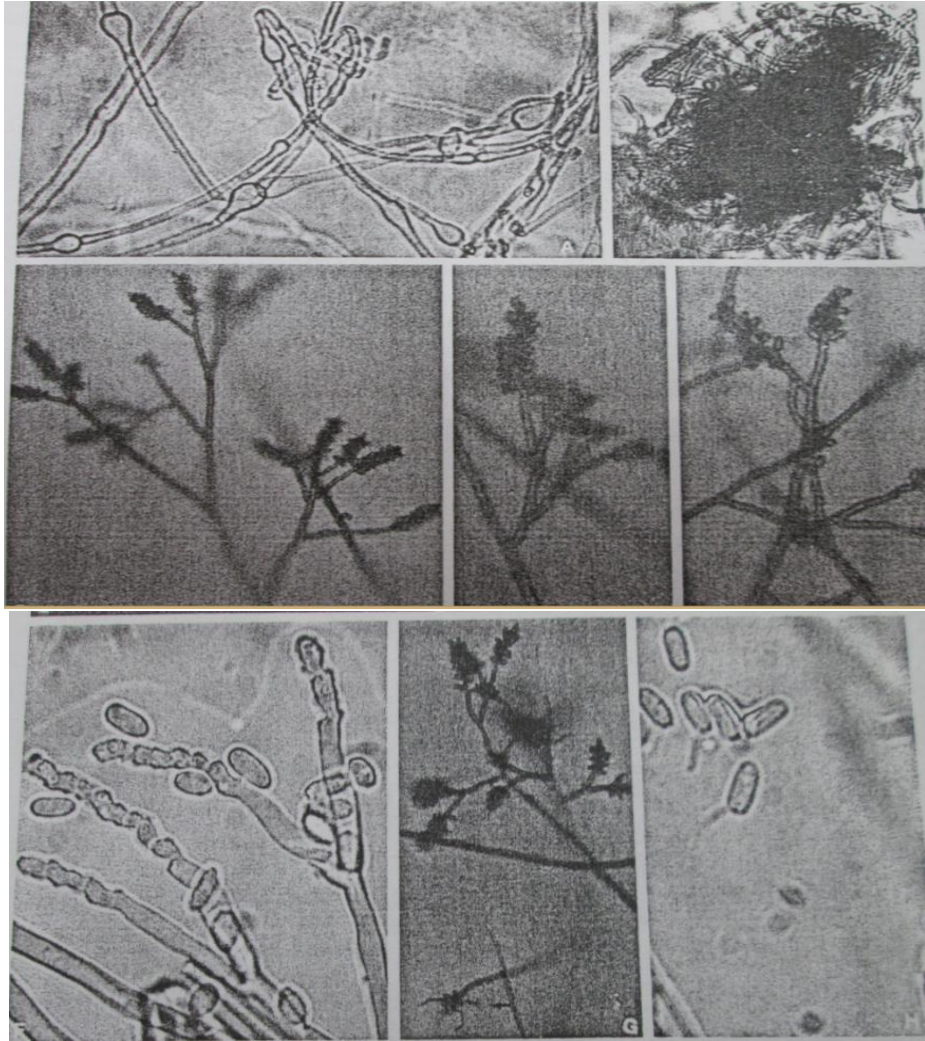
Morfología: Culturas blancas inicialmente, llegando a ser gradualmente Brown parcialmente con la edad. Las hifas con hinchazones en forma de pera en el tabique. Esporulados en las partes pigmentadas de las antiguas culturas . Conidióforos Brown , erguido, ramificado una o dos veces , teniendo conidios en 2 filas en las partes apicales fértiles .

Conidia sympodulosporous , hialina, largo elíptica. 1 cancelará, fácilmente separada de conidióforos .

Dimensiones: conidióforos ca , 500 um alto, porciones fértiles 30 - 65x7 - 8 um Conidia 3,5-5,5 x 1,6 - 2,3 um . Sclerotia ca . 50 um de diámetro. Células de hifas en forma de pera 7,5 a 10 um de ancho.

Material: 84-373 (= IFO 32537) 84-374 (root Populus Sakaide, Ehime , Japón.) .


Observaciones: La esporulación puede ser debido a la variación. No hay synnemata que se producen en la naturaleza se observaron en cultivos. Esta es la podredumbre blanca radicular patógena de varias plantas. (Watanabe, 1937)



Dematophora necatrix. A: Hyphae with pear-shaped cells. B: Sclerotia. C-E: Conidiophores and conidia. F: Fertile portions of conidiophores, G: Germinated conidia (arrow) on conidiophores H: Germinated conidia.

Tomada por: Ger Tamar, 2013
 Fuente: Watanabe (1937)

Anexo 7: Análisis de identificación de *Rosellinia* spp. , en los tubérculos de la papa INIAP



INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
 ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA
 DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN VEGETAL

DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS.

| DATOS DE INGRESO | | | | |
|---------------------|-------------------|--|-------------------------|------------|
| No. de diagnóstico: | Tipo de análisis: | Fecha | No. Comprobante de pago | No. RUC |
| 106 | Micológico | 8-11-2013 Recepción de muestra: 22-10-2013 | 0002040 | 0401740436 |

| DATOS DEL REMITENTE | | |
|---|---------------------------|-------------------------------------|
| Nombre del remitente: Rosa Tamara Ger Iñiguez | | |
| Empresa: Universidad Politécnica Estatal del Carchi | | |
| Ubicación: Provincia del Carchi-Parroquia santa Martha de Cuba-Chumban Alto | | |
| Dirección: Tulcán. Parroquia Los Tejeríos | Teléfono: 2224023 Cel: | Fax: Email:tamarager89@yahoo.com |

| CARACTERISTICAS DEL CULTIVO | | |
|-----------------------------|----------------------|------------------------|
| Cultivo : Papa | Variedad: Superchola | Edad : 3 meses |
| Estado de desarrollo : | Producción | Cultivo anterior: papa |
| Sistema de cultivo : | Monocultivo | |
| Manejo del cultivo | Regular | |

| DESCRIPCION DE LA ENFERMEDAD | |
|----------------------------------|---|
| Partes de la planta afectadas : | Planta y tubérculos |
| Intensidad del ataque : | Medianamente severo |
| Distribución de la enfermedad : | Al azar |
| Posible causa de la enfermedad : | Hongos |
| Síntomas o tipo de daño : | <div style="display: flex; align-items: flex-start;">  <div> <p>Las plantas en campo presentan clorosis y marchitez. Los tubérculos se observaron con recubrimiento de un micelio blanquecino, al hacer un corte a los tubérculos se presentan proyecciones estriadas que se inician en la superficie y penetran hacia la parte central.</p> </div> </div> |

Panamericana Sur Km. 1, Vía a Tambillo, Sector Cubahagua
 Telf.: (083) 27 2460883
 Correo electrónico: rosellinia@rosellinia.com.ec
rosellinia.com.ec
 Apartado Postal : 17-01-340
 Quito, Ecuador

Tomada por: Ger Tamar, 2013

RESULTADOS (106)

| Cultivo | Medio cultivo | Tipo de análisis | Muestra analizada | Organismo a identificar | Frecuencia (%)** |
|---------|---------------|------------------|-------------------|----------------------------|------------------|
| Papa | PDA-EMA* | Hongos | Tubérculos | <i>Rosellinia necatrix</i> | 100 |

*Medios de cultivo para hongos: PDA = Papa dextrosa agar; EMA = Extracto de malt agar.
 ** Porcentaje de aislamientos en medio de cultivo de cada organismo recuperado

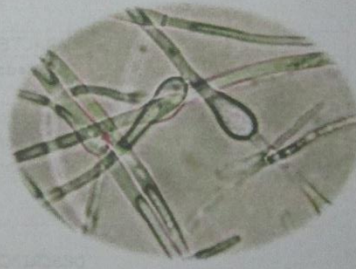
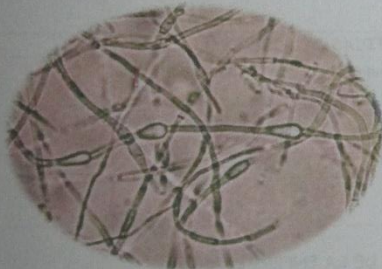
Observaciones:



Parte frontal de la colonia de *R. necatrix* en PDA



Reverso de la colonia de *Rosellinia necatrix*

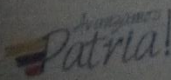


Hinchamientos característicos de la hifas maduras de *Rosellinia necatrix*

PROTECCIÓN VEGETAL
 EST. EXP. SANTA CATALINA
 INIAP

ING. PATRICIO GALLEGOS.
 RESP. DPTO. PROTECCIÓN VEGETAL (E)

DRA. MARÍA LUISA INSUASTI A.
 RESP. ÁREA CLÍNICA Y DIAGNOSIS



Panamericana Sur Km. 1, Vía a Tambillo, Sector Cubaplagua
 Telf.: (084 2) 269083
 Correo electrónico: maria.insuasti@iniap.gob.ec
 insuastia@yahoo.es
 Apartado Postal: 17-01-340
 www.iniap.gob.ec
 Quito, Ecuador

Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 8: Inoculación de el patógeno al hospedante



Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 9: Presencia de los síntomas de *Rosellinia* spp.



Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 10. Fuentes de Trichoderma utilizados



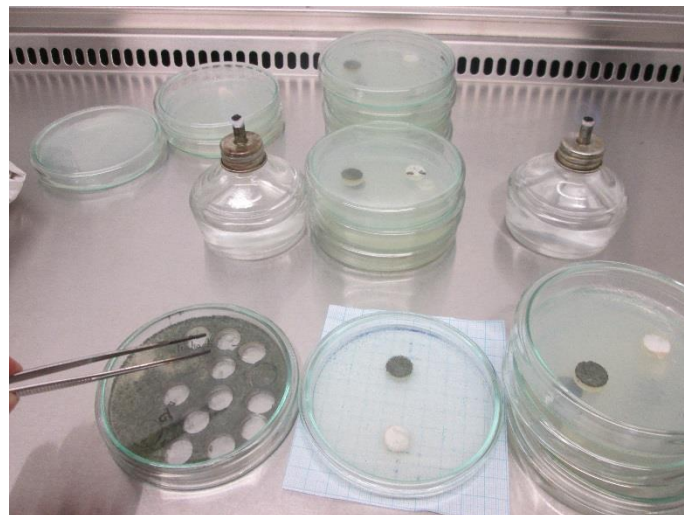
Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 11: Purificación del antagonista *Trichoderma*.



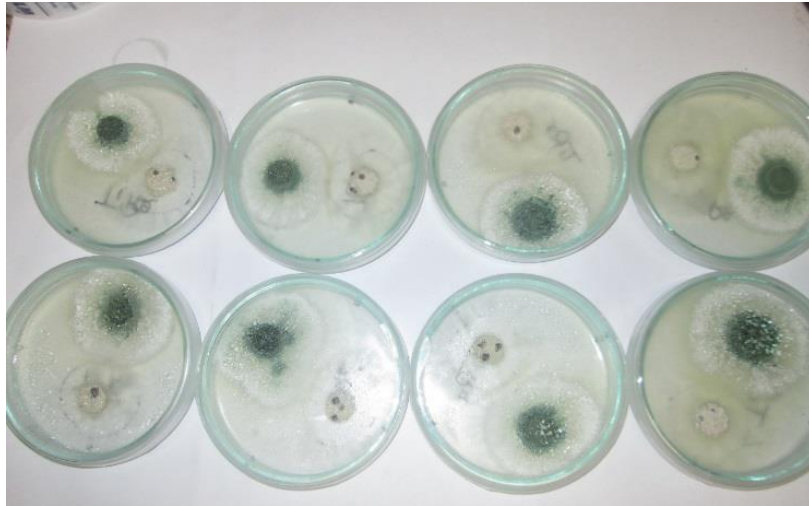
Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 12: Proceso de siembra de la prueba del antagonismo



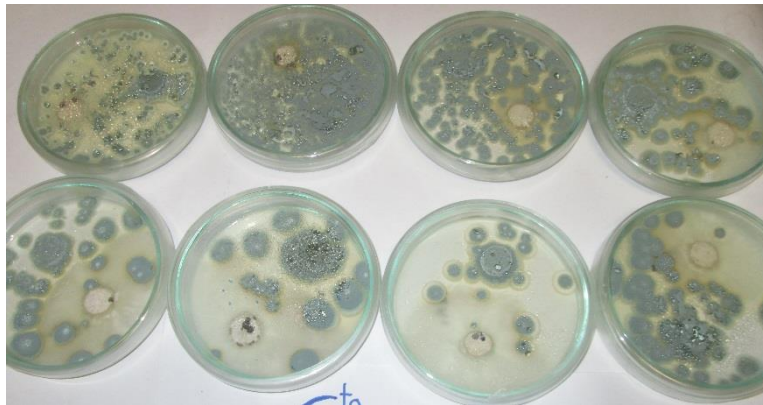
Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 13 : T1 *Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.* , fuente 1 a 5 días de su siembra



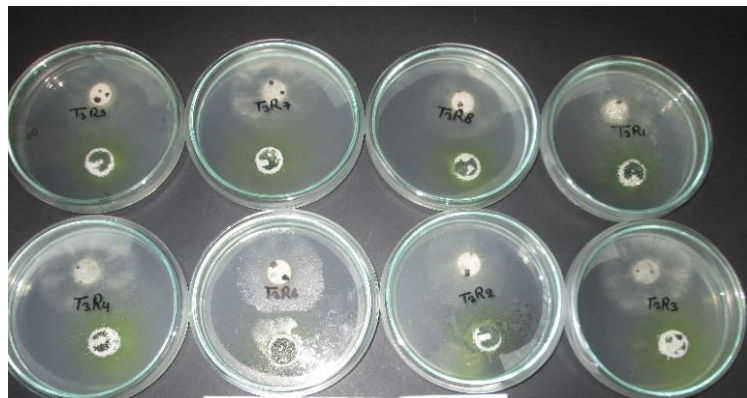
Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 14: T2 *Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.* , fuente 2 a 6 días de su siembra



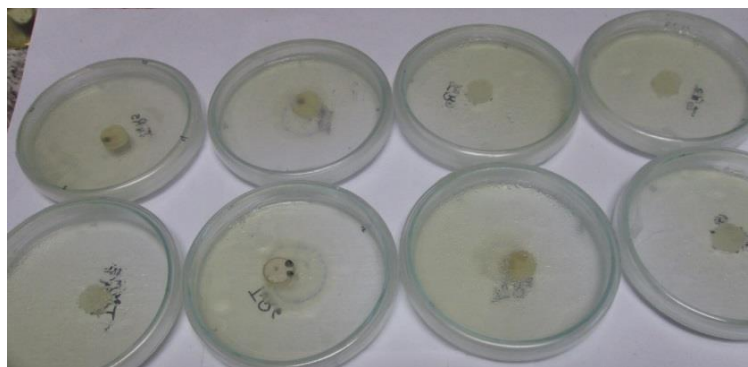
Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 15: T3 Antagonismo *Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.* , fuente 3 a 3 días de su siembra



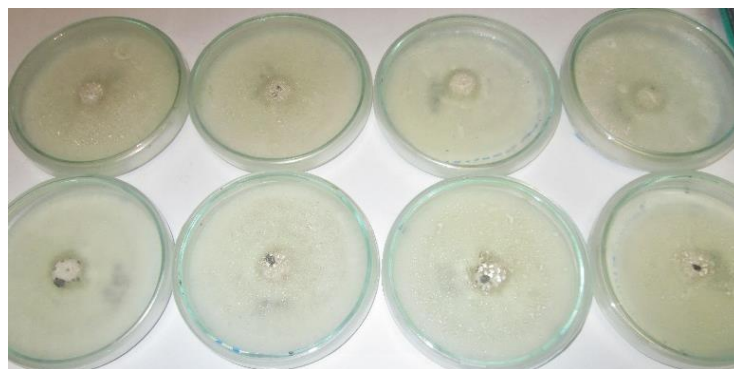
Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 16 : T4 Testigo *Rosellinia spp.*, vs Metabolitos de microorganismos , 6 días de su siembra



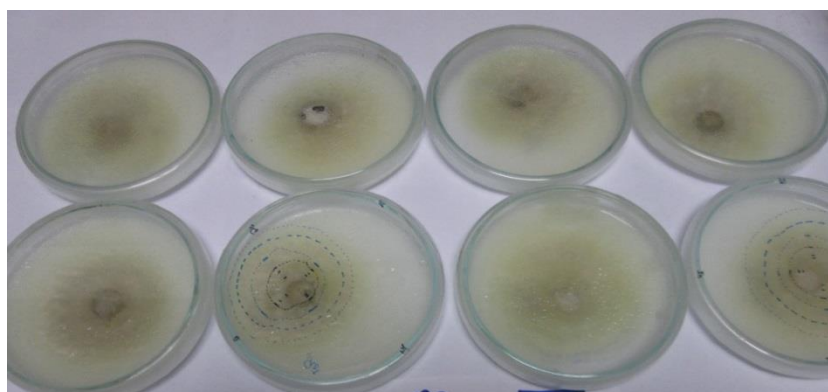
Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 17: T5 Testigo *Rosellinia spp.*, 6 días de su siembra



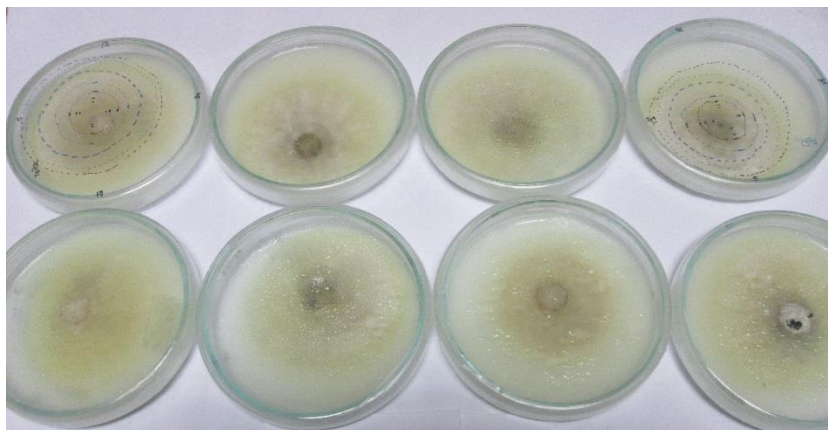
Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 18: T6 Testigo *Rosellinia spp.*, vs Tiabendazol, 6 días de su siembra



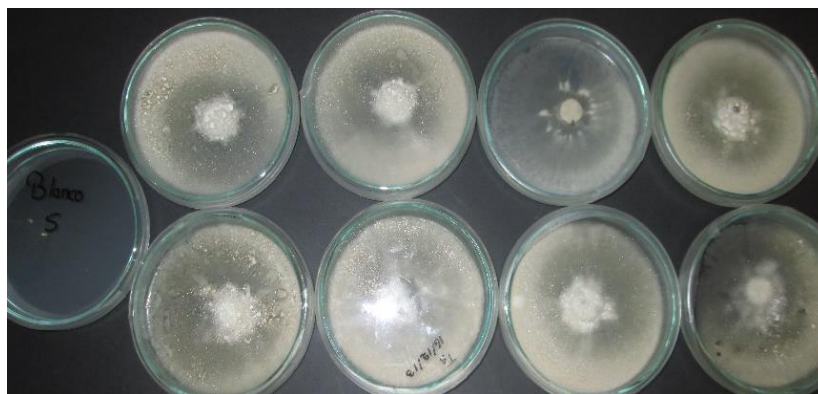
Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 19: T6 Testigo *Rosellinia spp.*, vs Benomil, 6 días de su siembra



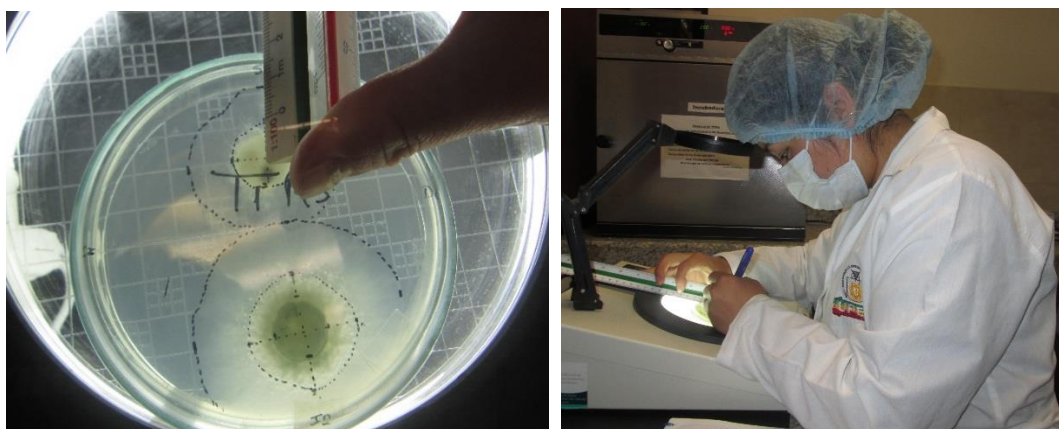
Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 20: T6 Testigo *Rosellinia spp.*, vs Tiofanato de metil; a 10 días de su siembra



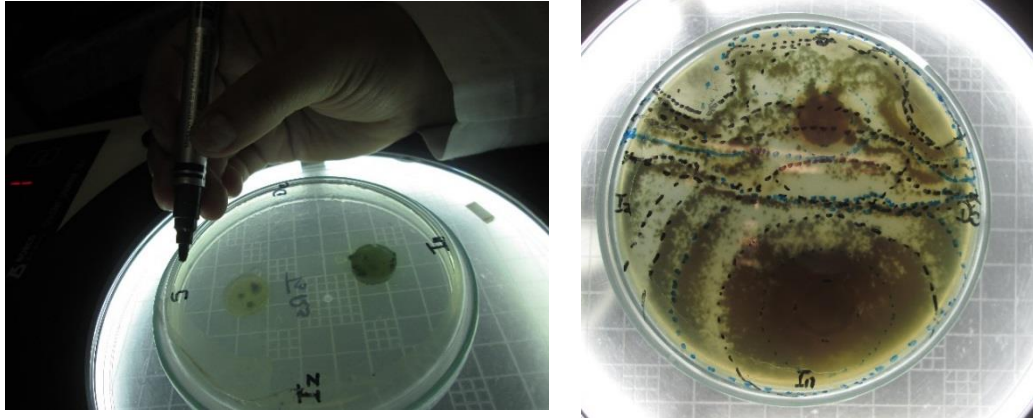
Tomada por: Ger Tamar, 2013

Anexo 21: Registro de datos de la prueba de antagonismo, *Rosellinia spp.*, versus *Trichoderma spp.*



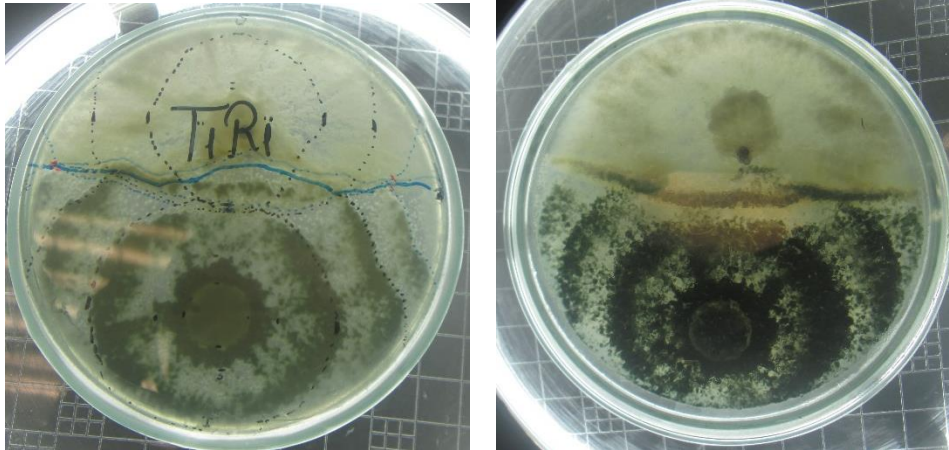
Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Anexo 22: Registros del *Trichoderma* spp., fuente 1, vs *Rosellinia* spp., día 1 y día 50



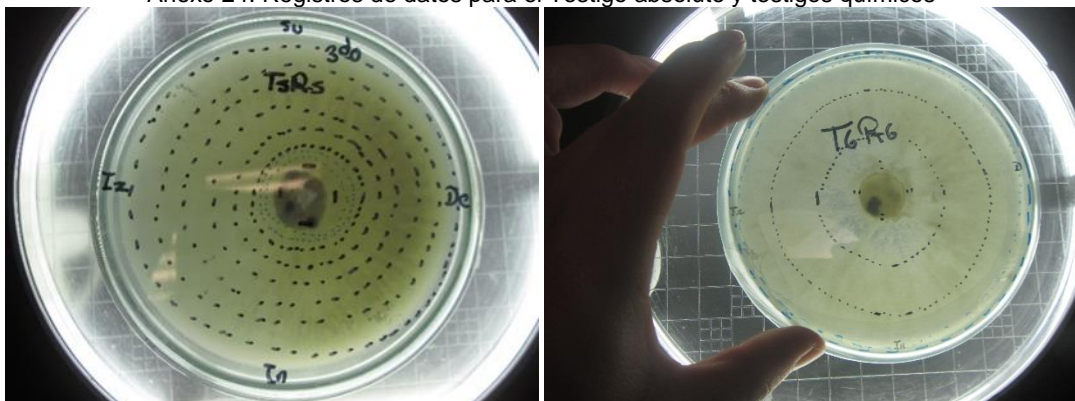
Tomada por: Ger Tamar, 2014

Anexo 23: Antagonismo de *Rosellinia* spp. , vs *Trichoderma* spp. , fuente 1, a los 16 días



Tomada por: Ger Tamar, 2014

Anexo 24: Registros de datos para el Testigo absoluto y testigos químicos



Tomada por: Ger Tamar, 2014.

Anexo 25: Presupuesto de la investigación.

| PRESUPUESTO | | | | |
|---|-----------------|---------------|------------------------|----------------|
| Detalle | Cantidad | Unidad | Precio unitario | Total |
| Laboratorio de microbiología y fitopatología | | | | |
| Materiales de Laboratorio | | | | |
| Conidias de <i>Trichoderma spp.</i> | 100 | gr | 35,00 | 35,00 |
| Esporas de <i>Trichoderma spp.</i> | 100 | gr | 15,00 | 12,00 |
| <i>Trichoderma spp.</i> , concentración 1x10 ¹¹ Esporas/Lt | 1 | L | 20,00 | 20,00 |
| Metabolitos de microorganismos | 500 | cc | 20,00 | 20,00 |
| Benomil | 100 | gr | 2,50 | 2,50 |
| Tiabendazol | 150 | cc | 8,85 | 8,85 |
| Tiofanato Metil | 250 | cc | 4,50 | 4,50 |
| Medio de cultivo PDA | 500 | gr | 70,00 | 70,00 |
| Alcohol potable | 1 | gal | 8,95 | 8,95 |
| Alcohol antiséptico | 2 | gal | 8,90 | 17,80 |
| Penicilina | 20 | unidades | 0,40 | 8,00 |
| Macetas plásticas | 30 | unidades | 1,00 | 30,00 |
| Papel aluminio | 5 | rollo | 5,00 | 25,00 |
| Algodón | 5 | rollo | 1,60 | 8,00 |
| Gasa | 30 | unidades | 0,10 | 3,00 |
| Parafilm | 2 | rollo | 135,00 | 270,00 |
| Guantes | 20 | pares | 0,50 | 10,00 |
| Mascarilla | 30 | unidad | 0,20 | 6,00 |
| Jeringuilla | 20 | unidades | 0,35 | 7,00 |
| Cofia | 20 | unidades | 0,20 | 4,00 |
| Marcadores | 5 | unidades | 0,8 | 4,00 |
| Cinta de embalaje | 1 | unidad | 1,25 | 1,25 |
| Cartulinas | 4 | unidades | 0,35 | 1,40 |
| Servicios | | | | |
| Internet | 5 | meses | 15,00 | 75,00 |
| Impresiones | 4 | | 18,00 | 72,00 |
| Empastados | 4 | | 15,00 | 60,00 |
| Papelería | 2 | resmas | 5,00 | 10,00 |
| Transporte | | | | 150,00 |
| Viáticos | | | | 70,00 |
| Cámara | 1 | unidad | 320,00 | 320,00 |
| SUB COSTO TOTAL | | | | 1334,25 |
| Imprevistos 10% | | | | 133,425 |
| COTOS TOTAL | | | | 1467,68 |

Elaborado por: Ger Tamar, 2014.

Anexo 26: Registro de los datos de crecimiento (*Rosellinia spp.*, distancia inferior) durante los 50 días después de su siembra.

| TRAT | REPT | D1 | D2 | D3 | D4 | D5 | D6 | D7 | D8 | D10 | D12 | D14 | D16 | D18 | D20 | D22 | D24 | D26 | D28 | D30 | D32 | D34 | D36 | D38 | D40 | D42 | D44 | D46 | D48 | D50 | |
|------|------|-----|-----|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| T1 | R1 | 0 | 3 | 8,5 | 12,5 | 11,5 | 9 | 9 | 6 | 3 | 2 | 7 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| T1 | R2 | 0 | 4,5 | 13 | 14 | 13 | 13 | 13 | 12 | 7,5 | 5 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| T1 | R3 | 0 | 5 | 15 | 15,5 | 13 | 10 | 10 | 8 | 3 | 0 | 8 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| T1 | R4 | 0 | 2,5 | 9 | 14 | 13,5 | 14 | 14 | 13 | 4 | 3 | 10 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| T1 | R5 | 0 | 4 | 7,5 | 12,5 | 10 | 10 | 10 | 9 | 8 | 6 | 5 | 5 | 5 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| T1 | R6 | 0 | 3 | 12 | 12 | 11 | 12 | 12 | 7 | 2 | 0 | 10 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| T1 | R7 | 0 | 6 | 12 | 12 | 11 | 5 | 5 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| T1 | R8 | 0 | 6 | 14 | 16 | 12 | 10 | 6 | 3 | 1 | 1 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| T2 | R1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| T2 | R2 | 0 | 3,5 | 5,5 | 6 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 4 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| T2 | R3 | 0 | 6,5 | 15 | 20 | 30,5 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 17 | 17 | 18 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| T2 | R4 | 0 | 9,5 | 17 | 17 | 17,5 | 16 | 16 | 17 | 15 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 15 | 15 | 15 |
| T2 | R5 | 0 | 2,5 | 3,5 | 3 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| T2 | R6 | 0 | 6 | 15 | 18 | 16,5 | 16 | 16 | 17 | 10 | 17 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| T2 | R7 | 0 | 2,5 | 13,5 | 13,5 | 14 | 5,5 | 5,5 | 0 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| T2 | R8 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| T3 | R1 | 0 | 6 | 11 | 11,5 | 11,5 | 12 | 12 | 12 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9,5 | 8 | 6 | 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 0,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| T3 | R2 | 0 | 7 | 15 | 17 | 17 | 14 | 17 | 17 | 17 | 17 | 16 | 16 | 16 | 15 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 12 | 10 |
| T3 | R3 | 0 | 8,5 | 13 | 16 | 16 | 14 | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 | 12 | 9 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 5 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| T3 | R4 | 0 | 6,5 | 14 | 14 | 14 | 12 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9,5 | 9,5 | 9 | 8 | 8 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 6 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| T3 | R5 | 0 | 6,5 | 13,5 | 13,5 | 13,5 | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 | 11 | 11 | 9 | 7 | 5,5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
| T3 | R6 | 0 | 7 | 14 | 15 | 15 | 17 | 17 | 17 | 15 | 15 | 14 | 14 | 14 | 13 | 13 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| T3 | R7 | 0 | 7 | 15 | 15 | 15 | 13 | 13 | 13 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 10 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| T3 | R8 | 0 | 6,5 | 14 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 15 | 15 | 14 | 13 | 13 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| T4 | R1 | 0 | 2 | 2 | 3 | 6,5 | 15 | 19 | 20 | 20 | 26 | 30 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 |
| T4 | R2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| T4 | R3 | 0 | 0 | 0 | 1,5 | 11 | 17 | 19 | 19 | 19 | 37 | 45 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 |
| T4 | R4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| T4 | R5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,5 | 2,5 | 2,5 | 4,5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 10 | 28 | 42 | 42 | 46 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 45 | 45 | 45 | 45 |
| T4 | R6 | 0 | 0 | 1 | 7 | 15 | 18 | 19 | 19 | 20 | 31 | 37 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 |
| T4 | R7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| T4 | R8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| T5 | R1 | 1 | 11 | 27 | 35,5 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 |
| T5 | R2 | 1,5 | 8 | 23 | 32,5 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 |
| T5 | R3 | 1,5 | 7,5 | 21,5 | 31,5 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 |
| T5 | R4 | 2 | 8,5 | 24 | 34,5 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| T5 | R5 | 1 | 6 | 28 | 39 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 |
| T5 | R6 | 2 | 15 | 29 | 38,5 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 |
| T5 | R7 | 1 | 7 | 20,5 | 33 | 40 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 |
| T5 | R8 | 1 | 10 | 23 | 32,5 | 37,5 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 |
| T6 | R1 | 0 | 1,5 | 4 | 9 | 13 | 17 | 21 | 24 | 33 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| T6 | R2 | 0 | 3 | 6 | 9 | 13 | 18 | 21 | 26 | 39 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 | 43 |
| T6 | R3 | 0 | 2 | 5 | 10 | 13 | 17 | 21 | 25 | 30 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 |
| T6 | R4 | 0 | 3 | 6 | 10 | 12 | 17 | 22 | 27 | 35 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 |
| T6 | R5 | 0 | 2 | 3 | 4 | 7 | 11 | 14 | 18 | 31 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 | 39 |
| T6 | R6 | 0 | 3 | 6 | 11 | 14 | 18 | 22 | 25 | 33 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 |
| T6 | R7 | 0 | 2 | 6 | 9 | 11 | 16 | 21 | 27 | 41 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 | 44 |
| T6 | R8 | 0 | 3 | 5 | 8 | 12 | 16 | 20 | 25 | 37 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 |
| T7 | R1 | 0 | 2 | 10 | 20 | 26 | 31 | 35 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 |
| T7 | R2 | 0 | 0 | 6 | 16,5 | 22,5 | 27 | 33 | 36 | 38 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 |
| T7 | R3 | 0 | 0 | 4 | 13,5 | 19 | 24 | 30 | 34 | 31 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 |
| T7 | R4 | 0 | 2,5 | 7,5 | 18,5 | 24 | 31 | 39 | 41 | 38 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 | 41 |
| T7 | R5 | 0 | 0 | 8 | 19,5 | 25 | 31 | 38 | 41 | 41 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 |
| T7 | R6 | 0 | 0 | 5 | 15 | 20 | 27 | 34 | 36 | 37 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 | 38 |
| T7 | R7 | 0 | 0 | 5 | 15,5 | 16 | 18 | 17 | 19 | 20 | 22 | 25 | 30 | 37 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| T7 | R8 | 0 | 0 | 6 | 15,5 | 23 | 27 | 36 | 42 | 42 | 42 | 42 | 42 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Anexo 27 Registro de los datos de crecimiento (*Trichoderma spp.*, distancia superior) durante los 50 días después de su siembra.

| TRAT | REPT | D1 | D2 | D3 | D4 | D5 | D6 | D7 | D8 | D10 | D12 | D14 | D16 | D18 | D20 | D22 | D24 | D26 | D28 | D30 | D32 | D34 | D36 | D38 | D40 | D42 | D44 | D46 | D48 | D50 |
|------|------|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| T1 | R1 | 0 | 8 | 17 | 20 | 21 | 24 | 24 | 27 | 30 | 31 | 44 | 53 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| T1 | R2 | 0 | 6 | 13 | 15 | 17 | 16 | 17 | 17 | 22 | 24 | 28 | 32 | 34 | 55 | 56 | 56 | 56 | 57 | 57 | 57 | 58 | 58 | 58 | 58 | 58 | 58 | 58 | 58 | 58 |
| T1 | R3 | 0 | 9 | 17 | 19 | 21 | 25 | 25 | 27 | 32 | 34 | 37 | 41 | 54 | 61 | 61 | 61 | 62 | 62 | 62 | 62 | 62 | 62 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 |
| T1 | R4 | 0 | 7 | 11 | 18 | 19 | 19 | 19 | 20 | 29 | 30 | 37 | 42 | 42 | 59 | 59 | 59 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 |
| T1 | R5 | 0 | 9 | 18 | 18 | 21 | 21 | 21 | 22 | 23 | 25 | 26 | 26 | 26 | 30 | 33 | 39 | 44 | 44 | 48 | 48 | 48 | 48 | 48 | 48 | 49 | 50 | 54 | 54 | 54 |
| T1 | R6 | 0 | 9 | 17 | 19 | 21 | 21 | 21 | 21 | 17 | 30 | 36 | 40 | 48 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| T1 | R7 | 0 | 8 | 15 | 16 | 16 | 22 | 22 | 23 | 27 | 38 | 50 | 56 | 58 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| T1 | R8 | 0 | 7 | 19 | 20 | 24 | 26 | 30 | 32 | 34 | 35 | 41 | 42 | 42 | 54 | 54 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| T2 | R1 | 0 | 2 | 6 | 12 | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 | 29 | 24 | 28 | 29 | 29 | 29 | 31 | 31 | 35 | 35 | 35 | 35 | 41 | 45 | 62 | 62 | 62 | 62 | 62 | 62 |
| T2 | R2 | 0 | 0 | 9 | 15 | 22 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 28 | 28 | 28 |
| T2 | R3 | 0 | 2 | 5 | 17 | 14 | 14 | 14 | 13 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 |
| T2 | R4 | 0 | 2 | 9 | 9 | 9 | 11 | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| T2 | R5 | 0 | 3 | 5 | 5 | 13 | 65 | 7 | 15 | 29 | 33 | 33 | 33 | 33 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 |
| T2 | R6 | 0 | 4 | 8 | 14 | 11 | 11 | 11 | 7 | 7 | 11 | 11 | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| T2 | R7 | 0 | 2 | 15 | 18 | 18 | 22 | 22 | 24 | 26 | 26 | 27 | 27 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 |
| T2 | R8 | 0 | 2 | 4 | 8 | 21 | 22 | 22 | 22 | 24 | 33 | 33 | 33 | 32 | 37 | 37 | 38 | 39 | 39 | 39 | 40 | 40 | 40 | 47 | 56 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| T3 | R1 | 0 | 10 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 18 | 20 | 22 | 23 | 23 | 23 | 23 | 26 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 32 | 33 |
| T3 | R2 | 0 | 4 | 9 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 16 | 18 |
| T3 | R3 | 0 | 16 | 13 | 13 | 13 | 15 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 18 | 20 | 23 | 23 | 23 | 23 | 23 | 25 | 26 | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 | 29 | 29 |
| T3 | R4 | 0 | 7 | 13 | 13 | 13 | 15 | 18 | 18 | 18 | 18 | 19 | 19 | 19 | 19 | 20 | 21 | 21 | 21 | 21 | 21 | 23 | 24 | 24 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| T3 | R5 | 0 | 9 | 19 | 14 | 14 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 18 | 18 | 19 | 20 | 23 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| T3 | R6 | 0 | 5 | 12 | 14 | 14 | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 | 15 | 15 | 15 | 16 | 16 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 16 | 16 | 16 | 16 |
| T3 | R7 | 0 | 10 | 14 | 14 | 14 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 20 | 21 | 21 | 21 | 21 | 21 | 21 | 21 | 21 |
| T3 | R8 | 0 | 5 | 10 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |

Elaborado por: Ger Tamar, 2013-2014

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. (1995). *Fitopatología*. México: Segunda edición. Limusa.
- Agronomía, L. U. (Octubre de 2009). *Trichoderma en el Control Biológico de Enfermedades de Plantas Capacidad antagonista de Trichoderma*. Recuperado el 02 de Marzo de 2013, de Ecología en la Red: <http://www.oocities.org/ecologialuz/trichoderma6.htm>
- Ahmad, J., & Baker, R. (1987). Rhizosphere Competence of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathol.*
- Albert, L. (1998). *Los plaguicidas persistentes y sus efectos a largo plazo*. Mexico: II Simposio Internacional Sobre.
- Ayala, L. (1987). Resistencia varietal, rango de hospedante e identificación del agente causal de la Lanosa de la papa. En L. Ayala, *Resistencia varietal, rango de hospedante e identificación del agente causal de la Lanosa de la papa* (pág. 89). Quito: Tesis Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- ALVAREZ, M. 1989. Resistencia a los fungicidas, fundamentos y aspectos prácticos. En: Latorre B. 1989. Fungicidas y nematicidas, avances y aplicabilidad. Facultad de Agronomía. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. pp 125 - 130.
- B.R., E. (2000). *LA PAPA Producción, Transformación y Comercialización* . Lima : PRISMA .
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. (2004). Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*.
- Besoain, X. (1989). Benzimidazoles. En X. Besoain, *Fungicidas y nematicidas, avances y aplicabilidad* (págs. 17-25). Santiago, Chile: Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Bolaños, A. (1998). *INTRODUCCIÓN A LA OLERICULTURA*. Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia San José, Costa Rica.

- Booth, C., & Holliday, P. (1972). *Rosellinia pepo*. En C. Booth, & P. Holliday, *Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria* (págs. N° 354, 2 p.). England: Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey.
- Camargo, H. (2005). *Evaluación en campo de la incidencia de Rhizoctonia solani en arroz (Oriza sativa), luego de la inoculación en semillas de un fromulado comercial a base de antagonista Trichoderma harzianum*.
- Carrillo, R. (1992). Características de los principales grupos de fungicidas. En *Curso de uso manejo de plaguicidas* (págs. 122-163). Valdivia ,Chile: Universidad Austral de Chile.
- CASTAÑO, J. C. (2008). *EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTAGONISTA "in vivo" DE AISLAMIENTO DE Trichoderma spp FRENTE AL HONGO FITOPATOGENO Rhizoctonia solani*. Bogota: PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA FACULTAD DE CIENCIAS.
- CENSA. (2009). *MECANISMOS DE ACCIÓN DE Trichoderma FRENTE A HONGOS*. La Habana: Rev. Protección Veg. Vol. 24 No.
- Chet, I. (1987). *Trichoderma-application mode of action and potencial as biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi*. New York: En I .chet, ed. *Inovative approaches to plant disease control*.
- Chet, I. I., & Hadar, I. (1997). 1997. En S. B. *Fungal antagonists and mycoparasites* . In: Wicklow DT. *Sprienger-Verlag, Berlin: Enviromental and microbial relatnship* .
- Chet, I., & R, B. (1981). En *Insolation and biocontrol potential of Trichoderma hamatum from soil naturally suppressive to Rhizoctonia solani: Phytopathology* (págs. 71:286-290).
- CIP. (1996). *Principales Enfermedades, Nematodos e Onsectos de la Papa*. Lima: CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA (CIP).
- CIP. (1998). *Pudrición Negra por Rosellinia*. Perú: Universidad Nacional Hermilio.

- Cook, R. J., & Baker, R. (1983). *The nature na practice of biological control of plant pathogens*. St. Paul, Minnesota: American Phytopathological Society .
- CORPOICA . (2000). *Semilla de papa de buena calidad* . Bogota : PRODUMEDIOS .
- CORPOICA . (2003). *Manual de Papa para Productores* . Colombia : La Bastilla Ltda.
- Danay Infante, B. M. (2009). MECANISMOS DE ACCIÓN DE Trichoderma FRENTE A HONGOS. *Dpto. Fitopatología, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA)*, 14.
- Dargan, Thind, & Rodriguez. (1979-1989). *The genus Rosellinia in the northwest Himalayas; Mycologia 71:1010-1923*. India: Xylariaceae of India VII.
- Duarte, & González. (2000). *APROXIMACIÓN A UN MANEJO INTEGRADO DE Rosellinia sp. EN PAPA (Solanum tuberosum L.)*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Elad, Y., & Chet, I. (1982). Degradation of plant pathogenic fungus by Trichoderma harzianum. En *Canadian Journal of microbiology* (págs. 28:719-725).
- Ellis, M. B., & Elis, J. P. (1985). Microfungi on land plants. En M. B. Ellis, & J. P. Elis, *Microfungi on land plants* (pág. 231 pp.). New York: Macmillan P.C.
- ESPAC. (2010). *Boletín Agropecuario Mensual*. Ecuador: Ecuador en Cifras, MAGAP.
- Espinosa, M. (2006). *SELECCIÓN PARTICIPATIVA DE CLONES PROMISORIOS DE PAPA (Solanum sp.) CON RESISTENCIA A TIZÓN TARDIO (Phytophthora infestans) PROVENIENTES DE VARIAS FUENTES DOS LOCALIDADES 2006*. Quito: INIAP Estacion Santa Catalina.
- FAO. (2006). *Tesoro enterrado: la papa*.
- FAO. (2007). *“Tesoro enterrado: La papa.”*.

- FAZ-UJED. (2003). *AGRICULTURA ORGÁNICA*. Mexico: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, COCyTED.
- FIA. (2008). Biocontrol de enfermedades fungosas con Trichodermas. En F. p. Agraria. Chile: Ministerio de Agricultura. Obtenido de http://bibliotecadigital.innovacionagraria.cl/.../62_Libro_Trichoderma.pdf
- FITOPATOLOGIA 1 JAM. (24 de Marzo de 2012). HONGO ROSELLINIA. ESCUINTLA.
- FODA. (24 de 11 de 2013). *Producción de papas*. Obtenido de <http://jdsproducciondepapas.blogspot.com/>
- French, E. R., & Hobert, T. T. (1982). Métodos de investigación fitopatológica. En E. R. French, & T. T. Hobert, *Métodos de investigación fitopatológica*. (pág. 290). San José - Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).
- FUNDAGRO. (1991). *Aspectos Tecnológicos del Cultivo de Papa*. Quito-Ecuador: Fundación para el Desarrollo Agropecuario.
- González, i. (1989). *Introducción a la Fitopatología*. San José de Costa Rica: UCA.
- Guerrero, O. (1984). Enfermedades de la papa y su influencia en la producción de semilla. En curso de producción y almacenamiento de semilla de papa. En O. Guerrero, *Enfermedades de la papa y su influencia en la producción de semilla* (págs. 31-47). Ipiales: ICA.
- GUZMÁN, R. C. (2010). *INTERACCIÓN DE CUATRO FOSFONATOS MÁS Trichoderma harzianum PARA EL CONTROL DE LANCHA DE PAPA (Phytophthora infestans), A NIVEL DE LABORATORIO*. RIOBAMBA-ECUADOR: ESCUELA POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.
- Halsouet, P., & Miñambres, M. (2005). *La Patata ; Manual para su cultivo en agricultura ecológica*. Francia: Monográficos Ekonekazaritza.
- Harman, G. E., Howell, C. R., & Vierbo, A. (2004). Trichoderma species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews.

- Hawkes, J. (1990). The potato: Evolution, biodiversity and genetic resources. En J. Hawkes, *The potato: Evolution, biodiversity and genetic resources* (pág. 259). Londres: Belhaven Press.
- HERRERA, I. E. (2012). *HONGO ROSELLINIA*. UNIVERSIDAD RAFAEL LANDIVAR, SEDE ESCUINTLA.
- Horton, D. (1992). *La Papa Producción, Comercialización y Programas*. Montevideo : Centro Internacional de la Papa.
- Howell, C. (1998). The role of antibiosis in biocontrol In: Harman GE, Kubicek CP. *Trichoderma y Gliocladium*, vol 2 Taylor & Francis. Padstow.
- Howell, C. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: and evolution of current concepts. *Plant Dis*.
- Huertas, G. (1990). Sanidad Vegetal. En G. Huertas, *Sanidad Vegetal* (págs. 33-167). Bogota: Reimpresión; 1 ra Edición 1985.
- ICA. (2011). *Manejo fitosanitario de la papa*. Bogotá: <http://www.ica.gov.co/getattachment/b2645c33-d4b4-4d9d-84ac->
- ICA. (2011). *PROGRAMA COOPERATIVO DE INVESTIGACION AGRÍCOLA PARA LA SUBREGION ANDINA PROCIANDINO*. Pasto, Riobamaba: <http://books.google.com.ec/books?id=Wd4Q6HABeYsC&pg=>
- Infante, D., Martínez, B., Gonzáles, N., & Reyes, Y. (2009). *Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos*. *Rev. Protección Veg.* 24:14-21.
- INIAP. (1984). *MANUAL DEL CULTIVO DE PAPA*. Quito: INIAP.
- INIAP. (1998). *VARIETADES DE PAPA CULTIVADAS EN EL ECUADOR*. Quito: INIAP PNRT-FORTIPAPA.
- INIAP-CIP. (2002). *EL CULTIVO DE PAPA EN ECUADOR*. Quito.
- INIAP-CIP-BID, P. (1997). *Memorias del curso: "Manejo integrado de las principales plagas y enfermedades del cultivo de papa"*. Quito.
- Lauwerys, R. (1998). *Control Biológico*. Berlin.

- López, Á. J. (08 de Noviembre de 2013). *RODAS*. Obtenido de RODAS: <http://rodas.us.es/file/b1efec64-4f95-dd56-8ef4->
- López, Á. J. (23 de 04 de 2013). *RODAS*. Recuperado el 04 de 05 de 2013, de RODAS: <http://rodas.us.es/file/b1efec64-4f95-dd56-8ef4-6>
- Lopez, G., & Gonzales, P. A. (2004). *Selección de cepas nativas de Trichoderma spp., con actividad sobre Phytophthora capsici Leonian y promotoras de crecimiento en el cultivo de chile(Capsicum L.)*. Revista mexicana 22:117-124.
- Mollison, B. (1988). *Permaculture A Designer Manual*. Rincones del Atlántico.
- Moreira, L. (1994). *Impacto Negativos de los Agroquímicos y su efecto en la Sociedad*. Nueva Gerona: Universidad Jesús Montané Oropesa.
- Nicole, M., Ruel, K., & Ovellette, B. (1994). Fine Morphology of fungal structures involved in host wall alteration. USA: Host wall alteration by parasitic Fungy.
- Núñez, G., Nava , U., & Jiménez, F. (2003). *Agricultura Orgánica*. Mexico: FAZ-UJED.
- Ochoa, J. (1999). *“Las papas de Sudamérica Perú,”*. Lawrence: Centro Internacional de la Papa, .
- Orellana, H. (1978). En *Estudio de Lanosa de la papa en Ecuador* (págs. 13:61-66). Quito: Fitopatología.
- Orellana, H. (1987). *Micorbiología Vegetal*. Quito: Universidad Central del Ecuador. Poligrafiado p.p. 48-50.
- Ortega, E. (1998). *Sistemas Alimentarios de Raices y Tuberculos* . Monangas : FONAIAP.
- Papavizas, G. C. (1984). Trichodermas and gliocladium: biology, ecology, and potential for biocontrol. En G. C. Papavizas, *Trichodermas and gliocladium: biology, ecology, and potential for biocontrol* (págs. 23-54). Annual review of phytopathology .
- Pérez"(UNAH)., F. R. (2009). MECANISMOS DE ACCIÓN DE Trichoderma FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS. *Revista de Protección*

- Pérez, J., & Soler, C. (2007). *Nutrición energética y salud*. España : Debolsillo
- PROCIANDINO. (1988). *IV Seminario. Sistemas de Producción en Papa: Manejo de Plagas y Enfermedades*. Quito: B. Ramakrishna.
- PROCIANDINO. (1989). *II CURSO CORTO PRUEBAS EN FINCA*. Pasto, Riobamba: ICA-BID.
- Pumisacho, M., & Sherwood, S. (2002). *EL CULTIVO DE PAPA EN EL ECUADOR*. Quito: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).
- Pumisacho, M., & Velásquez, J. (2009). *Manual del Cultivo de papa para pequeños productores*. Quito: INIAP-COSUDE.
- Rodriguez, R. A. (1958). *Torbo a tropical disease of potatoes*. Costa Rica: Plant Dis. Rep.42:972-980.
- Sifuentes, E., Cervantes, J., Apodaca, M., & Cortez, E. (2006). *Predicción de la fenología de la papa*. Sinaloa: FUNDACIÓN PRODUCE.Campo Experimental Valle del Fuerte.
- Sivanasen, A., & Holliday, P. (1972). *Rosellinia bunodes*. En A. Sivanasen, & P. Holliday, *Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria* (págs. Nº 351,2 p.). England: Commonwealth Mycological Institute . Kew , Surry.
- Torres, M. (1998). *Prospección y etiología del sogoge en las zonas productoras de papa de la Provincia de Pachitea*. Huánuco, Perú: Tesis Ing. Agrónomo .Universidad Nacional Hemilio Valdizán.
- Turkensteen, L. J., & Hooker, W. J. (1981). *Rosellinia Black Rot*. En L. J. Turkensteen, *Compendium of Potato Diseases* (págs. Nº 125p. 51-52). American Phytopathological Society. St.Paul. MN.
- Vargas, M. (1990). *La Rosellinia del cacao*. Bogotá: BNC.

- Vivian Quiroz, R. F. (2008). Antagonismo in vitro de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo del ajo. *Área de Microbiología, Colegio de Postgraduados Campus Montecillo*, 5.
- Watanabe, T. (1937). Pictorial Atlas of soil and Seed Fungi Morphologies of cultured Fungi and Key to Species. Japon: Soft Science Publications.
- Yepez, A. (1976). *Influencia del pH y la humedad del suelo en el desarrollo de la "lanosa" de la papa y su control químico bajo condiciones de invernadero*. Quito: Tesis.Ing. Agrónomo Universidad Central del Ecuador.
- Yusimy Reyes, B. M. (2008). EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE TRECE AISLAMIENTOS DE *Trichoderma* spp. FRENTE *Rhizoctonia* sp. *Rev. Protección Veg. Vol. 23 No.Dpto. Biología y Sanidad Vegetal, Universidad Agraria de La Habana (UNAH)*., 112.

